

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **045896**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.01.15

(21) Номер заявки
202092826

(22) Дата подачи заявки
2019.05.22

(51) Int. Cl. **A61K 31/45** (2006.01)
A61K 31/4523 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)

(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ И ПРИМЕНЕНИЕ СОПУТСТВУЮЩИХ БИОМАРКЕРОВ 4-(4-(4-(((2-(2,6-ДИОКСОПИПЕРИДИН-3-ИЛ)-1-ОКСОИЗОИНДОЛИН-4-ИЛ)ОКСИ)МЕТИЛ)БЕНЗИЛ)ПИПЕРАЗИН-1-ИЛ)-3-ФТОРБЕНЗОНИТРИЛА

(31) **62/675,732; 62/737,772**

(32) **2018.05.23; 2018.09.27**

(33) **US**

(43) **2021.03.25**

(86) **PCT/US2019/033520**

(87) **WO 2019/226770 2019.11.28**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
СЕЛДЖИН КОРПОРЕЙШН (US)

(72) Изобретатель:
**Антон Мария Сора Я Каррансио,
Хансен Джошуа, Хейвенс Кортни Г.,
Лопес-Хирона Антония, Лу Ган, Пирс
Дэниэл В., Вонг Лилли Л. (US)**

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

(56) US-A1-20170362660
US-A1-20180120291
US-A1-20170292959
US-A-5814633
WO-A-9521822

BJORKKLUND, CC et al.: Rate of CRL4CRBN substrate Ikaros and Aiolos degradation underlies differential activity of lenalidomide and pomalidomide in multiple myeloma cells by regulation of c-Myc and IRF4. Blood Cancer Journal, Vol. 5, 2015, e354, pages 1-10; entire publication

(57) Способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий введение лечебного соединения субъекту, имеющему рак; получение образца от субъекта; определение уровня биомаркера в образце от субъекта и диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце субъекта изменяется по сравнению с контрольным уровнем биомаркера; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3.

B1

045896

045896

B1

Данная заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке на патент США № 62/675732, поданной 23 мая 2018 г., и по предварительной заявке на патент США № 62/737772 поданной 27 сентября 2018 г., которые включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

1. Область техники

В некоторых вариантах осуществления изобретения в данном документе предложены способы применения определенных биомаркеров, таких как CRBN, Aiolos (IKZF3), Ikaros (IKZF1), белок "цинковые пальцы" 91 (ZFP91), с-Мус, регуляторный фактор интерферонов 4 (IRF4), маркеры иммунитета к опухоли (растворимый CD25, цитокины; лимфоциты, инфильтрирующие опухоль (ТИЛ); активация Т-клеток, клональность Т-клеточного рецептора), циркулирующие опухолевые клетки (ЦКО), растворимый ВСМА (sBCMA), маркеры апоптоза (расщепленная каспаза-1, расщепленная каспаза-7, расщепленная каспаза-3, расщепленная PARP, сурвивин, BCL-2-подобный белок 11 (BIM), TUNEL, свободная легкая цепь (СЛЦ)) и маркеры клеточного цикла (p21, p27, pRb1) в прогнозировании и мониторинге клинической чувствительности и терапевтического ответа на 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер или фармацевтически приемлемую соль, а также способы лечения, профилактики или сдерживания множественной миеломы с их использованием. В настоящем документе также описан 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер или фармацевтически приемлемая соль для применения в способах лечения, профилактики или сдерживания множественной миеломы. В определенных вариантах осуществления изобретения в данном документе также предложены способы идентификации пациента, который, вероятно, будет восприимчивым, прогнозирования восприимчивости пациента, определения дозировки или определения эффективности соединения при лечении заболеваний.

2. Уровень техники

Множественная миелома (ММ) представляет собой рак плазматических клеток в костном мозге. Как правило, плазматические клетки вырабатывают антитела и играют ключевую роль в функционировании иммунной системы. Однако неконтролируемый рост данных клеток приводит к переломам костей и боли в костях, анемии, инфекции и другим осложнениям. Множественная миелома является второй наиболее распространенной гематологической злокачественной опухолью, хотя точные причины множественной миеломы остаются неизвестными. Множественная миелома вызывает высокие уровни белков в крови, моче и органах, включая, но не ограничиваясь ими, М-белка и других иммуноглобулинов (антител), альбумина и бета-2-микроглобулина, за исключением некоторых пациентов (по оценкам, от 1 до 5%), чьи клетки миеломы не секретируют данные белки (т.н. несекреторная миелома). М-белок, сокращение для моноклонального белка, также известный как парапротеин, является особенно аномальным белком, продуцируемым плазматическими клетками миеломы и может быть найден в крови или моче почти у всех пациентов с множественной миеломой, за исключением пациентов, которые имеют несекреторную миелому, или чьи клетки миеломы продуцируют легкие цепи иммуноглобулинов с тяжелой цепью.

Скелетные симптомы, включая боль в костях, являются одними из наиболее клинически значимых симптомов множественной миеломы. Злокачественные плазматические клетки высвобождают факторы, стимулирующие остеокласты (включая IL-1, IL-6 и TNF), которые вызывают вымывание кальция из костей, тем самым вызывая литические поражения; еще одним симптомом является гиперкальциемия. Факторы, стимулирующие остеокласты, называемые также цитокинами, могут предотвращать апоптоз или гибель клеток миеломы. Пятьдесят процентов пациентов имеют рентгенологически выявляемые скелетные повреждения, связанные с миеломой, на момент постановки диагноза. Другие общие клинические симптомы множественной миеломы включают полинейропатию, анемию, гипервязкость, инфекции и почечную недостаточность.

Современное лечение множественной миеломы может включать одно или более из хирургии, пересадки стволовых клеток, химиотерапии, иммунотерапии и/или лучевой терапии для уничтожения клеток множественной миеломы у пациента. Все современные терапевтические подходы имеют существенные недостатки для пациента.

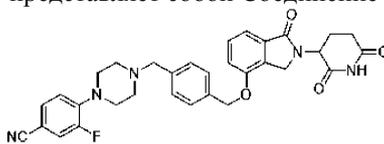
В последнее десятилетие новые терапевтические агенты, в частности, иммуномодулирующие препараты, такие как леналидомид и помалидомид, значительно увеличили частоту ответа, пролонгированную выживаемость без прогрессирования (ВБП) и общую выживаемость (ОВ) у больных множественной миеломой. Тем не менее, постоянные уровни остаточного заболевания, которые находятся ниже чувствительности морфологии костного мозга (КМ), электрофореза белков с иммунофиксацией и количественного определения легких цепей, существуют у многих пациентов с множественной миеломой, даже после того как данные пациенты достигли полной ремиссии (ПР), и, в конечном счете, могут вызывать рецидив заболевания.

Существует значительная потребность в безопасных и эффективных соединениях и способах лечения, предупреждения и сдерживания множественной миеломы, в том числе для пациентов, у которых множественная миелома впервые диагностирована или является резистентной к стандартным способам лечения, при этом уменьшая или избегая токсичности и/или побочных эффектов, связанных с традиционной терапией.

3. Сущность изобретения

В одном аспекте в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

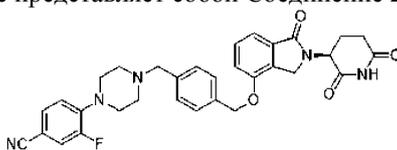
- введение лечебного соединения субъекту;
 - получение образца от субъекта;
 - определение уровня биомаркера в образце и
 - диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом аспекте в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

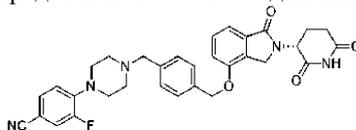
- введение лечебного соединения субъекту;
 - получение образца от субъекта;
 - определение уровня биомаркера в образце и
 - диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном аспекте в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

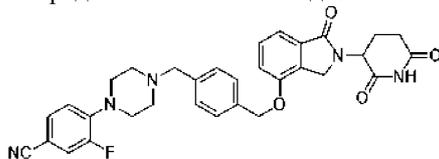
- введение лечебного соединения субъекту;
 - получение образца от субъекта;
 - определение уровня биомаркера в образце и
 - диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- получение образца от субъекта;
 - введение лечебного соединения в образец;
 - определение уровня биомаркера в образце и
 - диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1

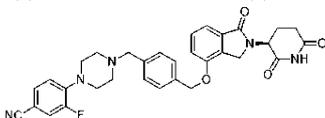


или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом варианте осуществления в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- получение образца от субъекта;

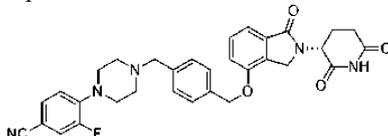
- (b) введение лечебного соединения в образец;
 (c) определение уровня биомаркера в образце и
 (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера;
 при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном варианте осуществления в настоящем документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- (a) получение образца от субъекта;
 (b) введение лечебного соединения в образец;
 (c) определение уровня биомаркера в образце и
 (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера;
 при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3

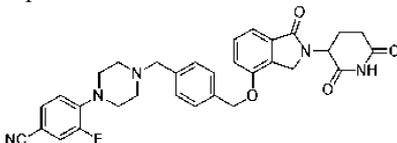


или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно восприимчивый к лечебному соединению, при этом уровень биомаркера в образце выше, чем контрольный уровень биомаркера. В других вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно восприимчивый к лечебному соединению, при этом уровень биомаркера в образце ниже, чем контрольный уровень биомаркера.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлен способ лечения рака, включающий:

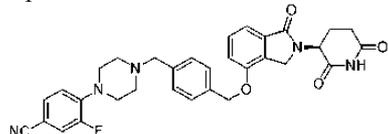
- (a) получение образца от субъекта, имеющего рак;
 (b) определение уровня биомаркера в образце;
 (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера; и
 (d) введение терапевтически эффективного количества лечебного соединения субъекту, который диагностирован как вероятно восприимчивый к лечебному соединению;
 при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом варианте осуществления в настоящем документе представлен способ лечения рака, включающий:

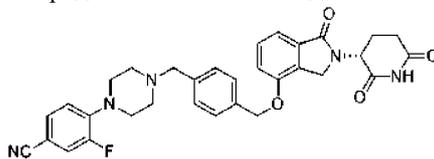
- (a) получение образца от субъекта, имеющего рак;
 (b) определение уровня биомаркера в образце;
 (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера; и
 (d) введение терапевтически эффективного количества лечебного соединения субъекту, который диагностирован как вероятно восприимчивый к лечебному соединению;
 при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В еще одном варианте осу-

шествования в настоящем документе представлен способ лечения рака, включающий:

- (a) получение образца от субъекта, имеющего рак;
 - (b) определение уровня биомаркера в образце;
 - (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера; и
 - (d) введение терапевтически эффективного количества лечебного соединения субъекту, который диагностирован как вероятно восприимчивый к лечебному соединению;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3

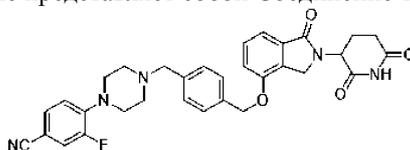


или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложены способы лечения рака, в которых уровень биомаркера в образце выше, чем контрольный уровень биомаркера. В других вариантах осуществления в настоящем документе предложены способы лечения рака, в которых уровень биомаркера в образце ниже, чем контрольный уровень биомаркера. Также в настоящем документе предложено Соединение 1, Соединение 2 и/или Соединение 3 для применения в способе лечения рака, как описано выше.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

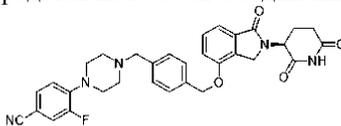
- (a) введение лечебного соединения субъекту;
 - (b) получение образца от субъекта;
 - (c) определение уровня биомаркера в образце и
 - (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом варианте осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

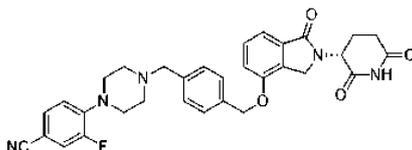
- (a) введение лечебного соединения субъекту;
 - (b) получение образца от субъекта;
 - (c) определение уровня биомаркера в образце и
 - (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном варианте осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

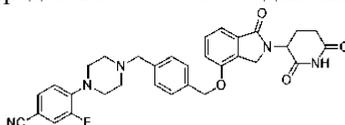
- (a) введение лечебного соединения субъекту;
 - (b) получение образца от субъекта;
 - (c) определение уровня биомаркера в образце и
 - (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом аспекте в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

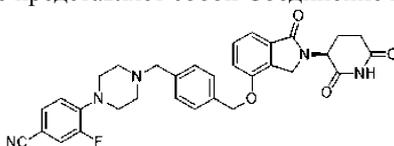
- получение образца от субъекта;
- введение лечебного соединения в образец;
- определение уровня биомаркера в образце и
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом варианте осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

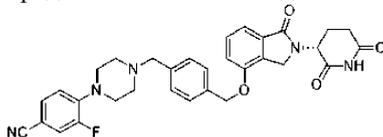
- получение образца от субъекта;
- введение лечебного соединения в образец;
- определение уровня биомаркера в образце и
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном варианте осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

- получение образца от субъекта;
- введение лечебного соединения в образец;
- определение уровня биомаркера в образце и
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

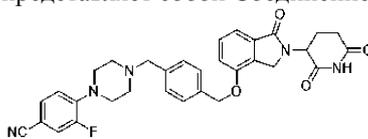
В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, при этом уровень биомаркера в образце выше, чем контрольный уровень биомаркера. В других вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, который вероятно восприимчивый к лечебному соединению, при этом уровень биомаркера в образце ниже, чем контрольный уровень биомаркера.

В другом аспекте в данном документе предложен способ мониторинга эффективности лечебного соединения при лечении рака у субъекта, включающий:

- введение лечебного соединения субъекту;
- получение образца от субъекта;
- определение уровня биомаркера в образце и
- сравнение уровня биомаркера в образце с уровнем биомаркера, полученного из контрольного

образца, при этом изменение уровня биомаркера указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



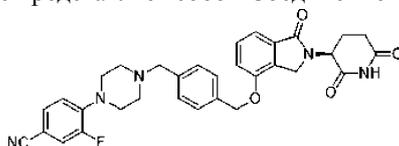
или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ мониторинга эффективности лечебного соединения при лечении рака у субъекта, включающий:

- (a) введение лечебного соединения субъекту;
- (b) получение образца от субъекта;
- (c) определение уровня биомаркера в образце и

(d) сравнение уровня биомаркера в образце с уровнем биомаркера, полученного из контрольного образца, при этом изменение уровня биомаркера указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



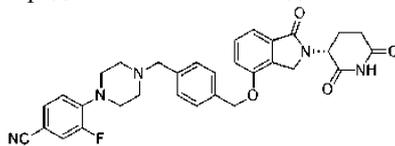
или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом варианте осуществления в данном документе предложен способ мониторинга эффективности лечебного соединения при лечении рака у субъекта, включающий:

- (a) введение лечебного соединения субъекту;
- (b) получение образца от субъекта;
- (c) определение уровня биомаркера в образце и

(d) сравнение уровня биомаркера в образце с уровнем биомаркера, полученного из контрольного образца, при этом изменение уровня биомаркера указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложены способы мониторинга эффективности лечебного соединения при лечении рака у субъекта, в которых повышенный уровень биомаркера по сравнению с контрольным уровнем указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложены способы мониторинга эффективности лечебного соединения при лечении рака у субъекта, в которых пониженный уровень биомаркера по сравнению с контрольным уровнем указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта.

В некоторых вариантах осуществления способы идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, дополнительно включают введение терапевтически эффективного количества лечебного соединения субъекту, который диагностирован как вероятно восприимчивый к лечебному соединению. В дополнительных вариантах осуществления способы прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, дополнительно включают введение терапевтически эффективного количества лечебного соединения субъекту, который диагностирован как вероятно восприимчивый к лечебному соединению.

В некоторых вариантах осуществления любого из способов, предложенных в настоящем документе, контрольный образец получают от субъекта перед введением лечебного соединения субъекту, и причем контрольный образец получают из того же источника, что и образец.

В некоторых вариантах осуществления любого из способов, предложенных в настоящем документе, контрольный образец получают от здорового субъекта, не имеющего рак, и причем контрольный образец получают из того же источника, что и образец.

В некоторых вариантах осуществления любого из способов, предложенных в настоящем документе, контрольный образец получают от субъекта, получающего противораковое соединение, которое не является указанным лечебным соединением, и причем контрольный образец получают из того же источника,

что и образец. В конкретных вариантах осуществления контрольный образец получают от субъекта, получающего противораковое соединение, которое не является лечебным соединением, при этом контрольный образец получают из того же источника, что и образец, а противораковое соединение выбирают из группы, включающей леналидомид, помалидомид или их производные.

В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, рак представляет собой множественную миелому (ММ). В некоторых конкретных вариантах осуществления ММ является рецидивирующим, рефрактерным или резистентным к традиционной терапии. В одном варианте осуществления ММ представляет собой устойчивую к леналидомиду ММ. В другом варианте осуществления ММ представляет собой устойчивую к помалидомиду ММ. В некоторых вариантах осуществления ММ представляет собой впервые диагностированную ММ. В некоторых вариантах осуществления ММ представляет собой подходящую для трансплантации ММ. В некоторых вариантах осуществления ММ представляет собой неподходящую для трансплантации ММ.

В определенных вариантах осуществления способов, предложенных в данном документе, биомаркер представляет собой цереблон (CRBN). В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в данном документе, биомаркер представляет собой белок, связанный с CRBN.

В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в данном документе, биомаркер участвует в каскаде реакций апоптоза. В еще одном вариантах осуществления способов, предложенных в данном документе, биомаркер участвует в каскаде реакций клеточного цикла. В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в данном документе, биомаркер участвует в активации Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, биомаркер представляет собой циркулирующие опухолевые клетки (ЦКО).

В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, биомаркер представляет собой лимфоциты, инфильтрирующие опухоль (ТИ).

В некоторых конкретных вариантах осуществления биомаркер представляет собой белок, связанный с CRBN, выбранный из группы, состоящей из IKZF1, IKZF3, ZFP91, c-MYC и IRF4. В некоторых конкретных вариантах осуществления биомаркер представляет собой IKZF1. В другом варианте осуществления биомаркер представляет собой IKZF3. В еще одном варианте осуществления биомаркер представляет собой ZFP91. В еще одном варианте осуществления биомаркер представляет собой c-MYC. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой IRF4.

В других вариантах осуществления биомаркер участвует в апоптозе и выбран из группы, состоящей из расщепленной каспазы-1 (p-каспазы-1), расщепленной каспазы-3 (p-каспазы-3), расщепленной каспазы-7 (p-каспазы-7), расщепленного PARP, сурвивина, BCL-2-подобного белка 11 (BIM) и свободной легкой цепи в сыворотке. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой расщепленную каспазу-3 (p-каспазу-3). В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой расщепленную каспазу-1 (p-каспазу-1). В еще других вариантах осуществления биомаркер представляет собой расщепленную каспазу-7 (p-каспазу-7). В другом варианте осуществления биомаркер представляет собой расщепленный PARP. В еще одном варианте осуществления биомаркер представляет собой сурвивин. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой сурвивин. В других вариантах осуществления биомаркер представляет собой BCL-2-подобный белок 11 (BIM). В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой свободную легкую цепь в сыворотке (sFLC).

В еще других вариантах осуществления биомаркер участвует в апоптозе и измеряется путем мечення конца с однопочечным разрывом терминальной дезоксирибонуклеотидилтрансферазой dUTP (TUNEL). В некоторых вариантах осуществления биомаркер участвует в апоптозе и измеряется с помощью аннексина-V и 7-AAD. В еще других вариантах осуществления биомаркер участвует в апоптозе и измеряется с помощью аннексина-V и пропидиум йодида (PI).

В других вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, биомаркер участвует в клеточном цикле и выбран из группы, состоящей из ингибитора циклинзависимой киназы 1 (p21), ингибитора циклинзависимой киназы 1B (p27) и белка ретинобластомы (pRb1). В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой p21. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой p27. В еще одном варианте осуществления биомаркер представляет собой pRb1.

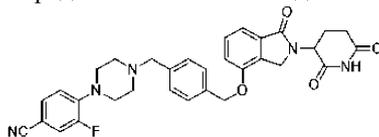
В других вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, биомаркер участвует в активации Т-клеток и выбран из группы, состоящей из интерлейкина-2 (IL-2), фактора некроза опухоли альфа (TNF α), интерферона гамма (IFN γ) и клональности Т-клеточного рецептора (ТКР). В других конкретных вариантах осуществления биомаркер представляет собой IL-2. В других вариантах осуществления биомаркер представляет собой TNF α . В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой IFN γ . В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой клональность Т-клеточного рецептора (ТКР). В конкретном варианте осуществления биомаркер представляет собой клональность Т-клеточного рецептора (ТКР), и биомаркер измеряют путем секвенирования ДНК ТКР. В некоторых конкретных вариантах осуществления биомаркер участвует в активации Т-клеток, и уровень биомаркера измеряют гистологически.

В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, уровень биомаркера выше контрольного уровня.

В других вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, уровень биомаркера ниже контрольного уровня.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ идентификации субъекта со множественной миеломой, которая является рецидивирующей, рефрактерной или резистентной к традиционной терапии, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

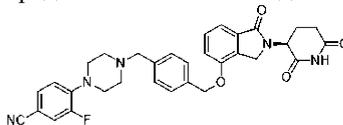
- (a) получение образца от субъекта;
 - (b) определение уровня биомаркера в образце и
 - (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце ниже контрольного уровня биомаркера;
- в котором лечебное соединении представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В других вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ идентификации субъекта со множественной миеломой, которая является рецидивирующей, рефрактерной или резистентной к традиционной терапии, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

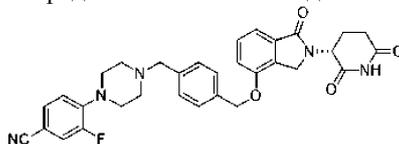
- (a) получение образца от субъекта;
 - (b) определение уровня биомаркера в образце и
 - (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце ниже контрольного уровня биомаркера;
- в котором лечебное соединении представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном варианте осуществления в настоящем документе предложен способ идентификации субъекта со множественной миеломой, которая является рецидивирующей, рефрактерной или резистентной к традиционной терапии, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

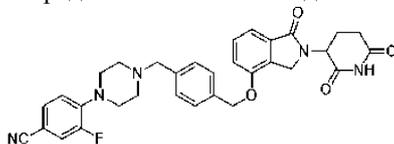
- (a) получение образца от субъекта;
 - (b) определение уровня биомаркера в образце и
 - (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце ниже контрольного уровня биомаркера;
- в котором лечебное соединении представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего множественную миелому, к лечебному соединению, включающий:

- (a) получение образца от субъекта;
 - (b) определение уровня биомаркера в образце; и
 - (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце ниже контрольного уровня биомаркера;
- в котором лечебное соединении представляет собой Соединение 1

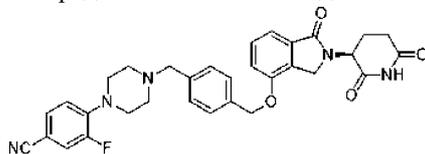


или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую

соль.

В другом варианте осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего множественную миелому, к лечебному соединению, включающий:

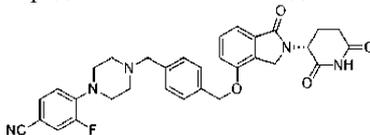
- (a) получение образца от субъекта;
 - (b) определение уровня биомаркера в образце и
 - (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце ниже контрольного уровня биомаркера;
- в котором лечебное соединении представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В еще одном варианте осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего множественную миелому,

к лечебному соединению, включающий:

- (a) получение образца от субъекта;
 - (b) определение уровня биомаркера в образце и
 - (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце ниже контрольного уровня биомаркера;
- в котором лечебное соединении представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В конкретных вариантах осуществления способов прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего множественную миелому, к лечебному соединению, биомаркер представляет собой CRBN. В некоторых вариантах осуществления способов прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего множественную миелому, к лечебному соединению, способы включают диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если в образце обнаружен уровень биомаркера и он ниже, чем в контрольном образце. В некоторых вариантах осуществления способов прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего множественную миелому, к лечебному соединению, способы включают диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если в образце обнаруживается биомаркер. В некоторых конкретных вариантах осуществления ММ является рецидивирующим, рефрактерным или резистентным к традиционной терапии. В одном варианте осуществления ММ представляет собой устойчивую к леналидомиду ММ. В другом варианте осуществления ММ представляет собой устойчивую к помалидомиду ММ.

В некоторых вариантах осуществления любого из способов, предложенных в настоящем документе, уровень биомаркера измеряют путем определения уровня белка биомаркера. В других вариантах осуществления любого из способов, предложенных в настоящем документе, уровень биомаркера измеряют путем определения уровня мРНК биомаркера. В еще дополнительных вариантах осуществления любого из способов, предложенных в настоящем документе, уровень биомаркера измеряют путем определения уровня кДНК биомаркера. В некоторых вариантах осуществления любого из способов, предложенных в настоящем документе, биомаркер определяют путем секвенирования ДНК. В других вариантах осуществления любого из способов, предложенных в настоящем документе, биомаркер определяют путем секвенирования РНК (РНК-секвенирование).

В некоторых вариантах осуществления уровень биомаркера измеряют путем определения уровня белка биомаркера, включающим приведение в контакт белков в образце с первым антителом, которое иммуноспецифически связывается с белком-биомаркером. В других вариантах осуществления уровень биомаркера измеряют путем определения уровня белка биомаркера, включающим приведение в контакт белков в образце с первым антителом, которое иммуноспецифически связывается с белком-биомаркером, дополнительно включающим:

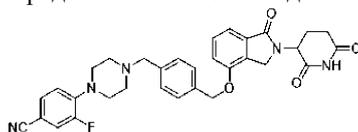
- (a) приведение в контакт белка-биомаркера, связанного с первым антителом, со вторым антителом с детектируемой меткой, при этом второе антитело иммуноспецифически связывается с белком-биомаркером, и при этом второе антитело иммуноспецифически связывается с другим эпитопом на белке-биомаркере, чем первое антитело;
- (b) обнаружение присутствия второго антитела, связанного с белком-биомаркером; и
- (c) определение количества белка-биомаркера на основе количества детектируемой метки на втором антителе.

В еще одном варианте осуществления уровень биомаркера измеряют путем определения уровня белка биомаркера, включающим приведение в контакт белков в образце с первым антителом, которое иммуноспецифически связывается с белком-биомаркером, дополнительно включающим:

- (а) приведение в контакт первого антитела, связанного с белком-биомаркером, со вторым антителом с детектируемой меткой, при этом второе антитело иммуноспецифически связывается с первым антителом;
- (b) обнаружение присутствия второго антитела, связанного с первым антителом; и
- (с) определение количества белка-биомаркера на основе количества детектируемой метки на втором антителе.

В определенных вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ определения или корректировки дозы для лечения субъекта, имеющего множественную миелому, лечебным соединением, включающий:

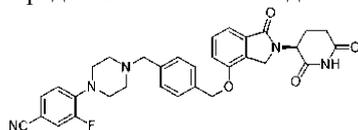
- (а) введение субъекту дозы лечебного соединения;
 - (b) получение одного или более образцов от субъекта в разные моменты времени; и
 - (с) определение уровня биомаркера в одном или более образцах и, таким образом, определение того, является ли доза подходящей или требует корректировки;
- в котором лечебное соединение представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом варианте осуществления в настоящем документе предложен способ определения или корректировки дозы для лечения субъекта, имеющего множественную миелому, лечебным соединением, включающий:

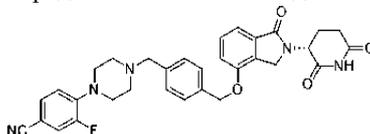
- (а) введение субъекту дозы лечебного соединения;
 - (b) получение одного или более образцов от субъекта в разные моменты времени и
 - (с) определение уровня биомаркера в одном или более образцах и, таким образом, определение того, является ли доза подходящей или требует корректировки;
- в котором лечебное соединение представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном варианте осуществления в настоящем документе предложен способ определения или корректировки дозы для лечения субъекта, имеющего множественную миелому, лечебным соединением, включающий:

- (а) введение субъекту дозы лечебного соединения;
 - (b) получение одного или более образцов от субъекта в разные моменты времени и
 - (с) определение уровня биомаркера в одном или более образцах и, таким образом, определение того, является ли доза подходящей или требует корректировки;
- в котором лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления способов определения или корректировки дозы для лечения субъекта, имеющего множественную миелому, лечебным соединением, биомаркер выбран из группы, состоящей из IKZF1 и IKZF3. В некоторых конкретных вариантах осуществления способов определения или корректировки дозы для лечения субъекта, имеющего множественную миелому, лечебным соединением, биомаркер представляет собой IKZF1. В еще одном конкретном варианте осуществления способов определения или корректировки дозы для лечения субъекта, имеющего множественную миелому, лечебным соединением, биомаркер представляет собой IKZF3.

В некоторых вариантах осуществления способы лечения рака дополнительно включают введение терапевтически эффективного количества второго активного агента или поддерживающей терапии. В определенных вариантах осуществления способы идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, дополнительно включают введение терапевти-

чески эффективного количества лечебного соединения субъекту, который диагностирован как вероятно восприимчивый к лечебному соединению, а также дополнительно включают введение терапевтически эффективного количества второго активного агента или поддерживающей терапии. В дополнительных вариантах осуществления способы прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, дополнительно включают введение терапевтически эффективного количества лечебного соединения субъекту, который диагностирован как вероятно восприимчивый к лечебному соединению, а также дополнительно включают введение терапевтически эффективного количества второго активного агента или поддерживающей терапии. В конкретных вариантах осуществления второй активный агент выбран из группы, включающей высокомолекулярные соединения, низкомолекулярные соединения или клеточные терапии, а второй активный агент необязательно выбран из группы, включающей мелфалан, винкристин, циклофосфамид, этопозид, доксорубин, бендамустин, ингибитор протеасом, ингибитор гистондеацетилазы, ингибитор ВЕТ, ингибитор BCL2, ингибитор MCL-1, кортикостероид, дексаметазон, антитело, ингибитор контрольной точки и клетки CAR.

В некоторых вариантах осуществления, предложенных в настоящем документе, соединения, предложенные в настоящем документе, можно применять в любом способе лечения, профилактики и/или мониторинга любого из заболеваний, указанных в настоящем документе.

4. Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 показано, что Соединение 2 и Соединение 3 разрушает белок Aiolos в зависимости от времени и концентрации. Клетки DF15, экспрессирующие Aiolos с меткой Enhanced ProLabel (ePL), инкубировали с Соединением 2 (треугольник) или Соединением 3 (квадрат) в течение 45, 90 мин или 3 ч в указанных концентрациях. Затем получали экстракты клеток и определяли количество белка Aiolos-ePL с помощью люминесцентного анализа ePL.

На фиг. 2 показано, что Соединение 2 разрушает Aiolos и Ikaros даже в клетках, устойчивых к помалидомиду, и действует синергетически с дексаметазоном, разрушая IRF4 и с-Мус. Чувствительные к помалидомиду (OPM2) или устойчивые (OPM2-P1) клетки обрабатывали контролем-плацебо (DMCO), помалидомидом или Соединением 2 либо отдельно, либо в комбинации с 10 или 100 нМ дексаметазоном в течение 72 ч. Были измерены субстраты CRL4^{CRBN} E3 убиквитинлигазы Aiolos и Ikaros и их нижестоящие эффекторы с-Мус и IRF4. Тубулин является контролем нагрузки.

На фиг. 3 показано, что Соединение 2 разрушает Aiolos и Ikaros даже в клетках, устойчивых к помалидомиду, и действует синергетически с дексаметазоном, вызывая апоптоз. Чувствительные к помалидомиду (OPM2) или устойчивые (OPM2-P1) клетки обрабатывали контролем-плацебо (DMCO), помалидомидом или Соединением 2 либо отдельно, либо в комбинации с 10 или 100 нМ дексаметазоном в течение 72 ч. Были измерены субстраты CRL4^{CRBN} E3 убиквитинлигазы Aiolos и Ikaros, а также индукция белков каскада реакций апоптоза BIM, расщепленного PARP, расщепленной каспазы-3 и расщепленной каспазы-7. Тубулин является контролем нагрузки.

На фиг. 4 показано, что Соединение 2 индуцировало разрушение Ikaros, Aiolos, ZFP91, с-Мус и IRF4, что коррелирует с индукцией белка апоптоза расщепленной каспазы 3 и белка остановки клеточного цикла p21. Показан иммуноблот-анализ родительских клеток OPM2, инкубированных с Соединением 2 в указанных концентрациях. Актин является контролем нагрузки.

На фиг. 5А показано, что CRBN необходим для опосредованного Соединением 2 разрушения Ikaros и Aiolos. Показаны иммуноблоты цереблona, Ikaros и Aiolos экстрактов клеток CRBN^{WT} DF15R и DF15R-человека, которые инкубировали с DMCO, помалидомидом или Соединением 2 при 0,1 мкМ в течение 4 ч. Тубулин является контролем нагрузки.

На фиг. 5В показано, что Ikaros необходим для опосредованного Соединением 2 подавления с-Мус и IRF4, а также для индукции апоптоза. Показаны иммуноблоты экстрактов из клеток OPM2 дикого типа или клеток OPM2, сверхэкспрессирующие стабилизированные мутанты Ikaros, Aiolos или ZFP91. Клетки инкубировали с DMCO или с указанной концентрацией Соединения 2 в течение пяти дней.

На фиг. 6А и 6В показано, что Соединение 2 разрушает Ikaros и Aiolos зависимым от концентрации образом, что индуцирует апоптоз и остановку клеточного цикла в устойчивых к помалидомиду клетках множественной миеломы. Показан иммуноблот-анализ устойчивых к помалидомиду клеток MM (H929-1051), инкубированных с Соединением 2 в течение (фиг. 6А) 4 ч или (фиг. 6В) 72 ч.

На фиг. 7А и фиг. 7В показано, что Соединение 2 вызывает длительное разрушение Aiolos и Ikaros. Показано разрушение Aiolos и Ikaros в виде процентного содержания контроля диметилсульфоксида (DMCO) в клеточных моделях (фиг. 7А) H929-1051 и (фиг. 7В) OPM2- P10 после однократного непрерывного воздействия Соединения 2. Эти данные взяты из одного эксперимента с одним образцом на экспериментальную точку.

На фиг. 8 показано, что Соединение 2 индуцировало длительное разрушение Aiolos и Ikaros после 15 мин воздействия. Соединение 2 инкубировали в течение 15 мин с клетками H929-1051 и измеряли разрушение Aiolos (левый график) и Ikaros (правый график). Данные взяты из одного эксперимента с одним образцом на экспериментальную точку. По оси ординат отложено количество Aiolos или Ikaros, выраженное в процентах от уровня соответствующего белка в контроле диметилсульфоксида (DMCO); ось абсцисс показывает время в часах.

На фиг. 9 показано, что восстановление уровней Aiolos после отмывания после 6-часового воздействия Соединения 2 потребовало почти 160 ч. Соединение 2 инкубировали в течение 6 ч с клетками H929-1051 и измеряли разрушение Aiolos. Эти данные взяты из одного эксперимента с одним образцом на экспериментальную точку. Вертикальная пунктирная синяя линия разделяет данные на сегменты во время лечения Соединением 2 (слева от вертикальной линии) и после отмывания (справа от вертикальной линии). Результаты представлены для уровней Aiolos в клетках OPM2 -P10 (слева) и клетках H929-1051 (справа) в течение всего 160 ч, включая и последующую 6-часовую инкубацию с 0,01 (красный) или 0,1 мкМ Соединения 2 (синий).

На фиг. 10 показано, что постоянное, а не временное, воздействие Соединения 2 индуцировало апоптоз в клетках множественной миеломы. Представлена индукция апоптоза при лечении Соединением 2 на модели устойчивых к леналидомиду ММ клеток (H929-1051 [верхний ряд] и модели устойчивых к помалидомиду ММ клеток OPM2-P10 [нижний ряд]). Эти данные взяты из одного эксперимента с одним образцом на экспериментальную точку.

На фиг. 11А и 11В показано, что Соединение 2, но не помалидомид, проявляет антипролиферативную активность в клеточных линиях множественной миеломы, устойчивых к леналидомиду и помалидомиду, включая те, которые имеют низкие уровни белка CRBN. Показаны антипролиферативные эффекты на клеточные линии множественной миеломы человека с приобретенной устойчивостью с низким CRBN. Клеточные линии обрабатывали (фиг. 11А) помалидомидом или (фиг. 11В) Соединением 2 в течение 5 дней, и значения IC_{50} оценивали с использованием анализа определения АТФ (CellTiter-Glo). Процент от контроля рассчитывали путем вычитания фона и нормализации к контролю ДМСО (100% от контроля).

На фиг. 12 показано, что дексаметазон (Декс) + Соединение 2 индуцирует апоптоз. Индукцию апоптоза после 72-часовой обработки одним дексаметазоном или в комбинации с Соединением 2, леналидомидом или помалидомидом в клеточной линии множественной миеломы, устойчивой к леналидомиду (H929-1051), измеряли с использованием каспаза-Glo 3/7.

На фиг. 13 показано, что короткие ежедневные воздействия Соединения 2 продолжительностью до трех дней вызывают разрушение Ikaros в клетках CD34+. Разрушение Ikaros после короткого ежедневного воздействия Соединения 2 измеряли проточной цитометрией. Клетки CD34+, полученные из костного мозга здорового донора, подвергали воздействию Соединения 2 в течение 2, 4 и 6 ч, начиная с 14-го дня в течение 1 (день 14), 2 (день 15) или 3 (день 16) последовательных дней. Представлен процент содержания Ikaros (нормализованный к контролю ДМСО). В конце периода воздействия Соединения 2 удаляли и клетки инкубировали в отсутствие Соединения 2 (период восстановления). Ikaros был измерен проточной цитометрией во время восстановления в дни 19, 21 и 23. Данные представлены как среднее значение результатов для двух доноров.

На фиг. 14 показано разрушение и восстановление Ikaros после трех последовательных дней 6-часового воздействия Соединения 2. Клетки CD34+, полученные из костного мозга от здоровых доноров, подвергались воздействию Соединения 2 в каждый из трех последовательных дней, начиная с 10-го дня, в течение 6 ч. Показан процент ингибирования Ikaros по сравнению с ДМСО. Культуры инкубировали в отсутствие Соединения 2 с 13-го по 22-й день. Ikaros измеряли с помощью проточной цитометрии после завершения каждого воздействия и через день во время восстановления.

На фиг. 15 показано разрушение и восстановление Ikaros после пяти последовательных дней 6-часового воздействия Соединения 2. Клетки CD34+, полученные из костного мозга, подвергались воздействию Соединения 2 в каждый из пяти последовательных дней, начиная с 10-го дня. Показан процент ингибирования Ikaros по сравнению с контролем ДМСО. Культуры инкубировали в отсутствие Соединения 2 с 15-го по 22-й день. Ikaros измеряли проточной цитометрией после завершения каждого воздействия (дни с 10 по 14) и через день во время восстановления (дни 17, 20 и 22).

На фиг. 16А и 16В показана схема лечения и корреляция между ингибированием Ikaros (пунктирная линия) и дифференциацией нейтрофилов (сплошная линия) после воздействия Соединения 2 (фиг. 16А) Клетки CD34+, полученные из костного мозга от здоровых доноров, культивировали *ex vivo* и стимулировали их превращение в зрелые нейтрофилы на стадии IV (фиг. 16В) Культуры подвергали воздействию различных концентраций Соединения 2 в течение 6 ч в каждый из трех дней (дни 10, 11 и 12), а затем культивировали без дальнейшего воздействия Соединения 2 до 22-го дня. Процент ингибирования Ikaros по сравнению с контролем ДМСО (кружок) после воздействия 1 нМ (квадрат), 10 нМ (треугольник) и 100 нМ (перевернутый треугольник) Соединения 2 показан на правой оси Y (пунктирные линии). Процент клеток Стадии IV показан на левой оси Y (сплошные линии). Заштрихованная область показывает 3 дня воздействия Соединения 2.

На фиг. 17А и 17В показано, что Соединение 2 непосредственно активировало мононуклеарные клетки периферической крови человека (PBMC) для лизиса эритромиелоцитических лейкозных клеток K562 в зависимости от концентрации. (Фиг. 17А) Репрезентативные графики сортировки флуоресцентно-активированных клеток K562, совместно культивированных с PBMC человека, которые были предварительно инкубированы с Соединением 2 или ДМСО. (Фиг. 17В) Ответ апоптоза в клетках K562 после совместного культивирования с PBMC, обработанными Соединением 2. Апоптоз измеряли по окрашиванию ПИ и аннексином V в клетках K562 после 24 ч совместного культивирования с PBMC, которые бы-

ли обработаны Соединением 2 в течение 72 ч. Данные представлены в виде среднего значения с планками погрешностей, представляющих стандартные ошибки среднего значения.

На фиг. 18А и 18В показано, что иммунные клетки непосредственно активируются Соединением 2 для лизиса клеточных линий множественной миеломы, чувствительных к леналидомиду и устойчивых к леналидомиду. (Фиг. 18А) Ответ апоптоза в клетках NCI-H929 после 24-часового совместного культивирования с РВМС, предварительно обработанными Соединением 2. (Фиг. 18В) Ответ апоптоза в клетках H929-1051 после 24-часового совместного культивирования с РВМС, предварительно обработанными Соединением 2.

На фиг. 19А-19D показано, что иммунные клетки, примированные соединением, демонстрируют повышенное уничтожение опухолевых клеток, когда клетки множественной миеломы предварительно обрабатывают леналидомидом, помалидомидом или Соединением 2 перед совместным культивированием. Иммунные клетки, примированные соединением, демонстрируют повышенное уничтожение опухолевых клеток в модели совместного культивирования (справа) в (фиг. 19А) клетках H929, (фиг. 19В) H929-1051, (фиг. 19С) OPM2 и (фиг. 19D) OPM2 P10 клетках по сравнению с одиночными культурами ММ (слева) и незначительное влияние на жизнеспособность РВМС (в центре).

На фиг. 20 показано, что Соединение 2 демонстрирует большую эффективность индукции продукции интерлейкина-2 РВМС, стимулированных гранулами с анти-CD3-антителами, чем леналидомид или помалидомид через 72 ч. Индукция продукции интерлейкина-2 (IL-2) РВМС, стимулированных гранулами с анти-CD3-антителами, после обработки Соединением 2, леналидомидом (Лен) или помалидомидом (Пом) в течение 72 ч.

На фиг. 21А-21С показано, что Соединение 2 является мощным индуктором эффекторных цитокинов. Измерение индукции эффекторных цитокинов при лечении Соединением 2, помалидомидом (Пом) или леналидомидом (Лен) в течение 24 ч. (Фиг. 21А) IL-2, (фиг. 21В) IFN- γ и (фиг. 21С) TNF- α . Представленные данные являются средними от трех или четырех доноров и представлены как кратное изменение по сравнению с контролем ДМСО; планками погрешностей представляют собой стандартную ошибку среднего (СОС).

На фиг. 22А-22С показано, что Соединение 2 индуцирует разрушение Ikaros в CD4+ Т-клетках. Измерение разрушения Ikaros в CD4+ Т-клетках после обработки Соединением 2 (ромб), леналидомидом (Лен; кружок) или помалидомидом (Пом; квадрат) в течение (фиг. 22А) 24 ч, (фиг. 22В) 48 ч или (фиг. 22С) 72 ч. Представленные данные являются средними от двух доноров и представлены как MFI, нормализованные к контролю ДМСО.

На фиг. 23А-23С показано, что дексаметазон (Декс) в комбинации с Соединением 2 снижает продукцию интерлейкина-2 (IL-2) РВМС, стимулированных анти-CD3 антителами. Продукция интерлейкина-2 РВМС, стимулированных анти-CD3-антителами, после (фиг. 23А) леналидомидом (Лен) отдельно или с дексаметазоном, (фиг. 23В) помалидомидом (Пом) отдельно или с дексаметазоном, или (фиг. 23С) Соединения 2 отдельно или с дексаметазоном.

На фиг. 24А и 24В показано, что Соединение 2 индуцирует разрушение Aiolos в CD3+ Т-клетках из периферической крови пациентов с рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломой после (фиг. 24А) схемы один раз в день (1 р/д) 1-10, 15-24/28 (фиг. 24В) или схемы дважды в день (2 р/д) 1-3, 15-17/28.

На фиг. 25А и 25В показано, что Соединение 2 индуцирует разрушение Ikaros в CD3+ Т-клетках из периферической крови пациентов с рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломой после (фиг. 25А) схемы один раз в день (1 р/д) 1-10, 15-24/28 (фиг. 25В) или схемы дважды в день (2 р/д) 1-3, 15-17/28.

На фиг. 26А-26Е показано влияние Соединения 2 на экспрессию биомаркера в плазматических клетках CD138+ от пациентов с рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломой. (Фиг. 26А) Aiolos, (фиг. 26В) Ikaros, (фиг. 26С) ZFP91, (фиг. 26D) с-Мус и (фиг. 26Е) IRF4.

На фиг. 27 показано влияние Соединения 2 на экспрессию растворимого ВСМА (sBCMA) у пациентов с рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломой.

На фиг. 28 показано влияние Соединения 2 на свободную легкую цепь в сыворотке (sFLC) у пациентов с рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломой.

5. Подробное описание сущности изобретения

Способы, предложенные в настоящем документе, частично основаны на открытии того факта, что измененный уровень, например, повышенный уровень и/или пониженный уровень определенных молекул (например, мРНК, кДНК или белков) или злокачественных клеток (например, циркулирующих опухолевых клеток (ЦКО)) в биологическом образце могут быть использованы для прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего ММ или с подозрением на ММ, к лечебному соединению (например, Соединению 1, Соединению 2, Соединению 3, или его энантиомеру, смеси энантиомеров, таутомеру, изотопологу или фармацевтически приемлемой соли).

5.1 Определения

Используемые здесь термины "содержащий" и "включающий" могут использоваться взаимозаменяемо. Термины "содержащий" и "включающий" следует толковать как указывающие наличие указан-

ных признаков или компонентов, как указано, но не исключают наличие или добавление одного или более признаков, или компонентов, или их групп. Кроме того, термины "содержащий" и "включающий" предназначены для включения примеров, охватываемых термином "состоящий из". Следовательно, термин "состоящий из" может использоваться вместо терминов "содержащий" и "включающий", чтобы обеспечить более конкретные варианты осуществления изобретения.

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

Используемый в данном документе термин "или" следует интерпретировать как включающее "или", означающее любую одну 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 в том случае, если комбинация элементов, функций, этапов или действий является в некотором роде взаимно исключающей.

В целом, техническое описание одного варианта осуществления может быть объединено с тем, что раскрыто в любых других вариантах осуществления изобретения, представленных в данном документе.

В данном контексте термин "рак" включает солидный рак и гематологический рак, но не ограничивается ими. Термины "рак" и "раковый" относятся или описывают физиологическое состояние у млекопитающих, которое обычно характеризуется нерегулируемым ростом клеток. Раком может быть раком гематопозитической и лимфоидной ткани. Гемопозитическая злокачественная опухоль - это рак, поражающий кровь, костный мозг, лимфу и лимфатическую систему.

Как используется в данном документе, термин "множественная миелома" относится к гематологическим состояниям, характеризующихся злокачественными плазматическими клетками и включает следующие расстройства: моноклональная гаммапатия неясного генеза (МГНГ); множественная миелома низкого риска, среднего риска и высокого риска; впервые диагностированная множественная миелома (в том числе впервые диагностированная множественная миелома низкого риска, среднего риска и высокого риска); множественная миелома с возможностью трансплантации и без возможности трансплантации; вялотекущая (медленно прогрессирующая) множественная миелома (в том числе вялотекущая множественная миелома низкого риска, среднего риска и высокого риска); активная множественная миелома; одиночная плазмоцитома; экстремедуллярная плазмоцитома; лейкоз плазматических клеток; множественная миелома центральной нервной системы; легкоцепочечная миелома; несекреторная миелома; миелома иммуноглобулина D; и миелома иммуноглобулина E; и множественная миелома характеризующаяся генетическими аномалиями, такими как транслокация циклина D (например, t(4;11)(q13;q32); t(6;14)(p21;q32); 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 факторы хромосом (например, делеция 17p13, или хромосомы 13; del(17/17p), негиперплоидия и gain(1q)).

Как используется в данном документе и если не указано иное, термины "лечить", "лечат" и "лечение" относятся к облегчению или уменьшению тяжести симптома, связанного с заболеванием или состоянием, подлежащим лечению, например, множественной миеломой.

Термин "предупреждение" распространяется на уменьшение симптомов конкретного заболевания или нарушения, например, множественной миеломы. В некоторых вариантах осуществления пациенты с семейным анамнезом множественной миеломы являются кандидатами для предупреждающих режимов. Как правило, термин "предупреждение" относится к введению препарата до появления симптомов, особенно пациентам с возможным появлением множественной миеломы.

Как используется в данном документе и если не указано иное, термин "сдерживание" включает предупреждение рецидива конкретного заболевания или расстройства, такого, как множественная миелома, у пациента, который страдал от него, удлинняя время, когда пациент, который страдал от этого заболевания или расстройства, остается в состоянии ремиссии, уменьшая смертность пациентов и/или поддержание снижения тяжести или предотвращение симптома, связанного с заболеванием или состоянием, которое сдерживают.

Как используется в данном документе, термин "субъект" или "пациент" означает животное, как правило млекопитающее, включая человека, такого как больной человек.

Как описано в данном документе, термин "здоровый субъект" означает любого человека, у которого нет множественной миеломы. В некоторых вариантах осуществления "здоровый субъект" не имеет ранее существовавших медицинских состояний.

Как используется в данном документе и если не указано иное, термины "терапевтически эффективное количество" и "эффективное количество" соединения относятся к количеству, достаточному для обеспечения терапевтического эффекта при лечении, предупреждении и/или сдерживании заболевания, например, множественной миеломы, чтобы задержать или свести к минимуму один или более симптомов, связанных с заболеванием или расстройством, подлежащим лечению. Термины "терапевтически

эффективное количество" или "эффективное количество" могут включать такое количество, которое улучшает общую терапию, снижает или исключает симптомы или причины заболевания или расстройства или усиливает терапевтическую эффективность другого терапевтического средства.

Термин "восприимчивость" или "восприимчивый", когда он используется в отношении лечения, относится к степени эффективности лечения в уменьшении или снижении симптомов заболевания, например, ММ, которая подвергается лечению. Например, термин "повышенная восприимчивость", когда он используется в отношении лечения клетки или субъекта, относится к повышению эффективности уменьшения или снижения симптомов заболевания по сравнению с контрольным лечением (например, той же клетки или субъекта, или другой клетки или субъекта) при измерении с использованием любых методов, известных в данной области. В некоторых вариантах осуществления повышение эффективности составляет по меньшей мере примерно 5%, по меньшей мере примерно 10%, по меньшей мере примерно 20%, по меньшей мере примерно 30%, по меньшей мере примерно 40% или по меньшей мере примерно 50%.

Термин "чувствительность" или "чувствительный" применительно к лечению соединением является относительным термином, который относится к степени эффективности соединения в уменьшении или снижении прогрессирования опухоли или заболевания, которое подвергается лечению. Например, термин "повышенная чувствительность", при использовании в отношении лечения клетки или опухоли соединением, относится к повышению по меньшей мере на примерно 5% или более эффективности лечения опухоли.

Термин "рефрактерный" или "резистентный" относится к тому обстоятельству, когда пациенты, даже после интенсивного лечения, имеют остаточные клетки рака (например, клетки множественной миеломы) в их лимфатической системе, крови и/или кроветворных тканях (например, костном мозге). В контексте множественной миеломы термин "рефрактерный или резистентный" относится к тому обстоятельству, когда пациенты, даже после интенсивного лечения, имеют остаточные клетки миеломы и/или редуцированные здоровые клетки в своем костном мозге. Понятно, что рефрактерное заболевание - это заболевание, которое не отвечает на терапию (неспособность достичь минимального ответа или развитие прогрессирующего заболевания) или прогрессирует в течение приблизительно 60 дней после приема последней дозы.

Термин "рецидивирующий" относится к ситуации, когда у пациентов, у которых была ремиссия рака после терапии, наблюдается возвращение клеток рака (например, клеток множественной миеломы) в их лимфатическую систему, кровь и/или кроветворные ткани (например, костный мозг) и уменьшение нормальных клеток крови.

Положительную динамику рака или связанного с раком заболевания можно охарактеризовать как полный (ПО) или частичный ответ (ЧО). "Полный ответ" относится к отсутствию клинически обнаруживаемого заболевания с нормализацией любых патологических результатов предшествующих рентгенографических исследований, исследований костного мозга и спинномозговой жидкости (CSF), или патологических результатов измерений моноклонального белка. "Частичный ответ" относится к снижению на по меньшей мере примерно 10%, примерно 20%, примерно 30%, примерно 40%, примерно 50%, примерно 60%, примерно 70%, примерно 80% или примерно 90% всей поддающейся измерению опухолевой нагрузки (т.е., количество злокачественных клеток, присутствующих у субъекта, или измеренный объем опухолевых масс, или количество патологического моноклонального белка) при отсутствии новых повреждений. Термин "лечение" подразумевает как полный, так и частичный ответ.

В контексте рака, ингибирование может быть оценено по ингибированию прогрессирования заболевания, ингибированию роста опухоли, уменьшению первичной опухоли, облегчению симптомов, связанных с опухолью, ингибированию факторов, секретируемых опухолью, задержке появления первичных или вторичных опухолей, замедлению развития первичных или вторичных опухолей, снижению возникновения первичных или вторичных опухолей, замедлению или снижению тяжести вторичных эффектов заболевания, задержанию роста опухоли и регрессии опухолей, увеличению времени до прогрессирования (ВДП), увеличению выживаемости без прогрессирования (ВБП), увеличению общей выживаемости (ОВ), среди прочего. Как используется в данном документе, ОВ означает время от начала лечения до смерти по любой причине. Как используется в данном документе ВДП означает время от начала лечения до прогрессирования опухоли; ВДП не включает смерти. В одном варианте осуществления ВБП означает время от начала лечения до прогрессирования опухоли или смерти. В одном варианте осуществления ВБП означает время от первой дозы соединения до первого проявления прогрессирования заболевания или смерти по любой причине. В одном варианте осуществления показатели ВБП будут вычислены с использованием оценок Каплана-Мейера. Бессобытийная выживаемость (EFS) означает время от момента начала лечения до любого проявления неэффективности лечения, в том числе прогрессирования заболевания, прерывания лечения по любой причине или смерти. В одном варианте осуществления частота общего ответа (ЧОО) означает долю пациентов, которые достигают ответа на лечение. В одном варианте осуществления ЧОО означает сумму долей пациентов, которые достигают полного и частичного ответов. В одном варианте осуществления ЧОО означает долю пациентов чей лучший ответ \geq частично-го ответа (ЧО), в соответствии с критериями равномерного ответа IMWG. В одном варианте осуществле-

ния продолжительность ответа (ПО) представляет собой время от достижения ответа до рецидива или прогрессирования заболевания. В одном варианте осуществления ПО представляет собой время от достижения ответа \geq частичного ответа (ЧО) до рецидива или прогрессирования заболевания. В одном варианте осуществления ПО представляет собой время от первого документирования ответа до первого документирования прогрессирования заболевания или смерти. В одном варианте осуществления ПО представляет собой время от первого документирования ответа \geq частичного ответа (ЧО) до первого документирования прогрессирования заболевания или смерти. В одном варианте осуществления время до развития ответа (TTR) означает время от первой дозы соединения до первого документирования ответа. В одном варианте осуществления TTR означает время от первой дозы соединения до первого документирования ответа \geq частичного ответа (ЧО). В крайнем случае, полное ингибирование, упоминается в данном документе как предупреждение или химиопреупреждение. В данном контексте, термин "предупреждение" включает либо полное предупреждение начала клинически очевидного рака или предупреждение начала доклинически очевидной стадии рака. Также предназначено для охвата данным определением предупреждение трансформации в злокачественные клетки или задержание или обращение прогрессирования доброкачественных клеток в злокачественные клетки. Это включает профилактическое лечение лиц с повышенным риском развития рака.

В контексте множественной миеломы ответ можно оценить с использованием критериев консенсуса Международной рабочей группы по миеломе (IMWG) для ответа и оценки минимального остаточного заболевания (Rajkumar et al., Blood, 2011, 117(18):4691-5; Kumar et al., Lancet Oncol., 2016,17(8):e328-e346). Критерии можно оценить следующим образом (более подробная информация доступна в Lancet Oncol., 2016, 17(8):e328-e346).

		Критерии ответа
Критерии МОБ от MWG (требуется полный ответ, как определено ниже)		
Устойчивая отрицательная	МОБ-	Отрицательность МОБ в костном мозге (NGF или NGS, или и то, и другое) и визуализацией, как определено ниже, подтвердили с интервалом минимум 1 год. Последующие оценки могут быть использованы для уточнения продолжительности отрицательности (например, МОБ-отрицательный через 5 лет)
МОБ-отрицательная на основе проточной цитометрии		Отсутствие фенотипически aberrантных клональных плазматических клеток с помощью NGF на аспиратах костного мозга с использованием стандартной операционной процедуры EuroFlow для обнаружения МОБ при множественной миеломе (или утвержденного эквивалентного метода) с минимальной чувствительностью 1 из 10^5 ядерных клеток или выше
МОБ-отрицательная на основе секвенирования		Отсутствие клональных плазматических клеток по NGS на аспирате костного мозга, в котором присутствие клона определяется как присутствие менее двух идентичных считываний секвенирования, полученных после ДНК-секвенирования аспириатов костного мозга с использованием платформы LymphoSIGHT (или утвержденного эквивалентного метода) с минимальной чувствительностью 1 в 10^5 ядерных клетках или выше
МОБ-отрицательная на основе визуализации «плюс»		МОБ-отрицательность, определяемая по NGF или NGS, плюс исчезновение каждой области индикатора повышенного поглощения, обнаруженное на исходном уровне или предшествующей ПЭТ/КТ, или уменьшение пула крови средостения SUV до меньшего, чем у окружающей нормальной ткани
Стандартные критерии ответа IMWG		

Строгий полный ответ	Полный ответ, как определено ниже, плюс нормальное соотношение СЛЦ и отсутствие клональных клеток при биопсии костного мозга по данным иммуногистохимии (отношение $\kappa/\lambda \leq 4:1$ или $\geq 1:2$ для пациентов с κ и λ , соответственно, после подсчета ≥ 100 плазматических клеток)
Полный ответ	Отрицательная иммунофиксация в сыворотке и моче и исчезновение любых плазмочитом мягких тканей и $<5\%$ плазматических клеток в аспиратах костного мозга
Очень хороший частичный ответ	М-белок в сыворотке и моче, обнаруживаемые с помощью иммунофиксации, но не с помощью электрофореза или $\geq 90\%$ снижения уровня М-белка в сыворотке и моче <100 мг в течение 24 часов
Частичный ответ	Снижение М-белка в сыворотке $\geq 50\%$ и снижение М-белка в моче $\geq 90\%$ или до <200 мг в течение 24 ч.; Если М-белок в сыворотке и моче является неизмеримым, $\geq 50\%$ требуется уменьшение разницы между вовлеченными и невовлеченными уровнями СЛЦ вместо критериев М-белка; Если М-белок в сыворотке и моче является неизмеримым, и облегченный бессывороточный анализ является также неизмеримым, требуется уменьшение плазматических клеток $\geq 50\%$ вместо М-белка, при условии, базовый процент плазматических клеток костного мозга был $\geq 30\%$. В дополнение к данным критериям, также требуется уменьшение размера (SPD) плазмочитом мягких тканей $\geq 50\%$, если они присутствуют на базовой линии
Минимальный ответ	Снижение сывороточного М-белка на $\geq 25\%$, но $\leq 49\%$ и снижение М-белка в суточной моче на 50-89%. В дополнение к перечисленным выше критериям, также требуется уменьшение размера (SPD) плазмочитом мягких тканей $\geq 50\%$, если они присутствуют на базовой линии

Стабильное заболевание	Не рекомендуется для использования в качестве индикатора ответа; устойчивость болезни лучше всего описывается путем оценки времени до прогрессирования заболевания. Несоответствие критериям полного ответа, очень хорошего частичного ответа, частичного ответа, минимального ответа или прогрессирующего заболевания
Прогрессирующее заболевание	<p>Любой один или более из следующих критериев:</p> <p>Увеличение на 25% от самого низкого значения подтвержденного ответа по одному или более из следующих критериев:</p> <p>М-белок сыворотки (абсолютное увеличение должно составлять $\geq 0,5$ г/дл);</p> <p>Увеличение М-белка сыворотки ≥ 1 г/дл, если самый низкий компонент М был ≥ 5 г/дл;</p> <p>М-белок в моче (абсолютное увеличение должно составлять ≥ 200 мг/24 ч);</p> <p>У пациентов без поддающихся измерению уровней М-белка в сыворотке и моче - разница между уровнями вовлеченных и не вовлеченных СЛЦ (абсолютное увеличение должно составлять > 10 мг/дл);</p> <p>У пациентов без измеряемых уровней М-белка в сыворотке и моче и без измеряемых уровней вовлеченных СЛЦ, процент плазматических клеток костного мозга независимо от исходного состояния (абсолютное увеличение должно составлять $\geq 10\%$);</p> <p>Появление нового поражения, увеличение на $\geq 50\%$ от надира в SPD > 1 поражения или увеличение на $\geq 50\%$ самого длинного диаметра предыдущего поражения > 1 см по короткой оси;</p> <p>$\geq 50\%$ увеличение количества циркулирующих плазматических клеток (минимум 200 клеток на мкл), если это единственный показатель заболевания</p>
Клинический рецидив	Клинический рецидив требует наличия одного или более из следующих критериев:

	<p>Прямые индикаторы увеличения заболевания и/или дисфункции конечных органов (признаки CRAB), связанные с лежащим в основе клональным нарушением пролиферации плазматических клеток. Он не используется для расчета времени до прогрессирования или выживаемости без прогрессирования, но указан как нечто, о чем можно сообщать по желанию или для использования в клинической практике;</p> <p>Развитие новых плазмоцитом мягких тканей или поражений костей (остеопоротические переломы не считаются прогрессированием);</p> <p>Определенное увеличение размера существующих плазмоцитом или костных поражений. Определенное увеличение определяется как увеличение на 50% ($n \geq 1$ см), измеряемое серийно с помощью SPD измеряемого поражения;</p> <p>Гиперкальциемия (> 11 мг/дл);</p> <p>Снижение гемоглобина ≥ 2 г/дл, не связанное с терапией или другими состояниями, не связанными с миеломой;</p> <p>Повышение уровня креатинина сыворотки на 2 мг/дл или более с начала терапии, что может быть связано с миеломой;</p> <p>Гипервязкость, связанная с парапротеином сыворотки</p>
<p>Рецидив после полного ответа (используется только в том случае, если конечной точкой является выживаемость без заболевания)</p>	<p>Любой один или более из следующих критериев:</p> <p>Повторное появление М-белка в сыворотке или моче при иммунофиксации или электрофорезе;</p> <p>Развитие $\geq 5\%$ плазматических клеток в костном мозге;</p> <p>Появление любых других признаков прогрессирования (например, новой плазмоцитомы, литического поражения кости или гиперкальциемии, см. выше)</p>
<p>Рецидив после МОБ-отрицательного (используется только в том случае, если конечной точкой является выживаемость без заболевания)</p>	<p>Любой один или более из следующих критериев:</p> <p>Потеря МОБ-отрицательного (свидетельство наличия клональных плазматических клеток на NGF или NGS, или положительное визуализационное исследование на предмет рецидива миеломы);</p> <p>Повторное появление М-белка в сыворотке или моче при иммунофиксации или электрофорезе;</p> <p>Развитие $\geq 5\%$ клональных плазматических клеток в костном мозге;</p> <p>Появление любых других признаков прогрессирования (например, новой плазмоцитомы, литического поражения кости или гиперкальциемии)</p>

O3=минимальное остаточное заболевание. NGF=проточная цитометрия следующего поколения. NGS=секвенирование следующего поколения. СЛЦ=свободная легкая цепь. М-белок=миеломный белок. SPD=сумма произведений максимальных перпендикулярных диаметров измеренных повреждений. Признаки CRAB=повышение уровня кальция, почечная недостаточность, анемия, литические поражения костей. FCM=проточная цитометрия. SUVmax=максимальное стандартизованное значение поглощения. ^{18}F -FDG PET= ^{18}F -фтордезоксиглюкоза PET.

