

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **042256**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.01.27(51) Int. Cl. **C12Q 1/6886** (2018.01)(21) Номер заявки
201991961(22) Дата подачи заявки
2018.02.22**(54) ИНГИБИТОР ATR КИНАЗЫ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В СПОСОБЕ ЛЕЧЕНИЯ ГИПЕРПРОЛИФЕРАТИВНОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ**(31) **62/463,125; 62/589,837**(32) **2017.02.24; 2017.11.22**(33) **US**(43) **2020.02.12**(86) **PCT/EP2018/054361**(87) **WO 2018/153968 2018.08.30**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

**БАЙЕР АКЦИЕНГЕЗЕЛЬШАФТ;
БАЙЕР ФАРМА
АКЦИЕНГЕЗЕЛЬШАФТ (DE)**

(72) Изобретатель:

**Венгнер Антье Маргрет, Зймайстер
Герхард, Хендлер Бернад, Гольфье
Свен, Шликкер Андреас (DE), Лю Ли
(US)**

(74) Представитель:

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

(56) **WO-A1-2017118734**

SUNDAR RAGHAV ET AL.: "Targeting ATR in cancer medicine", CURRENT PROBLEMS IN CANCER, MOSBY, ST LOUIS, MO, US, vol. 41, no. 4, 17 May 2017 (2017-05-17), pages 302-315, XP085148832, ISSN: 0147-0272, DOI: 10.1016/J.CURRPROBLCANCER.2017.05.002, the whole document

WO-A1-2015118338**WO-A2-2016112374**

FIONA K. MIDDLETON ET AL.: "Common cancer-associated imbalances in the DNA damage response confer sensitivity to single agent ATR inhibition", ONCOTARGET, vol. 6, no. 32, 20 October 2015 (2015-10-20), pages 32396-32409, XP055412415, DOI: 10.18632/oncotarget.6136, the whole document

WO-A1-2013152298

CHRIS T. WILLIAMSON ET AL.: "ATR inhibitors as a synthetic lethal therapy for tumours deficient in ARID1A", NATURE COMMUNICATIONS, vol. 7, 13 December 2016 (2016-12-13), page 13837, XP055355360, DOI: 10.1038/ncomms13837, the whole document, page 10, column 1, paragraph 3 - page 11, column 1, paragraph 2; figure 5

(57) Настоящее изобретение охватывает 2-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-4-(1-метил-1H-пиразол-5-ил)-8-(1H-пиразол-5-ил)-1,7-нафтиридин (в дальнейшем называется "соединение А"), ингибитор ATR киназы, для применения в способе лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта. Предпочтительно гиперпролиферативное заболевание или субъект характеризуется одним или несколькими биомаркерами, выбранными из а) одной или нескольких функциональных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ATG5, ARID1A, ATM, ATR, ATRIP, ATRX, BAP1, BARD1, BLM, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CCND1, CCNE1, CCNE2, CDC7, CDK12, CHEK1, CHEK2, DCLRE1A, DCLRE1B, DCLRE1C, DYRK1A, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, FAM175A, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCM, FBXO18, FBXW7, FEN1, GEN1, HDAC2, H2AFX, HRAS, KRAS, LIG4, MDC1, MLH1, MLH3, MRE11A, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, NBN, NRAS, PALB2, PARP1, PARP2, PARP3, PARP4, PCNA, PIK3CA, PMS2, POLA1, POLB, POLH, POLL, POLN, POLQ, PRKDC, PTEN, RAD9A, RAD17, RAD18, RAD50, RAD51, RAD52, RAD54B, RAD54L, RB1, REV3L, RPA1, RPA2, SLX4, TDP1, TDP2, TMPRSS2, TMPRSS2-ERG, TOPBP1, TOP2A, TOP2B, TP53, TP53BP1, TRRAP, UBE2N, UIMC1, USP1, WDR48, WRN, XPA, XRCC1, XRCC2, XRCC3, XRCC4 и/или XRCC6 гена/белка; и/или б) активации ALT пути; и/или в) микросателлитной нестабильности. Настоящее изобретение также охватывает набор, содержащий соединение А совместно со средствами для обнаружения одного или нескольких вышеуказанных биомаркеров и способ идентификации субъекта, имеющего гиперпролиферативное заболевание, склонное к положительной реакции на соединение А, где способ включает обнаружение одного или нескольких вышеуказанных биомаркеров. Кроме того, изобретение охватывает способ определения, будет ли субъект, имеющий гиперпролиферативное заболевание, отвечать

042256 B1**042256 B1**

на лечение с применением соединения А, где способ включает обнаружение одного или нескольких вышеуказанных биомаркеров в образце, полученном от субъекта.

042256 B1

042256 B1

Настоящее изобретение охватывает ингибитор ATR киназы, в особенности 2-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-4-(1-метил-1H-пиразол-5-ил)-8-(1H-пиразол-5-ил)-1,7-нафтиридин (в дальнейшем называется "соединение А"), для применения в способе лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта. Предпочтительно гиперпролиферативное заболевание или субъект характеризуется одним или несколькими биомаркерами, выбранными из

а) одной или нескольких функциональных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ATG5, ARID1A, ATM, ATR, ATRIP, ATRX, BAP1, BARD1, BLM, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CCND1, CCNE1, CCNE2, CDC7, CDK12, CHEK1, CHEK2, DCLRE1A, DCLRE1B, DCLRE1C, DYRK1A, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, FAM175A, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCM, FBXO18, FBXW7, FEN1, GEN1, HDAC2, H2AFX, HRAS, KRAS, LIG4, MDC1, MLH1, MLH3, MRE11A, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, NBN, NRAS, PALB2, PARP1, PARP2, PARP3, PARP4, PCNA, PIK3CA, PMS2, POLA1, POLB, POLH, POLL, POLN, POLQ, PRKDC, PTEN, RAD9A, RAD17, RAD18, RAD50, RAD51, RAD52, RAD54B, RAD54L, RB1, REV3L, RPA1, RPA2, SLX4, TDP1, TDP2, TMRSS2, TMRSS2-ERG, TOPBP1, TOP2A, TOP2B, TP53, TP53BP1, TRRAP, UBE2N, UIMC1, USP1, WDR48, WRN, XPA, XRCC1, XRCC2, XRCC3, XRCC4 и/или XRCC6 гена/белка; и/или

б) активации ALT пути; и/или

в) микросателлитной нестабильности.

Предпосылки создания изобретения

Целостность генома эукариотических клеток обеспечивается комплексными путями передачи сигналов, известными как ответ на повреждение ДНК (DDR). Распознавание повреждения ДНК активирует DDR пути, что приводит к остановке клеточного цикла, супрессии общей трансляции, индукции репарации ДНК, и, в завершение, выживанию клеток или клеточной гибели. Белки, которые непосредственно распознают aberrантные структуры ДНК, захватывают и активируют киназы DDR пути, такие как ATR. ATR отвечают на широкий спектр повреждения ДНК, включая двухцепочечные разрывы и поражения, имеющих происхождение из интерференции с репликацией ДНК, а также повышенный репликационный стресс, который наблюдается в онкоген-зависимых опухолевых клетках (например, Ras мутация/повышенная регуляция, Mус повышенная регуляция, CyclinE сверхэкспрессия).

Ингибиторы ATR киназы специфически или в общем описаны в следующих публикациях: J. Med. Chem. 2013, 56, 2125-2138; Exp. Rev. Mol. Med. 16, e10, 2014; WO 2010054398 A1; WO 2010071837 A1; WO 2010073034 A1; WO 2011143399 A1; WO 2011143419 A1; WO 2011143422 A1; WO 2011143423 A2; WO 2011143425 A2; WO 2011143426 A1; WO 2011154737 A1; WO 2011163527 A1; WO 2012138938 A1; WO 2012178123 A1; WO 2012178124 A1; WO 2012178125 A1; WO 2013049719 A1; WO 2013049720 A1; WO 2013049722 A1; WO 2013049859 A1; WO 2013071085 A1; WO 2013071088 A1; WO 2013071090 A1; WO 2013071093 A1; WO 2013071094 A1; WO 2013152298 A1; WO 2014062604 A1; WO 2014089379 A1; WO2014143240; WO 2014143241; WO 2014143242; ACS Med. Chem. Lett. 2015. 6, 37-41; ACS Med. Chem. Lett. 2015. 6, 42-46; WO 2015085132; WO 2015187451.

2-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-4-(1-метил-1H-пиразол-5-ил)-8-(1H-пиразол-5-ил)-1,7-нафтиридин (в дальнейшем называется "соединение А") представляет собой новый ингибитор ATR киназы, который совместно с другими свыше 400 ингибиторами ATR киназы был описан в международной патентной заявке WO 2016020320. Идентификация одного или нескольких биомаркеров, которые предсказывают чувствительность к соединению А, может привести к более эффективной управляемой биомаркером нацеленной терапии для гиперпролиферативных заболеваний.

До настоящего времени в клинических условиях не было еще идентифицировано прогностических маркеров для ингибиторов ATR киназы. Тем не менее, доклинические наблюдения свидетельствуют о различных кандидатных прогностических биомаркерах для ингибиторов ATR киназы VE-821, VX-970 и AZD6738: Williamson и др. предположили, что ингибиторы ATR киназы могут быть эффективными в качестве монотерапии для лечения ARID1A дефектных злокачественных новообразований (Nature Communications 7:13837 | DOI: 10.1038/ncomms13837, (2016)). В соответствии с Mohni и др., ингибирование ATR пути является синтетически летальным в леченных VE-821 раковых клетках с ERCC1 дефицитом и потеря структурно-специфической эндонуклеазы ERCC1-XPF (ERCC4) является синтетически летальной с ингибиторами ATR пути (Cancer Res. 74, (2014), 2835-2845). Сильные синтетические летальные взаимосвязи с ингибированием ATR также были показаны для следующих генов: ATRIP, RPA, CHEK1, CLSPN, HUS1, RAD1, RAD17, TIMELESS, и TIPIN (Mohni и др., Cancer Res. 74, (2014), 2835-2845). Также полагают, что ATR ингибирование с помощью VE-821 действует синергически с потерей ERCC1, ATM и XRCC1 (Mohni и др., PLOS ONE | DOI:10.1371/journal.pone.0125482 May 12, 2015; Sultana и др., PLoS One, 8(2). (2013), e57098. doi: 10.1371/journal.pone.0057098). В соответствии с Hocke и др. (Oncotarget том 7, № 6, (2016), 7080-7095) POLD1 дефицит может представлять собой прогностический маркер для ответа на лечение с применением ATR ингибиторов. Flynn и др. (Science 347, (2015), 273-277) полагают, что ингибиторы ATR киназы могут быть полезными для лечения ALT-положительных злокачественных новообразований. В соответствии с данными, описанными Menezes и др. (Mol. Cancer. Res. 13(1), (2015), 120-129) однокомпонентные ATR ингибиторы могут иметь терапевтическую полезность для ле-

чения лимфомы из клеток зоны мантии с утратой функции ATM1. Middleton и др. (Oncotarget, том 6, № 32, (2015), 32396- 32409) полагают, что дефекты в ATM, BRCA2, XRCC3 и XRCC1 и высокой экспрессией ДНК-ПК придают чувствительность к монотерапии VE-821.

В соответствии с Jones и др. (Cancer Research (2017), авторский оригинал, впервые опубликованный он-лайн 16 октября 2017 г.; DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-17-2056) в синовиальной саркоме SS18-SSX1 или SS18-SSX2 слитые белки индуцируют чувствительность к ингибитору ATR киназы. Nieto-Soler и др. (Oncotarget. 2016; 7:58759-58767) полагают, что экспрессия EWS-FLI1 (также называемых EWSR1-FLI1) или EWS-ERG (также называемых EWSR1-ERG онкогенных транслокаций сенсibiliзирует не-ES клетки к ATR ингибиторам. Remi-Buisson и др. (Cancer Res 77(17), (2017), 4567-4578) описали, что APOBEC3A и APOBEC3B сверхэкспрессия придает чувствительность к ингибиторам ATR киназы.

Kwok и др. (Lancet 26, 385, Suppl 1, (2015), S58. doi: 10.1016/S0140-6736(15)60373-7; Blood 4;127(5), (2016), 582-595. doi: 10.1182/blood-2015-05-644872) показали, что AZD6738 сенсibiliзует TP53- или ATM-дефективные первичные хронические лимфолейкозные клетки (CLL) к химиотерапии и ибрутинибу.

Ruiz и др. (Mol Cell 62(2), (2016), 307-313, DOI: 10.1016/j.molcel.2016.03.006) описали, что дефицит cdc25A придает резистентность к ATR ингибиторам.

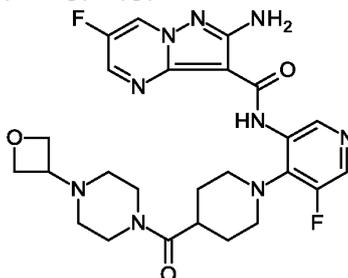
Задачей настоящего изобретения является обеспечение одного или нескольких биомаркеров для лечения одного или нескольких гиперпролиферативных заболеваний с применением ингибитора ATR киназы, в особенности с применением соединения А, как описано в настоящем изобретении, у субъекта.

Подробное описание изобретения

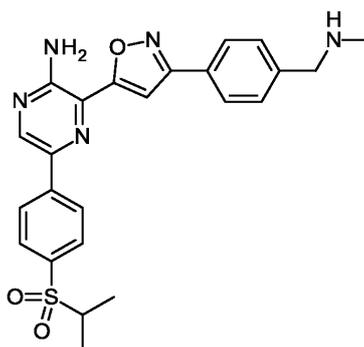
Определения терминов, используемых в контексте настоящего изобретения

Термин "ингибитор ATR киназы" или термин "ATR-киназный ингибитор", как используется в настоящем изобретении, обозначает любое соединение, которое ингибирует ATR киназу. Примеры ингибиторов ATR киназы, которые могут использоваться в контексте настоящего изобретения, включают VX-803, VX-970, AZD-6738 и предпочтительно соединение А (описанное ниже).

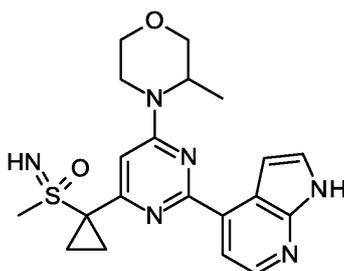
В контексте настоящего изобретения термин "VX-803" обозначает 2-амино-6-фтор-N-[5-фтор-4-(4-{[4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил]карбонил}пиперидин-1-ил)пиридин-3-ил]пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксамид. VX-803 имеет следующую структуру:



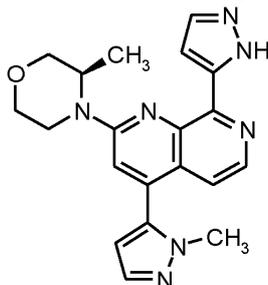
В контексте настоящего изобретения термин "VX-970" обозначает 3-(3-{4-[(метиламино)метил]фенил}-1,2-оксазол-5-ил)-5-[4-(пропан-2-илсульфонил)фенил]пиразин-2-амин. VX-970 имеет структуру



В контексте настоящего изобретения термин "AZD-6738" обозначает 4-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[1-(S-метилсульфонимидоил)циклопропил]пиримидин-2-ил}-1H-пирроло[2,3-b]пиримидин. AZD-6738 имеет структуру



Термин "соединение А", как используется в настоящем изобретении, обозначает 2-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-4-(1-метил-1H-пиразол-5-ил)-8-(1H-пиразол-5-ил)-1,7-нафтиридин структуры



Соединение А.

В особенности, термин соединение А относится к 2-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-4-(1-метил-1H-пиразол-5-ил)-8-(1H-пиразол-5-ил)-1,7-нафтиридину. Экспрессия "гена/белка" обозначает один ген или один белок. Экспрессия "гена(ов)/белка(ов)" обозначает один или несколько генов или один или несколько белков. Экспрессия "гена(ов)" обозначает один ген или несколько генов. Экспрессия "белка(ов)" обозначает один белок или несколько белков. Термин "гиперпролиферативное заболевание" включает, но не ограничиваясь только ими, например, псориаз, келоиды и другие гиперплазии, поражающие кожу, доброкачественную гиперплазию предстательной железы (ВРН), а также злокачественную неоплазию. Примеры злокачественной неоплазии, поддающиеся лечению с применением соединения А в соответствии с настоящим изобретением, включают солидные и гематологические опухоли. Примерами солидных опухолей могут быть опухоли молочной железы, мочевого пузыря, костей, головного мозга, центральной и периферической нервной системы, ободочной кишки, анального отверстия, эндокринных желез (например, щитовидной железы и коркового вещества надпочечников), пищевода, эндометрия, зародышевых клеток, головы и шеи, почек, печени, легких, глотки и гортаноглотки, мезотелиомы, яичников, поджелудочной железы, предстательной железы, прямой кишки, почек, тонкого кишечника, мягких тканей, яичек, желудка, кожи, уретры, влагалища и наружных женских половых органов. Злокачественные неоплазии включают наследственные злокачественные новообразования, примерами которых является ретинобластома и опухоль Вильямса. Кроме того, злокачественные неоплазии включают первичные опухоли в указанных органах и соответствующие вторичные опухоли в удаленных органах ("опухолевые метастазы"). Примерами гематологических опухолей могут являться агрессивные и вялотекущие формы лейкозов и лимфом, а именно неходжкинская лимфома, хронический и острый миелоидный лейкоз (СМЛ/АМЛ), острый лимфобластный лейкоз (АЛЛ), болезнь Ходжкина, множественная миелома и Т-клеточная лимфома. Также охватываются миелодиспластический синдром, неоплазия плазматических клеток, паранеопластические синдромы и злокачественные опухоли без выявленного первичного очага, а также злокачественные новообразования, связанные со СПИДом.