Как используется в данном документе, "индукционная терапия" относится к первому лечению данного заболевания, или первому лечению, оказанному с целью индукции полной ремиссии заболевания, такого как рак. В случае использования отдельно, принято, что индукционная терапия является наилуч-

шим имеющимся лечением. Если обнаружен остаточный рак, пациенты подвергаются лечению другой химиотерапией, называемой реиндукционной. Если пациент находится в состоянии полной ремиссии после индукционной терапии, затем проводится дополнительная укрепляющая и/или поддерживающая терапия, чтобы продлить ремиссию или потенциально вылечить пациента.

Как используется в данном документе, термин "закрепляющая терапия" относится к лечению заболевания после достижения первой ремиссии. Например, закрепляющей терапией рака является лечение, проводимое после того, как рак исчез после начальной терапии. Закрепляющая терапия может включать лучевую терапию, трансплантацию стволовых клеток или лечение лекарствами от рака. Закрепляющую терапию также называют усиливающей терапией и постремиссионной терапией.

Как используется в данном документе, термин "поддерживающая терапия" относится к лечению заболевания после достижения ремиссии или наилучшего ответа для предотвращения или задержки рецидива. Поддерживающая терапия может включать химиотерапию, гормональную терапию или целенаправленную терапию.

Используемый в данном документе термин "контрольный уровень" предназначен для обозначения контрольного уровня биомаркера, используемого для оценки исследуемого уровня биомаркера в образце от индивидуума. Контрольный уровень может быть нормальным контрольным уровнем в образце от нормального субъекта или контрольным уровнем заболевания от субъекта с патологическим состоянием. Нормальный контрольный уровень - это степень экспрессии биомаркера у субъекта или субъектов без заболевания. Контрольный уровень патологического состояния - это степень экспрессии биомаркера у субъекта с положительным диагнозом заболевания или состояния. Контрольный уровень также может быть контрольным уровнем для конкретной стадии. Контрольный уровень для конкретной стадии относится к уровню биомаркера, характерного для данной стадии прогрессирования заболевания или состояния. Контрольный уровень также может представлять собой количество экспрессии биомаркера до лечения или в другое время во время лечения. Например, контрольным уровнем может быть уровень экспрессии биомаркера в костном мозге до лечения. В другом примере контрольным уровнем может быть экспрессия биомаркера в крови в определенный момент во время или после лечения.

Термины "вероятно" или "вероятность" обычно относятся к увеличению вероятности события. Термин "вероятно", когда он используется в отношении восприимчивости пациента, обычно предполагает повышенную вероятность того, что пациент будет восприимчивым к лечебному соединению. Термин "вероятно", когда он используется в отношении восприимчивости пациента, также может обычно означать повышение уровня биомаркеров, таких как экспрессия мРНК или белка, что может свидетельствовать об повышении вероятности того, что пациент будет восприимчивым к лечебному соединению.

Термины "прогнозировать" или "прогнозирование", как они используются в данном документе, обычно означают определение или определение заранее. Когда используется, например, для "прогнозирования" восприимчивости лечения, термин "прогнозирование" может означать, что вероятность ответа или отсутствия ответа на лечение рака может быть определена в самом начале, до начала лечения, или до того, как период лечения существенно продвинулся.

Термины "мониторинг" или "мониторить", используемые в данном документе, обычно относятся к надзору, супервизии, регулированию, наблюдению, отслеживанию или контролю за активностью. Например, термин "мониторинг эффективности соединения" относится к отслеживанию эффективности при лечении рака у пациента или в культуре опухолевых клеток. Аналогичным образом, термин "мониторинг", когда он используется в связи с соблюдением пациентом режима лечения, индивидуально или в клинических испытаниях, относится к отслеживанию или подтверждению того, что пациент действительно принимает исследуемое лекарство в соответствии с предписаниями. Мониторинг можно проводить, например, путем отслеживания экспрессии мРНК или белковых биомаркеров.

Используемые в данном документе термины "активация Т-клеток" и "активированные Т-клетки" предназначены для обозначения клеточной активации покоящихся наивных Т-клеток в эффекторные Т-клетки, которые способны вызывать гибель опухолевых клеток. Активация Т-клеток может быть инициирована взаимодействием комплекса Т-клеточный рецептор (ТКР)/CD3 с антигеном. Типичная активированная Т-клетка демонстрирует клеточные ответы, которые включают пролиферацию клеток, секрецию цитокинов и/или эффекторную функцию, но не ограничиваются ими. В контексте настоящей заявки активация Т-клеток может быть вызвана введением Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3.

Используемый в данном документе термин "цитокин, ассоциированный с активацией Т-клеток" относится к любому из многочисленных факторов, которые секретируются активированными Т-клетками или чья секреция увеличивается в активированных Т-клетках по сравнению с покоящимися наивными Т-клетками. Неограничивающие примеры цитокинов, ассоциированных с активацией Т-клеток, включают IL-2, IFN γ и TNF α .

Используемый в данном документе термин "регулировать" относится к контролю активности молекулы или биологической функции, такому как усиление или уменьшение активности или функции.

"Биологический маркер" или "биомаркер" - это вещество, обнаружение которого указывает на конкретное биологическое состояние, такое как, например, наличие рака. Типичные биомаркеры можно определить индивидуально. Понятно, что несколько биомаркеров можно измерять одновременно. Обычно

му специалисту будет понятно, что "биомаркер" указывает на изменение уровня экспрессии мРНК, которое может коррелировать с ответом на лечение или вероятностью ответа пациента на лечение. Биомаркером может быть нуклеиновая кислота, такая как мРНК или кДНК. Биомаркером также может быть белок. Конкретным примером биомаркера являются одна или более опухолевых клеток, которые циркулируют в периферической крови (т.е., циркулирующие опухолевые клетки, ЦОК). Биомаркером также может быть изменение структуры или последовательности гена, приводящее к вариантной форме, вызванной изменением одноосновных блоков ДНК или делецией, вставкой или перегруппировкой более крупных участков генов или хромосом.

Дополнительным типичным "биомаркером" является тот, который указывает на изменение уровня экспрессии полипептида или белка, которое может коррелировать с ответом на лечение или вероятностью ответа пациента на лечение. Биомаркер может представлять собой полипептид или белок, или их фрагмент. Относительный уровень конкретных белков можно определить способами, известными в данной области. Например, можно использовать методы на основе антител, такие как иммуноблоттинг, твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА) или другие методы.

Термины "полипептид" и "белок", используемые в данном документе взаимозаменяемо, относятся к полимеру из трех или более аминокислот в последовательном массиве, связанных пептидными связями. Термин "полипептид" включает белки, фрагменты белков, аналоги белков, олигопептиды и т.п. Используемый в данном документе термин "полипептид" может также относиться к пептиду. Аминокислоты, составляющие полипептид, могут быть получены естественным путем или могут быть синтетическими. Полипептид можно очистить из биологического образца. Полипептид, белок или пептид также охватывают модифицированные полипептиды, белки и пептиды, например гликополипептиды, гликопротеины или гликопептиды; или липополипептиды, липопротеины или липопептиды.

Термины "антитело", "иммуноглобулин" или "Ig", используемые в данном документе взаимозаменяемо, охватывают антитела полной сборки и фрагменты антител, которые сохраняют способность специфически связываться с антигеном. Предоставленные в данном документе антитела включают синтетические антитела, моноклональные антитела, поликлональные антитела, рекомбинантно полученные антитела, мультиспецифические антитела (включая биспецифические антитела), человеческие антитела, гуманизированные антитела, химерные антитела, интратела, одноцепочечные Fv (scFv) (например, включая моноспецифические, биспецифические и т.д.), верблюжьи антитела, Fab-фрагменты, F(ab')-фрагменты, дисульфидно-связанные Fv (sdFv), антиидиотипические (анти-Id) антитела и эпитоп-связывающие фрагменты любого из вышеперечисленных, но не ограничиваются ими. В частности, предложенные в данном документе антитела включают молекулы иммуноглобулинов и иммунологически активные части молекул иммуноглобулинов, то есть, антигенсвязывающие домены или молекулы, которые содержат антигенсвязывающий сайт, который иммуноспецифически связывается с антигеном CRBN (например, одна или более областей, определяющих комплементарность (CDR) антитела против CRBN). Иммуноглобулины могут состоять из тяжелых и легких цепей. Предложенные в данном документе антитела могут относиться к любому классу (например, IgG, IgE, IgM, IgD и IgA) или к любому подклассу (например, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ и IgA₂) молекулы иммуноглобулина. В некоторых вариантах осуществления антитела против CRBN являются полностью человеческими, такими как полностью человеческие моноклональные антитела против CRBN. В некоторых вариантах реализации антитела, предложенные в настоящем документе, представляют собой антитела IgG или их подкласс (например, человеческий IgG1 или IgG4). В других вариантах осуществления предложенные в данном документе антитела включают молекулы иммуноглобулинов и иммунологически активные части молекул иммуноглобулинов, то есть, антигенсвязывающие домены или молекулы, которые содержат антигенсвязывающий сайт, который иммуноспецифически связывается с Aiolos, Ikaros, c-MYC, IRF4, каспазой-3, BCMA, свободными легкими цепями каппа или свободными легкими цепями лямбда.

Термины "легкая цепь иммуноглобулина" или "легкая цепь" относятся к малой полипептидной субъединице антитела. Легкая цепь может быть легкой цепью лямбда или легкой цепью каппа. Когда легкая цепь присоединена к тяжелой цепи, легкие цепи называют "связанными легкими цепями". Когда легкие цепи не присоединены к тяжелой цепи, их называют "свободными легкими цепями (СЛЦ)". Когда свободные легкие цепи могут быть обнаружены в сыворотке или плазме пациента, их называют "свободными легкими цепями в сыворотке" или "свободными легкими цепями в плазме".

Кроме того, понятно, что "свободные легкие цепи в сыворотке" можно также назвать "растворимыми свободными легкими цепями". Специалисту в данной области будет понятно, что количество свободной легкой цепи в сыворотке или плазме пропорционально степени тяжести заболевания, когда заболевание представляет собой множественную миелому. Также понятно, что уровни свободной легкой цепи или отношение свободной легкой цепи каппа к свободной легкой цепи лямбда могут быть использованы для мониторинга или диагностики миеломы. Например, снижение патологически высоких уровней свободной легкой цепи каппа до уровней свободной легкой цепи лямбда в сыворотке пациента с множественной миеломой, которого лечат Соединением 2, можно использовать для мониторинга эффективности лечения Соединением 2. Аналогичным образом, увеличение количества свободных легких цепей у пациента, которого лечат другим соединением, таким как леналидомид, может указывать на устойчивость к

лечению и может служить прогностическим фактором ответа на Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3.

Термины "антигенсвязывающий домен", "антигенсвязывающая область", "антигенсвязывающий фрагмент" и аналогичные термины относятся к части антигена, которая содержит аминокислотные остатки, которые взаимодействуют с антигеном и придают связывающему агенту его специфичность и аффинность к антигену (например, CDR). Антигенсвязывающая область может происходить от животных любого вида, таких как грызуны (например, кролик, крыса или хомяк) и человек. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающая область имеет человеческое происхождение.

Используемый в данном документе термин "эпитоп" относится к локализованной области на поверхности антигена, которая способна связываться с одной или более антигенсвязывающими областями антигена, обладающего антигенной или иммуногенной активностью у животного, такого как млекопитающее (например, человек), и которое способно вызывать иммунный ответ. Эпитоп, обладающий иммуногенной активностью, представляет собой часть полипептида, которая вызывает ответ антигеном у животного. Эпитоп, обладающий антигенной активностью, представляет собой часть полипептида, с которой иммуноспецифически связывается антитело, что определяется любым методом, хорошо известным в данной области, например, с помощью описанных в данном документе иммуноанализов. Антигенные эпитопы необязательно должны быть иммуногенными. Эпитопы обычно состоят из химически активных поверхностных групп молекул, таких как аминокислоты или боковые цепи сахара, и имеют специфические трехмерные структурные характеристики, а также специфические зарядовые характеристики. Участок полипептида, который входит в эпитоп, может представлять собой смежные аминокислоты полипептида, или эпитоп может состоять из двух или более несмежных участков полипептида. Эпитоп может быть или не быть трехмерной поверхностной структурой антигена.

Термины "цереблон" или "CRBN" и аналогичные термины относятся к полипептидам (термины "полипептиды", "пептиды" и "белки" используются в данном документе взаимозаменяемо), содержащим аминокислотную последовательность любого CRBN, такого как белок CRBN человека (например, изоформа 1 CRBN человека, номер доступа в GenBank NP_057386 или изоформа 2 CRBN человека, номер доступа в GenBank NP_001166953, каждая из которых полностью включена в настоящий документ посредством ссылки), и схожим полипептидам, включая их ОНП-варианты. Схожие с CRBN полипептиды включают аллельные варианты (например, ОНП-варианты), варианты сплайсинга, фрагменты, производные, вариант замены, вариант делеции, вариант вставки, слитые полипептиды и межвидовые гомологи, которые в некоторых вариантах осуществления сохраняют активность CRBN и/или являются достаточными для создания иммунного ответа против CRBN.

Используемый в данном документе термин "белок, связанный с цереблоном" или "CAP" относится к белку, который прямо или косвенно взаимодействует с цереблоном (CRBN) или связывается с ним. Например, этот термин относится к любому белку, который напрямую связывается с цереблоном, а также к любому белку, который является косвенным нижестоящим эффектором каскада реакций CRBN. Примером CAP является субстрат CRBN, например белковый субстрат комплекса убиквитин-лигазы E3, включающий CRBN, такой как IKZF1, IKZF3, ZFP91, или их нижестоящие эффекторные белки, такие как c-Myc или IRF4.

Используемый в данном документе термин "соединение-модулятор цереблона" относится к соединению, которое связывается с CRBN и изменяет его активность или субстратную специфичность. Например, связывание соединения-модулятора цереблона может увеличить разрушение IKZF1, IKZF3, ZFP91, IRF4 или c-MYC. Типичные соединения-модуляторы цереблона могут представлять собой леналидомид, помалидомид или подобное соединение, но не ограничиваются ими.

Используемый в данном документе термин "мутация" относится к любому изменению структуры гена, приводящему к вариантной (также называемой "мутантной") форме. Мутации в гене могут быть вызваны чередованием одного основания в ДНК или делецией, вставкой или перегруппировкой больших участков генов или хромосом. В некоторых вариантах осуществления мутация может повлиять на функцию или полученный белок. Например, мутация одного нуклеотида ДНК (т.е. точечная мутация) в кодирующей области белка может привести к образованию кодона, который кодирует другую аминокислоту (т.е. миссенс-мутация). Эта другая аминокислота может изменять структуру белка таким образом, что соединение или его производные не могут связывать и/или ингибировать белок.

Термин "клональность Т-клеточного рецептора (ТКР)" относится к соматическому изменению конфигурации зародышевой линии генов Т-клеточного рецептора до уникальной конфигурации, чтобы обеспечить развитие клона Т-клеток с Т-клеточным рецептором, специфичным для данного антигена. Гены Т-клеточного рецептора (альфа, бета, дельта и гамма) могут быть соматически перегруппированы с образованием гетеродимерных Т-клеточных рецепторов на поверхности клетки.

Соматические перегруппировки гена ТКР могут приводить к размножению различных клонов (поликлональных) или к моноклональному размножению популяции Т-клеток с одним паттерном перегруппировки ТКР. Клональность ТКР может быть определена стандартными методами в молекулярной биологии, такими как ПЦР, Саузерн-блоттинг или секвенирование ТКР (например, секвенирование следующего поколения).

Термин "растворимый" относится к формам биологической молекулы, которые находятся во внеклеточном пространстве (например, в сыворотке), а не на поверхности клетки. Термин "растворимый антиген созревания В-клеток", "растворимый ВСМА (sBCMA)", "растворимый CD25" или "растворимый рецептор IL-2 (sIL-2R)" относятся к растворимым белкам, которые являются высвобожденной формой белков и присутствуют в сыворотке крови.

Используемый в данном документе термин "экспрессируемый" или "экспрессия" относится к транскрипции гена с получением молекулы нуклеиновой кислоты РНК, по меньшей мере, частично комплементарной области одной из двух цепей нуклеиновой кислоты гена. Термин "экспрессируемый" или "экспрессия" в контексте настоящего описания также относится к трансляции молекулы РНК с получением белка, полипептида или их части.

Термин "уровень" относится к количеству, накоплению или показателю молекулы биомаркера. Уровень может быть представлен, например, количеством или показателем синтеза информационной РНК (мРНК), кодируемой геном, количеством или показателем синтеза полипептида или белка, кодируемого геном, или количеством или показателем синтеза биологической молекулы, накопленной в клетке или биологической жидкости. Термин "уровень" относится к абсолютному количеству молекулы в образце или относительному количеству молекулы, определенному в стационарных или нестационарных условиях.

"Увеличение" уровня мРНК обычно происходит при данном лечении или состоянии. "Уменьшение" уровня мРНК обычно относится к снижению уровня экспрессии мРНК в ответ на данное лечение или состояние. В некоторых ситуациях уровень мРНК может оставаться неизменным при данном лечении или состоянии. Уровень мРНК из образца пациента может быть "увеличен" при лечении лекарственным средством по сравнению с контролем без лечения. Это увеличение может быть, например, увеличением на примерно 5%, примерно 10%, примерно 20%, примерно 30%, примерно 40%, примерно 50%, примерно 60%, примерно 70%, примерно 80%, примерно 90%, примерно 100%, примерно 200%, примерно 300%, примерно 500%, примерно 1000%, примерно 5000% или более от сравнительного контрольного уровня мРНК. Альтернативно, уровень мРНК может "уменьшаться" или экспрессироваться на более низком уровне в ответ на введение определенных соединений или других агентов. Уменьшенный уровень мРНК может, например, присутствовать на уровне примерно 99%, примерно 95%, примерно 90%, примерно 80%, примерно 70%, примерно 60%, примерно 50%, примерно 40%, примерно 30%, примерно 20%, примерно 10%, примерно 1% или менее от сравнительного контрольного уровня мРНК.

Точно так же уровень полипептида или белкового биомаркера в образце пациента может быть увеличен при лечении лекарственным средством по сравнению с контролем без лечения. Это увеличение может составлять примерно 5%, примерно 10%, примерно 20%, примерно 30%, примерно 40%, примерно 50%, примерно 60%, примерно 70%, примерно 80%, примерно 90%, примерно 100%, примерно 200%, примерно 300%, примерно 500%, примерно 1000%, примерно 5000% или более от сравнительного контрольного уровня белка. В качестве альтернативы уровень белкового биомаркера можно снизить в ответ на введение определенных соединений или других агентов. Это снижение может быть, например, на уровне примерно 99%, примерно 95%, примерно 90%, примерно 80%, примерно 70%, примерно 60%, примерно 50%, примерно 40%, примерно 30%, примерно 20%, примерно 10%, примерно 1% или менее от сравнительного контрольного уровня полипептида или белка.

Кроме того, уровень ЦКО в образце пациента может снижаться в ответ на введение определенных соединений или других агентов. Это снижение может, например, присутствовать на уровне примерно 99%, примерно 95%, примерно 90%, примерно 80%, примерно 70%, примерно 60%, примерно 50%, примерно 40%, примерно 30%, примерно 20%, примерно 10%, примерно 1% или менее от сравнительного контрольного уровня ЦКО.

Последовательность ДНК ТКР или клональность ТКР также может быть увеличена при лечении лекарственным средством по сравнению с контролем без лечения. Соматические перегруппировки гена ТКР могут приводить к размножению различных клонов (поликлональных) или к моноклональному размножению популяции Т-клеток с одним паттерном перегруппировки ТКР. Это увеличение количества конкретных клонов может составлять примерно 5%, примерно 10%, примерно 20%, примерно 30%, примерно 40%, примерно 50%, примерно 60%, примерно 70%, примерно 80%, примерно 90%, примерно 100%, примерно 200%, примерно 300%, примерно 500%, примерно 1000%, примерно 5000% или более от сравнительного контрольного клональности ТКР.

Термины "определение", "измерение", "оценивание", "оценка" и "анализирование", используемые в данном документе, обычно относятся к любой форме измерения и включают определение того, присутствует ли элемент или нет. Эти термины включают количественное и/или качественное определение. Оценка может быть относительной или абсолютной. "Оценка наличия" может включать определение количества чего-либо присутствующего, а также определение присутствует ли оно или отсутствует.

Термины "нуклеиновая кислота" и "полинуклеотид" используются в данном документе взаимозаменяемо для описания полимера любой длины, состоящего из нуклеотидов, например, дезоксирибонуклеотидов или рибонуклеотидов, или соединений, полученных синтетическим путем, которые могут гибридизоваться с встречающимися в природе нуклеиновыми кислотами специфическим для последова-

тельности способом, аналогичным гибридизации двух встречающихся в природе нуклеиновых кислот, например, могут участвовать во взаимодействиях при спаривании оснований по Уотсону-Крику. Используемый в данном документе в контексте полинуклеотидной последовательности термин "основания" (или "основание") является синонимом "нуклеотидов" (или "нуклеотида"), то есть, мономерной субъединицы полинуклеотида. Термины "нуклеозид" и "нуклеотид" предназначены для включения тех фрагментов, которые содержат не только известные пуриновые и пиримидиновые основания, но также другие гетероциклические основания, которые были модифицированы. Такие модификации включают метилированные пурины или пиримидины, ацилированные пурины или пиримидины, алкилированные рибозы или другие гетероциклические соединения. Кроме того, термины "нуклеозид" и "нуклеотид" включают те фрагменты, которые содержат не только обычные сахара рибозы и дезоксирибозы, но также и другие сахара. Модифицированные нуклеозиды или нуклеотиды также включают модификации сахарного фрагмента, например, в которых одна или более гидроксильных групп заменены атомами галогена или алифатическими группами, или функционализированы как простые эфиры, амины, или тому подобное. "Аналоги" относятся к молекулам, имеющим структурные особенности, которые признаны в литературе миметиками, производными, имеющими аналогичные структуры, или другим подобным терминам, и включают, например, полинуклеотиды, включающие неприродные нуклеотиды, нуклеотидные миметики, такие как 2'-модифицированные нуклеозиды, пептидные нуклеиновые кислоты, олигомерные нуклеозидфосфонаты, и любой полинуклеотид, в который добавлены группы заместителей, такие как защитные группы или связывающие фрагменты.

Термин "комплементарный" относится к специфическому связыванию полинуклеотидов на основе последовательностей полинуклеотидов. В данном контексте первый полинуклеотид и второй полинуклеотид являются комплементарными, если они связываются друг с другом в анализе гибридизации в жестких условиях, например, если они производят заданный или определяемый уровень сигнала в анализе гибридизации. Части полинуклеотидов комплементарны друг другу, если они следуют обычным принципам спаривания оснований, например, А образует пару с Т (или U) и G образует пару с С, хотя могут присутствовать небольшие области (например, менее чем примерно 3 основания) несовпадения, вставки или удаленной последовательности.

"Идентичность последовательностей" или "идентичность" в контексте двух последовательностей нуклеиновых кислот относится к остаткам в двух последовательностях, которые являются одинаковыми при выравнивании для максимального соответствия в указанном окне сравнения, и могут учитывать добавления, делеции и замены.

Термин "значительная степень идентичности" или "гомологичный" в их различных грамматических формах в контексте полинуклеотидов обычно означает, что полинуклеотид включает последовательность, которая имеет желаемую идентичность, например, по меньшей мере 60% идентичности, по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности и по меньшей мере 95% идентичности по сравнению с эталонной последовательностью. Другим признаком того, что нуклеотидные последовательности практически идентичны, является то, что две молекулы гибридизуются друг с другом в жестких условиях.

Термины "выделенный" и "очищенный" относятся к выделению вещества (такого как мРНК, ДНК или белок), так что вещество составляет значительную часть образца, в котором оно находится, то есть больше, чем часть вещества, которая обычно находится в его естественном или невыделенном состоянии. Как правило, значительная часть образца включает, например, более 1%, более 2%, более 5%, более 10%, более 20%, более 50% или более, обычно до примерно 90-100% образца. Например, образец выделенной мРНК обычно может содержать по меньшей мере примерно 1% общей мРНК. Способы очистки полинуклеотидов хорошо известны в данной области и включают, например, гель-электрофорез, ионообменную хроматографию, аффинную хроматографию, проточную сортировку и седиментацию по плотности.

Используемый в данном документе термин "связанный" означает прямое или косвенное прикрепление. В контексте химических структур "связанный" (или "связан") может относиться к существованию химической связи, непосредственно соединяющей два фрагмента или косвенно соединяющей два фрагмента (например, по средством связывающей группы или любой другой промежуточной части молекулы). Химическая связь может быть ковалентной связью, ионной связью, координационным комплексом, водородной связью, взаимодействиями Ван-дер-Ваальса или гидрофобным стэкингом, или может проявлять характеристики нескольких типов химических связей. В некоторых случаях "связанный" включает варианты осуществления, в которых прикрепление является прямым, и варианты осуществления, в которых прикрепление является косвенным.

Используемый в данном документе термин "образец" относится к материалу или смеси материалов, как правило, хотя и не обязательно, в жидкой форме, содержащей один или несколько представляющих интерес компонентов.

"Биологический образец" в контексте настоящего описания относится к образцу, полученному от биологического субъекта, включая образец биологической ткани или жидкости, полученный, вытянутый или собранный *in vivo* или *in situ*. Биологический образец также включает образцы из области биологи-

ческого субъекта, содержащей предраковые или раковые клетки или ткани. Такими образцами могут быть органы, ткани и клетки, выделенные от млекопитающего, но не ограничиваясь ими. Примеры биологических образцов включают клеточный лизат, культуру клеток, линию клеток, ткань, ткань ротовой полости, ткань желудочно-кишечного тракта, орган, органеллу, биологическую жидкость, образец крови, образец мочи, образец кожи и тому подобное, но не ограничиваются ими. Предпочтительные биологические образцы включают цельную кровь, частично очищенную кровь, РВМС, биопсии тканей, включая биопсию костного мозга, аспират костного мозга, изолированные моноклеарные клетки костного мозга, циркулирующие опухолевые клетки и т.п., но не ограничиваются ими.

Термин "циркулирующие опухолевые клетки (ЦКО)" в контексте настоящего описания относится к клеткам множественной миеломы, обнаруженным в периферической крови, которые отделились от опухолевых клеток в костном мозге. В некоторых вариантах осуществления ЦКО могут служить биомаркером ответа и прогнозирования дальнейшего течения болезни. В других вариантах осуществления биомаркером может быть мутационный ландшафт ЦОК при ММ.

Используемый в данном документе термин "аналит" относится к известному или неизвестному компоненту образца.

Используемый в данном документе термин "агент захвата" относится к агенту, который связывает мРНК или белок посредством взаимодействия, достаточного для того, чтобы позволить агенту связываться и концентрировать мРНК или белок из гетерогенной смеси.

Используемый в данном документе термин "зонд" относится к агенту захвата, который направлен на конкретную последовательность биомаркера мРНК-мишени. Соответственно, каждый зонд из набора зондов имеет соответствующий биомаркер мРНК-мишени. Дуплекс зонд/мРНК-мишень представляет собой структуру, образованную путем гибридизации зонда с его биомаркером мРНК-мишени.

Термин "зонд нуклеиновой кислоты" или "олигонуклеотидный зонд" относится к нуклеиновой кислоте, способной связываться с нуклеиновой кислотой-мишенью комплементарной последовательности, такой как биомаркеры мРНК, предложенные в данном документе, обычно посредством комплементарного спаривания с образованием водородной связи. Используемый в данном документе зонд может включать природные (например, А, G, C или T) или модифицированные основания (7-дезагуанозин, инозин и т.д.). Кроме того, основания в зонде могут быть соединены связью, отличной от фосфодиэфирной связи, при условии, что это не мешает гибридизации. Специалисту в данной области будет понятно, что зонды могут связываться с последовательностями-мишенями, не имеющими полной комплементарности с последовательностью зонда, в зависимости от жесткости условий гибридизации. Зонды предпочтительно непосредственно помечены метками, например хромофорами, люминофорами, хромогенами, или косвенно помечены биотином, с которым впоследствии может связываться стрептавидиновый комплекс. Анализируя наличие или отсутствие зонда, можно обнаружить наличие или отсутствие представляющего интерес биомаркера мРНК-мишени.

Термин "жесткие условия анализа" относится к условиям, которые совместимы для получения связывающихся пар нуклеиновых кислот, например, зондов и мРНК-мишеней, с достаточной комплементарностью, чтобы обеспечить желаемый уровень специфичности в анализе, но в целом несовместимы для образования связывающихся пар между участниками связывания с недостаточной комплементарностью для обеспечения желаемой специфичности. Термин "жесткие условия анализа" обычно относится к комбинации условий гибридизации и отмывки.

"Метка" или "детектируемый фрагмент" применительно к нуклеиновой кислоте относится к композиции, которая, будучи связана с нуклеиновой кислотой, делает нуклеиновую кислоту детектируемой, например, спектроскопическими, фотохимическими, биохимическими, иммунохимическими или химическими способами. Примеры меток включают радиоактивные изотопы, магнитные шарики, металлические шарики, коллоидные частицы, флуоресцентные красители, ферменты, биотин, дигоксигенин, гаптенны и т.п., но не ограничиваются ими. "Меченая нуклеиновая кислота или олигонуклеотидный зонд" обычно представляет собой зонд, который связан либо ковалентно через линкер или химическую связь, либо нековалентно через ионные связи, силы Ван-дер-Ваальса, электростатическое притяжение, гидрофобные взаимодействия или водородные связи с меткой таким образом, что присутствие нуклеиновой кислоты или зонда может быть обнаружено путем обнаружения наличия метки, связанной с нуклеиновой кислотой или зондом.

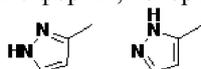
Термин "полимеразная цепная реакция" или "ПЦР", используемый в данном документе, обычно относится к процедуре, при которой небольшие количества нуклеиновой кислоты, РНК и/или ДНК, амплифицируются, как описано, например, в патенте США № 4683195. Обычно должна быть доступна информация о последовательностях с концов или за пределами интересующей области, чтобы можно было конструировать олигонуклеотидные праймеры; эти праймеры будут идентичны или аналогичны по последовательности противоположным цепям матрицы, подлежащей амплификации. 5'-концевые нуклеотиды двух праймеров могут совпадать с концами амплифицированного материала. ПЦР может использоваться для амплификации конкретных последовательностей РНК, конкретных последовательностей ДНК из общей геномной ДНК и кДНК, транскрибируемой из общей клеточной РНК, бактериофага или последовательностей плазмиды, и т.д. См. в целом Mullis et al., Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 1987,

51:263-273; PCR Technology (Stockton Press, NY, Erlich, ed., 1989).

Термин "номер цикла" или "С_T", когда он используется в данном документе в отношении методов ПЦР, относится к номеру цикла ПЦР, при котором уровень флуоресценции превышает заданный установленный пороговый уровень. Измерение С_T может использоваться, например, для приблизительного определения уровней мРНК в исходном образце. Под измерением С_T часто имеют в виду "dС_T" или оценку "разницы в С_T", когда С_T одной нуклеиновой кислоты вычитается из С_T другой нуклеиновой кислоты.

Используемые в данном документе термины "соединение" и "лечебное соединение" используются взаимозаменяемо и включают Соединение 1, Соединение 2, Соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

"Таутомер" в контексте настоящего описания относится к изомерным формам соединения, которые находятся в равновесии друг с другом. Концентрации изомерных форм будут зависеть от окружения, в котором находится соединение, и могут быть различными 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 являются таутомерами друг друга:



Как используется в данном документе и если не указано иное, термин "фармацевтически приемлемые соли" включают соли аминов, таких как, но не ограничиваясь ими, N,N'-дибензилэтилендиамин, хлорпрокаин, холин, аммиак, диэтаноламин и другие гидроксиалкиламины, этилендиамин, N-метилглюкамин, прокаин, N-бензилфенетиламин, 1-пара-хлорбензил-2-пирролидин-1'-илметилбензимидазол, диэтиламин и другие алкиламины, пиперазин и трис(гидроксиметил)аминометан; соли щелочных металлов, таких как, но не ограничиваясь ими, литий, калий и натрий; соли щелочноземельных металлов, таких как, но не ограничиваясь ими, барий, кальций и магний; соли переходных металлов, таких как, но не ограничиваясь ими, цинк; и соли других металлов, таких как, но не ограничиваясь ими, гидрофосфат натрия и динатрийфосфат; и также включают, но не ограничиваясь ими, соли минеральных кислот, такие как, но не ограничиваясь ими, гидрохлориды и сульфаты; и соли органических кислот, такие как, но не ограничиваясь ими, ацетаты, лактаты, малаты, тартраты, цитраты, аскорбаты, сукцинаты, бутираты, валераты, fumarаты и органические сульфонаты, но не ограничиваются ими.

Если конкретно не указано иное, в том случае, когда у соединения можно предположить существование альтернативных таутомерных, региоизомерных и/или стереоизомерных форм, все альтернативные изомеры охватываются в пределах объема заявленного объекта изобретения. Например, где соединение может иметь одну из двух таутомерных форм, предполагается, что в данное описание будут включены оба таутомера.

Таким образом, соединения, предлагаемые в данном описании, могут быть энантиомерно чистыми или быть стереоизомерными или диастереомерными смесями. Как используется в данном документе и если не указано иное, термин "стереомерно чистый" или "оптически чистый" означает композицию, которая содержит один стереоизомер соединения и практически не содержит других стереоизомеров указанного соединения. Например, стереомерно чистая композиция соединения, имеющего один хиральный центр, будет по существу не содержать противоположного энантиомера данного соединения. Стереомерно чистая композиция соединения, имеющего два хиральных центра, будет по существу не содержать других диастереомеров данного соединения. Типичное стереомерно чистое соединение содержит более чем примерно 80% по массе одного стереоизомера данного соединения и менее чем примерно 20% по массе других стереоизомеров данного соединения, более предпочтительно, более чем примерно 90% по массе одного стереоизомера данного соединения и менее чем примерно 10% по массе других стереоизомеров данного соединения, еще более предпочтительно, более чем примерно 95% по массе одного стереоизомера данного соединения и менее чем примерно 5% по массе других стереоизомеров данного соединения, и наиболее предпочтительно, более чем примерно 97% по массе одного стереоизомера данного соединения и менее, чем примерно 3% по массе других стереоизомеров данного соединения. Как используется в данном документе, стереомерно чистое соединение содержит более чем примерно 80% по массе одного стереоизомера данного соединения, более предпочтительно, более чем примерно 90% по массе одного стереоизомера данного соединения, еще более предпочтительно, более чем примерно 95% по массе одного стереоизомера данного соединения, и наиболее предпочтительно, более чем примерно 97% по массе одного стереоизомера данного соединения. Как используется в данном документе и если не указано иное, термин "стереомерно обогащенный" означает композицию, которая содержит более чем примерно 60% по массе одного стереоизомера соединения, предпочтительно, более чем примерно 70% по массе, более предпочтительно, более чем примерно 80% по массе одного стереоизомера соединения. Как используется в данном документе и если не указано иное, термин "энантиомерно чистый" означает стереомерно чистую композицию соединения, имеющего один хиральный центр. Аналогичным образом, термин "стереомерно обогащенный" означает стереомерно обогащенную композицию соединения, имеющего один хиральный центр. Как используется в данном документе, смеси стереоизомеров или диастереомеров означает композицию, которая содержит более одного стереоизомера соединения. Типичная

смесь стереомеров соединения содержит примерно 50% по массе одного стереоизомера данного соединения и примерно 50% по массе других стереоизомеров данного соединения или содержит более чем примерно 50% по массе одного стереоизомера данного соединения и менее чем примерно 50% по массе других стереоизомеров данного соединения, или содержит более чем примерно 45% по массе одного стереоизомера данного соединения и менее чем примерно 55% по массе других стереоизомеров данного соединения, или содержит более чем примерно 40% по массе одного стереоизомера данного соединения и менее чем примерно 60% по массе других стереоизомеров данного соединения, или содержит более чем примерно 35% по массе одного стереоизомера данного соединения и менее, чем примерно 65% по массе других стереоизомеров данного соединения.

Следует понимать, что представленные здесь соединения могут содержать хиральные центры. Такие хиральные центры могут иметь либо (R), либо (S) конфигурацию, либо могут быть их смесью. Следует понимать, что хиральные центры соединений, представленных в настоящем документе, могут подвергаться эпимеризации *in vivo*. Таким образом, специалист в данной области техники поймет, что введение соединения в его (R) форме эквивалентно, в случае соединений, которые подвергаются эпимеризации *in vivo*, введению соединения в его (S) форме.

Оптически активные (+) и (-), (R)- и (S)-, или (D)- и (L)-изомеры могут быть получены с использованием хиральных синтонов или хиральных реагентов, или разделены с использованием обычных методов, таких как хроматография с хиральной неподвижной фазой.

В описании, приведенном в данном документе, если существует какой-либо расхождение между химическим названием и химической формулой, формула имеет приоритет.

Следует также отметить, что соединения могут содержать неестественные пропорции атомных изотопов у одного или более атомов. Например, соединения могут быть помечены радиоактивными изотопами, такими как, например, тритий (^3H), йод-125 (^{125}I), сера-35 (^{35}S), или углерод-14 (^{14}C), или могут быть обогащены изотопами, например дейтерием (^2H), углеродом-13 (^{13}C) или азотом-15 (^{15}N). Как используется в данном документе, "изотополог" или "изотополог" означает изотопно обогащенное соединение. Термин "изотопно обогащенный" относится к атому, имеющему изотопный состав, отличный от природного изотопного состава данного атома. "Изотопно обогащенный" может также относиться к соединению, содержащему, по меньшей мере, один атом, имеющий изотопный состав, отличный от природного изотопного состава данного атома. Термин "изотопный состав" относится к количеству каждого присутствующего изотопа для данного атома. Радиоактивно меченные и изотопно обогащенные соединения являются полезными в качестве терапевтических агентов, например, терапевтических агентов против рака и воспалений, исследовательских реагентов, например, реагентов анализа связывания и диагностических агентов, например, агентов визуализации *in vivo*. Все изотопные варианты соединений, описанных в данном документе, радиоактивны или нет, должны охватываться объемом данных вариантов реализации, предложенных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления предусмотрены изотопологи соединений, например, изотопологи представляют собой соединения, обогащенные дейтерием, углеродом-13 или азотом-15. В некоторых вариантах осуществления изотопологи, предложенные в данном документе, являются соединениями, обогащенными дейтерием. В некоторых вариантах осуществления изотопологи, предложенные в данном документе, являются соединениями, обогащенными дейтерием, где дейтерирование происходит на хиральном центре. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены изотопологи соединений Соединения 1, где дейтерирование происходит на хиральном центре. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены изотопологи Соединения 2, где дейтерирование происходит на хиральном центре. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены изотопологи Соединения 3, где дейтерирование происходит на хиральном центре.

Следует отметить, что если есть несоответствие между изображенной структурой и названием, данным этой структуре, изображенной структуре следует придать больший вес. Кроме того, если стереохимия структуры или части структуры не обозначена, например, жирными или пунктирными линиями, структура или часть структуры должна интерпретироваться как охватывающая все ее стереоизомеры.

Как описано в данном документе, термин "второй активный агент" относится к любому дополнительному лечению, которое является биологически активным. Понятно, что вторым активным агентом может быть гемопоэтический фактор роста, цитокин, противораковый агент, антибиотик, ингибитор Cox-2, иммуномодулирующий агент, иммунодепрессивный агент, кортикостероид, терапевтическое антитело, которое специфически связывается с раковым антигеном, или фармакологически активный мутант или их производное.

Термин "агент поддерживающей терапии" относится к любому веществу, которое лечит, предотвращает или сдерживает нежелательное явление от лечения Соединением 1, Соединением 2 или Соединением 3, или его энантиомером или смесью энантиомеров, таутомером, изотопологом или фармацевтически приемлемой солью. Понятно, что термин "поддерживающая терапия" относится к любому терапевтическому агенту, который в основном направлен на поддержание силы и/или комфорта пациента. Примеры поддерживающей терапии включают терапию для устранения боли, внутривенные жидкости и электролитную поддержку, такую как изотонический солевой раствор, солевой раствор глюкозы или

сбалансированные кристаллоидные растворы, но не ограничиваются ими.

Термин "биологическая терапия" относится к введению биологической терапии, такой как пуповинная кровь, стволовые клетки, факторы роста и подобное.

Термины "совместное введение" и "в сочетании с" включают введение одного или более терапевтических агентов (например, соединение, предложенное в данном документе и еще один агент против множественной миеломы, противораковый агент или агент поддерживающей терапии) одновременно, параллельно или последовательно без каких-либо конкретных ограничений по времени. В одном варианте осуществления указанные агенты присутствуют в клетке или в организме пациента в одно и то же время или проявляют свой биологический или терапевтический эффект в одно и то же время. В одном варианте осуществления терапевтические агенты находятся в одном и том же составе или в виде единичной дозированной формы. В другом варианте реализации терапевтические средства находятся в различных композициях или различных единичных лекарственных формах.

Используемые в данном документе термины "иммуноспецифически связывается", "иммуноспецифически распознает", "специфически связывает" и "специфически распознает" являются аналогичными терминами в контексте антител и относятся к молекулам, которые связываются с антигеном/эпитопом понятным специалисту в данной области способом. Антитела, которые специфически связываются со структурой-мишенью или ее субъединицей, не вступают в перекрестную реакцию с биологическими молекулами, которые не входят в семейство структур-мишеней. В некоторых вариантах осуществления антитело или фрагмент антитела связывается с выбранным антигеном со специфической аффинностью более 10^{-7} М, 10^{-8} М, 10^{-9} М, 10^{-10} М или 10^{-11} М, между 10^{-8} М и 10^{-11} М, между 10^{-9} М и 10^{-10} М или между 10^{-10} М и 10^{-11} М. Например, молекула (например, антитело), которая специфически связывается с антигеном, может связываться с другими пептидами или полипептидами, обычно с более низкой аффинностью, как определено, например, с помощью иммуноанализов или других анализов, известных в данной области. В конкретном варианте осуществления молекулы, которые специфически связываются с антигеном, не дают перекрестную реакцию с другими белками.

Как описано в данном документе, термин "детектируемая метка" относится к присоединению специфической метки к антителу, чтобы помочь в обнаружении или выделении/очистке белка. Примеры типов меток включают радиоизотоп, флуорофор (например, флуоресцеинизотиоцианат (FITC), фикоэритрин (PE)), хемилюминесценцию, репортерные ферменты и частицы элементов (например, частицы золота), но не ограничиваются ими. Обнаружение может быть прямым или косвенным. К оптическим методам относятся микроскопия (как конфокальная, так и неконфокальная), методы визуализации и методы без визуализации. Электрохимические методы включают методы вольтамперометрии и амперометрии. Радиочастотные методы включают мультиполярную резонансную спектроскопию.

Термин "примерно" или "приблизительно" означает приемлемую ошибку для конкретного значения, как определено специалистом в данной области техники, которая частично зависит от того, как измеряется или определяется значение. В некоторых вариантах осуществления термин "примерно" или "приблизительно" означает в пределах 1, 2, 3 или 4 стандартных отклонений. В некоторых вариантах осуществления термин "примерно" или "приблизительно" означает в пределах 50%, 20%, 15%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5% или 0,05% от заданного значения или диапазона.

Практика представленных в данном документе вариантов осуществления будет использовать, если не указано иное, обычные методы молекулярной биологии, микробиологии и иммунологии, которые находятся в пределах квалификации специалистов, работающих в данной области. Такие методы полностью объяснены в литературе. Примеры особенно подходящих текстов для консультации включают следующие: Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2d ed. 1989); Glover, ed., *DNA Cloning, Volumes I and II* (1985); Gait, ed., *Oligonucleotide Synthesis* (1984); Hames & Higgins, eds., *Nucleic Acid Hybridization* (1984); Hames & Higgins, eds., *Transcription and Translation* (1984); Freshney, ed., *Animal Cell Culture: Immobilized Cells and Enzymes* (IRL Press, 1986); *Immunochemical Methods in Cell and Molecular Biology* (Academic Press, London); Scopes, *Protein Purification: Principles and Practice* (Springer Verlag, N.Y., 2d ed. 1987); и Weir & Blackwell, eds., *Handbook of Experimental Immunology, Volumes I-IV* (1986).

5.2 Биомаркеры и способы их применения

Способы, предложенные в настоящем документе, частично основаны на обнаружении того факта, что обнаруживаемое увеличение или уменьшение определенных биомаркеров при лечении соединением наблюдается у субъектов с ММ, которые реагируют на данное лечение, например, соединение, такое как Соединение 1, Соединение 2, или Соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изомер или фармацевтически приемлемая соль, как описано в разделе 5.7 ниже, и что уровни этих биомаркеров можно использовать для прогнозирования реакции субъектов на лечение. В некоторых вариантах осуществления уровни биомаркеров позволяют прогнозировать ответ на Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3. В некоторых вариантах осуществления соединение является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления соединения представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3. В одном варианте осуществления соединения представляет собой Соединение 1. В другом варианте осуществления соединения представляет собой Соединение 2. В еще одном варианте осуществления соединения представляет собой Соединение 3.

Согласно одному аспекту изобретение направлено на Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3 для применения в способе лечения, профилактики и/или сдерживания заболеваний, как предложено в данном документе.

Как описано в примерах в разделе 6 и показано на фигурах, уровни определенных белков, молекул, мРНК или состава клетки изменяются в ответ на лечение Соединением 1, Соединением 2 или Соединением 3. Эти биомаркеры включают CRBN, IKZF1, IKZF3, ZFP91, с-Мус, IRF4, каспазу-1, каспазу-3, каспазу-7, PARP, сурвивин, Bcl-2-подобный белок 11 (BIM), свободную легкую цепь в сыворотке (sFLC), p21, p27, pRb1, IL-2, TNF α , IFN γ , лимфоциты, инфильтрирующие опухоль (TIL), клональность Т-клеточного антигенного рецептора (ТКР) и циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК). Кроме того, примеры и фигуры показывают, что экспрессия определенных белков изменяется после лечения Соединением 1, Соединением 2 или Соединением 3, и может служить биомаркерами для прогнозирования ответа на лечение и/или выбора пациентов, которые вероятно будут отвечать на лечение Соединением 1, Соединением 2 или Соединением 3. Эти биомаркеры включают CRBN. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления биомаркер, предложенный в настоящем документе, выбран из группы, состоящей из CRBN, IKZF1, IKZF3, ZFP91, с-Мус, IRF4, каспазы-1, каспазы-3, каспазы-7, PARP, сурвивина, Bcl-2-подобного белка 11 (BIM), свободной легкой цепи в сыворотке (sFLC), p21, p27, pRb1, IL-2, TNF α , IFN γ , лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль (TIL), клональности Т-клеточного антигенного рецептора (ТКР) и циркулирующих опухолевых клеток (ЦКО). Каждый из представленных в данном документе биомаркеров включает различные изоформы, фосфорилированные формы, расщепленные формы, модифицированные формы и их варианты сплайсинга. Например, каспаза-3 включает расщепленную форму каспазы-3, каспаза-1 включает расщепленную каспазу-1, каспаза-7 включает расщепленную каспазу-7, PARP включает расщепленный PARP, а pRb1 включает фосфорилированный pRb1. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления уровни изоформ, фосфорилированных форм, расщепленных форм, модифицированных форм и/или вариантов сплайсинга этих биомаркеров увеличиваются или уменьшаются в ответ на лечение соединением, и, таким образом, эти изоформы, фосфорилированные формы, расщепленные формы, модифицированные формы и/или варианты сплайсинга биомаркеров могут быть использованы для прогнозирования ответа пациента.

Цинковый палец 1 семейства IKAROS (IKZF1, также известный как Ikaros) и Цинковый палец 3 семейства IKAROS (IKZF3, также известный как Aiolos) являются гематопозитическими факторами транскрипции, участвующими в регуляции развития лимфоцитов. Экспрессия IKZF1 и IKZF3 ограничена гемолимфоэтической системой плода и взрослого и функционирует как регуляторы дифференцировки лимфоцитов. Регуляция экспрессии генов включает гомодимеры Ikaros, гетеродимеры Ikaros/Aiolos и гомодимеры Aiolos. Множественные изоформы Ikaros и Aiolos человека были обнаружены как в нормальных, так и в лейкемических В-клетках. Не связывающиеся с ДНК изоформы в основном обнаруживаются в цитоплазме и, как полагают, действуют как доминантно-негативные факторы. Сверхэкспрессия некоторых доминантно-негативных изоформ была связана со злокачественными новообразованиями В-клеток, такими как острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ).

Каспазы-1, -3 и -7 являются членами семейства каспаз. Каспаза-3 расщепляет и активирует каспазу-7, а также каспазу-6 и -9. Расщепление каспазы 7 происходит при стимуляции гибели клеток и индуцирует апоптоз. Сама каспаза-3 расщепляется каспазой-8, -9 и -10. Эффекторные каспазы, каспаза-3, -6 и -7, протеолитически деградируют внутриклеточные белки хозяина, чтобы осуществить апоптоз клеток. Каспаза-3 практически не проявляет активности, пока не будет расщеплена инициаторной каспазой после того, как произошли события передачи сигналов апоптоза. Точно так же прокаспаса-1 превращается в активную каспазу-1 при расщеплении, и каспаза-1 также участвует в некоторых формах апоптоза. Кроме того, поли(АДФ-рибоза)полимераза (PARP) может расщепляться каспазами. Например, известно, что PARP расщепляется каспазой-3 во время апоптоза. PARP представляет собой семейство белков, участвующих в регуляции различных важных клеточных процессов, таких как дифференциация, пролиферация и трансформация опухоли. PARP также регулирует молекулярные процессы, участвующие в восстановлении клеток после повреждения ДНК. Активация каспазы может подавляться сурвивином, предотвращая тем самым апоптоз. Другой белок, участвующий в стимуляции апоптоза, - это Bcl-2-подобный белок 11 (BIM). Апоптозу также может способствовать свободная легкая цепь в сыворотке (sFLC). Таким образом, в некоторых вариантах осуществления расщепленная каспаза-1 (р-каспаса-1), расщепленная каспаза-3 (р-каспаса-3), расщепленная каспаза-7 (р-каспаса-7), расщепленный PARP, сурвивин, BIM и свободная легкая цепь в сыворотке (sFLC) являются биомаркерами, которые указывают на апоптоз.

В некоторых вариантах реализации осуществления способов, представленных в настоящем документе, биомаркер представляет собой белок, на который прямо или косвенно влияет церблон (CRBN), например, через белок-белковые взаимодействия (например, определенные субстраты CRBN или их нижестоящие эффекторы) или через различные клеточные каскады реакций (например, пути передачи сигнала). В конкретных вариантах осуществления биомаркер представляет собой белок, связанный с CRBN (CAP). В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой мРНК белка, на который прямо или косвенно влияет CRBN. В других вариантах осуществления биомаркер представляет собой

кДНК белка, на который прямо или косвенно влияет CRBN. Существуют по меньшей мере две изоформы белка CRBN, длина которых составляет 442 и 441 аминокислоту, соответственно.

Как описано в примерах, лечение Соединениями 1-3 снижает уровни Aiolos, Ikaros, ZFP91, c-Myc и IRF4 (например, фиг. 4). Следовательно, определение уровня белков, связанных с CRBN, может быть полезным для мониторинга эффективности, прогнозирования ответа, идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым, лечения рака, идентификации субъекта с множественной миеломой, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, и определения или корректировки дозы для лечения субъекта, имеющего множественную миелому, лечебным соединением. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой белок, связанный с CRBN, а лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В других вариантах осуществления биомаркер представляет собой белок, связанный с CRBN, а лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В других вариантах осуществления биомаркер представляет собой белок, связанный с CRBN, а лечебное соединение представляет собой Соединение 3. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой белок, связанный с CRBN, выбранный из группы, состоящей из Aiolos, Ikaros, ZFP91, c-Myc и IRF4. В некоторых конкретных осуществления биомаркер представляет собой белок, связанный с CRBN, выбранный из группы, состоящей из Aiolos, Ikaros, ZFP91, c-Myc и IRF4, а лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В некоторых конкретных осуществления биомаркер представляет собой белок, связанный с CRBN, выбранный из группы, состоящей из Aiolos, Ikaros, ZFP91, c-Myc и IRF4, а лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В некоторых конкретных осуществления биомаркер представляет собой белок, связанный с CRBN, выбранный из группы, состоящей из Aiolos, Ikaros, ZFP91, c-Myc и IRF4, а лечебное соединение представляет собой Соединение 3.

В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой фактор транскрипции "цинковые пальцы", входящий в семейство IKAROS, такой как IKZF1 или IKZF3. В конкретном варианте осуществления биомаркером является IKZF1, а лечебным соединением является Соединение 1. В другом конкретном варианте осуществления биомаркером является IKZF1, а лечебным соединением является Соединение 2. В другом конкретном варианте осуществления биомаркером является IKZF1, а лечебным соединением является Соединение 3. В конкретном варианте осуществления биомаркером является IKZF3, а лечебным соединением является Соединение 1. В другом конкретном варианте осуществления биомаркером является IKZF3, а лечебным соединением является Соединение 2. В другом конкретном варианте осуществления биомаркером является IKZF3, а лечебным соединением является Соединение 3. В конкретном варианте осуществления биомаркером является ZFP91, а лечебным соединением является Соединение 1. В другом конкретном варианте осуществления биомаркером является ZFP91, а лечебным соединением является Соединение 2. В другом конкретном варианте осуществления биомаркером является ZFP91, а лечебным соединением является Соединение 3. В еще одном конкретном варианте осуществления биомаркером является c-Myc, а лечебным соединением является Соединение 1. В другом конкретном варианте осуществления биомаркером является c-Myc, а лечебным соединением является Соединение 2. В другом конкретном варианте осуществления биомаркером является c-Myc, а лечебным соединением является Соединение 3. В другом конкретном варианте осуществления биомаркером является IRF4, а лечебным соединением является Соединение 1. В другом конкретном варианте осуществления биомаркером является IRF4, а лечебным соединением является Соединение 2. В другом конкретном варианте осуществления биомаркером является IRF4, а лечебным соединением является Соединение 3. В других вариантах осуществления биомаркер является партнером по связыванию, нижестоящим эффектором или фактором клеточного каскада реакций, на который влияют IKZF1, IKZF3, ZFP91, c-Myc или IRF4.

Как описано в примерах, уровни белков каскада реакций апоптоза, таких как каспаза-1, каспаза-3, каспаза-7, PARP, сурвивин, BIM и sFLC, изменяются при обработке Соединениями 1-3. Например, лечение Соединениями 1-3 может повышать уровни р-каспазы-3, р-каспазы-1, р-каспазы-7, расщепленного PARP, BIM и sFLC в клетках множественной миеломы, тем самым указывая на апоптоз. Лечение Соединениями 1-3 может также снизить уровни сурвивина, тем самым указывая на апоптоз. Обнаружение апоптоза может быть полезным для мониторинга эффективности, прогнозирования ответа, идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым, лечения рака, идентификации субъекта с множественной миеломой, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, и определения или корректировки дозы для лечения субъекта, имеющего множественную миелому, лечебным соединением. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления биомаркер участвует в каскаде реакций апоптоза. В некоторых вариантах осуществления биомаркер участвует в каскаде реакций апоптоза, а лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В некоторых вариантах осуществления биомаркер участвует в каскаде реакций апоптоза, а лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В некоторых вариантах осуществления биомаркер участвует в каскаде реакций апоптоза, а лечебное соединение представляет собой Соединение 3.

В конкретных вариантах осуществления биомаркер участвует в каскаде реакций апоптоза и выбран из группы, состоящей из расщепленной каспазы 1 (р-каспазы 1), расщепленной каспазы 3 (р-каспазы 3),

расщепленной каспазы 7 (р-каспазы 7), расщепленного PARP, сурвивина, BCL-2-подобного белка 11 (BIM) и свободной легкой цепи в сыворотке. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления биомаркер участвует в каскаде реакций апоптоза и выбран из группы, состоящей из расщепленной каспазы 1 (р-каспаза 1), расщепленной каспазы 3 (р-каспаза 3), расщепленной каспазы 7 (р-каспаза 7), расщепленного PARP, сурвивина, BCL-2-подобного белка 11 (BIM) и свободной ой цепи в сыворотке, а лечебным соединением является Соединение 1. В некоторых вариантах осуществления биомаркер участвует в каскаде реакций апоптоза и выбран из группы, состоящей из расщепленной каспазы 1 (р-каспаза 1), расщепленной каспазы 3 (р-каспаза 3), расщепленной каспазы 7 (р-каспаза 7), расщепленного PARP, сурвивина, BCL-2-подобного белка 11 (BIM) и свободной ой цепи в сыворотке, а лечебным соединением является Соединение 2. В некоторых вариантах осуществления биомаркер участвует в каскаде реакций апоптоза и выбран из группы, состоящей из расщепленной каспазы 1 (р-каспаза 1), расщепленной каспазы 3 (р-каспаза 3), расщепленной каспазы 7 (р-каспаза 7), расщепленного PARP, сурвивина, BCL-2-подобного белка 11 (BIM) и свободной ой цепи в сыворотке, а лечебным соединением является Соединение 3. В некоторых вариантах осуществления биомаркер участвует в каскаде реакций апоптоза и выбран из группы, состоящей из расщепленной каспазы 1 (р-каспаза 1), расщепленной каспазы 3 (р-каспаза 3), расщепленной каспазы 7 (р-каспаза 7), расщепленного PARP, сурвивина, BCL-2-подобного белка 11 (BIM) и свободной ой цепи в сыворотке, а лечебным соединением является Соединение 1. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 3. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 3. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 3. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 3. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 3. Кроме того, изменения в уровнях свободной легкой цепи в сыворотке (sFLC) и ЦКО изменяются в зависимости от лечебных Соединений 1-3. Например, лечение Соединениями 1-3 может снизить количество sFLC, обнаруживаемого в крови или сыворотке/плазме. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления sFLC представляет собой биомаркер, а лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В некоторых вариантах осуществления sFLC представляет собой биомаркер, а лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В некоторых вариантах осуществления sFLC представляет собой биомаркер, а лечебное соединение представляет собой Соединение 3. Точно так же лечение Соединениями 1-3 может снизить количество ЦКО, обнаруживаемых в периферической крови. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 3. Лечение Соединениями 1-3 может также снизить количество растворимого ВСМА (sBCMA), обнаруживаемого в сыворотке пациентов с множественной миеломой. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 3.

Мечение конца с однопочечным разрывом терминальной дезоксирибонуклеотидилтрансферазой dUTP (TUNEL) представляет собой метод обнаружения фрагментации ДНК путем мечения 3'-гидроксильных

концов в двухцепочечных разрывах ДНК, образующихся во время апоптоза. Это обычный метод, известный в данной области техники (Darzynkiewicz et al., *Methods*, 2008, 44(3): 250-254). Таким образом, в некоторых вариантах осуществления биомаркером является обнаружение апоптоза с помощью TUNEL, а лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В некоторых вариантах осуществления биомаркером является обнаружение апоптоза с помощью TUNEL, а лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В некоторых вариантах осуществления биомаркером является обнаружение апоптоза с помощью TUNEL, а лечебное соединение представляет собой Соединение 3.

Апоптоз также можно измерить с помощью аннексина-V и 7-AAD или аннексина-V и йодида пропидия (PI). Аннексин V (или Аннексин A5) является членом семейства аннексинов внутриклеточных белков, которые связываются с фосфатидилсеринем (PS) кальций-зависимым образом. PS обычно обнаруживается только на внутриклеточной поверхности плазматической мембраны в здоровых клетках, но во время раннего апоптоза асимметрия мембраны утрачивается, и PS перемещается к внешней поверхности. Аннексин V, меченный флуорохромом, можно затем использовать для специфического нацеливания и идентификации апоптотических клеток. Связывание только аннексина V не может различать апоптотические и некротические клетки. Чтобы помочь различить некротические и апоптотические клетки, можно использовать 7-аминоактиномицин D (7-AAD) или раствор ИП. Клетки на ранней стадии апоптоза будут исключать 7-AAD и ИП, в то время как клетки на поздней стадии апоптоза и некротические клетки будут окрашиваться положительно из-за прохождения этих красителей в ядро, где они связываются с ДНК. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления биомаркером является обнаружение апоптоза с помощью аннексина V/7-AAD, а лечебным соединением является Соединение 1. В некоторых вариантах осуществления биомаркером является обнаружение апоптоза с помощью аннексина V/7-AAD, а лечебным соединением является Соединение 2. В некоторых вариантах осуществления биомаркером является обнаружение апоптоза с помощью аннексина V/7-AAD, а лечебным соединением является Соединение 3. В других вариантах осуществления биомаркером является обнаружение апоптоза с помощью аннексина V/PI, а лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В еще одном варианте осуществления биомаркером является обнаружение апоптоза с помощью аннексина V/PI, а лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В некоторых вариантах осуществления биомаркером является обнаружение апоптоза с помощью аннексина V/PI, а лечебное соединение представляет собой Соединение 3.

В некоторых вариантах осуществления обнаружение модуляции иммунного ответа может способствовать мониторингу эффективности, прогнозированию ответа, идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым, лечению рака, идентификации субъекта, имеющего множественную миелому, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, и определению или корректировке дозы для лечения субъекта, имеющего множественную миелому, лечебным соединением. Например, примеры в разделе 6 ниже описывают усиленный опосредованный Т-клетками лизис опухолевых клеток в модели совместного культивирования (пример 11), активацию эффекторных Т-клеток (пример 12), активацию и пролиферацию Т-клеток (пример 16) лечебными Соединениями 1-3. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления активация Т-клеток может быть биомаркером для лечения Соединением 1. В некоторых вариантах осуществления активация Т-клеток может быть биомаркером для лечения Соединением 2. В некоторых вариантах осуществления активация Т-клеток может быть биомаркером для лечения Соединением 3.