Примеры рака молочной железы включают, но не ограничиваясь только ими, инвазивную протоковую карциному, инвазивный дольковый рак, протоковую карциному *in situ*, и дольковый рак *in situ*, в особенности с метастазами в кости. Примеры злокачественных новообразований дыхательных путей включают, но не ограничиваясь только ими, мелкоклеточный и не-мелкоклеточный рак легкого, а также аденому бронха и плеврального бластома.

Примеры злокачественных новообразований головного мозга включают, но не ограничиваясь только ими, глиому ствола мозга и гипоталамуса, астроцитому мозжечка и церебральную, медуллобластома, эпендимому, а также нейроэктодермальную опухоль и опухоль шишковидной железы. Опухоли мужских половых органов включают, но не ограничиваясь только ими, рак предстательной железы и рак яичек. Опухоли женских половых органов включают, но не ограничиваясь только ими, рак эндометрия, шейки матки, яичек, влагалища и наружных женских половых органов, а также саркому матки. Опухоли желудочно-кишечного тракта включают, но не ограничиваясь только ими, злокачественные новообразования анального отверстия, ободочной кишки, толстой и прямой кишки, пищевода, желчного пузыря, желудка, поджелудочной железы, прямой кишки, тонкого кишечника и слюнных желез. Опухоли мочевыводящих

путей включают, но не ограничиваясь только ими, злокачественные новообразования мочевого пузыря, мужского полового члена, почек, почечной лоханки, уретры, уретральный и папиллярный рак почки человека.

Злокачественные новообразования глаз включают, но не ограничиваясь только ими, интраокулярную меланому и ретинобластому.

Примеры злокачественных новообразований печени включают, но не ограничиваясь только ими, гепатоклеточную карциному (печеночно-клеточный рак с или без фиброламельлярного варианта), холангиокарциному (карциному внутрипеченочных желчных протоков), и смешанную гепатоклеточную холангиокарциному.

Злокачественные новообразования кожи включают, но не ограничиваясь только ими, плоскоклеточную карциному, саркому Капоши, злокачественную меланому, рак кожи из клеток Меркеля, и немеланомный рак кожи. Злокачественные новообразования головы и шеи включают, но не ограничиваясь только ими, рак глотки, подглоточный, носоглоточный, ротоглоточный рак, рак губ и ротовой полости и плоских клеток. Лимфомы включают, но не ограничиваясь только ими, СПИД-ассоциированную лимфому, неходжкинскую лимфому, кожную Т-клеточную лимфому, лимфому Беркитта, болезнь Ходжкина, и лимфому центральной нервной системы.

Саркомы включают, но не ограничиваясь только ими, саркому мягких тканей, остеосаркому, злокачественную фиброзную гистиоцитому, лимфосаркому, и рабдомиосаркому.

Лейкозы включают, но не ограничиваясь только ими, острый миелоидный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз и волосатоклеточный лейкоз.

В особенности, настоящее изобретение охватывает лечение рака легких, рака ободочной и прямой кишки, рака шейки матки, рака мочевого пузыря, рака молочной железы, меланомы, В-клеточной лимфомы, особо диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (DLBCL), лимфомы из клеток зоны мантии, рака предстательной железы, глиомы, рака яичников, глиобластомы, нейробластомы, хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL), фибросаркомы, рака желудка, рака пищевода, рака поджелудочной железы, хронического и острого миелоидного лейкоза (CML/AML), острого лимфобластного лейкоза (ALL), болезни Ходжкина, множественной миеломы (ММ) и Т-клеточной лимфомы, рака эндометрия, рака влагалища и рака наружных женских половых органов, а также саркомы матки.

Предпочтительно настоящее изобретение охватывает лечение рака предстательной железы, В-клеточной лимфомы, особо диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (DLBCL), лимфомы из клеток зоны мантии, меланомы, в особенности злокачественной меланомы, рака яичников, в особенности, аденокарциномы яичников, рака ободочной и прямой кишки, рака легких, в особенности немелкоклеточного рака легких, рака шейки матки, и рака молочной железы, в особенности тройного негативного рака молочной железы, рака поджелудочной железы, фибросаркомы.

Термин "функциональная мутация", как используется в настоящем изобретении, обозначает мутацию гена, которая приводит к измененной функции гена, его соответствующей РНК или его соответствующего белка по сравнению с функцией соответствующего гена дикого типа, соответствующей РНК дикого типа или соответствующего белка дикого типа.

Термин "измененная функция", как используется в настоящем изобретении, обозначает либо уменьшение или повышение функции гена, его соответствующей РНК или его соответствующего белка по сравнению с функцией соответствующего гена дикого типа, соответствующей РНК дикого типа или соответствующего белка дикого типа. Термин "измененная функция" также включает полную потерю функции или приобретение новой функции гена, его соответствующей РНК или его соответствующего белка по сравнению с функцией соответствующего гена дикого типа, соответствующей РНК дикого типа или соответствующего белка дикого типа.

Ссылочные нуклеотидные последовательности кДНК соответствующих генов дикого типа описаны в приложенном протоколе последовательностей (SEQ ID Nos 1-111). Ссылочные аминокислотные последовательности соответствующих белков дикого типа описаны в приложенном протоколе последовательностей (SEQ ID Nos 112-222).

Функциональная мутация может представлять собой "вредную мутацию" или "активирующую мутацию".

Термин "вредная мутация", как используется в настоящем изобретении, обозначает мутацию гена, которая имеет вредное воздействие на функцию указанного гена или на функцию его соответствующей РНК или его соответствующего белка. Например, вредная мутация гена может приводить к уменьшенному уровню генной экспрессии указанного гена, уменьшенному количеству или уменьшенной активности белка, соответствующего указанному гену, или она может приводить к нефункциональному гену/белку ("с потерей функции") по сравнению с соответствующим геном/белком дикого типа.

Примеры вредной мутации включают, но не ограничиваясь только ими, следующие.

Вредная мутация может представлять собой нонсенс-мутацию, которая представляет собой точечную мутацию в соответствующем гене, приводящую к преждевременному стоп-кодону, или нонсенс-кодон в транскрибируемой мРНК, и к усеченному, неполному и нефункциональному белку, соответст-

вующему указанному гену.

Вредная мутация может представлять собой миссенс-мутацию, которая представляет собой точечную мутацию в соответствующем гене, приводящую к продукции либо нефункционального белка (полная потеря функции) или к белку с частичной потерей функции по сравнению с соответствующим белком дикого типа.

Вредная мутация также может приводить к мутации со сдвигом рамки считывания, которая представляет собой генетическую мутацию в соответствующем гене, вызываемую инсерциями или делециями одного или нескольких нуклеотидов в таком гене, где число нуклеотидов не делится на три, и приводит к (в некоторых случаях усеченному) нефункциональному белку, соответствующему указанному гену.

Вредная мутация также может представлять собой большую перестановочную мутацию, например, делецию одного или нескольких экзонов, разрушающую рамку считывания или ключевой функциональный домен соответствующего белка. Другим примером для большой перестановочной мутации является дубликация одного или нескольких неконцевых экзонов, разрушающая рамку считывания или ключевой функциональный домен соответствующего белка. Вредная мутация также может представлять собой мутацию сайта сплайсинга, которая представляет собой генетическую мутацию, которая инсертирует, делетирует или изменяет число нуклеотидов в специфическом сайте, в котором происходит сплайсинг во время процессинга предшественника матричной РНК в зрелую матричную РНК. Консенсусные последовательности сайта сплайсинга, которые управляют распознаванием экзонов, расположены как раз на конце интронов. Делеция сайта сплайсинга приводит к тому, что один или несколько интронов остаются в зрелой мРНК, что, следовательно, обуславливает продукцию нефункционального белка, соответствующего указанному гену. Вредная мутация также может представлять собой вариацию числа копий (CNV), в особенности снижение число копий гена (например, гомозиготную или гетерозиготную делецию) по сравнению с нормальным числом копий гена соответствующего гена.

Термин "активирующая мутация", как используется в настоящем изобретении, обозначает мутацию, которая изменяет указанный ген, его соответствующую РНК и/или его соответствующий белок таким образом, что его влияния (например, количество соответствующей (соответствующего) РНК/белка, или активности белка) становятся более сильным по сравнению с соответствующим (соответствующей) геном/РНК/белком дикого типа. Термин "активирующая мутация" также включает мутацию гена, при которой белок, соответствующий указанному гену, получает новую функцию по сравнению с функцией соответствующего белка дикого типа. Примеры активирующих мутаций включают, но не ограничиваясь только ими, следующие: Активирующая мутация может представлять собой замену одного аминокислотного остатка на другой, который придает новую или более высокую активность для белка.

Активирующая мутация может представлять собой вариацию числа копий (CNV), в особенности повышение числа копий гена по сравнению с нормальным числом копий гена соответствующего гена.

Активирующая мутация также может представлять собой гибридный ген или гибридный белок, например, возникающий в результате транслокации, интерстициальной делеции или инверсии сегмента хромосомы. Термин "стратификационный метод", как используется в настоящем изобретении, обозначает метод, с помощью которого обнаруживают одну или несколько функциональных мутаций, как определено в настоящем изобретении, в особенности вредных мутаций и активирующих мутаций, активацию ALT пути и/или микросателлитную нестабильность.

Предпочтительно, стратификационный метод представляет собой метод *in-vitro*. Примеры стратификационных методов, которые можно использовать в контексте настоящего изобретения, описаны ниже.

Термин "активация ALT пути", как используется в настоящем изобретении, относится к злокачественным клеткам, которые преодолевают репликативное старение путем активации пути альтернативного удлинения теломеров (Alternative Lengthening of Telomeres (ALT)).

Термин "микросателлитная нестабильность" ("MSI"), как используется в настоящем изобретении, представляет собой увеличение или уменьшение длины повторяющихся последовательностей ДНК (известных как микросателлиты) в ДНК образца, например, опухолевый образец, по сравнению с нормальными клетками.

MSI тестирование может обнаружить аномальное число микросателлитных повторов, которое указывает на то, что злокачественное новообразование может возникать из этих клеток с дефектами генов, ответственных за коррекцию неспаренных оснований.

Микросателлит представляет собой участок tandemно повторяющихся (то есть смежных) мотивов ДНК, длина которого находится в диапазоне от одного до шести нуклеотидов, и они типично повторяются 5-50 раз. Например, последовательность TATATATATA представляет собой динуклеотидный микросателлит, и GTCGTCGTCGTCGTC представляет собой тринуклеотидный микросателлит (где А представляет собой Аденин, G Гуанин, С Цитозин, и Т Тимин). Единицы повтора четырех и пяти нуклеотидов обозначаются как тетра- и пентануклеотидные мотивы, соответственно. Микросателлиты распределены во всем геноме. Многие из них расположены в некодирующих частях генома человека, однако также они могут быть расположены в регуляторных участках и в пределах кодирующих участков.

MSI опухоли могут развиваться из инактивирующих генеративных мутаций в одном или нескольких генах, включая MLH1, MSH2, MSH6 и PMS2, и адгезивную молекулу эпителиальных клеток

(EPCAM), например, как происходит у пациентов с синдромом Линча, из которых более чем 90% раков ободочной кишки тестируются как MSI положительные. MSI также возникают спорадически при злокачественных новообразованиях некоторых типов, включая злокачественные новообразования ободочной и прямой кишки, эндометрия, яичников и желудка. В отличие от синдрома Линча, спорадический MSI часто обусловлен соматическим промотором гиперметилирования MLH1 при отсутствии мутаций нуклеотидных последовательностей гена.

Термин "образец", как используется в настоящем изобретении, обозначает образец, полученный от субъекта, предпочтительно образец *in vitro*, который используется в стратификационном методе (как определено в настоящем изобретении), например, образец опухолевых клеток или опухолевой ткани, образец крови, в особенности образец опухолевой ткани, содержащий опухолевые клетки.

Аспекты настоящего изобретения

Применение(я) настоящего изобретения

Настоящее изобретение охватывает ингибитор ATR киназы, в особенности 2-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-4-(1-метил-1H-пиразол-5-ил)-8-(1H-пиразол-5-ил)-1,7-нафтиридин (в дальнейшем называется "соединение А") или его таутомер, N-оксид, гидрат, сольват, или фармацевтически приемлемую соль, в особенности соединение А, для применения в способе лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта.

В особенности, настоящее изобретение охватывает ингибитор ATR киназы, в особенности соединение А, или его таутомер, N-оксид, гидрат, сольват, или фармацевтически приемлемую соль, в особенности соединение А, для применения в способе лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта, где указанный субъект или гиперпролиферативное заболевание характеризуется одним или несколькими биомаркерами, определенными в настоящем изобретении.

В особенности, настоящее изобретение охватывает ингибитор ATR киназы, в особенности соединение А или его таутомер, N-оксид, гидрат, сольват, или фармацевтически приемлемую соль, в особенности соединение А, для применения для лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта, где указанный субъект или гиперпролиферативное заболевание характеризуется одним или несколькими биомаркерами, определенными в настоящем изобретении.

В одном варианте осуществления изобретения указанный один или несколько биомаркеров выбирают из

а) одной или нескольких функциональных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ATG5, ARID1A, ATM, ATR, ATRIP, ATRX, BAP1, BARD1, BLM, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CCND1, CCNE1, CCNE2, CDC7, CDK12, CHEK1, CHEK2, DCLRE1A, DCLRE1B, DCLRE1C, DYRK1A, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, FAM175A, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCM, FBXO18, FBXW7, FEN1, GEN1, HDAC2, H2AFX, HRAS, KRAS, LIG4, MDC1, MLH1, MLH3, MRE11A, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, NBN, NRAS, PALB2, PARP1, PARP2, PARP3, PARP4, PCNA, PIK3CA, PMS2, POLA1, POLB, POLH, POLL, POLN, POLQ, PRKDC, PTEN, RAD9A, RAD17, RAD18, RAD50, RAD51, RAD52, RAD54B, RAD54L, RB1, REV3L, RPA1, RPA2, SLX4, TDP1, TDP2, TMPRSS2, TMPRSS2-ERG, TOPBP1, TOP2A, TOP2B, TP53, TP53BP1, TRRAP, UBE2N, UIMC1, USP1, WDR48, WRN, XPA, XRCC1, XRCC2, XRCC3, XRCC4 и/или XRCC6 гена/белка; и/или

б) активации ALT пути; и/или

в) микросателлитной нестабильности, в особенности высокой микросателлитной нестабильности.

В другом варианте осуществления изобретения указанный один или несколько биомаркеров содержит(ат) одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из BRCA1, ATM, BLM, BRCA2, ERCC5, FEN1, FANCD2, FANCG, H2AFX, PARP1, PCNA, POLL, POLB/POLL, RAD9A, RAD17, RAD52, REV3L, TDP2, TP53BP1, UBE2N, XPA.

В другом варианте осуществления изобретения указанный один или несколько биомаркеров содержит(ат) одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из BLM, BRCA1, BRCA2, ERCC5, FEN1, FANCD2, FANCG, H2AFX, PARP1, PCNA, POLL, POLB/POLL, RAD9A, RAD17, RAD52, REV3L, TDP2, TP53BP1, UBE2N, XPA.

Термин "POLB/POLL", как используется в настоящем изобретении, обозначает двойную мутацию, содержащую одну или несколько вредных мутаций в POLB гене/белке и одну или несколько вредных мутаций в POLL гене/белке.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения, указанный один или несколько биомаркеров содержит(ат) одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из BLM, BRCA1, ERCC5, FEN1, FANCD2, FANCG, H2AFX, PARP1, PCNA, POLL, POLB/POLL, RAD52, REV3L, TDP2, TP53BP1, UBE2N, XPA.

В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения, указанный один или несколько биомаркеров содержит(ат) одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из BLM, BRCA1, ERCC5, FEN1, FANCD2, H2AFX, PARP1, PCNA, RAD9A, RAD17, REV3L, TP53BP1, UBE2N.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения указанный один или несколько биомар-

керов содержит(ат) одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из BRCA1, ATM, FANCD2, H2AFX, RAD17, UBE2N.

В другом предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения указанный один или несколько биомаркеров содержит(ат) одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из BRCA1, ATM, BLM, ERCC5, FEN1, FANCD2, H2AFX, PARP1, PCNA, REV3L, TP53BP1, UBE2N.

В другом предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения указанный один или несколько биомаркеров содержит(ат) одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из BLM, BRCA1, ERCC5, FEN1, FANCD2, H2AFX, PARP1, PCNA, REV3L, TP53BP1, UBE2N.

В другом предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения указанный один или несколько биомаркеров содержит(ат) одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из BRCA1, FEN1, H2AFX, PCNA.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения указанный один или несколько биомаркеров содержит(ат) одну или несколько вредных мутаций в TP53 гене/белке и одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из BLM, BRCA1, BRCA2, ERCC5, FEN1, FANCD2, FANCG, H2AFX, PARP1, PCNA, POLL, POLB/POLL, RAD9A, RAD17, RAD52, REV3L, TDP2, TP53BP1, UBE2N, XPA.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения указанный один или несколько биомаркеров содержит(ат) одну или несколько вредных мутаций в TP53 гене/белке и одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из BLM, BRCA1, ERCC5, FEN1, FANCD2, FANCG, H2AFX, PARP1, PCNA, POLL, POLB/POLL, RAD52, REV3L, TDP2, TP53BP1, UBE2N, XPA.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения указанный один или несколько биомаркеров содержит(ат) одну или несколько вредных мутаций в TP53 гене/белке и одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из BLM, BRCA1, ERCC5, FEN1, FANCD2, H2AFX, PARP1, PCNA, RAD9A, RAD17, REV3L, TP53BP1, UBE2N.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения указанный один или несколько биомаркеров содержит(ат) одну или несколько вредных мутаций в TP53 гене/белке и одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из BLM, BRCA1, ERCC5, FEN1, FANCD2, H2AFX, PARP1, PCNA, REV3L, TP53BP1, UBE2N.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения указанный один или несколько биомаркеров содержит(ат) одну или несколько вредных мутаций в TP53 гене/белке и одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из BRCA1, FEN1, H2AFX, PCNA.