В некоторых конкретных вариантах осуществления активация Т-клеток может быть биомаркером для лечения лечебным соединением, а биомаркер выбран из группы, состоящей из интерлейкина-2 (IL-2), фактора некроза опухоли альфа (TNF α), интерферона гамма (IFN γ) и клональности Т-клеточного рецептора (ТКР). Например, в некоторых вариантах осуществления биомаркером является клональность Т-клеточного рецептора (ТКР) после введения Соединений 1-3. В некоторых конкретных вариантах осуществления клональность ТКР может быть биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В некоторых конкретных вариантах осуществления клональность ТКР может быть биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В некоторых конкретных вариантах осуществления клональность ТКР может быть биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 3.

Кроме того, высвобождение цитокинов имеет центральное важное значение для многих аспектов функции Т-клеток. Например, IL-2 является мощным фактором роста Т-клеток, который необходим для долгосрочной пролиферации активированных Т-клеток. Секретция других цитокинов, таких как TNF α и IFN γ , может облегчить функцию эффекторных Т-клеток по уничтожению опухолевых клеток. Следовательно, обнаружение цитокинов может указывать на активацию Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления биомаркер участвует в активации Т-клеток, биомаркер представляет собой IL-2, а лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В некоторых вариантах осуществления биомаркер участвует в активации Т-клеток, биомаркер представляет собой IL-2, а лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В некоторых вариантах осуществления биомаркер участвует в активации Т-клеток, биомаркер представляет собой IL-2, а лечебное соединение представляет собой Соединение 3. В других

вариантах осуществления биомаркер участвует в активации Т-клеток, биомаркером является TNF α , а лечебным соединением является Соединение 1. В некоторых вариантах осуществления биомаркер участвует в активации Т-клеток, биомаркером является TNF α , а лечебным соединением является Соединение 2. В некоторых вариантах осуществления биомаркер участвует в активации Т-клеток, биомаркером является TNF α , а лечебным соединением является Соединение 3. В еще одном варианте осуществления биомаркер участвует в активации Т-клеток, биомаркером является IFN γ , а лечебным соединением является Соединение 1. В некоторых вариантах осуществления биомаркер участвует в активации Т-клеток, биомаркером является IFN γ , а лечебным соединением является Соединение 2. В некоторых вариантах осуществления биомаркер участвует в активации Т-клеток, биомаркером является IFN γ , а лечебным соединением является Соединение 3.

Циркулирующие опухолевые клетки (ЦКО) являются прогностическими факторами при множественной миеломе, а характеристика ЦКО, включая определение соответствующих мутаций, из периферической крови может указывать на степень тяжести заболевания и может прогнозировать ответ на лечение (Mishima et al., Cell Rep., 2017, 19(1):218-224; Lohr et al., Sci Transl Med., 2016, ;8(363):363ra147). Следовательно, в некоторых вариантах осуществления ЦКО в периферической крови могут быть биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3. В некоторых конкретных вариантах осуществления ЦКО в периферической крови могут быть биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В некоторых конкретных вариантах осуществления ЦКО в периферической крови могут быть биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В некоторых конкретных вариантах осуществления ЦКО в периферической крови могут быть биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 3. В других вариантах осуществления мутационный профиль ЦКО может быть биомаркером для прогнозирования ответа на лечение Соединением 1, Соединением 2 или Соединением 3. В некоторых конкретных вариантах осуществления мутационный профиль ЦКО может быть биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В некоторых конкретных вариантах осуществления мутационный профиль ЦКО может быть биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В некоторых конкретных вариантах осуществления мутационный профиль ЦКО может быть биомаркером, а лечебное соединение представляет собой Соединение 3.

Ингибирование развития клеточного цикла в раковой клетке может быть эффективным средством предотвращения прогрессирования рака. Как описано в Примере 6, Соединение 2 может вызывать остановку клеточного цикла G1 и апоптоз в клетках множественной миеломы. Обнаружение участников пути клеточного цикла может иметь важное значение для мониторинга эффективности, прогнозирования ответа, идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым, лечения рака, выявления субъекта, имеющего множественную миелому, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, и определения или корректировки дозы для лечения субъекта, имеющего множественную миелому, лечебным соединением. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления биомаркер участвует в каскаде реакций клеточного цикла. В некоторых конкретных вариантах осуществления биомаркер участвует в каскаде реакций клеточного цикла, а лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В других конкретных вариантах осуществления биомаркер участвует в каскаде реакций клеточного цикла, а лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В других вариантах осуществления биомаркер участвует в каскаде реакций клеточного цикла, а лечебное соединение представляет собой Соединение 3.

В некоторых вариантах осуществления биомаркер участвует в каскаде реакций клеточного цикла и выбран из группы, состоящей из ингибитора циклинзависимой киназы 1 (p21), ингибитора циклинзависимой киназы 1B (p27) и белка ретинобластомы (pRb1). В некоторых вариантах осуществления биомаркер выбран из группы, состоящей из ингибитора циклинзависимой киназы 1 (p21), ингибитора циклинзависимой киназы 1B (p27) и белка ретинобластомы (pRb1), а лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В других вариантах осуществления биомаркер выбран из группы, состоящей из ингибитора циклинзависимой киназы 1 (p21), ингибитора циклинзависимой киназы 1B (p27) и белка ретинобластомы (pRb1), а лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В других вариантах осуществления биомаркер выбран из группы, состоящей из ингибитора циклинзависимой киназы 1 (p21), ингибитора циклинзависимой киназы 1B (p27) и белка ретинобластомы (pRb1), а лечебное соединение представляет собой Соединение 3. В конкретных вариантах осуществления биомаркер представляет собой p21, а лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В других вариантах осуществления биомаркер представляет собой p21, а лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В еще других вариантах осуществления биомаркер представляет собой p21, а лечебное соединение представляет собой Соединение 3. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой p27, а лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В других вариантах осуществления биомаркер представляет собой p27, а лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В еще других вариантах осуществления биомаркер представляет собой p27, а лечебное соединение представляет собой Соединение 3. В конкретных вариантах осуществления биомаркер представляет собой pRb1, а лечебное соединение

представляет собой Соединение 1. В других вариантах осуществления биомаркер представляет собой pRb1, а лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В еще других вариантах осуществления биомаркером является pRb1, а лечебным соединением является соединение осуществления биомаркер представляет собой pRb1, а лечебное соединение представляет собой Соединение 3.

Как описано в примерах в разделе 6, лечебные соединения могут ингибировать пролиферацию клеток множественной миеломы с приобретенной устойчивостью к модуляторам цереболонов, таким как леналидомид и помалидомид, даже если уровни CRBN в клетках снижены, но поддаются обнаружению (Пример 8). Следовательно, в некоторых вариантах осуществления сниженные уровни CRBN являются биомаркером для диагностики субъекта, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, а лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В других вариантах осуществления сниженные уровни CRBN являются биомаркером для диагностики субъекта, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, а лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В еще одном варианте осуществления сниженные уровни CRBN являются биомаркером для диагностики субъекта, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, а лечебное соединение представляет собой Соединение 3. В некоторых вариантах осуществления способов прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего множественную миелому, к лечебному соединению, способы включают диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если биомаркер в образце поддается обнаружению. В некоторых конкретных вариантах осуществления ММ является рецидивирующим, рефрактерным или резистентным к традиционной терапии. В одном варианте осуществления ММ представляет собой устойчивую к леналидомиду ММ. В другом варианте осуществления ММ представляет собой устойчивую к помалидомиду ММ.

Биомаркеры также могут быть применимы для определения или корректировки дозировки для лечения субъекта, имеющего множественную миелому, с помощью лечебного соединения. Например, обнаружение повышения биомаркера, такого как IKZF1, после лечения лечебным соединением может указывать на то, что субъекту требуется более частое введение дозы или лечение в течение длительного периода. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления биомаркер предназначен для определения или корректировки дозы для лечения субъекта, имеющего множественную миелому, лечебным соединением и выбран из группы, состоящей из IKZF1 и IKZF3. В конкретных вариантах осуществления биомаркер выбран из группы, состоящей из IKZF1 и IKZF3, а лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В другом конкретном варианте осуществления биомаркер выбран из группы, состоящей из IKZF1 и IKZF3, а лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В еще одном конкретном варианте осуществления биомаркер выбран из группы, состоящей из IKZF1 и IKZF3, а лечебное соединение представляет собой Соединение 3. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой IKZF1, а лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой IKZF1, а лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой IKZF1, а лечебное соединение представляет собой Соединение 3. В некоторых вариантах осуществления биомаркером является IKZF3, а лечебным соединением является Соединение 1. В других вариантах реализации биомаркером является IKZF3, а лечебным соединением является Соединение 1. В некоторых вариантах осуществления биомаркером является IKZF3, а лечебным соединением является Соединение 2. В еще других вариантах осуществления биомаркером является IKZF3, а лечебным соединением является Соединение 3.

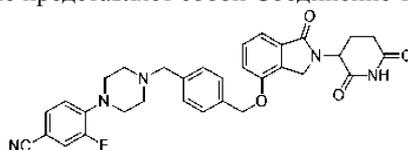
В некоторых вариантах осуществления измеряемый биомаркер включает один биомаркер. В некоторых вариантах осуществления измеряемый биомаркер включает один или более биомаркеров. В некоторых вариантах осуществления измеряемые биомаркеры включают два биомаркера. В некоторых вариантах осуществления измеряемый биомаркер включает два или более биомаркеров. В других вариантах осуществления измеряемые биомаркеры включают три биомаркера. В некоторых вариантах осуществления измеряемый биомаркер включает три или более биомаркеров. В некоторых вариантах осуществления измеряемые биомаркеры включают четыре биомаркера. В некоторых вариантах осуществления измеряемый биомаркер включает четыре или более биомаркеров. В других вариантах осуществления измеряемые биомаркеры включают пять биомаркеров. В некоторых вариантах осуществления измеряемый биомаркер включает пять или более биомаркеров. В других вариантах осуществления измеряемые биомаркеры включают шесть биомаркеров. В некоторых вариантах осуществления измеряемый биомаркер включает шесть или более биомаркеров. В других вариантах осуществления измеряемые биомаркеры включают семь биомаркеров. В некоторых вариантах осуществления измеряемый биомаркер включает семь или более биомаркеров. В некоторых вариантах осуществления измеряемые биомаркеры включают восемь биомаркеров. В некоторых вариантах осуществления измеряемый биомаркер включает восемь или более биомаркеров. В других вариантах осуществления измеряемые биомаркеры включают девять биомаркеров. В некоторых вариантах осуществления измеряемый биомаркер включает девять или более биомаркеров. В некоторых вариантах осуществления измеряемый биомаркер включает десять или более биомаркеров.

В настоящем документе также представлены способы лечения или сдерживания рака с использованием биомаркера, например, Aiolos, Ikaros, CRBN, ZFP91, c-MYC, IRF4, p-каспазы 1, p-каспазы-3, p-

каспазы 7, расщепленного PARP, сурвивина, BIM, sFLC, p21, p27, pRB1, растворимого BCMA, CTC, TIL, IL-2, IFN γ , TNF α или клоальности ТКР в качестве прогнозирующего или прогностического фактора для соединений, представленных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы скрининга или идентификации пациентов с множественной миеломой для лечения соединением с использованием уровня одного или более биомаркеров, представленных в настоящем документе, например, Aiolos, Ikaros, CRBN, ZFP91, c-MYC, IRF4, p-каспазы 1, p-каспазы-3, p-каспазы 7, расщепленного PARP, сурвивина, BIM, sFLC, p21, p27, pRB1, растворимого BCMA, CTC, TIL, IL-2, IFN γ , TNF α или клоальности ТКР, как прогнозирующего или прогностического фактора. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы отбора пациентов, имеющих более высокий уровень ответа на терапию с использованием соединения, представленного в настоящем документе, с использованием биомаркера (например, Aiolos, Ikaros, CRBN, ZFP91, c-MYC, IRF4, p-каспазы 1, p-каспазы-3, p-каспазы 7, расщепленного PARP, сурвивина, BIM, sFLC, p21, p27, pRB1, растворимого BCMA, CTC, TIL, IL-2, IFN γ , TNF α или клоальности ТКР) в качестве прогнозирующего или прогностического фактора. В некоторых вариантах осуществления лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3. В одном варианте осуществления лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В другом варианте осуществления соединение представляет собой Соединение 2. В другом варианте осуществления лечебное соединение представляет собой Соединение 3.

В одном аспекте в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

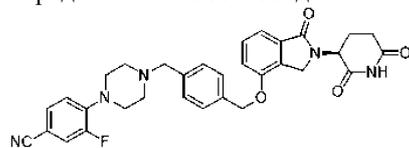
- введение лечебного соединения субъекту;
 - получение образца от субъекта;
 - определение уровня биомаркера в образце и
 - диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1:



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом аспекте в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

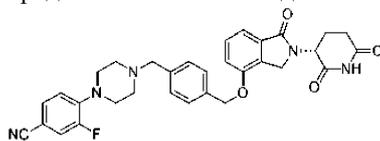
- введение лечебного соединения субъекту;
 - получение образца от субъекта;
 - определение уровня биомаркера в образце и
 - диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2:



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом аспекте в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- введение лечебного соединения субъекту;
 - получение образца от субъекта;
 - определение уровня биомаркера в образце и
 - диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3:



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

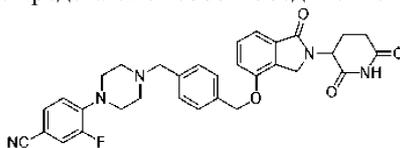
В другом аспекте данного изобретения способ идентификации субъекта, имеющего рак, который

вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, которое было введено субъекту, включает:

- (a) определение уровня биомаркера в образце, полученном от субъекта; и
- (b) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом аспекте в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

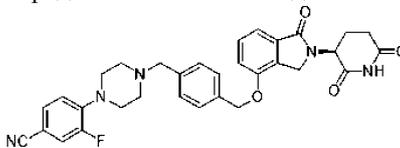
- (a) получение образца от субъекта;
- (b) введение лечебного соединения в образец;
- (c) определение уровня биомаркера в образце; и
- (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1:



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом аспекте в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

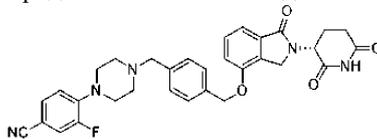
- (a) получение образца от субъекта;
- (b) введение лечебного соединения в образец;
- (c) определение уровня биомаркера в образце; и
- (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2:



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом аспекте в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- (a) получение образца от субъекта;
- (b) введение лечебного соединения в образец;
- (c) определение уровня биомаркера в образце и
- (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3:



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

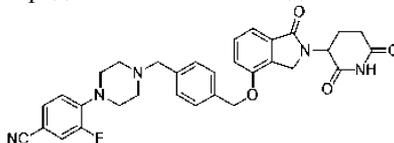
В другом аспекте в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- (a) введение лечебного соединения в образец, полученный от субъекта;
- (c) определение уровня биомаркера в образце и
- (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом аспекте, когда субъект диагностирован как вероятно восприимчивый к лечебному соединению, способы, предложенные в настоящем документе, дополнительно включают введение терапевтически эффективного количества лечебного соединения субъекту.

Таким образом, в некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлен способ лечения рака, включающий:

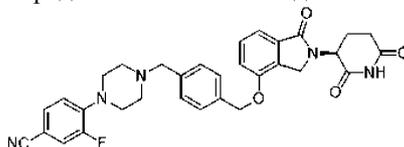
- (a) получение образца от субъекта, имеющего рак;
 - (b) определение уровня биомаркера в образце;
 - (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера; и
 - (d) введение субъекту терапевтически эффективного количества лечебного соединения;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1:



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

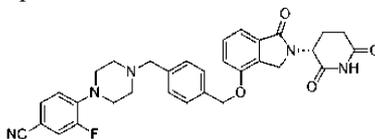
В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлен способ лечения рака, включающий:

- (a) получение образца от субъекта, имеющего рак;
 - (b) определение уровня биомаркера в образце;
 - (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера; и
 - (d) введение субъекту терапевтически эффективного количества лечебного соединения;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2:



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлен способ лечения рака, включающий:

- (a) получение образца от субъекта, имеющего рак;
 - (b) определение уровня биомаркера в образце;
 - (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера; и
 - (d) введение субъекту терапевтически эффективного количества лечебного соединения;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3:



или таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложено Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемая соль для применения в способе лечения рака, включающем:

- (a) получение образца от субъекта, имеющего рак;
- (b) определение уровня биомаркера в образце;
- (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера; и
- (d) введение субъекту терапевтически эффективного количества лечебного соединения.

В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, способ включает или дополнительно включает стадию введения лечебного соединения. В других вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы выборочного лечения пациента, выбранного с использованием способов, предложенных в настоящем документе.

Один вариант осуществления способов, представленных в настоящем документе, включает лечение пациента с множественной миеломой, который выбран на основе биомаркеров, описанных в данном документе, включающее введение пациенту Соединения 1 или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли.

Другой вариант осуществления способов, представленных в настоящем документе, дополнительно включает способ лечения пациента с множественной миеломой, который выбран на основе уровня биомаркеров, описанных в данном документе, включающий введение пациенту Соединения 2 или его таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли.

В еще одном варианте осуществления представленные в данном документе способы дополнительно включают способ лечения пациента с множественной миеломой, который выбран на основе уровня био-

маркеров, описанных в данном документе, включающий введение пациенту Соединения 3 или его таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли.

Другой вариант осуществления способов, представленных в настоящем документе, дополнительно включает способ профилактики множественной миеломы у пациента, выбранного на основе уровня биомаркеров, описанных в настоящем документе, который включает введение пациенту соединения, представленного в настоящем документе, например, Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли.

В еще одном варианте осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают способ лечения множественной миеломы на основе уровня биомаркеров, описанных в настоящем документе, который включает введение пациенту соединения, представленного в настоящем документе, например, Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли.

Один вариант осуществления способов, представленных в настоящем документе, дополнительно включает способы индукции терапевтического ответа, оцененного с помощью Международных единых критериев ответа для множественной миеломы (IURC) (см. Durie BG, et al., *Leukemia*, 2006, 20(9): 1467-73) у пациента на основе уровня биомаркеров, описанных в данном документе, включающие введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например, Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли пациенту, имеющему множественную миелому. В другом варианте осуществления в данном документе предложены способы достижения строгой полной ремиссии, полной ремиссии или очень хорошего частичного ответа, оцененного с помощью международных критериев равномерного ответа для множественной миеломы (IURC) у пациента, включающие введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например, Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли пациенту, страдающему от множественной миеломы. В другом варианте осуществления в данном документе предложены способы достижения увеличения общей выживаемости, выживаемости без прогрессирования, бессобытийной выживаемости, времени до прогрессирования заболевания или выживаемости без признаков заболевания у пациента, включающие введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например, Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли пациенту, страдающему от множественной миеломы. В другом варианте осуществления в данном документе предложены способы достижения увеличения общей выживаемости у пациента, включающие введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например, Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли пациенту, страдающему от множественной миеломы. В другом варианте осуществления в данном документе предложены способы достижения увеличения общей выживаемости у пациента, страдающему от множественной миеломы. В другом варианте осуществления в данном документе предложены способы достижения увеличения бессобытийной выживаемости у пациента, включающие введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли пациенту, страдающему от множественной миеломы. В другом варианте осуществления в данном документе предложены способы достижения увеличения времени до прогрессирования заболевания у пациента, включающие введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли пациенту, страдающему от множественной миеломы. В другом варианте осуществления в данном документе предложены способы достижения увеличения выживаемости без признаков заболевания у пациента, включающие введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли пациенту, страдающему от множественной миеломы.

В данном документе также предложены способы дополнительно включающие лечение пациентов, ранее проходивших лечение множественной миеломы, но не отвечающих на стандартные терапевтические средства, а также пациентов, ранее не подверженных лечению. Также включены способы лечения пациентов, прошедших хирургическую операцию, предпринятую для лечения множественной миеломы, а также пациентов, не подвергавшихся операции. В данном документе также предложены способы лечения пациентов, ранее проходивших пересадку органов, а также пациентов, ранее не подвергавшихся такому лечению.

В некоторых вариантах осуществления предлагаемые в данном описании способы дополнительно

включают лечение множественной миеломы, которая является рецидивирующей, рефрактерной или резистентной. Предлагаемые в данном описании способы включают предупреждение множественной миеломы, которая является рецидивирующей, рефрактерной или резистентной. Предлагаемые в данном описании способы включают сдерживание множественной миеломы, которая является рецидивирующей, рефрактерной или резистентной. В некоторых таких вариантах осуществления миелома является однократно, двукратно, трехкратно, четырехкратно или пятикратно рецидивирующей множественной миеломой. В одном варианте осуществления способы, предложенные в данном документе, уменьшают, поддерживают или устраняют минимальную остаточную болезнь (МОБ). В одном варианте осуществления способы, предложенные в данном документе, охватывают лечение, предупреждение или сдерживание различных типов множественной миеломы, таких как моноклональная гаммапатия неясного генеза (МГНГ); множественная миелома низкого риска, среднего риска и высокого риска; впервые диагностированная множественная миелома (в том числе впервые диагностированная множественная миелома низкого риска, среднего риска и высокого риска); множественная миелома с возможностью трансплантации и без возможности трансплантации; вялотекущая (медленно прогрессирующая) множественная миелома (в том числе вялотекущая множественная миелома низкого риска, среднего риска и высокого риска); активная множественная миелома; одиночная плазмочитома; экстрamedулярная плазмочитома; лейкоз плазматических клеток; множественная миелома центральной нервной системы; легкоцепочечная миелома; несекреторная миелома; миелома иммуноглобулина D; и миелома иммуноглобулина E, путем введения терапевтически эффективного количества соединения, описанного в данном документе. В другом варианте осуществления способы, предложенные в данном документе, охватывают лечение, предупреждение или сдерживание множественной миеломы, характеризующейся генетическими аномалиями, такими как транслокация циклина D (например, $t(4;11)(q13;q32)$; $t(6;14)(p21;32)$; $t(12;14)(p13;q32)$; 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 факторы хромосом (например, делеция 17p13, или хромосомы 13; $del(17/17p)$, негиперплоидия и $gain(1q)$), путем введения терапевтически эффективного количества соединения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления указанные способы включают введение терапевтически эффективного количества Соединения 1 или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли. В другом варианте осуществления указанные способы включают введение терапевтически эффективного количества Соединения 2 или его таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли. В другом варианте осуществления указанные способы включают введение терапевтически эффективного количества Соединения 3 или его таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли.

В одном варианте осуществления множественная миелома высокого риска представляет собой множественную миелому, которая рецидивировала в течение 12 месяцев после первого курса лечения. В еще одном варианте осуществления множественная миелома высокого риска представляет собой множественную миелому, которая характеризуется генетическими аномалиями, например, одно или более из $del(17/17p)$ и $t(14;16)(q32;q32)$.

В некоторых таких вариантах осуществления множественная миелома является впервые диагностированной множественной миеломой с возможностью трансплантации. В другом варианте осуществления множественная миелома является впервые диагностированной множественной миеломой без возможности трансплантации.

В еще одних вариантах осуществления множественная миелома характеризуется ранним прогрессированием (например, менее 12 месяцев) после первоначального лечения. В еще одних вариантах осуществления множественная миелома характеризуется ранним прогрессированием (например, менее 12 месяцев) после пересадки аутологичных стволовых клеток. В другом варианте осуществления множественная миелома является рефрактерной к помалидомиду. В некоторых таких вариантах осуществления прогнозировано, что множественная миелома является рефрактерной к помалидомиду (например, молекулярной характеристикой). В другом варианте осуществления множественная миелома является рецидивирующей или рефрактерной к 3 или более лечениям и подвергалась экспозиции ингибитора протеасом (например, бортезомиба, карфилзомиба, иксазомиба, опрозомиба или маризомиба) и иммуномодулирующего соединения (например, талидомида, леналидомида и помалидомида), или двойной рефрактерной к ингибитору протеасом и иммуномодулирующему соединению. В еще других вариантах осуществления множественная миелома является рецидивирующей или рефрактерной к 3 или более лечениям, включающим, например, CD38 моноклональным антителом (CD38 mAb, например, даратумумабом или изатуксимабом), ингибитором протеасом (например, бортезомибом, карфилзомибом, иксазомибом или маризомибом) и иммуномодулирующим соединением (например, талидомидом, леналидомидом и помалидомидом), или двойной рефрактерной к ингибитору протеасом или иммуномодулирующему соединению и CD38 mAb. В последующих других вариантах осуществления множественная миелома является тройной рефрактерной, например, множественная миелома является рефрактерной к ингибитору протеасом (например, бортезомибу, карфилзомибу, иксазомибу, опрозомибу или маризомибу) и иммуномодулирующему соединению (например, талидомиду, леналидомиду и помалидомиду) и одному другому ак-

тивному агенту, как описано в данном документе.

Некоторые варианты осуществления способов, представленных в настоящем документе, дополнительно включают способы лечения, профилактики и/или сдерживания множественной миеломы, в том числе рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломы у пациентов с нарушенной функцией почек или ее симптома, которые включают введение терапевтически эффективного количества Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли пациенту с нарушенной функцией почек, имеющему рецидивирующую/рефрактерную множественную миелому.

Некоторые варианты осуществления способов, представленных в настоящем документе, дополнительно включают способы лечения, профилактики и/или сдерживания множественной миеломы, в том числе рецидивирующей или рефрактерной множественной миеломы у хилых пациентов или ее симптома, которые включают введение терапевтически эффективного количества Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли хилому пациенту, имеющему множественную миелому. В некоторых таких вариантах осуществления хилый пациент характеризуется невозможностью индукционной терапии или непереносимостью лечения дексаметазоном. В некоторых таких вариантах осуществления ослабленный пациент находится в преклонном возрасте, например, в возрасте старше 65 лет.

В некоторых вариантах осуществления терапевтически или профилактически эффективное количество соединения составляет от примерно 0,01 до примерно 25 мг в сутки, от примерно 0,01 до примерно 10 мг в сутки, от примерно 0,01 до примерно 5 мг в сутки, примерно от 0,01 до примерно 2 мг в сутки, от примерно 0,01 до примерно 1 мг в сутки, от примерно 0,01 до примерно 0,5 мг в сутки, от примерно 0,01 до примерно 0,25 мг в сутки, от примерно 0,1 до примерно 25 мг в сутки, примерно от 0,1 до примерно 10 мг в сутки, от примерно 0,1 до примерно 5 мг в сутки, от примерно 0,1 до примерно 2 мг в сутки, от примерно 0,1 до примерно 1 мг в сутки, от примерно 0,1 до примерно 0,5 мг в сутки, примерно от 0,1 до примерно 0,25 мг в сутки, от примерно 0,5 до примерно 25 мг в сутки, от примерно 0,5 до примерно 10 мг в сутки, от примерно 0,5 до примерно 5 мг в сутки, от примерно 0,5 до примерно 2 мг в сутки, примерно от 0,5 до примерно 1 мг в сутки, от примерно 1 до примерно 25 мг в сутки, от примерно 1 до примерно 10 мг в сутки, от примерно 1 до примерно 5 мг в сутки, от примерно 1 до примерно 2,5 мг в сутки или от примерно 1 до примерно 2 мг в сутки. В одном варианте осуществления терапевтически или профилактически эффективное количество Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3 составляет от примерно 0,1 мг в сутки до примерно 0,4 мг в сутки.

В некоторых вариантах осуществления указанное терапевтически или профилактически эффективное количество составляет примерно 0,1, примерно 0,2, примерно 0,3, примерно 0,4, примерно 0,5, примерно 0,6, примерно 0,7, примерно 0,8, примерно 0,9, примерно 1, примерно 2, примерно 3, примерно 4, примерно 5, примерно 6, примерно 7, примерно 8, примерно 9, примерно 10, примерно 15, примерно 20 или примерно 25 мг в сутки. В некоторых таких вариантах осуществления указанное терапевтически или профилактически эффективное количество составляет примерно 0,1, примерно 0,2, примерно 0,3, примерно 0,4, примерно 0,5, примерно 0,6 или примерно 0,7 мг в сутки.

В одном варианте осуществления рекомендуемый диапазон суточной дозы Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли в случае условий, описанных в данном документе, лежат в пределах от примерно 0,1 до примерно 25 мг в сутки, предпочтительно в виде разовой дозы один раз в сутки или в разделенных дозах в течение дня. В других вариантах осуществления, диапазоны доз составляют от примерно 0,1 до примерно 10 мг в сутки. Конкретные дозы в сутки включают 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 мг в сутки. Более конкретные дозы в сутки включают 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 или 0,5 мг в сутки.

В конкретном варианте осуществления рекомендуемая начальная доза может составлять 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20 или 25 мг в сутки. В другом варианте реализации, рекомендуемая начальная доза может составлять 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 или 0,5 мг в сутки. Дозу можно повышать до 1, 2, 3, 4 или 5 мг в сутки.

В конкретных вариантах осуществления терапевтически или профилактически эффективное количество составляет от примерно 0,001 до примерно 5 мг/кг/сутки, от примерно 0,001 до примерно 4 мг/кг/сутки, от примерно 0,001 до примерно 3 мг/кг/сутки, от примерно 0,001 до примерно 2 мг/кг/сутки, от примерно 0,001 до примерно 1 мг/кг/сутки, 0,001 до примерно 0,05 мг/кг/сутки, от примерно 0,001 до примерно 0,04 мг/кг/сутки, от примерно 0,001 до примерно 0,03 мг/кг/сутки, от примерно 0,001 до примерно 0,02 мг/кг/сутки, от примерно 0,001 до примерно 0,01 мг/кг/сутки или от примерно 0,001 до примерно 0,005 мг/кг/сутки.

Вводимая доза также может быть выражена в других единицах, отличных от мг/кг/сутки. Например, дозы для парентерального введения могут быть выражены в мг/м²/день. Специалист в данной области техники легко определит, как преобразовать дозы из мг/кг/сутки в мг/м²/сутки с учетом высоты или массы субъекта или их обоих (см. www.fda.gov/cder/cancer/animalframe.htm). Например, доза 1 мг/кг/сутки для человека массой 65 кг приблизительно равна 38 мг/м²/сутки.

В некоторых вариантах реализации пациент, подлежащий лечению одним из способов, предложенных в данном документе, не проходил терапию против множественной миеломы до введения Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3, предложенного в данном документе, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли. В некоторых вариантах реализации пациент, подлежащий лечению одним из способов, предложенных в данном документе, проходил терапию против множественной миеломы до введения Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3, предложенного в данном документе, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли. В некоторых вариантах осуществления у пациента, подлежащего лечению одним из способов, предложенных в данном документе, развилась лекарственная устойчивость к терапии против множественной миеломы. В других таких вариантах осуществления у пациента развилась устойчивость к одному, двум или трем лечением против множественной миеломы, выбранным из группы, включающей CD38 моноклональное антитело (CD38 mAb, например, даратумумаб или изатуксимаб), ингибитор протеасом (например, бортезомиб, карфилзомиб, иксазомиб или маризомиб) и иммуномодулирующее соединение (например, талидомид, леналидомид и помалидомид).

Способы, предложенные в данном документе, включают лечение пациента, независимо от возраста пациента. В некоторых вариантах осуществления субъект представляет собой 18-летнего субъекта 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 не менее 65 лет. В других вариантах осуществления возраст субъекта составляет не более 65 лет. В одном варианте осуществления субъект является пожилым субъектом с множественной миеломой, таким как субъект старше 65 лет. В одном варианте осуществления субъект является пожилым субъектом с множественной миеломой, таким как субъект старше 75 лет.

В зависимости от состояния заболевания, подлежащего лечению, и от состояния субъекта, Соединение 1 или Соединение 2, предложенное в данном документе, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль можно вводить пероральным, парентеральным способом (например, внутримышечным, интраперитонеальным, внутривенным, CIV, интрацестеральной инъекцией или инфузией, подкожной инъекцией или с применением имплантата), посредством ингаляции, назальным, вагинальным, ректальным, сублингвальным или местным (например, трансдермальным или локальным) способом введения. Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, предложенное в данном документе, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемая соль могут быть составлены, отдельно или совместно, в подходящую единичную лекарственную форму с фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами, носителями, адьювантами и жидкими средами, подходящими для каждого способа введения.

В одном варианте осуществления Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, предложенные в данном документе, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль вводят перорально. В другом варианте осуществления Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, предложенные в данном документе, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль вводят парентерально. В еще одном варианте осуществления Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, предложенные в данном документе, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль вводят внутривенно.

Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, предлагаемое в данном документе, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль можно доставлять в виде разовой дозы, такой как, например, однократная болюсная инъекция или пероральные таблетки или пилюли; или в течение определенного времени, например, посредством непрерывной инфузии в течение определенного времени или в виде дробных болюсных доз в течение определенного времени. Соединения, описанные в данном документе, при необходимости можно вводить несколько раз, например, до стабилизации или регрессии заболевания у пациента или до прогрессирования заболевания или неприемлемой токсичности у пациента. Стабильное заболевание или его отсутствие определяют способами, известными в данной области техники, такими как оценка симптомов пациента, медицинский осмотр, визуализация опухоли, снимок которой получен с помощью рентгеновского излучения, КТ, ПЭТ или МРТ, а также с помощью других общепринятых способов оценки.

Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, предложенное в данном документе, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемая соль может независимо вводиться один раз в сутки (QD) или может быть разделено на несколько дневных доз, таких как для приема два раза в сутки (BID), три раза в сутки (TID) и четыре раза в сутки (QID). К тому же, введение может быть непрерывным (т.е. ежедневным в течение нескольких дней подряд или каждый день), периодическим, например, в циклах (т.е. включающих дни, недели или месяцы отдыха без лекарственного средства). Как используется в данном документе, термин "ежедневно" означает, что терапевтическое соединение, такое как Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, предлагаемые в данном описании, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль вводят один или более раз в сутки, например, в течение периода времени. Термин "непрерывный" озна-

чает, что терапевтическое соединение, такое как Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, предлагаемые в данном описании, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль вводят ежедневно в течение непрерывного периода, по меньшей мере, от 7 дней до 52 недель. Термин "периодический" или "периодически", применяемый в данном документе, означает прекращение и начало с регулярными или нерегулярными интервалами. Например, периодическое введение Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3, предлагаемого в данном документе, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли представляет собой введение в течение от одного до шести дней в неделю, введение в циклах (например, ежедневное введение в течение от двух до восьми последовательных недель, после чего идет период отдыха без введения в течение до одной недели) или введение через сутки. Используемый в данном документе, термин "циклический" означает, что терапевтическое соединение, такое как Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, предлагаемые в данном описании, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или их фармацевтически приемлемую соль вводят ежесуточно или непрерывно, но с периодом отдыха. В некоторых подобных вариантах осуществления введение осуществляют один раз в сутки в течение от двух до шести суток, с последующим периодом отдыха без введения в течение от пяти до семи суток.

В некоторых вариантах осуществления частота введения находится в пределах от примерно дозы ежедневно до дозы ежемесячно. В конкретных вариантах осуществления, введение осуществляют раз в сутки, два раза в сутки, три раза в сутки, четыре раза в сутки, один раз в сутки, два раза в неделю, один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в четыре недели. В одном варианте осуществления Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, предложенные в данном документе, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль вводят один раз в сутки. В другом варианте осуществления Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, предложенные в данном документе, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль вводят два раза в сутки. В еще одном варианте осуществления Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, предложенные в данном документе, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль вводят три раза в сутки. В еще одном варианте осуществления Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, предложенные в данном документе, или энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или их фармацевтически приемлемую соль вводят четыре раза в сутки.

В одном варианте осуществления терапевтически эффективное количество Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3 вводят в цикле лечения, который включает период введения, составляющий не более 20 дней, с последующим периодом отдыха. В одном варианте осуществления терапевтически эффективное количество Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3 вводят в цикле лечения, который включает период введения, составляющий не более 15 дней, с последующим периодом отдыха. В одном варианте осуществления терапевтически эффективное количество Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3 вводят в цикле лечения, который включает период введения, составляющий не более 10 дней, с последующим периодом отдыха. В одном варианте осуществления терапевтически эффективное количество Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3 вводят в цикле лечения, который включает период введения, составляющий не более 7 дней, с последующим периодом отдыха. В одном варианте осуществления терапевтически эффективное количество Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3 вводят в цикле лечения, который включает период введения, составляющий не более 5 дней, с последующим периодом отдыха. В одном варианте осуществления терапевтически эффективное количество Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3 вводят в цикле лечения, который включает период введения, составляющий не более 4 дней, с последующим периодом отдыха. В одном варианте осуществления терапевтически эффективное количество Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3 вводят в цикле лечения, который включает период введения, составляющий не более 3 дней, с последующим периодом отдыха.

В одном варианте осуществления цикл лечения включает период введения, составляющий не более 14 дней, с последующим периодом отдыха. В одном варианте осуществления цикл лечения включает период введения, составляющий не более 10 дней, с последующим периодом отдыха. В одном варианте осуществления цикл лечения включает период введения, составляющий не более 7 дней, с последующим периодом отдыха. В одном варианте осуществления цикл лечения включает период введения, составляющий не более 5 дней, с последующим периодом отдыха. В одном варианте осуществления цикл лечения включает период введения, составляющий не более 4 дней, с последующим периодом отдыха. В одном варианте осуществления цикл лечения включает период введения, составляющий не более 3 дней, с последующим периодом отдыха.

В одном варианте осуществления период отдыха составляет от примерно 2 дней до примерно 11 дней. В одном варианте осуществления период отдыха составляет от примерно 2 дней до примерно 10 дней. В одном варианте осуществления период отдыха составляет примерно 2 дней. В одном варианте осуществления период отдыха составляет примерно 3 дней. В одном варианте осуществления период отдыха составляет примерно 4 дней. В одном варианте осуществления период отдыха составляет примерно 5 дней. В одном варианте осуществления период отдыха составляет примерно 6 дней. В другом

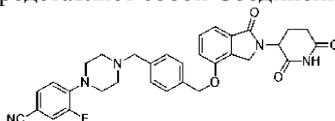
эффективного количества Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3 в дни 1-4 и 8-11 и 15-18 21-дневного цикла. В другом варианте осуществления цикл лечения включает введение терапевтически эффективного количества Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3 в дни 1-4 и 8-10 и 15-17 21-дневного цикла. В другом варианте осуществления цикл лечения включает введение терапевтически эффективного количества Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3 в дни 1-3 и 8-11 21-дневного цикла. В другом варианте осуществления цикл лечения включает введение терапевтически эффективного количества Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3 в дни 1-3 и 11-13 21-дневного цикла.

Любой цикл лечения, описанный в данном документе, может повторяться с числом циклов по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или больше. В некоторых случаях цикл лечения, описанный в данном документе, включает от 1 до примерно 24 циклов, от примерно 2 до примерно 16 циклов или от примерно 2 до примерно 4 циклов. В некоторых случаях цикл лечения, описанный в данном документе, включает от 1 до примерно 4 циклов. В некоторых вариантах осуществления все циклы 1-4 представляют собой 28-дневные циклы. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3 вводят в течение 1-13 циклов из 28 дней (например, в течение примерно 1 года). В некоторых случаях циклическая терапия не ограничена числом циклов, и при этом терапии продолжают до прогрессирования заболевания. Циклы в некоторых случаях могут предусматривать различную продолжительность периодов введения и/или периодов отдыха, описанных в данном документе.

В одном варианте осуществления цикл лечения включает введение Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3 при величине дозировки, составляющей примерно 0,1 мг/сутки, 0,2 мг/сутки, 0,3 мг/сутки, 0,4 мг/сутки, 0,5 мг/сутки, 0,6 мг/сутки, 0,7 мг/сутки, 0,8 мг/сутки, 0,9 мг/сутки, 1,0 мг/сутки, 5,0 мг/сутки или 10 мг/сутки, при введении один раз в сутки. В одном варианте осуществления цикл лечения включает введение Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3 при величине дозировки, составляющей примерно 0,1 мг/сутки, 0,2 мг/сутки, 0,3 мг/сутки, 0,4 мг/сутки, 0,5 мг/сутки, 0,6 мг/сутки, 0,7 мг/сутки или 0,8 мг/сутки, при введении один раз в сутки. В некоторых таких вариантах осуществления цикл лечения включает введение Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3 раза в сутки при величине дозировки, составляющей примерно 0,1 мг, 0,2 мг, 0,3 мг, 0,4 мг или 0,5 мг, в дни 1-10 28-дневного цикла. В некоторых таких вариантах осуществления цикл лечения включает введение Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3 раза в сутки при величине дозировки, составляющей примерно 0,1 мг в дни 1-10 и 15-24 28-дневного цикла. В некоторых таких вариантах осуществления цикл лечения включает введение Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3 дважды в сутки при величине дозировки, составляющей примерно 0,1 мг, 0,2 мг, 0,3 мг, 0,4 мг или 0,5 мг, в дни 1-3 28-дневного цикла. В других вариантах осуществления цикл лечения включает введение Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3 дважды в сутки при величине дозировки, составляющей примерно 0,1 мг, 0,2 мг, 0,3 мг, 0,4 мг или 0,5 мг, в дни 1-3 и 15-19 28-дневного цикла. В других вариантах осуществления цикл лечения включает введение Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3 дважды в сутки при величине дозировки, составляющей примерно 0,1 мг, 0,2 мг, 0,3 мг, 0,4 мг или 0,5 мг, в дни 1-3 и 15-17 28-дневного цикла. В других вариантах осуществления цикл лечения включает введение Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3 дважды в сутки при величине дозировки, составляющей примерно 0,2 мг в дни 1-3 и 15-17 28-дневного цикла. В одном таком варианте осуществления соединение вводят в дни от 1 до 3 (утром и вечером), день 14 (только вечер), дни 15 и 16 (утром и вечером), и день 17 (только утром) в Цикле 1.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ идентификации субъекта со множественной миеломой, которая является рецидивирующей, рефрактерной или резистентной к традиционной терапии, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- (a) получение образца от субъекта;
 - (b) определение уровня биомаркера в образце и
 - (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце ниже, чем контрольный уровень биомаркера;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1:

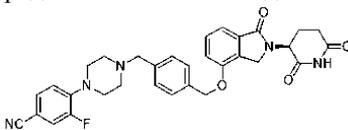


или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В других вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ идентификации субъекта со множественной миеломой, которая является рецидивирующей, рефрактерной или резистентной к традиционной терапии, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, вклю-

чающий:

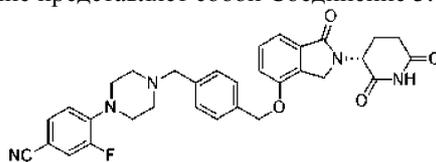
- (a) получение образца от субъекта;
 - (b) определение уровня биомаркера в образце и
 - (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце ниже, чем контрольный уровень биомаркера;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2:



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном варианте осуществления в настоящем документе предложен способ идентификации субъекта со множественной миеломой, которая является рецидивирующей, рефрактерной или резистентной к традиционной терапии, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- (a) получение образца от субъекта;
 - (b) определение уровня биомаркера в образце и
 - (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце ниже, чем контрольный уровень биомаркера;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3:



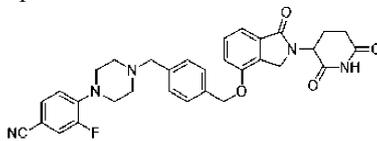
или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ идентификации субъекта со множественной миеломой, которая является рецидивирующей, рефрактерной или резистентной к традиционной терапии, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- (a) определение уровня биомаркера в образце, полученном от субъекта; и
- (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце ниже, чем контрольный уровень биомаркера; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другой аспект в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего множественную миелому, к лечебному соединению, включающий:

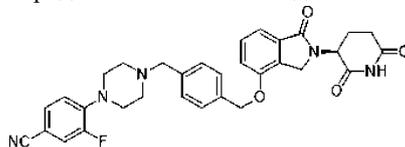
- (a) получение образца от субъекта;
 - (b) определение уровня биомаркера в образце и
 - (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце ниже, чем контрольный уровень биомаркера;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1:



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом варианте осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего множественную миелому, к лечебному соединению, включающий:

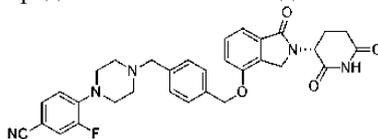
- (a) получение образца от субъекта;
 - (b) определение уровня биомаркера в образце и
 - (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце ниже, чем контрольный уровень биомаркера;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2:



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном варианте осуществления способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего множественную миелому, к лечебному соединению, включающий:

- (a) получение образца от субъекта;
 - (b) определение уровня биомаркера в образце и
 - (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце ниже, чем контрольный уровень биомаркера;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3:



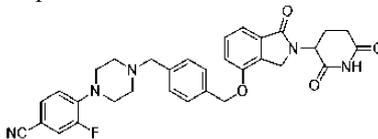
или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другой аспект в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего множественную миелому, к лечебному соединению, включающий:

- (a) определение уровня биомаркера в образце, полученном от субъекта; и (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце ниже, чем контрольный уровень биомаркера; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

Понятно, что схема введения доз может быть скорректирована в зависимости от ответа пациента или его отсутствия в соответствии с уровнем биомаркера. Например, доза может быть скорректирована, если пациент имеет нейтропению или пациент не отвечает. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ определения или корректировки дозы для лечения субъекта, имеющего множественную миелому, лечебным соединением, включающий:

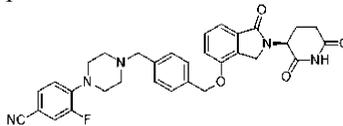
- (a) введение субъекту дозы лечебного соединения;
 - (b) получение одного или более образцов от субъекта в разные моменты времени;
 - (c) определение уровня биомаркера в одном или более образцах и, таким образом, определение того, является ли доза подходящей или требует корректировки;
- в котором лечебное соединении представляет собой Соединение 1:



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом варианте осуществления в настоящем документе предложен способ определения или корректировки дозы для лечения субъекта, имеющего множественную миелому, лечебным соединением, включающий:

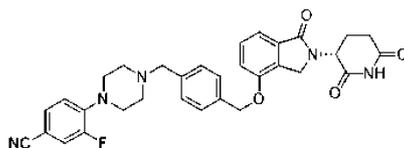
- (a) введение субъекту дозы лечебного соединения;
 - (b) получение одного или более образцов от субъекта в разные моменты времени;
 - (c) определение уровня биомаркера в одном или более образцах и, таким образом, определение того, является ли доза подходящей или требует корректировки;
- при этом лечебное соединении представляет собой Соединение 2:



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном варианте осуществления в настоящем документе предложен способ определения или корректировки дозы для лечения субъекта, имеющего множественную миелому, лечебным соединением, включающий:

- (a) введение субъекту дозы лечебного соединения;
- (b) получение одного или более образцов от субъекта в разные моменты времени;
- (c) определение уровня биомаркера в одном или более образцах и, таким образом, определение того, является ли доза подходящей или требует корректировки; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3:



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном варианте осуществления в настоящем документе предложен способ определения или корректировки дозы для лечения субъекта, имеющего множественную миелому, лечебным соединением, при этом соединение вводят субъекту, включающий:

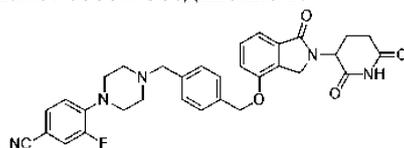
(а) определение уровня биомаркера в одном или более образцах, полученных от субъекта, и, таким образом, определение того, является ли доза подходящей или требует корректировки; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления различные временные точки могут включать контрольный образец, полученный до лечения лечебным соединением, и один или более образцов, полученных от субъекта в разное время во время лечения лечебным соединением. В других вариантах осуществления различные временные точки могут включать контрольный образец, полученный во время лечения, и один или более образцов, взятых позже во время лечения лечебным соединением. В еще одном варианте осуществления различные временные точки могут включать контрольный образец, взятый до лечения, и образец, взятый после лечения.

В настоящем документе также представлены способы прогнозирования или мониторинга восприимчивости пациента к лечебному соединению или эффективности лечебного соединения с применением биомаркера (например, Aiolos, Ikaros, CRBN, ZFP91, c-MYC, IRF4, p-каспаза 1, p-каспаза-3, p-каспаза 7, расщепленный PARP, сурвивин, BIM, sFLC, p21, p27, pRB1, растворимый BCMA, CTC, TIL, IL-2, IFN γ , TNF α или клональность ТКР). В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак (например, множественной миеломой), к лечебному соединению с применением прогнозирующего или прогностического фактора, такого как Aiolos, Ikaros, CRBN, ZFP91, c-MYC, IRF4, p-каспаза 1, p-каспаза-3, p-каспаза 7, расщепленный PARP, сурвивин, BIM, sFLC, p21, p27, pRB1, растворимый BCMA, CTC, TIL, IL-2, IFN γ , TNF α или клональность ТКР. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы мониторинга эффективности лечения рака (например, множественной миеломы) у субъекта с помощью лечебного соединения с применением уровня биомаркера (например, Aiolos, Ikaros, CRBN, ZFP91, c-MYC, IRF4, p-каспазы 1, p-каспазы-3, p-каспазы 7, расщепленного PARP, сурвивина, BIM, sFLC, p21, p27, pRB1, растворимого BCMA, CTC, TIL, IL-2, IFN γ , TNF α или клональности ТКР) как прогностического или прогностического фактора. В некоторых вариантах осуществления лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3. В одном варианте осуществления лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В другом варианте осуществления соединение представляет собой Соединение 2. В другом варианте осуществления лечебное соединение представляет собой Соединение 3.

Таким образом, в некоторых аспектах в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

- введение лечебного соединения субъекту;
- получение образца от субъекта;
- определение уровня биомаркера в образце и
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1:

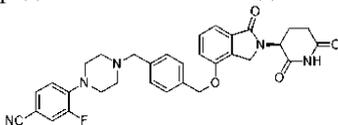


или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог, фармацевтически приемлемую соль или полиморф.

В другом аспекте в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

- введение лечебного соединения субъекту;
- получение образца от субъекта;
- определение уровня биомаркера в образце и
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца;

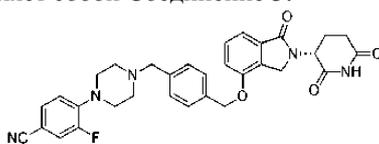
при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2:



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном аспекте в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

- введение лечебного соединения субъекту;
- получение образца от субъекта;
- определение уровня биомаркера в образце и
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2:



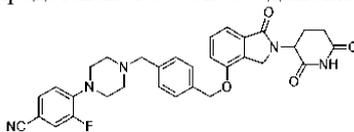
или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом аспекте в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, которое вводили субъекту, включающий:

- определение уровня биомаркера в образце, полученном от субъекта; и
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его таутомер, изотополог или а фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном аспекте в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

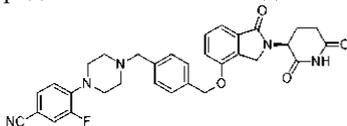
- получение образца от субъекта;
- введение лечебного соединения в образец;
- определение уровня биомаркера в образце и
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1:



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог, фармацевтически приемлемую соль или полиморф.

В еще одном аспекте в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

- получение образца от субъекта;
- введение лечебного соединения в образец;
- определение уровня биомаркера в образце и
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2:

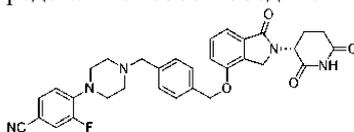


или его таутомер, изотополог, фармацевтически приемлемую соль или полиморф.

В еще одном аспекте в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

- получение образца от субъекта;
- введение лечебного соединения в образец;
- определение уровня биомаркера в образце и
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уро-

вень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог, фармацевтически приемлемую соль или полиморф.

В еще одном аспекте в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

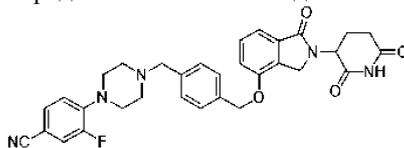
- введение лечебного соединения в образец, полученный от субъекта;
- определение уровня биомаркера в образце и
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его таутомер, изотополог, фармацевтически приемлемую соль или полиморф.

В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, уровень биомаркера в образце выше, чем уровень биомаркера, полученного из контрольного образца. В других вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, уровень биомаркера в образце ниже, чем уровень биомаркера, полученного из контрольного образца.

В еще одном аспекте в настоящем документе предложен способ мониторинга эффективности лечения рака у субъекта лечебным соединением, включающий:

- введение лечебного соединения субъекту;
- получение образца от субъекта;
- определение уровня биомаркера в образце и
- сравнение уровня биомаркера в образце с уровнем биомаркера, полученного из контрольного образца, при этом изменение уровня биомаркера указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта;

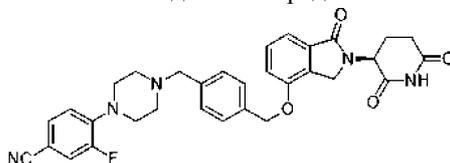
при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог, фармацевтически приемлемую соль или полиморф.

В еще одном аспекте в настоящем документе предложен способ мониторинга эффективности лечения рака у субъекта лечебным соединением, включающий:

- введение лечебного соединения субъекту;
- получение образца от субъекта;
- определение уровня биомаркера в образце и
- сравнение уровня биомаркера в образце с уровнем биомаркера, полученного из контрольного образца, при этом изменение уровня биомаркера указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2

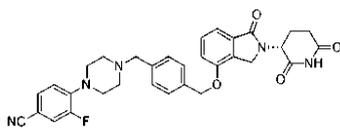


или его таутомер, изотополог, фармацевтически приемлемую соль или полиморф.

В еще одном аспекте в настоящем документе предложен способ мониторинга эффективности лечения рака у субъекта лечебным соединением, включающий:

- введение лечебного соединения субъекту;
- получение образца от субъекта;
- определение уровня биомаркера в образце и
- сравнение уровня биомаркера в образце с уровнем биомаркера, полученного из контрольного образца, при этом изменение уровня биомаркера указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог, фармацевтически приемлемую соль или полиморф.

В еще одном аспекте в настоящем документе предложен способ мониторинга эффективности лечения рака у субъекта лечебным соединением, которое вводили субъекту, включающий:

(a) определение уровня биомаркера в образце, полученном от субъекта; и

(b) сравнение уровня биомаркера в образце с уровнем биомаркера, полученного из контрольного образца, при этом изменение уровня биомаркера указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3 или его таутомер, изотополог, фармацевтически приемлемую соль или полиморф.

В некоторых вариантах осуществления повышенный уровень по сравнению с контрольным уровнем указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта. Например, повышение р-каспазы-3, р-каспазы 1, р-каспазы 7, расщепленного PARP, BIM, TUNEL, Аннексина-V/7-AAD, Аннексина-V/PI, p21, p27, свободной легкой цепи в сыворотке, IL-2, TNF α , IFN γ или клоальности ТКР относительно контроля указывает на эффективность лечебного соединения при лечении множественной миеломы у субъекта. В других вариантах осуществления пониженный уровень по сравнению с контрольным уровнем указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта. Например, снижение Aiolos (IKZF3), Ikaros (IKZF1), CTC, ZFP91, c-MYC, IRF4, фосфо-Rb1 по сравнению с контролем указывает на эффективность лечебного соединения при лечении множественной миеломы у субъекта.

Подразумевается, что уровень биомаркера будет относиться к контрольному уровню. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления пониженный уровень по сравнению с контрольным уровнем указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта. Например, снижение р-каспазы-3, р-каспазы 1, р-каспазы 7, расщепленного PARP, BIM, TUNEL, Аннексина-V/7-AAD, Аннексина-V/PI, p21, p27, свободной легкой цепи в сыворотке, IL-2, TNF α , IFN γ или клоальности ТКР от здорового пациента по сравнению с контролем от пациента с множественной миеломой указывает на эффективность лечебного соединения при лечении множественной миеломы у субъекта. В других вариантах осуществления повышенный уровень по сравнению с контрольным уровнем свидетельствует об эффективности лечебного соединения при лечении рака у субъекта. Например, повышение Aiolos (IKZF3), Ikaros (IKZF1), CTC, ZFP91, c-MYC, IRF4, фосфо-Rb1 у здорового пациента по сравнению с контролем от пациента с множественной миеломой указывает на эффективность лечебное соединение при лечении множественной миеломы у субъекта.

Как описано в данном документе, предусмотрен способ уменьшения, лечения и/или предупреждения неблагоприятных или нежелательных явлений, связанных с традиционной терапией, включая, но не ограничиваясь этим, операцию, химиотерапию, лучевую терапию, биологическую терапию и иммунотерапию. Соединение, предложенное в данном документе, например, Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и другой активный ингредиент можно вводить пациенту, идентифицированному с использованием описанных в данном документе биомаркеров, до, во время или после возникновения нежелательного явления, связанного с традиционной терапией.

Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, предложенное в данном документе, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемая соль также может быть объединено или использовано в комбинации с другими терапевтическими агентами, пригодными для лечения и/или профилактики множественной миеломы, описанными в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления различных способов, представленных в настоящем документе, способ включает введение пациенту Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли в комбинации с одним или более вторыми активными агентами и необязательно в комбинации с лучевой терапией, переливанием крови или хирургическим вмешательством.

В данном контексте термин "в комбинации" включает применение более чем одной терапии (например, одного или более профилактических и/или терапевтических агентов). Однако применение термина "в комбинации" не ограничивает порядок, в котором терапевтические средства (например, профилактические и/или терапевтические средства) вводят пациенту, страдающему заболеванием или расстройством. Первая терапия (например, профилактическое или терапевтическое средство, такое как соединение, предлагаемое в данном документе, например, Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемая соль) может быть введена перед (например, за 5 мин, 15 мин, 30 мин, 45 мин, 1 ч, 2 ч, 4 ч, 6 ч, 12 ч, 24 ч, 48 ч, 72 ч, 96 ч, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 8 недель или 12 недель), одновре-

менно с или после (например, спустя 5 мин, 15 мин, 30 мин, 45 мин, 1 ч, 2 ч, 4 ч, 6 ч, 12 ч, 24 ч, 48 ч, 72 ч, 96 ч, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 8 недель или 12 недели) введения второй терапии (например, профилактического или терапевтического средства) субъекту. Тройная терапия также рассматривается в данном документе, также как и четверная терапия. В одном варианте осуществления второй терапевтический агент представляет собой дексаметазон.

Введение Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли, и одного или более вторых активных средств пациенту можно осуществлять одновременно или последовательно, одним или разными способами введения. Пригодность конкретного способа введения, применяемого для конкретного активного средства, зависит от самого активного средства (например, от возможности его перорального введения без разложения до попадания в кровоток).

Путь введения Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3 или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли не зависит от пути введения второго терапевтического агента. В одном варианте осуществления Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3 или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль вводят перорально. В другом варианте осуществления Соединение 1,

Соединение 2 или Соединение 3 вводят внутривенно. Так, в соответствии с указанными вариантами осуществления, Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль вводят перорально или внутривенно, а вторую терапию можно вводить перорально, парентерально, интраперитонеально, внутривенно, внутриартериально, трансдермально, сублингвально, внутримышечно, ректально, трансбуккально, интраназально, липосомально, посредством ингаляции, вагинально, интраокулярно, посредством местной доставки через катетер или стент, подкожно, интраадипозально, интраартикулярно, интратекально или в лекарственной форме с медленным высвобождением. В одном варианте осуществления Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль, и вторая терапия вводятся таким же способом введения, перорально или в/в. В другом варианте осуществления Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль вводят одним способом введения, например, в/в введением, тогда как второй агент (средство против множественной миеломы) вводят другим способом, например перорально.

В одном из вариантов осуществления второй активный агент вводят внутривенно или подкожно и один или два раза в сутки в количестве от примерно 1 до примерно 1000 мг, от примерно 5 до примерно 500 мг, от примерно 10 до примерно 350 мг или от примерно 50 до примерно 200 мг. Конкретное количество второго активного агента будет зависеть от конкретного используемого агента, типа множественной миеломы, подлежащей лечению или сдерживанию, тяжести и стадии заболевания, а также количества Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли, представленных в настоящем документе, и любых необязательных дополнительных активных агентов, одновременно вводимых пациенту.

В способах и композициях, представленных в данном документе, могут использоваться один или более из вторых активных ингредиентов или агентов вместе с Соединением 1, Соединением 2 или Соединением 3. Вторые активные средства могут представлять собой высокомолекулярные соединения (например, белки), малые молекулы (например, синтетические неорганические, металлоорганические или органические молекулы) или клеточные терапии (например, клетки CAR).

Примеры вторых активных агентов, которые могут быть использованы в способах и композициях, описанных в данном документе, включают один или более из списка, включающего мелфалан, винкристин, циклофосфамид, этопозид, доксорубин, бендамустин, ингибитор протеасом (например, бортезомиб, карфилзомиб, иксазомиб, опрозомиб или маризомиб), ингибитор гистондеацетилазы (например, панобиностат, ACY241), ингибитор BET (например, GSK525762A, OTX015, BMS-986158, TEN-010, CPI-0610, INCB54329, BAY1238097, FT-1101, C90010, 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, EP11313 и EP11336), ингибитор BCL2 (например, венетоклакс или навитоклакс), ингибитор MCL-1 (например, AZD5991, AMG176, MIK665, S64315 или S63845), кортикостероид (например, преднизон), дексаметазон; антитело (например, антитело CS1, такое как элотузумаб; антитело CD38, такое как даратумумаб, изатуксимаб; или антитело ВСМА или конъюгат антитела, такой как GSK2857916 или BI 836909), ингибитор контрольной точки (как описано в данном документе) или клетки CAR (как описано в данном документе).

В одном варианте осуществления второй активный агент, применяемый вместе с Соединением 1, Соединением 2 или Соединением 3 или его энантиомером, смесью энантиомеров, таутомером, изотопологом или фармацевтически приемлемой солью в способах и композициях, описанных в данном документе, представляет собой дексаметазон.

В некоторых вариантах осуществления дексаметазон вводят при дозировке 4 мг в дни 1 и 8 21-дневного цикла. В некоторых других вариантах осуществления дексаметазон вводят при дозировке 4 мг

комбинации с ингибиторами контрольной точки. В одном варианте осуществления применяют один ингибитор контрольных точек в комбинации с Соединением 1, или его таутомером, изотопологом или фармацевтически приемлемой солью по отношению к способам, представленным в данном документе. В другом варианте осуществления применяют два ингибитора контрольных точек в комбинации с Соединением 1, или его таутомером, изотопологом или фармацевтически приемлемой солью по отношению к способам, представленным в данном документе. В еще одном варианте осуществления применяют три или больше ингибиторов контрольных точек в комбинации с Соединением 1, Соединением 2 или Соединением 3, или его энантиомером, смесью энантиомеров, таутомером, изотопологом или фармацевтически приемлемой солью по отношению к способам, представленным в данном документе.

Применяемый в данном документе термин "ингибитор контрольных точек иммунного ответа" или "ингибитор контрольных точек" относится к молекулам, которые полностью или частично снижают, ингибируют, создают препятствия или модулируют один или более белков контрольных точек. Не ограничиваясь определенной теорией, белки контрольных точек регулируют активацию или функцию Т-клеток. Известны многочисленные белки контрольных точек, такие как CTLA-4 и его лиганды CD80 и CD86 и ФД-1 с его лигандами ФД-L1 и ФД-L2 (Pardoll, Nature Reviews Cancer, 2012, 12, 252-264). Эти белки ответственны за стимулирующие или ингибирующие взаимодействия Т-клеточных ответов. Белки иммунных контрольных точек ответственны за регулирование и поддержание аутоотолерантности, а также продолжительности и амплитуды физиологических иммунных реакций. Ингибиторы иммунных контрольных точек включают антитела или получены из антител.