В особенности, настоящее изобретение охватывает ингибитор ATR киназы, в особенности соединение А, или его таутомер, N-оксид, гидрат, сольват, или фармацевтически приемлемую соль, в особенности соединение А, для применения в способе лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта, где указанный субъект или гиперпролиферативное заболевание характеризуется

а) одной или несколькими функциональными мутациями в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ATG5, ARID1A, ATM, ATR, ATRIP, ATRX, BAP1, BARD1, BLM, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CCND1, CCNE1, CCNE2, CDC7, CDK12, CHEK1, CHEK2, DCLRE1A, DCLRE1B, DCLRE1C, DYRK1A, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, FAM175A, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCM, FBXO18, FBXW7, FEN1, GEN1, HDAC2, H2AFX, HRAS, KRAS, LIG4, MDC1, MLH1, MLH3, MRE11A, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, NBN, NRAS, PALB2, PARP1, PARP2, PARP3, PARP4, PCNA, PIK3CA, PMS2, POLA1, POLB, POLH, POLL, POLN, POLQ, PRKDC, PTEN, RAD9A, RAD17, RAD18, RAD50, RAD51, RAD52, RAD54B, RAD54L, RB1, REV3L, RPA1, RPA2, SLX4, TDP1, TDP2, TMRSS2, TMRSS2-ERG, TOPBP1, TOP2A, TOP2B, TP53, TP53BP1, TRRAP, UBE2N, UIMC1, USP1, WDR48, WRN, XPA, XRCC1, XRCC2, XRCC3, XRCC4 и/или XRCC6 гена/белка; и/или

б) активацией ALT пути; и/или

в) микросателлитной нестабильностью, в особенности высокой микросателлитной нестабильностью.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения субъект или гиперпролиферативное заболевание характеризуется одним или несколькими биомаркерами, выбранными из одной или нескольких функциональных мутаций в одном или нескольких генах/белках, определенных в настоящем изобретении.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения субъект или гиперпролиферативное заболевание характеризуется одним или несколькими биомаркерами, выбранными из активация ALT пути.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения субъект или гиперпролиферативное заболевание характеризуется одним или несколькими биомаркерами, выбранными из микросателлитной нестабильности, в особенности высокой микросателлитной нестабильности (в настоящем изобретении также обозначается как "MSI-высокая").

В другом варианте осуществления настоящего изобретения субъект или гиперпролиферативное заболевание характеризуется

а) одним или несколькими биомаркерами, выбранными из одной или нескольких функциональных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ARID1A, ATG5, ATM, ATR, ATRX, BAP1, BARD1, BLM, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CCND1, CCNE1, CCNE2, CDC7, CDK12, CHEK1, CHEK2, DCLRE1A, DCLRE1C, DYRK1A, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERCC2, ERCC3, ERCC5, FANCA, FANCB, FANCD2, FANCE, FANCI, FANCM, FBXO18, FBXW7, FEN1, GEN1, HDAC2, H2AFX, KRAS, LIG4, MDC1, MLH1, MLH3, MRE11A, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, NBN, NRAS, PALB2, PARP4, PIK3CA, PMS2, POLA1, POLB, POLH, POLL, POLN, POLQ, PRKDC, PTEN, RAD17, RAD18, RAD50, RAD51, RAD54B, RAD54L, RB1, REV3L, SLX4, TDP1, TDP2, TMPRSS2, TMPRSS2-ERG, TOP2A, TOP2B, TOPBP1, TP53, TP53BP1, TRRAP, UBE2N, UIMC1, USP1, WDR48, WRN, XPA, XRCC1, XRCC2 и/или XRCC3 гене/белке; и/или

б) микросателлитной нестабильностью, в особенности высокой микросателлитной нестабильностью.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения, субъект или гиперпролиферативное заболевание характеризуется

а) одним или несколькими биомаркерами, выбранными из одной или нескольких функциональных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ARID1A, ATG5, ATM, ATR, ATRX, BARD1, BLM, BRAF, BRCA1, BRCA2, CCND1, CCNE1, CCNE2, CDC7, CHEK1, CHEK2, DCLRE1C, DYRK1A, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERCC2, ERCC3, ERCC5, FANCA, FANCD2, FANCI, FANCM, HDAC2, KRAS, MLH1, MLH3, MRE11A, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, NBN, NRAS, PALB2, PIK3CA, POLA1, POLN, POLQ, PRKDC, PTEN, RAD17, RAD18, RAD50, RAD51, RB1, REV3L, SLX4, TDP2, TMPRSS2, TMPRSS2-ERG, TOP2A, TOP2B, TOPBP1, TP53, TP53BP1, TRRAP, UBE2N, USP1, WDR48, WRN, XPA, XRCC1, XRCC2 и/или XRCC3 гене/белке; и/или

б) микросателлитной нестабильностью, в особенности высокой микросателлитной нестабильностью.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения субъект или гиперпролиферативное заболевание характеризуется одним или несколькими биомаркерами, выбранными из одной или нескольких функциональных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ARID1A, ATG5, ATM, ATR, ATRIP, ATRX, BAP1, BARD1, BLM, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDK12, CHEK1, CHEK2, DCLRE1A, DCLRE1B, DCLRE1C, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, FAM175A, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCM, FBXO18, FBXW7, FEN1, GEN1, H2AFX, HDAC2, LIG4, MDC1, MLH1, MLH3, MRE11A, MSH2, MSH3, MSH6, NBN, PALB2, PARP1, PARP2, PARP3, PARP4, PMS2, POLA1, POLB, POLH, POLN, POLQ, PRKDC, PTEN, RAD17, RAD18, RAD50, RAD51, RAD52, RAD54B, RAD54L, RAD9A, RB1, REV3L, RPA1, RPA2, SLX4, TDP1, TDP2, TP53, TP53BP1, TRRAP, UBE2N, UIMC1, USP1, WDR48, WRN, XPA, XRCC1, XRCC2, XRCC3, XRCC4 и/или XRCC6 гена/белка, где функциональная(е) мутация(и) представляет(ют) собой вредную(е) мутацию(и).

В другом варианте осуществления настоящего изобретения, субъект или гиперпролиферативное заболевание характеризуется одним или несколькими биомаркерами, выбранными из одной или нескольких функциональных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ARID1A, ATG5, ATM, ATR, ATRX, BARD1, BLM, BRCA1, BRCA2, CHEK1, CHEK2, DCLRE1C, ERCC2, ERCC3, ERCC5, FANCA, FANCD2, FANCI, FANCM, HDAC2, MLH1, MLH3, MRE11A, MSH2, MSH3, MSH6, NBN, PALB2, POLA1, POLN, POLQ, PRKDC, PTEN, RAD17, RAD18, RAD50, RAD51, RB1, REV3L, SLX4, TDP2, TP53, TP53BP1, TRRAP, UBE2N, USP1, WDR48, WRN, XPA, XRCC1, XRCC2 и/или XRCC3 гена/белка, где функциональная(е) мутация(и) представляет(ют) собой вредную(е) мутацию(и).

В другом варианте осуществления настоящего изобретения, субъект или гиперпролиферативное заболевание характеризуется одним или несколькими биомаркерами, выбранными из одной или нескольких функциональных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из ATR, ATRIP, BRAF, CCND1, CCNE1, CCNE2, CDC7, DYRK1A, EGFR, ERBB2, ERBB3, HRAS, KRAS, MYC, NRAS, PCNA, PIK3CA, TMPRSS2, TOP2A, TOP2B, TOPBP1 и/или TP53 ген/белок, где функциональная(е) мутация(и) представляет(ют) собой активирующую(е) мутацию(и).

В другом варианте осуществления настоящего изобретения, субъект или гиперпролиферативное заболевание характеризуется одним или несколькими биомаркерами, выбранными из одной или нескольких функциональных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из ATR, BRAF, CCND1, CCNE1, CCNE2, CDC7, DYRK1A, EGFR, ERBB2, ERBB3, KRAS, MYC, NRAS, PIK3CA, TMPRSS2, TOP2A, TOP2B, TOPBP1 и/или TP53 ген/белок, где функциональная(е) мутация(и) представляет(ют) собой активирующую(е) мутацию(и).

В другом варианте осуществления настоящего изобретения субъект или гиперпролиферативное заболевание характеризуется одним или несколькими биомаркерами, где биомаркер(ы) содержит(ат) одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из ATM, BLM, BRCA1, BRCA2, ERCC5, FEN1, FANCD2, FANCG, H2AFX, PARP1, PCNA, POLL, POLB/POLL, RAD9A, RAD17, RAD52, REV3L, TDP2, TP53BP1, UBE2N, XPA.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения, субъект или гиперпролиферативное за-

Вредные мутации: примеры

Ген	Короткие инсерции/ делеции (INDEL)	Замена-Нонсенс	Замена-Миссенс
APC	p.T1556fs*3 / c.4666_4667insA	p.R24* / c.70C>T	p.A2D / c.5C>A
ATG5	p.K235fs*4 / c.704delA/	p.R9* / c.25C>T	p.K58M / c.173A>T
ARID1A	p.S186fs*209 / c.557_570del14	p.Q605* / c.1813C>T	p.Q561H / c.1683G>C
ATM	p.E26fs*7 / c.73_76delAAAAG	p.R250* / c.748C>T	p.R2832C / c.8494C>T
ATR	p.I774fs*5 / c.2320delA	p.E91* / c.271G>T	p.R1015Q / c.3044G>A
ATRIP	p.L63fs*8 / c.186_189delGCTT	p.E338* / c.1012G>T	p.S310F / c.929C>T
ATRX	p.D275fs*13 / c.824delA	p.G1304* / c.3910G>T	p.L192S / c.575T>C
BAP1	p.K3fs*1 / c.6_7insT	p.R60* / c.178C>T	p.G185R / c.553G>A
BARD1	p.D172fs*40 / c.513delA	p.S142* / c.425C>A	p.E268K / c.802G>A
BLM	p.N92fs*37 / c.271delA	p.W934* / c.2801G>A	p.P30L / c.89C>T
BRCA1	p.E23fs*17 / c.66_67delAG	p.Q94* / c.2801G>A /	p.M1V / c.1A>G
BRCA2	p.K437fs*22 / c.1301_1304delAAAAG	p.E97* / c.289G>T	p.M1I / c.3G>A
BRIP1	p.Y313fs*25 / c.937delT	p.R261* / c.781A>T	p.D184Y / c.550G>T
CDK12	p.L21fs*10 / c.60_61delTT	p.K172* / c.514A>T	p.R890H / c.2669G>A
CHEK1	p.L355fs*1 / c.1061delT	p.R453* / c.1357A>T	p.G361D / c.1082G>A
CHEK2	p.R132fs*29 / c.394delA	p.L303* / c.908T>A	p.S428F / c.1283C>T
DCLRE1A	p.K346fs*7 / c.1038delA	p.S45* / c.134C>A	p.P137S / c.409C>T

DCLRE1B	C149fs*28 / c.443_444insT	p.W44* / c.132G>A	p.D96N / c.286G>A
DCLRE1C	p.Y99fs*7 / c.295_296insT	p.G70* / c.208G>T	p.Q137H / c.411G>C
ERCC2	p.E294fs*40 / c.880delG	p.S74* / c.221C>G	p.V231M / c.691G>A
ERCC3	p.W493fs*7 / c.1475_1476insT	p.R452* / c.1354C>T	p.D60N / c.178G>A
ERCC4	p.K916fs? / c.2743delA	p.Q5* / c.13C>T	p.T809M / c.2426C>T
ERCC5	p.E164fs*6 / c.485delA	p.C12* / c.36C>A	p.M222I / c.666G>A
FAM175A	p.E204fs*1 / c.609_610insT	p.E142* / c.424G>T	p.Y219C / c.656A>G
FANCA	p.L72fs*6 / c.215delT	p.Q1389* / c.4165C>T	p.M415I / c.1245G>A
FANCB	p.F25fs*43 / c.74delT	p.Q512* / c.1534C>T	p.L27F / c.81G>T
FANCC	p.N152fs*6 / c.455delA	p.R174* / c.520C>T	p.R245W / c.733C>T
FANCD2	p.L446fs*17 / c.1332_1333delCT	p.R408* / c.1222C>T	p.R1299H / c.3896G>A
FANCE	p.L173fs*15 / c.515_516insC	p.E235* / c.703G>T	p.Q285H / c.855G>T
FANCF	p.D27fs*54 / c.79delG	p.S18* / c.53C>G	p.R10C / c.28C>T
FANCG	p.S387fs*16 / c.1158delC	p.R102* / c.304A>T	p.L589P / c.1766T>C
FANCI	p.H1218fs*2 / c.3654delC	p.Q208* / c.622C>T	p.G119V / c.356G>T
FANCL	p.S351fs*2 / c.1051_1052delAG	p.W57* / c.170G>A	p.M74I / c.222G>A
FANCM	p.L57fs*9 / c.166_167insT	p.S1618* / c.4853C>G	p.S1665F / c.4994C>T
FBXO18	p.L116fs*1 / c.345delC	p.Q643* / c.1927C>T	p.R754Q / c.2261G>A
FBXW7	p.T165fs*4 / c.493delA	p.S294* / c.881C>G	p.R465C / c.1393C>T
FEN1		p.Q54* / c.160C>T	p.P89L / c.266C>T
GEN1	p.M44fs*1 / c.124delA	p.C117* / c.351C>A	p.R93W / c.277C>T
H2AFX	p.P49fs*13 / c.146_147delCA		p.E42K / c.124G>A
HDAC2	p.T459fs*>30 / c.1375delA	p.E185* / c.553G>T	p.V154A / c.461T>C
LIG4	p.K424fs*20 / c.1271_1275delAAAAGA	p.R37* / c.109A>T	p.D165G / c.494A>G
MDC1	p.D580fs*36 / c.1738_1739delIGA	p.E14* / c.40G>T	p.E149A / c.446A>C
MLH1	p.K196fs*6 / c.583delA	p.R226* / c.676C>T	p.E172K / c.514G>A
MLH3	p.N434fs*4 / c.1295_1296insA	p.Q173* / c.517C>T	p.M181I / c.543G>A
MRE11A	p.G114fs*31 / c.341delG	p.Q97* / c.289C>T	p.D86N / c.256G>A
MSH2	p.F85fs*1 / c.252_253delITT	p.Q215* / c.643C>T	p.G221V / c.662G>T
MSH3	p.D190fs*1 / c.562_563insT	p.Y227* / c.681C>G	p.N365H / c.1093A>C
MSH6	p.L290fs*1 / c.867delC	p.Q4* / c.10C>T	p.V474A / c.1421T>C
NBN	p.R466fs*18 / c.1396delA	p.R43* / c.127C>T	p.I35T / c.104T>C
PALB2	p.N186fs*4 /	p.Q552* / c.1654C>T	p.Q479H / c.1437G>C