В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой ингибитор CTLA-4. В одном варианте осуществления ингибитор 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 в полном объеме включены в данный документ посредством ссылки. В одном варианте осуществления антитело к CTLA-4 представляет собой тремелимумаб (также известный как тицилимумаб или CP-675206). В другом варианте реализации, антитело к CTLA-4 представляет собой ипилимумаб (также известный как MDX-010 или MDX-101). Ипилимумаб является полностью человеческим моноклональным IgG-антителом, которое связывается с CTLA-4. Ипилимумаб представлен на рынке под торговым наименованием Yervoy™.

В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой ингибитор ФД-1/ФД-L1. Примеры ингибиторов ФД-1/ФД-L1 включают без ограничения таковые, которые описаны в патентах США №№ 7488802; 7943743; 8008449; 8168757; 8217149 и публикациях патентной заявки по РСТ №№ WO 2003042402, WO 2008156712, WO 2010089411, WO 2010036959, WO 2011066342, WO 2011159877, WO 2011082400 и WO 2011161699, все из которых включены в данный документ во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой ингибитор ФД-1. В одном варианте осуществления ингибитор ФД-1 представляет собой антитело к ФД-1. В одном варианте осуществления антитело к ФД-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 ФД-1 представляет собой ниволумаб. Ниволумаб представляет собой моноклональное антитело IgG4 к ФД-1 человека, и при этом он представлен на рынке под торговым наименованием Opdivo™. В другом варианте осуществления антитело к ФД-1 представляет собой пембролизумаб. Пембролизумаб представляет собой гуманизированное моноклональное антитело IgG4 и представлен на рынке под торговым наименованием Keytruda™. В еще одном варианте осуществления антитело к ФД-1 представляет собой CT-011, гуманизированное антитело. CT-011 при введении самого по себе не продемонстрировал ответ при лечении острого миелоидного лейкоза (AML) при рецидиве. В еще одном варианте осуществления антитело к ФД-1 представляет собой AMP-224, слитый белок. В другом варианте осуществления антитело к ФД-1 представляет собой BGB-A317. BGB-A317 представляет собой моноклональное антитело, в котором специально разработана способность связываться с Fc гамма-рецептором I, и которое имеет уникальную сигнатуру связывания с ФД-1 с высокой аффинностью и превосходной специфичностью к мишени.

В одном варианте осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор ФД-L1. В одном варианте осуществления ингибитор ФД-L1 представляет собой антитело к ФД-L1. В одном варианте осуществления антитело к ФД-L1 представляет собой MEDI4736 (дурвалумаб). В другом варианте осуществления антитело к ФД-L1 представляет собой BMS-936559 (также известный как MDX-1105-01). В еще одном варианте осуществления ингибитор ФД-L1 представляет собой атезолизумаб (также известный как MPDL3280A и Tecentriq®).

В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой ингибитор ФД-L2. В одном варианте осуществления ингибитор ФД-L2 представляет собой антитело к ФД-L2. В одном варианте осуществления антитело к ФД-L2 представляет собой gN1gM12B7A.

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.

В одном варианте осуществления ингибитор контрольной точки 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).

В одном варианте осуществления ингибиторы контрольных точек представляют собой ингибитор TIM3 (домен Т-клеточного иммуноглобулина и домен муцина 3) (Fourcade et al., *J. Exp. Med.*, 2010, 207, 2175-86; Sakuishi et al., *J. Exp. Med.*, 2010, 207, 2187-94).

В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой агониста OX40 (CD134). В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой антитело к OX40. В одном варианте осуществления антитело к OX40 представляет собой анти-OX-40. В другом варианте осуществления антитело к OX40 представляет собой MEDI6469.

В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой агониста GITR. В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой антитело к GITR. В одном варианте осуществления антитело к GITR представляет собой TRX518.

В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой агониста 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.

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

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

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.

В некоторых вариантах осуществления виды комбинированной терапии, представленные в данном документе, включают два или более ингибиторов контрольных точек, описанных в данном документе (в том числе ингибиторов контрольных точек одного и того же или отличного класса). Более того, виды комбинированной терапии, описанные в данном документе, могут применяться в комбинации с одним или более вторыми активными средствами, описанными в данном документе, если это необходимо для лечения заболеваний, описанных в данном документе, и предусмотрено в области техники.

В некоторых вариантах осуществления Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3 может применяться в комбинации с одной или более иммунными клетками, экспрессирующими один или более рецепторов химерных антигенов (CAR) на их поверхности (например, модифицированный иммунный элемент). Как правило, CAR содержат внеклеточный домен из первого белка, (например, антигенсвязывающего белка), трансмембранного домена и внутриклеточного сигнального домена. В некоторых вариантах осуществления, как только внеклеточный домен связывается с белком-мишенью, таким как ассоциированный с опухолью антиген (TAA) или опухолеспецифический антиген (TSA), сигнал генерируется посредством внутриклеточного сигнального домена, который активирует иммунную клетку, например, для нацеливания и уничтожения клетки, экспрессирующей целевой белок.

Внеклеточные домены:

Внеклеточные домены CAR связываются с представляющим интерес антигеном. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен CAR включает рецептор или часть рецептора, который связывается с указанным антигеном. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен содержит, или представляет собой, антитело или его антигенсвязывающую часть. В конкретных вариантах осуществления внеклеточный домен содержит, или представляет собой, одноцепочечный домен Fv (scFv). Одноцепочечный домен Fv может содержать, например, V_L, связанный с V_H посредством гибкого линкера, где V_L и V_H являются антителами, которые связывают указанный антиген.

В некоторых вариантах осуществления антиген, распознаваемый внеклеточным доменом полипептида, описанный в данном документе, представляет собой ассоциированный с опухолью антиген (TAA) или опухолеспецифический антиген (TSA). В различных конкретных вариантах осуществления, ассоциированный с опухолью антиген или опухолеспецифический антиген представляет собой, без ограничения, Her2, антиген стволовых клеток предстательной железы (PSCA), альфа-фетопrotein (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), тирозиназа, меланома-24-ассоциированный антиген (MAGE), CD19, CD22, CD27, CD30, CD34, CD45, CD70, CD99, CD117, EGFRvIII (вариант III эпидермального фактора роста), мезотелин, PAP (простатическая кислая фосфатаза), простеин, TARP (белок Т-клеточного рецептора альтерна-

тивной рамки считывания гамма), Tgp-p8, STEAPI (шеститрансмембранный эпителиальный антиген предстательной железы 1), хромогранин, цитокератин, десмин, глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP), белок жидкости при острой кистозной болезни (GCDFP-15), антиген HMB-45, белок мелан-А (антиген меланомы, распознаваемый Т-лимфоцитами, MART-I), мио-D1, мышечно-специфичный актин (MSA), нейрофиламент, нейрон-специфическая енолаза (NSE), плацентарная щелочная фосфатаза, си-наптофиз, тиреоглобулин, фактор транскрипции щитовидной железы-1, димерная форма изофермента типа M2 пируват-киназы (опухоль M2-ФК), аномальный ras-белок или аномальный белок p53. В некоторых других вариантах осуществления TAA или TSA, распознаваемые внеклеточным доменом CAR, представляют собой интегрин $\alpha v \beta 3$ (CD61), галактин или Ral-B.

В некоторых вариантах осуществления TAA или TSA, распознаваемые внеклеточным доменом CAR, представляют собой раково-тестикулярный антиген (CT), 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.

В некоторых других вариантах осуществления TAA или TSA, распознаваемые внеклеточным доменом CAR, представляют собой углевод или ганглиозид, например, fuc-GMI, GM2 (онкофетальный антиген-имунногенный-1; OFA-I-1); GD2 (OFA-I-2), GM3, GD3, и тому подобное.

В некоторых других вариантах осуществления TAA или TSA, распознаваемый как внеклеточный домен CAR представляет собой альфа-актинин-4, Bage-1, BCR-ABL, слитый белок Bcr-Abl, бета-катенин, CA 125, CA 15-3 (CA 27.29YBCAA), CA 195, CA 242, CA-50, CAM43, Casp-8, cdc27, cdk4, cdkn2a, CEA, coa-1, слитый белок dek-can, EBNA, EF2, антигены вируса Эпштейна-Барра, слитый белок ETV6-AML1, HLA-A2, HLA-All, hsp70-2, KIAA0205, Mart2, Mum-1, 2 и 3, neo-PAP, миозин класса I, OB-9, слитый белок pml-RAR α , PTPRK, K-ras, N-ras, тризофосфатизомераза, 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 (Pme117), тирозиназа, TRP-1, TRP-2, MAGE-1, MAGE-3, RAGE, GAGE-1, GAGE-2, p15(58), RAGE, SCP-1, Hom/Mel-40, PRAME, p53, HRa, HER-2/neu, E2A-PRL, H4-RET, IGH-IGK, MYL-RAR, антигены E6 и E7 вируса папилломы 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, теломераза, 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.

В различных конкретных вариантах осуществления ассоциированный с опухолью антиген или опухолеспецифический антиген представляет собой опухолевые антигены, связанные с ОМЛ, как описано в S. Anguille et al. Leukemia (2012), 26, 2186-2196.

Другие связанные с опухолью и опухолеспецифические антигены известны в данной области техники.

Из уровня техники известны рецепторы, антитела и scFv, которые связываются с TSA и TAA, пригодными для конструирования рецепторов химерных антигенов, а также нуклеотидные последовательности, которые кодируют их.

В некоторых конкретных вариантах осуществления антиген, распознаваемый внеклеточным доменом химерного антигенного рецептора, представляет собой антиген, который обычно не считается TSA или TAA, но который тем не менее ассоциируется с опухолевыми клетками или повреждением, вызванным опухолью. В некоторых вариантах осуществления, например, антиген представляет собой, например, фактор роста, цитокин или интерлейкин, например, фактор роста, цитокин или интерлейкин, связанный с ангиогенезом или васкулогенезом. Такие факторы роста, цитокины или интерлейкины могут включать, например, фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), основной фактор роста фибробластов (bFGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), фактор роста гепатоцитов (HGF), инсулиноподобный фактор роста (IGF) или интерлейкин-8 (IL-8). Опухоли могут также создавать гипоксическую среду локальной по отношению к данной опухоли. Таким образом, в других конкретных вариантах осуществления антиген представляет собой фактор, связанный с гипоксией, например, HIF-1 α , HIF-1 β , HIF-2 α , HIF-2 β , HIF-3 α или HIF-3 β . Опухоли могут также вызывать локализованное повреждение нормальной ткани, вызывая высвобождение молекул, известных как молекулы патоген-ассоциированного молекулярного паттерна (DAMP; также известные как алармины). Таким образом, в некоторых других конкретных вариантах осуществления антиген представляет собой DAMP, например, белки теплового шока, бокс 1 связанных с хроматином белков с высокой подвижностью (HMGB 1), S100A8 (MRP8, калгранулин A), S100A9 (MRP14, калгранулин B), сывороточный амилоид A (SAA) или может быть дезоксирибонуклеиновой кислотой, аденозинтрифосфатом, мочевой кислотой или сульфатом гепарина.

В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен CAR соединяется с трансмембранным доменом полипептида с помощью линкерной, спейсерной или петлевой полипептидной последовательности, например, последовательности из CD28 или последовательности из CTLA4. Трансмембранный домен может быть получен или быть производным из трансмембранного домена любого трансмембранного белка и может включать весь такой трансмембранный домен или его часть. В конкретных вариантах осуществления трансмембранный домен может быть получен или быть производным из, например, CD8,

CD16, рецептора цитокинов и рецептора интерлейкина или рецептора фактора роста или тому подобного.

В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен CAR представляет собой или содержит внутриклеточный домен или мотив белка, который экспрессируется на поверхности Т-клеток и инициирует активацию и/или пролиферацию указанных Т-клеток. Такой домен или мотив способен передавать первичный антигенсвязывающий сигнал, который необходим для активации Т-лимфоцитов в ответ на связывание антигена с внеклеточной частью CAR. Обычно этот домен или мотив содержит или представляет собой ITAM (мотив активации на основе тирозина иммунорецептора). Полипептиды, содержащие ITAM, подходящие для CAR, включают, например, цепь дзета CD3 (CD3 ζ) или ее содержащие ITAM части. В конкретном варианте осуществления внутриклеточный домен является внутриклеточным сигнальным доменом CD3 ζ . В других конкретных вариантах осуществления внутриклеточный домен представляет собой цепь рецептора лимфоцитов, комплексный белок ТКР/CD3, субъединицу рецептора Fe или субъединицу рецептора IL-2. В некоторых вариантах осуществления CAR дополнительно содержит один или более костимулирующих доменов или мотивов, например, как часть внутриклеточного домена полипептида. Один или более костимулирующих доменов или мотивов могут представлять собой или могут содержать одну или более из костимулирующей последовательности полипептида CD27, костимулирующей последовательности полипептида CD28, костимулирующей последовательности полипептида OX40 (CD134), костимулирующей последовательности полипептида 4-1BB (CD137) или костимулирующей индуцибельной полипептидной последовательности Т-клеток (ICOS) или другого костимулирующего домена или мотива или любой их комбинации.

CAR могут также содержать мотив выживания Т-клеток. Мотив выживаемости Т-клеток может быть любой полипептидной последовательностью или мотивом, который облегчает выживаемость Т-лимфоцитов после стимуляции антигеном. В некоторых вариантах осуществления мотив выживания Т-клеток представляет собой или получен из CD3, CD28, внутриклеточного сигнального домена рецептора IL-7 (IL-7R), внутриклеточного сигнального домена рецептора IL-12, внутриклеточного сигнального домена рецептора IL-15, внутриклеточного сигнального домена рецептора IL-21 или внутриклеточного сигнального домена рецептора трансформирующего фактора роста β (TGF β).

Модифицированными иммунными клетками, экспрессирующими CAR, могут быть, например, Т-лимфоциты (Т-клетки, например, CD4+ Т-клетки или CD8+ Т-клетки), цитотоксические лимфоциты (CTL) или естественные клетки-киллеры (NK). Т-лимфоциты, применяемые в композициях и способах, представленных в данном документе, могут быть нативными Т-лимфоцитами или МНС-ограниченными Т-лимфоцитами. В некоторых вариантах осуществления Т-лимфоциты представляют собой инфильтрирующие опухоли лимфоциты (TIL). В некоторых вариантах осуществления Т-лимфоциты были выделены из биопсии опухоли или были размножены из Т-лимфоцитов, выделенных из биопсии опухоли. В некоторых других вариантах осуществления Т-клетки были выделены из или размножены из Т-лимфоцитов, выделенных из периферической крови, пуповинной крови или лимфы. Иммунные клетки, подлежащие применению для генерации модифицированных иммунных клеток, экспрессирующих CAR, могут быть выделены с применением общепринятых, обычных способов, например, сбора крови с последующим аферезом и, необязательно, антителопосредованного выделения или сортировки клеток.

Модифицированные иммунные клетки предпочтительно являются аутологичными индивидууму, которому необходимо вводить модифицированные иммунные клетки. В некоторых других вариантах осуществления модифицированные иммунные клетки предпочтительно являются аллогенными индивидууму, которому необходимо вводить модифицированные иммунные клетки. Когда аллогенные Т-лимфоциты или NK-клетки применяют для получения модифицированных Т-лимфоцитов, предпочтительно выбирают Т-лимфоциты или NK-клетки, что уменьшает вероятность появления реакции "трансплантат против хозяина" (GVHD) у индивида. Например, в некоторых вариантах осуществления вирус-специфические Т-лимфоциты выбраны для получения модифицированных Т-лимфоцитов; ожидается, что такие лимфоциты будут иметь значительно уменьшенную нативную способность связываться с и, таким образом, активироваться любыми антигенами-реципиентами. В некоторых вариантах осуществления отторжение, опосредованное реципиентом, аллогенных Т-лимфоцитов может быть уменьшено путем совместного введения хозяину одного или более иммуносупрессивных агентов, например, циклоспорина, такролимуса, сиролимуса, циклофосамида, или тому подобного.

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, могут быть размножены с применением антител к CD3 и CD28, например, антител, прикрепленных к гранулам; см., например, патенты США №№ 5948893; 6534055; 6352694; 6692964; 6887466 и 6905681.

Модифицированные иммунные клетки, например, модифицированные Т-лимфоциты, могут необязательно содержать "суицидальный ген" или "предохранительный переключатель", который при желании позволяет убивать по существу все модифицированные иммунные клетки. Например, модифицированные Т-лимфоциты в некоторых вариантах осуществления могут содержать ген HSV-тимидинкиназы

(HSV-ТК), который вызывает гибель модифицированных Т-лимфоцитов при контакте с ганцикловиром. В другом варианте осуществления модифицированные Т-лимфоциты содержат индуцибельную каспазу, например, индуцибельную каспазу 9 (icaspase9), например, слитый белок между каспазой 9 и человеческим FK506-связывающим белком, что позволяет димеризоваться с применением специфической фармацевтической малой молекулы. См. Straathof et al., Blood 105(11):4247-4254 (2005). В определенных вариантах осуществления Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, предложенное в данном документе, вводят пациентам с различными типами или стадиями множественной миеломы в комбинации с Т-клетками, модифицированными химерным рецептором антигена (CAR). В некоторых вариантах осуществления Т-клетками CAR в комбинации с мишенью антигеном созревания В-клеток (BCMA), а в более конкретных вариантах осуществления Т-клетками CAR bb2121 или bb21217. В некоторых вариантах осуществления CAR-модифицированная Т-клетка представляет собой JCARN125.

В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, контрольный образец получают от субъекта перед введением лечебного соединения субъекту, а эталонный образец получают из того же источника, и образец. В других вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, контрольный образец получают от здорового субъекта, не имеющего рак, а эталонный образец получают из того же источника, и образец.

В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, рак представляет собой гематологический рак. В некоторых вариантах осуществления гематологический рак является метастатическим. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, рак представляет собой множественную миелому.

В некоторых вариантах осуществления, предлагаемые в данном документе способы охватывают лечение, профилактику или сдерживание различных типов рака. В некоторых вариантах осуществления, предлагаемые в данном документе способы охватывают лечение или профилактику различных типов рака. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, охватывают лечение различных типов рака, таких как рак, представленный в настоящем документе. В одном варианте осуществления способы, представленные в настоящем документе, охватывают способы лечения, профилактики или сдерживания множественной миеломы путем введения терапевтически эффективного количества Соединения 1 или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте осуществления способы, представленные в настоящем документе, охватывают способы лечения, профилактики или сдерживания множественной миеломы путем введения терапевтически эффективного количества Соединения 2 или его таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте осуществления способы, представленные в настоящем документе, охватывают способы лечения, профилактики или сдерживания множественной миеломы путем введения терапевтически эффективного количества Соединения 3 или его таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли.

В конкретных вариантах осуществления предлагаемое описание представляет собой способ лечения, профилактики или сдерживания рака у пациентов с нарушенной функцией почек. В конкретных вариантах осуществления предлагаемое описание представляет собой способы для обеспечения надлежащей корректировки дозы для пациентов с нарушенной функцией почек из-за, но без ограничения, болезни, старения или других факторов пациента.

В конкретных вариантах осуществления в данном документе предложены способы лечения, профилактики или сдерживания ММ, в том числе рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломы у пациентов с нарушенной функцией почек или ее симптома, которые включают введение терапевтически эффективного количества Соединения 1, Соединения 2, или Соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли, пациенту, имеющему рецидивирующую/рефрактерную ММ с нарушением функции почек, отдельно или в комбинации со вторым активным агентом. В некоторых вариантах осуществления способы включают стадию введения субъекту соединения, представленного в настоящем документе, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли в комбинации со вторым активным агентом в количествах, эффективных для лечения, профилактики или сдерживания рецидивирующей/рефрактерной ММ у пациентов с нарушением функции почек. В некоторых вариантах осуществления соединение представляет собой Соединение 1. В некоторых вариантах осуществления соединение представляет собой Соединение 2. В некоторых вариантах осуществления соединение представляет собой Соединение 3.

В некоторых вариантах осуществления уровень биомаркера снижается при лечении соединением. В некоторых вариантах осуществления биомаркер выбран из группы, состоящей из CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, растворимого BCMA, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4, pRB1, и уровень биомаркера снижается по сравнению с контрольным уровнем до лечения лечебным соединением.

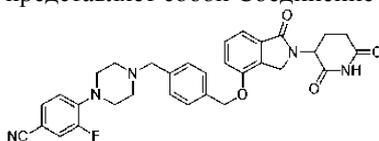
В других вариантах осуществления уровень биомаркера увеличивается при лечении соединением. В некоторых вариантах осуществления биомаркер выбран из группы, состоящей из каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM и клональности ТКР, и уровень биомаркера увеличивается

ется по сравнению с контрольным уровнем до введения лечебного соединения.

В некоторых вариантах реализации осуществления способов, представленных в настоящем документе, биомаркер представляет собой белок, на который прямо или косвенно влияет CRBN, например, через белок-белковые взаимодействия (например, определенные субстраты CRBN или их нижестоящие эффекторы) или через различные клеточные каскады реакций (например, пути передачи сигнала). В конкретных вариантах осуществления биомаркер представляет собой белок, связанный с CRBN (CAP). В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой мРНК белка, на который прямо или косвенно влияет CRBN. В других вариантах осуществления биомаркер представляет собой кДНК белка, на который прямо или косвенно влияет CRBN.

Таким образом, в некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

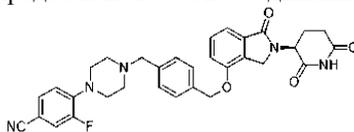
- введение лечебного соединения субъекту;
 - получение образца от субъекта;
 - определение уровня биомаркера в образце, при этом биомаркер представляет собой CAP; и
 - диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом варианте осуществления в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

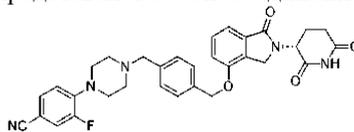
- введение лечебного соединения субъекту;
 - получение образца от субъекта;
 - определение уровня биомаркера в образце, при этом биомаркер представляет собой CAP; и
 - диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном варианте осуществления в настоящем документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- введение лечебного соединения субъекту;
 - получение образца от субъекта;
 - определение уровня биомаркера в образце, при этом биомаркер представляет собой CAP; и
 - диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

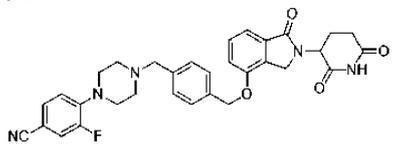
В другом варианте осуществления в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, которое было введено субъекту, включающий:

- определение уровня биомаркера в образце, полученном от субъекта, при этом биомаркер представляет собой CAP; и
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ идентификации

субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

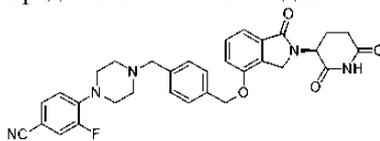
- получение образца от субъекта;
- введение лечебного соединения в образец;
- определение уровня биомаркера в образце, при этом биомаркер представляет собой САР; и
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

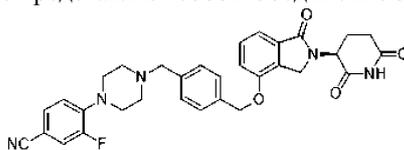
- получение образца от субъекта;
- введение лечебного соединения в образец;
- определение уровня биомаркера в образце, при этом биомаркер представляет собой САР; и
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- получение образца от субъекта;
- введение лечебного соединения в образец;
- определение уровня биомаркера в образце, при этом биомаркер представляет собой САР; и
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



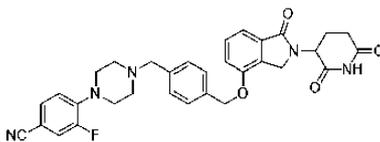
или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- введение лечебного соединения в образец, полученный от субъекта;
- определение уровня биомаркера в образце, при этом биомаркер представляет собой САР; и
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлен способ лечения рака, включающий:

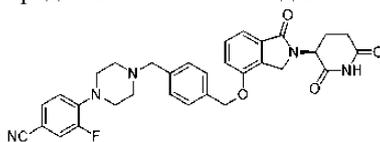
- получение образца от субъекта, имеющего рак;
- определение уровня биомаркера в образце, при этом биомаркер представляет собой САР; и
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера; и
- введение субъекту терапевтически эффективного количества лечебного соединения; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

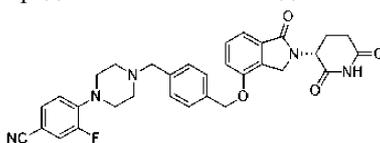
В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлен способ лечения рака, включающий:

- получение образца от субъекта, имеющего рак;
- определение уровня биомаркера в образце, при этом биомаркер представляет собой CAР; и
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера; и
- введение субъекту терапевтически эффективного количества лечебного соединения; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлен способ лечения рака, включающий:

- получение образца от субъекта, имеющего рак;
- определение уровня биомаркера в образце, при этом биомаркер представляет собой CAР; и
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера; и
- введение субъекту терапевтически эффективного количества лечебного соединения; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



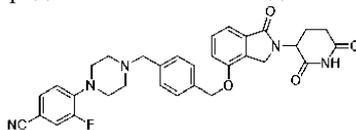
или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложены Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3 для применения в способе лечения рака, включающем:

- получение образца от субъекта, имеющего рак;
- определение уровня биомаркера в образце, при этом биомаркер представляет собой CAР; и
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера; и
- введение субъекту терапевтически эффективного количества лечебного соединения; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

- введение лечебного соединения субъекту;
- получение образца от субъекта;
- определение уровня биомаркера в образце, при этом биомаркер представляет собой CAР;
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1

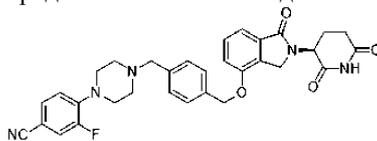


или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

- введение лечебного соединения субъекту;

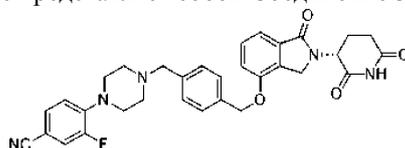
- (b) получение образца от субъекта;
- (c) определение уровня биомаркера в образце, при этом биомаркер представляет собой САР;
- (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

- (a) введение лечебного соединения субъекту;
- (b) получение образца от субъекта;
- (c) определение уровня биомаркера в образце, при этом биомаркер представляет собой САР;
- (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



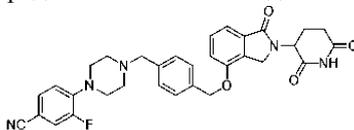
или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, которое вводили субъекту, включающий:

- (a) определение уровня биомаркера в образце, полученном от субъекта, при этом биомаркер представляет собой САР;
- (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

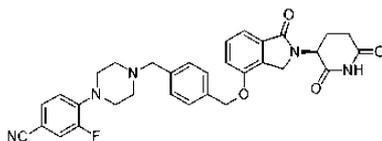
- (a) получение образца от субъекта;
- (b) введение лечебного соединения в образец;
- (c) определение уровня биомаркера в образце, при этом биомаркер представляет собой САР;
- (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

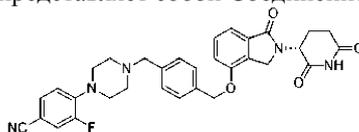
- (a) получение образца от субъекта;
- (b) введение лечебного соединения в образец;
- (c) определение уровня биомаркера в образце, при этом биомаркер представляет собой САР;
- (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

- получение образца от субъекта;
- введение лечебного соединения в образец;
- определение уровня биомаркера в образце, при этом биомаркер представляет собой САР;
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

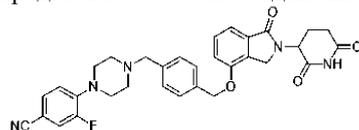
В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, которое вводили субъекту, включающий:

- определение уровня биомаркера в образце, полученном от субъекта, при этом биомаркер представляет собой САР;
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ мониторинга эффективности лечения рака у субъекта лечебным соединением, включающий:

- введение лечебного соединения субъекту;
- получение образца от субъекта;
- определение уровня биомаркера в образце, при этом биомаркер представляет собой САР;
- сравнение уровня биомаркера в образце с уровнем биомаркера, полученного из контрольного образца, при этом изменение уровня биомаркера указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1

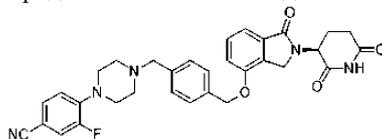


или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ мониторинга эффективности лечения рака у субъекта лечебным соединением, включающий:

- введение лечебного соединения субъекту;
- получение образца от субъекта;
- определение уровня биомаркера в образце, при этом биомаркер представляет собой САР;
- сравнение уровня биомаркера в образце с уровнем биомаркера, полученного из контрольного образца, при этом изменение уровня биомаркера указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



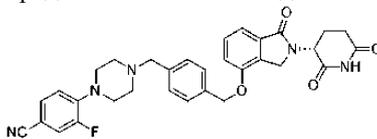
или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ мониторинга эффективности лечения рака у субъекта лечебным соединением, включающий:

- введение лечебного соединения субъекту;

- (b) получение образца от субъекта;
- (c) определение уровня биомаркера в образце, при этом биомаркер представляет собой САР;
- (d) сравнение уровня биомаркера в образце с уровнем биомаркера, полученного из контрольного образца, при этом изменение уровня биомаркера указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ мониторинга эффективности лечения рака у субъекта лечебным соединением, которое вводили субъекту, включающий:

(a) определение уровня биомаркера в образце, полученном от субъекта, при этом биомаркер представляет собой САР;

(b) сравнение уровня биомаркера в образце с уровнем биомаркера, полученного из контрольного образца, при этом изменение уровня биомаркера указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой САР, выбранный из группы, состоящей из IKZF1, IKZF3, ZFP91, с-МЫС и IRF4. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой член семейства Ikaros, такой как IKZF1 или IKZF3. В конкретном варианте осуществления биомаркер представляет собой IKZF1. В другом конкретном варианте осуществления биомаркер представляет собой IKZF3. В конкретном варианте осуществления биомаркер представляет собой ZFP91. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой партнера по связыванию IKZF1 и IKZF3, нижестоящий эффектор IKZF1 и IKZF3 или фактор клеточного каскада реакций, влияющий на IKZF1 и IKZF3. Например, в некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой партнера по связыванию IKZF1 или IKZF3, нижестоящий эффектор IKZF1 или IKZF3 или фактор клеточного каскада реакций, на который влияет IKZF1 или IKZF3. В конкретном варианте осуществления биомаркер представляет собой нижестоящий эффектор IKZF1, такой как IRF4. В конкретном варианте осуществления биомаркер представляет собой нижестоящий эффектор IKZF3, такой как IRF4. В конкретном варианте осуществления биомаркер представляет собой нижестоящий эффектор IKZF1, такой как с-МЫС. В конкретном варианте осуществления биомаркер представляет собой нижестоящий эффектор IKZF3, такой как с-МЫС.

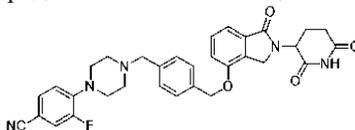
Как показано в примерах, уровень биомаркера, такого как CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, растворимый ВСМА, сурвивин, свободная легкая цепь в сыворотке, ZFP91, с-МЫС, IRF4, pRB1, снижается по сравнению с контролем в ответ на введение Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления биомаркер выбран из группы, состоящей из CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, растворимого ВСМА, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-МЫС, IRF4 и pRB1, и уровень биомаркера снижается в ответ на введение Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления различных способов, представленных в настоящем документе, биомаркером является CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, растворимый ВСМА, TIL, сурвивин, свободная легкая цепь в сыворотке, ZFP91, с-МЫС, IRF4, pRB1 или белок (или фактор), на который они влияют, и при этом уровень биомаркера находится ниже контрольного уровня.

Таким образом, в некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- (a) введение лечебного соединения субъекту;
- (b) получение образца от субъекта;
- (c) определение уровня CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, SBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-МЫС, IRF4 или pRB1 в образце и

(d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, SBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-МЫС, IRF4 или pRB1 в образце ниже чем уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, SBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-МЫС, IRF4 или pRB1 в контрольном образце;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1

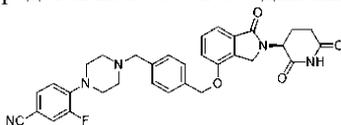


или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую

соль.

В другом варианте осуществления в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

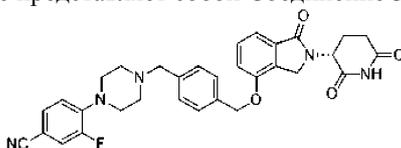
- введение лечебного соединения субъекту;
 - получение образца от субъекта;
 - определение уровня CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в образце и
 - диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в образце ниже чем уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в контрольном образце;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном варианте осуществления в настоящем документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- введение лечебного соединения субъекту;
 - получение образца от субъекта;
 - определение уровня CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в образце и
 - диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в образце ниже чем уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в контрольном образце;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



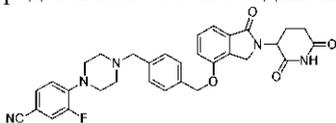
или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом варианте осуществления в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, которое было введено субъекту, включающий:

- определение уровня CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в образце, полученном от субъекта; и
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в образце ниже чем уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в контрольном образце; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

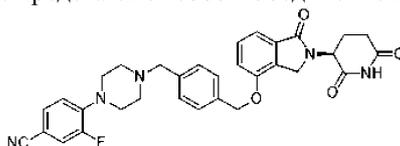
- получение образца от субъекта;
 - введение лечебного соединения в образец;
 - определение уровня CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в образце и
 - диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в образце ниже чем уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в контрольном образце;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

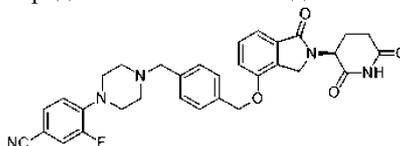
- получение образца от субъекта;
 - введение лечебного соединения в образец;
 - определение уровня CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в образце и
 - диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в образце ниже чем уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в контрольном образце;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- получение образца от субъекта;
 - введение лечебного соединения в образец;
 - определение уровня CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в образце и
 - диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в образце ниже чем уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в контрольном образце;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



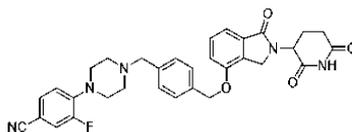
или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- введение лечебного соединения в образец, полученный от субъекта;
- определение уровня CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в образце и
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в образце ниже чем уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в контрольном образце; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлен способ лечения рака, включающий:

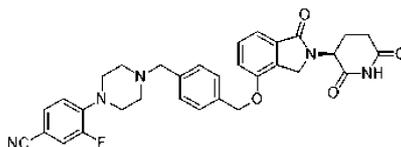
- получение образца от субъекта, имеющего рак;
 - определение уровня CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в образце;
 - диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в образце ниже чем уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в контрольном образце и
 - введение субъекту терапевтически эффективного количества лечебного соединения;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

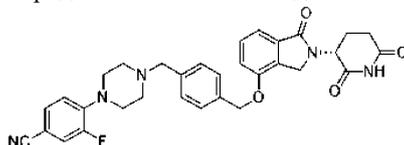
В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлен способ лечения рака, включающий:

- получение образца от субъекта, имеющего рак;
 - определение уровня CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в образце;
 - диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в образце ниже чем уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в контрольном образце и
 - введение субъекту терапевтически эффективного количества лечебного соединения;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлен способ лечения рака, включающий:

- получение образца от субъекта, имеющего рак;
 - определение уровня CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в образце;
 - диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в образце ниже чем уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в контрольном образце и
 - введение субъекту терапевтически эффективного количества лечебного соединения;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

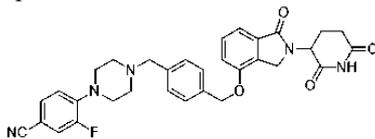
В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложены Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3 для применения в способе лечения рака, включающем:

- получение образца от субъекта, имеющего рак;
- определение уровня CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в образце;
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в образце ниже чем уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в контрольном образце и
- введение субъекту терапевтически эффективного количества лечебного соединения.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

- введение лечебного соединения субъекту;
- получение образца от субъекта;
- определение уровня биомаркера в образце, при этом биомаркер представляет собой CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивин, свободную легкую цепь в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в образце и
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в образце ниже чем уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-MYC, IRF4 или pRB1 в контрольном образце;

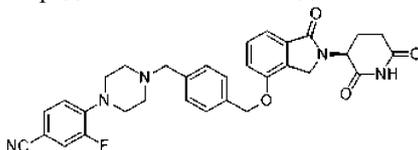
при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

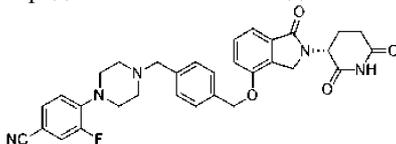
- введение лечебного соединения субъекту;
 - получение образца от субъекта;
 - определение уровня биомаркера в образце, при этом биомаркер представляет собой CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивин, свободную легкую цепь в сыворотке, ZFP91, с-МЫС, IRF4 или pRB1 в образце и
 - диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-МЫС, IRF4 или pRB1 в образце ниже чем уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-МЫС, IRF4 или pRB1 в контрольном образце;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

- введение лечебного соединения субъекту;
 - получение образца от субъекта;
 - определение уровня биомаркера в образце, при этом биомаркер представляет собой CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивин, свободную легкую цепь в сыворотке, ZFP91, с-МЫС, IRF4 или pRB1 в образце и
 - диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-МЫС, IRF4 или pRB1 в образце ниже чем уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-МЫС, IRF4 или pRB1 в контрольном образце;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

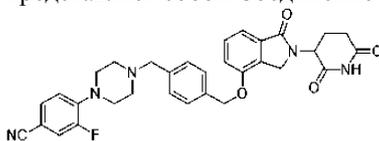
В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, которое вводили субъекту, включающий:

- определение уровня биомаркера в образце, полученном от субъекта, при этом биомаркер представляет собой CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивин, свободную легкую цепь в сыворотке, ZFP91, с-МЫС, IRF4 или pRB1 в образце и
- диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-МЫС, IRF4 или pRB1 в образце ниже чем уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-МЫС, IRF4 или pRB1 в контрольном образце; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

- получение образца от субъекта;

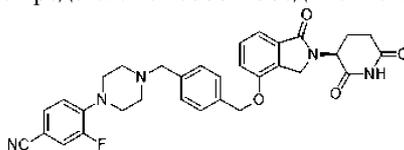
- (b) введение лечебного соединения в образец;
 (c) определение уровня CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-МҮС, IRF4 или pRB1 в образце и
 (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-МҮС, IRF4 или pRB1 в образце ниже чем уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-МҮС, IRF4 или pRB1 в контрольном образце;
 при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

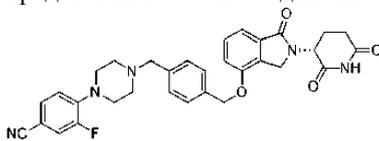
- (a) получение образца от субъекта;
 (b) введение лечебного соединения в образец;
 (c) определение уровня CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-МҮС, IRF4 или pRB1 в образце и
 (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-МҮС, IRF4 или pRB1 в образце ниже чем уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-МҮС, IRF4 или pRB1 в контрольном образце;
 при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

- (a) получение образца от субъекта;
 (b) введение лечебного соединения в образец;
 (c) определение уровня CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-МҮС, IRF4 или pRB1 в образце и
 (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-МҮС, IRF4 или pRB1 в образце ниже чем уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-МҮС, IRF4 или pRB1 в контрольном образце;
 при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

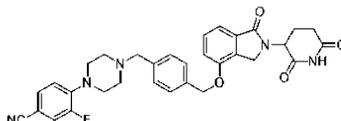
- (a) введение лечебного соединения в образец, полученный от субъекта;
 (b) определение уровня CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-МҮС, IRF4 или pRB1 в образце и
 (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-МҮС, IRF4 или pRB1 в образце ниже чем уровень CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, с-МҮС, IRF4 или pRB1 в контрольном образце; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ мониторинга эффективности лечения рака у субъекта лечебным соединением, включающий:

- (a) введение лечебного соединения субъекту;
- (b) получение образца от субъекта;
- (c) определение уровня CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, c-MYC, IRF4 или pRB1 в образце

и

(d) сравнение уровня CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, c-MYC, IRF4 или pRB1 в образце с уровнем CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, c-MYC, IRF4 или pRB1, полученным из контрольного образца, при этом снижение уровня по сравнению с контрольным уровнем указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

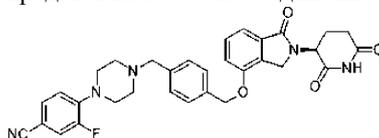
В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ мониторинга эффективности лечения рака у субъекта лечебным соединением, включающий:

- (a) введение лечебного соединения субъекту;
- (b) получение образца от субъекта;
- (c) определение уровня CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, c-MYC, IRF4 или pRB1 в образце

и

(d) сравнение уровня CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, c-MYC, IRF4 или pRB1 в образце с уровнем CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, c-MYC, IRF4 или pRB1, полученным из контрольного образца, при этом снижение уровня по сравнению с контрольным уровнем указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



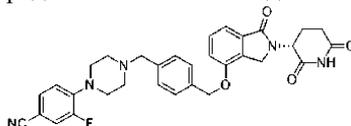
или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ мониторинга эффективности лечения рака у субъекта лечебным соединением, включающий:

- (a) введение лечебного соединения субъекту;
- (b) получение образца от субъекта;
- (c) определение уровня CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, c-MYC, IRF4 или pRB1 в образце и

(d) сравнение уровня CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, c-MYC, IRF4 или pRB1 в образце с уровнем CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, c-MYC, IRF4 или pRB1, полученным из контрольного образца, при этом снижение уровня по сравнению с контрольным уровнем указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ мониторинга эффективности лечения рака у субъекта лечебным соединением, которое вводили субъекту, включающий:

(a) определение уровня CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, c-MYC, IRF4 или pRB1 в образце, полученном от субъекта; и

(b) сравнение уровня CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, c-MYC, IRF4 или pRB1 в образце с уровнем CRBN, IKZF1, IKZF3, CTC, sBCMA, TIL, сурвивина, свободной легкой цепи в сыворотке, ZFP91, c-MYC, IRF4 или pRB1, полученным из кон-

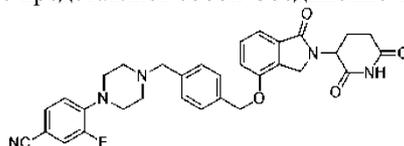
конкретном варианте осуществления лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В другом конкретном варианте осуществления лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В еще одном конкретном варианте осуществления лечебное соединение представляет собой Соединение 3.

В конкретном варианте осуществления биомаркер представляет собой pRB1, а рак представляет собой множественную миелому (ММ). В конкретном варианте осуществления биомаркер представляет собой pRB1, а лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3. В конкретном варианте осуществления лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В другом конкретном варианте осуществления лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В еще одном конкретном варианте осуществления лечебное соединение представляет собой Соединение 3.

В некоторых вариантах осуществления биомаркер участвует в апоптозе. В некоторых вариантах осуществления биомаркер, предложенный в настоящем документе, участвует в клеточном цикле. В других вариантах осуществления биомаркер, предложенный в настоящем документе, участвует в активации Т-клеток.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ идентификации субъекта со множественной миеломой, которая является рецидивирующей, рефрактерной или резистентной к традиционной терапии, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

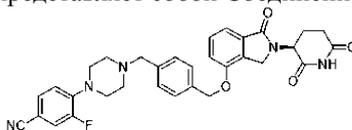
- получение образца, содержащего раковые клетки, от субъекта;
 - обнаружение уровня CRBN в образце и
 - диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN в образце поддается обнаружению и ниже контрольного уровня CRBN;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В других вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ идентификации субъекта со множественной миеломой, которая является рецидивирующей, рефрактерной или резистентной к традиционной терапии, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

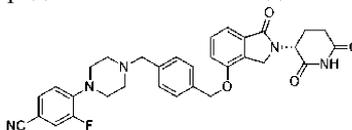
- получение образца, содержащего раковые клетки, от субъекта;
 - обнаружение уровня CRBN в образце и
 - диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN в образце поддается обнаружению и ниже контрольного уровня CRBN;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном варианте осуществления в настоящем документе предложен способ идентификации субъекта со множественной миеломой, которая является рецидивирующей, рефрактерной или резистентной к традиционной терапии, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- получение образца, содержащего раковые клетки, от субъекта;
 - обнаружение уровня CRBN в образце и
 - диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN в образце поддается обнаружению и ниже контрольного уровня CRBN;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



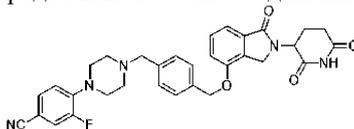
или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ идентификации субъекта со множественной миеломой, которая является рецидивирующей, рефрактерной или резистентной к традиционной терапии, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- (a) обнаружение уровня CRBN в образце, полученном от субъекта; и
- (b) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN в образце поддается обнаружению и ниже контрольного уровня CRBN; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другой аспект в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего множественную миелому, к лечебному соединению, включающий:

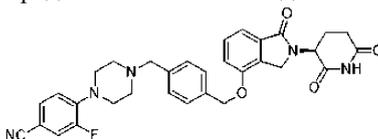
- (a) получение образца, содержащего раковые клетки, от субъекта;
- (b) обнаружение уровня CRBN в образце и
- (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN в образце поддается обнаружению и ниже контрольного уровня CRBN; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом варианте осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего множественную миелому, к лечебному соединению, включающий:

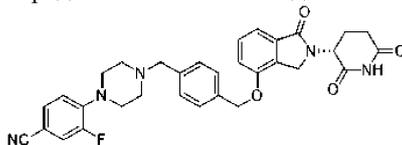
- (a) получение образца, содержащего раковые клетки, от субъекта;
- (b) обнаружение уровня CRBN в образце и
- (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN в образце поддается обнаружению и ниже контрольного уровня CRBN; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном варианте осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего множественную миелому, к лечебному соединению, включающий:

- (a) получение образца, содержащего раковые клетки, от субъекта;
- (b) обнаружение уровня CRBN в образце и
- (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN в образце поддается обнаружению и ниже контрольного уровня CRBN; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом варианте осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего множественную миелому, к лечебному соединению, включающий:

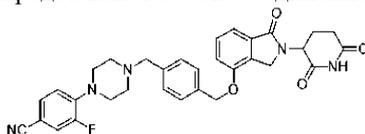
- (a) обнаружение уровня CRBN в образце, полученном от субъекта; и
- (b) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN в образце поддается обнаружению и ниже контрольного уровня CRBN; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

Таким образом, в некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ обнаружения уровней CRBN в раковой клетке и диагностирования субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень CRBN в образце поддается обнаружению и ниже контрольного уровня CRBN. В некоторых вариантах осуществления ММ является рецидивирующим, рефрактерным или резистентным к традиционной терапии. В одном варианте осуществления ММ представляет собой устойчивую к леналидомиду ММ. В другом варианте осуществления ММ представляет собой устойчивую к помалидомиду ММ. Как описано в примерах в разделе 6, Соединение 2 также обладает иммуномодулирующими свойствами в РВМС и CD4+ и CD8+ Т-клетках. Следовательно, в одном варианте осуществления способов, предложенных в настоящем документе, CRBN не обнаруживается в раковой клетке, но CRBN обнаруживается в иммунной клетке, и пациент восприимчив к Соединению 1. В другом вари-

анте осуществления способов, предложенных в настоящем документе, CRBN не обнаруживается в раковой клетке, но CRBN обнаруживается в иммунной клетке, и пациент восприимчив к Соединению 2. В еще одном варианте осуществления способов, предложенных в настоящем документе, CRBN не обнаруживается в раковой клетке, но CRBN обнаруживается в иммунной клетке, и пациент восприимчив к Соединению 1.

В другом аспекте в настоящем документе предложен способ определения или корректировки дозы для лечения субъекта, имеющего множественную миелому, лечебным соединением, включающий:

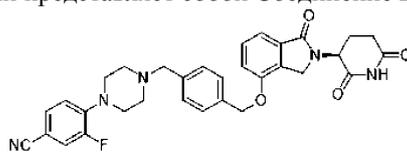
- (a) введение субъекту дозы лечебного соединения;
 - (b) получение одного или более образцов от субъекта в разные моменты времени;
 - (c) определение уровня IKZF1, IKZF3 или обоих в одном или более образцах и, таким образом, определение того, является ли доза подходящей или требует корректировки;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом варианте осуществления в настоящем документе предложен способ определения или корректировки дозы для лечения субъекта, имеющего множественную миелому, лечебным соединением, включающий:

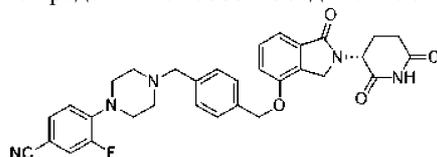
- (a) введение субъекту дозы лечебного соединения;
 - (b) получение одного или более образцов от субъекта в разные моменты времени;
 - (c) определение уровня IKZF1, IKZF3 или обоих в одном или более образцах и, таким образом, определение того, является ли доза подходящей или требует корректировки;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном варианте осуществления в настоящем документе предложен способ определения или корректировки дозы для лечения субъекта, имеющего множественную миелому, лечебным соединением, включающий:

- (a) введение субъекту дозы лечебного соединения;
 - (b) получение одного или более образцов от субъекта в разные моменты времени;
 - (c) определение уровня IKZF1, IKZF3 или обоих в одном или более образцах и, таким образом, определение того, является ли доза подходящей или требует корректировки;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом варианте осуществления в настоящем документе предложен способ определения или корректировки дозы для лечения субъекта, имеющего множественную миелому, лечебным соединением, которое вводили субъекту, включающий:

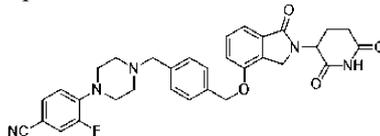
- (a) определение уровня IKZF1, IKZF3 или обоих в одном или более образцах, полученных от субъекта, и, таким образом, определение того, является ли доза подходящей или требует корректировки; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых других конкретных вариантах осуществления уровень биомаркера увеличивается при лечении соединением. В некоторых вариантах осуществления биомаркер выбран из группы, состоящей из каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, VIM и клоальности ТКР, и уровень биомаркера увеличивается по сравнению с уровнем в контрольном образце до введения лечебного соединения. В некоторых вариантах осуществления биомаркер участвует в апоптозе, и уровень биомаркера увеличивается по сравнению с уровнем в контрольном образце до введения лечебного соединения. В других вариантах осуществления биомаркер участвует в активации Т-клеток и уровень биомаркера увеличивается по сравнению с уровнем в контрольном образце до введения лечебного соединения.

Таким образом, в некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- (a) введение лечебного соединения субъекту;
- (b) получение образца от субъекта;
- (c) определение уровня каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце и
- (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце выше, чем уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в контрольном образце;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1

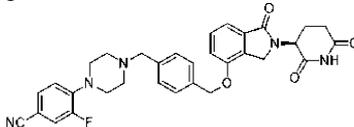


или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом варианте осуществления в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- (a) введение лечебного соединения субъекту;
- (b) получение образца от субъекта;
- (c) определение уровня каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце и
- (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце выше, чем уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в контрольном образце;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2

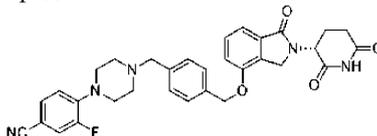


или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном варианте осуществления в настоящем документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- (a) введение лечебного соединения субъекту;
- (b) получение образца от субъекта;
- (c) определение уровня каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце и
- (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце выше, чем уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в контрольном образце;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом варианте осуществления в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, которое было введено субъекту, включающий:

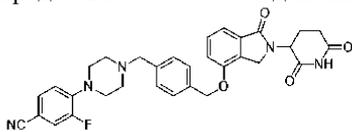
- (a) определение уровня каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце, полученном от субъекта; и
- (b) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце выше, чем уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в контрольном образце;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- (a) получение образца от субъекта;
- (b) введение лечебного соединения в образец;
- (c) определение уровня каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце и
- (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце выше, чем уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в контрольном образце;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1

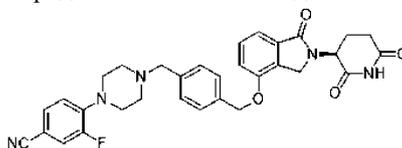


или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- (a) получение образца от субъекта;
- (b) введение лечебного соединения в образец;
- (c) определение уровня каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце и
- (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце выше, чем уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в контрольном образце;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2

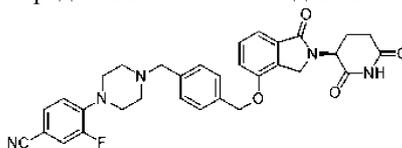


или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- (a) получение образца от субъекта;
- (b) введение лечебного соединения в образец;
- (c) определение уровня каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце и
- (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце выше, чем уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в контрольном образце;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- (a) введение лечебного соединения в образец, полученный от субъекта;
- (c) определение уровня каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или

клональности ТКР в образце и

(d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце выше, чем уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в контрольном образце; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

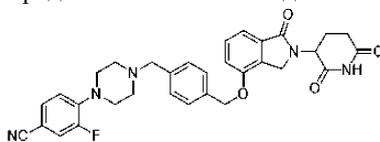
В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлен способ лечения рака, включающий:

(a) получение образца от субъекта, имеющего рак;

(b) определение уровня каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце;

(c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце выше, чем уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в контрольном образце и

(d) введение субъекту терапевтически эффективного количества лечебного соединения; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

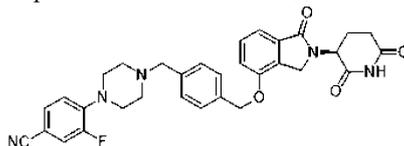
В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлен способ лечения рака, включающий:

(a) получение образца от субъекта, имеющего рак;

(b) определение уровня каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце;

(c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце выше, чем уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в контрольном образце и

(d) введение субъекту терапевтически эффективного количества лечебного соединения; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



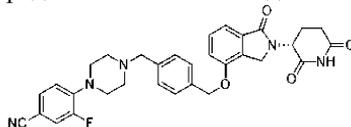
или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлен способ лечения рака, включающий:

(a) получение образца от субъекта, имеющего рак;

(b) определение уровня каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце;

(c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце выше, чем уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в контрольном образце; и

(d) введение субъекту терапевтически эффективного количества лечебного соединения; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложено Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемая соль для применения в способе лечения рака, включающем:

(a) получение образца от субъекта, имеющего рак;

(b) определение уровня каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце;

(c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце выше, чем уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в контрольном образце и

(d) введение субъекту терапевтически эффективного количества лечебного соединения.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

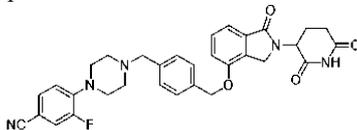
(a) введение лечебного соединения субъекту;

(b) получение образца от субъекта;

(c) определение уровня биомаркера в образце, при этом биомаркер представляет собой каспазу 1, каспазу-3, каспазу 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональность ТКР в образце и

(d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце выше, чем уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в контрольном образце;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

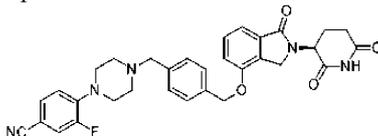
(a) введение лечебного соединения субъекту;

(b) получение образца от субъекта;

(c) определение уровня биомаркера в образце, при этом биомаркер представляет собой каспазу 1, каспазу-3, каспазу 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональность ТКР в образце и

(d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце выше, чем уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в контрольном образце;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

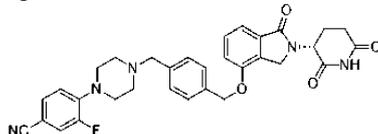
(a) введение лечебного соединения субъекту;

(b) получение образца от субъекта;

(c) определение уровня биомаркера в образце, при этом биомаркер представляет собой каспазу 1, каспазу-3, каспазу 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональность ТКР в образце и

(d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце выше, чем уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в контрольном образце;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, которое вводили субъекту, включающий:

(а) определение уровня биомаркера в образце, полученном от субъекта, при этом биомаркер представляет собой каспазу 1, каспазу-3, каспазу 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональность ТКР в образце; и

(b) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце выше, чем уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в контрольном образце; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

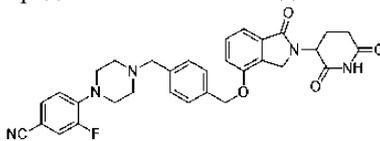
(а) получение образца от субъекта;

(b) введение лечебного соединения в образец;

(c) определение уровня каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце и

(d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце выше, чем уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в контрольном образце;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

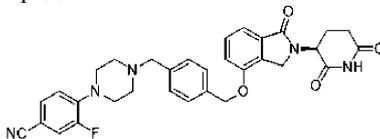
(а) получение образца от субъекта;

(b) введение лечебного соединения в образец;

(c) определение уровня каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце и

(d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце выше, чем уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в контрольном образце;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

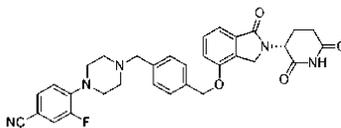
(а) получение образца от субъекта;

(b) введение лечебного соединения в образец;

(c) определение уровня каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце и

(d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце выше, чем уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в контрольном образце;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

- (a) введение лечебного соединения в образец, полученный от субъекта;
- (b) определение уровня каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце и
- (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце выше, чем уровень каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в контрольном образце;

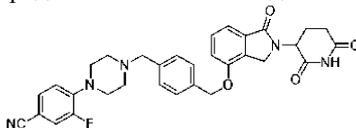
при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ мониторинга эффективности лечения рака у субъекта лечебным соединением, включающий:

- (a) введение лечебного соединения субъекту;
- (b) получение образца от субъекта;
- (c) определение уровня каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце и

- (d) сравнение уровня каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце с уровнем каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР, полученным из контрольного образца, при этом повышение уровня по сравнению с контрольным уровнем указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



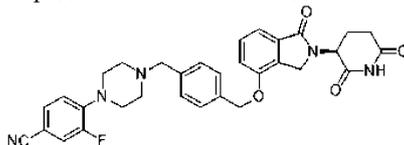
или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ мониторинга эффективности лечения рака у субъекта лечебным соединением, включающий:

- (a) введение лечебного соединения субъекту;
- (b) получение образца от субъекта;
- (c) определение уровня каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце и

- (d) сравнение уровня каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце с уровнем каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР, полученным из контрольного образца, при этом повышение уровня по сравнению с контрольным уровнем указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

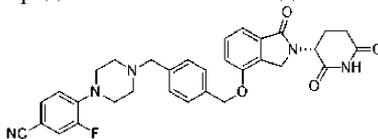
В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ мониторинга эффективности лечения рака у субъекта лечебным соединением, включающий:

- (a) введение лечебного соединения субъекту;
- (b) получение образца от субъекта;
- (c) определение уровня каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце и

- (d) сравнение уровня каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, BIM или клональности ТКР в образце с уровнем каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21,

p27, ВИМ или клональности ТКР, полученным из контрольного образца, при этом повышение уровня по сравнению с контрольным уровнем указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ мониторинга эффективности лечения рака у субъекта лечебным соединением, которое вводили субъекту, включающий:

(а) определение уровня каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, ВИМ или клональности ТКР в образце, полученном от субъекта; и

(b) сравнение уровня каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, ВИМ или клональности ТКР в образце с уровнем каспазы 1, каспазы-3, каспазы 7, PARP, IFN γ , TNF α , IL2, p21, p27, ВИМ или клональности ТКР, полученным из контрольного образца, при этом повышение уровня по сравнению с контрольным уровнем указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В конкретных вариантах осуществления способов, описанных в данном документе, контрольный образец представляет собой образец до введения лечебного соединения.

В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, уровень биомаркеров измеряют путем определения уровня белка биомаркера.

В других вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, уровень биомаркеров измеряют путем определения уровня мРНК биомаркера.

В других вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, уровень биомаркеров измеряют путем определения уровня кДНК биомаркера.

В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, лечебное соединение представляет собой соединение, описанное в разделе 5.7 ниже.

В некоторых вариантах осуществления лечебное соединение представляет собой Соединение 1, а рак представляет собой ММ. В некоторых вариантах осуществления лечебное соединение представляет собой Соединение 2, а рак представляет собой ММ. В других вариантах осуществления лечебное соединение представляет собой Соединение 3, а рак представляет собой ММ.

В некоторых вариантах осуществления восприимчивость пациента или субъекта, или эффективность лечения определяется общей выживаемостью (ОВ), скоростью наступления полной ремиссии (CRR), частотой объективных ответов (ЧОО), временем до прогрессирования, безрецидивной выживаемостью (RFS), выживаемостью без прогрессирования (ВБП), бессобытийной выживаемостью, продолжительностью ремиссии, продолжительностью ответа и/или временем до ремиссии/ответа пациента, имеющего рак. В одном варианте осуществления рака представляет собой гематологический рак. В определенных вариантах осуществления ЧОО включает все ответы при полной ремиссии (ПО) (т.е. морфологическое состояние без лейкоза, морфологическую ПО, цитогенетическую ПО, молекулярную ПО и морфологическую ПО с неполным восстановлением крови) и частичную ремиссию.

В других вариантах осуществления различные способы, предложенные в настоящем документе, предназначены для увеличения общей выживаемости (ОВ), скорости наступления полной ремиссии (CRR), частоты объективных ответов (ЧОО), времени до прогрессирования, безрецидивной выживаемости (RFS), выживаемости без прогрессирования (ВБП), бессобытийной выживаемости, продолжительности ремиссии, продолжительности ответа и/или времени до ремиссии/ответа пациента, имеющего рак, например, гематологический рак.

В других вариантах осуществления в настоящем документе предложено Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3 для применения в любом из способов, предложенных в настоящем документе.

5.3 Методы обнаружения и количественной оценки биомаркеров

В определенных вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы обнаружения и количественной оценки уровня белка биомаркера, такого как CRBN, белка, на который прямо или косвенно влияет CRBN, или белка, который указывает на фармакодинамический (ФД) ответ (например, растворимого ВСМА) на Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3 из биологического образца, включающие приведение в контакт белков в образце с первым антителом, которое иммуноспецифически связывается с белком-биомаркером. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают: (i) приведение в контакт белка-биомаркера, связанного с первым антителом, со вторым антителом с детектируемой меткой, при этом второе антитело иммуноспецифически связывается с белком-биомаркером и второе антитело иммуноспецифически связывается с эпитопом на белке-биомаркере, отличный от эпитопа первого антитела; (ii) обнаружение присутствия

второго антитела, связанного с белком-биомаркером; и (iii) определение количества белка-биомаркера на основе количества детектируемой метки на втором антителе. В других вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, дополнительно включают: (i) приведение в контакт белка-биомаркера, связанного с первым антителом, со вторым антителом с детектируемой меткой, при этом второе антитело иммуноспецифически связывается с первым антителом; (ii) обнаружение присутствия второго антитела, связанного с первым антителом; и (iii) определение количества белка-биомаркера на основе количества детектируемой метки на втором антителе.