	c.552_553insA		
PARP1	p.P359fs*22 / c.1076delC	p.E297* / c.889G>T	p.K59N / c.177G>T
PARP2	p.R13fs*10 / c.36_37ins14	p.R395* / c.1183C>T	p.R241W / c.721C>T
PARP3	p.A300fs*29 / c.894_897delGCAG	p.Q340* / c.1018C>T	p.R524H / c.1571G>A
PARP4	p.K629fs*19 / c.1885_1888AAAG>GA	p.E83* / c.247G>T	p.G1003S / c.3007G>A
PMS2	p.E109fs*3 / c.325delG	p.K647* / c.1939A>T	p.H24Y / c.70C>T
POLA1	p.Q32fs*4 / c.93delC	p.E276* / c.826G>T	p.E89V / c.266A>T
POLB	p.N128fs*5 / c.378delA	p.Q159* / c.475C>T	p.P251S / c.751C>T
POLH	p.F18fs*12 / c.48delT	p.Q543* / c.1627C>T	p.M14V / c.40A>G
POLL	p.C198fs*2 / c.587_588insT	p.R549* / c.1645C>T	p.A285T / c.853G>A
POLN	p.F332fs*14 / c.996delT	p.E599* / c.1795G>T	p.G419D / c.1256G>A
POLQ	p.K1068fs*2 / c.3204delA	p.R602* / c.1804C>T	p.R375W / c.1123C>T
PRKDC	p.L65fs*13 / c.194_195insT	p.E84* / c.250G>T	p.Q16K / c.46C>A
PTEN	p.K6fs*4 / c.16_17delAA	p.L25* / c.74T>A	p.I101T / c.302T>C
RAD17	p.N51fs*6 / c.147delA	p.K107* / c.319A>T	p.K370N / c.1110A>C
RAD18	p.K345fs*28 / c.1035delA	p.E152* / c.454G>T	p.K52T / c.155A>C
RAD50	p.N320fs*5 / c.954_955insA	p.W25* / c.75G>A	p.E387D / c.1161G>T
RAD51	p.Y54fs*11 / c.159_160insG	p.Q30* / c.88C>T	p.E258D / c.774G>T
RAD52	p.V105fs*7 / c.313delG	p.Q221* / c.661C>T	p.R46K / c.137G>A
RAD54B	p.P18fs*10 / c.51_52insA	p.E75* / c.223G>T	p.L528F / c.1582C>T
RAD54L	p.L113fs*10 / c.336_337insT	p.R75* / c.223C>T	p.F163L / c.489C>A
RAD9A	p.K96fs*6 / c.284delA	p.Q205* / c.613C>T	p.R150W / c.448C>T
RB1	p.I124fs*6 / c.370_371delAT	p.E54* / c.160G>T	p.V654M / c.1960G>A
REV3L	p.N639fs*16 / c.1916delA	p.E1707* / c.5119G>T	p.K1512N / c.4536A>C
RPA1	p.F222fs*3 / c.662delT	p.R586* / c.1756C>T	p.V27F / c.79G>T
RPA2	p.V207fs*26 / c.620_621delTG	p.Y97* / c.291T>A	p.G204D / c.611G>A
SLX4	p.L470fs*8 / c.1406_1407insC	p.E53* / c.157G>T	p.K301N / c.903G>T
TDP1	p.P359fs*21 / c.1073delC	p.K177* / c.529A>T	p.K292E / c.874A>G
TDP2	p.K24fs*35 / c.71delA	p.W52* / c.156G>A	p.E176D / c.528A>C
TP53	p.L35fs*8 / c.102_103insT	p.R213* / c.637C>T	p.R175G / c.523C>G (Ссылка 1)
TP53BP1	p.N419fs*67 / c.1256delA	p.Q106* / c.316C>T	p.F307L / c.919T>C
TRRAP	p.F468fs*52 / c.1400delT	p.R1650* / c.4948C>T	p.S722F / c.2165C>T
UBE2N	p.I75fs*6 / c.223delA	p.Q100* / c.298C>T	p.R7S / c.21G>T
UIMC1	p.T189fs*2 / c.565_566insA	p.W183* / c.549G>A	p.S44F / c.131C>T
USP1	p.N21fs*14 / c.57_58insA	p.R180* / c.538C>T	p.E250G / c.749A>G
WDR48	p.W195fs*13 / c.580_581insT	p.G107* / c.319G>T	p.R235C / c.703C>T
WRN	p.M497fs*60 / c.1485delA	p.E48* / c.142G>T	p.W85L / c.254G>T
XPA	p.C153fs*1 / c.459_460delTG	p.E84* / c.250G>T	p.E106K / c.316G>A
XRCC1	p.G61fs*3 / c.180_181insT	p.Q134* / c.400C>T	p.R350W / c.1048C>T
XRCC2	p.K267fs*>14 / c.801delA		p.R91Q / c.272G>A
XRCC3	p.T77fs*28 / c.228_229insC		p.S23L / c.68C>T
XRCC4	p.C128fs*25 / c.380delT	p.E295* / c.883G>T	p.P14A / c.40C>G
XRCC6	p.L41fs*17 / c.116delT	p.R80* / c.238C>T	p.G28E / c.83G>A

Ссылка 1.

Xu Y, Induction of genetic instability by gain-of-function p53 cancer mutants. *Oncogene*. 2008 27(25):3501-7.

Активирующие мутации: примеры

Ген	Миссенс изменение	Слияние
BRAF	p.V600E / c.1799T>A	AKAP9{ENST00000356239};r.1_3551_BR AF{ENST00000288602};r.1202_2480
EGFR	.L858R / c.2573T>G	
ERBB2	p.S1050L / c.3149C>T	
ERBB3	p.Q1239H / c.3717G>C	
PIK3CA	p.H1047R / c.3140A>G	
TMPRSS2		TMPRSS2{ENST00000332149};r.1_79_ER G{ENST00000442448};r.312_5034
DYRK1A	p.R559C / c.1675C>T	
PCNA	p.I88V / c.262A>G	
NRAS	p.Q61L / c.182A>T	
MYC	p.P57S / c.169C>T	
KRAS	p.G12D / c.35G>A	
HRAS	p.Q61L / c.182A>T	
CDC7	p.E25K / c.73G>A	
CCNE2	p.W327R / c.979T>C	
CCNE1	p.R240C / c.718C>T	
CCND1	p.D240H / c.718G>C	
TOP2A	p.R268H / c.803G>A	
TOP2B	p.H977Y / c.2929C>T	
TOPBP1	p.F699C / c.2096T>G	
TP53	p.R273H / c.818G>A (Ссылка 1)	

Дальнейшие примеры вредных/активирующих мутаций гена(ов), указанные в настоящем изобретении, описаны в базах данных в открытом доступе, таких как, например, ClinVar (Landrum MJ, Lee JM, Riley GR, и др., "ClinVar: public archive of relationships among sequence variation and human phenotype", *Nucleic Acids Res.* 2014;42:D980-5; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar>), HGMD (the Human Gene Mutation Database, <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>; Stenson PD, Mort M, Ball EV, и др., "The human gene mutation database: 2008 update.", *Genome Med.* 2009; 1:13) или в "The Human Variome Project" (<http://www.humanvariomeproject.org>; Timothy D Smith and Mauno Vihinen, "Standard development at the Human Variome Project", *Database* 2015, 2015), которые имеют тщательно отобранные ген-/заболевание-специфические базы данных для сбора вариантов последовательностей и генов, ассоциированных с заболеваниями.

Дальнейшие примеры вредных/активирующих мутаций гена(ов), которые можно использовать в контексте способа(ов)/применения(й)/набора(ов)/фармацевтической(их) композиции(й) согласно настоящему изобретению, описаны в базе данных COSMIC (www.cancer.sanger.ac.uk; "COSMIC: exploring the world's knowledge of somatic mutations in human cancer", *Forbes* и др., *Nucleic Acids Res.* 2015 г., январь; 43 (издание баз данных):D805-11. doi: 10.1093/nar/gku1075. *Epub* 2014, октябрь, 29), в особенности в 79 выпуске COSMIC (COSMIC v79), который опубликован 14 ноября 2016 г.

Примеры релевантных функциональных мутаций TMPRSS2-ERG гибридного гена/белка описаны, например, в Tomlins и др. (*Science (New York, N.Y.)* 2005; 310(5748):644-648); Soller и др. (*Genes, chromosomes & cancer* 2006; 45(7):717-719); Clark и др. (*Oncogene* 2007; 26(18):2667-2673); Wang и др. (*Cancer research* 2006; 66(17):8347- 8351); или в Tu и др. (*Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 2007, 20(9):921-928). В другом варианте осуществления настоящего изобретения, субъект или гиперпролиферативное заболевание характеризуется одним или несколькими биомаркерами, выбранными из одной или нескольких функциональных мутаций гена(ов)/белка(ов), которые описаны в экспериментальном разделе далее.

В другом варианте осуществления субъект или гиперпролиферативное заболевание характеризуется одним или несколькими биомаркерами, где биомаркер(ы) содержит(ат) одну или несколько функциональных мутаций, в особенности вредную(е) мутацию(и), APC гена/белка.

В другом варианте осуществления субъект или гиперпролиферативное заболевание характеризуется одним или несколькими биомаркерами, где биомаркер содержит(ат) одну или несколько функциональных мутаций, в особенности вредную(е) мутацию(и), ATG5 гена.

В другом варианте осуществления субъект или гиперпролиферативное заболевание характеризуется одним или несколькими биомаркерами, где биомаркер содержит(ат) одну или несколько функциональных мутаций, в особенности вредную(е) мутацию(и), ARID1A гена.

В другом варианте осуществления субъект или гиперпролиферативное заболевание характеризуется одним или несколькими биомаркерами, где биомаркер содержит(ат) одну или несколько функциональных мутаций, в особенности вредную(е) мутацию(и), ATM гена/белка.

В другом варианте осуществления субъект или гиперпролиферативное заболевание характеризуется одним или несколькими биомаркерами, где биомаркер содержит(ат) одну или несколько функциональных мутаций, в особенности вредную(е) мутацию(и), XRCC1 гена/белка.

В другом варианте осуществления субъект или гиперпролиферативное заболевание характеризуется одним или несколькими биомаркерами, где биомаркер содержит(ат) одну или несколько функциональных мутаций, в особенности вредную(е) мутацию(и), XRCC2 гена/белка.

В другом варианте осуществления субъект или гиперпролиферативное заболевание характеризуется одним или несколькими биомаркерами, где биомаркер содержит(ат) одну или несколько функциональных мутаций, в особенности вредную(е) мутацию(и), XRCC3 гена/белка.

В другом варианте осуществления субъект или гиперпролиферативное заболевание характеризуется одним или несколькими биомаркерами, где биомаркер содержит(ат) одну или несколько функциональных мутаций, в особенности вредную(е) мутацию(и), XRCC4 гена/белка.

В другом варианте осуществления субъект или гиперпролиферативное заболевание характеризуется одним или несколькими биомаркерами, где биомаркер содержит(ат) одну или несколько функциональных мутаций, в особенности вредную(е) мутацию(и), XRCC6 гена/белка.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения, субъект ранее не проходил курс химиотерапии.

Термин "ранее не проходивший курс химиотерапии", как используется в настоящем изобретении, обозначает, что субъект, перед лечением с применением соединения А в соответствии с настоящим изобретением, не получал химиотерапии.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения, субъект получал химиотерапию перед лечением с применением соединения А. Термин "химиотерапия", как используется в настоящем изобретении, обозначает категорию лечения злокачественного новообразования, в которой применяют одну или несколько схем химиотерапии. Химиотерапевтические средства представляют собой разные неспецифические агенты включая, но не ограничиваясь только ими, алкилирующие агенты, антрациклины, таксаны, эпотилоны, ингибиторы гистондеацетилазы, ингибиторы топоизомеразы I, ингибиторы топоизомеразы II, нуклеотидные аналоги, средства на основе платины, алкалоиды барвинка.

Настоящее изобретение также охватывает ингибитор ATR киназы, в особенности соединение А, для применения в способе лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта, где указанный способ включает стадии:

а) определение присутствия в образце одного или нескольких биомаркеров, указанных в настоящем изобретении, предпочтительно в образце *in vitro*, субъекта;

б) введение субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора ATR киназы, в особенности соединения А, если один или несколько биомаркеров, определенных на стадии а), определены положительно.

Настоящее изобретение также охватывает ингибитор ATR киназы, в особенности соединение А, для применения в способе лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта, где указанный способ включает стадии:

а) определение присутствия одного или нескольких биомаркеров, выбранных из

(I) одной или нескольких функциональных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ATG5, ARID1A, ATM, ATR, ATRIP, ATRX, BAP1, BARD1, BLM, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CCND1, CCNE1, CCNE2, CDC7, CDK12, CHEK1, CHEK2, DCLRE1A, DCLRE1B, DCLRE1C, DYRK1A, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, FAM175A, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCM, FBXO18, FBXW7, FEN1, GEN1, HDAC2, H2AFX, HRAS, KRAS, LIG4, MDC1, MLH1, MLH3, MRE11A, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, NBN, NRAS, PALB2, PARP1, PARP2, PARP3, PARP4, PCNA, PIK3CA, PMS2, POLA1, POLB, POLH, POLL, POLN, POLQ, PRKDC, PTEN, RAD9A, RAD17, RAD18, RAD50, RAD51, RAD52, RAD54B, RAD54L, RB1, REV3L, RPA1, RPA2, SLX4, TDP1, TDP2, TMPRSS2, TMPRSS2-ERG, TOPBP1, TOP2A, TOP2B, TP53, TP53BP1, TRRAP, UBE2N, UIMC1, USP1, WDR48, WRN, XPA, XRCC1, XRCC2, XRCC3, XRCC4 и/или XRCC6 гена/белка; и/или

(II) активации ALT пути; и/или

(III) микросателлитной нестабильности, в особенности высокой микросателлитной нестабильности; в образце, предпочтительно в образце *in vitro*, субъекта;

б) введение субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора ATR киназы, в особенности соединения А, если один или несколько биомаркеров, определенных с помощью одной из стадий а)(I), а)(II) и/или а)(III), определены положительно.

Настоящее изобретение также охватывает ингибитор ATR киназы, в особенности соединение А для применения в способе лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта, где указанный способ включает стадии:

а) определение присутствия одного или нескольких биомаркеров, включающих одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из BLM, BRCA1, BRCA2, ERCC5, FEN1, FANCD2, FANCG, H2AFX, PARP1, PCNA, POLL, POLB/POLL, RAD9A, RAD17, RAD52, REV3L,

TDP2, TP53BP1, UBE2N и/или XPA гена/белка в образце, предпочтительно в образце *in vitro*, субъекта;

б) введение субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора ATR киназы, в особенности соединения А, если один или несколько биомаркеров, определенных на стадии а), определены положительно.

В другом варианте осуществления применения ингибитора ATR киназы, в особенности соединения А, в способе лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта в соответствии с настоящим изобретением, где указанный способ включает стадии:

а) исследование образца, предпочтительно образца *in vitro*, полученного от субъекта, в особенности с помощью одного или нескольких стратификационных методов, описанных в настоящем изобретении;

б) определение присутствия в образце одного или нескольких биомаркеров, указанных в настоящем изобретении;

в) введение субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора ATR киназы, в особенности соединения А, если один или несколько биомаркеров, определяемых на стадии (б), определены положительно.

В особенности, настоящее изобретение охватывает применение ингибитора ATR киназы, в особенности соединения А, в способе лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта в соответствии с настоящим изобретением, где указанный способ включает стадии:

а) исследование образца, предпочтительно образца *in vitro*, полученного от субъекта, в особенности с помощью одного или нескольких стратификационных методов, описанных в настоящем изобретении;

б) определение присутствия одного или нескольких биомаркеров, определенных в (I), (II) и/или (III), в образце

(I) одной или нескольких функциональных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ATG5, ARID1A, ATM, ATR, ATRIP, ATRX, BAP1, BARD1, BLM, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CCND1, CCNE1, CCNE2, CDC7, CDK12, CHEK1, CHEK2, DCLRE1A, DCLRE1B, DCLRE1C, DYRK1A, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, FAM175A, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCM, FBXO18, FBXW7, FEN1, GEN1, HDAC2, H2AFX, HRAS, KRAS, LIG4, MDC1, MLH1, MLH3, MRE11A, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, NBN, NRAS, PALB2, PARP1, PARP2, PARP3, PARP4, PCNA, PIK3CA, PMS2, POLA1, POLB, POLH, POLL, POLN, POLQ, PRKDC, PTEN, RAD9A, RAD17, RAD18, RAD50, RAD51, RAD52, RAD54B, RAD54L, RB1, REV3L, RPA1, RPA2, SLX4, TDP1, TDP2, TMRSS2, TMRSS2-ERG, TOPBP1, TOP2A, TOP2B, TP53, TP53BP1, TRRAP, UBE2N, UIMC1, USP1, WDR48, WRN, XPA, XRCC1, XRCC2, XRCC3, XRCC4 и/или XRCC6 гена/белка; и/или

(II) активации ALT пути; и/или

(III) микросателлитной нестабильности, в особенности высокой микросателлитной нестабильности;

в) введение субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора ATR киназы, в особенности соединения А, если один или несколько биомаркеров, определенных с помощью одной из стадий (б)(I), (б)(II) и/или (б)(III), определены положительно.

В другом варианте осуществления применения ингибитора ATR киназы, в особенности соединения А, в способе лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта в соответствии с настоящим изобретением, где указанный способ включает стадии:

а) исследование образца, предпочтительно образца *in vitro*, полученного от субъекта, в особенности с помощью одного или нескольких стратификационных методов, описанных в настоящем изобретении;

б) определение присутствия одного или нескольких биомаркеров, включающих одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из BLM, BRCA1, BRCA2, ERCC5, FEN1, FANCD2, FANCG, H2AFX, PARP1, PCNA, POLL, POLB/POLL, RAD9A, RAD17, RAD52, REV3L, TDP2, TP53BP1, UBE2N и/или XPA гена/белка, присутствуют в образце;

в) введение субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора ATR киназы, в особенности соединения А, если один или несколько биомаркеров, определяемых на стадии (б), определены положительно.

В контексте настоящего изобретения термин "определены положительно" обозначает, что присутствие указанной функциональной мутации, указанной активации ALT пути и/или микросателлитной нестабильности, в особенности высокой микросателлитной нестабильности, в образце, предпочтительно в образцах опухолевых клеток или опухолевых тканей, подтверждено, в особенности с помощью одного или нескольких стратификационных методов, описанных в настоящем изобретении.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение охватывает ингибитор ATR киназы, в особенности соединения А, для применения в способе лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта, где указанный субъект выбирают путем наличия одного или нескольких биомаркеров, определенных в настоящем изобретении.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение охватывает ингибитор ATR киназы, в особенности соединения А, для применения в способе лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта, где указанный субъект выбран путем наличия одного или нескольких биомаркеров, выбранных из

а) одной или нескольких функциональных мутаций в одном или нескольких гене(ах)/белке(ах), как

определено в настоящем изобретении;

б) активации ALT пути; и/или

в) микросателлитной нестабильности, в особенности высокой микросателлитной нестабильности.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение охватывает ингибитор ATR киназы, в особенности соединение А, для применения в способе лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта, где указанный субъект выбран путем наличия одного или нескольких биомаркеров, выбранных из

а) одной или нескольких функциональных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ATG5, ARID1A, ATM, ATR, ATRIP, ATRX, BAP1, BARD1, BLM, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CCND1, CCNE1, CCNE2, CDC7, CDK12, CHEK1, CHEK2, DCLRE1A, DCLRE1B, DCLRE1C, DYRK1A, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, FAM175A, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCM, FBXO18, FBXW7, FEN1, GEN1, HDAC2, H2AFX, HRAS, KRAS, LIG4, MDC1, MLH1, MLH3, MRE11A, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, NBN, NRAS, PALB2, PARP1, PARP2, PARP3, PARP4, PCNA, PIK3CA, PMS2, POLA1, POLB, POLH, POLL, POLN, POLQ, PRKDC, PTEN, RAD9A, RAD17, RAD18, RAD50, RAD51, RAD52, RAD54B, RAD54L, RB1, REV3L, RPA1, RPA2, SLX4, TDP1, TDP2, TMPRSS2, TMPRSS2-ERG, TOPBP1, TOP2A, TOP2B, TP53, TP53BP1, TRRAP, UBE2N, UIMC1, USP1, WDR48, WRN, XPA, XRCC1, XRCC2, XRCC3, XRCC4 и/или XRCC6 гена/белка; и/или

б) активации ALT пути; и/или

в) микросателлитной нестабильности, в особенности высокой микросателлитной нестабильности.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение охватывает ингибитор ATR киназы, в особенности соединение А, для применения в способе лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта, где указанный субъект выбран путем наличия одного или нескольких биомаркеров, включающих одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из BLM, BRCA1, BRCA2, ERCC5, FEN1, FANCD2, FANCG, H2AFX, PARP1, PCNA, POLL, POLB/POLL, RAD9A, RAD17, RAD52, REV3L, TDP2, TP53BP1, UBE2N и/или XPA гена/белка.