В некоторых вариантах осуществления различных способов, представленных в настоящем документе, способ включает использование иммуногистохимии с двойным окрашиванием для определения уровня биомаркера, такого как CRBN, или белка, на который прямо или косвенно влияет CRBN. В иммуногистохимическом анализе с двойным окрашиванием биомаркер, представленный в настоящем документе, и другой биомаркер рака одновременно обнаруживаются с использованием первого меченого антитела, нацеленного на биомаркер, предоставленного в данном документе, и второго меченого антитела, нацеленного на биомаркер рака. Такой анализ может улучшить специфичность, точность и чувствительность для обнаружения и измерения биомаркера, предоставленного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления биомаркер рака представляет собой биомаркер MM.

В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, способ включает секвенирование ДНК. Например, в некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы идентификации субъекта, имеющего множественную миелому, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, а также способы прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего множественную миелому, к лечебному соединению. Пациенты, устойчивые к начальному лечению соединением модулятора цереблону, могут иметь мутацию в CRBN. Важно отметить, что, как показано в примерах, клетки, устойчивые к модуляторам цереблону, таким как леналидомид или помалидомид, все еще могут быть чувствительными к Соединению 1, Соединению 2 или Соединению 3. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления способ включает секвенирование ДНК CRBN на наличие мутаций для идентификации субъекта, имеющего множественную миелому, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В некоторых вариантах осуществления способ включает секвенирование ДНК CRBN на наличие мутаций для идентификации субъекта, имеющего множественную миелому, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В некоторых вариантах осуществления способ включает секвенирование ДНК CRBN на наличие мутаций для идентификации субъекта, имеющего множественную миелому, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3. В других вариантах осуществления способ включает секвенирование ДНК CRBN на наличие мутаций для прогнозирования реакции субъекта, имеющего множественную миелому, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1. В других вариантах осуществления способ включает секвенирование ДНК CRBN на наличие мутаций для прогнозирования реакции субъекта, имеющего множественную миелому, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2. В других вариантах осуществления способ включает секвенирование ДНК CRBN на наличие мутаций для прогнозирования реакции субъекта, имеющего множественную миелому, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3.

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, предназначены для обнаружения активации Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления ДНК ТКР можно секвенировать после обработки Соединением 1, Соединением 2 или Соединением 3. Активация Т-клеток может привести к клональному размножению популяции Т-клеток со специфической перегруппировкой генов их ТКР. Перегруппировки можно определить секвенированием ДНК. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления различных способов, представленных в настоящем документе, биомаркером способа является клональность ТКР, а клональность ТКР измеряется путем секвенирования ДНК ТКР.

Таким образом, в некоторых вариантах осуществления способ, представленный в настоящем документе, включает: (i) приведение в контакт белков в образце с первым антителом, которое иммуноспецифически связывается с биомаркером, представленным в настоящем документе, причем первое антитело связано с первой детектируемой меткой; (ii) приведение в контакт белков в образце со вторым антителом, которое иммуноспецифически связывается с биомаркером рака, при этом второе антитело связано со второй детектируемой меткой; (iii) обнаружение присутствия первого антитела и второго антитела, связанных с белками; и (iv) определение уровня биомаркера, представленного в настоящем документе, на основе количества детектируемой метки на первом антителе и определение уровня биомаркера рака на основе количества детектируемой метки на втором антителе. В некоторых вариантах осуществления биомаркер рака представляет собой биомаркер MM.

В определенных вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы обнаружения и количественной оценки уровня белка биомаркера, такого как Aiolos или Ikaros, или любого дру-

гого биомаркера, представленного в настоящем документе, из биологического образца, включающие: (i) приведение в контакт белка-биомаркера с первым антителом; (ii) приведение в контакт белка-биомаркера, связанного с первым антителом, со вторым антителом с детектируемой меткой, при этом второе антитело иммуноспецифически связывается с первым антителом; (iii) обнаружение присутствия второго антитела, связанного в комплексе с белком-биомаркером; и (iv) определение количества белка-биомаркера на основе количества детектируемой метки на втором антителе с использованием проточной цитометрии (например FACS). Кроме того, понятно, что обнаружение и количественная оценка уровня белка-биомаркера, такого как Aiolos или Ikaros, можно проводить в раковых клетках и нераковых клетках (например, CD3+ Т-клетках). Например, экспрессия Aiolos и/или Ikaros может быть измерена с помощью проточной цитометрии в CD3+ Т-клетках до, во время и/или после лечения Соединением 1, Соединением 2 или Соединением 3. В некоторых вариантах осуществления биомаркером рака является биомаркер MM. В некоторых вариантах осуществления биомаркером является ЦКО.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы оценки экспрессии биомаркеров, таких как CRBN, Aiolos, Ikaros, ZFP91, с-Мус, IRF4, р-каспаза-3, а также TIL, в биологическом образце, включающие: (i) сбор образцов аспирата костного мозга до, во время и/или после лечения Соединением 1, Соединением 2 или Соединением 3; (ii) образование сгустков из каждого образца; (iii) фиксацию сгустков, например, в формалине; (iv) заливку сгустка в парафин или среду для крио-заливки (например, OCT); (v) изготовление срезов залитых образцов для иммуноокрашивания; (vi) выполнение иммуногистохимии (ИГХ) на срезах; (vii) визуализацию окрашенных образцов под микроскопом и (viii) оценку экспрессии биомаркера.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы обнаружения и количественной оценки лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль (TIL), в качестве биомаркера из биологического образца, включающие: (i) окрашивание гистологического образца гематоксилином и эозином (H&E); (ii) визуализацию TIL с помощью светового микроскопа; (iii) обнаружение TIL на основе морфологии и окрашивания; (iv) определение уровня TIL на основе количества окрашенных лимфоцитов внутри (т.е. инфильтрирующих) опухоли.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы обнаружения и количественной оценки уровня РНК (например, мРНК, общей РНК или малой РНК) биомаркера, такого как CRBN или биомаркера, представленного в настоящем документе, из биологического образца, включающие: (a) получение РНК из образца; (b) приведение в контакт РНК с праймером, который специфически связывается с последовательностью РНК, с образованием первой молекулы ДНК, имеющей последовательность, комплементарную указанной РНК (т.е. кДНК); (c) амплификацию кДНК соответствующей сегменту гена, кодирующего биомаркер; и (d) определение уровня РНК биомаркера на основании количества амплифицированной ДНК. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы секвенирования РНК (РНК-секвенирования) биомаркера из биологического образца, включающие: (a) выделение РНК из образца; (b) истощение рибосомной РНК (рРНК) и обогащение РНК 3'-полиаденилированными (поли(А)) хвостами, или ничего из указанного; (c) обратную транскрипцию РНК в кДНК; и (d) секвенирование кДНК. В некоторых вариантах осуществления биомаркер(ы) оцениваются в сочетании с другим биомаркером(ами), представленными в настоящем документе, такими как Aiolos, Ikaros, CRBN, ZFP91, с-МУС, IRF4, р-каспаза 1, р-каспаза-3, р-каспаза 7, расщепленный PARP, сурвивин, B1M, sFLC, p21, p27, pRB1, растворимый BCMA, CTC, TIL, IL-2, IFN γ , TNF α и клональность ТКР.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы обнаружения и количественной оценки одного или более биомаркеров, которые участвуют в апоптозе. Специалистам в данной области хорошо известно, что существуют различные методы обнаружения апоптоза. Один из методов включает обнаружение фрагментации ДНК, которая является признаком апоптоза. Мечение конца с одноцепочечным разрывом терминальной дезоксирибонуклеотидилтрансферазой dUTP (TUNEL) является признанным методом обнаружения фрагментов ДНК. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления различных способов, представленных в настоящем документе, биомаркер участвует в апоптозе, и уровень биомаркера измеряется с помощью мечения конца с одноцепочечным разрывом терминальной дезоксирибонуклеотидилтрансферазой dUTP (TUNEL).

Одно из ранних событий апоптоза включает перемещение мембранного фосфатидилсерина (ФС) с внутренней стороны плазматической мембраны на поверхность. Аннексин V, Ca²⁺-зависимый фосфолипид-связывающий белок, имеет высокую аффинность к PS, а аннексин V, меченный флуорохромом, можно использовать для обнаружения PS, поданных воздействию, с помощью проточной цитометрии.

Использование флуоресцентных интеркалирующих агентов, которые связываются с ДНК, может дополнительно облегчить установление различия между клетками с ранним апоптозом и клетками поздней стадией апоптоза. Клетки, которые являются клетками с ранней стадией апоптоза, будут исключать флуоресцентные интеркалирующие агенты, такие как 7-аминоактиномицин D (7-AAD) и йодид пропидия (PI), тогда как клетки с поздней стадией апоптоза будут окрашиваться положительно из-за прохождения этих красителей в ядро, где они связываются с ДНК. 7-AAD и PI имеют высокую константу связывания ДНК и эффективно исключаются интактными клетками. Таким образом, в некоторых вариантах осуще-

ствления различных способов, представленных в настоящем документе, биомаркер участвует в апоптозе, и уровень биомаркера измеряется с помощью аннексина-V и 7-AAD. В других вариантах осуществления различных способов, представленных в настоящем документе, биомаркер участвует в апоптозе, и уровень биомаркера измеряется с помощью аннексина-V и йодида пропидия (PI).

В некоторых вариантах осуществления различных способов, представленных в данном документе, две или более стадий выполняются последовательно. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, две или более стадий выполняются параллельно (например, в одно и то же время).

Примеры анализов, представленных в настоящем документе, для способов обнаружения и количественной оценки уровня белка биомаркера, такого как Aiolos, Ikaros, CRBN, c-MYC, IRF4, расщепленная каспаза-3, растворимый ВСМА (sBCMA), растворимый СЛЦ (sFLC), активированные цитокины, ассоциированные с Т-клетками, или их комбинация, представляют собой иммуноанализы, такие как вестерн-блоттинг, твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA) (например, сэндвич-ИФА), иммуногистохимия (ИГХ) и сортировка флуоресцентно-активированных клеток (FACS). Например, в некоторых вариантах осуществления образцы сыворотки могут быть собраны до, во время и/или после обработки Соединением 1, Соединением 2 или Соединением 3, а sBCMA можно измерить с помощью ИФА. Примерные анализы, представленные в настоящем документе для способов обнаружения и количественной оценки уровня РНК биомаркера, такого как Aiolos, Ikaros, CRBN, c-MYC, IRF4, активированные цитокины, ассоциированные с Т-клетками, или их комбинации, представляют собой полимеразную цепную реакцию с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), например, количественную ПЦР в реальном времени (кПЦР в реальном времени), и РНК-секвенирование.

5.4. Субъекты, образцы и типы клеток

В некоторых вариантах осуществления различные способы, представленные в настоящем документе, используют образцы (например, биологические образцы) от субъектов или индивидуумов (например, пациентов). Субъектом может быть пациент, такой как пациент с раком (например, множественной миеломой). Субъектом может быть млекопитающее, например человек. Субъект может быть мужского или женского пола, а также взрослым, ребенком или младенцем. Образцы можно анализировать во время активной фазы рака (например, ММ) или когда рак (например, ММ) неактивен. В некоторых вариантах осуществления можно получить более одного образца от субъекта.

В некоторых вариантах осуществления образец, используемый в способах, представленных в настоящем документе, содержит жидкости организма субъекта. Неограничивающие примеры жидкостей организма включают кровь (например, цельную кровь), плазму крови, амниотическую жидкость, внутриглазную жидкость, желчь, костный мозг, ушную серу, жидкость Каупера, предэякуляторную жидкость, лимфу, химус, женский эякулят, тканевую жидкость, лимфу, менструацию, грудное молоко, слизь, плевральную жидкость, гной, слюну, кожный жир, сперму, сыворотку, пот, слезы, мочу, вагинальную смазку, рвоту, воду, кал, внутренние жидкости организма (включая спинномозговую жидкость, окружающую головной и спинной мозг), синовиальную жидкость, внутриклеточную жидкость (жидкость внутри клеток) и стекловидное тело (жидкость в глазном яблоке). В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой образец крови. Образец крови можно получить, используя обычные методы, как описано в, например, Innis et al., eds., PCR Protocols (Academic Press, 1990). Лейкоциты можно выделить из образцов крови с помощью обычных методов или имеющихся в продаже наборов, например, набора RosetteSep (Stein Cell Technologies, Vancouver, Canada). Субпопуляции белых кровяных телец, например, мононуклеарные клетки, В-клетки, Т-клетки, моноциты, гранулоциты или лимфоциты, могут быть дополнительно выделены с использованием обычных методов, например, сортировки магнитно-активированных клеток (MACS) (Miltenyi Biotec, Auburn, California) или сортировки флуоресцентно-активированных клеток (FACS) (Becton Dickinson, San Jose, California).

В одном варианте осуществления образец крови составляет от примерно 0,1 до примерно 10,0 мл, от примерно 0,2 до примерно 7 мл, от примерно 0,3 до примерно 5 мл, от примерно 0,4 до примерно 3,5 мл или от примерно 0,5 до примерно 3 мл. В другом варианте осуществления образец крови составляет примерно 0,3, примерно 0,4, примерно 0,5, примерно 0,6, примерно 0,7, примерно 0,8, примерно 0,9, примерно 1,0, примерно 1,5, примерно 2,0, примерно 2,5, примерно 3,0, примерно 3,5, примерно 4,0, примерно 4,5, примерно 5,0, примерно 6,0, примерно 7,0, примерно 8,0, примерно 9,0 или примерно 10,0 мл.

В некоторых вариантах осуществления образец крови отбирают в пробирку TruCulture, содержащую анти-CD3-антитело, для анализа активации Т-клеток *ex vivo*.

В некоторых вариантах осуществления образец костного мозга составляет от примерно 0,1 до примерно 10,0 мл, от примерно 0,2 до примерно 7 мл, от примерно 0,3 до примерно 5 мл, от примерно 0,4 до примерно 3,5 мл или от примерно 0,5 до примерно 3 мл. В другом варианте осуществления образец крови составляет примерно 0,3, примерно 0,4, примерно 0,5, примерно 0,6, примерно 0,7, примерно 0,8, примерно 0,9, примерно 1,0, примерно 1,5, примерно 2,0, примерно 2,5, примерно 3,0, примерно 3,5, примерно 4,0, примерно 4,5, примерно 5,0, примерно 6,0, примерно 7,0, примерно 8,0, примерно 9,0 или примерно 10,0 мл.

В некоторых вариантах осуществления образец, используемый в настоящих способах, включает биопсию (например, биопсию опухоли). Биопсия может быть из любого органа или ткани, например кожи, печени, легких, сердца, толстой кишки, почки, костного мозга, зубов, лимфатического узла, волос, селезенки, мозга, груди или других органов. Любая методика биопсии, известная специалистам в данной области, может быть использована для выделения образца от субъекта, например, открытая биопсия, закрытая биопсия, кор-биопсия, эксцизионная биопсия, инцизионная биопсия или тонкоигольная прицельно-аспирационная биопсия.

В одном варианте осуществления образец, используемый в способах, представленных в настоящем документе, получают от субъекта до того, как субъект получает лечение заболевания или расстройства. В некоторых вариантах осуществления образец получают от субъекта после лечения с применением терапии, отличной от Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3, и до того, как субъект получает лечение Соединением 1, Соединением 2 или Соединением 3. В конкретном варианте осуществления образец получают от субъекта после рецидива заболевания или после того, как пациент становится невосприимчивым к терапии, отличной от Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3. В другом варианте осуществления образец получают от субъекта во время того, как субъект получает лечение от заболевания или расстройства. В другом варианте осуществления образец получают от субъекта после того, как субъект получает лечение от заболевания или расстройства. В различных вариантах осуществления лечение включает введение субъекту соединения (например, Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3).

В некоторых вариантах осуществления образец, используемый в способах, представленных в настоящем документе, содержит множество клеток, таких как раковые (например, ММ) клетки. Такие клетки могут включать любой тип клеток, например, стволовые клетки, клетки крови (например, мононуклеарные клетки периферической крови (РВМС)), лимфоциты, В-клетки, Т-клетки, моноциты, гранулоциты, иммунные клетки или раковые клетки.

Конкретные популяции клеток можно получить с помощью комбинации коммерчески доступных антител (например, антител от Quest Diagnostic (Сан-Хуан-Капистрано, Калифорния) или Dako (Дания)).

В некоторых вариантах осуществления клетки в способах, представленных в настоящем документе, представляют собой РВМС. В некоторых вариантах осуществления образец, используемый в способах, представленных в настоящем документе, взят из ткани, вызывающей заболевание, например, у человека, имеющего рак (например, ММ).

В некоторых вариантах осуществления клеточные линии используются в качестве моделей заболеваний для оценки эффектов соединений, изучения механизмов действия или установления контрольных уровней биомаркеров и т.д. В некоторых вариантах осуществления клетки, используемые в способах, представленных в настоящем документе, происходят из линии раковых (например, ММ) клеток. В одном варианте осуществления линия клеток ММ представляет собой линию клеток DF15. В другом варианте осуществления линия клеток ММ представляет собой линию клеток DF15, устойчивую к леналидомиду (DF15R). В другом варианте осуществления линия клеток ММ представляет собой NCI-H929. В другом варианте осуществления линия клеток ММ представляет собой NCI-H929, устойчивую к леналидомиду (NCI-H929-1051). В другом варианте осуществления линия клеток ММ представляет собой NCI-H929, устойчивую к помалидомиду (NCI-H929-P01). В другом варианте осуществления линия клеток ММ представляет собой ОРМ2. В другом варианте осуществления линия клеток ММ представляет собой линию клеток ОРМ2, устойчивую к 100 нМ помалидомида (ОРМ2-P01). В другом варианте осуществления линия клеток ММ представляет собой линию клеток ОРМ2, устойчивую к 1 мкМ помалидомида (ОРМ2-P1). В другом варианте осуществления линия клеток ММ представляет собой линию клеток ОРМ2, устойчивую к 10 мкМ помалидомида (ОРМ2-P10).

В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, применимы для обнаружения перегруппировки генов в клетках индивидуума. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем документе, применимы для обнаружения перегруппировки гена ТКР после обработки Соединением 1, Соединением 2 или Соединением 3. В некоторых вариантах осуществления количество клеток, используемых в способах, предоставленных в настоящем документе, может варьироваться от одной клетки до примерно 10 клеток. В некоторых вариантах осуществления количество клеток, используемых в способах, представленных в настоящем документе, составляет примерно 1×10^4 , примерно 5×10^4 , примерно 1×10^5 , примерно 5×10^5 , примерно 1×10^6 , примерно 5×10^6 , примерно 1×10^7 , примерно 5×10^7 , примерно 1×10^8 , примерно 5×10^8 или примерно 1×10^9 .

Количество и тип клеток, собранных у субъекта, можно отслеживать, например, путем измерения изменений маркеров клеточной поверхности с использованием стандартных методов обнаружения клеток, таких как проточная цитометрия, сортировка клеток, иммуноцитохимия (например, окрашивание тканеспецифическими антителами или антителами, специфичными к клеточным маркерам), сортировка флуоресцентно-активированных клеток (FACS), сортировка магнитно-активированных клеток (MACS), оценка срезов опухоли, окрашенных гематоксилином и эозином (H&E), исследование морфологии клеток с использованием световой или конфокальной микроскопии и/или путем измерения изменений в экспрессии генов с использованием методов, хорошо известных в данной области, таких как ПЦР и про-

филирование экспрессии генов. Эти методы также можно использовать для идентификации клеток, положительных по одному или более конкретным маркерам.

В некоторых вариантах осуществления в способах, представленных в настоящем документе, используются подмножества клеток. Способы сортировки и выделения конкретных популяций клеток хорошо известны в данной области и могут быть основаны на размере клеток, морфологии, окрашивании H&E, внутриклеточных маркерах или внеклеточных маркерах. Такие методы включают проточную цитометрию, проточную сортировку, FACS, разделение на основе гранул, такое как магнитная сортировка клеток, разделение по размеру (например, сито, множество препятствий или фильтр), окрашивание H&E, сортировка в микрофлюидном устройстве, разделение на основе антител, седиментация, аффинная адсорбция, аффинная экстракция, центрифугирование в градиенте плотности, лазерная захватывающая микродиссекция и т.д., но не ограничиваются ими. Сортировка флуоресцентно-активированных клеток (FACS) - это хорошо известный метод разделения частиц, включая клетки, на основе флуоресцентных свойств частиц (Kamarch, *Methods Enzymol.* 1987, 151:150-165). Лазерное возбуждение флуоресцентных фрагментов в отдельных частицах приводит к небольшому электрическому заряду, позволяющему электромагнитным способом разделить положительные и отрицательные частицы из смеси. В одном варианте осуществления антитела или лиганды, специфичные к маркерам клеточной поверхности, помечены различными флуоресцентными метками. Клетки обрабатываются с помощью сортировщика клеток, что позволяет разделить клетки на основе их способности связываться с используемыми антителами. Частицы, отсортированные с помощью FACS, могут быть непосредственно помещены в отдельные лунки 96-луночных или 384-луночных планшетов для облегчения разделения и клонирования.

В одном варианте осуществления ДНК, РНК (например, мРНК) или белок очищают из образца, и присутствие или отсутствие биомаркера измеряют путем анализа последовательности ДНК или РНК, экспрессии гена или экспрессии белка. В некоторых вариантах осуществления присутствие или отсутствие биомаркера измеряется с помощью секвенирования следующего поколения (NGS), секвенирования РНК (РНК-секвенирования), флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), количественной ПНП в реальном времени (кПЦП в реальном времени), микрочипа, проточной цитометрии, иммуногистохимии или иммунофлуоресценции. В других вариантах осуществления присутствие или отсутствие биомаркера измеряется с помощью ИФА или других подобных методов, известных в данной области.

5.5 Методы определения уровня мРНК в образце

В данной области известно несколько методов анализа, обнаружения или количественного определения уровней мРНК. Примеры методов включают нозерн-блоты, РНК-секвенирование, анализ с помощью защиты от рибонуклеазы, способы на основе ПЦР и т.п., но не ограничиваются ими. Последовательность мРНК биомаркера (например, мРНК CRBN или белка, на который прямо или косвенно влияет CRBN, или ее фрагмент) можно использовать для получения зонда, который по меньшей мере частично комплементарен последовательности мРНК. Затем зонд можно использовать для обнаружения мРНК в образце с помощью любого подходящего анализа, такого как методы на основе ПЦР, нозерн-блоттинг, тест с помощью индикаторной полоски и т.п.

В других вариантах осуществления может быть проведен анализ нуклеиновой кислоты для тестирования активности соединения в биологическом образце. Анализ обычно содержит твердую подложку и, по меньшей мере, одну нуклеиновую кислоту, контактирующую с подложкой, где нуклеиновая кислота соответствует по меньшей мере части мРНК, экспрессия которой изменилась во время комплексного лечения пациента, такой как мРНК биомаркера (например, CRBN или белок, на который прямо или косвенно влияет CRBN). Анализ также может иметь средства для обнаружения измененной экспрессии мРНК в образце.

Метод анализа можно варьировать в зависимости от типа требуемой информации о мРНК. Примеры методов включают нозерн-блоты и методы на основе ПЦР (например, кПЦП в реальном времени), но не ограничиваются ими. Такие методы, как кПЦП в реальном времени, также могут точно определить количество мРНК в образце.

Для определения присутствия мРНК в образце можно использовать любую подходящую платформу для анализа. Например, анализ может быть в форме индикаторной полоски, мембраны, чипа, диска, тест-полоски, фильтра, микросферы, предметного стекла, многолуночного планшета или оптического волокна. Аналитическая система может иметь твердую подложку, к которой прикреплена нуклеиновая кислота, соответствующая мРНК. Твердая подложка может содержать, например, пластик, кремний, металл, смолу, стекло, мембрану, частицу, осадок, гель, полимер, лист, сферу, полисахарид, капилляр, пленку, тарелку или слайд. Компоненты анализа могут быть приготовлены и упакованы вместе в виде набора для обнаружения мРНК.

При желании, нуклеиновую кислоту можно пометить, чтобы получить популяцию меченых мРНК. Как правило, образец можно пометить с использованием методов, хорошо известных в данной области (например, с использованием ДНК-лигазы, концевой трансферазы или путем мечения остова РНК и т.д.). См., например, Ausubel et al., *Short Protocols in Molecular Biology* (Wiley & Sons, 3rd ed. 1995); Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor, N.Y., 3rd ed. 2001). В некоторых вариантах осуществления образец помечен флуоресцентной меткой. Примеры флуоресцентных красителей

мента, включая источник образца, идентичность захватывающих агентов, ожидаемую степень комплементарности и т.д., и может быть определен рутинными экспериментами для специалистов в данной области.

Специалисты в данной области легко поймут, что можно использовать альтернативные, но сравнимые условия гибридизации и отмывания, чтобы обеспечить условия аналогичной жесткости.

После процедуры гибридизации мРНК поверхностно-связанные полинуклеотиды обычно отмывают для удаления несвязанных нуклеиновых кислот. Отмывание может выполняться с использованием любого удобного протокола отмывания, где условия отмывания обычно жесткие, как описано выше. Гибридизацию мРНК-мишени с зондами затем выявляют с использованием стандартных методов.

Другие методы, такие как методы на основе ПЦР, также можно использовать для обнаружения экспрессии CRBN или белка, на который прямо или косвенно влияет CRBN. Примеры методов ПЦР можно найти в патенте США № 6927024, который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. Примеры методов ПЦР в реальном времени можно найти в патенте США № 7122799, который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. Метод флуоресцентной ПЦР *in situ* описан в патенте США № 7186507, который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

В некоторых вариантах осуществления количественная ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) может использоваться как для обнаружения, так и для количественного определения РНК-мишеней (Bustin et al., Clin. Sci. 2005, 109:365-379). Количественные результаты, полученные с помощью ОТ-ПЦР, обычно более информативны, чем качественные данные. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления анализы на основе ОТ-ПЦР могут быть применимы для измерения уровней мРНК во время клеточных анализов. Метод ОТ-ПЦР также применим для мониторинга терапии пациента. Примеры методов на основе ОТ-ПЦР можно найти, например, в патенте США № 7101663, который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

В отличие от обычной ПЦР с обратной транскриптазой и анализа с помощью агарозных гелей, ОТ-ПЦР дает количественные результаты. Дополнительным преимуществом ОТ-ПЦР является относительная простота и удобство использования. Инструменты для ОТ-ПЦР, такие как Applied Biosystems 7500, коммерчески доступны, как и реагенты, такие как TaqMan® Sequence Detection Chemistry. Например, анализы экспрессии генов TaqMan® можно использовать в соответствии с инструкциями производителя. Эти наборы представляют собой предварительно разработанные анализы экспрессии генов для быстрого и надежного обнаружения и количественной оценки транскриптов мРНК человека, мыши и крысы. Примерная программа ОТ-ПЦР, например, составляет 50°C в течение 2 мин, 95°C в течение 10 мин, 40 циклов при 95°C в течение 15 с, затем 60°C в течение 1 мин.

Чтобы определить номер цикла, при котором сигнал флуоресценции, связанный с конкретным накоплением ампликона, пересекает пороговое значение (называемое C_T), данные можно проанализировать, например, с использованием программного обеспечения 7500 Real-Time PCR System Sequence Detection по сравнению с использованием сравнительного метода расчета относительной количественной оценки C_T . Используя этот метод, результат выражается как кратное изменение уровней экспрессии. В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень может быть выбран для автоматического определения программным обеспечением. В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень устанавливается выше базового уровня, но достаточно низким, чтобы находиться в пределах области экспоненциального роста кривой амплификации.

В некоторых вариантах осуществления экспрессия мРНК определяется секвенированием РНК (РНК-секвенированием). Методы для РНК-секвенирования хорошо известны специалистам в данной области техники и описаны в Waern et al., Methods Mol Biol., 2011, 759:125-132; Wilhelm et al., Nature Protocols, 2010, 5(2):255-66; и Hoesijmakers et al., Methods Mol Biol., 2013, 923:221-39. Кратко, типичный метод РНК-секвенирования может включать этап (1) выделения РНК; (2) истощение рибосомной РНК; (3) синтез кДНК и (4) секвенирование кДНК посредством секвенирования Next-Gen.

5.6 Методы определения уровней полипептида или белка в образце

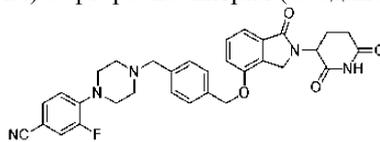
Для измерения уровня биомаркера, такого как CRBN, или белка, на который прямо или косвенно влияет CRBN, такого как Aiolos и Ikaros, можно использовать несколько методов обнаружения и количественной оценки белка. Можно использовать любой подходящий метод количественного определения белка. В некоторых вариантах осуществления используются методы на основе антител. Примеры методов, которые можно использовать, включают иммуноблоттинг (вестерн-блоттинг), ИФА, иммуногистохимию, проточную цитометрию, сортировку флуоресцентно-активированных клеток (FACS), массив гранул для цитометрии, масс-спектроскопию и тому подобное, но не ограничиваются ими. Обычно используются несколько типов ИФА, включая прямой ИФА, непрямой ИФА и сэндвич-ИФА.

В некоторых вариантах осуществления биомаркер выбран из группы, состоящей из белков CRBN, IKZF1, IKZF3, ZFP91, c-MYC, IRF4, p21, p27, pRb1, каспазы-1, каспазы-3, каспазы-7, PARP, сурвивина, BIM, IL-2, TNF α , IFN γ , растворимого ВСМА, свободной легкой цепи лямбда и свободной легкой цепи каппа. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой белок, на который прямо

или косвенно влияет CRBN. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой белок CRBN. В конкретном варианте осуществления биомаркером является CRBN, и он обнаруживается с помощью ИГХ. В другом конкретном варианте осуществления биомаркером является CRBN, Aiolos, Ikaros, ZFP91, с-Мус, IRF4, р-каспаза-3 и/или TIL, и его определяют с помощью ИГХ. В некоторых вариантах осуществления биомаркер выбран из группы, состоящей из IKZF1, IKZF3, ZFP91, с-МУС, IRF4. В некоторых вариантах осуществления биомаркер выбран из группы, состоящей из Aiolos и Ikaros, и обнаруживается с помощью FACS. В некоторых вариантах осуществления биомаркер выбран из группы, состоящей из Aiolos и Ikaros, и обнаруживается с помощью ИФА. В некоторых вариантах осуществления биомаркер выбран из группы, состоящей из каспазы-1, каспазы-3, каспазы-7, PARP, сурвивина, BIM, свободной легкой цепи лямбда и свободной легкой цепи каппа. В некоторых вариантах осуществления биомаркер выбран из группы, состоящей из свободной легкой цепи лямбда и свободной легкой цепи каппа. В конкретном варианте осуществления биомаркер представляет собой Aiolos. В конкретном варианте осуществления биомаркер представляет собой Ikaros. В конкретном варианте осуществления биомаркер представляет собой с-МУС. В конкретном варианте осуществления биомаркер представляет собой IRF4. В конкретном варианте осуществления биомаркер представляет собой расщепленную каспазу-3. В другом конкретном варианте осуществления биомаркер представляет собой ZFP91. В еще одном конкретном варианте осуществления биомаркер представляет собой p21. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой p27. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой p27. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой pRb1. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой каспазу-1. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой каспазу-3. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой каспазу-7. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой PARP. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой сурвивин. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой BIM. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой IL-2. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой p27. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой TNF α . В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой IFN γ . В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой растворимый ВСМА. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой свободную легкую цепь лямбда и свободную легкую цепь каппа. В конкретном варианте осуществления биомаркер представляет собой свободную легкую цепь лямбда. В конкретном варианте осуществления биомаркер представляет собой свободную легкую цепь каппа.

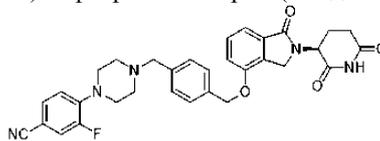
5.7 Соединения

В некоторых вариантах осуществления различных способов, представленных в настоящем документе, соединение представляет собой 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил (Соединение 1)



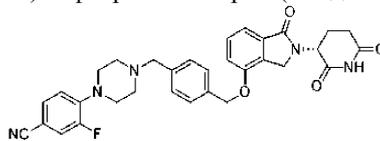
или его энантиомер, или смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления различных способов, представленных в настоящем документе, соединение представляет собой (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил (Соединение 2)



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления различных способов, представленных в настоящем документе, соединение представляет собой (R)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил (Соединение 3)



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

Различные соединения, представленные в данном документе, могут содержать хиральные центры и могут существовать в виде смесей энантиомеров (например, рацемических смесей) или смесей диастереомеров. Предоставленные в данном документе способы охватывают использование стереомерно чистых

форм таких соединений, а также смесей этих форм. Например, в способах, представленных в данном документе, могут использоваться смеси, содержащие равные или неравные количества энантимеров конкретного соединения. Эти изомеры можно синтезировать асимметрично или разделить с использованием стандартных методик, таких как хиральные колонки или хиральные разделяющие агенты. См., Jacques et al., *Enantiomers, Racemates and Resolutions* (Wiley-Interscience, New York, 1981); Wilen et al., *Tetrahedron* 1977, 33:2725-2736; Eliel, *Stereochemistry of Carbon Compounds* (McGraw-Hill, NY, 1962); Wilen, *Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions*, p. 268 (Eliel, ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN, 1972).

Также в данном документе предложены изотопически обогащенные аналоги соединений, предложенных в данном документе. Изотопное обогащение (например, дейтерирование) фармацевтических препаратов для улучшения фармакокинетических свойств ("ФК"), фармакодинамических свойств ("ФД") и профилей токсичности было ранее продемонстрировано некоторыми классами лекарственных средств. См., например, Lijinsky et al., *Food Cosmet. Toxicol.*, 20: 393 (1982); Lijinsky et al., *J. Nat. Cancer Inst.*, 69: 1127 (1982); Mangold et al., *Mutation Res.* 308: 33 (1994); Gordon et al., *Drug Metab. Dispos.*, 15: 589 (1987); Zello et al., *Metabolism*, 43: 487 (1994); Gately et al., *J. Nucl. Med.*, 27: 388 (1986); Wade D, *Chem. Biol. Interact.* 117: 191 (1999).

Не ограничиваясь какой-либо конкретной теорией, изотопное обогащение лекарственного средства может быть применено, например, для того, чтобы: (1) уменьшить или устранить нежелательные метаболиты, (2) увеличить период полувыведения исходного лекарственного средства, (3) уменьшить количество доз, необходимых для достижения желаемого эффекта (4) уменьшить размер дозы, необходимой для достижения желаемого эффекта, (5) увеличить образование активных метаболитов, если они образуются, и/или (6) уменьшить получение вредоносных метаболитов в конкретных тканях и/или создать более эффективное лекарственное средство и/или более безопасное лекарственное средство для комбинированной терапии, независимо от того, является ли комбинационная терапия запланированной или нет.

Замещение атома на один из его изотопов часто приводит к изменению скорости реакции химической реакции. Это явление известно как кинетический изотопный эффект ("КИЕ"). Например, если связь С-Н разрывается на этапе, определяющем скорость химической реакции (т.е. на этапе с наивысшей энергией переходного состояния), замещение дейтерием данного атома водорода приведет к уменьшению скорости реакции, и процесс будет замедляться. Это явление известно как кинетический изотопный эффект дейтерия ("DKIE") (См., например, Foster et al., *Adv. Drug Res.*, vol. 14, pp. 1-36 (1985); Kushner et al., *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, vol. 77, pp. 79-88 (1999)).

Величина DKIE может быть выражена в виде отношения между скоростями данной реакции, в которой разорвана связь С-Н, и той же реакцией, при условии, что дейтерий замещен водородом. DKIE может варьироваться от примерно 1 (без изотопного эффекта) до очень больших чисел, например 50 или более, что означает, что реакция может быть в пятьдесят или более раз медленнее, при условии, что дейтерий замещен водородом. Не ограничиваясь определенной теорией, высокие значения DKIE могут быть частично обусловлены явлением, известным как туннелирование, что является следствием принципа неопределенности. Туннелирование приписывают малой массе атома водорода, и при этом оно происходит потому, что переходные состояния с участием протона могут иногда возникать в условиях отсутствия требуемой энергии активации. Поскольку дейтерий имеет большую массу, нежели водород, он статистически имеет гораздо меньшую вероятность подвергаться этому явлению.

Тритий ("Т") представляет собой радиоактивный изотоп водорода, применяемый в исследованиях, термоядерных реакторах, нейтронных генераторах и радиофармацевтических препаратах. Тритий - это атом водорода, который имеет 2 нейтрона в ядре и имеет атомный вес, близкий к 3. В природе он встречается в окружающей среде в очень низких концентрациях, чаще всего встречается в форме Т₂О. Тритий медленно распадается (период полураспада=12,3 года) и испускает низкоэнергетические бета-частицы, которые не могут проникнуть через внешний слой кожи человека. Внутреннее облучение является основной опасностью, связанной с этим изотопом, однако его необходимо принимать в больших количествах, чтобы подвергнуться значительному риску для здоровья. По сравнению с дейтерием, до достижения опасного уровня необходимо потреблять меньшее количество трития. Замещение водорода тритием ("Т") приводит к еще более сильной связи, чем в случае дейтерия и дает численно большие изотопные эффекты.

Аналогичным образом замещение изотопов других элементов, включая, без ограничения, С или С в случае углерода, ³³S, ³⁴S или ³⁶S в случае серы, ¹⁵N в случае азота и ¹⁷O или ¹⁸O в случае кислорода, будет обеспечивать аналогичные кинетические изотопные эффекты.

Организм животного экспрессирует разнообразие ферментов с целью устранения посторонних веществ, таких как терапевтические агенты, из его системы циркуляции. Примеры таких ферментов включают ферменты цитохрома P450 ("СYP"), эстеразы, протеазы, редуктазы, дегидрогеназы и моноаминоксидазы для взаимодействия и преобразования данных инородных веществ в более полярные промежуточные соединения или метаболиты для почечной экскреции. Некоторые из наиболее распространенных метаболических реакций фармацевтических соединений включают окисление углерод-водородной (С-Н) связи в любую из углерод-кислородной (С-О) или углерод-углеродной (С-С) пи-связи. Полученные ме-

таболиты могут быть стабильными или нестабильными в физиологических условиях, и могут иметь существенно отличающиеся фармакокинетические, фармакодинамические профили, и профили краткосрочной и долгосрочной токсичности по отношению к исходным соединениям. Для многих препаратов, такие окисления являются быстрыми. В результате, эти препараты часто требуют введения нескольких или высоких суточных доз.

Изотопное обогащение в определенных положениях соединения, предложенного в данном документе, может иметь детектируемый КИЕ, который влияет на фармакокинетические, фармакологические и/или токсикологические профили соединения, предложенного в данном документе, по сравнению с подобным соединением, имеющим природный изотопный состав. В одном варианте осуществления обогащение дейтерием происходит в положении расщепления C-H связи в процессе метаболизма.

Стандартные физиологические, фармакологические и биохимические процедуры доступны для исследования соединений для идентификации тех, которые обладают желаемой антипролиферативной активностью.

Такие анализы включают, например, биохимические анализы, такие как анализы связывания, анализы радиоактивных включений, а также различные анализы на основе клеток.

Соединения, предлагаемые в данном документе, могут быть получены способами, известными специалисту в данной области техники, и следующими методиками, аналогичными методикам, описанным в разделе Примеры в данном документе, и их обычными модификациями.

Понятно, что вышеприведенное подробное описание и сопроводительные примеры являются всего лишь иллюстративными, и их не следует воспринимать как ограничение объема объекта изобретения. Различные изменения и модификации описанных вариантов осуществления будут очевидны специалистам в данной области техники. Такие изменения и модификации, включая, без ограничения, относящиеся к химическим структурам, заместителям, производным, промежуточным соединениям, синтезу, составу и/или способам применения, приведенным в данном документе, можно осуществлять, не отступая от его сущности и объема. Патенты США и публикации, упоминаемые в данном документе, включены в данный документ посредством ссылки.

5.8 Фармацевтические композиции

Фармацевтические композиции, предлагаемые в данном документе, содержат терапевтически эффективное количество одного или нескольких соединений, предлагаемых в данном документе, и необязательно фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или вспомогательное вещество.

Указанные соединения могут быть составлены в подходящие лекарственные формы, такие как растворы, суспензии, таблетки, диспергируемые таблетки, пилюли, капсулы, порошки, препараты с замедленным высвобождением или эликсиры, для перорального введения, или в стерильных растворах или суспензиях для офтальмологического или парентерального введения, а также трансдермальный пластырь и ингаляторы в виде сухого порошка. Как правило, соединения, описанные выше, составлены в фармацевтические композиции с использованием методов и методик, хорошо известных в данной области техники (см, например, Ansel Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 7-е изд. 1999).

В данных композициях эффективные концентрации одного или более соединений или их фармацевтически приемлемых солей смешивают с подходящим фармацевтическим носителем или наполнителем. В конкретных вариантах осуществления концентрации соединений в композициях являются эффективными для доставки количества, которое при введении лечит, предотвращает или облегчает один или несколько симптомов и/или прогрессирует множественной миеломы.

Как правило, композиции составлены для однократного введения дозы. Для приготовления композиции массовую навеску соединения растворяют, суспендируют, диспергируют или иным образом смешивают в выбранном наполнителе с такой эффективной концентрацией, что патологическое состояние облегчается или улучшается. Фармацевтические носители или наполнители, подходящие для введения соединений, представленных в данном документе, включают любые такие носители, известные специалистам в данной области техники, подходящие для конкретного способа введения.

Кроме того, соединения могут быть составлены в виде единственного фармацевтически активного ингредиента в композиции или могут быть объединены с другими активными ингредиентами. Липосомальные суспензии, в том числе липосомы, нацеленные на ткани, такие как липосомы, нацеленные на опухоль, также могут быть пригодны в качестве фармацевтически приемлемых носителей. Они могут быть получены в соответствии со способами, известными специалистам в данной области техники. Например, липосомные лекарственные формы могут быть получены, как известно в данной области техники. Вкратце, липосомы, такие как многослойные везикулы (MLV), могут быть образованы путем высушивания яичного фосфатидилхолина и фосфатидилсерина головного мозга (молярное соотношение 7:3) на внутренней стороне колбы. Добавляют раствор соединения, предложенного в данном документе в забуференном фосфатом физиологическом растворе (PBS), лишенном двухвалентных катионов, и колбу перемешивают до тех пор, пока липидная пленка не диспергируется. Полученные везикулы промывают для удаления неинкапсулированного соединения, осаждают центрифугированием и затем ресуспендируют в PBS.

Активное соединение включено в фармацевтически приемлемый наполнитель в количестве, доста-

точном для оказания терапевтически полезного эффекта в отсутствие нежелательных побочных эффектов для пациента, подвергающегося лечению. Терапевтически эффективная концентрация может быть определена эмпирически путем исследования соединений в *in vitro* и *in vivo* системах, описанных в данном документе, и затем экстраполирована на основании этого для дозировки для людей.

Концентрация активного соединения в фармацевтической композиции будет зависеть от скоростей абсорбции, распределения в тканях, инактивации, метаболизма и экскреции активного соединения, физико-химических характеристик данного соединения, схемы дозирования и количества вводимого вещества, а также других факторов, известных специалистам в данной области техники. Например, количество, которое доставлено, является достаточным для улучшения одного или нескольких симптомов рака, в том числе солидных опухолей и гематологических опухолей.

Растворы или суспензии, применяемые для парентерального, внутрикожного, подкожного или местного применения, могут включать любой из следующих компонентов: стерильный разбавитель, такой как вода для инъекций, физиологический раствор, нелетучее масло, полиэтиленгликоль, глицерин, пропиленгликоль, диметилацетамид или другой синтетический растворитель; противомикробные средства, такие как бензиловый спирт и метилпарабен; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота и бисульфит натрия; хелатирующие средства, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА); буферы, такие как ацетаты, цитраты и фосфаты; и средства для регулировки тоничности, такие как хлорид натрия или декстроза. Парентеральные препараты могут быть заключены в ампулы, шприцы-ручки, одноразовые шприцы, или одноразовые или многоразовые флаконы из стекла, пластика или другого подходящего материала.

В случаях, когда соединения проявляют недостаточную растворимость, могут быть использованы способы для солюбилизующих соединений. Такие способы известны специалистам в данной области техники и включают, но не ограничиваются ими: применение соразтворителей, таких как диметилсульфоксид (ДМСО), применение поверхностно-активных веществ, таких как TWEEN®, или растворение в водном растворе гидрокарбоната натрия.

При смешивании или добавлении соединения(й) полученная смесь может представлять собой раствор, суспензию, эмульсию или тому подобное. Лекарственная форма полученной смеси зависит от ряда факторов, включая предполагаемый способ введения и растворимость соединения в выбранном носителе или наполнителе. Эффективная концентрация достаточна для уменьшения симптомов заболевания, нарушения или патологии, и может быть определена эмпирически.

Фармацевтические композиции предназначены для введения людям и животным в виде лекарственных форм единичных доз, таких как таблетки, капсулы, пилюли, порошки, гранулы, стерильные парентеральные растворы или суспензии, и растворы или суспензии для полости рта, а также эмульсии масло-вода, содержащих подходящие количества соединений или их фармацевтически приемлемых солей. Фармацевтически терапевтически активные соединения и их соли составляют и вводят в виде единичных лекарственных форм или лекарственных форм многократных доз. Единичные лекарственные формы, применяемые в данном документе, относятся к физически дискретным единицам, подходящим для людей и животных, и упаковываются индивидуально, как известно в данной области техники. Каждая единичная доза содержит предопределенное количество терапевтически активного соединения, достаточного для получения желаемого терапевтического эффекта, в сочетании с необходимым фармацевтическим носителем, наполнителем или разбавителем. Примеры единичных лекарственных форм включают ампулы и шприцы, и индивидуально упакованные таблетки или капсулы. Единичные лекарственные формы можно вводить в виде частей или их кратных величин. Лекарственная форма многократной дозы представляет собой множество идентичных лекарственных форм единичной дозы, упакованных в один контейнер, которые должны вводиться отдельными лекарственными формами единичной дозы. Примеры лекарственных форм с множеством доз включают флаконы, бутылки таблеток или капсул или бутылки пинт или галлонов. Следовательно, лекарственные формы многократной дозы кратна единичным дозам, которые не разделены в упаковке.

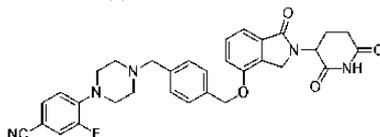
Можно изготовить лекарственные формы или композиции, содержащие активный ингредиент в диапазоне от 0,005 до 100%, где остальную часть составляет нетоксичный носитель. Для перорального введения фармацевтически приемлемую нетоксичную композицию получают путем внесения любого из обычно применяемых наполнителей, таких как, например, фармацевтические классы маннита, лактозы, крахмала, стеарата магния, талька, производных целлюлозы, натрий-кросс-кармеллозы, глюкозы, сахараза, карбоната магния или сахарин натрия. Такие композиции включают растворы, суспензии, таблетки, капсулы, порошки и лекарственные формы с замедленным высвобождением, такие как, но не ограничиваясь лишь этими: имплантаты и микрокапсулированные системы доставки, и биоразлагаемые биосовместимые полимеры, такие как коллаген, этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевая кислота, полиортоэфир, полимолочная кислота и другие. Способы получения этих композиций известны специалистам в данной области техники.

Активные соединения или фармацевтически приемлемые соли могут быть получены с носителями, которые защищают соединение от быстрого выведения из организма, такими как лекарственные формы для высвобождения со временем или препараты с покрытием.

Композиции могут содержать другие активные соединения для получения желаемых комбинаций свойств. Соединения, предложенные в данном описании, или их фармацевтически приемлемые соли, как описано в данном документе, также могут быть преимущественно введены в терапевтических или профилактических целях вместе с другим фармакологическим средством, которое известно в общем уровне техники как полезное для лечения одного или более заболеваний или медицинских состояний, упомянутых выше в данном документе, таких как болезни, связанные с окислительным стрессом. Следует понимать, что такая комбинированная терапия представляет собой дополнительный аспект композиций и способов лечения, представленных в данном документе.

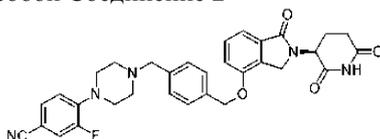
5.9 Наборы

В одном аспекте в настоящем документе предложен набор для идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, содержащий средство для определения уровня биомаркера в образце, который подвергался лечению лечебным соединением, при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



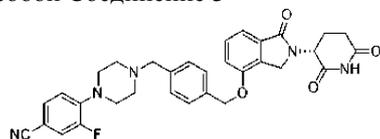
или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В одном аспекте в настоящем документе предложен набор для идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, содержащий средство для определения уровня биомаркера в образце, который подвергался лечению лечебным соединением, при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



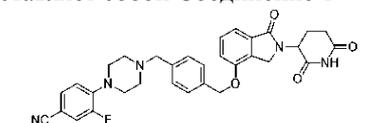
или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В одном аспекте в настоящем документе предложен набор для идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, содержащий средство для определения уровня биомаркера в образце, который подвергался лечению лечебным соединением, при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



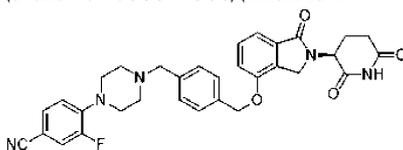
или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом аспекте в настоящем документе предложен набор для лечения рака, содержащий средство для определения уровня биомаркера в образце, который подвергался лечению лечебным соединением, при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



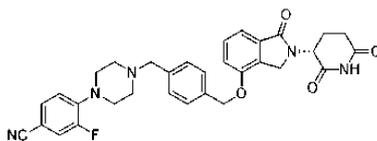
или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом аспекте в настоящем документе предложен набор для лечения рака, содержащий средство для определения уровня биомаркера в образце, который подвергался лечению лечебным соединением, при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



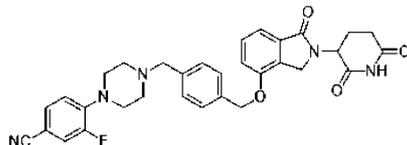
или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом аспекте в настоящем документе предложен набор для лечения рака, содержащий средство для определения уровня биомаркера в образце, который подвергался лечению лечебным соединением, при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



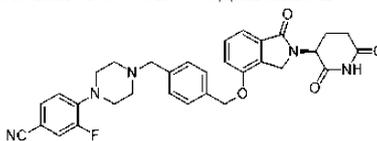
или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном аспекте в настоящем документе предложен набор для прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, содержащий средство для определения уровня биомаркера в образце, который подвергался лечению лечебным соединением, при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



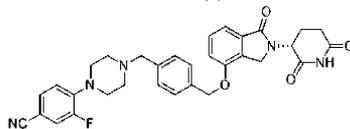
или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном аспекте в настоящем документе предложен набор для прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, содержащий средство для определения уровня биомаркера в образце, который подвергался лечению лечебным соединением, при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



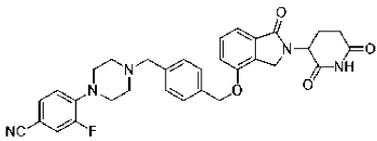
или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном аспекте в настоящем документе предложен набор для прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, содержащий средство для определения уровня биомаркера в образце, который подвергался лечению лечебным соединением, при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



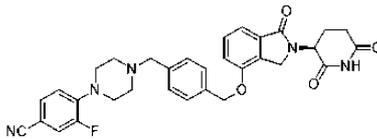
или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном аспекте в настоящем документе предложен набор для мониторинга эффективности лечебного соединения при лечении рака у субъекта, содержащий средство для определения уровня биомаркера в образце, который подвергался лечению лечебным соединением, при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



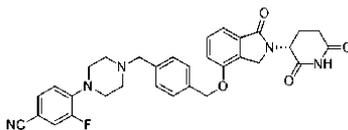
или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном аспекте в настоящем документе предложен набор для мониторинга эффективности лечебного соединения при лечении рака у субъекта, содержащий средство для определения уровня биомаркера в образце, который подвергался лечению лечебным соединением, при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



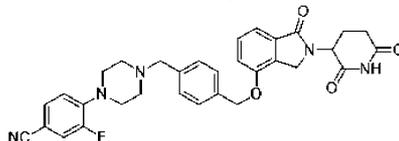
или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном аспекте в настоящем документе предложен набор для мониторинга эффективности лечебного соединения при лечении рака у субъекта, содержащий средство для определения уровня биомаркера в образце, который подвергался лечению лечебным соединением, при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



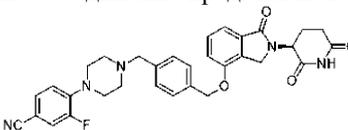
или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном аспекте в настоящем документе предложен набор для идентификации субъекта, имеющего множественную миелому, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, содержащий средство для определения уровня биомаркера в образце, который подвергался лечению лечебным соединением, при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



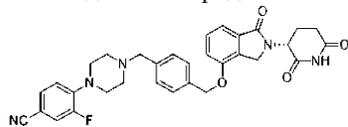
или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном аспекте в настоящем документе предложен набор для идентификации субъекта, имеющего множественную миелому, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, содержащий средство для определения уровня биомаркера в образце, который подвергался лечению лечебным соединением, при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном аспекте в настоящем документе предложен набор для идентификации субъекта, имеющего множественную миелому, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, содержащий средство для определения уровня биомаркера в образце, который подвергался лечению лечебным соединением, при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления биомаркером, обнаруживаемым различными наборами, представленными в настоящем документе, является CRBN. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, обнаруживаемым различными наборами, представленными в настоящем документе, является белок, связанный с CRBN (CAP). В некоторых вариантах осуществления биомаркер включает один CAP. В некоторых вариантах осуществления биомаркер включает два CAP. В еще других вариантах осуществления биомаркер включает три CAP. В еще других вариантах осуществления биомаркер включает четыре CAP. В некоторых вариантах осуществления биомаркер включает пять или более CAP.

В некоторых вариантах осуществления биомаркер, обнаруживаемый различными наборами, представленными в настоящем документе, представляет собой CAP, выбранный из группы, состоящей из IKZF1, IKZF3, ZFP91, с-MYC, IRF4. В некоторых вариантах осуществления биомаркер выбран из группы, состоящей из IKZF1 и IKZF3. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой IKZF1. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой IKZF3. В других вариантах осуществления биомаркер представляет собой ZFP91. В еще одном варианте осуществления биомаркер представляет собой с-MYC. В других вариантах осуществления биомаркер представляет собой IRF4.

В некоторых вариантах осуществления биомаркер, обнаруживаемый различными наборами, представленными в настоящем документе, участвует в апоптозе. В некоторых вариантах осуществления биомаркер, обнаруживаемый различными наборами, представленными в настоящем документе, участвует в апоптозе и выбран из группы, состоящей из CTC, каспазы-1, каспазы-3, каспазы-7, PARP, BIM, сурвивина, свободной легкой цепи лямбда в сыворотке и свободной легкой цепи каппа в сыворотке. В некоторых вариантах осуществления биомаркер, обнаруживаемый различными наборами, представленными в настоящем документе, участвует в апоптозе и выбран из группы свободной легкой цепи лямбда в сыворотке и свободной легкой цепи каппа в сыворотке. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, обнаруживаемым различными наборами, представленными в настоящем документе, является CTC. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, обнаруживаемым различными наборами, представленными в настоящем документе, является каспаза-3. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, обнаруживаемым различными наборами, представленными в настоящем документе, является каспаза-7. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, обнаруживаемым различными наборами,

представленными в настоящем документе, является сурвивин. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, обнаруживаемым различными наборами, представленными в настоящем документе, является BIM. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, обнаруживаемым различными наборами, представленными в настоящем документе, является каспаза-1. В некоторых вариантах осуществления биомаркером, обнаруживаемым различными наборами, представленными в настоящем документе, является PARP. В конкретных вариантах осуществления биомаркером, обнаруживаемым различными наборами, представленными в настоящем документе, является свободная легкая цепь лямбда в сыворотке. В конкретных вариантах осуществления биомаркером, обнаруживаемым различными наборами, представленными в настоящем документе, является свободная легкая цепь каппа в сыворотке.

В некоторых вариантах осуществления биомаркер, обнаруживаемый различными наборами, представленными в настоящем документе, участвует в клеточном цикле. В некоторых вариантах осуществления биомаркер, обнаруживаемый различными наборами, представленными в настоящем документе, участвует в клеточном цикле и выбран из группы, состоящей из p21, p27 и pRb1. В конкретных вариантах осуществления биомаркером, обнаруживаемым различными наборами, представленными в настоящем документе, является p21. В конкретных вариантах осуществления биомаркером, обнаруживаемым различными наборами, представленными в настоящем документе, является p27. В конкретных вариантах осуществления биомаркером, обнаруживаемым различными наборами, представленными в настоящем документе, является pRb1.

В еще других вариантах осуществления биомаркером, обнаруживаемым различными наборами, представленными в настоящем документе, связан с активацией Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления биомаркер, обнаруживаемый различными наборами, представленными в настоящем документе, связан с активацией Т-клеток и выбран из группы, состоящей из связанных с активацией Т-клеток цитокинов IL-2, TNF α и IFN γ .

В некоторых вариантах осуществления различных наборов, представленных в настоящем документе, образец получают из биопсии опухоли, биопсии узла, жидкой биопсии (например, крови) или биопсии костного мозга.

В некоторых вариантах осуществления различных наборов, представленных в настоящем документе, рак представляет собой рак крови. В некоторых вариантах осуществления рак крови выбран из группы, состоящей из множественной миеломы. В некоторых вариантах осуществления множественная миелома является рецидивирующей, рефрактерной или устойчивой к традиционной терапии.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен набор для определения уровня мРНК одного или более биомаркеров. В некоторых вариантах осуществления набор включает один или более зондов, которые специфически связываются с мРНК одного или более биомаркеров. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно включает промывочный раствор. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно включает реагенты для проведения анализа гибридизации, средства выделения или очистки мРНК, средства обнаружения, а также положительные и отрицательные контроли. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно включает реагенты для генерации кДНК из мРНК. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно включает реагенты для секвенирования кДНК, полученной из мРНК. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит инструкцию по использованию набора. Набор может быть адаптирован для домашнего, клинического или исследовательского использования.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен набор для определения уровня белка одного или более биомаркеров. В некоторых вариантах осуществления наборы содержат индикаторную полоску, покрытую антителом, которое распознает белок-биомаркер, промывочные растворы, реагенты для проведения анализа, средства выделения или очистки белка, средства обнаружения, а также положительные и отрицательные контроли. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит инструкцию по использованию набора. Набор может быть адаптирован для домашнего, клинического или исследовательского использования.

В таком наборе можно использовать, например, индикаторные полоски, мембрану, чип, диск, тест-полоску, фильтр, микросферу, предметное стекло, многолуночный планшет или оптическое волокно. Твердая подложка набора может представлять собой, например, пластик, кремний, металл, смолу, стекло, мембрану, частицу, осадок, гель, полимер, лист, сферу, полисахарид, капилляр, пленку, тарелку или слайд. Биологический образец может представлять собой, например, культуру клеток, линию клеток, ткань, орган, органеллу, биологическую жидкость, образец крови, образец мочи или образец кожи.

В другом варианте осуществления набор содержит твердую подложку, нуклеиновые кислоты, прикрепленные к подложке, при этом нуклеиновые кислоты комплементарны по меньшей мере 20, 50, 100, 200, 350 или более основаниям мРНК, и средство для обнаружения экспрессии мРНК в биологическом образце.

В конкретном варианте осуществления фармацевтический или аналитический набор содержит в контейнере соединение или его фармацевтическую композицию и дополнительно содержит в одном или более контейнерах компоненты для выделения РНК. В другом конкретном варианте осуществления фармацевтический или аналитический набор содержит в контейнере соединение или фармацевтическую

композицию и дополнительно содержит в одном или более контейнерах компоненты для проведения ОТ-ПЦР, кПЦР в реальном времени, глубокого секвенирования или микроматричного анализа.

В некоторых вариантах осуществления в наборах, предоставленных в настоящем документе, используются средства для обнаружения экспрессии биомаркера с помощью количественной ПЦР в реальном времени (кПЦР в реальном времени), микроматричного анализа, проточной цитометрии, FACS, FISH, секвенирования ДНК, секвенирования РНК, окрашивания гематоксилином и эозином (H&E), иммуногистохимии или иммунофлуоресценции. В других вариантах осуществления экспрессия биомаркера измеряется с помощью методологий на основе ИФА или других подобных методов, известных в данной области.

В другом конкретном варианте осуществления фармацевтический или аналитический набор содержит в контейнере соединение или его фармацевтическую композицию и дополнительно содержит в одном или более контейнерах компоненты для выделения белка. В другом конкретном варианте осуществления фармацевтический или аналитический набор содержит в контейнере соединение или фармацевтическую композицию и дополнительно содержит в одном или более контейнерах компоненты для проведения проточной цитометрии или ИФА.

В другом аспекте в настоящем документе представлены наборы для измерения биомаркеров, которые предоставляют материалы, необходимые для измерения содержания одного или более генов продуктов биомаркеров или подмножества биомаркеров (например, одного, двух, трех, четырех, пяти или более биомаркеры), представленных в настоящем документе. Такие наборы могут включать материалы и реагенты, необходимые для измерения ДНК, РНК, белка или клеточных популяций. В некоторых вариантах осуществления такие наборы включают микроматрицы, где микроматрица состоит из олигонуклеотидов и/или фрагментов ДНК и/или РНК, которые гибридизуются с одним или более геновыми продуктами биомаркеров или подмножеством биомаркеров, представленных в настоящем документе, или любой их комбинацией. В некоторых вариантах осуществления такие наборы могут включать праймеры для ПЦР либо продукта РНК, либо копии кДНК продукта РНК биомаркеров или подмножества биомаркеров, либо обоих. В некоторых вариантах осуществления такие наборы могут включать праймеры для ПЦР, а также зонды для количественной ПЦР. В некоторых вариантах осуществления такие наборы могут включать множество праймеров и множество зондов, при этом некоторые из зондов имеют разные флуорофоры, что позволяет одновременно измерять продукты множества генов биомаркеров или подмножества биомаркеров, представленных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления такие наборы могут дополнительно включать материалы и реагенты для создания кДНК из РНК. В некоторых вариантах осуществления такие наборы могут включать антитела, специфичные к белковым продуктам биомаркеров или подмножеству биомаркеров, представленных в настоящем документе. Такие наборы могут дополнительно включать материалы и реагенты для выделения РНК и/или белков из биологического образца. Кроме того, такие наборы могут включать материалы и реагенты для синтеза кДНК из РНК, выделенной из биологического образца. В некоторых вариантах осуществления такие наборы могут включать компьютерный программный продукт, встроенный в машиночитаемый носитель, для прогнозирования того, является ли пациент клинически чувствительным к соединению. В некоторых вариантах осуществления наборы могут включать компьютерный программный продукт, встроенный в машиночитаемый носитель вместе с инструкциями.