Настоящее изобретение также охватывает ингибитор ATR киназы, в особенности соединение А, для применения в способе лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта, где указанное гиперпролиферативное заболевание характеризуется

а) одной или нескольких функциональных мутаций в одном или нескольких гене(ах)/белке(ах), как определено в настоящем изобретении;

б) активации ALT пути; и/или

в) микросателлитной нестабильности, в особенности высокой микросателлитной нестабильности.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение также охватывает ингибитор ATR киназы, в особенности соединение А, для применения в способе лечения субъекта, у которого диагностировано гиперпролиферативное заболевание, где указанный способ включает стадии:

а) исследование образца, предпочтительно образца *in vitro*, полученного от субъекта, в особенности с помощью одного или нескольких стратификационных методов, описанных в настоящем изобретении;

б) определение присутствия в образце одного или нескольких биомаркеров, указанных в настоящем изобретении;

в) введение субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора ATR киназы, в особенности соединения А, если один или несколько биомаркеров, определенных с помощью стадии б), определены положительно.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение охватывает ингибитор ATR киназы, в особенности соединение А, для применения в способе лечения субъекта, у которого диагностировано гиперпролиферативное заболевание, где указанный способ включает стадии:

а) исследование образца, предпочтительно образца *in vitro*, полученного от субъекта, в особенности с помощью одного или нескольких стратификационных методов, описанных в настоящем изобретении;

б) определение присутствия одного или нескольких биомаркеров, определенных в (I), (II) и/или (III), в образце

(I) одной или нескольких функциональных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ATG5, ARID1A, ATM, ATR, ATRIP, ATRX, BAP1, BARD1, BLM, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CCND1, CCNE1, CCNE2, CDC7, CDK12, CHEK1, CHEK2, DCLRE1A, DCLRE1B, DCLRE1C, DYRK1A, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, FAM175A, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCM, FBXO18, FBXW7, FEN1, GEN1, HDAC2, H2AFX, HRAS, KRAS, LIG4, MDC1, MLH1, MLH3, MRE11A, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, NBN, NRAS, PALB2, PARP1, PARP2, PARP3, PARP4, PCNA, PIK3CA, PMS2, POLA1, POLB, POLH, POLL, POLN, POLQ, PRKDC, PTEN, RAD9A, RAD17, RAD18, RAD50, RAD51, RAD52, RAD54B, RAD54L, RB1, REV3L, RPA1, RPA2, SLX4, TDP1, TDP2, TMPRSS2, TMPRSS2-ERG, TOPBP1, TOP2A, TOP2B, TP53, TP53BP1, TRRAP, UBE2N, UIMC1, USP1, WDR48, WRN, XPA, XRCC1, XRCC2, XRCC3, XRCC4 и/или XRCC6 гена/белка; и/или

(II) активации ALT пути; и/или

(III) микросателлитной нестабильности, в особенности высокой микросателлитной нестабильности;

в) введение субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора АТР киназы, в особенности соединения А, если один или несколько биомаркеров, определенных с помощью одной из стадий (б)(I), (б)(II) и/или (б)(III), определены положительно.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение также охватывает ингибитор АТР киназы, в особенности соединение А, для применения в способе лечения субъекта, у которого диагностировано гиперпролиферативное заболевание, где указанный способ включает стадии:

а) исследование образца, предпочтительно образца *in vitro*, полученного от субъекта, в особенности с помощью одного или нескольких стратификационных методов, описанных в настоящем изобретении;

б) определение присутствия одного или нескольких биомаркеров, включающих одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из BLM, BRCA1, BRCA2, ERCC5, FEN1, FANCD2, FANCG, H2AFX, PARP1, PCNA, POLL, POLB/POLL, RAD9A, RAD17, RAD52, REV3L, TDP2, TP53BP1, UBE2N и/или XPA гена/белка, присутствуют в образце;

в) введение субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора АТР киназы, в особенности соединения А, если один или несколько биомаркеров, определенных с помощью стадии б) присутствует(ют) в образце.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение охватывает применение ингибитора АТР киназы, в особенности соединения А, для приготовления лекарственного средства для лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта, где указанный субъект характеризуется одним или несколькими биомаркерами, определенными в настоящем изобретении.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение охватывает применение ингибитора АТР киназы, в особенности соединения А, для приготовления лекарственного средства для лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта, где указанный субъект характеризуется

а) одной или несколькими функциональными мутациями в одном или нескольких гене(ах)/белке(ах), как определено в настоящем изобретении;

б) активацией ALT пути; и/или

в) микросателлитной нестабильностью, в особенности высокой микросателлитной нестабильностью.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение охватывает применение ингибитора АТР киназы, в особенности соединения А, для приготовления лекарственного средства для лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта, где указанный субъект характеризуется

а) одной или несколькими функциональными мутациями в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ATG5, ARID1A, ATM, ATR, ATRIP, ATRX, BAP1, BARD1, BLM, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CCND1, CCNE1, CCNE2, CDC7, CDK12, CHEK1, CHEK2, DCLRE1A, DCLRE1B, DCLRE1C, DYRK1A, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, FAM175A, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCM, FBXO18, FBXW7, FEN1, GEN1, HDAC2, H2AFX, HRAS, KRAS, LIG4, MDC1, MLH1, MLH3, MRE11A, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, NBN, NRS, PALB2, PARP1, PARP2, PARP3, PARP4, PCNA, PIK3CA, PMS2, POLA1, POLB, POLH, POLL, POLN, POLQ, PRKDC, PTEN, RAD9A, RAD17, RAD18, RAD50, RAD51, RAD52, RAD54B, RAD54L, RB1, REV3L, RPA1, RPA2, SLX4, TDP1, TDP2, TMRSS2, TMRSS2-ERG, TOPBP1, TOP2A, TOP2B, TP53, TP53BP1, TRRAP, UBE2N, UIMC1, USP1, WDR48, WRN, XPA, XRCC1, XRCC2, XRCC3, XRCC4 и/или XRCC6 гена/белка; и/или

б) активацией ALT пути; и/или

в) микросателлитной нестабильностью, в особенности высокой микросателлитной нестабильностью.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение охватывает применение ингибитора АТР киназы, в особенности соединения А, для приготовления лекарственного средства для лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта, где указанное гиперпролиферативное заболевание характеризуется одним или несколькими биомаркерами, определенными в настоящем изобретении.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение охватывает применение ингибитора АТР киназы, в особенности соединения А, для приготовления лекарственного средства для лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта, где указанное гиперпролиферативное заболевание характеризуется

а) одной или несколькими функциональными мутациями в одном или нескольких гене(ах)/белке(ах), как определено в настоящем изобретении; и/или

б) активацией ALT пути; и/или

в) микросателлитной нестабильностью, в особенности высокой микросателлитной нестабильностью.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение охватывает применение ингибитора АТР киназы, в особенности соединения А, для приготовления лекарственного средства для лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта, где указанное гиперпролиферативное заболевание характеризуется

а) одной или несколькими функциональными мутациями в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ATG5, ARID1A, ATM, ATR, ATRIP, ATRX, BAP1, BARD1, BLM, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CCND1, CCNE1, CCNE2, CDC7, CDK12, CHEK1, CHEK2, DCLRE1A, DCLRE1B, DCLRE1C, DYRK1A, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, FAM175A, FANCA,

FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCM, FBXO18, FBXW7, FEN1, GEN1, HDAC2, H2AFX, HRAS, KRAS, LIG4, MDC1, MLH1, MLH3, MRE11A, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, NBN, NRAS, PALB2, PARP1, PARP2, PARP3, PARP4, PCNA, PIK3CA, PMS2, POLA1, POLB, POLH, POLL, POLN, POLQ, PRKDC, PTEN, RAD9A, RAD17, RAD18, RAD50, RAD51, RAD52, RAD54B, RAD54L, RB1, REV3L, RPA1, RPA2, SLX4, TDP1, TDP2, TMPRSS2, TMPRSS2-ERG, TOPBP1, TOP2A, TOP2B, TP53, TP53BP1, TRRAP, UBE2N, UIMC1, USP1, WDR48, WRN, XPA, XRCC1, XRCC2, XRCC3, XRCC4 и/или XRCC6 гена/белка; и/или

б) активацией ALT пути; и/или

в) микросателлитной нестабильностью, в особенности высокой микросателлитной нестабильностью.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение охватывает применение ингибитора ATR киназы, в особенности соединения А, для приготовления лекарственного средства для лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта, где указанное гиперпролиферативное заболевание или указанный субъект характеризуется одним или несколькими биомаркерами, включающими одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из BLM, BRCA1, BRCA2, ERCC5, FEN1, FANCD2, FANCG, H2AFX, PARP1, PCNA, POLL, POLB/POLL, RAD9A, RAD17, RAD52, REV3L, TDP2, TP53BP1, UBE2N и/или XPA гена/белка.

В другом варианте осуществления применения ингибитора ATR киназы, в особенности соединения А, для приготовления лекарственного средства для лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта в соответствии с изобретением, одну или несколько функциональных мутаций, активацию ALT пути и/или микросателлитную нестабильность определяют с помощью одного или нескольких стратификационных методов, описанных в настоящем изобретении.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение охватывает применение ингибитора ATR киназы, в особенности соединения А, для приготовления лекарственного средства для способа лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта, где указанный способ включает стадии:

а) исследование образца, полученного от субъекта, в особенности с помощью одного или нескольких стратификационных методов, описанных в настоящем изобретении;

б) определение присутствия в образце одного или нескольких биомаркеров, указанных в настоящем изобретении;

в) введение субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора ATR киназы, в особенности соединения А, если один или несколько биомаркеров, определяемых на стадии (б), определены положительно.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение охватывает применение ингибитора ATR киназы, в особенности соединения А, для приготовления лекарственного средства для способа лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта, где указанный способ включает стадии:

а) исследование образца, полученного от субъекта, в особенности с помощью одного или нескольких стратификационных методов, описанных в настоящем изобретении;

б) определение присутствия в образце одного или нескольких биомаркеров, определенных в (I), (II) и/или (III):

(I) одной или нескольких функциональных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ATG5, ARID1A, ATM, ATR, ATRIP, ATRX, BAP1, BARD1, BLM, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CCND1, CCNE1, CCNE2, CDC7, CDK12, CHEK1, CHEK2, DCLRE1A, DCLRE1B, DCLRE1C, DYRK1A, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, FAM175A, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCM, FBXO18, FBXW7, FEN1, GEN1, HDAC2, H2AFX, HRAS, KRAS, LIG4, MDC1, MLH1, MLH3, MRE11A, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, NBN, NRAS, PALB2, PARP1, PARP2, PARP3, PARP4, PCNA, PIK3CA, PMS2, POLA1, POLB, POLH, POLL, POLN, POLQ, PRKDC, PTEN, RAD9A, RAD17, RAD18, RAD50, RAD51, RAD52, RAD54B, RAD54L, RB1, REV3L, RPA1, RPA2, SLX4, TDP1, TDP2, TMPRSS2, TMPRSS2-ERG, TOPBP1, TOP2A, TOP2B, TP53, TP53BP1, TRRAP, UBE2N, UIMC1, USP1, WDR48, WRN, XPA, XRCC1, XRCC2, XRCC3, XRCC4 и/или XRCC6 гена/белка; и/или

(II) активации ALT пути; и/или

(III) микросателлитной нестабильности, в особенности высокой микросателлитной нестабильности;

в) введение субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора ATR киназы, в особенности соединения А, если один или несколько биомаркеров, определенных с помощью одной из стадий (б)(I), (б)(II) и/или (б)(III), определены положительно.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение охватывает применение ингибитора ATR киназы, в особенности соединения А, для приготовления лекарственного средства для способа лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта, где указанный способ включает стадии:

а) определение присутствия в образце одного или нескольких биомаркеров, указанных в настоящем изобретении указанного субъекта;

б) введение субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора ATR киназы, в особенности соединения А, если один или несколько биомаркеров, определенных на стадии а), определены положительно.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение охватывает применение ингибитора АТР киназы, в особенности соединения А, для приготовления лекарственного средства для способа лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта, где указанный способ включает стадии:

а) определение присутствия одного или нескольких биомаркеров, выбранных из

(I) одной или нескольких функциональных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ATG5, ARID1A, ATM, ATR, ATRIP, ATRX, BAP1, BARD1, BLM, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CCND1, CCNE1, CCNE2, CDC7, CDK12, CHEK1, CHEK2, DCLRE1A, DCLRE1B, DCLRE1C, DYRK1A, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, FAM175A, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCM, FBXO18, FBXW7, FEN1, GEN1, HDAC2, H2AFX, HRAS, KRAS, LIG4, MDC1, MLH1, MLH3, MRE11A, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, NBN, NRAS, PALB2, PARP1, PARP2, PARP3, PARP4, PCNA, PIK3CA, PMS2, POLA1, POLB, POLH, POLL, POLN, POLQ, PRKDC, PTEN, RAD9A, RAD17, RAD18, RAD50, RAD51, RAD52, RAD54B, RAD54L, RB1, REV3L, RPA1, RPA2, SLX4, TDP1, TDP2, TMRSS2, TMRSS2-ERG, TOPBP1, TOP2A, TOP2B, TP53, TP53BP1, TRRAP, UBE2N, UIMC1, USP1, WDR48, WRN, XPA, XRCC1, XRCC2, XRCC3, XRCC4 и/или XRCC6 гена/белка; и/или

(II) активации ALT пути; и/или

(III) микросателлитной нестабильности, в особенности высокой микросателлитной нестабильности; в образце указанного субъекта;

б) введение субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора АТР киназы, в особенности соединения А, если один или несколько биомаркеров, определенных с помощью одной из стадий а)(I), а)(II) и/или а)(III), определены положительно.

Способ(ы) настоящего изобретения

В другом варианте осуществления настоящее изобретение охватывает способ лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта с использованием эффективного количества ингибитора АТР киназы, в особенности соединения А, где указанный субъект или указанное гиперпролиферативное заболевание характеризуется одним или несколькими биомаркерами, определенными в настоящем изобретении.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение охватывает способ лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта с использованием эффективного количества ингибитора АТР киназы, в особенности соединения А, где указанный субъект характеризуется

а) одной или несколькими функциональными мутациями в одном или нескольких генах (ах)/белке (ах), как определено в настоящем изобретении; и/или

б) активацией ALT пути; и/или

в) микросателлитной нестабильностью, в особенности высокой микросателлитной нестабильностью.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение охватывает способ лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта с использованием эффективного количества ингибитора АТР киназы, в особенности соединения А, где указанный субъект характеризуется

а) одной или несколькими функциональными мутациями в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ATG5, ARID1A, ATM, ATR, ATRIP, ATRX, BAP1, BARD1, BLM, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CCND1, CCNE1, CCNE2, CDC7, CDK12, CHEK1, CHEK2, DCLRE1A, DCLRE1B, DCLRE1C, DYRK1A, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, FAM175A, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCM, FBXO18, FBXW7, FEN1, GEN1, HDAC2, H2AFX, HRAS, KRAS, LIG4, MDC1, MLH1, MLH3, MRE11A, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, NBN, NRAS, PALB2, PARP1, PARP2, PARP3, PARP4, PCNA, PIK3CA, PMS2, POLA1, POLB, POLH, POLL, POLN, POLQ, PRKDC, PTEN, RAD9A, RAD17, RAD18, RAD50, RAD51, RAD52, RAD54B, RAD54L, RB1, REV3L, RPA1, RPA2, SLX4, TDP1, TDP2, TMRSS2, TMRSS2-ERG, TOPBP1, TOP2A, TOP2B, TP53, TP53BP1, TRRAP, UBE2N, UIMC1, USP1, WDR48, WRN, XPA, XRCC1, XRCC2, XRCC3, XRCC4 и/или XRCC6 гена/белка; и/или

б) активацией ALT пути; и/или

в) микросателлитной нестабильностью, в особенности высокой микросателлитной нестабильностью.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение охватывает способ лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта с использованием эффективного количества ингибитора АТР киназы, в особенности соединения А, где указанное гиперпролиферативное заболевание или указанный субъект характеризуется одним или несколькими биомаркерами, включающими одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из BLM, BRCA1, BRCA2, ERCC5, FEN1, FANCD2, FANCG, H2AFX, PARP1, PCNA, POLL, POLB/POLL, RAD9A, RAD17, RAD52, REV3L, TDP2, TP53BP1, UBE2N и/или XPA гена/белка.