В некоторых вариантах осуществления такие наборы измеряют экспрессию одного или более продуктов нуклеиновых кислот биомаркеров или подмножества биомаркеров, представленных в настоящем документе. В соответствии с этим вариантом осуществления наборы могут содержать материалы и реагенты, которые необходимы для измерения экспрессии конкретных продуктов нуклеиновых кислот биомаркеров или подмножества биомаркеров, представленных в настоящем документе. Например, набор для микроматричного анализа или для ОТ-ПЦР могут быть изготовлены для конкретного состояния и содержать только те реагенты и материалы, которые необходимы для измерения уровней конкретных продуктов транскрипции РНК биомаркеров или подмножества биомаркеров, представленных в настоящем документе, для прогнозирования того, является ли гематологический рак у пациента клинически чувствительным к соединению. Альтернативно, в некоторых вариантах осуществления наборы могут включать материалы и реагенты, необходимые для измерения экспрессии конкретных продуктов нуклеиновых кислот генов, отличных от биомаркеров, представленных в настоящем документе. Например, в некоторых вариантах осуществления наборы содержат материалы и реагенты, необходимые для измерения уровней экспрессии 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 или более генов биомаркеров, представленных в настоящем документе, в дополнение к реагентам и материалам, необходимым для измерения уровней экспрессии по меньшей мере 1, по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 15, по меньшей мере 20, по меньшей мере 25, по меньшей мере 30, по меньшей мере 35, по меньшей мере 40, по меньшей мере 45, по меньшей мере 50 или более генов, отличных от биомаркеров, представленных в данном документе. В других вариантах осуществления наборы содержат реагенты и материалы, необходимые для измерения уровней экспрессии по меньшей мере 1, по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по

меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 15, по меньшей мере 20, по меньшей мере 25, по меньшей мере 30, по меньшей мере 35, по меньшей мере 40, по меньшей мере 45, по меньшей мере 50 или более биомаркеров, представленных в настоящем документе, и 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 300, 350, 400, 450 или более генов, которые не являются биомаркерами, представленными в данном документе. В конкретных вариантах осуществления наборы содержат реагенты и материалы, необходимые для измерения уровней экспрессии по меньшей мере 1, по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 15, по меньшей мере 20, по меньшей мере 25, по меньшей мере 30, по меньшей мере 35, по меньшей мере 40, по меньшей мере 45, по меньшей мере 50 или более биомаркеров, представленных в настоящем документе, и 1-10, 1-100, 1-150, 1-200, 1-300, 1-400, 1-500, 1-1000, 25-100, 25-200, 25-300, 25-400, 25-500, 25-1000, 100-150, 100-200, 100-300, 100-400, 100-500, 100-1000 или 500-1000 генов, которые не являются биомаркерами, представленными в данном документе.

Наборы нуклеиновых кислот для микроматричного анализа обычно содержат зонды, прикрепленные к поверхности твердой подложки. В одном таком варианте осуществления зонды могут быть либо олигонуклеотидами, либо более длинными зондами, включая зонды в диапазоне от 150 нуклеотидов до 800 нуклеотидов в длину. Зонды могут быть помечены детектируемой меткой. В конкретном варианте осуществления зонды специфичны для одного или более генных продуктов биомаркеров, представленных в настоящем документе. Наборы для микроматричного анализа могут содержать инструкции по выполнению анализа и способы интерпретации и анализа данных, полученных в результате выполнения анализа. В конкретном варианте осуществления наборы содержат инструкции для прогнозирования того, является ли гематологический рак у пациента клинически чувствительным к соединению. Наборы могут также содержать реагенты для гибридизации и/или реагенты, необходимые для обнаружения сигнала, возникающего при гибридизации зонда с последовательностью нуклеиновой кислоты-мишени. Обычно материалы и реагенты для наборов для микроматричного анализа находятся в одном или более контейнерах. Каждый компонент набора обычно находится в собственном подходящем контейнере.

В некоторых вариантах осуществления набор нуклеиновых кислот для микроматричного анализа содержит материалы и реагенты, необходимые для измерения уровней экспрессии 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 или более генов биомаркеров, представленных в настоящем документе, или их комбинации, в дополнение к реагентам и материалам, необходимым для измерения уровней экспрессии по меньшей мере 1, по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, минимум 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 15, по меньшей мере 20, по меньшей мере 25, по меньшей мере 30, по меньшей мере 35, по меньшей мере 40, по меньшей мере 45, по меньшей мере 50 или более генов, отличных от генов биомаркеров, представленных в настоящем документе. В других вариантах осуществления набор нуклеиновых кислот для микроматричного анализа содержит реагенты и материалы, необходимые для измерения уровней экспрессии по меньшей мере 1, по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 15, по меньшей мере 20, по меньшей мере 25, по меньшей мере 30, по меньшей мере 35, по меньшей мере 40, по меньшей мере 45, по меньшей мере 50 или более генов биомаркеров, предоставленных в данном документе, или любой их комбинации 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 300, 350, 400, 450 или более генов, которые не относятся к биомаркерам, предоставленным в данном документе. В другом варианте осуществления набор осуществления набор нуклеиновых кислот для микроматричного анализа содержит реагенты и материалы, необходимые для измерения уровней экспрессии по меньшей мере 1, по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 15, по меньшей мере 20, по меньшей мере 25, по меньшей мере 30, по меньшей мере 35, по меньшей мере 40, по меньшей мере 45, по меньшей мере 50 или более биомаркеров, представленных в настоящем документе, или любой их комбинации, и 1-10, 1-100, 1-150, 1-200, 1-300, 1-400, 1-500, 1-1000, 25-100, 25-200, 25-300, 25-400, 25-500, 25-1000, 100-150, 100-200, 100-300, 100-400, 100-500, 100-1000 или 500-1000 генов, которые не являются биомаркерами, представленными в данном документе.

Наборы для количественной ПЦР обычно содержат предварительно выбранные праймеры, специфичные для конкретных последовательностей нуклеиновых кислот. Наборы для количественной ПЦР могут также включать ферменты, подходящие для амплификации нуклеиновых кислот (например, полимеразы, такие как полимеразы Taq), дезоксинуклеотиды и буферы, необходимые для реакции амплификации. Наборы для количественной ПЦР могут также включать зонды, специфичные для последовательностей нуклеиновых кислот, связанные с состоянием или указывающие на него. Зонды могут быть помечены флуорофором, а могут и не быть помечены. Зонды могут быть помечены молекулой-гасителем, а могут и не быть помечены. В некоторых вариантах осуществления наборы для количественной ПЦР также содержат компоненты, подходящие для обратной транскрипции РНК, включая ферменты (напри-

мер, обратные транскриптазы, такие как AMV, MMLV и т.п.) и праймеры для обратной транскрипции, а также дезоксинуклеотиды и буферы, необходимые для реакции обратной транскрипции. Каждый компонент набора для количественной ПЦР обычно находится в собственном подходящем контейнере. Таким образом, эти наборы обычно содержат отдельные контейнеры, подходящие для каждого отдельного реагента, фермента, праймера и зонда. Кроме того, наборы для количественной ПЦР могут содержать инструкции для проведения реакции и способы интерпретации и анализа данных, полученных в результате проведения реакции. В конкретном варианте осуществления наборы содержат инструкции для прогнозирования того, является ли пациент с множественной миеломой или подозрение на нее клинически чувствительным к соединению.

Наборы на основе антител набор могут включать, например: (1) первое антитело (которое может или не может быть прикреплено к твердой подложке), которое связывается с представляющим интерес пептидом, полипептидом или белком; и, необязательно, (2) второе, другое антитело, которое связывается либо с первым антителом, либо с пептидом, полипептидом или белком и конъюгировано с детектируемой меткой (например, флуоресцентной меткой, радиоактивным изотопом или ферментом). В конкретном варианте осуществления интересующий пептид, полипептид или белок связан с состоянием (например, заболеванием) или указывает на него. Наборы на основе антител могут также включать гранулы для проведения иммунопреципитации. Каждый компонент наборов на основе антител обычно находится в собственном подходящем контейнере. Таким образом, эти наборы обычно содержат отдельные контейнеры, подходящие для каждого антитела и реагента. Кроме того, наборы на основе антител могут содержать инструкции по выполнению анализа и способы интерпретации и анализа данных, полученных в результате выполнения анализа. В конкретном варианте осуществления наборы содержат инструкции для прогнозирования того, является ли гематологический рак у пациента клинически чувствительным к соединению.

В одном варианте осуществления набор, представленный в настоящем документе, включает соединение, представленное в настоящем документе, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изомер или фармацевтически приемлемую соль. Наборы могут дополнительно включать дополнительные активные агенты, включая раскрытые в данном документе, но не ограничиваясь ими.

Предлагаемые в данном документе наборы могут дополнительно включать устройства, которые используются для введения активных ингредиентов. Примеры таких устройств включают шприцы, капельницы, пластыри и ингаляторы, но не ограничиваются ими.

Наборы могут дополнительно включать клетки или кровь для трансплантации, а также фармацевтически приемлемые носители, которые можно использовать для введения одного или более активных ингредиентов. Например, если активный ингредиент предоставляется в твердой форме, которую необходимо восстановить для парентерального введения, набор может включать герметичный контейнер с подходящим носителем, в котором активный ингредиент может быть растворен с образованием стерильного раствора без частиц, который подходит для парентерального введения. Примеры фармацевтически приемлемых носителей включают воду для инъекций USP; водные носители (такие как физиологический раствор для инъекций, раствор Рингера для инъекций, раствор декстрозы для инъекций, физиологический раствор с декстрозой для инъекций, а также раствор лактата Рингера для инъекций, но не ограничиваясь ими); смешивающиеся с водой носители (такие как этиловый спирт, полиэтиленгликоль и пропиленгликоль, но не ограничиваясь ими); и неводные носители (такие как кукурузное масло, хлопковое масло, арахисовое масло, кунжутное масло, этилолеат, изопропилмиристат и бензилбензоат, но не ограничиваясь ими), но не ограничиваются ими.

В некоторых вариантах осуществления способов и наборов, представленных в настоящем документе, твердые подложки используются для очистки белков, мечения образцов или проведения твердофазных анализов. Примеры твердых фаз, подходящих для осуществления раскрытых в данном документе способов, включают гранулы, частицы, коллоиды, отдельные поверхности, пробирки, многолуночные планшеты, микротитрационные планшеты, предметные стекла, мембраны, гели и электроды. Когда твердая фаза представляет собой материал в виде частиц (например, гранул), в одном варианте осуществления она распределяется в лунках многолуночных планшетов, чтобы обеспечить возможность параллельной обработки твердых подложек.

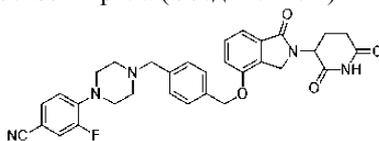
Следует отметить, что любая комбинация вышеперечисленных вариантов осуществления, например, в отношении одного или более реагентов, таких как праймеры нуклеиновой кислоты, твердая подложка и т.п., но не ограничиваясь ими, также рассматривается в отношении любого из различных способов и/или наборов, представленных в данном документе.

Некоторые варианты осуществления данного изобретения проиллюстрированы следующими неограничивающими примерами.

6. Примеры

Приведенные ниже примеры выполняются с использованием стандартных методик, которые хорошо известны и являются рутинными для специалистов в данной области, за исключением случаев, когда иное подробно описано. Примеры предназначены только для иллюстрации.

Пример 1. Синтез 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрила (Соединение 1)



2-Амино-5-метокси-5-оксопентановая кислота.

К суспензии 2-аминопентандиновой кислоты (250 г, 1,70 моль) в сухом метаноле (2,5 л) в атмосфере азота добавляли триметилсилилхлорид (277 г, 2,55 моль) в течение 30 мин. Полученный прозрачный раствор перемешивали при комнатной температуре (20°C) в течение 30 мин. ¹H ЯМР показала, что исходный материал израсходован полностью. Реакционную смесь использовали на следующей стадии без дополнительной обработки.

¹H ЯМР: 400 МГц CD₃OD δ: 4.17-4.15 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 2.70-2.60 (m, 2H), 2.33-2.25 (m, 2H).

2-((трет-Бутоксикарбонил)амино)-5-метокси-5-оксопентановая кислота.

К полученному раствору добавляли триэтиламин (275 г, 2,72 моль) и ди-трет-бутилдикарбонат (447,35 г, 2,05 моль). Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 2 ч. Раствор упаривали до суха, затем добавляли воду (2,5 л) для растворения остатка. Полученную водную фазу промывали этилацетатом (200 мл), затем подкисляли до pH=3 с помощью HCl (1 Н) и экстрагировали этилацетатом (1 л × 3). Органические слои промывали солевым раствором (800 мл), сушили над сульфатом натрия, фильтровали и упаривали с получением 2-(трет-бутоксикарбониламино)-5-метокси-5-оксопентановой кислоты (250 г, выход 56%, две стадии) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР: 400 МГц CD₃OD δ: 4.18-4.11 (m, 1H), 3.69 (s, 3H), 2.48-2.43 (m, 2H), 2.21-2.15 (m, 1H), 1.95-1.91 (m, 1H), 1.46 (s, 9H).

Метил 5-амино-4-(трет-бутоксикарбониламино)-5-оксопентаноат.

К раствору 2-(трет-бутоксикарбониламино)-5-метокси-5-оксопентановой кислоты (200 г, 765 ммоль) в 1,4-диоксане (1,5 л) добавляли ди-трет-бутил дикарбонат (267 г, 1,22 ммоль) и пиридин (121 г, 1,53 моль). После того, как реакцию смесь перемешивали при 25°C в течение 30 мин, к смеси добавляли карбонат аммония (182 г, 2,30 моль) и перемешивали в течение еще 16 ч при 25°C. Органический растворитель удаляли на роторном испарителе, остаток подкисляли HCl (6 М) до pH=3, а затем экстрагировали этилацетатом (800 мл × 3). Объединенную органическую фазу промывали солевым раствором (800 мл), сушили над сульфатом натрия и фильтровали. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении с получением метил 5-амино-4-(трет-бутоксикарбониламино)-5-оксопентаноата (180 г, выход 90%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР: 400 МГц CDCl₃ δ: 6.51 (s, 1H), 5.94 (s, 1H), 5.43 (s, 1H), 4.21 (s, 1H), 3.63 (s, 3H), 2.59-2.40 (m, 2H), 2.15-2.11 (m, 1H), 1.94-1.90 (m, 1H), 1.42 (s, 9H).

Метил 4,5-диамино-5-оксопентаноат гидрохлорид.

Смесь метил 5-амино-4-(трет-бутоксикарбониламино)-5-оксопентаноата (180 г, 692 ммоль) и HCl/этилацетат (300 мл, 4 М) перемешивали при 25°C в течение 12 ч. Осажденное твердое вещество собирали вакуумной фильтрацией и промывали этилацетатом (500 мл) с получением гидрохлорида метил-4,5-диамино-5-оксопентаноата (130 г, выход 95%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР: 400 МГц CD₃OD δ: 4,00-3,96 (m, 1H), 3,70 (c, 3H), 2,59-2,52 (m, 2H), 2,22-2,13 (m, 2H).

Метил 3-гидрокси-2-метилбензоат.

Четыре загрузки (200 г каждая) проводили параллельно. К раствору 3-гидрокси-2-метилбензойной кислоты (200 г, 1,31 моль) в метаноле (4,0 л) добавляли концентрированную серную кислоту (47,7 г, 486 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 60°C в течение 17 ч. Реакционную смесь упаривали до 800 мл. Полученную смесь охлаждали до 20°C и медленно выливали в воду (400 мл) в течение 30 мин. Добавляли воду (1200 мл) при 20°C в течение 3 ч и полученную смесь перемешивали при 20°C в течение 1 ч. Осажденное твердое вещество собирали вакуумной фильтрацией (четыре партии объединены) и трижды промывали водой/метанолом (1000 мл, 9:1) до pH > 3. Твердое вещество сушили в вакууме при 45°C с получением метил-3-гидрокси-2-метилбензоата (700 г, выход 80,4%) в виде серого твердого вещества.

Метил-3-[трет-бутил(диметил)силил]окси-2-метилбензоат.

Две загрузки (240 г каждая) проводили параллельно. К раствору метил 3-гидрокси-2-метилбензоата (240 г, 1,44 моль) в N,N-диметилформамиде (1,40 л) добавляли имидазол (246 г, 3,61 моль) и трет-бутилдиметилсилилхлорид (238 г, 1,58 моль) при 5°C. После добавления смесь нагревали до 20°C и перемешивали в течение 6 ч. Добавляли изопропилацетат (1700 мл), а затем медленно добавляли воду (2000 мл) в то время как температуру поддерживали ниже 30°C. Полученную смесь перемешивали, и органическую фазу отделяли. Объединенную органическую фазу (объединенные две загрузки) промывали водой (1700 мл × 3) и упаривали до ~1500 мл (KF < 0,05%). Продукт хранили в виде раствора в изопропилацетате, который использовали для следующей стадии без дополнительной очистки.

Метил 2-(бромметил)-3-[трет-бутил(диметил)силил]оксибензоат.

Две загрузки (~ 375 г каждая) проводили параллельно. К раствору метил 3-[трет-бутил(диметил)силил]окси-2-метилбензоата (~375 г, 1,34 моль) в изопропилацетате добавляли N-бромсукцинимид (274 г, 1,54 моль) и азобисизобутиронитрил (4,40 г, 26,8 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 70°C в течение по меньшей мере 1 ч и перемешивали при 70°C в течение 4 ч. Реакционную смесь охлаждали до 20°C и выдерживали при 20°C в течение по меньшей мере 1 ч. Две загрузки твердого вещества (сукцинимид) удаляли фильтрованием и промывали изопропилацетатом (700 мл). Фильтрат промывали насыщенным раствором сульфита натрия (700 г) в воде (6000 мл), затем водой (1500 мл). Органический слой перегоняли под вакуумом при 45°C досуха с получением метил 2-(бромметил)-3-[трет-бутил(диметил)силил]оксибензоата (920 г, выход 95,5%) в виде темно-оранжевого масла.

¹H ЯМР: 400 MHz DMSO-d₆ δ: 7.45 (d, J=6.8 Hz, 1H), 7.36 (t, J=8.0 Hz, 1H), 7.13 (t, J=7.2 Hz, 1H), 4.95 (s, 2H), 1.02 (s, 9H), 0.29 (s, 6H).

Метил 5-амино-4-[4-[трет-бутил(диметил)силил]окси-1-оксоизоиндолин-2-ил]-5-оксопентаноат.

К перемешиваемому раствору метил 4,5-диамино-5-оксопентаноат гидрохлорида (74,5 г, 379 ммоль) в ацетонитриле (2,50 л) добавляли метил 2-(бромметил)-3-[трет-бутил(диметил)силил]оксибензоат (125 г, 348 ммоль). К суспензии добавляли диизопропилэтиламин (89,9 г, 696 ммоль) через капельную воронку в течение 10 мин и затем смесь перемешивали при 60°C в течение 16 ч. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (1,0 л), последовательно промывали HCl (1H, 1,0 л), гидроксидом натрия (нас, 1,0 л) и соевым раствором (1,0 л). Органический слой упаривали с получением неочищенного метил 5-амино-4-[4-[трет-бутил(диметил)силил]окси-1-оксоизоиндолин-2-ил]-5-оксопентаноата (108 г, неочищенный продукт) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: m/z 407,3 [M+1]⁺.

Метил 5-амино-4-(4-гидрокси-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат

К перемешиваемому холодному раствору метил 5-амино-4-[4-[трет-бутил(диметил)силил]окси-1-оксоизоиндолин-2-ил]-5-оксопентаноата (108 г, 266 ммоль) в N,N-диметилформамиде (350 мл) порциями добавляли карбонат калия (14,7 г, 106 ммоль) в воде (40 мл) в течение 5 мин. Полученную реакцию смесь перемешивали при 15°C в течение 15 ч. Реакционную смесь охлаждали на ледяной бане и медленно добавляли HCl (12 M, 15 мл) при 0-5°C. К смеси добавляли ацетонитрил (200 мл) и образовывался твердый осадок. Суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин и фильтровали. Осадок на фильтре промывали этилацетатом (200 мл × 5) с получением продукта (55 г). Фильтрат упаривали под высоким вакуумом с получением неочищенного продукта (100 г) который растворяли в дихлорметане (1,0 л) и оставляли стоять при 15°C в течение 16 ч. Образовывалось белое твердое вещество, которое фильтровали с получением 5 г продукта. Твердые вещества объединяли с получением метил 5-амино-4-(4-гидрокси-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (60 г, выход 77%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР: 400 MHz DMSO-d₆ δ: 7.58 (s, 1H), 7.31 (t, J=8.0 Hz, 1H), 7.19-7.14 (m, 2H), 7.01 (d, J=7.6 Hz, 1H), 4.75-4.71 (m, 1H), 4.50 (d, J=17.6 Hz, 1H), 4.32 (d, J=17.6 Hz, 1H), 3.51 (s, 3H), 2.29-2.18 (m, 3H), 2.09-1.99 (m, 1H).

Метил 5-амино-4-[4-[[4-(бромметил)фенил]метокси]-1-оксоизоиндолин-2-ил]-5-оксопентаноат

Две реакции (25 г, 85,5 ммоль) проводили параллельно. Смесь 1,4-бис(бромметил)бензола (67,7 г, 257 ммоль), карбоната калия (11,8 г, 85,5 ммоль) и метил 5-амино-4-(4-гидрокси-1-оксо-изоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (25 г, 85,5 ммоль) в ацетонитриле (1 л) перемешивали при 60°C в течение 16 ч. Две загрузки объединяли и смесь охлаждали до 15°C и фильтровали. Фильтрат концентрировали и очищали колоночной хроматографией на силикагеле (элюировали 50% петролейным эфиром в этилацетате до 100% этилацетата) с получением метил 5-амино-4-[4-[[4-(бромметил)фенил]метокси]-1-оксоизоиндолин-2-ил]-5-оксопентаноата (52 г, выход 63%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР: 400 MHz DMSO-d₆ δ: 7.59 (s, 1H), 7.50-7.44 (m, 5H), 7.32-7.28 (m, 2H), 7.19 (s, 1H), 5.26 (s, 2H), 4.79-4.71 (m, 3H), 4.55 (d, J=17.6 Hz, 1H), 4.43 (d, J=17.6 Hz, 1H), 3.52 (s, 3H), 2.30-2.19 (m, 3H), 2.10-2.08 (m, 1H).

3-[4-[[4-(Бромметил)фенил]метокси]-1-оксоизоиндолин-2-ил]пиперидин-2,6-дион

Две реакции (28,5 г, 60,0 ммоль) проводили параллельно. Метил 5-амино-4-[4-[[4-(бромметил)фенил]метокси]-1-оксоизоиндолин-2-ил]-5-оксопентаноат (28,5 г, 60,0 ммоль) растворяли в тетрагидрофуране (720 мл) и раствор охлаждали баней с сухим льдом/ацетоном до -70°C. При перемешивании к прозрачному раствору одной порцией добавляли третбутоксид калия (7,4 г, 66,0 ммоль). Реакционная смесь приобрела бледно-желтый цвет и перемешивание продолжали в течение еще 2 ч при 70°C. Охлажденный раствор HCl (1H, 260 мл) быстро добавляли в реакцию смесь, поддерживая температуру на уровне -70°C. Смесь сразу же стала молочно-белой, и баню сухой лед/ацетон удаляли. Смесь упаривали для удаления большей части тетрагидрофурана. После упаривания реакционной смеси осаждалось белое твердое вещество. Белую суспензию разбавляли водой (500 мл) и затем фильтровали. Осадок на фильтре промывали водой (500 мл) и сушили в вакуумной печи при 40°C в течение 12 ч, затем промывали этилацетатом (500 мл). Загрузки объединяли с получением 3-[4-[[4-(бромметил)фенил]метокси]-1-

оксоизоиндолин-2-ил]пиперидин-2,6-диона (49,85 г, 93%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

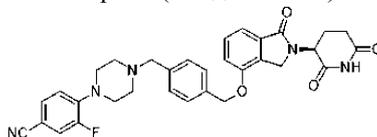
^1H ЯМР: 400 MHz DMSO- d_6 δ : 10.95 (s, 1H), 7.51-7.41 (m, 5H), 7.35-7.28 (m, 2H), 5.23 (s, 2H), 5.12-5.07 (m, 1H), 4.70 (s, 2H), 4.41 (d, $J=17.6$ Hz, 1H), 4.25 (d, $J=17.6$ Hz, 1H), 2.90-2.84 (m, 1H), 2.58-2.53 (m, 1H), 2.44-2.41 (m, 1H), 1.98-1.95 (m, 1H).

4-(4-(4-(((2-(2,6-Диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил.

3-(4-((4-(Бромметил)бензил)окси)-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (5,0 г, 11,28 ммоль) добавляли в колбу с 3-фтор-4-(пиперазин-1-ил)бензонитрилом (2,315 г, 11,28 ммоль), диизопропил-этиламино (5,91 мл, 33,8 ммоль) и ацетонитрилом (100 мл). Реакционную смесь перемешивали при 40°C в течение 18 ч. Летучие органические вещества удаляли при пониженном давлении и очищали стандартными методами с получением 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрила.

^1H ЯМР (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10.97 (s, 1H), 7.68 (dd, $J=1.96, 13.45$ Hz, 1H), 7.56 (dd, $J=1.77, 8.38$ Hz, 1H), 7.43-7.52 (m, 3H), 7.30-7.38 (m, 4H), 7.11 (t, $J=8.80$ Hz, 1H), 5.24 (s, 2H), 5.11 (dd, $J=5.14, 13.33$ Hz, 1H), 4.37-4.46 (m, 1H), 4.22-4.30 (m, 1H), 3.54 (s, 2H), 3.12-3.23 (m, 4H), 2.84-2.98 (m, 1H), 2.52-2.62 (m, 5H), 2.36-2.48 (m, 1H), 1.92-2.04 (m, 1H).- MS (ESI) m/z 568,2 $[\text{M}+1]^+$. Анал. расчет для $\text{C}_{32}\text{H}_{30}\text{FN}_5\text{O}_4$: C, 67,71; H, 5,33; N, 12,34. Наблюдаемое: C, 67,50; H, 5,44; N 12,34.

Пример 2. Синтез (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрила (Соединение 2)



трет-Бутил (4S)-5-амино-4-(бензилоксикарбониламино)-5-оксо-пентаноат. К раствору (2S)-2-(бензилоксикарбониламино)-5-трет-бутокси-5-оксопентановой кислоты (150 г, 445 ммоль) в 1,4-диоксане (1,50 л) добавляли ди-трет-бутил дикарбонат (155 г, 711 ммоль), пиридин (70,3 г, 889 ммоль) и аммоний гидрокарбонат (105 г, 1,33 моль). Реакционную смесь перемешивали при 18°C в течение 16 часов и затем упаривали. Остаток растворяли в этилацетате (5,0 л) и воде (5,0 л), органический слой отделяли и промывали HCl (3,0 мл, 1 H), насыщенным раствором гидрокарбоната натрия (3,0 л), соевым раствором (3,0 л), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и упаривали с получением неочищенного трет-бутил (4S)-5-амино-4-(бензилоксикарбониламино)-5-оксопентаноата (450 г, неочищенный) в виде белого твердого вещества, которое использовали в следующей стадии без дополнительной очистки.

^1H ЯМР 400 MHz DMSO- d_6 δ : 7.35-7.30 (m, 5H), 7.02 (s, 1H), 5.01 (d, $J=3.2$ Hz, 1H), 3.93-3.90 (m, 1H), 2.20 (t, $J=8.0$ Hz, 2H), 1.88-1.84 (m, 1H), 1.72-1.69 (m, 1H), 1.35 (s, 9H).

трет-Бутил (4S)-4,5-диамино-5-оксопентаноат.

К раствору трет-бутил (4S)-5-амино-4-(бензилоксикарбониламино)-5-оксопентаноата (112 г, 333 ммоль) в метаноле (1,0 л) добавляли 10% палладий на угле (15 г) в атмосфере азота. Суспензию дегазировали под вакуумом и продували водородом несколько раз. Смесь перемешивали под атмосферой водорода (40 фунт/кв. дюйм) при 30°C в течение 16 ч. Реакционную смесь фильтровали и фильтрат упаривали с получением неочищенного трет-бутил (4S)-4,5-диамино-5-оксопентаноата в виде бесцветного масла.

^1H ЯМР 400 MHz DMSO- d_6 δ : 7.30 (s, 1H), 6.95 (s, 1H), 3.10-3.07 (m, 1H), 2.27-2.23 (m, 2H), 1.69-1.78 (m, 1H), 1.59-1.55 (m, 1H), 1.38 (s, 9H).

Метил 3-гидрокси-2-метил-бензоат.

Четыре загрузки (200 г каждая) проводили параллельно. К раствору 3-гидрокси-2-метилбензойной кислоты (200 г, 1,31 моль) в метаноле (4,0 л) добавляли концентрированную серную кислоту (47,7 г, 486 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 60°C в течение 17 ч. Реакционную смесь упаривали до 800 мл. Полученную смесь охлаждали до 20°C и медленно выливали в воду (400 мл) в течение 30 мин. Добавляли воду (1200 мл) при 20°C в течение 3 ч и полученную смесь перемешивали при 20°C в течение 1 ч. Осажденное твердое вещество собирали вакуумной фильтрацией (четыре партии объединены) и трижды промывали водой/метанолом (1000 мл, 9:1) до pH > 3. Твердое вещество сушили в вакууме при 45°C с получением метил-3-гидрокси-2-метилбензоата (700 г, выход 80,4%) в виде серого твердого вещества.

^1H ЯМР: 400 MHz DMSO- d_6 δ : 9.70 (s, 1H), 7.18 (t, $J=6.8$ Hz, 1H), 7.09 (t, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.00 (t, $J=6.8$ Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 2.29 (s, 3H).

Метил-3-[трет-бутил(диметил)силил]окси-2-метилбензоат.

Две загрузки (240 г каждая) проводили параллельно. К раствору метил 3-гидрокси-2-метилбензоата (240 г, 1,44 моль) в N,N-диметилформамиде (1,40 л) добавляли имидазол (246 г, 3,61 моль) и трет-бутилдиметилсилилхлорид (238 г, 1,58 моль) при 5°C. После добавления, смесь нагревали до 20°C и перемешивали в течение 6 ч. Добавляли изопропилацетат (1700 мл), а затем медленно добавляли воду (2000 мл) в то время как температуру поддерживали ниже 30°C. Полученную смесь перемешивали с последующим отделением органической фазы. Объединенные органические фазы (объединенные две за-

грузки) промывали водой (1700 мл × 3) и упаривали до ~1500 мл (KF < 0,05%). Продукт хранили в виде раствора в изопропилацетате, который использовали для следующей стадии без дополнительной очистки.

Метил 2-(бромметил)-3-[трет-бутил(диметил)силил]окси-бензоат. Две загрузки (~ 375 г каждая) проводили параллельно. К раствору метил 3-[трет-бутил(диметил)силил]окси-2-метилбензоата (~ 375 г, 1,34 моль) в изопропилацетате добавляли N-бромсукцинимид (274 г, 1,54 моль) и азобисизобутиронитрил (4,40 г, 26,8 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 70°C в течение по меньшей мере 1 ч и перемешивали при 70°C в течение 4 ч. Реакционную смесь охлаждали до 20°C и выдерживали при 20°C в течение по меньшей мере 1 ч. Две загрузки твердого вещества (сукцинимида) удаляли фильтрованием и промывали изопропилацетатом (700 мл). Фильтрат промывали насыщенным раствором сульфита натрия (700 г) в воде (6000 мл), затем водой (1500 мл). Органический слой перегоняли под вакуумом при 45°C досуха с получением метил 2-(бромметил)-3-[трет-бутил(диметил)силил]оксибензоата (920 г, выход 95,5%) в виде темно-оранжевого масла.

¹H ЯМР: 400 MHz DMSO-d₆ δ: 7.45 (d, J=6.8 Hz, 1H), 7.36 (t, J=8.0 Hz, 1H), 7.13 (t, J=7.2 Hz, 1H), 4.95 (s, 2H), 1.02 (s, 9H), 0.29 (s, 6H).

трет-Бутил (4S)-5-амино-4-[4-[трет-бутил(диметил)силил]окси-1-оксоизоиндолин-2-ил]-5-оксопентаноат. К раствору трет-бутил (4S)-4,5-диамино-5-оксопентаноата (130 г, 643 ммоль) в ацетонитриле (4,0 л) добавляли метил 2-(бромметил)-3-[трет-бутил(диметил)силил]оксибензоат (210 г, 584 ммоль) и диизопрпилаэтиламин (113 г, 877 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 50°C в течение 16 ч. Реакционную смесь упаривали для удаления большей части ацетонитрила, остаток растворяли в метил-трет-бутиловом эфире (2,0 л) и воде (1,5 л), органический слой промывали насыщенным раствором дигидрофосфата калия (1,0 л × 2), солевым раствором (1,0 л), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и упаривали с получением неочищенного трет-бутил (4S)-5-амино-4-[4-[трет-бутил(диметил)силил]окси-1-оксоизоиндолин-2-ил]-5-оксопентаноата (524 г), который использовали в следующей стадии без дополнительной очистки.

трет-Бутил (4S)-5-амино-4-(4-гидрокси-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат. К раствору трет-бутил (4S)-5-амино-4-[4-[трет-бутил(диметил)силил]окси-1-оксоизоиндолин-2-ил]-5-оксопентаноата (275 г, 613 ммоль) в метаноле (2,0 л) добавляли тетрабутиламмоний фторид тригидрат (38,7 г, 123 ммоль). Смесь перемешивали при 18°C в течение 16 ч. Реакционную смесь упаривали для удаления большей части метанола, остаток растворяли в дихлорметане/воде (3 л/2 л), органический слой промывали солевым раствором (1,0 л), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и упаривали с получением неочищенного продукта который очищали на колонке с силикагелем с получением продукта (260 г). Продукт добавляли в ацетонитрил (750 мл) и смесь перемешивали при 60°C в течение 2 ч, охлаждали до 18°C и перемешивали в течение еще 2 ч. Твердое вещество фильтровали и осадок сушили с получением трет-бутил (4S)-5-амино-4-(4-гидрокси-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (248 г, выход 60,5%) в виде серого твердого вещества.

¹H ЯМР 400 MHz DMSO-d₆ δ: 10.00 (s, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.29 (t, J=7.6 Hz, 1H), 7.14 (d, J=4.8 Hz, 2H), 4.72-4.68 (m, 1H), 4.49-4.28 (m, 2H), 2.17-1.97 (m, 4H), 1.31 (s, 9H).

4-(4-(4-(хлорметил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил.

1,4-бис(Хлорметил)бензол (51,2 г, 292 ммоль) помещали в колбу с ацетонитрилом (195 мл) и N,N-диметилформамидом (195 мл). Реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды до полного растворения твердых веществ. Затем добавляли диизопрпиламин (51,1 мл, 292 ммоль) вместе с 3-фтор-4-(пиперазин-1-ил)бензонитрилом (20 г, 97 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 60°C в течение 1 ч. Ацетонитрил удаляли при пониженном давлении. Оставшуюся смесь отмывали с помощью этилацетата (1,0 л), воды (700 мл) и солевого раствора (300 мл). Органический слой отделяли и водный слой дважды экстрагировали этилацетатом. Летучие органические вещества удаляли при пониженном давлении. Твердое вещество растворяли в минимальном количестве дихлорметана и очищали на колонке с силикагелем (0-100% этилацетата в гексане в течение 3 л). Фракции, содержащие желаемый продукт, объединяли и летучие органические вещества удаляли при пониженном давлении. Остаток растворяли в минимальном количестве дихлорметана и очищали второй раз на колонке с силикагелем (изократический 10% этилацетат в гексане в течение 800 мл, затем 20-80% этилацетата в гексане в течение 4 л). Фракции, содержащие желаемый продукт, объединяли и летучие органические вещества удаляли при пониженном давлении с получением 4-(4-(4-(хлорметил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрила (22,7 г, 66,0 ммоль, выход 67,7%) в виде сероватого твердого вещества.

¹H ЯМР (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.33-7.39 (m, 5H) 7.29 (d, J=1.96 Hz, 1H) 7.25 (d, J=1.96 Hz, 1H) 6.91 (t, J=8.56 Hz, 1H) 4.60 (s, 2H) 3.58 (s, 2H) 3.19-3.27 (m, 4H) 2.58-2.66 (m, 4H). MS (ESI) m/z 344,2 [M+1]⁺.

(S)-трет-Бутил 5-амино-4-(4-((4-(4-циано-2-фторфенил)пиперазин-1-ил)метил)бензил)окси-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат.

(S)-трет-Бутил 5-амино-4-(4-гидрокси-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат (22,05 г, 65,9 ммоль) добавляли в колбу с 4-(4-(4-(хлорметил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрилом (22,67 г, 65,9 ммоль), карбонатом калия (18,23 г, 132 ммоль) и N,N-диметилформамидом (330 мл). Реакционную

смесь нагревали при 45°C в течение 16 ч. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (50 мл), фильтровали. Фильтрат отмывали с помощью этилацетата (900 мл), воды (600 мл) и солевого раствора (200 мл). Органический слой отделяли и разделяли водой (600 мл). Органический слой отделяли, и все органические слои объединяли, сушили над сульфатом натрия и летучие вещества удаляли при пониженном давлении. Остаток обрабатывали 20% этилацетатом в гексане, и летучие вещества удаляли при пониженном давлении с получением (S)-трет-бутил 5-амино-4-(4-((4-(4-циано-2-фторфенил)пиперазин-1-ил)метил)бензил)окси)-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (44,02 г, 68,6 ммоль, выход 104%) в виде сероватого твердого вещества. Выход был немного выше количественного, поскольку оставалось некоторое количество N,N-диметилформамида.

¹H ЯМР (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.43-7.49 (m, 2 H) 7.40 (s, 4H) 7.36 (dd, J=8.38, 1.28 Hz, 1H) 7.29 (d, J=1.96 Hz, 1H) 7.26 (d, J=1.83 Hz, 1H) 7.11 (dd, J=7.64, 1.16 Hz, 1H) 6.92 (t, J=8.50 Hz, 1H) 6.23 (br s, 1H) 5.24-5.32 (m, 1H) 5.15 (s, 2H) 4.86-4.94 (m, 1H) 4.38-4.55 (m, 2H) 3.61 (s, 2H) 3.18-3.32 (m, 4H) 2.58-2.70 (m, 4H) 2.09-2.47 (m, 4H) 1.43 (s, 8 H). MS (ESI) m/z 642,4 [M+1]⁺.

(S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-Диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил.

(S)-трет-Бутил 5-амино-4-(4-((4-(4-циано-2-фторфенил)пиперазин-1-ил)метил)бензил)окси)-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат (12,1 г, 18,86 ммоль) добавляли во флакон с ацетонитрилом (189 мл) и бензолсульфоновой кислотой (3,96 г, 24,51 ммоль). Реакционную смесь помещали под вакуум и продували азотом. Данную процедуру повторяли еще раз и полученную смесь затем нагревали до 85°C в течение ночи в атмосфере азота. Реакционную смесь выливали теплой непосредственно в 2 делительных воронки, содержащих дихлорметан (1000 мл) и этилацетат (300 мл). К данной смеси добавляли насыщенный раствор гидрокарбоната натрия (900 мл), воду (100 мл) и солевой раствор (450 мл). Органический слой отделяли и водный слой экстрагировали дихлорметаном (800 мл) и этилацетатом (200 мл). Объединенные органические слои сушили над безводным сульфатом магния и упаривали. Очищали с помощью стандартных методов с получением указанного соединения.

¹H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 10.96 (s, 1H) 7.68 (dd, J=13.45, 1.83 Hz, 1H) 7.56 (dd, J=8.44, 1.83 Hz, 1H) 7.43-7.52 (m, 3 H) 7.29-7.39 (m, 4H) 7.11 (t, J=8.80 Hz, 1H) 5.24 (s, 2H) 5.11 (dd, J=13.20, 5.14 Hz, 1H) 4.22-4.46 (m, 2H) 3.54 (s, 2H) 3.12-3.22 (m, 4H) 2.85-2.97 (m, 1H) 2.53-2.62 (m, 2H) 2.38-2.48 (m, 2H) 1.93-2.03 (m, 1H). MS (ESI) m/z 568,2 [M+1]⁺.

Пример 3. Соединение 1, Соединение 2 и Соединение 3 обладают сильной антипролиферативной активностью в клетках множественной миеломы

Относительную эффективность Соединения 2 и Соединения 3 в отношении ускорения разрушения белка Aiolos CRL4^{CRBN} E3 убиквитин-лигазой исследовали на клетках миеломы DF15 в различные моменты времени (45 мин, 90 мин и 3 ч). Клетки DF15, экспрессирующие Aiolos с меткой Enhanced Pro-Label (ePL), инкубировали с Соединением 2 или Соединением 3 в течение 45 мин, 90 мин или 3 ч. Затем получали экстракты клеток и определяли количество белка Aiolos ePL с помощью люминесцентного анализа ePL. Значения, показанные в табл. 1, соответствуют данным содержания Aiolos в зависимости от концентрации, представленным на фиг. 1. Результаты показали, что зависящая от времени и зависящая от концентрации потеря Aiolos была вызвана обоими энантиомерами (фиг. 1).

Таблица 1. Соединения 2 и 3 способствовали разрушению Aiolos

Соединение	Разрушение Aiolos		
	IC ₅₀ (мкМ)		
	45 минут	90 минут	3 часа
Соединение 2	> 0,1 (27% ингибирование при 0,001 мкМ)	0.00036	0.000031
Соединение 3	> 0,1 (13% ингибирование при 0,001 мкМ)	0.0059	0.00045

В совокупности эксперименты показали, что Соединения 2 и Соединение 3 разрушают Aiolos в зависимости от времени и концентрации. Данные также демонстрируют, что разрушение Aiolos является эффективным биомаркером для мониторинга эффективности этих соединений.

Пример 4. Апоптоз, индуцированный Соединением 2, и подавление факторов, необходимых для выживания опухоли, и синергетический с дексаметазоном

Чтобы определить, действует ли Соединение 2 синергично с дексаметазоном, исследовали влияние добавления дексаметазона на потерю известных субстратов убиквитин-лигазы CRL4^{CRBN} E3, Aiolos, Ikaros и ZFP91, с использованием чувствительных к помалидомиду (OPM2) или резистентных (OPM2-P1) клеток миеломы. Дексаметазон сам по себе или в комбинации с Соединением 2 приводил к разрушению Aiolos и Ikaros в клетках OPM2 и OPM2-P1 после 72 часов лечения (фиг. 2). Важно отметить, что большая потеря нижестоящих эффекторных белков (с-Мус и IRF4) наблюдалась при добавлении 10 или 100 нМ дексаметазона к Соединению 2 (фиг. 2). Кроме того, повышенная индукция апоптотических маркеров (Bcl-2-взаимодействующий медиатор [BIM], расщепленная каспаза-3, расщепленная каспаза-7 и

расщепленная поли [аденозиндифосфат рибоза] полимеразы [PARP]) наблюдалась через 72 ч, как измерено с помощью Вестерн-блоттинга (фиг. 3).

Точно так же пятидневная инкубация миеломных клеток OPM2 с одним Соединением 2 значительно снизила уровень экспрессии Aiolos и Ikaros, а также ZFP91 (фиг. 4). За разрушением Ikaros и Aiolos следовало снижение уровней двух дополнительных и очень важных факторов транскрипции, с-Мус и IRF4 (фиг. 4). Потеря или снижение этих факторов было связано с повышением уровня ингибитора циклин-зависимой киназы p21 и индукцией апоптоза, как измерено с помощью расщепленной каспазы-3 (фиг. 4). Результаты показывают, что Соединение 2 проявляет свою противоопухолевую активность за счет устранения экспрессии ключевых факторов выживания множественной миеломы, включая IRF4 и с-Мус.

Взятые вместе эти результаты показывают, что Aiolos, Ikaros, ZFP91, с-Мус и IRF4, а также апоптотические маркеры, такие как Bcl-2-взаимодействующий медиатор (BIM), расщепленная каспаза-3, расщепленная каспаза-7 и расщепленная поли (аденозиндифосфат рибоза) полимеразы (PARP) и p21 могут служить биомаркерами для мониторинга эффективности лечения Соединением 2.

Пример 5. Разрушение цереблona и Ikaros необходимо для антипролиферативной активности Соединения 2

Чтобы определить, может ли цереблон служить биомаркером для прогнозирования ответа на Соединение 2, клеточную линию миеломы DF15R лечили Соединением 2. Клеточная линия DF15R представляет собой линию клеток множественной миеломы, у которой развилась устойчивость к леналидому и помалидому путем непрерывного введения помалидомида (до 100 мкМ) и которая не имеет определяемых уровней белка CRBN. Лечение этой клеточной линии Соединением 2 не выявило какого-либо разрушения Ikaros или Aiolos (фиг. 5A). Повторное введение белка CRBN в клетки DF15R реактивировало индуцированное Соединением 2 разрушение Ikaros и Aiolos (фиг. 5A). Эти результаты показывают, что CRBN важен в опосредовании ответа на Соединение 2. Таким образом, уровни CRBN могут служить биомаркером для оценки потенциального ответа на Соединение 2.

Было показано, что Соединение 2 подавляет Ikaros, Aiolos и ZFP91 (фиг. 4) и было обнаружено, что CRBN необходим для разрушения Ikaros и Aiolos (фиг. 5A). Чтобы определить, является ли разрушение Ikaros, Aiolos или ZFP91 ответственным за влияние на с-Мус, IRF4 и p21 или на апоптоз, индуцированный Соединением 2, были созданы стабилизированные мутанты всех трех белков и сверхэкспрессированы по одному в клетках OPM2 (фиг. 5B).

Успешная сверхэкспрессия стабилизированных мутантов Ikaros, Ikaros-Q146H или Ikaros-G151A предотвращала разрушение Ikaros и аннулировала эффекты, индуцированные Соединением 2, на с-Мус, IRF4, p21 и расщепленную каспазу-3 (фиг. 5B). Однако стабилизирующая мутация в ZFP91 (Q400H) не смогла аннулировать влияние Соединения 2, несмотря на то, что мутация была способна эффективно защищать белок от разрушения в присутствии Соединения 2 (фиг. 5B).

Также измеряли влияние стабилизирующих мутаций на пролиферацию клеток. В соответствии с влиянием на нижестоящие белки сверхэкспрессия стабилизированных мутантов Ikaros, Ikaros-Q146H или Ikaros-G151A отменяла антипролиферативные эффекты Соединения 2 (табл. 2). В частности, концентрация, при которой пролиферация клеток подавлялась на 50% после лечения Соединением 2, увеличивалась более чем в 200 раз (> 100 нМ) в клетках, сверхэкспрессирующих стабилизированные мутанты Ikaros, по сравнению с родительскими клетками (0,488 нМ) (табл. 2). Не наблюдалось явного последующего эффекта стабилизации ZFP91 или снижения чувствительности к антипролиферативной активности Соединения 2 (фиг. 5B и табл. 2). Потенциальный вклад разрушения Aiolos в ингибирование роста клеток MM Соединением 2 не мог быть подтвержден в клетках, сверхэкспрессирующих мутант Aiolos, из-за менее эффективной стабилизации Aiolos к разрушению по сравнению с Ikaros в этом конкретном анализе.

Взятые вместе эти результаты дополнительно демонстрируют, что разрушение Ikaros необходимо для активности Соединения 2, и указывают на то, что Ikaros является важным биомаркером активности Соединения 2.

Таблица 2. Ингибирование пролиферации клеток OPM2

Соединение	Ингибирование пролиферации клеток OPM2 IC ₅₀ (нМ)						
	Родительские	Ikaros	Ikaros-Q146H	Ikaros-G151A	Aiolos	Aiolos-Q147H	ZFP91-Q400H
Соединение 2	0.08	0.13	> 100	> 100	0.08	0.06	0.08
Помалидомид	64	91	> 100	> 100	89	56	73
Леналидомид	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100

Пример 6. Вызванное Соединением 2 разрушение Ikaros и Aiolos, коррелированное с остановкой клеточного цикла G1 и апоптозом в клетках множественной миеломы

Для оценки функционального ответа клеток множественной миеломы на лечение Соединением 2 линию клеток миеломы H929-1051, устойчивую к леналидомиду, лечили Соединением 2 в течение 4 ч (фиг. 6А) или 72 ч (фиг. 6В). Инкубация с такими низкими концентрациями, как 1 нМ Соединения 2, способствовала устойчивому разрушению Ikaros и Aiolos в течение 4 ч (фиг. 6А).

В соответствии с этим после 72 ч лечения Соединением 2 наблюдалось заметное снижение фосфорилирования pRB1 и увеличение уровней ингибитора CDK p27 в клетках H929-1051 (фиг. 6В). Эти события сопровождалось снижением уровня сурвивина, резким увеличением уровня проапоптотической экстра-длинной изоформы белка Bim (BimEL) и расщеплением каспазы-1, каспазы-7, каспазы-3 и PARP (фиг. 6В). Результаты показывают, что противоопухолевая активность Соединения 2 в клетках, устойчивых к леналидомиду и/или помалидомиду, обусловлена разрушением Ikaros и Aiolos, что приводит к остановке клеточного цикла и апоптозу. Кроме того, почти полное и устойчивое разрушение Aiolos и Ikaros продемонстрировала эффективность Соединения 2 in vitro даже в отношении клеток, устойчивых к лечению леналидомидом и помалидомидом (фиг. 10). Эти результаты демонстрируют, что Соединение 2 вызывает остановку клеточного цикла и апоптоз, а также обнаружение Ikaros, Aiolos, IRF4, c-Мyc, p27, фосфо-Rb, BimEL, расщепленной каспазы-1, -каспазы-7, -каспазы-3 и -PARP могут служить биомаркерами для лечения Соединением 2.

Пример 7. Вызванное Соединением 2 разрушение Aiolos и Ikaros и усиление апоптоза в клеточных линиях миеломы

Эффекты непрерывного воздействия Соединения 2 на разрушение и повторную экспрессию Aiolos и Ikaros, а также индукцию апоптоза измеряли в клеточных линиях множественной миеломы H929-1051 и OPM2-P10, которые устойчивы к леналидомиду и помалидомиду, соответственно. Клеточные линии лечили однократным непрерывным воздействием Соединения 2 без отмывания, а уровни Aiolos и Ikaros измеряли с помощью проточной цитометрии. После лечения было более 70% разрушения Aiolos и Ikaros в течение 3-6 ч, в зависимости от клеточной линии (фиг. 7А и 7В). Истощение субстратов сохранялось до 70 ч в клетках H929-1051 или до 100 ч в клетках OPM2-P10 (фиг. 7А и 7В). Увеличение концентрации в 10 раз до 0,1 мкМ практически не приводило к дополнительному разрушению (фиг. 7А и 7В).

В клетках H929-1051 разрушение Aiolos длилось от 75 до 100 ч, тогда как разрушение уровней Ikaros продолжалась в течение более короткого периода времени (фиг. 7А и 7В). Разрушение обоих белков поддерживалось более 150 ч в клетках OPM2-P10 (фиг. 7А и 7В).

Также оценивали эффект временного воздействия Соединения 2 на разрушение Aiolos и Ikaros в клетках H929-1051. Кратковременное воздействие в течение 15 мин при 0,1 мкМ Соединения 2 вызывало разрушение Aiolos и Ikaros (фиг. 8). Хотя степень разрушения (от 25 до 50%) не была полной, наблюдался пролонгированный фармакодинамический (ФД) эффект, который длился между 25 и 50 ч после воздействия (фиг. 8).

Чтобы лучше понять кинетику воздействия Соединения 2 и разрушения Aiolos и Ikaros, исследовали более длительное воздействие Соединения 2 (0,01 и 0,1 мкМ) в течение 6 ч с последующим отмыванием. Лечение Соединением 2 приводило к разрушению Aiolos и Ikaros более чем на 70% (фиг. 9). Отмывание Соединения 2 после однократного 6-часового воздействия привело к быстрому восстановлению после разрушения обоих белков (фиг. 9). Восстановление более 75% субстрата наблюдалось через 25 ч в клетках, подвергнутых воздействию 0,01 мкМ Соединения 2, и в пределах от 75 до 100 ч в культурах, подвергнутых воздействию 0,1 мкМ Соединения 2 (фиг. 9).

Также оценивали влияние разрушения Aiolos и Ikaros на индукцию апоптоза. Почти полное и продолжительное подавление субстратом, наблюдаемое при непрерывном воздействии Соединения 2, совпало с индукцией апоптоза в клетках MM (фиг. 10). Непрерывное однократное воздействие 0,01 и 0,1 мкМ Соединения 2 приводило к индукции апоптоза в клетках H929-1051 и OPM2-P10 (в пределах от 50 до 75 ч) (фиг. 10). Однако временное воздействие Соединения 2 в течение 15 мин или 6 ч препятствовало индукции апоптоза (фиг. 10).

Взяты вместе эти наблюдения показывают, что как величина, так и продолжительность разрушения Aiolos и Ikaros являются важными медиаторами индукции апоптоза в тестируемых моделях клеток MM. Кроме того, эти данные демонстрируют использование Aiolos и Ikaros, а также то, что маркеры апоптоза, такие как расщепленная каспаза-3, являются биомаркерами ответа на Соединение 2, а также предполагают, что эти биомаркеры могут быть полезны для определения или корректировки дозы Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3.

Пример 8. Соединение 2 ингибировало пролиферацию клеточных линий множественной миеломы с приобретенной резистентностью с низким CRBN

Активность Соединения 2 тестировали в клетках миеломы, которые имеют приобретенную устойчивость к леналидомиду или помалидомиду из-за продолжительного воздействия какого-либо соединения и, в процессе, приобрели сниженные уровни цереблona (табл. 2). Клетки обрабатывали в течение 5 дней и затем оценивали с использованием анализа определения АТФ (CellTiter-Glo). Процент от контроля рассчитывали путем вычитания фона и нормализации к контролю ДМСО (100% от контроля). Отно-

сительный процент цереблona в клеточных линиях с приобретенной устойчивостью к леналидомиду или помалидомиду был определен с помощью вестерн-блоттинга и представлен в табл. 3 относительно уровня CRBN в родительских клеточных линиях, принятых за 100%.

На фиг. 11 показаны IC₅₀ кривых зависимости ответа от концентрации, сравнивающие активность Соединения 2 и помалидомида, в родительских линиях (DF15, NCI-H929 и OPM2), клеточной линии, устойчивой к леналидомиду (NCI-H929-1051) или пяти клеточных линиях, устойчивых к помалидомиду (NCI-H929-P01, OPM2-P01, OPM2-P1, OPM2-P10 и DF15R).

Таблица 3. Уровни экспрессии белка цереблona в линиях клеток множественной миеломы, чувствительных к лекарствам и устойчивых к лекарствам

Клеточная линия	Устойчивость	Цереблон (%) (Нормализовано к Родительской Линии)
DF15	Н/Д	100
DF15R	100 мкМ Пом	14*
NCI-H929	Н/Д	100
NCI-H929-1051	10 мкМ Лен	50
NCI-H929-P01	100 нМ помалидомида	35
OPM2	Н/Д	100
OPM2-P01	100 нМ помалидомида	61
OPM2-P1	1 мкМ Пом	33
OPM2-P10	10 мкМ Пом	31

Н/Д=нет данных;

Пом=помалидомид;

*уровень фона, а не фактический цереблон, который отсутствует в данной клеточной линии

Сравнение клеточных линий, устойчивых к помалидомиду или леналидомиду, продемонстрировало, что уровни белка CRBN были ниже, чем у чувствительных родительских клеточных линий (табл. 3). Пролиферацию оценивали с применением анализа CellTiter-Glo®. Результаты исследования показывают, что клеточные линии были чувствительны к Соединению 2, даже во множественных моделях приобретенной устойчивости, где уровни CRBN были низкими, как определено количественной оценкой уровней АТФ, присутствующих в среде, через 5 дней (фиг. 11). Однако Соединение 2 показало небольшую антипролиферативную активность в отношении клеточной линии DF15R, в которой отсутствует экспрессия CRBN (фиг. 11 и 5А).

Взятые вместе, эти данные показывают, что Соединение 2 обладает очень сильной активностью против множественной миеломы в моделях приобретенной устойчивости с низкими, но обнаруживаемыми уровнями CRBN. Таким образом, определяемые уровни CRBN могут быть биомаркером для прогнозирования восприимчивости пациента к Соединению 2.

Пример 9. Соединение 2 само по себе и в комбинации с дексаметазоном индуцировало апоптоз при множественной миеломе, устойчивой к леналидомиду

Дексаметазон оценивали на предмет его способности индуцировать апоптоз в качестве единственного агента или в комбинации с Соединением 2. Индукцию апоптоза измеряли с использованием Caspase-Glo в устойчивых к леналидомиду клетках множественной миеломы (H929-1051). Дексаметазон распределяли при 20 концентрациях, используя акустический дозатор. Планшеты закрывали и хранили при комнатной температуре в течение следующего дня. Конечные концентрации соединений для анализа были: дексаметазон (от 0,8 до 0,00002 мкМ) и Соединение 2 (0,001, 0,01, или 0,1 мкМ). Клетки распределяли в планшеты для анализа дозатором Multidrop, и были сделаны дублирующие планшеты для анализа. Измерение апоптоза проводили через 72 ч после лечения соединением с использованием анализов Caspase-Glo 3/7 и CellTiter-Glo. Люминесценцию Caspase-Glo 3/7 нормализовали к люминесценции CellTiter-Glo для учета различий в количестве клеток. Изменение сворачивания в тестируемом образце рассчитывали следующим образом: нормализованное значение каспазы обработанного образца/среднее значение нормализованного значения контроля ДМСО.

Активность апоптоза дексаметазона отдельно или в комбинации с леналидомидом, помалидомидом или Соединением 2 измеряли с помощью индукции каспазы 3. Результаты показали, что Соединение 2 синергировало с дексаметазоном в снижении жизнеспособности клеток и усиливало апоптотическую способность дексаметазона в зависимости от концентрации (фиг. 12). Зависимость доза-ответ на лечение одним дексаметазоном приводила к незначительному увеличению апоптоза, в соответствии с изменением каспазы-3 по сравнению с лечением ДМСО (фиг. 12). Напротив, начало активности дексаметазона было сдвинуто на 1 log в присутствии Соединения 2. Лечение тремя различными концентрациями Соединения 2 усиливало апоптотическую активность дексаметазона, измеренную с помощью каспазы-3 (фиг. 12).

Кроме того, даже самая низкая доза Соединения 2 приводила к сильной индукции апоптоза. Всего 10 нМ дексаметазона повышали способность инициации гибели клеток Соединением 2, и концентрации Соединения 2, от низких до субнанолярных, усиливали апоптотические эффекты дексаметазона (фиг. 12). Это продемонстрировало способность дексаметазона плюс Соединение 2 вызывать апоптоз в устойчивых к леналидомиду клетках множественной миеломы и демонстрирует, что измерение каспазы-3 может служить биомаркером для лечения Соединением 2.

Пример 10. Влияние Ex Vivo Соединения 2 на созревание миелоидных предшественников до взрослых нейтрофилов

Ex vivo культуры клеток CD34⁺ костного мозга (КМ) от здоровых доноров (ЗД) использовали для исследования влияния Соединения 2 на нейтропению. Предварительные данные указывают на то, что восстановление уровней зрелых нейтрофилов на по меньшей мере 50% необработанного контрольного уровня в аналитической системе, используемой в данном исследовании, коррелирует с отсутствием индукции или восстановления от клинически значимой нейтропении. Поэтому мы отслеживали влияние Соединения 2 на зрелые нейтрофилы.

Уровень белка Ikaros анализировали с помощью проточной цитометрии после каждого периода воздействия, а также на 19, 21 и 23 дни, соответствующие 3, 5 и 7 дням после последнего воздействия соответственно. Клетки CD34⁺, полученные из костного мозга здорового донора, подвергали воздействию различных концентраций Соединения 2 и различных схем инкубации. Измеряли процент содержания Ikaros (нормализованный к контролю ДМСО) после воздействия Соединения 2 при концентрациях 1, 10 и 100 нМ в течение 2, 4 и 6 ч в каждый из 1, 2 или 3 последовательных дней, начиная с 14-го дня. В конце периода воздействия Соединение 2 удаляли и клетки инкубировали в отсутствие Соединения 2 (период восстановления). Ikaros измеряли проточной цитометрией после инкубации с Соединением 2 (дни с 14 по 16) и во время восстановления в дни 19, 21 и 23. Данные были собраны для двух доноров и представлены на фиг. 13. Уровни Ikaros снижались во время воздействия Соединения 2 и восстанавливались после отмены препарата в зависимости от концентрации, при этом не отмечалось значительных различий в связи с разными схемами воздействия (фиг. 13). Уровни Ikaros начали возвращаться к норме по меньшей мере через 3 дня после отмывания, что предшествовало полному восстановлению созревания предшественников нейтрофилов на поздних стадиях. Эти данные предполагают, что разрушение Ikaros в предшественниках нейтрофилов на поздних стадиях может быть важным медиатором нейтропении у реципиентов Соединения 2. Кроме того, полученные данные свидетельствуют о том, что восстановление уровней Ikaros предшествует восстановлению созревания предшественников нейтрофилов, и что успешное лечение нейтропении у пациентов с ММ, получавших Соединение 2, возможно при использовании соответствующих схем дозирования.

Для дальнейшего изучения роли Ikaros в созревании предшественников нейтрофилов уровни белка Ikaros анализировали с помощью проточной цитометрии после каждого воздействия и через день после последнего воздействия Соединения 2. Ikaros полностью разрушился после одного воздействия Соединения 2 при всех концентрациях и всех схемах воздействия (фиг. 14 и 15). После 3 дней воздействия Соединения 2 восстановление Ikaros началось в зависимости от концентрации всего через 24 ч после отмывания лекарственного препарата и вернулось к контрольным уровням через 10 дней (фиг. 14; 16В). После 5 дней воздействия Соединения 2 восстановление Ikaros началось на 17 день, через три дня после отмывания лекарственного препарата (фиг. 15). Полное восстановление до контрольных уровней наблюдалось через 6 дней после последнего воздействия при концентрации 10 нМ, тогда как восстановление более 50% наблюдалось через 8 дней после воздействия Соединения 2 при концентрации 100 нМ (фиг. 15).

Данные подтверждают гипотезу о том, что разрушение Ikaros, вызванное Соединением 2, является фактором, управляющим прекращением созревания предшественников нейтрофилов, и что возобновление восстановления Ikaros предшествует восстановлению зрелых нейтрофилов, как показано на фиг. 16В. Взятые вместе, эти данные свидетельствуют о том, что более интенсивное дозирование Соединения 2 (несколько доз в день), по сравнению с дозированием раз в день, может не оказать негативное воздействие на индукцию и восстановление после нейтропении у пациентов.

Пример 11. Соединение 2 усиливает противоопухолевую активность иммунных клеток от здоровых доноров-людей

РВМС, выделенные из здоровых доноров, культивировали в среде RPMI 1640 с добавлением 10% ФБС при плотности 1×10^6 клеток/мл.

Клетки K562 поддерживали в log-фазе и контролировали плотность клеток и жизнеспособность с помощью вытеснения трипанового синего с применением анализатора жизнеспособности клеток Vi-CELL® XR (Beckman Coulter, Брея, Калифорния).