В другом варианте осуществления способа лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта с использованием эффективного количества ингибитора АТР киназы, в особенности соединения А, одну или несколько функциональных мутаций, активацию ALT пути и/или микросателлитную нестабильность определяют с помощью одного или нескольких стратификационных методов, описанных в настоящем изобретении.

Настоящее изобретение также охватывает способ лечения субъекта, у которого диагностировано

гиперпролиферативное заболевание, включающий стадии

а) исследование образца, полученного от субъекта, предпочтительно образца *in vitro* от субъекта, в особенности с помощью одного или нескольких стратификационных методов, описанных в настоящем изобретении;

б) определение присутствия в образце одного или нескольких биомаркеров, указанных в настоящем изобретении;

в) введение субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора ATR киназы, в особенности соединения А, если один или несколько биомаркеров, определенных с помощью стадии б), определены положительно.

Настоящее изобретение также охватывает способ лечения субъекта, у которого диагностировано гиперпролиферативное заболевание, включающий стадии

а) исследование образца, полученного от субъекта, в особенности с помощью одного или нескольких стратификационных методов, описанных в настоящем изобретении;

б) определение присутствия одного или нескольких биомаркеров, определенных в (I), (II) и/или (III), в образце

(I) одной или нескольких функциональных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ATG5, ARID1A, ATM, ATR, ATRIP, ATRX, BAP1, BARD1, BLM, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CCND1, CCNE1, CCNE2, CDC7, CDK12, CHEK1, CHEK2, DCLRE1A, DCLRE1B, DCLRE1C, DYRK1A, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, FAM175A, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCM, FBXO18, FBXW7, FEN1, GEN1, HDAC2, H2AFX, HRAS, KRAS, LIG4, MDC1, MLH1, MLH3, MRE11A, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, NBN, NRAS, PALB2, PARP1, PARP2, PARP3, PARP4, PCNA, PIK3CA, PMS2, POLA1, POLB, POLH, POLL, POLN, POLQ, PRKDC, PTEN, RAD9A, RAD17, RAD18, RAD50, RAD51, RAD52, RAD54B, RAD54L, RB1, REV3L, RPA1, RPA2, SLX4, TDP1, TDP2, TMPRSS2, TMPRSS2-ERG, TOPBP1, TOP2A, TOP2B, TP53, TP53BP1, TRRAP, UBE2N, UIMC1, USP1, WDR48, WRN, XPA, XRCC1, XRCC2, XRCC3, XRCC4 и/или XRCC6 гена/белка; и/или

(II) активации ALT пути; и/или

(III) микросателлитной нестабильности, в особенности высокой микросателлитной нестабильности;

в) введение субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора ATR киназы, в особенности соединения А, если один или несколько биомаркеров, определенных с помощью одной из стадий (б)(I), (б)(II) и/или (б)(III), определены положительно.

Настоящее изобретение также охватывает способ лечения субъекта, у которого диагностировано гиперпролиферативное заболевание, включающий стадии

а) исследование образца, полученного от субъекта, предпочтительно образца *in vitro* от субъекта, в особенности с помощью одного или нескольких стратификационных методов, описанных в настоящем изобретении;

б) определение присутствия одного или нескольких биомаркеров, включающих одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из BLM, BRCA1, BRCA2, ERCC5, FEN1, FANCD2, FANCG, H2AFX, PARP1, PCNA, POLL, POLB/POLL, RAD9A, RAD17, RAD52, REV3L, TDP2, TP53BP1, UBE2N и/или XPA гена/белка, присутствуют в образце;

в) введение субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора ATR киназы, в особенности соединения А, если один или несколько биомаркеров, определенных с помощью стадии б), определены положительно.

Настоящее изобретение также охватывает способ идентификации субъекта, имеющего гиперпролиферативное заболевание, склонное к положительной реакции на ингибитор ATR киназы, в особенности соединения А, где способ включает обнаружение одного или нескольких биомаркеров, определенных в настоящем изобретении, в образце указанного субъекта, предпочтительно в образце *in vitro* опухолевых клеток или опухолевой ткани.

Настоящее изобретение также охватывает способ идентификации субъекта, имеющего гиперпролиферативное заболевание, склонное к положительной реакции на ингибитор ATR киназы, в особенности соединения А, где способ включает обнаружение одного или нескольких биомаркеров, выбранных из

(I) одной или нескольких функциональных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ATG5, ARID1A, ATM, ATR, ATRIP, ATRX, BAP1, BARD1, BLM, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CCND1, CCNE1, CCNE2, CDC7, CDK12, CHEK1, CHEK2, DCLRE1A, DCLRE1B, DCLRE1C, DYRK1A, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, FAM175A, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCM, FBXO18, FBXW7, FEN1, GEN1, HDAC2, H2AFX, HRAS, KRAS, LIG4, MDC1, MLH1, MLH3, MRE11A, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, NBN, NRAS, PALB2, PARP1, PARP2, PARP3, PARP4, PCNA, PIK3CA, PMS2, POLA1, POLB, POLH, POLL, POLN, POLQ, PRKDC, PTEN, RAD9A, RAD17, RAD18, RAD50, RAD51, RAD52, RAD54B, RAD54L, RB1, REV3L, RPA1, RPA2, SLX4, TDP1, TDP2, TMPRSS2, TMPRSS2-ERG, TOPBP1, TOP2A, TOP2B, TP53, TP53BP1, TRRAP, UBE2N, UIMC1, USP1, WDR48, WRN, XPA, XRCC1, XRCC2, XRCC3, XRCC4 и/или XRCC6 гена/белка; и/или

(II) активации ALT пути; и/или

(III) микросателлитной нестабильности, в особенности высокой микросателлитной нестабильности; в образце указанного субъекта, предпочтительно в образце *in vitro* опухолевых клеток или опухолевой ткани.

Настоящее изобретение также охватывает способ идентификации субъекта, имеющего гиперпролиферативное заболевание, склонное к положительной реакции на ингибитор ATR киназы, в особенности Соединение А, где способ включает обнаружение одного или нескольких биомаркеров, включающих одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из BLM, BRCA1, BRCA2, ERCC5, FEN1, FANCD2, FANCG, H2AFX, PARP1, PCNA, POLL, POLB/POLL, RAD9A, RAD17, RAD52, REV3L, TDP2, TP53BP1, UBE2N и/или XPA гена/белка в образце указанного субъекта, предпочтительно в образце *in vitro* опухолевых клеток или опухолевой ткани.

В другом варианте осуществления один или несколько биомаркеров определены с помощью одного или нескольких стратификационных методов, описанных в настоящем изобретении.

Настоящее изобретение также охватывает способ идентификации субъекта с гиперпролиферативным заболеванием, который более вероятно отвечает на терапию, включающую ингибитор ATR киназы, в особенности соединение А, чем другие субъекты, где указанный способ включает

а) определение в образце от указанного субъекта одного или нескольких биомаркеров, указанных в настоящем изобретении;

б) идентификацию тех субъектов, для которых на стадии а) один или несколько биомаркеров определены положительно.

Настоящее изобретение также охватывает способ идентификации субъекта с гиперпролиферативным заболеванием, который более вероятно отвечает на терапию, включающую ингибитор ATR киназы, в особенности соединение А, чем другие субъекты, где указанный способ включает

а) определение в образце от указанного субъекта биомаркера(ов), выбранного(ых) из

(I) одной или нескольких функциональных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ATG5, ARID1A, ATM, ATR, ATRIP, ATRX, BAP1, BARD1, BLM, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CCND1, CCNE1, CCNE2, CDC7, CDK12, CHEK1, CHEK2, DCLRE1A, DCLRE1B, DCLRE1C, DYRK1A, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, FAM175A, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCM, FBXO18, FBXW7, FEN1, GEN1, HDAC2, H2AFX, HRAS, KRAS, LIG4, MDC1, MLH1, MLH3, MRE11A, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, NBN, NRAS, PALB2, PARP1, PARP2, PARP3, PARP4, PCNA, PIK3CA, PMS2, POLA1, POLB, POLH, POLL, POLN, POLQ, PRKDC, PTEN, RAD9A, RAD17, RAD18, RAD50, RAD51, RAD52, RAD54B, RAD54L, RB1, REV3L, RPA1, RPA2, SLX4, TDP1, TDP2, TMRSS2, TMRSS2-ERG, TOPBP1, TOP2A, TOP2B, TP53, TP53BP1, TRRAP, UBE2N, UIMC1, USP1, WDR48, WRN, XPA, XRCC1, XRCC2, XRCC3, XRCC4 и/или XRCC6 гена/белка; и/или

(II) активации ALT пути; и/или

(III) микросателлитной нестабильности, в особенности высокой микросателлитной нестабильности; и б) идентификацию тех субъектов, для которых один или несколько биомаркеров из любой а)(I), а)(II) или а)(III), определены положительно.

Настоящее изобретение также охватывает способ идентификации субъекта с гиперпролиферативным заболеванием, который более вероятно отвечает на терапию, включающую ингибитор ATR киназы, в особенности соединение А, чем другие субъекты, где указанный способ включает

а) определение в образце от указанного субъекта одного или нескольких биомаркеров, включающих одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из BLM, BRCA1, BRCA2, ERCC5, FEN1, FANCD2, FANCG, H2AFX, PARP1, PCNA, POLL, POLB/POLL, RAD9A, RAD17, RAD52, REV3L, TDP2, TP53BP1, UBE2N и/или XPA гена/белка;

б) идентификацию тех субъектов, для которых на стадии а) один или несколько биомаркеров определены положительно.

Настоящее изобретение также охватывает способ определения, будет ли субъект, имеющий гиперпролиферативное заболевание, отвечать на лечение с применением ингибитора ATR киназы, в особенности с применением соединения А, где способ включает обнаружение одного или нескольких биомаркеров, определенных в настоящем изобретении, в образце указанного субъекта. Предпочтительно образец представляет собой образец опухолевых клеток или опухолевой ткани указанного субъекта. В особенности, биомаркер(ы) определен(ы) с помощью одного или нескольких стратификационных методов, описанных в настоящем изобретении.

Настоящее изобретение также охватывает способ определения вероятности того, что субъект с гиперпролиферативным заболеванием будет получать преимущества от лечения с применением ингибитора ATR киназы, в особенности с применением соединения А, где указанный способ включает обнаружение одного или нескольких биомаркеров, определенных в настоящем изобретении, в образце указанного субъекта и идентификацию субъекта, который более вероятно будет отвечать на указанное лечение с применением ингибитора ATR киназы, в особенности с применением соединения А, где один или несколько биомаркеров определены положительно.

Настоящее изобретение также охватывает способ прогнозирования, будет ли субъект с гиперпролиферативным заболеванием отвечать на лечение с применением ингибитора АТР киназы, в особенности с применением соединения А, где способ включает обнаружение одного или нескольких биомаркеров, определенных в настоящем изобретении, в образце указанного субъекта.

Настоящее изобретение также охватывает применение одного или нескольких биомаркеров, определенных в настоящем изобретении, для идентификации субъекта с гиперпролиферативным заболеванием, который склонен к положительной реакции на ингибитор АТР киназы, в особенности на соединение А.

Набор(ы) и фармацевтическая(е) композиция(и) согласно настоящему изобретению

Настоящее изобретение также охватывает набор, содержащий ингибитор АТР киназы, в особенности соединение А, совместно со средствами, предпочтительно обнаруживаемым агентом, для обнаружения в образце от субъекта одного или нескольких биомаркеров, выбранных из

а) одной или нескольких функциональных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ATG5, ARID1A, ATM, ATR, ATRIP, ATRX, BAP1, BARD1, BLM, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CCND1, CCNE1, CCNE2, CDC7, CDK12, CHEK1, CHEK2, DCLRE1A, DCLRE1B, DCLRE1C, DYRK1A, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, FAM175A, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCM, FBXO18, FBXW7, FEN1, GEN1, HDAC2, H2AFX, HRAS, KRAS, LIG4, MDC1, MLH1, MLH3, MRE11A, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, NBN, NRAS, PALB2, PARP1, PARP2, PARP3, PARP4, PCNA, PIK3CA, PMS2, POLA1, POLB, POLH, POLL, POLN, POLQ, PRKDC, PTEN, RAD9A, RAD17, RAD18, RAD50, RAD51, RAD52, RAD54B, RAD54L, RB1, REV3L, RPA1, RPA2, SLX4, TDP1, TDP2, TMRSS2, TMRSS2-ERG, TOPBP1, TOP2A, TOP2B, TP53, TP53BP1, TRRAP, UBE2N, UIMC1, USP1, WDR48, WRN, XPA, XRCC1, XRCC2, XRCC3, XRCC4 и/или XRCC6 гена/белка; и/или

б) активации ALT пути; и/или

в) микросателлитной нестабильности, в особенности высокой микросателлитной нестабильности.

Настоящее изобретение также охватывает набор, содержащий ингибитор АТР киназы, в особенности соединение А, совместно со средствами, предпочтительно обнаруживаемым агентом, для обнаружения, в особенности в образце от субъекта, одного или нескольких биомаркеров, определенных в настоящем изобретении.

Настоящее изобретение также охватывает набор, содержащий ингибитор АТР киназы, в особенности соединение А, совместно со средствами, предпочтительно обнаруживаемым агентом, для обнаружения в образце от субъекта одного или нескольких биомаркеров, включающих одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из BLM, BRCA1, BRCA2, ERCC5, FEN1, FANCD2, FANCG, H2AFX, PARP1, PCNA, POLL, POLB/POLL, RAD9A, RAD17, RAD52, REV3L, TDP2, TP53BP1, UBE2N и/или XPA гена/белка.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение охватывает фармацевтическую композицию, содержащую ингибитор АТР киназы, в особенности соединение А, совместно с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми наполнителями для применения в любом из способов/применений для лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта, как описано в настоящем изобретении.

Ингибитор АТР киназы, в особенности соединение А, может действовать системно и/или локально. Для этого, они могут вводиться подходящим образом, например, путем перорального, парентерального, легочного, назального, сублингвального, лингвального, буккального, ректального, дермального, трансдермального конъюнктивального или ушного пути, или в качестве импланта или стента. Ингибитор АТР киназы, в особенности соединение А, может вводиться в формах введения, подходящих для этих путей введения.

Подходящими вводимыми формами для перорального введения являются те формы, которые доставляют соединение А быстрым и/или модифицированным образом, и содержат соединение А в кристаллической и/или аморфной и/или растворенной форме, например, таблетки (без оболочки или покрытые оболочкой таблетки, например, с кишечнорастворимым или с замедленным растворением или нерастворимыми покрытиями, которые контролируют высвобождение соединения А, таблетки или пленки/пластины, которые быстро распадаются в ротовой полости, пленки/лиофилизаты, капсулы (например, твердые или мягкие желатиновые капсулы), покрытие сахаром таблетки, гранулы, пеллеты, порошки, эмульсии, суспензии, аэрозоли или растворы.

Парентеральное введение может осуществляться для избегания стадии абсорбции (например, внутривенным, внутриартериальным, внутрисердечным, интраспинальным или интраюмбальным путем) или с включением абсорбции (например, внутримышечным, подкожным, внутрикожным, чрескожным или внутрибрюшинным путем). Формы введения, которые являются подходящими для парентерального введения, представляют собой, в частности, препараты для инъекции и инфузии в форме растворов, суспензий, эмульсий, лиофилизатов или стерильных порошков.

Для других путей введения, подходящими примерами являются фармацевтические формы для ингаляции или ингаляционные лекарственные средства (включая порошковые ингаляторы, небулайзеры), капли для носа, растворы или спреи; таблетки, пленки/пластины или капсулы для лингвального, сублин-

гвального или буккального введения, пленки/пластины или капсулы, суппозитории, ушные или глазные препараты (например, глазные ванночки, глазные вкладыши, ушные капли, ушные порошки, ушные промывалки, ушные тампоны), вагинальные капсулы, водные суспензии (лосьоны, взбалтываемые смеси), липофильные суспензии, мази, кремы, трансдермальные терапевтические системы (например, пластыри), молочко, пасты, пены, присыпки, импланты, внутриматочные спирали, вагинальные кольца или стенты.

Соединение А может превращаться в указанные формы для введения. Это можно осуществлять с помощью метода, известного *per se*, путем смешивания с фармацевтически приемлемыми наполнителями.

Такие наполнители включают носители (например, микрокристаллическая целлюлоза, лактоза, маннит), растворители (например, жидкие полиэтиленгликоли), эмульсификаторы и диспергирующие или смачивающие агенты (например, додецилсульфат натрия, полиоксисорбитан олеат), связующие (например, поливинилпирролидон), синтетические и природные полимеры (например, альбумин), стабилизаторы (например, антиоксиданты, например, аскорбиновая кислота), красители (например, неорганические пигменты, например, оксиды железа) и ароматизаторы и/или дезодораторы. Фармацевтически приемлемые наполнители являются нетоксичными, предпочтительно, они являются нетоксичными и инертными. Фармацевтически приемлемые наполнители включают, в частности

носители и наполнители (например, целлюлоза, микрокристаллическая целлюлоза, такие как, например, Avicel®, лактоза, маннит, крахмал, фосфат кальция, такой как, например, Di-Cafos®),

мазевые основы (например, вазелиновое масло, парафины, триглицериды, воски, шерстяной воск, спирты шерстяного воска, ланолин, гидрофильная мазь, полиэтиленгликоли),

основания для суппозитория (например, полиэтиленгликоли, масло какао, твердый жир),

растворители (например, вода, этанол, изопропанол, глицерин, пропиленгликоль, среднецепочечные триглицериды жирных масел, жидкие полиэтиленгликоли, парафины),

поверхностно-активные вещества, эмульсификаторы, диспергирующие агенты или смачивающие агенты (например, додецилсульфат натрия, лецитин, фосфолипиды, жирные спирты, такие как, например, Lanette®, сложные эфиры сорбита и жирной кислоты, такие как, например, Span®, полиоксиэтиленовые сложные эфиры сорбита и жирной кислоты, такие как, например, Tween®, полиоксиэтиленовые глицериды жирных кислот, такие как, например, Cremophor®, полиоксиэтиленовые сложные эфиры жирных кислот, полиоксиэтиленовые простые эфиры жирных спиртов, глицериновые сложные эфиры жирных кислот, полоксамеры, такие как, например, Pluronic®),

буферы, а также кислоты и основания (например, фосфаты, карбонаты, лимонная кислота, уксусная кислота, соляная кислота, раствор гидроксида натрия, карбонат аммония, трометамол, триэтаноламин),

агенты, придающие изотоничность (например, глюкоза, хлорид натрия),

абсорбенты (например, высокодисперсные диоксиды кремния),

агенты, повышающие вязкость, гелеобразователи, загустители и/или связующие (например, поливинилпирролидон, метилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза, натрий карбоксиметилцеллюлоза, крахмал, карбомеры, полиакриловые кислоты, такие как, например, Carbopol®; альгинаты, желатин),

агенты, вызывающие дезинтеграцию (например, модифицированный крахмал, натрий карбоксиметилцеллюлоза, натрия крахмала гликолят, такой как, например, Explotab®, перекрестно-сшитый поливинилпирролидон, натрий кросскармеллоза, такой как, например, AcDiSol®),

регуляторы текучести, смазывающие вещества, вещества, способствующие скольжению и агенты, облегчающие выемку из формы (например, стеарат магния, стеариновая кислота, тальк, высокодисперсные диоксиды кремния, такой как, например, Aerosil®),

материалы для нанесения покрытий (например, сахар, шеллак) и пленкообразователи для пленок или диффузионные мембраны, которые растворяются быстро или модифицированным образом (например, поливинилпирролидоны, такой как, например, Kollidon®, поливиниловый спирт, гидроксипропилметилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза, этилцеллюлоза, фталат гидроксипропилметилцеллюлозы, ацетат целлюлозы, ацетат фталат целлюлозы, полиакрилаты, полиметакрилаты, такие как, например Eudragit®),

материалы для образования капсул (например, желатин, гидроксипропилметилцеллюлоза),

синтетические полимеры (например, полилактиды, полигликолиды, полиакрилаты, полиметакрилаты, такие как, например, Eudragit®, поливинилпирролидоны, такой как, например, Kollidon®, поливиниловые спирты, поливинилацетаты, полиэтиленоксиды, полиэтиленгликоли и их сополимеры и блоксополимеры),

пластификаторы (например, полиэтиленгликоли, пропиленгликоль, глицерин, триацетин, триацетилцитрат, дибутил фталат), усилители проникновения,

стабилизаторы (например, антиоксиданты, такие как, например, аскорбиновая кислота, аскорбил пальмитат, аскорбат натрия, бутилгидроксианизол, бутилгидрокситолуол, пропилгаллат),

консерванты (например, парабены, сорбиновая кислота, тиомерсал, бензалконий хлорид, хлоргексидин ацетат, бензоат натрия),

красители (например, неорганические пигменты, такие как, например, оксиды железа, диоксид титана),

ароматизаторы, подсластители, ароматизаторы и/или дезодораторы.

Настоящее изобретение дополнительно охватывает применение фармацевтических композиций, которые содержат ингибитор АTR киназы, в особенности соединение А, совместно с одним или несколькими, предпочтительно инертными, нетоксичными, фармацевтически приемлемыми наполнителями, для применения в любом из способов/применений для лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта, как описано в настоящем изобретении.

На основании стандартных лабораторных техник, известных для оценки соединений, пригодных для лечения гиперпролиферативных заболеваний, с помощью стандартных тестов токсичности и стандартных фармакологических анализов для определения лечения состояний, идентифицированных выше, у млекопитающих, и путем сравнения этих результатов с результатами известных активных компонентов или лекарственных средств, которые используются для лечения этих состояний, эффективная дозировка соединений согласно настоящему изобретению может быть определена для лечения каждого желательного показания. Количество активного компонента для введения для лечения любого из этих состояний может существенно изменяться в соответствии с такими факторами, как конкретное состояние и применяемая дозируемая единица, способ введения, период лечения, возраст и пол леченного пациента, и природа и распространение состояния, подвергаемого лечению.

Общее вводимое количество активного компонента в целом находится в диапазоне от приблизительно 0,001 мг/кг до приблизительно 200 мг/кг веса тела в сутки, и предпочтительно от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 50 мг/кг веса тела в сутки. Клинически пригодные схемы дозирования будут находиться в интервале от дозирования одного до трех раз в сутки до дозирования один раз каждые четыре недели. Дополнительно, возможны "лекарственные каникулы", при которых пациент не получает дозу лекарственного средства в течение определенного периода времени, могут быть благоприятными для суммарного баланса между фармакологическим эффектом и переносимостью. Дозируемая единица может содержать от приблизительно 0,5 мг до приблизительно 1500 мг активного компонента, и может вводиться один или больше раз в сутки или менее одного раза в сутки. Средняя суточная доза для введения путем инъекции, включая внутривенные, внутримышечные, подкожные и парентеральные инъекции, и при применении технологий инфузий предпочтительно будет составлять от 0,01 до 200 мг/кг общего веса тела. Средняя суточная схема ректального дозирования предпочтительно будет составлять от 0,01 до 200 мг/кг общего веса тела. Средняя суточная схема вагинального дозирования предпочтительно будет составлять от 0,01 до 200 мг/кг общего веса тела. Средняя суточная схема местного дозирования предпочтительно будет составлять от 0,1 до 200 мг, которую вводят от одного до четырех раз в сутки. Трансдермальная концентрация предпочтительно будет такой, которая требуется для поддержания суточной дозы от 0,01 до 200 мг/кг. Средняя суточная схема ингаляционного дозирования предпочтительно будет составлять от 0,01 до 100 мг/кг общего веса тела.

Несомненно, специфическая исходная и продолжающаяся схема дозирования для каждого пациента будет изменяться в соответствии с природой и тяжестью состояния, как определено лечащим диагнозом, активностью специфического применяемого соединения, возраста и общего состояния пациента, времени введения, пути введения, скорости экскреции лекарственного средства, комбинации лекарственных средств и др. Желательный способ лечения и количество доз соединения в соответствии с настоящим изобретением или его фармацевтически приемлемой соли или сложного эфира или композиции может быть установлено специалистом в данной области с использованием общепринятого экспериментального лечения.

Несмотря на это, может являться необходимым отклониться от указанных количеств, специфически в зависимости от веса тела, пути введения, индивидуальной реакции на активный компонент, типа препарата, и времени или интервала введения. Например, в некоторых случаях может быть достаточно меньше, чем вышеуказанное минимальное количество, в то время как в других случаях потребуются превысить указанный верхний предел. В случае введения больших количеств, может быть желательным разделить их на несколько индивидуальных доз в течение суток.

Например, ингибитор АTR киназы, в особенности соединение А, можно комбинировать с известными антигиперпролиферативными, цитостатическими или цитотоксическими веществами для лечения злокачественных новообразований. Примеры подходящих комбинаций антигиперпролиферативных, цитостатических или цитотоксических активных компонентов включают

131I-chTNT, абареликс, абиратерон, акларубицин, адалимумаб, адо-трастузумаб эмтанзин, афатиниб, афлибероцепт, альдеслейкин, алектиниб, алемтузумаб, алендроновая кислота, алитретинин, алтретинин, амифостин, аминоглутетимид, гексиламинолевулинат, амрубицин, амсакрин, анастрозол, анцестим, анетолдителион, анетумабравтанзин, ангиотензин II, антитромбин III, апрепитант, акритумомаб, арглабин, триоксид мышьяка, аспарагиназа, атезолизумаб акситиниб, азациитидин, базиликсимаб, белотекан, бендамумаб, безилезомаб, белиностаб, бевализумаб, бексаротен, бикалутамид, бизантрон, блинатумомаб, бортезомиб, бусерелин, бозутиниб, брентуксимаб ведотин, бусульфид, кабазитаксел, кабозантиниб, кальцитонин, фолиат кальция, левофолиат кальция, капецитабин, капромаб, карбамазе-

пин, карбоплатин, карбоквон, карфилзомиб, кармофур, кармустин, катумаксомаб, целекоксиб, целмолейкин, церитиниб, цетуксимаб, хлорамбуцил, хлормадинон, хлорметин, цидофовир, цинакальцет, кладрибин, клодроновая кислота, клофарабин, кобиметиниб, копанлисиб, крисантаспаза, кризотиниб, циклофосфамид, ципротерон, цитарабин, дакарбазин, дактиномицин, даратумумаб, дарбэпозтин альфа, дабрафениб, дазатиниб, даунорубицин, децитабин, дегареликс, денилейкин дифтитокс, деносумаб, депреотид, деслорелин, диангидрогалактитол, декстразоксан, диброспидий хлорид, диангидрогалактит, диклофенак, динитуксимаб, доцетаксел, доласетрон, доксифлуридин, доксорубицин, доксорубицин + эстрон, дронабинол, экулизумаб, эдреколомаб, элиптиний ацетат, элотузумаб, элтромбопаг, эндостатин, эноцитабин, эпирубицин, эпитиостанол, эпоэтин альфа, эпоэтин бета, эпоэтин дзета, эптаплатин, эрибулин, эрлотиниб, эзомепразол, эстрадиол, эстрамустин, этинилэстрадиол, этопозид, эверолимус, эксеместан, фадрозол, фентанил, филграстим, флуоксиместерон, флоксуридин, флударабин, флутамид, фолиновая кислота, форместан, фосапрепитант, фотемустин, фулвестрант, гадобутрол, гадотеридол, гадотеровой кислоты меглумин, гадоверсетамида, гадоксетовая кислота, нитрат галлия, ганиреликс, гефитиниб, гемцитабин, гемтузумаб, глюкапридаза, глутоксим, GM-CSF, гозерелин, гранисетрон, колониестимулирующий фактор гранулоцитов, гистамин дигидрохлорид, гистрелин, гидроксикарбамид, зерна I-125, лансопразол, ибандроновая кислота, ибригумомаб тиуксетан, ибрутиниб, идарубицин, ифосфамид, иматиниб, имиквимод, импросульфат, индисетрон, инкадроновая кислота, ингенол мебутат, интерферон альфа, интерферон бета, интерферон гамма, йобитридол, йобенгуан (123I), йомепрол, ипилимумаб, итраконазол, иксабепилон, иксазомиб, ланреотид, лансопразол, лапатиниб, лазохолин, леналидомид, ленватиниб, ленограстим, лентинан, летрозол, лейпрорелин, левамизол, левонгестрел, левотиноксин натрий, лизурид, лобоплатин, ломустин, лонидамин, мазопрокол, медроксипрогестерон, мегестрол, меларсопрол, мелфалан, мепитиостан, меркаптопурин, месна, метадон, метотрексат, метоксален, метиламинолевулинат, метилпреднизолон, метилтестостерон, метирозин, мифамуртид, милтефозин, мириплатин, митобронитол, митогуазон, митолактол, митомицин, митотан, митоксантрон, могамулизумаб, молграмостим, мопидамол, морфин гидрохлорид, морфин сульфат, набиллон, набиксимолс, нафарелин, налоксон + пентазоцин, налтрексон, нартограстим, нецитумумаб, недаплатин, неларабин, неридроновая кислота, нетупитант/планосетрон, ниволумабпентетреотид, нилотиниб, нилутамид, ниморазол, нимотузумаб, нимустин, нинтеданиб, нитракрин, ниволумаб, обинутузумаб, октреотид, офатумумаб, оларатумаб, омацетаксин мепесукцинат, омепразол, ондансетрон, опрелвекин, орготеин, орилотимод, осимертиниб, оксалиплатин, оксикодон, оксиметолон, озогамин, р53 генная терапия, паклитаксел, палбоциклиб, палифермин, зерна палладия-103, палоносетрон, памидроновая кислота, панитумумаб, панобинолат, пантопразол, пазопаниб, пегаспаргаза, PEG-эпоэтин бета (метокси-PEG-эпоэтин бета), пембролизумаб, пегфилграстим, пегинтерферон альфа-2b, пеметрексед, пентазоцин, пентостатин, пепломицин, перфллубутан, перфосфамид, пертузумаб, пицибанил, пилокарпин, пирарубицин, пиксантрон, плериксафор, пликамицин, полиглусам, полиэстрадиол фосфат, поливинилпирролидон + гиалуронат натрия, полисахарид-К, помалидомид, понатиниб, порфирин натрия, пралатрексед, преднимустин, преднизон, прокарабазин, прокодазол, пропранолол, гуанидолид, рабепразол, ракотумомаб, радотиниб, ралоксифен, ралтитрексед, рамосетрон, рамуцирумаб, ранимустин, рекомбинантная урат-оксидаза, разоксан, рефаметиниб, регорафениб, ризедроновая кислота, этидронат рения-186, ритуксимаб, ролапитант, ромидепсин, ромиплостим, ромуртид, ронициклиб, самарий (153Sm) лексидронам, сарграмостим, сатумомаб, секретин, силтуксимаб, сипулейцел-Т, сизофирам, собузоксан, натрия глицидидазол, сонедегиб, сорафениб, станозолол, стрептозоцин, сунитиниб, талапорфин, талимоген лагерпарепвек, тамибаротен, тамоксифен, тапентадол, тазонермин, тецелейкин, технеция (99mTc) нофетумомаб мерпентан, 99mTc-HYNIC-[Tug3]-октреотид, тегафур, тегафур + гимерацил + отерацил, темопорфин, темозоломид, темсиролимус, тенипозид, тестостерон, тетрофосмин, талидомид, тиотепа, тималфазин, тиротропин альфа, тиогуанин, тоцилизумаб, топотекан, торемифен, тозитумомаб, трабектедин, траметиниб, трамадол, трастузумаб, трастузумаб эмтанзин, треосульфат, третиноин, трифлуридин + типирацил, трилостан, трипторелин, траметиниб, трофосфамид, тромбopoетин, триптофан, убенимекс, валатиниб, валрубицин, вандетаниб, вапреотид, вемурафениб, винбластин, винкристин, виндезин, винфлунин, винорелбин, висмодегид, воринолат, ворозол, стеклянные микросферы иттрия-90, цинолатин, цинолатин стимуламер, золедроновая кислота, зорубицин.

Биомаркер(ы) гиперпролиферативного заболевания или субъекта

В другом варианте осуществления применения(й)/способа(ов)/фармацевтической(их) композиции(й)/набора(ов) согласно изобретению, описанных в настоящем изобретении, гиперпролиферативное заболевание или субъект характеризуется одним или несколькими биомаркерами, где биомаркер(ы) содержит(ат) одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из BRCA1, ATM, BLM, BRCA2, ERCC5, FEN1, FANCD2, FANCG, H2AFX, PARP1, PCNA, POLL, POLB/POLL, RAD9A, RAD17, RAD52, REV3L, TDP2, TP53BP1, UBE2N, XPA.

В другом варианте осуществления применения(й)/способа(ов)/фармацевтической(их) композиции(й)/набора(ов) согласно изобретению, описанных в настоящем изобретении, гиперпролиферативное заболевание или субъект характеризуется одним или несколькими биомаркерами, где биомаркер(ы) содержит(ат) одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, выбранных из BLM, BRCA1, BRCA2, ERCC5, FEN1, FANCD2, FANCG, H2AFX, PARP1, PCNA, POLL, POLB/POLL,

тельной железы (CRPC), в особенности кастрационно-резистентный рак предстательной железы на стадии M0 (M0 CRPC) или кастрационно-резистентный рак предстательной железы на стадии M1 (M1 CRPC).

Термины "M0" и "M1" (включая M1a, M1b, M1c) используются в соответствии с "системой стадирования TNM" для рака предстательной железы, разработанной Американским объединенным онкологическим комитетом, как более подробно описано в "TNM CLASSIFICATION OF MALIGNANT TUMORS", 7ое изд., под редакцией James D. Brierley, Mary K. Gospodarowicz, Christian Wittekind, опубликованном UICC 2011.

В соответствии с указанной TNM классификацией и, как используется в настоящем изобретении, термин "M0 CRPC" обозначает, что нет отдаленных метастаз и что CRPC не распространился в другие части организма. Термин "M1 CRPC", как используется в настоящем изобретении, обозначает, что присутствуют отдаленные метастазы и что CRPC распространился в отдаленные части организма. В другом варианте осуществления настоящего изобретения, кастрационно-резистентный рак предстательной железы (CRPC) представляет собой стадию M0 кастрационно-резистентного рака предстательной железы (M0 CRPC) или стадию M1 кастрационно-резистентного рака предстательной железы (M1 CRPC).