Свежевыделенные РВМС человека культивировали с рекомбинантным IL-2 при концентрации 20 ед/мл в течение 72 ч. Мононуклеарные клетки периферической крови затем центрифугировали и вновь суспендировали в свежей полной среде RPMI до 2×10^6 клеток/мл. Затем клетки обрабатывали ДМСО или Соединением 2 в указанных концентрациях и инкубировали в течение дополнительных 72 ч. РВМС дважды промывали в свежей полной средой RPMI до совместного культивирования. Клетки K562 повторно

супендировали до плотности клеток 1×10^6 клеток/мл и окрашивали 1 мкМ CellTrace CFSE в соответствии с инструкциями производителя. Меченые K562 клетки затем высевали в 96-луночных планшетах с круглым дном при 1×10^5 клеток/луночку. Мононуклеарные клетки периферической крови затем переносили в тот же самый 96-луночный планшет при соотношении 1:15 в трех экземплярах и инкубировали при 37°C в течение 4 ч. Специфический лизис клеток-мишеней апоптозом, опосредованным РВМС, измеряли с использованием аннексии V-флуоресцеин изотиоцианата (FITC) и пропидия иодида (ПИ) в соответствии с инструкциями производителя, и образцы подвергали сканированию FACS Array. Немеченые клетки K562, CellTrace CFSE-меченые клетки K562 и аннексин V-FITC-меченые и PI-меченые необработанные клетки K562 были включены в каждом анализе в качестве контроля. Все клеточные линии миеломы поддерживали в log-фазе и контролировали плотность клеток и жизнеспособность с помощью вытеснения трипанового синего с применением анализатора жизнеспособности клеток Vi-CELL XR. Девяносто шести-луночные планшеты были предварительно покрыты анти-CD3 антителом (ОКТ3, 3 мкг/мл) и инкубированы при 4°C в течение ночи перед началом эксперимента. Замороженные РВМС доноров оттаивали при 37°C в течение 2 мин в среде RPMI с добавлением 10% ФБС, затем количество клеток и жизнеспособность были измерены на Vi-CELL® (Beckman Coulter). Мононуклеарные клетки периферической крови промывали и разводили до 1×10^6 клеток/мл и распределяли в планшетах, обработанных соединением в общем объеме 200 мкл. Клетки инкубировали в присутствии соединений в течение 2 ч перед переносом на планшеты, покрытые анти-CD3 антителами, и инкубировали в течение еще 72 ч при 37°C. Через 72 ч РВМС центрифугировали и клетки дважды промывали средой RPMI+10% ФБС. Необработанные клеточные линии MM (H929 и H929-1051) были помечены CellTrace CFSE в соответствии с инструкциями производителя и повторно супендированы при общей концентрации $0,1 \times 10^6$ клеток/мл в U-образном 96-луночном планшете в общем объеме 100 мкл. Мононуклеарные клетки периферической крови подсчитывали и добавляли к клеткам MM в соотношении мишень:эффектор (Т:Е) 1:5. После 24 ч совместного культивирования был измерен специфический лизис клеток-мишеней индуцированным РВМС апоптозом с использованием аннексина V-AF647 и 7-AAD в соответствии с инструкциями производителя, и образцы были проанализированы на цитометре Attune NxT (Thermo Fisher).

96-Луночные планшеты были предварительно покрыты анти-CD3 антителом (ОКТ3, 3 мкг/мл) и инкубированы при 4°C в течение ночи перед началом эксперимента. Замороженные клетки РВМС доноров оттаивали при 37°C в течение 2 мин в среде RPMI с добавлением 10% ФБС, затем количество клеток и жизнеспособность были измерены на анализаторе Vi-CELL. Мононуклеарные клетки периферической крови промывали и разводили до 1×10^6 клеток/мл и распределяли в планшетах, обработанных соединением, в общем объеме 200 мкл. Клетки инкубировали в присутствии Соединения 2 течение 2 ч перед переносом на планшеты, покрытые анти-CD3 антителами, и инкубировали в течение еще 72 ч. В то же время клеточные линии MM (NCI-H929, H929-1051, OPM2, OPM2-P10) разводили до конечной концентрации $0,1 \times 10^6$ клеток/мл и метили CellTrace CFSE в соответствии с инструкциями производителя. Клеточные линии множественной миеломы затем распределяли в планшетах, обработанных соединением, при общем объеме 200 мкл и инкубировали в течение 72 ч. Через 72 ч клетки РВМС и MM подсчитывали и переносили в 96-луночный планшет с U-образным дном при конечном соотношении Т:Е 1:5. После 24 ч совместного культивирования был измерен специфический лизис клеток-мишеней апоптозом, опосредованным РВМС, с использованием аннексина V-AF647 и 7-AAD в соответствии с инструкциями производителя, а образцы были проанализированы на цитометре Attune NxT.

Данная модель совместного культивирования была использована для определения прямых эффектов Соединения 2 на противоопухолевую активность РВМС, взятых их здоровых доноров. Обработка Соединением 2 IL-2-активированных РВМС индуцировала уничтожение необработанных клеток K562 зависимым от концентрации образом (фиг. 17А и 17В). РВМС, обработанные Соединением 2 ($IC_{50}=5,9$ пМ), эффективно достигали 50% прямого уничтожения клеток K562.

Эффекты Соединения 2 на активность РВМС, инкубированных с Соединением 2, против клеток MM были дополнительно проанализированы в клеточных линиях, отображающих фенотип устойчивости для того, чтобы сравнить с ответом в чувствительных клетках. В другой модели совместного культивирования донорные клетки РВМС предварительно обрабатывали Соединением 2 в течение 2 ч перед культивированием на планшетах, покрытых анти-CD3 антителом, в течение 72 ч. РВМС, активированные анти-CD3 антителами, обработанные Соединением 2, продемонстрировали увеличение лизиса опухолевых клеток, зависимое от концентрации, необработанной чувствительной к леналидомиду (NCI-H929; $IC_{50}=0,005$ мкМ) и устойчивой к леналидомиду (H929-1051; $IC_{50}=0,0002$ мкМ) клеточных линий MM в похожей степени (фиг. 18А и 18В). Аналогичный уровень уничтожения опухолевых клеток посредством апоптоза, опосредованного РВМС, наблюдался в отношении совместно культивируемых опухолевых клеток, чувствительных к леналидомиду и устойчивых к леналидомиду, что показывает, что РВМС были примированы для индукции апоптоза в опухолевых клетках независимо от их фенотипа устойчивости.

Поскольку предварительная инкубация иммунных клеток с Соединением 2 усиливала нацеливание и лизис клеток MM, также исследовали эффект предварительной инкубации клеток MM с Соединением 2 на их восприимчивость к иммуно-опосредованной гибели (фиг. 19А-19D). Четыре клеточные линии MM

и РВМС, активированные анти-CD3 антителом отдельно, предварительно инкубировали с Соединением 2 в течение 72 ч. Когда РВМС, активированные анти-CD3 антителом, и линии ММ, обе были предварительно обработаны Соединением 2, а затем совместно культивированы, эффекты на лизис клеток ММ, индуцированный РВМС, были усилены в плане активности и величины ответа гибели клеток. По данным сравнения значений IC_{50} отдельных культур клеток ММ в сравнении с совместными культурами иммунных и опухолевых клеток Соединение 2 усиливает убийство клеток NCI-H929 в ~ 7000 раз, и оно усиливает убийство увеличивает гибель клеток H929-1051 в ~ 6000 раз (фиг. 19А и 19В).

РВМС, обработанные Соединением 2, значительно индуцировали лизис опухоли необработанных клеточных линий K562 и ММ. Кроме того, гибель опухолевых клеток была значительно повышена, если обе РВМС и клеточные линии ММ были предварительно обработаны Соединением 2, что свидетельствует о том, что в дополнение к своим сильным самостоятельным клеточным эффектам, Соединение 2 может также повысить иммуногенность клеточных линий ММ. В совокупности результаты указывают на комбинацию значительного клеточно-автономного и иммуногенного воздействия на клетки ММ, а также на его иммуномодулирующие свойства.

Пример 12. Активированные Соединением 2 эффекторные лимфоциты и цитокины

Оценивали иммуномодулирующую активность Соединения 2 в отношении здоровых РВМС, активированных Т-клеточным рецептором (ТКР). В панели клеток от девяти здоровых доноров РВМС инкубация с Соединением 2 в присутствии стимуляции анти-CD3-антителом в течение 72 ч индуцировала секрецию IL-2 со средней полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}) 14 пМ (фиг. 20). Это увеличение секреции цитокинов наблюдалось уже через 24 ч после введения Соединения 2, при этом пик продукции эффекторных цитокинов, индуцированный Соединением 2, был выше контроля-плацебо в 5,5 раза для IL-2, в 4,5 раза для интерферона гамма (IFN- γ) и в 2 раза для фактора некроза опухоли альфа (TNF- α) (фиг. 21А-21С, соответственно). Эти данные демонстрируют, что Соединение 2 может активировать Т-клетки и стимулировать секрецию ими цитокинов, таких как TNF- α , IFN- γ и IL-2. Кроме того, эти данные показывают, что эти цитокины могут служить биомаркерами активированных Т-клеток в ответ на Соединение 2.

Пример 13. Вызванное Соединением 2 разрушение субстрата в Т-клетках

Было исследовано влияние Соединения 2 на разрушение Ikaros в CD4+ и CD8+ Т-клетках в течение 72 ч. Способность Соединения 2 индуцировать высвобождение эффекторных цитокинов коррелировала с разрушением Ikaros в CD4+ Т-клетках, известным репрессором транскрипции IL-2 (фиг. 22А-22С). В CD4+ Т-клетках через 24 ч обработка Соединением 2 продемонстрировала устойчивое разрушение Ikaros (24-часовая $IC_{50}=0,0003$ мкМ) (фиг. 22А). В популяции CD8+ Т-клеток также наблюдали активность, при этом 24-часовая IC_{50} Соединения 2 составляла 0,0005 мкМ (данные не показаны). Способность Соединения 2 разрушать Ikaros также наблюдалась в 48- и 72-часовой временной точке как в CD4+ (фиг. 22В и 22С), так и в CD8+ (данные не показаны) Т-клеточных популяциях. Эти данные демонстрируют, что Соединение 2 разрушает Ikaros в Т-клетках, что коррелирует с индукцией высвобождения эффекторных цитокинов. Таким образом, Ikaros и Aiolos могут служить биомаркерами активации Т-клеток.

Пример 14. Влияние Соединения 2 в комбинации с дексаметазоном на иммуномодуляцию/индукцию интерлейкина-2

Было исследовано влияние Соединения 2 в комбинации с различными концентрациями дексаметазона на способность РВМС продуцировать IL-2. Мононуклеарные клетки периферической крови от 4 здоровых доноров предварительно инкубировали с Соединением 2 в течение 2 ч перед стимуляцией гранулами, покрытыми анти-CD3-антителом, в течение следующих 72 ч. При использовании в комбинации с 10 нМ дексаметазона Соединение 2 все еще способно индуцировать IL-2 до уровня, по меньшей мере в 10 раз превышающего контроль-плацебо, с пиковым ответом, достигнутым при 0,01 нМ Соединения 2 (фиг. 23С). Однако комбинация Соединения 2 с более высокими концентрациями дексаметазона (100 нМ) показала небольшую индукцию IL-2 по сравнению с исходным уровнем.

Взяты вместе эти данные показывают, что иммуномодулирующая активность Соединения 2 сохранялась в присутствии низких уровней (10 нМ) дексаметазона, при этом с Соединением 2 наблюдалась впечатляющая синергия в автономном уничтожении клеток ММ.

Пример 15. Фармакодинамика, эффективность и прогностическая оценка с использованием биомаркеров

Фармакодинамику (ФД), эффективность и прогностические конечные точки можно оценить путем анализа различных биомаркеров в крови пациента и костном мозге. Биомаркеры, которые необходимо оценить, включают разрушение Aiolos и Ikaros; профиль цитокинов при стимуляции *ex vivo*; фенотипический анализ иммунных клеток (например, Т-клеток); уровни экспрессии CRBN, Aiolos, Ikaros, лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль (TIL), с-Мус, IRF4, р-каспазы 3; цитогенность, мутации и клональность ТКР; растворимый ВСМА, свободную легкую цепь (СЛЦ) и циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК).

Аспирация костного мозга (ВМА) проводится у пациента до лечения, во время лечения и по окончании исследования. Берется приблизительно 6 мл ВМА, и 1 мл фиксированного сгустка ВМА в клини-

ческом центре используется для иммуногистохимии (ИГХ) для оценки уровней экспрессии CRBN, Aiolos, Ikaros, ZFP91, c-Myc, IRF4, p-каспазы-3, а также TIL в качестве биомаркеров. Оставшийся ВМА затем подвергают селекции CD138⁺ для выделения клеток миеломы и собирают фракции CD138⁻ и CD138⁺. Часть клеток CD138⁺ используется для флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH). Оставшиеся клетки CD138⁺ распределяются по аликвотам для выделения и анализа РНК и ДНК, дополнительного анализа FISH и жизнеспособных замороженных клеток CD138⁺. Мононуклеарные клетки костного мозга (BMMNC) выделяют из фракции CD138⁻ центрифугированием в градиенте плотности фиколла. BMMNC CD138⁻ распределяются по аликвотам для выделения и анализа РНК и ДНК, для иммунопрофилирования жизнеспособных замороженных клеток CD138⁻ и замороженного осадка клеток на клональность ТКР.

Также анализируется цельная кровь пациентов. Мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) и/или сыворотку/плазму выделяют из образцов. Цельная кровь также используется непосредственно для анализа некоторых биомаркеров.

Анализ цельной крови может использоваться для определения активации Т-клеток в качестве биомаркера. Кровь берется при скрининге и во время лечения по всем схемам. Кровь набирается в пробирку TnuCulture, содержащую анти-CD3-антитела для стимуляции Т-клеток. Пробирку инкубируют при 37°C в течение 42 ± 4 ч. Среду отделяют от клеток и замораживают при -70°C. Образцы анализируют на предмет активации Т-клеток с использованием специальной панели цитокинов (Myriad RBM, Inc.), которая включает цитокины, указывающие на активацию Т-клеток, такие как интерферон гамма (IFN γ), фактор некроза опухоли альфа (TNF α) и интерлейкин-2 (IL-2).

Сыворотка выделяется из цельной крови, а растворимый ВСМА (sBCMA) измеряется с помощью ИФА в качестве биомаркера до и во время лечения во всех циклах и схемах. Кроме того, свободная легкая цепь сыворотки (sFLC) измеряется в качестве биомаркера в тех же образцах сыворотки, что и sBCMA. Тест FreeLite будет использоваться для измерения соотношения между легкой цепью каппа и легкой цепью лямбда (отношение k/l).

PBMC, выделенные из цельной крови, анализируют на экспрессию белков биомаркеров Aiolos и Ikaros с помощью FACS и/или ИФА. Выделение PBMC для измерения уровней экспрессии этих биомаркеров проводят для пациентов, включенных во все схемы, в дни 1, во время лечения, а также в конце исследования.

Кроме того, анализ биомаркеров PBMC включает иммунофенотипирование после сбора образцов цельной крови до и во время лечения. Иммунная модуляция оценивается с помощью анализов FACS для субпопуляций Т-клеток (CD3, CD4, CD8, Treg, Teff, Tmem), В-клеток и NK-клеток.

Наконец, количество циркулирующих опухолевых клеток (ЦКО), присутствующих в периферической крови, количественно определяется как биомаркер. ЦКО идентифицируются и анализируются с помощью анализов FACS, используемых для оценки минимального остаточного заболевания (МОБ). ЦОК измеряются в крови в первые дни и во время лечения для всех схем.

Биомаркеры используются для определения комбинированной активности Соединения 2 с низкими дозами дексаметазона и для оценки схем дозирования Соединения 2. Кроме того, эффективность Соединения 2 в комбинации с дексаметазоном по сравнению с другими соединениями-модуляторами цереблona оценивается в соответствии с биомаркерами. В совокупности оценка этих биомаркеров может дать указания по выбору пациента, составлению схемы, предсказать ответ на терапию и/или определить эффективность лечения.

Пример 16. Использование биомаркеров для изменения схемы лечения рецидивирующей и рефрактерной множественной миеломы

Биомаркеры, представленные в настоящем документе, можно использовать для определения того, следует ли изменить лечение, например, продлить или сократить схему. Оценка репрессии Aiolos/Ikaros, а также активации и пролиферации Т-клеток может определять схему лечения.

Чтобы определить, была ли достигнута оптимальная доза, во время лечения собирают кровь, выделяют PBMC и измеряют репрессию Aiolos/Ikaros с помощью FACS. В одном сценарии количество восстановления Aiolos/Ikaros выше фона анализа составляет <15%. Кроме того, ИГХ показывает, что корреляция репрессии Aiolos/Ikaros в костном мозге на нескольких уровнях доз подтверждает, что подавление Aiolos в костном мозге также находится в пределах 15% от нижнего уровня анализа. Кроме того, по сравнению со следующим наименьшим уровнем дозы, дальнейший ФД ответ практически отсутствует, что позволяет предположить, что эффекты ФД являются умеренными. Измерение активации и пролиферации Т-клеток определяется путем оценки увеличения растворимого CD25 в сыворотке/плазме, а также увеличения Ki67 в клетках CD8⁺ и CD4⁺. Результаты, указывающие на то, что происходит плато активации и пролиферации Т-клеток при дозе и что нет потери популяций T_{eff}, указывают на то, что оптимальная доза была достигнута. Отсутствие нейтропении 3 степени или выше также демонстрирует, что ФД оптимизирована, и указывает на то, что схема может быть продлена вместо увеличения дозы. В этом сценарии биомаркеры указывают на то, что оптимальная биологическая доза была достигнута, и схему можно продолжать без изменений.

В качестве альтернативы данные биомаркера могут указывать на то, что схема требует изменения.

В другом сценарии результаты лечения с использованием схемы дозирования могут указывать на то, что уровень экспрессии белка биомаркеров Aiolos/Ikaros восстановлен более чем на 15% выше фона во время лечения в РВМС и/или ВМ. Кроме того, может наблюдаться отсутствие плато для подавления экспрессии биомаркера Aiolos в РВМС и/или ВМ при возрастающих дозах. Кроме того, оценка активации и пролиферации Т-клеток как биомаркера может указывать на то, что активация Т-клеток не максимальна. Это говорит о том, что эффекты ФД не были оптимизированы при схеме лечения с МТД. Добавление нежелательной нейтропении и неполного восстановления АНС или его отсутствия во время лечения указывает на то, что окно отдыха, предусмотренное схемой лечения, недостаточно для достаточного восстановления созревания нейтрофилов. Таким образом, схему можно сократить, чтобы увеличить окно восстановления и возобновить повышение дозы. В совокупности эти два сценария демонстрируют, что биомаркеры могут помочь в планировании лечения пациентов с модулятором церебллонов при множественной миеломе.

Пример 17. Использование биомаркеров для отбора пациентов и в качестве прогностических маркеров для лечения рецидивирующей и рефрактерной множественной миеломы с помощью модуляторов церебллонов

Биомаркеры также можно использовать для определения отбора пациентов и для прогнозирования ответа или устойчивости к лечению рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломы модулятором церебллона, таким как Соединение 2, или энантиомером, смесью энантиомеров, таутомером или фармацевтически приемлемой солью.

Образцы костного мозга собираются до начала лечения для целей скрининга, во время лечения и после завершения исследования. Берется примерно 6 мл ВМА и может быть выполнено фракционирование CD138. Кроме того, на первичных образцах можно проводить испытания на лекарственные препараты *ex vivo*. Данные *ex vivo* можно объединить с клиническими данными, собранными в популяциях CD138. В совокупности данные, которые собираются от биомаркеров, могут использоваться для определения выбора пациента для лечения соединениями.

Пример 18. Фаза 1 многоцентрового, открытого исследования для оценки безопасности, фармакокинетики и предварительной эффективности Соединения 2 в комбинации с дексаметазоном у субъектов с рецидивирующей и рефрактерной множественной миеломой

Показания: Рецидивирующая и рефрактерная множественная миелома (RRMM).

Первичные цели:

Оценить фармакокинетику (ФК), безопасность/переносимость и определить максимально переносимую дозу (МТО)/рекомендуемую дозу Части 2 (RP2D) Соединения 2 в комбинации с дексаметазоном в соответствии с минимум двумя схемами дозирования Соединения 2.

Вторичные цели:

Оценить предварительную эффективность Соединения 2 в комбинации с дексаметазоном.

Дизайн исследования

Это открытое, многоцентровое, международное, исследование Фазы 1 с целью оценки безопасности, ФК/ФД и предварительной эффективности Соединения 2 в комбинации с дексаметазоном у субъектов с RRMM. Пациенты с RRMM, ранее получавшие по меньшей мере 3 предыдущих схем, включая леналидомид или помалидомид, ингибитор протеасом и анти-CD38 антитело, будут иметь право на участие.

Исследование будет проводиться в двух частях: в Части 1 будет оцениваться ФК/ФД и безопасность возрастающих доз Соединения 2 с одновременной стандартной дозой дексаметазона и определяться МТД/RP2D для комбинации при введении в соответствии с минимум двумя различными схемами дозирования. Часть 2 будет состоять из одной расширенной когорты (коhort) Соединения 2 при RP2D плюс дексаметазон для одного или более схем дозирования. В дополнение к оценке безопасности, ФК и ФД, все субъекты будут проходить ежемесячную оценку ответа в соответствии с едиными критериями ответа Международной группы по изучению множественной миеломы (IMWG) (Rajkumar et al., Blood, 2011, 117(18):4691-5; Kumar et al., Lancet Oncol., 2016,17(8):e328-e346) и могут продолжать исследуемое лечение до прогрессирования заболевания, непереносимой токсичности или принятия решения врачом или субъектом о прекращении исследуемого лечения.

Исследование будет проводиться в соответствии с Международной конференцией по гармонизации (ICH) технических требований к регистрации фармацевтических препаратов для человека/надлежащей клинической практикой (GCP) и применимыми нормативными требованиями.

Часть 1 (Повышение дозы)

Когорты субъектов с RRMM будут получать возрастающие дозы Соединения 2 плюс фиксированная доза дексаметазона (40 мг/доза; 20 мг/доза для субъектов ≥ 75 лет) для оценки его безопасности, профилей МТД/RP2D и ФК/ФД. В Части 1 будут оцениваться как минимум две различные схемы дозирования, первая из которых состоит из 10 последовательных дней приема дозы один раз в день (1 р/д), за которыми следуют 4 дня отсутствия лечения \times 2 раза за 28-дневный цикл (так называемая схема 20/28). Вторая схема будет состоять из приема дозы дважды в день (2 р/д) в течение 3 последовательных дней с

последующими 11 днями отсутствия исследуемого лечения × 2 раза за цикл (так называемая схема 6/28). Когорты с начальной дозой будут получать 0,1 мг/день Соединения 2 1 р/д по схеме 20/28 и 0,2 мг 2 р/д по схеме 6/28. Переключение между схемами дозирования не допускается. Дополнительные схемы дозирования, включающие прием дозы Соединения 2 раз в день (1 р/д) или два раза в день (2 р/д) с последующими днями отсутствия лечения × 2 раза за 28-дневный цикл (например, 5 дней приема дозы 1 р/д или 2 р/д с последующими 9 днями отсутствия лечения × 2 раза за 28-дневный цикл или 7 дней приема дозы 1 р/д или 2 р/д с последующими 7 днями отсутствия лечения × 2 раза за 28-дневный цикл и 21 день приема дозы раз в день с последующими 7 днями отсутствия лечения за 28-дневный цикл) могут быть изучены после обзора результатов безопасности и ФК/ФД в сочетании со первоначальными схемами 20/28 и 6/28 и последующими исследуемыми схемами.

Для всех схем дозирования цикл 1, дни 1-28 будут представлять собой период оценки токсичности, ограничивающей дозу (DLT), для целей определения МТД. Субъекты будут оцениваться на предмет DLT, если они получают предписанную дозу Соединения 2 по меньшей мере в 16 из 20 дней приема по схеме 20/28 и по меньшей мере в 5 из 6 дней приема (10 доз) по схеме 6/28 (или по меньшей мере 80% предписанной дозы по альтернативным схемам) в цикле 1, или испытывают DLT. Субъекты, не подлежащие оценке по DLT, будут заменены.

В каждой схеме когорты из трех или более субъектов будут получать Соединение 2 в дозах, которые будут увеличиваться на 100% в последовательных когортах до тех пор, пока не появятся два побочных явления 2-й степени, возникающих при лечении, которые нельзя четко и неопровержимо отнести к посторонним причинам. После этого будут происходить повышения дозы, не превышающие 50%, до тех пор, пока не произойдет первая DLT. После появления первого DLT будет использоваться Байесовская методика увеличения дозы с использованием логистической регрессии в любой схеме дозирования с назначенной дозой Соединения 2, количеством доз в день (1 р/д и 2 р/д) и количеством последовательных дней приема для каждой схемы в качестве ковариантов.

В течение периода оценки DLT не допускается увеличение дозы среди субъектов, однако в Цикле 2 и далее для субъектов, которые переносят назначенную им дозу Соединения 2, возможно повышение до наивысшего уровня дозы, которая, как было показано, адекватно переносится по меньшей мере одной когортой субъектов в рамках назначенной схемы дозирования.

Часть 2 (Расширение когорты)

По завершении Части 1 будет проведено несравнительное расширенное исследование Соединения 2 плюс дексаметазон с участием 20 субъектов с одной или более схемами дозирования для дальнейшей оценки его безопасности, ФД и эффективности при RP2D и схеме.

Популяция для исследования

Субъекты в возрасте ≥ 18 лет с RRMM, невосприимчивые к последней линии лечения, ранее получавшие не менее 3 предыдущих схем, включая леналидомид или помалидомид, ингибитор протеасом и анти-CD38 антитело, имеющие статус общего состояния Восточной кооперативной онкологической группы (ECOG PS) 0-2, измеримое проявление заболевания и адекватную функцию костного мозга, почек и сердца могут быть зарегистрированы. Субъекты с анамнезом аллогенной трансплантации, не- или олигосекреторной ММ, лейкоза плазматических клеток или первичной рефрактерной ММ (т.е., в анамнезе нет хотя бы незначительного ответа на предшествующую схему лечения) исключаются.

Количество субъектов

Приблизительно 120 субъектов с RRMM из Северной Америки и Европы будут зачислены. Приблизительно 80 субъектов будут распределены в одну из двух схем дозирования (1 р/д или 2 р/д) для определения МТД/RP2D с одновременным приемом дексаметазона для каждой схемы в Части 1. Двадцать субъектов на одну схему дозирования (всего n=40) будут зачислены в Часть 2, чтобы получить Соединение 2 в МТД/RP2D с дексаметазоном.

Оценки количества субъектов, включенных в Часть 1, основаны на следующих предположениях: 40 субъектов для каждой схемы дозирования, включая минимум 9 субъектов, получавших лечение в МТД/RP2D для каждой схемы. При оценке количества субъектов, включенных в Часть 2, предполагается, что на схему дозирования приходится 20 субъектов. Эти оценки могут быть изменены на основе фактического количества когорт, субъектов в когорте, включенных в каждую схему дозирования (Часть 1), и того, оцениваются ли дополнительные схемы дозирования в Части 2.

Критерии включения

Субъекты должны удовлетворять следующим критериям для зачисления в исследование:

Возраст субъекта ≥ 18 лет на момент подписания информированного согласия (ICF).

Субъект должен понимать и добровольно подписать ICF до проведения любых оценок/процедур, связанных с исследованием.

Субъект готов и способен придерживаться режима посещения при исследовании и других требований по протоколу.

Показатель общего состояния в соответствии с Восточной кооперативной онкологической группой (ECOG) 0, 1 или 2

Субъекты должны иметь документированный диагноз ММ и измеримое заболевание при регистрации. Измеримое проявление заболевания определяется как: (а) количество М-белка $\geq 0,5$ г/дл с помощью sPEP; или (b) \geq сбор мочи 200 мг/24 ч с помощью uPEP; или (c) уровни СЛЦ в сыворотке > 100 мг/л, включая легкую цепь, и аномальное соотношение каппа/лямбда (κ/λ) у субъектов без измеримого М-белка в сыворотке или моче; или (d) для субъектов с иммуноглобулином класса А (IgA), миеломой, чье заболевание можно надежно измерить только количественным измерением иммуноглобулина, уровень сывороточного IgA $\geq 0,50$ г/дл.

Все субъекты должны: (а) получать не менее 3 предшествующих схем лечения против миеломы, включая не менее 2 последовательных циклов леналидомида, помалидомида, ингибитора протеасом, глюкокортикоида и анти-CD38 антитела (примечание: индукция с трансплантацией костного мозга или без нее и с поддерживающей терапией или без нее считается одной схемой); (b) иметь документально подтвержденное прогрессирование заболевания на момент или в течение 60 дней после приема последней дозы последней терапии миеломы; (c) в дополнение к указанным выше критериям (а и b), субъекты, включенные в Часть 2, должны иметь заболевание, резистентное к иммуномодулирующему агенту (леналидомид и/или помалидомид), глюкокортикоиду, ингибитору протеасом и анти-CD38 антителу. Рефрактерное заболевание определяется как заболевание, которое не реагирует на терапию (неспособность достичь минимального ответа или развитие прогрессирующего заболевания) или прогрессирует в течение 60 дней после приема последней дозы.

Субъекты должны иметь следующие лабораторные показатели: (а) Абсолютное количество нейтрофилов (ANC) $\geq 1,25 \times 10^9$ /л без поддержки фактора роста в течение ≥ 7 дней (≥ 14 дней для пегфилграстима). ANC $\geq 1,00 \times 10^9$ /л разрешено для когорт с увеличением дозы (Часть 2); (b) Гемоглобин (Hgb) ≥ 8 г/дл; (c) Тромбоциты (plt) $\geq 75 \times 10^9$ /л без переливания в течение ≥ 7 дней; (d) Скорректированный уровень кальция в сыворотке крови $\leq 13,5$ мг/дл ($\leq 3,4$ ммоль/л); (e) 24-часовой клиренс креатинина (CrCl) ≥ 45 мл/мин; (f) AST/SGOT и ALT/SGPT $\leq 3,0$ x верхний предел нормы (ULN); (g) Билирубин в сыворотке крови $\leq 1,5 \times$ ULN или $< 3,0$ мг/дл для субъектов с документально подтвержденным синдромом Жильбера; (h) Мочевая кислота $\leq 7,5$ мг/дл (446 мкмоль/л); (i) PT/INR $< 1,5 \times$ ULN и частичное тромбопластиновое время (ЧТВ) $< 1,5 \times$ ULN (для субъектов, не получающих терапевтические антикоагулянты). Примечание: Субъекты, получающие лечение тромбозомболического события, которое произошло $>$ за 3 месяца до регистрации, являются подходящими до тех пор, пока они находятся на стабильном режиме антикоагуляции варфарином, низкомолекулярным гепарином или на другом утвержденном терапевтическом режиме антикоагуляции.

Женщины с репродуктивным потенциалом (FCBP) должны: (а) иметь два отрицательных теста на беременность, подтвержденные исследователем, до начала исследуемой терапии. Они должны согласиться на постоянный тест на беременность в ходе исследования и после прекращения приема Соединения 2. Это выполняется, даже если субъект практикует истинное воздержание* от гетеросексуального контакта; (b) либо воздерживаться от гетеросексуальных контактов (что необходимо проверять ежемесячно документально подтверждать), либо согласиться использовать и иметь возможность соблюдать две надежные формы контрацепции, предоставленные субъекту во время информированное согласие, без перерыва, за 28 дней до начала приема Соединения 2, во время исследуемой терапии (в том числе во время прерывания дозирования) и в течение 28 дней после прекращения исследуемой терапии. Примечание: Женщина детородного потенциала (FCBP) является женщиной, которая: 1) достигла менструации в какой-то момент и, 2) не претерпела гистерэктомию или двустороннюю овариэктомию или 3) не была естественно постменопаузальной (аменорея после терапии рака не исключает детородный потенциал) в течение по меньшей мере 24 месяцев подряд (т.е., имела менструацию в любое время в предшествующие 24 месяцев подряд).

Субъекты-мужчины должны практиковать истинное воздержание (что должно быть проверено на ежемесячной основе) или согласиться на использование презерватива во время полового контакта с беременной женщиной или женщиной детородного потенциала, участвуя в исследовании (даже во время перерывов дозирования) и по меньшей мере в течение 3 месяцев после прекращения приема Соединения 2, предоставленного субъекту во время информированного согласия, даже если он перенес успешную вазэктомию. Полное воздержание является приемлемым при условии, что это соответствует предпочтительному и обычному образу жизни субъекта. Периодическое воздержание (например, календарная овуляция, симпотермальный метод, методы после овуляции) и прерванный половой акт (отмена) не приемлемы как способы контрацепции.

Мужчины должны согласиться воздержаться от донорства спермы при приеме Соединения 2 и в течение 90 дней после его прекращения. Женщины должны согласиться воздержаться от донорства яйцеклеток при приеме Соединения 2 и в течение 28 дней после его прекращения.

Все субъекты должны согласиться воздержаться от донорства крови при приеме Соединения 2 и в течение 28 дней после его прекращения.

Критерии исключения

Наличие любого из следующего будет исключать регистрацию субъекта:

У субъекта имеется значимое медицинское состояние, лабораторная аномалия или психиатрическое заболевание, которые могут препятствовать субъекту в участии в исследовании.

У субъекта имеется любое состояние, в том числе наличие лабораторных аномалий, которое подвергает субъекта неприемлемому риску, если он/она должны были участвовать в исследовании.

Субъект страдает от любого состояния, при котором нарушается возможность интерпретировать данные исследования.

Субъект страдает от не- или олигосекреторной множественной миеломы.

Субъект с резистентной первичной множественной миеломой (т.е. в анамнезе нет хотя бы незначительного ответа на предыдущую схему лечения).

Субъект страдает от лейкоза плазматических клеток или активного лептоменингеального миеломатоза.

Субъект страдает от системного амилоидоза легкой цепи или полинейропатии, синдрома органомегалии, эндокринопатии, моноклональной гаммапатии и поражений кожи (POEMS).

Субъект страдает от миеломы иммуноглобулина класса М (IgM).

В анамнезе субъекта есть аллогенная трансплантация костного мозга.

Субъект проходит диализ.

Субъекты с периферической нейропатией \geq 2-й степени.

Субъекты с заболеванием желудочно-кишечного тракта, которое может значительно изменить поглощение Соединения 2.

Субъект имеет нарушение сердечной функции или клинически значимое сердечное заболевание, включая любое из следующего: (a) LVEF $<45\%$, как определено сканированием ECHO или MUGA при скрининге; (b) Полная левая ножка пучка Гиса, двухпучковая блокада или другая клинически значимая аномалия электрокардиографии (ЭКГ) при скрининге; (c) Удлинение интервала QT на скрининговой ЭКГ, определяемое путем многократной демонстрации интервала $QTc > 480$ миллисекунд (мс) с использованием формулы коррекции QT Фредерика; наличие в анамнезе или текущие факторы риска аритмии типа "пируэт" (например, сердечная недостаточность, гипокалиемия или семейный анамнез синдрома удлиненного интервала QT); и одновременное введение препаратов, удлиняющих интервал QT/QTc; (d) Застойная сердечная недостаточность (класс III-IV, по функциональной классификации Нью-Йоркской кардиологической ассоциации); (e) Инфаркт миокарда \leq за 6 месяцев до начала введения Соединения 2; (f) Нестабильная или плохо контролируемая стенокардия, включающая стенокардию Принцметала.

Одновременное введение сильных модуляторов СYP3A

Субъект ранее проходил системное лечение миеломы исследуемым агентом (например, анти-ФД-1, анти-ФД-L1) \leq 5 периодов полувыведения до начала приема Соединения 2; субъект ранее подвергался одобренному лечению миеломы (включая терапевтические моноклональные антитела, такие как анти-CD38 или анти-SLAMF7) \leq 5 периодов полувыведения или в течение 4 недель до начала приема Соединения 2, в зависимости от того, который из них короче.

Субъект перенес серьезную операцию за \leq 2 недели до начала приема Соединения 2. Примечание: Субъекты должны были выздороветь от любых клинически значимых эффектов недавней операции.

Субъект является беременной или кормящей женщиной, или намеревается забеременеть или сдать яйцеклетки во время участия в исследовании.

У субъекта имеется известная инфекция вируса иммунодефицита человека (ВИЧ).

Субъект имеет известную активную или хроническую инфекцию вируса гепатита В или С (ВГВ/ВГС).

Субъект имеет анамнез одновременной вторичной формы рака, требующей активного длительного системного лечения.

Субъекты имели в анамнезе предшествующие злокачественные новообразования, кроме ММ, за исключением случаев, когда субъект не болел в течение ≥ 3 лет ИЛИ субъект имел одно из следующих неинвазивных злокачественных новообразований, которые подвергались лечению с целью излечения без известного рецидива: (a) Базальный или плоскоклеточный рак кожи; (b) Карцинома in situ шейки матки или груди; (c) Рак мочевого пузыря I стадии; (d) Случайные гистологические обнаружения локализованного рака простаты, такого как опухоль стадии Ia или Ib (T1a или T1b), с использованием классификации злокачественных опухолей "опухоль/узел/метастаз" (TNM) ИЛИ рак простаты, который подвергался лечению с целью излечения.

В анамнезе субъекта есть анафилаксия к талидомиду, леналидомиду, помалидомиду или дексаметазону.

У субъекта имеется известная гиперчувствительность или подозрение на гиперчувствительность к вспомогательным веществам (вспомогательные вещества включают диметилсилилат кремнезема, безводный коллоидный диоксид кремния, маннит, фумаровую кислоту и стеариновую кислоту), содержащиеся в составе Соединения 2 или дексаметазона.

Субъект прошел любое из следующих действий в течение 14 дней после начала приема Соединения 2: (a) плазмаферез; (b) лучевую терапию, отличную от местной терапии, для облегчения симптомов свя-

занных с ММ костных поражений.

Субъект получал иммунодепрессивное лечение в течение 14 дней до первой дозы Соединения 2. Исключениями из этого критерия являются следующие: (a) Интраназальные, ингаляционные, местные или локальные инъекции кортикостероидов (например, внутрисуставные инъекции); (b) Системные кортикостероиды в дозах, не превышающих 10 мг/день преднизона или его эквивалента; (c) Стероиды в качестве премедикации при реакциях гиперчувствительности (например, премедикация при компьютерной томографии [КТ]).

Субъект не может или не хочет пройти протокол профилактики венозной тромбоэмболии (ВТЭ).

Продолжительность исследования

Средняя продолжительность участия в исследовании для субъекта, как ожидается, составит примерно 6 месяцев. Ожидается, что полная регистрация займет примерно 21 месяц до завершения (18 месяцев на Этап 1 и 3 месяца на Этап 2). Ожидается, что завершение активного лечения и последующее наблюдение после лечения займет дополнительно от 6 до 12 месяцев. Ожидается, что все исследование будет длиться примерно 33 месяца.

Окончание испытания определяется как дата последнего визита последнего субъекта с целью завершения наблюдения после лечения или дата получения последнего результата наблюдения от последнего субъекта, который требуется для первичного, вторичного и/или исследовательского анализа, как указано в протоколе, в зависимости от того, что наступит позднее.

Исследуемые схемы лечения

Соединение 2 будет вводиться перорально либо один раз в день для субъектов, включенных в схему 20/28 (или альтернативные схемы один раз в день), либо два раза в день для субъектов, включенных в схему 6/28 (или альтернативные схемы два раза в день). Для субъектов, включенных в схему дозирования один раз в день, Соединение 2 необходимо вводить утром с по меньшей мере 240 мл (миллилитрами) воды после ночного голодания продолжительностью не менее 6 ч. Субъекты должны воздерживаться от еды или приема других лекарств в течение по меньшей мере 2 ч после каждой утренней дозы. Субъекты, включенные в схему 2 р/д, будут следовать вышеупомянутым инструкциям, как указано для схемы 1 р/д для первой дозы каждого дня приема. Вторую дозу необходимо ввести через 12 ± 2 ч после утренней дозы, не менее чем через 4 ч после и за 2 ч до приема пищи.

Для обеих схем дозирования дексаметазон можно вводить с Соединением 2 натощак или по меньшей мере через 2 ч после Соединения 2 с пищей (за исключением дней оценки ФК, когда оба должны быть введены в то же время).

Обзор ключевых показателей оценки эффективности

Первичная переменная эффективности представляет собой лучшую частоту общего ответа (ЧОО) определяемую как доля субъектов, чей лучший ответ \geq ЧО, в соответствии с критериями равномерного ответа IMWG (Rajkumar et al., Blood, 2011, 117(18):4691-5; Kumar et al., Lancet Oncol., 2016, 17(8):e328-e346). Субъекты будут ежемесячно проходить оценку ответов. Ответ миеломы определяется исследователем исследовательского центра на основании лабораторных исследований (электрофорез белков сыворотки [sPEP], электрофорез белков в моче [uPEP], электрофорез с иммунофиксацией [IFE], уровни свободных легких цепей [sFLC] сыворотки, количественный анализ иммуноглобулина A [IgA], анализ мозга для количественной оценки плазматических клеток, в зависимости от обстоятельств), проведенных в центральной справочной лаборатории и/или локально, (например, скорректированный уровень кальция в сыворотке крови, компьютерная томография [КТ], позитронно-эмиссионной томографии/компьютерного сканирования [ПЭТ/КТ] или магнитно-резонансной томографии [МРТ] для оценки плазмоцитомы и/или КТ, ПЭТ/КТ, МРТ или обследования скелета для оценки поражения костей). Дополнительные переменные эффективности включают время до ответа, продолжительность ответа и выживаемость без прогрессирования.

Все субъекты безопасности с действительной базовой линией и по меньшей мере одной оценки ответа после базовой линии будут включены в анализ эффективности. Если лечение прекращается по различным причинам, за исключением прогрессирования заболевания, субъектам будет предложено продолжить оценки ответа в соответствии с установленным графиком оценки до прогрессирования, отзыва согласия, смерти или начала новой системной терапии против миеломы, в зависимости от того, что происходит ранее.

Обзор ключевых показателей оценки безопасности

Переменные безопасности для данного исследования включают нежелательные явления возникающие при лечении (ТЕАЕ) и изменения от базовой линии в физических результатах/жизненно важных признаках, выбранных лабораторных анализах и 12-канальных электрокардиограммах (ЭКГ). Дополнительные показатели безопасности включают степень экспозиции исследуемого препарата (обоих Соединения 2 и дексаметазона), оценки применения сопутствующих лекарственных препаратов, а также тест на беременность для женщин детородного потенциала (ЖДП).

Обзор фармакокинетических оценок

Профили ФК (начальной дозы и устойчивого состояния) будут оцениваться для Соединения 2, его

R-энантиомера (Соединение 3) и дексаметазона. Анализы экспозиция-ответ могут быть проведены по мере необходимости для помощи в идентификации RP2D Соединения 2.

Обзор фармакокинетических оценок

Биомаркеры будут оцениваться в крови и костном мозге на исходном уровне и в определенные моменты времени во время лечения исследуемым препаратом. Изменения уровней Aiolos и Ikaros по сравнению с исходным уровнем в мононуклеарных клетках периферической крови (P BMC) и миеломных клетках в костном мозге, иммунных фенотипах периферической крови и костного мозга, а также уровней провоспалительных цитокинов (например, интерлейкина-2 [IL-2], интерферона-гамма [IFN- γ]) будет оцениваться как функция дозы и схемы. Продольное количественное определение уровней sFLC и растворимого антигена созревания В-клеток (sBCMA), а также циркулирующих опухолевых клеток будет выполнено как средство для оценки ранних эффектов лечения. Изменения по сравнению с исходным уровнем в экспрессии цереблona и нижестоящих маркеров (например, с-Мус, IRF-4), а также в экспрессии генов в клетках миеломы будут оцениваться как средство для идентификации потенциальных маркеров ответа и устойчивости к Соединению 2 плюс дексаметазон. Наконец, обнаружение МОБ будет выполняться у субъектов, которые проходят оценку костного мозга для подтверждения полного ответа (ПО).

Будут сообщены точечные оценки и двухсторонние 95% доверительные интервалы для частот общего ответа (ЧОО). Дополнительные переменные эффективности включают продолжительность ответа, время до ответа и выживаемость без прогрессирования заболевания (ВБП). Результаты эффективности будут суммированы с использованием табулирования частоты для категориальных переменных или описательной статистики для переменных времени до события. Анализы эффективности будут представлены как оценки безопасности и эффективности (SE) для популяций, при этом результаты EE для популяции будут считаться первичными.

Промежуточные результаты фармакодинамического анализа

Экспрессию Aiolos измеряли с помощью проточной цитометрии в CD3+ Т-клетках до и во время лечения Соединением 2 при двух разных схемах дозирования (введение 1 р/д в дни 1-10 и дни 15-24 28-дневного цикла и введение 2 р/д в дни 1-3 и дни 15-17 28-дневного цикла). Как показано на фиг. 24А и 24В, разрушение Aiolos зависело от дозы и восстанавливалось во время перерывов в дозировании соединения по обоим схемам.

Экспрессию Ikaros измеряли с помощью проточной цитометрии в CD3+ Т-клетках до и во время лечения Соединением 2 при двух разных схемах дозирования (введение 1 р/д в дни 1-10 и дни 15-24 28-дневного цикла и введение 2 р/д в дни 1-3 и дни 15-17 28-дневного цикла). Как показано на фиг. 25А и 25В, разрушение Ikaros зависело от дозы и восстанавливалось во время перерывов в дозировании соединения по обоим схемам.

Образцы аспирата костного мозга отбирали до и во время лечения Соединением 2 (цикл 1). Из каждого образца были сделаны сгустки и превращены в фиксированными формалином и залитыми парафином блоки. Иммуногистохимические (ИГХ) анализы использовали для оценки экспрессии биомаркера. Баллы ИГХ определялись на основе процента и интенсивности положительного окрашивания. Как показано на фиг. 26А-26Е, Соединение 2 индуцировало разрушение Aiolos, Ikaros и ZFP91 в компартменте опухоли. Подавление Aiolos и Ikaros приводит к снижению экспрессии с-Мус и IRF4, что приводит к апоптозу опухолевых клеток и может использоваться для индикации ответа на лечение Соединением 2.

Образцы сыворотки отбирали до и во время обработки Соединением 2 в определенные моменты времени. Экспрессию sBCMA измеряли с помощью анализа ИФА. Как показано на фиг. 27, сигнал sBCMA снижался при обработке Соединением 2. Образцы от одного субъекта показали снижение sBCMA > 80% по сравнению с исходным уровнем, и субъект имел благоприятный ответ на лечение (очень хороший частичный ответ; VGPR). Степень снижения и продолжительность эффекта может предсказать ответ на лечение Соединением 2.

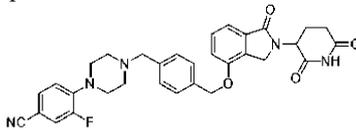
Образцы сыворотки отбирали до и во время обработки Соединением 2 в определенные моменты времени. Свободная легкая цепь в сыворотке (sFLC) может быть использована для измерения эффективности при множественной миеломе. Короткий период полувыведения sFLC дает возможность проследить динамический эффект комбинированного лечения на степень тяжести заболевания. Как показано на фиг. 28, сигнал sFLC снижался при обработке Соединением 2, что указывало на уничтожение опухолевых клеток. У двух субъектов было выявлено снижение sFLC более чем на 80% в течение первого цикла лечения и положительный ответ на лечение (ЧО и VGPR, соответственно). Степень снижения от исходного уровня и продолжительность эффекта может предсказать ответ на лечение Соединением 2.

Варианты осуществления, описанные выше предназначены только в качестве примеров и специалистам в данной области будет понятно или они смогут установить, используя не более чем рутинные эксперименты, многочисленные эквиваленты конкретных соединений, материалов и методик. Предполагается, что такие эквиваленты включены в объем данного изобретения и охватываются прилагаемой формулой изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- (a) введение лечебного соединения субъекту;
 - (b) получение образца от субъекта;
 - (c) определение уровня биомаркера в образце и
 - (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



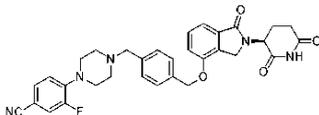
или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль, и

где биомаркер содержит одно или более из следующего:

- (i) цереблон (CRBN);
 - (ii) белок, связанный с CRBN, выбранный из группы, состоящей из IKZF1, IKZF3, ZFP91, c-MYC и IRF4;
 - (iii) маркер апоптоза, выбранный из группы, состоящей из расщепленной каспазы-1 (с-каспаза-1), расщепленной каспазы-3 (с-каспаза-3), расщепленной каспазы-7 (с-каспаза-7), расщепленного PARP, сурвивина, BIM BCL-2-подобного белка 11 (BIM) и бессывороточной легкой цепи (sFLC);
 - (iv) маркер остановки клеточного цикла, выбранный из группы, состоящей из ингибитора циклин-зависимой киназы 1 (p21), ингибитора циклинзависимой киназы 1B (p27) и белка ретинобластомы (pRb1);
 - (v) маркер активации Т-клеток, выбранный из группы, состоящей из растворимого CD25 (sCD25), интерлейкина-2 (IL-2), фактора некроза опухоли альфа (TNF α), гамма-интерферона (IFN γ) и клональности рецептора Т-клеток (TCR); и/или
 - (vi) циркулирующие опухолевые клетки (CTCs),
- где рак представляет собой множественную миелому (ММ).

2. Способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- (a) введение лечебного соединения субъекту;
 - (b) получение образца от субъекта;
 - (c) определение уровня биомаркера в образце и
 - (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и

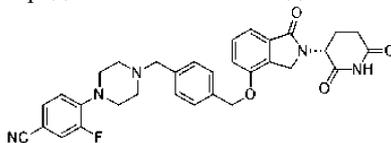
где биомаркер содержит одно или более из следующего:

- (i) цереблон (CRBN);
 - (ii) белок, связанный с CRBN, выбранный из группы, состоящей из IKZF1, IKZF3, ZFP91, c-MYC и IRF4;
 - (iii) маркер апоптоза, выбранный из группы, состоящей из расщепленной каспазы-1 (с-каспаза-1), расщепленной каспазы-3 (с-каспаза-3), расщепленной каспазы-7 (с-каспаза-7), расщепленного PARP, сурвивина, BIM BCL-2-подобного белка 11 (BIM) и бессывороточной легкой цепи (sFLC);
 - (iv) маркер остановки клеточного цикла, выбранный из группы, состоящей из ингибитора циклин-зависимой киназы 1 (p21), ингибитора циклинзависимой киназы 1B (p27) и белка ретинобластомы (pRb1);
 - (v) маркер активации Т-клеток, выбранный из группы, состоящей из растворимого CD25 (sCD25), интерлейкина-2 (IL-2), фактора некроза опухоли альфа (TNF α), гамма-интерферона (IFN γ) и клональности рецептора Т-клеток (TCR); и/или
 - (vi) циркулирующие опухолевые клетки (CTCs),
- где рак представляет собой множественную миелому (ММ).

3. Способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- (a) введение лечебного соединения субъекту;

- (b) получение образца от субъекта;
 (c) определение уровня биомаркера в образце и
 (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера;
 при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3

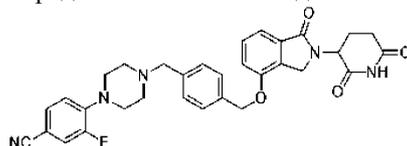


или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и где биомаркер содержит одно или более из следующего:

- (i) цереблон (CRBN);
 (ii) белок, связанный с CRBN, выбранный из группы, состоящей из IKZF1, IKZF3, ZFP91, c-MYC и IRF4;
 (iii) маркер апоптоза, выбранный из группы, состоящей из расщепленной каспазы-1 (с-каспаза-1), расщепленной каспазы-3 (с-каспаза-3), расщепленной каспазы-7 (с-каспаза-7), расщепленного PARP, сурвивина, BIM BCL-2-подобного белка 11 (BIM) и бессывороточной легкой цепи (sFLC);
 (iv) маркер остановки клеточного цикла, выбранный из группы, состоящей из ингибитора циклин-зависимой киназы 1 (p21), ингибитора циклинзависимой киназы 1B (p27) и белка ретинобластомы (pRb1);
 (v) маркер активации Т-клеток, выбранный из группы, состоящей из растворимого CD25 (sCD25), интерлейкина-2 (IL-2), фактора некроза опухоли альфа (TNF α), гамма-интерферона (IFN γ) и клоналности рецептора Т-клеток (TCR); и/или
 (vi) циркулирующие опухолевые клетки (CTCs), где рак представляет собой множественную миелому (ММ).

4. Способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- (a) получение образца от субъекта;
 (b) введение лечебного соединения в образец;
 (c) определение уровня биомаркера в образце; и
 (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера;
 при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и

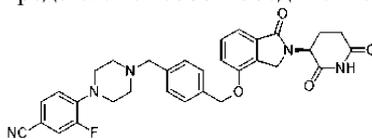
где биомаркер содержит одно или более из следующего:

- (i) цереблон (CRBN);
 (ii) белок, связанный с CRBN, выбранный из группы, состоящей из IKZF1, IKZF3, ZFP91, c-MYC и IRF4;
 (iii) маркер апоптоза, выбранный из группы, состоящей из расщепленной каспазы-1 (с-каспаза-1), расщепленной каспазы-3 (с-каспаза-3), расщепленной каспазы-7 (с-каспаза-7), расщепленного PARP, сурвивина, BIM BCL-2-подобного белка 11 (BIM) и бессывороточной легкой цепи (sFLC);
 (iv) маркер остановки клеточного цикла, выбранный из группы, состоящей из ингибитора циклин-зависимой киназы 1 (p21), ингибитора циклинзависимой киназы 1B (p27) и белка ретинобластомы (pRb1);
 (v) маркер активации Т-клеток, выбранный из группы, состоящей из растворимого CD25 (sCD25), интерлейкина-2 (IL-2), фактора некроза опухоли альфа (TNF α), гамма-интерферона (IFN γ) и клоналности рецептора Т-клеток (TCR); и/или
 (vi) циркулирующие опухолевые клетки (CTCs), где рак представляет собой множественную миелому (ММ).

5. Способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- (a) получение образца от субъекта;
 (b) введение лечебного соединения в образец;
 (c) определение уровня биомаркера в образце и
 (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уро-

вень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера;
при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2

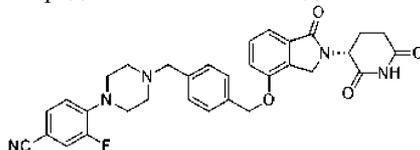


или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и где биомаркер содержит одно или более из следующего:

- (i) цереблон (CRBN);
- (ii) белок, связанный с CRBN, выбранный из группы, состоящей из IKZF1, IKZF3, ZFP91, c-MYC и IRF4;
- (iii) маркер апоптоза, выбранный из группы, состоящей из расщепленной каспазы-1 (с-каспаза-1), расщепленной каспазы-3 (с-каспаза-3), расщепленной каспазы-7 (с-каспаза-7), расщепленного PARP, сурвивина, BIM BCL-2-подобного белка 11 (BIM) и бессывороточной легкой цепи (sFLC);
- (iv) маркер остановки клеточного цикла, выбранный из группы, состоящей из: ингибитора циклин-зависимой киназы 1 (p21), ингибитора циклинзависимой киназы 1B (p27) и белка ретинобластомы (pRb1);
- (v) маркер активации Т-клеток, выбранный из группы, состоящей из растворимого CD25 (sCD25), интерлейкина-2 (IL-2), фактора некроза опухоли альфа (TNF α), гамма-интерферона (IFN γ) и клональности рецептора Т-клеток (TCR); и/или
- (vi) циркулирующие опухолевые клетки (CTCs), где рак представляет собой множественную миелому (MM).

6. Способ идентификации субъекта, имеющего рак, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

- (a) получение образца от субъекта;
- (b) введение лечебного соединения в образец;
- (c) определение уровня биомаркера в образце и
- (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера;
при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3

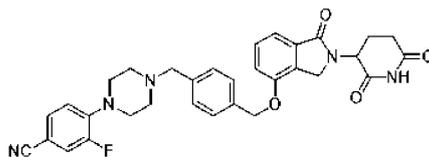


или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и где биомаркер содержит одно или более из следующего:

- (i) цереблон (CRBN);
- (ii) белок, связанный с CRBN, выбранный из группы, состоящей из IKZF1, IKZF3, ZFP91, c-MYC и IRF4;
- (iii) маркер апоптоза, выбранный из группы, состоящей из расщепленной каспазы-1 (с-каспаза-1), расщепленной каспазы-3 (с-каспаза-3), расщепленной каспазы-7 (с-каспаза-7), расщепленного PARP, сурвивина, BIM BCL-2-подобного белка 11 (BIM) и бессывороточной легкой цепи (sFLC);
- (iv) маркер остановки клеточного цикла, выбранный из группы, состоящей из ингибитора циклин-зависимой киназы 1 (p21), ингибитора циклинзависимой киназы 1B (p27) и белка ретинобластомы (pRb1);
- (v) маркер активации Т-клеток, выбранный из группы, состоящей из растворимого CD25 (sCD25), интерлейкина-2 (IL-2), фактора некроза опухоли альфа (TNF α), гамма-интерферона (IFN γ) и клональности рецептора Т-клеток (TCR); и/или
- (vi) циркулирующие опухолевые клетки (CTCs), где рак представляет собой множественную миелому (MM).

7. Способ лечения рака, включающий:

- (a) получение образца от субъекта, имеющего рак;
- (b) определение уровня биомаркера в образце;
- (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера; и
- (d) введение терапевтически эффективного количества лечебного соединения субъекту, который диагностирован как вероятно восприимчивый к лечебному соединению;
при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



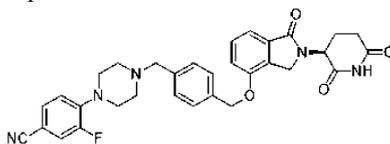
или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и

где биомаркер содержит одно или более из следующего:

- (i) цереблон (CRBN);
- (ii) белок, связанный с CRBN, выбранный из группы, состоящей из IKZF1, IKZF3, ZFP91, c-MYC и IRF4;
- (iii) маркер апоптоза, выбранный из группы, состоящей из расщепленной каспазы-1 (с-каспаза-1), расщепленной каспазы-3 (с-каспаза-3), расщепленной каспазы-7 (с-каспаза-7), расщепленного PARP, сурвивина, BIM BCL-2-подобного белка 11 (BIM) и бессывороточной легкой цепи (sFLC);
- (iv) маркер остановки клеточного цикла, выбранный из группы, состоящей из ингибитора циклин-зависимой киназы 1 (p21), ингибитора циклинзависимой киназы 1B (p27) и белка ретинобластомы (pRb1);
- (v) маркер активации Т-клеток, выбранный из группы, состоящей из растворимого CD25 (sCD25), интерлейкина-2 (IL-2), фактора некроза опухоли альфа (TNF α), гамма-интерферона (IFN γ) и клональности рецептора Т-клеток (TCR); и/или
- (vi) циркулирующие опухолевые клетки (CTCs), где рак представляет собой множественную миелому (MM).

8. Способ лечения рака, включающий:

- (a) получение образца от субъекта, имеющего рак;
 - (b) определение уровня биомаркера в образце;
 - (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера; и
 - (d) введение терапевтически эффективного количества лечебного соединения субъекту, который диагностирован как вероятно восприимчивый к лечебному соединению;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



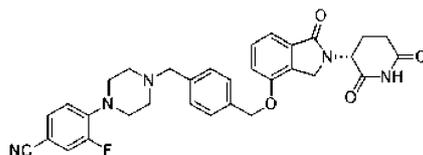
или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и

где биомаркер содержит одно или более из следующего:

- (i) цереблон (CRBN);
- (ii) белок, связанный с CRBN, выбранный из группы, состоящей из IKZF1, IKZF3, ZFP91, c-MYC и IRF4;
- (iii) маркер апоптоза, выбранный из группы, состоящей из расщепленной каспазы-1 (с-каспаза-1), расщепленной каспазы-3 (с-каспаза-3), расщепленной каспазы-7 (с-каспаза-7), расщепленного PARP, сурвивина, BIM BCL-2-подобного белка 11 (BIM) и бессывороточной легкой цепи (sFLC);
- (iv) маркер остановки клеточного цикла, выбранный из группы, состоящей из ингибитора циклин-зависимой киназы 1 (p21), ингибитора циклинзависимой киназы 1B (p27) и белка ретинобластомы (pRb1);
- (v) маркер активации Т-клеток, выбранный из группы, состоящей из растворимого CD25 (sCD25), интерлейкина-2 (IL-2), фактора некроза опухоли альфа (TNF α), гамма-интерферона (IFN γ) и клональности рецептора Т-клеток (TCR); и/или
- (vi) циркулирующие опухолевые клетки (CTCs), где рак представляет собой множественную миелому (MM).

9. Способ лечения рака, включающий:

- (a) получение образца от субъекта, имеющего рак;
 - (b) определение уровня биомаркера в образце;
 - (c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от контрольного уровня биомаркера; и
 - (d) введение терапевтически эффективного количества лечебного соединения субъекту, который диагностирован как вероятно восприимчивый к лечебному соединению;
- при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3

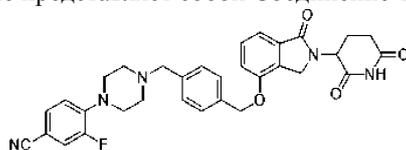


или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и где биомаркер содержит одно или более из следующего:

- (i) цереблон (CRBN);
- (ii) белок, связанный с CRBN, выбранный из группы, состоящей из IKZF1, IKZF3, ZFP91, c-MYC и IRF4;
- (iii) маркер апоптоза, выбранный из группы, состоящей из расщепленной каспазы-1 (с-каспаза-1), расщепленной каспазы-3 (с-каспаза-3), расщепленной каспазы-7 (с-каспаза-7), расщепленного PARP, сурвивина, BIM BCL-2-подобного белка 11 (BIM) и бессывороточной легкой цепи (sFLC);
- (iv) маркер остановки клеточного цикла, выбранный из группы, состоящей из ингибитора циклин-зависимой киназы 1 (p21), ингибитора циклинзависимой киназы 1B (p27) и белка ретинобластомы (pRb1);
- (v) маркер активации Т-клеток, выбранный из группы, состоящей из растворимого CD25 (sCD25), интерлейкина-2 (IL-2), фактора некроза опухоли альфа (TNF α), гамма-интерферона (IFN γ) и клональности рецептора Т-клеток (TCR); и/или
- (vi) циркулирующие опухолевые клетки (CTCs),
где рак представляет собой множественную миелому (ММ).

10. Способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

- (a) введение лечебного соединения субъекту;
- (b) получение образца от субъекта;
- (c) определение уровня биомаркера в образце и
- (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



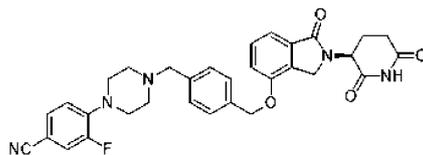
или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль, и

где биомаркер содержит одно или более из следующего:

- (i) цереблон (CRBN);
- (ii) белок, связанный с CRBN, выбранный из группы, состоящей из IKZF1, IKZF3, ZFP91, c-MYC и IRF4;
- (iii) маркер апоптоза, выбранный из группы, состоящей из расщепленной каспазы-1 (с-каспаза-1), расщепленной каспазы-3 (с-каспаза-3), расщепленной каспазы-7 (с-каспаза-7), расщепленного PARP, сурвивина, BIM BCL-2-подобного белка 11 (BIM) и бессывороточной легкой цепи (sFLC);
- (iv) маркер остановки клеточного цикла, выбранный из группы, состоящей из ингибитора циклин-зависимой киназы 1 (p21), ингибитора циклинзависимой киназы 1B (p27) и белка ретинобластомы (pRb1);
- (v) маркер активации Т-клеток, выбранный из группы, состоящей из растворимого CD25 (sCD25), интерлейкина-2 (IL-2), фактора некроза опухоли альфа (TNF α), гамма-интерферона (IFN γ) и клональности рецептора Т-клеток (TCR); и/или
- (vi) циркулирующие опухолевые клетки (CTCs),
где рак представляет собой множественную миелому (ММ).

11. Способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

- (a) введение лечебного соединения субъекту;
- (b) получение образца от субъекта;
- (c) определение уровня биомаркера в образце и
- (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2

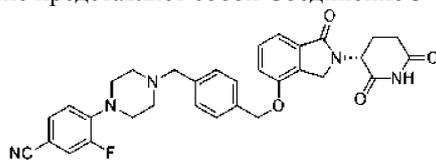


или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и где биомаркер содержит одно или более из следующего:

- (i) цереблон (CRBN);
- (ii) белок, связанный с CRBN, выбранный из группы, состоящей из IKZF1, IKZF3, ZFP91, c-MYC и IRF4;
- (iii) маркер апоптоза, выбранный из группы, состоящей из расщепленной каспазы-1 (с-каспаза-1), расщепленной каспазы-3 (с-каспаза-3), расщепленной каспазы-7 (с-каспаза-7), расщепленного PARP, сурвивина, BIM BCL-2-подобного белка 11 (BIM) и бессывороточной легкой цепи (sFLC);
- (iv) маркер остановки клеточного цикла, выбранный из группы, состоящей из ингибитора циклин-зависимой киназы 1 (p21), ингибитора циклинзависимой киназы 1B (p27) и белка ретинобластомы (pRb1);
- (v) маркер активации Т-клеток, выбранный из группы, состоящей из растворимого CD25 (sCD25), интерлейкина-2 (IL-2), фактора некроза опухоли альфа (TNF α), гамма-интерферона (IFN γ) и клоналности рецептора Т-клеток (TCR); и/или
- (vi) циркулирующие опухолевые клетки (CTCs), где рак представляет собой множественную миелому (ММ).

12. Способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

- (a) введение лечебного соединения субъекту;
- (b) получение образца от субъекта;
- (c) определение уровня биомаркера в образце и
- (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3

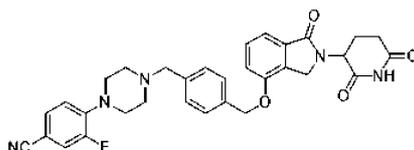


или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и где биомаркер содержит одно или более из следующего:

- (i) цереблон (CRBN);
- (ii) белок, связанный с CRBN, выбранный из группы, состоящей из IKZF1, IKZF3, ZFP91, c-MYC и IRF4;
- (iii) маркер апоптоза, выбранный из группы, состоящей из расщепленной каспазы-1 (с-каспаза-1), расщепленной каспазы-3 (с-каспаза-3), расщепленной каспазы-7 (с-каспаза-7), расщепленного PARP, сурвивина, BIM BCL-2-подобного белка 11 (BIM) и бессывороточной легкой цепи (sFLC);
- (iv) маркер остановки клеточного цикла, выбранный из группы, состоящей из ингибитора циклин-зависимой киназы 1 (p21), ингибитора циклинзависимой киназы 1B (p27) и белка ретинобластомы (pRb1);
- (v) маркер активации Т-клеток, выбранный из группы, состоящей из растворимого CD25 (sCD25), интерлейкина-2 (IL-2), фактора некроза опухоли альфа (TNF α), гамма-интерферона (IFN γ) и клоналности рецептора Т-клеток (TCR); и/или
- (vi) циркулирующие опухолевые клетки (CTCs), где рак представляет собой множественную миелому (ММ).

13. Способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

- (a) получение образца от субъекта;
- (b) введение лечебного соединения в образец;
- (c) определение уровня биомаркера в образце и
- (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



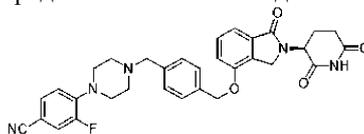
или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и

где биомаркер содержит одно или более из следующего:

- (i) цереблон (CRBN);
- (ii) белок, связанный с CRBN, выбранный из группы, состоящей из IKZF1, IKZF3, ZFP91, c-MYC и IRF4;
- (iii) маркер апоптоза, выбранный из группы, состоящей из расщепленной каспазы-1 (с-каспаза-1), расщепленной каспазы-3 (с-каспаза-3), расщепленной каспазы-7 (с-каспаза-7), расщепленного PARP, сурвивина, BIM BCL-2-подобного белка 11 (BIM) и бессывороточной легкой цепи (sFLC);
- (iv) маркер остановки клеточного цикла, выбранный из группы, состоящей из: ингибитора циклин-зависимой киназы 1 (p21), ингибитора циклинзависимой киназы 1B (p27) и белка ретинобластомы (pRb1);
- (v) маркер активации Т-клеток, выбранный из группы, состоящей из растворимого CD25 (sCD25), интерлейкина-2 (IL-2), фактора некроза опухоли альфа (TNF α), гамма-интерферона (IFN γ) и клональности рецептора Т-клеток (TCR); и/или
- (vi) циркулирующие опухолевые клетки (CTCs), где рак представляет собой множественную миелому (ММ).

14. Способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

- (a) получение образца от субъекта;
- (b) введение лечебного соединения в образец;
- (c) определение уровня биомаркера в образце и
- (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2

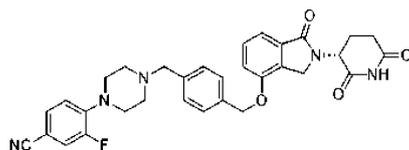


или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и где биомаркер содержит одно или более из следующего:

- (i) цереблон (CRBN);
- (ii) белок, связанный с CRBN, выбранный из группы, состоящей из IKZF1, IKZF3, ZFP91, c-MYC и IRF4;
- (iii) маркер апоптоза, выбранный из группы, состоящей из расщепленной каспазы-1 (с-каспаза-1), расщепленной каспазы-3 (с-каспаза-3), расщепленной каспазы-7 (с-каспаза-7), расщепленного PARP, сурвивина, BIM BCL-2-подобного белка 11 (BIM) и бессывороточной легкой цепи (sFLC);
- (iv) маркер остановки клеточного цикла, выбранный из группы, состоящей из ингибитора циклин-зависимой киназы 1 (p21), ингибитора циклинзависимой киназы 1B (p27) и белка ретинобластомы (pRb1);
- (v) маркер активации Т-клеток, выбранный из группы, состоящей из растворимого CD25 (sCD25), интерлейкина-2 (IL-2), фактора некроза опухоли альфа (TNF α), гамма-интерферона (IFN γ) и клональности рецептора Т-клеток (TCR); и/или
- (vi) циркулирующие опухолевые клетки (CTCs), где рак представляет собой множественную миелому (ММ).

15. Способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего рак или с подозрением на рак, к лечебному соединению, включающий:

- (a) получение образца от субъекта;
- (b) введение лечебного соединения в образец;
- (c) определение уровня биомаркера в образце и
- (d) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце отличается от уровня биомаркера, полученного из контрольного образца; при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и где биомаркер содержит одно или более из следующего:

- (i) цереблон (CRBN);
- (ii) белок, связанный с CRBN, выбранный из группы, состоящей из IKZF1, IKZF3, ZFP91, c-MYC и IRF4;
- (iii) маркер апоптоза, выбранный из группы, состоящей из расщепленной каспазы-1 (с-каспаза-1), расщепленной каспазы-3 (с-каспаза-3), расщепленной каспазы-7 (с-каспаза-7), расщепленного PARP, сурвивина, BIM BCL-2-подобного белка 11 (BIM) и бессывороточной легкой цепи (sFLC);
- (iv) маркер остановки клеточного цикла, выбранный из группы, состоящей из: ингибитора циклин-зависимой киназы 1 (p21), ингибитора циклинзависимой киназы 1B (p27) и белка ретинобластомы (pRb1);
- (v) маркер активации Т-клеток, выбранный из группы, состоящей из растворимого CD25 (sCD25), интерлейкина-2 (IL-2), фактора некроза опухоли альфа (TNF α), гамма-интерферона (IFN γ) и клональности рецептора Т-клеток (TCR); и/или
- (vi) циркулирующие опухолевые клетки (CTCs), где рак представляет собой множественную миелому (ММ).

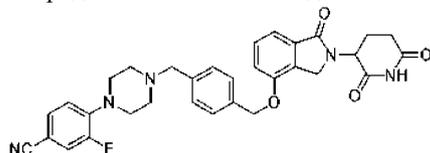
16. Способ по любому из пп.1-15, отличающийся тем, что уровень биомаркера в образце выше, чем контрольный уровень биомаркера.

17. Способ по любому из пп.1-15, отличающийся тем, что уровень биомаркера в образце ниже, чем контрольный уровень биомаркера

18. Способ мониторинга эффективности лечебного соединения при лечении рака у субъекта, включающий:

- (a) введение лечебного соединения субъекту;
- (b) получение образца от субъекта;
- (c) определение уровня биомаркера в образце и
- (d) сравнение уровня биомаркера в образце с уровнем биомаркера, полученного из контрольного образца, при этом изменение уровня биомаркера указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и

где биомаркер содержит одно или более из следующего:

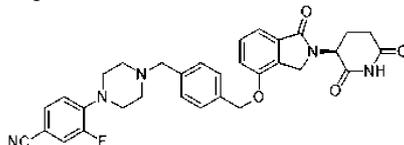
- (i) цереблон (CRBN);
- (ii) белок, связанный с CRBN, выбранный из группы, состоящей из IKZF1, IKZF3, ZFP91, c-MYC и IRF4;
- (iii) маркер апоптоза, выбранный из группы, состоящей из расщепленной каспазы-1 (с-каспаза-1), расщепленной каспазы-3 (с-каспаза-3), расщепленной каспазы-7 (с-каспаза-7), расщепленного PARP, сурвивина, BIM BCL-2-подобного белка 11 (BIM) и бессывороточной легкой цепи (sFLC);
- (iv) маркер остановки клеточного цикла, выбранный из группы, состоящей из: ингибитора циклин-зависимой киназы 1 (p21), ингибитора циклинзависимой киназы 1B (p27) и белка ретинобластомы (pRb1);
- (v) маркер активации Т-клеток, выбранный из группы, состоящей из растворимого CD25 (sCD25), интерлейкина-2 (IL-2), фактора некроза опухоли альфа (TNF α), гамма-интерферона (IFN γ) и клональности рецептора Т-клеток (TCR); и/или
- (vi) циркулирующие опухолевые клетки (CTCs), где рак представляет собой множественную миелому (ММ).

19. Способ мониторинга эффективности лечебного соединения при лечении рака у субъекта, включающий:

- (a) введение лечебного соединения субъекту;
- (b) получение образца от субъекта;
- (c) определение уровня биомаркера в образце и

(d) сравнение уровня биомаркера в образце с уровнем биомаркера, полученного из контрольного образца, при этом изменение уровня биомаркера указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 2



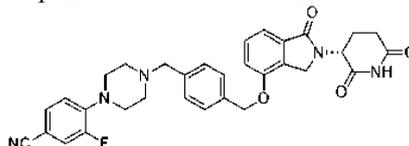
или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и где биомаркер содержит одно или более из следующего:

- (i) цереблон (CRBN);
- (ii) белок, связанный с CRBN, выбранный из группы, состоящей из IKZF1, IKZF3, ZFP91, c-MYC и IRF4;
- (iii) маркер апоптоза, выбранный из группы, состоящей из расщепленной каспазы-1 (с-каспаза-1), расщепленной каспазы-3 (с-каспаза-3), расщепленной каспазы-7 (с-каспаза-7), расщепленного PARP, сурвивина, BIM BCL-2-подобного белка 11 (BIM) и бессывороточной легкой цепи (sFLC);
- (iv) маркер остановки клеточного цикла, выбранный из группы, состоящей из ингибитора циклин-зависимой киназы 1 (p21), ингибитора циклинзависимой киназы 1B (p27) и белка ретинобластомы (pRb1);
- (v) маркер активации Т-клеток, выбранный из группы, состоящей из растворимого CD25 (sCD25), интерлейкина-2 (IL-2), фактора некроза опухоли альфа (TNF α), гамма-интерферона (IFN γ) и клоналности рецептора Т-клеток (TCR); и/или
- (vi) циркулирующие опухолевые клетки (CTCs), где рак представляет собой множественную миелому (MM).

20. Способ мониторинга эффективности лечебного соединения при лечении рака у субъекта, включающий:

- (a) введение лечебного соединения субъекту;
- (b) получение образца от субъекта;
- (c) определение уровня биомаркера в образце и
- (d) сравнение уровня биомаркера в образце с уровнем биомаркера, полученного из контрольного образца, при этом изменение уровня биомаркера указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта;

при этом лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и где биомаркер содержит одно или более из следующего:

- (i) цереблон (CRBN);
- (ii) белок, связанный с CRBN, выбранный из группы, состоящей из IKZF1, IKZF3, ZFP91, c-MYC и IRF4;
- (iii) маркер апоптоза, выбранный из группы, состоящей из расщепленной каспазы-1 (с-каспаза-1), расщепленной каспазы-3 (с-каспаза-3), расщепленной каспазы-7 (с-каспаза-7), расщепленного PARP, сурвивина, BIM BCL-2-подобного белка 11 (BIM) и бессывороточной легкой цепи (sFLC);
- (iv) маркер остановки клеточного цикла, выбранный из группы, состоящей из ингибитора циклин-зависимой киназы 1 (p21), ингибитора циклинзависимой киназы 1B (p27) и белка ретинобластомы (pRb1);
- (v) маркер активации Т-клеток, выбранный из группы, состоящей из растворимого CD25 (sCD25), интерлейкина-2 (IL-2), фактора некроза опухоли альфа (TNF α), гамма-интерферона (IFN γ) и клоналности рецептора Т-клеток (TCR); и/или
- (vi) циркулирующие опухолевые клетки (CTCs), где рак представляет собой множественную миелому (MM).

21. Способ по пп.18-20, отличающийся тем, что повышенный уровень биомаркера по сравнению с контрольным уровнем указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта.

22. Способ по пп.18-20, отличающийся тем, что пониженный уровень биомаркера по сравнению с контрольным уровнем указывает на эффективность лечебного соединения при лечении рака у субъекта.

23. Способ по любому из пп.1-6 и 10-17, дополнительно включающий введение терапевтически эффективного количества лечебного соединения субъекту, который диагностирован как вероятно воспри-

имчивый к лечебному соединению.

24. Способ по любому из пп.7-9 и 23, дополнительно включающий введение терапевтически эффективного количества второго активного агента или поддерживающей терапии.

25. Способ по п.24, отличающийся тем, что второй активный агент выбран из группы, включающей высокомолекулярные соединения, низкомолекулярные соединения или клеточные терапии, а второй активный агент необязательно выбран из группы, включающей мелфалан, винкристин, циклофосфамид, этопозид, доксорубин, бендамустин, ингибитор протеасом, ингибитор гистондеацетилазы, ингибитор ВЕТ, ингибитор BCL2, ингибитор MCL-1, кортикостероид, дексаметазон, антитело, ингибитор контрольной точки и клетки CAR.

26. Способ по любому из пп.1-25, отличающийся тем, что контрольный образец получают от субъекта перед введением лечебного соединения субъекту и при этом контрольный образец получают из того же источника, что и образец.

27. Способ по любому из пп.1-25, отличающийся тем, что контрольный образец получают от здорового субъекта, не имеющего рак, и при этом контрольный образец получают из того же источника, что и образец.

28. Способ по любому из пп.1-25, отличающийся тем, что контрольный образец получают от субъекта, получающего противораковое соединение, которое не является указанным лечебным соединением, и при этом контрольный образец получают из того же источника, что и образец.

29. Способ по любому из 1-28, отличающийся тем, что указанное противораковое соединение выбрано из группы, включающей леналидомид или помалидомид.

30. Способ по любому из пп.1-29, отличающийся тем, что ММ является рецидивирующей, рефрактерной или резистентной к традиционной терапии.

31. Способ по любому из пп.1-30, отличающийся тем, что биомаркер представляет собой цереброн (CRBN).

32. Способ по любому из пп.1-30, отличающийся тем, что биомаркер является белком, связанным с CRBN, выбранный из группы, состоящей из IKZF1, IKZF3, ZFP91, c-MYC и IRF4.

33. Способ по любому из пп.1-30, отличающийся тем, что биомаркер представляет собой маркер апоптоза, выбранный из группы, состоящей из расщепленной каспазы-1 (с-каспаза-1), расщепленной каспазы-3 (с-каспаза-3), расщепленной каспазы-7 (с-каспаза-7), расщепленного PARP, сурвивина, B1M BCL-2-подобного белка 11 (B1M) и бессывороточной легкой цепи (sFLC).

34. Способ по любому из пп.1-30, отличающийся тем, что биомаркер представляет собой маркер остановки клеточного цикла, выбранный из группы, состоящей из ингибитора циклинзависимой киназы 1 (p21), ингибитора циклинзависимой киназы 1B (p27) и белка ретинобластомы (pRb1).

35. Способ по любому из пп.1-30, отличающийся тем, что биомаркер представляет собой маркер активации Т-клеток, выбранный из группы, состоящей из растворимого CD25 (sCD25), интерлейкина-2 (IL-2), фактора некроза опухоли альфа (TNF α), гамма-интерферона (IFN γ) и клоальности рецептора Т-клеток (TCR).

36. Способ по любому из пп.1-30, отличающийся тем, что биомаркер представляет собой циркулирующие опухолевые клетки (CTCs).

37. Способ по п.32, отличающийся тем, что биомаркер представляет собой IKZF1.

38. Способ по п.32, отличающийся тем, что биомаркер представляет собой IKZF3.

39. Способ по п.32, отличающийся тем, что биомаркер представляет собой ZFP91.

40. Способ по п.32, отличающийся тем, что биомаркер представляет собой c-MYC.

41. Способ по п.32, отличающийся тем, что биомаркер представляет собой IRF4.

42. Способ по п.33, отличающийся тем, что биомаркер представляет собой расщепленную каспазу-3 (p-каспазу-3).

43. Способ по п.33, отличающийся тем, что биомаркер представляет собой расщепленную каспазу-1 (p-каспазу-1).

44. Способ по п.33, отличающийся тем, что биомаркер представляет собой расщепленную каспазу-7 (p-каспазу-7).

45. Способ по п.33, отличающийся тем, что биомаркер представляет собой расщепленный PARP.

46. Способ по п.33, отличающийся тем, что биомаркер представляет собой сурвивин.

47. Способ по п.33, отличающийся тем, что биомаркер представляет собой BCL-2-подобный белок 11 (B1M).

48. Способ по п.34, отличающийся тем, что биомаркер представляет собой p21.

49. Способ по п.34, отличающийся тем, что биомаркер представляет собой p27.

50. Способ по п.34, отличающийся тем, что биомаркер представляет собой pRb1.

51. Способ по п.35, отличающийся тем, что биомаркер представляет собой растворимый CD25 (sCD25).

52. Способ по п.35, отличающийся тем, что биомаркер представляет собой IL-2.

53. Способ по п.35, отличающийся тем, что биомаркер представляет собой TNF α .

54. Способ по п.35, отличающийся тем, что биомаркер представляет собой IFN γ .

55. Способ по п.35, отличающийся тем, что биомаркер представляет собой клональность T-клеточного рецептора (ТКР).

56. Способ по п.55, отличающийся тем, что биомаркер измеряют путем секвенирования ДНК ТКР.

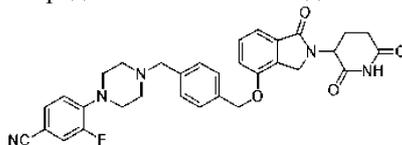
57. Способ идентификации субъекта со множественной миеломой, которая является рецидивирующей, рефрактерной или резистентной к традиционной терапии, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

(a) получение образца от субъекта;

(b) определение уровня биомаркера в образце и

(c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце ниже контрольного уровня биомаркера;

в котором лечебное соединение представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и где биомаркер представляет собой CRBN.

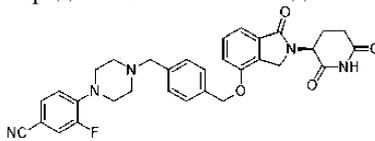
58. Способ идентификации субъекта со множественной миеломой, которая является рецидивирующей, рефрактерной или резистентной к традиционной терапии, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

(a) получение образца от субъекта;

(b) определение уровня биомаркера в образце и

(c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце ниже контрольного уровня биомаркера;

в котором лечебное соединение представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и где биомаркер представляет собой CRBN.

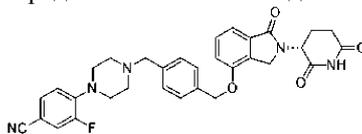
59. Способ идентификации субъекта со множественной миеломой, которая является рецидивирующей, рефрактерной или резистентной к традиционной терапии, который вероятно будет восприимчивым к лечебному соединению, включающий:

(a) получение образца от субъекта;

(b) определение уровня биомаркера в образце и

(c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце ниже контрольного уровня биомаркера;

в котором лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и где биомаркер представляет собой CRBN.

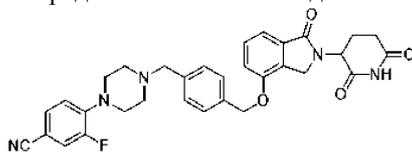
60. Способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего множественную миелому, к лечебному соединению, включающий:

(a) получение образца от субъекта;

(b) определение уровня биомаркера в образце и

(c) диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце ниже контрольного уровня биомаркера;

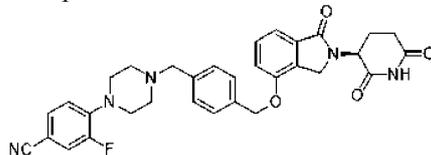
в котором лечебное соединение представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и где биомаркер представляет собой CRBN.

61. Способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего множественную миелому, к лечебному соединению, включающий:

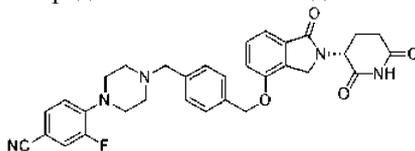
- получение образца от субъекта;
 - определение уровня биомаркера в образце и
 - диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце ниже контрольного уровня биомаркера;
- в котором лечебное соединение представляет собой Соединение 2



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и где биомаркер представляет собой CRBN.

62. Способ прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего множественную миелому, к лечебному соединению, включающий:

- получение образца от субъекта;
 - определение уровня биомаркера в образце и
 - диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце ниже контрольного уровня биомаркера;
- в котором лечебное соединение представляет собой Соединение 3



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и где биомаркер представляет собой CRBN.

63. Способ по любому из пп.57-62, включающий диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если уровень биомаркера в образце ниже контрольного уровня биомаркера.

64. Способ по любому из пп.57-62, включающий диагностирование субъекта как вероятно восприимчивого к лечебному соединению, если в образце обнаруживается биомаркер.

65. Способ по любому из пп.1-54 или 57-64, отличающийся тем, что уровень биомаркера измеряют путем определения уровня белка биомаркера.

66. Способ по любому из пп.1-54 или 57-64, отличающийся тем, что уровень биомаркера измеряют путем определения уровня мРНК биомаркера.

67. Способ по любому из пп.1-54 или 57-64, отличающийся тем, что уровень биомаркера измеряют путем определения уровня кДНК биомаркера.

68. Способ по любому из пп.1-54 или 57-64, отличающийся тем, что биомаркер определяют путем секвенирования РНК (РНК-секвенирование).

69. Способ по п.65, включающий приведение в контакт белков в образце с первым антителом, которое иммуноспецифически связывается с белком-биомаркером.

70. Способ по п.69, дополнительно включающий:

(а) приведение в контакт белка-биомаркера, связанного с первым антителом, со вторым антителом с детектируемой меткой, при этом второе антитело иммуноспецифически связывается с белком-биомаркером, и при этом второе антитело иммуноспецифически связывается с другим эпитопом на белке-биомаркере, чем первое антитело;

(б) обнаружение присутствия второго антитела, связанного с белком-биомаркером; и

(с) определение количества белка-биомаркера на основе количества детектируемой метки на втором антителе.

71. Способ по п.69, дополнительно включающий:

(а) приведение в контакт первого антитела, связанного с белком-биомаркером, со вторым антителом с детектируемой меткой, при этом второе антитело иммуноспецифически связывается с первым антителом;

(б) обнаружение присутствия второго антитела, связанного с первым антителом; и

(с) определение количества белка-биомаркера на основе количества детектируемой метки на втором антителе.

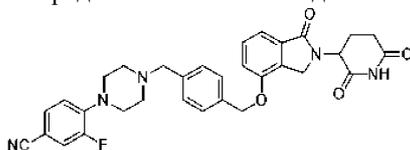
72. Способ определения или корректировки дозы для лечения субъекта, имеющего множественную миелому, лечебным соединением, включающий:

(а) введение субъекту дозы лечебного соединения;

(b) получение одного или более образцов от субъекта после того, как лечебное соединение введено субъекту; и

(c) определение уровня биомаркера в одном или более образцах и, таким образом, определение того, является ли доза подходящей или требует корректировки;

в котором лечебное соединении представляет собой Соединение 1



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и где биомаркер содержит IKZF1 и/или IKZF3.

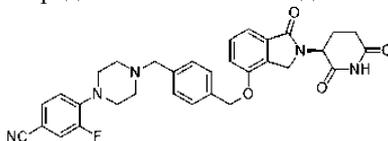
73. Способ определения или корректировки дозы для лечения субъекта, имеющего множественную миелому, лечебным соединением, включающий:

(a) введение субъекту дозы лечебного соединения;

(b) получение одного или более образцов от субъекта после того, как лечебное соединение введено субъекту; и

(c) определение уровня биомаркера в одном или более образцах и, таким образом, определение того, является ли доза подходящей или требует корректировки;

в котором лечебное соединении представляет собой Соединение 2:



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и где биомаркер содержит IKZF1 и/или IKZF3.

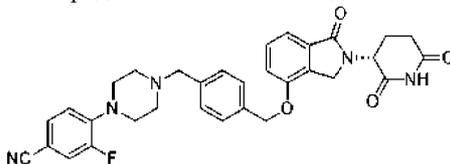
74. Способ определения или корректировки дозы для лечения субъекта, имеющего множественную миелому, лечебным соединением, включающий:

(a) введение субъекту дозы лечебного соединения;

(b) получение одного или более образцов от субъекта после того, как лечебное соединение введено субъекту; и

(c) определение уровня биомаркера в одном или более образцах и, таким образом, определение того, является ли доза подходящей или требует корректировки;

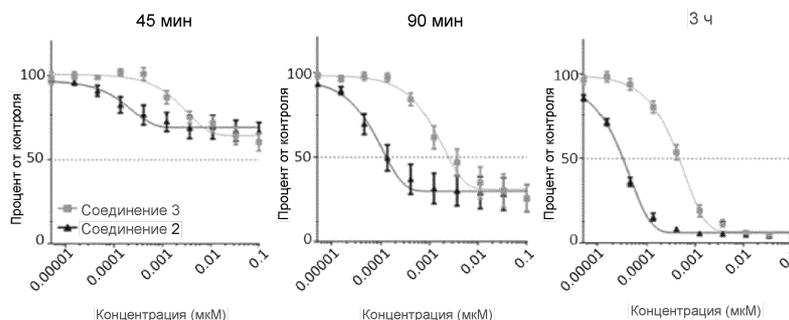
в котором лечебное соединении представляет собой Соединение 3



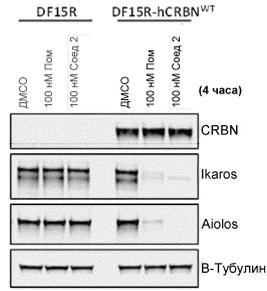
или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и где биомаркер содержит IKZF1 и/или IKZF3.

75. Способ по любому из пп.72-74, отличающийся тем, что биомаркер представляет собой IKZF1.

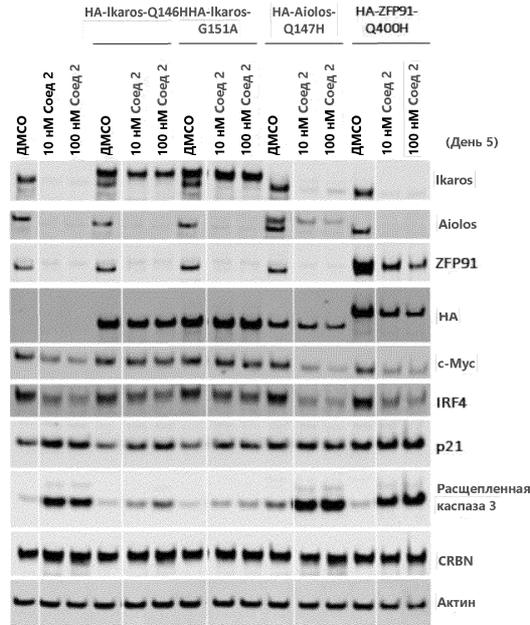
76. Способ по любому из пп.72-74, отличающийся тем, что биомаркер представляет собой IKZF3.



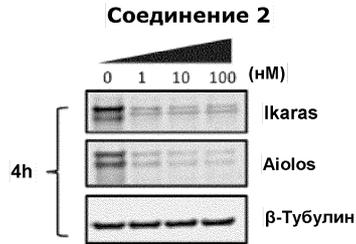
Фиг. 1



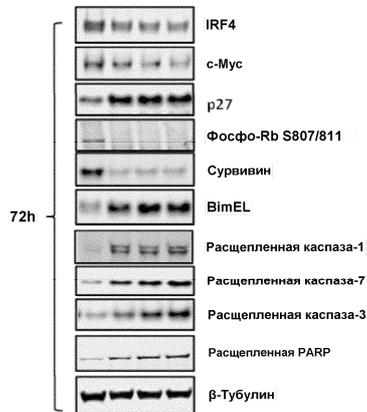
Фиг. 5А



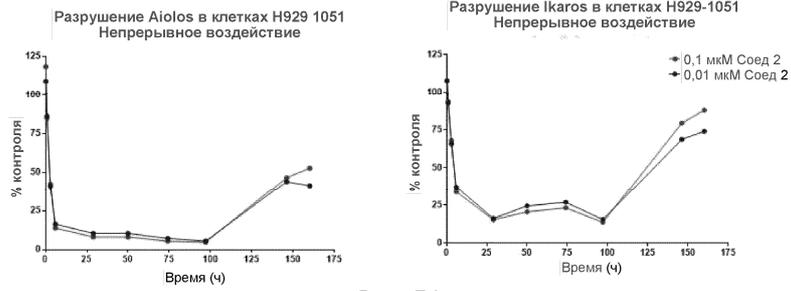
Фиг. 5В



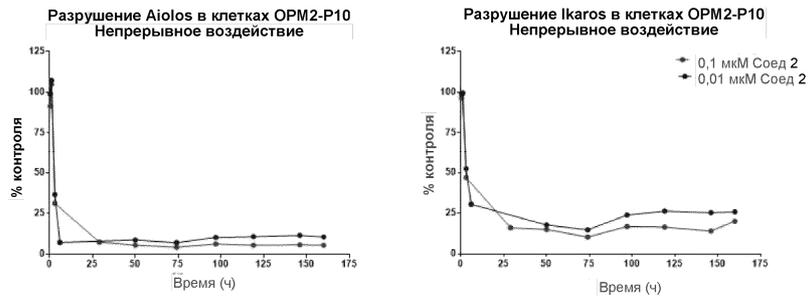
Фиг. 6А



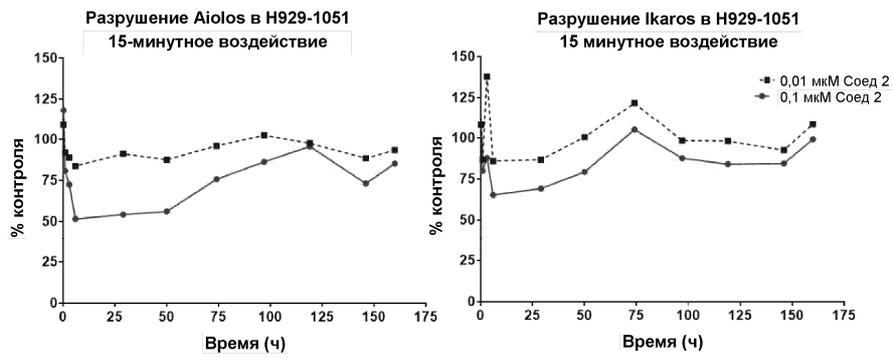
Фиг. 6В



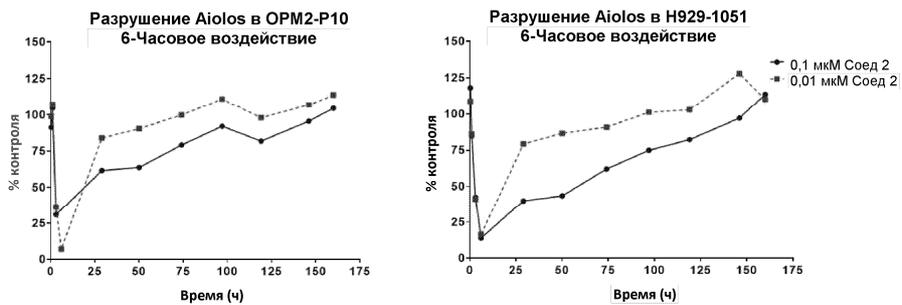
Фиг. 7А



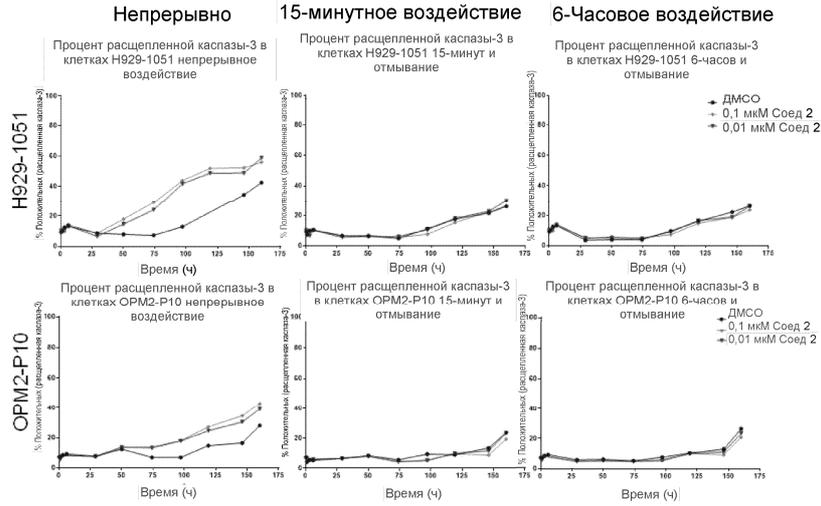
Фиг. 7В



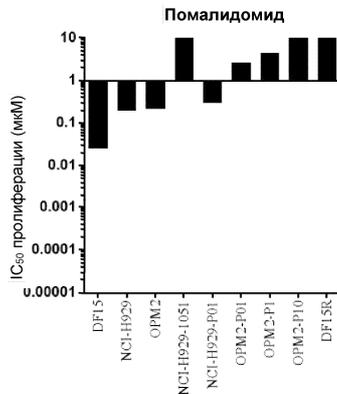
Фиг. 8



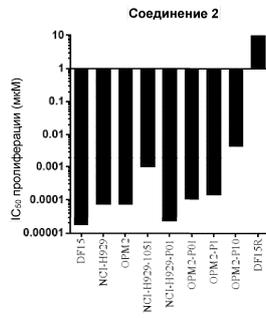
Фиг. 9



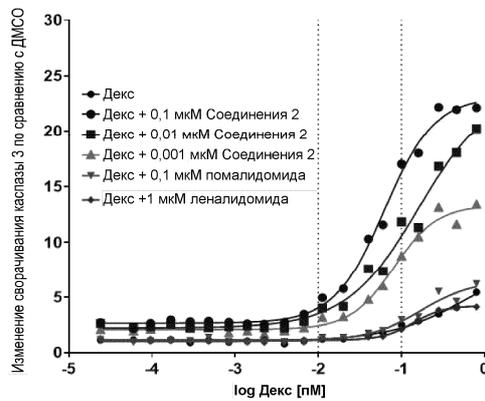
Фиг. 10



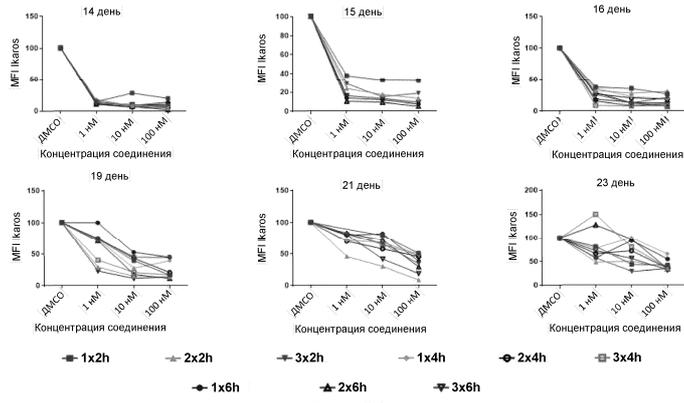
Фиг. 11А



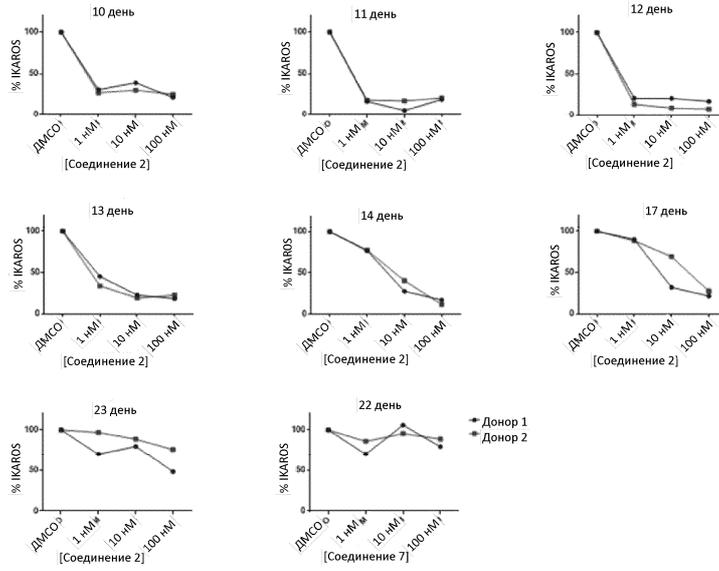
Фиг. 11В



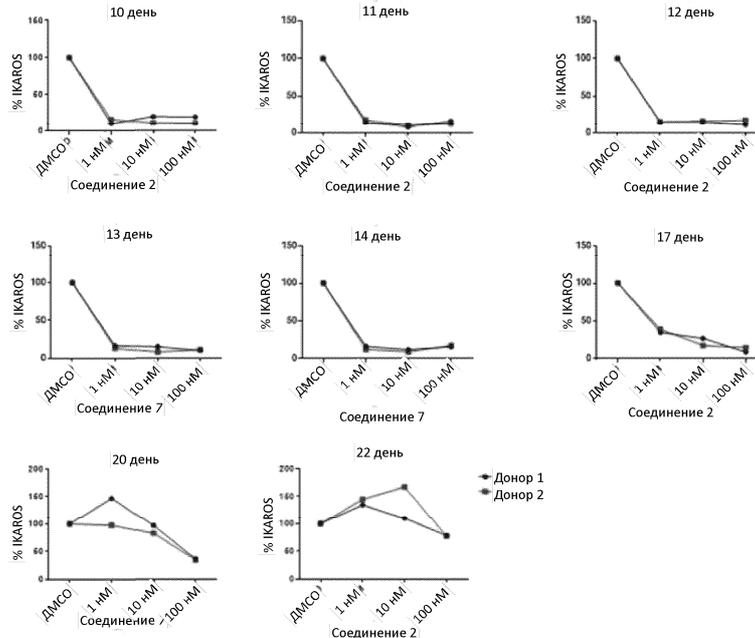
Фиг. 12



Фиг. 13

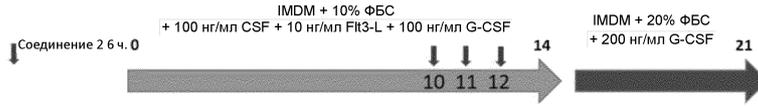


Фиг. 14

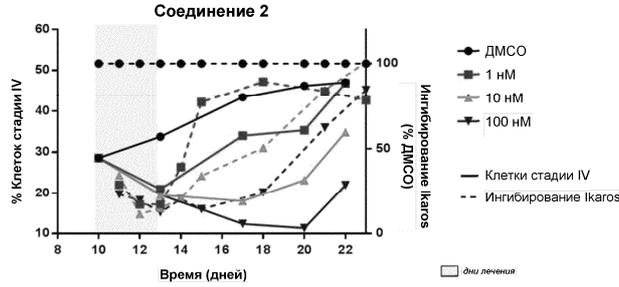


Фиг. 15

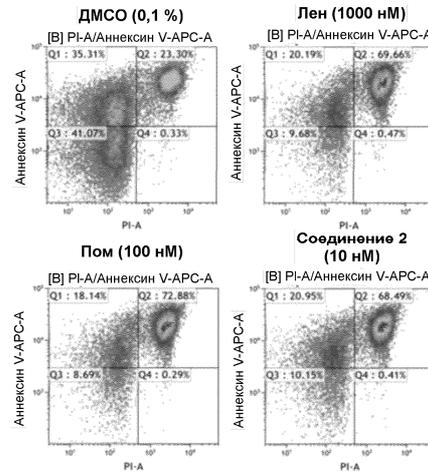
045896



Фиг. 16А

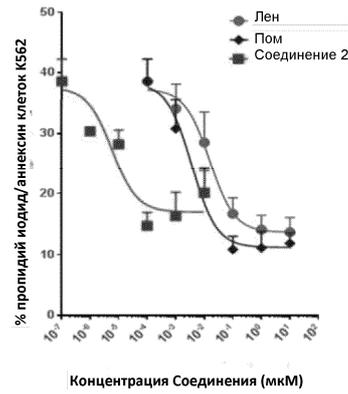


Фиг. 16В



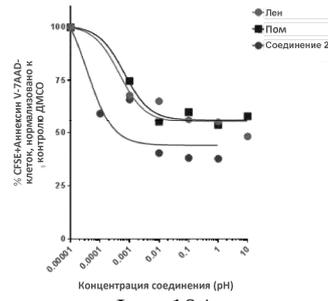
Фиг. 17А

Совместное культивирование РВМС + К562
(Необработанные данные, n=4 донора)



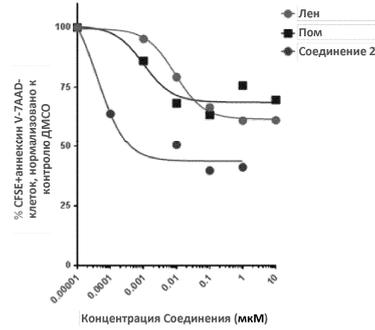
Фиг. 17В

H929+донор 4294
(совместное культивирование в течение 24 часов)

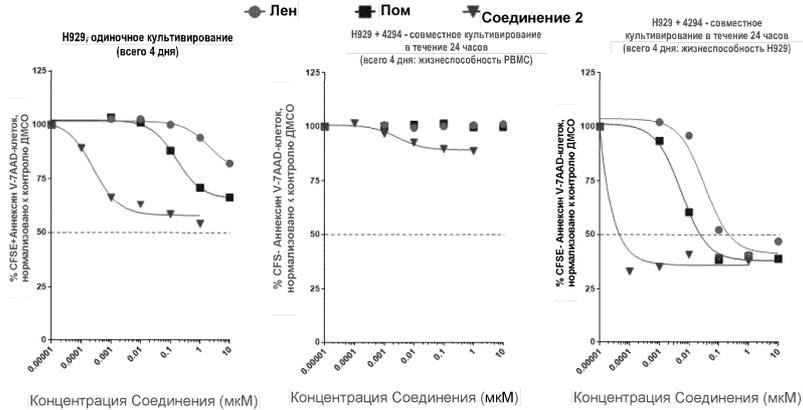


Фиг. 18А

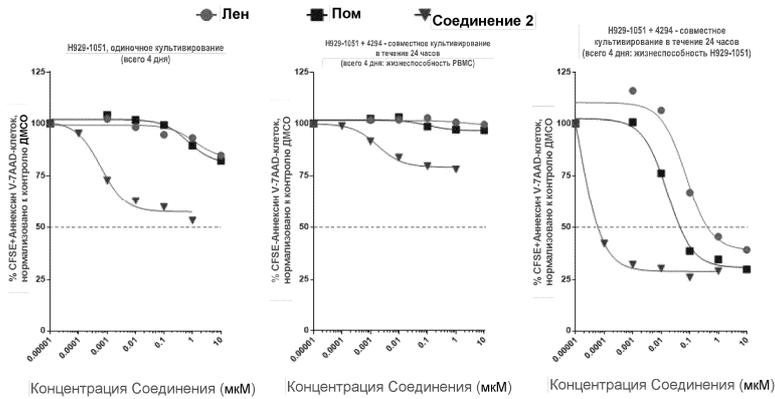
H929 1051 1051+ донор 4294
(совместное культивирование в течение 24 часов)



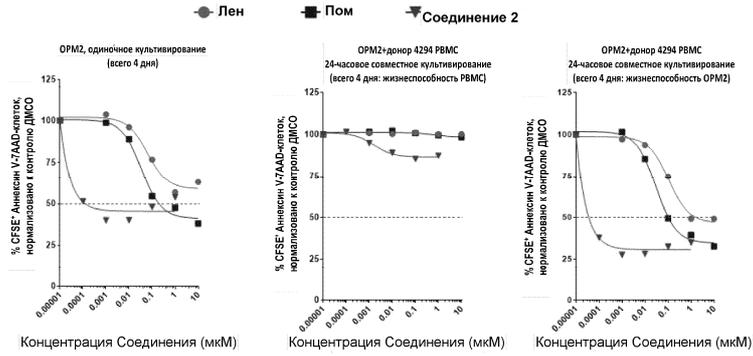
Фиг. 18В



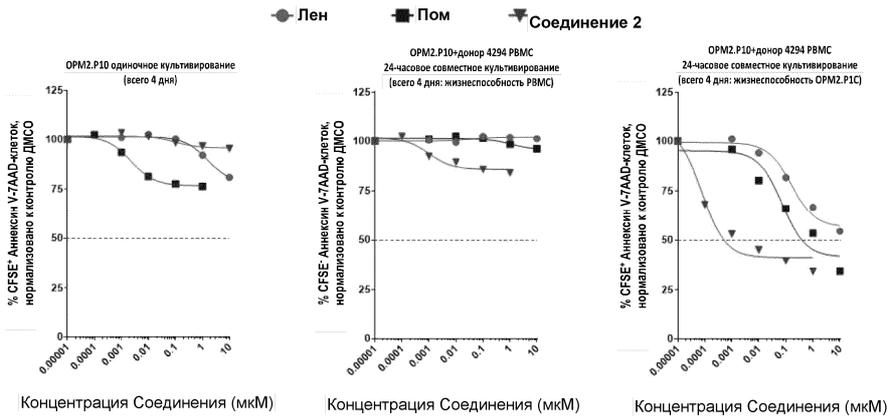
Фиг. 19А



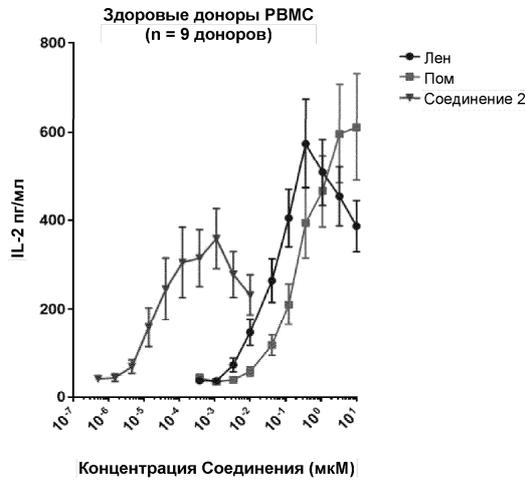
Фиг. 19В



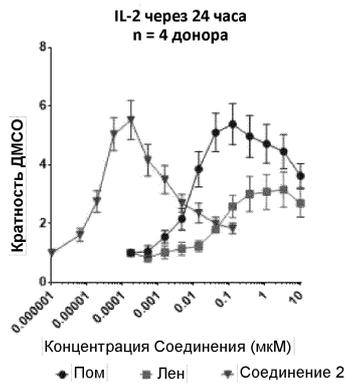
Фиг. 19С



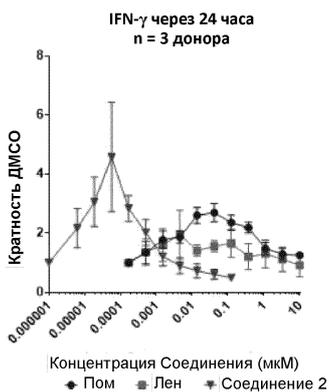
Фиг. 19D



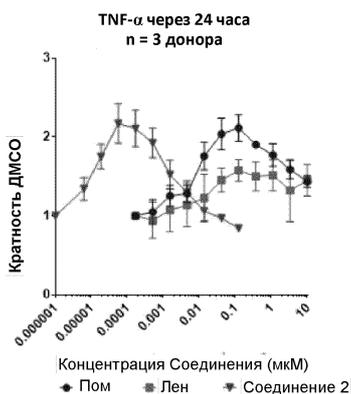
Фиг. 20



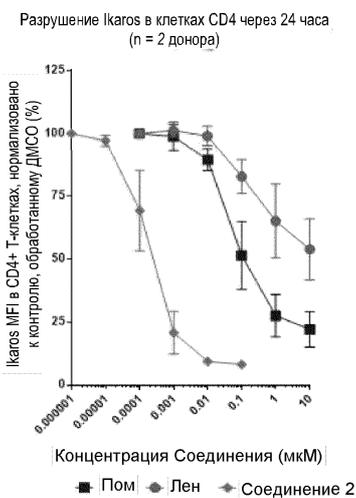
Фиг. 21А



Фиг. 21В

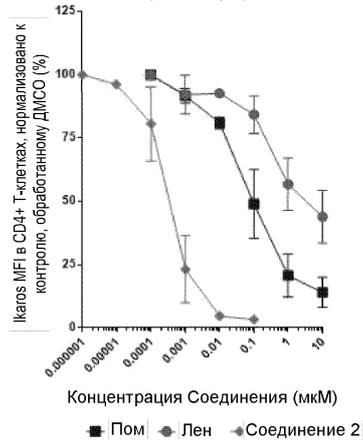


Фиг. 21С



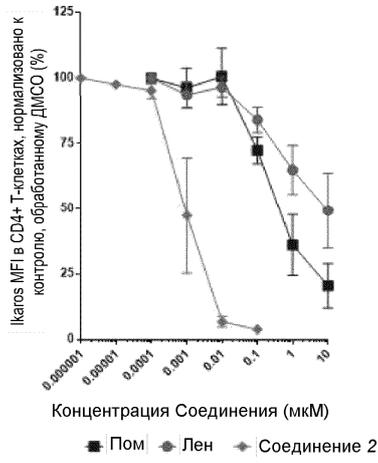
Фиг. 22А

Разрушение Ikaros в клетках CD4 через 43 часа
(n = 2 доноров)

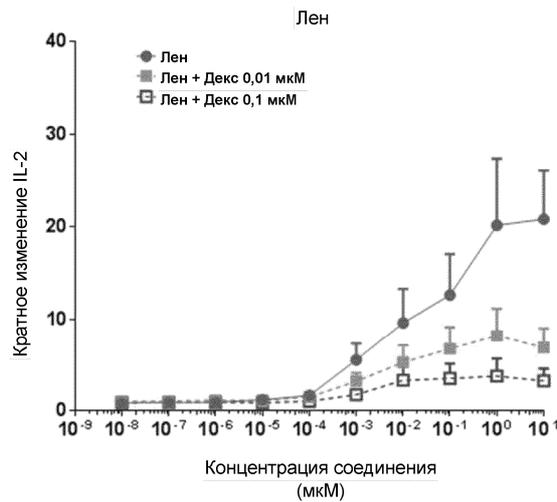


Фиг. 22В

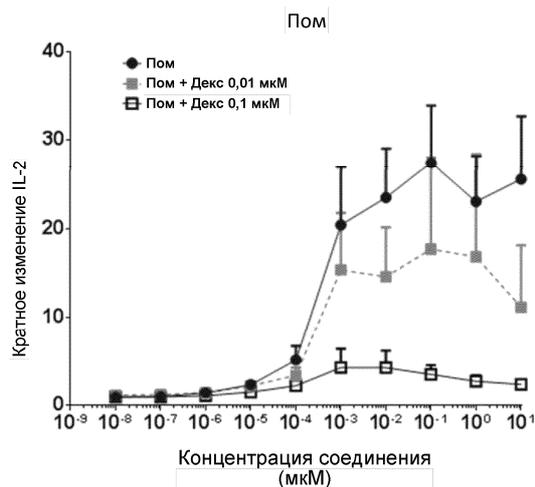
Разрушение Ikaros в клетках CD4 через 72 часа
(n = 2 доноров)



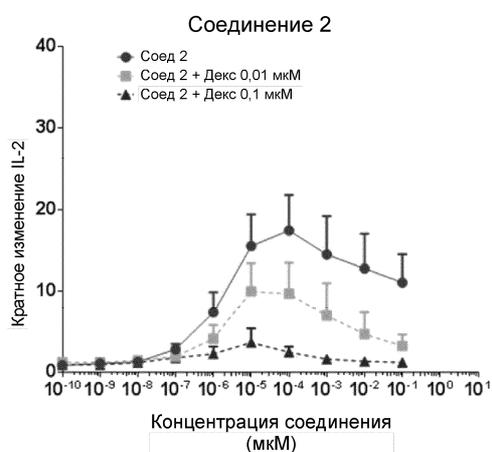
Фиг. 22С



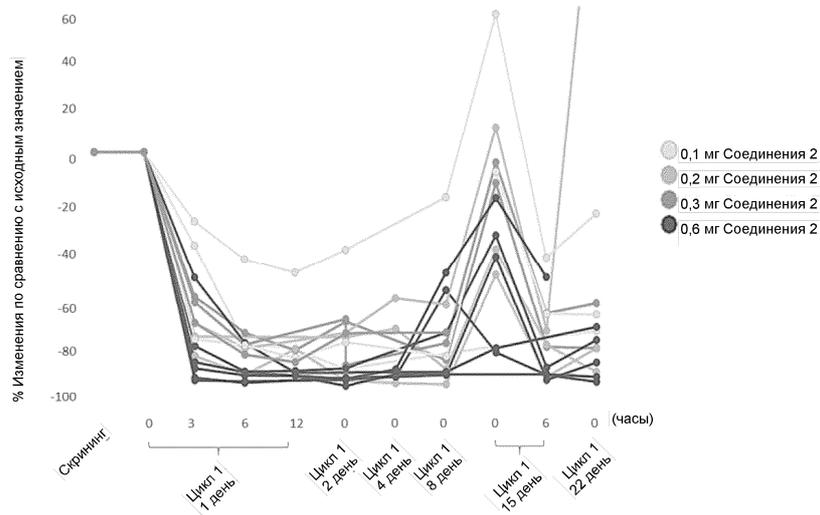
Фиг. 23А



Фиг. 23В

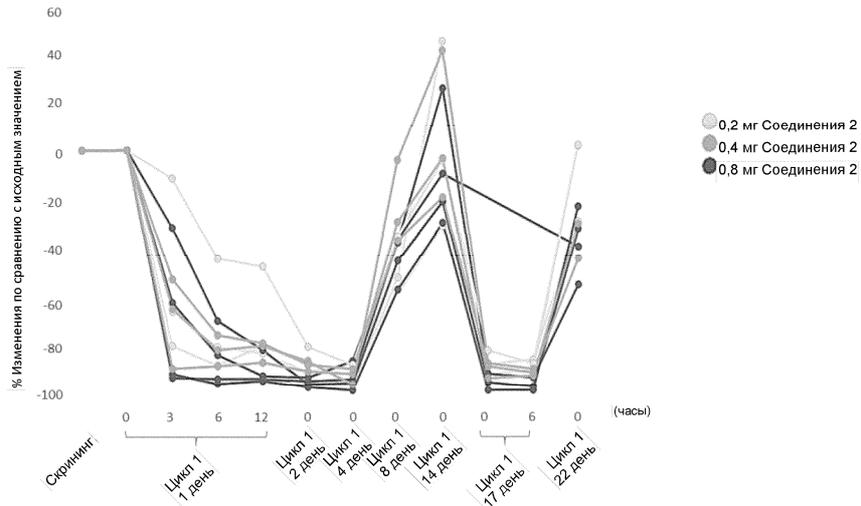


Фиг. 23С

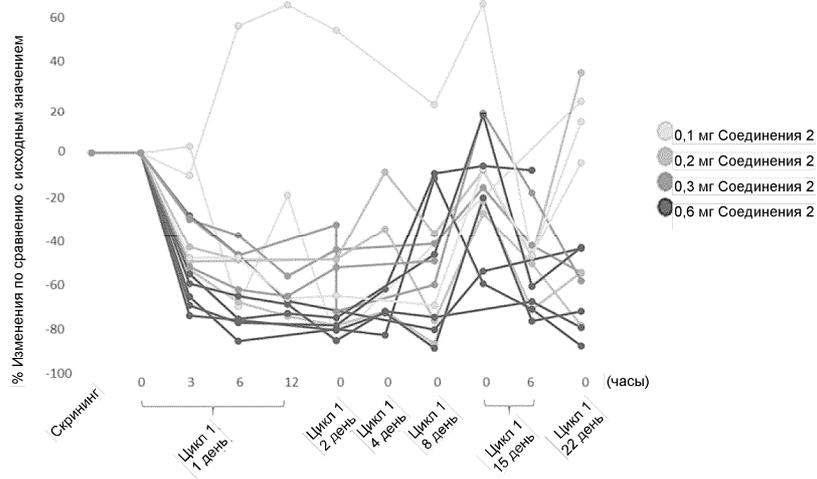


Фиг. 24А

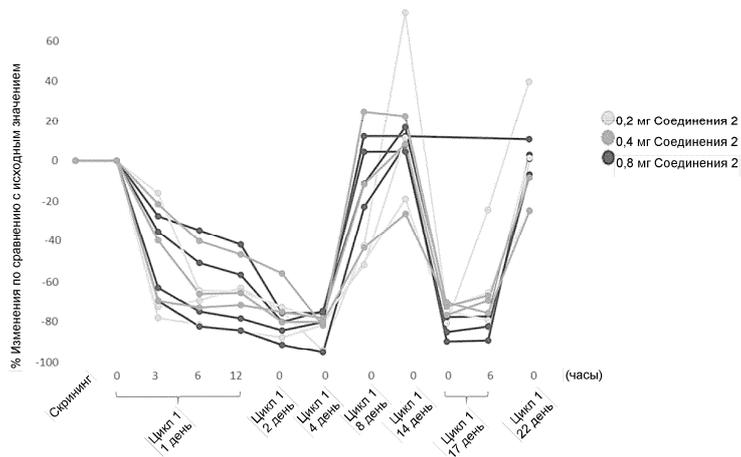
045896



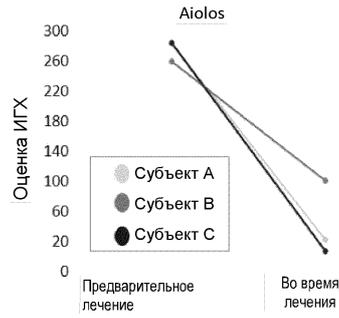
Фиг. 24В



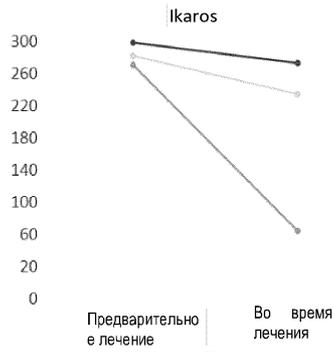
Фиг. 25А



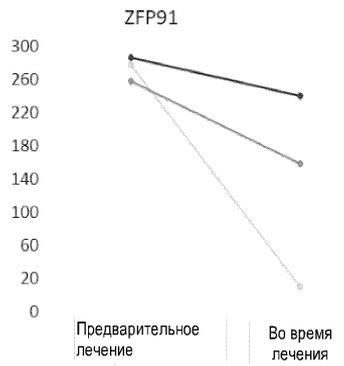
Фиг. 25В



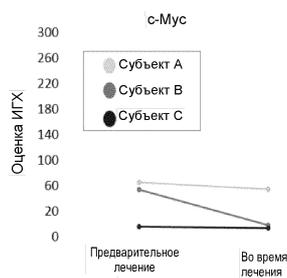
Фиг. 26А



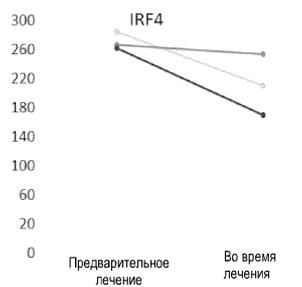
Фиг. 26В



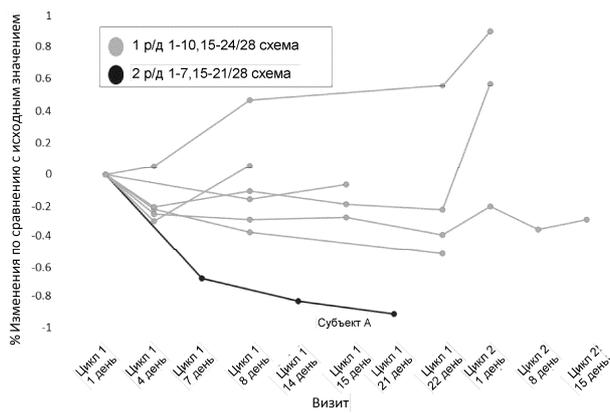
Фиг. 26С



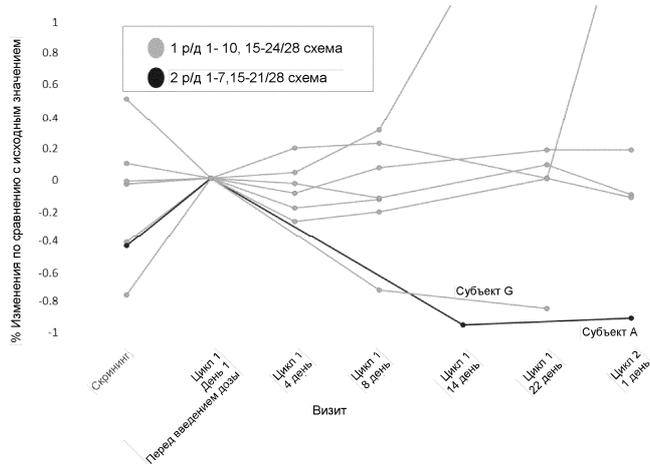
Фиг. 26D



Фиг. 26Е



Фиг. 27



Фиг. 28