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак предстательной железы, в особенности M0 CRPC или M1 CRPC, и субъект или рак предстательной железы характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ATM, ARID1A, ATG5, ATR, ATRX, BARD1, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CCND1, CDC7, CHEK2, DCLRE1C, DYRK1A, EGFR, ERBB3, ERCC3, ERCC5, FANCA, FANCB, FANCD2, FANCI, GEN1, HDAC, KRAS, LIG4, MLH1, MLH3, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, NBN, PALB2, PARP4, PIK3CA, PMS2, POLA1, POLL, PRKDC, PTEN, RAD18, RAD50, RAD51, RB1, REV3L, SLX4, TMPRSS2, TMPRSS2-ERG, TOP2A, TOP2B, TP53, TP53BP1, TRRAP, UBE2N, USP1, WDR48, WRN, XPA, XRCC1 и/или XRCC2 гена/белка.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак предстательной железы, в особенности M0 CRPC или M1 CRPC, и субъект или рак предстательной железы характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями в одном или нескольких генах/белках, выбранных из ATM, ARID1A, ATG5, ATR, ATRX, BARD1, BRAF, BRCA2, CCND1, CDC7, DCLRE1C, DYRK1A, EGFR, ERBB3, FANCA, FANCD2, FANCI, KRAS, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, PIK3CA, POLA1, PRKDC, PTEN, RAD50, RAD51, RB1, REV3L, SLX4, TMPRSS2-ERG, TOP2A, TOP2B, TP53, TP53BP1, TRRAP, UBE2N, USP1, WDR48, WRN, XPA, XRCC1 и/или XRCC2 гена/белка.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак предстательной железы, в особенности M0 CRPC или M1 CRPC, и субъект или рак предстательной железы характеризуется микросателлитной нестабильностью, в особенности высокой микросателлитной нестабильностью.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак предстательной железы, в особенности M0 CRPC или M1 CRPC, и субъект или рак предстательной железы характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями в одном или нескольких генах/белках, выбранных из ARID1A, ATM, ATR, ATRX, BARD1, BRAF, BRCA2, CCND1, CDC7, DCLRE1C, EGFR, ERBB3, FANCA, FANCD2, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, PIK3CA, POLA1, PTEN, RAD50, RAD51, REV3L, SLX4, TMPRSS2-ERG, TOP2A, TOP2B, USP1, WDR48, и/или WRN гена/белка.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак предстательной железы, в особенности M0 CRPC или M1 CRPC, и субъект или рак предстательной железы характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями в одном или нескольких генах/белках, выбранных из ARID1A, ATR, ATRX, BARD1, BRAF, BRCA2, CCND1, CDC7, DCLRE1C, EGFR, ERBB3, FANCA, FANCD2, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, PIK3CA, POLA1, PTEN, RAD50, RAD51, REV3L, SLX4, TMPRSS2-ERG, TOP2A, TOP2B, USP1, WDR48, и/или WRN гена/белка.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак предстательной железы, в особенности M0 CRPC или M1 CRPC, и субъект или рак предстательной железы характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями ATM гена/белка, в особенности вредной мутацией ATM гена/белка.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак предстательной железы, в особенности M0 CRPC или M1 CRPC, и субъект или рак предстательной железы характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями в по меньшей мере пяти генах/белках, выбранных из APC, ATM, ARID1A, ATG5, ATR, ATRX, BARD1, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CCND1, CDC7, CHEK2, DCLRE1C, DYRK1A, EGFR, ERBB3, ERCC3, ERCC5, FANCA, FANCB, FANCD2, FANCI,

GEN1, HDAC, KRAS, LIG4, MLH1, MLH3, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, NBN, PALB2, PARP4, PIK3CA, PMS2, POLA1, POLL, PRKDC, PTEN, RAD18, RAD50, RAD51, RB1, REV3L, SLX4, TMRSS2, TMRSS2-ERG, TOP2A, TOP2B, TP53, TP53BP1, TRRAP, UBE2N, USP1, WDR48, WRN, XPA, XRCC1 и/или XRCC2 гена/белка.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак предстательной железы и субъект или рак предстательной железы характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями, в особенности вредной(ми) мутацией(ми), в ATM гене/белке и/или в BRCA2 гене/белке.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак предстательной железы и субъект или рак предстательной железы характеризуется одним или несколькими биомаркерами, описанными в экспериментальном разделе для одной или нескольких клеточных линий рака предстательной железы, в особенности субъект или рак предстательной железы характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями в одном или нескольких генах, которые описаны в табл. 5.

Рак яичников

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтических композиций/наборов согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак яичников.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак яичников и субъект или рак яичников характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ARID1A, ATM, ATR, BRAF, BRCA1, BRCA2, CDC7, CHEK1, ERBB2, ERBB3, FANCA, FANCM, FBXW7, KRAS, MLH1, MRE11A, MSH3, MSH6, MYC, PALB2, PARP4, PIK3CA, POLH, POLN, POLQ, PRKDC, PTEN, RAD50, REV3L, TDP1, TP53, TOP2A, TOP2B и/или TOPBP1 гена/белка.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак яичников и субъект или рак яичников характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ARID1A, ATM, ATR, BRAF, BRCA1, CDC7, CHEK1, ERBB2, ERBB3, FANCM, KRAS, MLH1, MSH6, MYC, PIK3CA, POLN, POLQ, PRKDC, PTEN, RAD50, TP53, TOP2A, TOP2B и/или TOPBP1 гена/белка.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак яичников и субъект или рак яичников характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями, в особенности вредными мутациями, в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ARID1A, ATR, BRAF, BRCA1, CDC7, CHEK1, ERBB3, FANCM, MLH1, MSH6, PIK3CA, POLN, POLQ, PRKDC, PTEN, RAD50, TOP2A, TOP2B и/или TOPBP1 гена/белка.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак яичников и субъект или рак яичников характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями, в особенности вредными мутациями, в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ATR, BRAF, CDC7, FANCM, PRKDC, TOP2B и/или TOPBP1 гена/белка.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак яичников и субъект или рак яичников характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями ATM гена/белка, в особенности вредной мутацией ATM гена/белка.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак яичников и субъект или рак яичников характеризуется микросателлитной нестабильностью, в особенности высокой микросателлитной нестабильностью.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак яичников и субъект или рак яичников характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями, в особенности вредной(ми) мутацией(ми), в ATM гене/белке и/или в BRCA2 гене/белке.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак яичников и субъект или рак яичников характеризуется одним или несколькими биомаркерами, описанными в экспериментальном разделе для одной или нескольких клеточных линий рака яичников, в особенности субъект или рак яичников характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями в одном или нескольких генах, которые описаны в табл. 5.

Рак ободочной и прямой кишки

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтических композиций/наборов согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак ободочной и прямой

кишки.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак ободочной и прямой кишки и субъект или рак ободочной и прямой кишки характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ARID1A, ATM, ATRX, BLM, BRAF, BRCA2, CDK12, CHEK2, ERBB3, ERCC3, ERCC5, FANCA, FANCM, FBXW7, FBXO18, GEN1, KRAS, MLH1, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, NBN, PIK3CA, POLH, POLN, POLQ, PRKDC, RAD50, REV3L, SLX4, TOP2A, TOP2B, TP53, USP1, WRN и/или XRCC2 гена/белка.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак ободочной и прямой кишки и субъект или рак ободочной и прямой кишки характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями в одном или нескольких генах/белках, выбранных из APC, ARID1A, ATM, ATRX, BLM, BRAF, BRCA2, CHEK2, ERBB3, ERCC5, FANCA, FANCM, KRAS, MLH1, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, NBN, PIK3CA, POLN, POLQ, PRKDC, RAD50, REV3L, SLX4, TOP2A, TOP2B, TP53, USP1 и/или XRCC2 гена/белка.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак ободочной и прямой кишки и субъект или рак ободочной и прямой кишки характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями в по меньшей мере трех генах/белках, выбранных из APC, ARID1A, ATM, ATRX, BLM, BRAF, BRCA2, CDK12, CHEK2, ERBB3, ERCC3, ERCC5, FANCA, FANCM, FBXW7, FBXO18, GEN1, KRAS, MLH1, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, NBN, PIK3CA, POLH, POLN, POLQ, PRKDC, RAD50, REV3L, SLX4, TOP2A, TOP2B, TP53, USP1, WRN и/или XRCC2 гена/белка.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак ободочной и прямой кишки и субъект или рак ободочной и прямой кишки характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями в одном или нескольких генах/белках, выбранных из ARID1A, ATM, ATRX, BLM, BRAF, BRCA2, CHEK2, ERCC5, FANCA, FANCM, KRAS, MLH1, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, NBN, PIK3CA, POLN, POLQ, PRKDC, RAD50, REV3L, SLX4, TOP2A, TOP2B, TP53, USP1 и/или XRCC2 гена/белка.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак ободочной и прямой кишки и субъект или рак ободочной и прямой кишки характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями в одном или нескольких генах/белках, выбранных из ARID1A, ATM, ATRX, BLM, BRAF, BRCA2, CHEK2, ERCC5, FANCA, KRAS, MLH1, MSH2, MSH3, MSH6, MYC, NBN, PIK3CA, PRKDC, RAD50, REV3L, SLX4, TOP2A, TOP2B, TP53, USP1 и/или XRCC2 гена/белка.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак ободочной и прямой кишки и субъект или рак ободочной и прямой кишки характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями в одном или нескольких генах/белках, выбранных из ATRX, BRAF, BRCA2, ERCC5, FANCA, MLH1, MSH3, MSH6, MYC, PIK3CA, RAD50, REV3L, SLX4, TOP2A, TOP2B, TP53 и/или USP1 гена/белка.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак ободочной и прямой кишки и субъект или рак ободочной и прямой кишки характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями, в особенности вредной(ыми) мутацией(ями), в ATM гене/белке и/или в BRCA2 гене/белке.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак ободочной и прямой кишки и субъект или рак ободочной и прямой кишки характеризуется микросателлитной нестабильностью, в особенности высокой микросателлитной нестабильностью.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак ободочной и прямой кишки и субъект или рак ободочной и прямой кишки характеризуется одним или несколькими биомаркерами, описанными в экспериментальном разделе для одной или нескольких клеточных линий рака ободочной и прямой кишки, в особенности субъект или рак ободочной и прямой кишки характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями в одном или нескольких генах, которые описаны в табл. 5.

Рак легких

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтических композиций/наборов согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак легких.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой рак легких и субъект или рак легких характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями в одном или несколь-

глиобластома характеризуется одним или несколькими биомаркерами, описанными в экспериментальном разделе для одной или нескольких клеточных линий глиобластомы, в особенности субъект или глиобластома характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями в одном или нескольких генах, которые описаны в табл. 5.

Нейробластома

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтических композиций/наборов согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой нейробластома.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой нейробластома и субъект или нейробластома характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями в одном или нескольких генах/белках, выбранных из CHEK2, MSH3 и/или PRKDC гена/белка.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой нейробластома и субъект или нейробластома характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями, в особенности вредной(ми) мутацией(ми), в ATM гене/белке и/или в BRCA2 гене/белке.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора согласно изобретению гиперпролиферативное заболевание представляет собой нейробластома и субъект или нейробластома характеризуется одним или несколькими биомаркерами, описанными в экспериментальном разделе для одной или нескольких клеточных линий нейробластомы, в особенности субъект или нейробластома характеризуется одной или несколькими функциональными мутациями в одном или нескольких генах, которые описаны в табл. 5.

Стратификационные методы

Различные стратификационные методы можно использовать в контексте настоящего изобретения для идентификации одной или нескольких функциональных мутаций в одном или нескольких генах, активации ALT пути и/или микросателлитной нестабильности (MSI) в образце.

Функциональная(е) мутация(и)

Определение функциональных мутаций, в особенности вредных и активирующих мутаций, гена(ов)/белка(ов) известно квалифицированному специалисту в данной области техник. Вредные мутации и активирующие мутации могут быть определены, например, с помощью одной или нескольких следующих стратификационных методов: Next generation sequencing (NGS) (Metzker ML, "Sequencing technologies-the next generation", *Nat Rev Genet.* 2010; 11:31-46); Sanger sequencing and other first generation sequencing methods (Lilian T. C. Franca, Emanuel Carrilho and Tarso B. L. Kist, A review of DNA sequencing techniques, *Quarterly Reviews of Biophysics* 35, 2 (2002), pp. 169-200); PCR, в особенности многолокусную ПЦР; флуоресцентную гибридизацию in situ (FISH); матричную сравнительную геномную гибридизацию (матричную CGH); матричный анализ однонуклеотидных полиморфизмов (SNP микроматричные анализы), в особенности для определения вариации числа копий (CNV); или иммуногистохимии (ИHC), в особенности для определения потери или сверхэкспрессии соответствующего белка.

Термин "NGS" не обозначает единственную технологию; наоборот, он относится к многообразной совокупности технологий секвенирования по Сенгеру, разработанных за последнее десятилетие. Эти методы включают секвенирование посредством синтеза (Ronaghi M и др., "A sequencing method based on real-time pyrophosphate", *Science.* 1998;281:363-365), секвенирование посредством лигирования (Shendure J и др., "Accurate multiplex polony sequencing of an evolved bacterial genome", *Science.* 2005;309:1728-32.16), ионное полупроводниковое секвенирование (Rothberg JM и др., "An integrated semiconductor device enabling non-optical genome sequencing.", *Nature.* 2011;475:348-52.17) и другие. Подходы биоинформатики используются для обнаружения и анализа вариантов последовательностей на основании данных NGS (Teng S, "NGS for Sequence Variants.", *Adv Exp Med Biol.* 2016;939:1-20). Обнаружение вариантов NGS состоит в контроле качества (для удаления потенциальных артефактов и ошибок из данных), выравнивании последовательностей (считывания отображаются на положения в указанном геноме), и определении вариантов (которое осуществляют путем сравнения выровненных считываний с известными эталонными последовательностями для обнаружения сегментов, которые отличаются от сравниваемых геномов).

Варианты последовательностей, обнаруженные на основании NGS, можно классифицировать на однонуклеотидные варианты (SNV), небольшие инсерции и делеции (INDEL), и большие структурные варианты (SV) на основании длины их последовательностей.

SNV, наиболее распространенный тип вариантов последовательностей, представляют собой различия единичных пар оснований ДНК у индивидуумов. INDEL определяются как небольшие полиморфизмы ДНК, включая как инсерции, так и делеции, имеющие длины в диапазоне от 1 до 50 по. SV представляют собой большие геномные изменения (>50 по) включая несбалансированные варианты (делеции, инсерции или дупликации) и сбалансированные изменения (транслокации и инверсии). Вариации числа копий (CNV), большая категория несбалансированных SV, представляют собой изменения ДНК, которые приводят к аномальному числу копий конкретных сегментов ДНК.

Анализ вариантов включает аннотацию вариантов, которую можно использовать для определения

влияния вариантов последовательностей варианты на гены и белки и отфильтровывать функциональные важные варианты от фона нейтральных полиморфизмов.

Анализ ассоциаций вариантов связывают функциональные важные варианты с комплексными заболеваниями или клиническими характеристиками. Связанные с заболеванием целевые варианты можно идентифицировать путем комбинирования этих подходов. Результаты таких анализов вариантов хранятся в общедоступных базах данных, таких как, например, COSMIC (the Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer, www.cancer.sanger.ac.uk), ClinVar (Landrum MJ, Lee JM, Riley GR, и др., "ClinVar: public archive of relationships among sequence variation and human phenotype.", *Nucleic Acids Res.* 2014;42:D980-5), HGMD (Stenson PD, Mort M, Ball EV, и др., "The human gene mutation database: 2008 update.", *Genome Med.* 2009; 1:13) или "The Human Variome Project" (<http://www.humanvariomeproject.org/>), которая имеет тщательно подобранные базы данных, зависящие от генов/заболеваний, для сбора вариантов последовательностей и генов, ассоциированных с заболеваниями. Как описано выше, общедоступные базы данных, релевантные литературные источники и современные доказательства, ассоциированные с рекурренцией и функционированием гена, используются для определения подлежащего уведомлению статуса изменения, обнаруженного из данных NGS, для представляющих интерес генов. Функциональные мутации могут быть классифицированы на любой из следующих подлежащего уведомлению статусов: вредная(е) мутация(и) и активирующая(е) мутация(и).

Активация ALT пути

В нормальных соматических клетках, существенное укорочение теломеров приводит к p53-зависимому старению или апоптозу (Heaphy и Meeker, *J Cell Mol Med.* 15(6): 1227-1238 (2011)). Раковые клетки зависят от теломеразы или пути альтернативного удлинения теломеров (ALT) для преодоления репликативной летальности. Большинство опухолевых клеток экспрессирует теломеразу для поддержания иммортализации и прогрессирования опухоли. Тем не менее, около 10-15% злокачественных новообразований осуществляют иммортализацию посредством независимого от теломеразы механизма удлинения теломеров, альтернативного удлинения теломеров (ALT) (Cesare A.J., Reddel R.R. *Alternative lengthening of telomeres: Models, mechanisms and implications.* *Nat. Rev. Genet.* 2010; 11:319-330.). ALT представляет собой механизм поддержания теломеров на основании рекомбинации, который характеризуется гетерогенными, варьирующимися длинами теломеров, высокими уровнями обменов теломерами сестринских хроматид (t-SCE), многокопийными экстрахромосомными теломерными повторами ДНК (ECTR), и специализированной теломерной ДНК ядерной структурой, обозначаемой ALT-ассоциированные промиелоцитарные лейкозные (PML) тела (APB) (Robert L. Dilley, Roger A. Greenberg, *ALTernative Telomere Maintenance and Cancer,* *Trends Cancer.* 2015 Oct 1; 1(2): 145-156). Было описано, что специфические мутационные события, включая повторные мутации генов X-сцепленной альфа-талассемии со слабоумием (ATR-X) или белка, ассоциированного с доменом смерти (DAXX), оказывают влияние на активацию и поддержание ALT (Amorim и др., *The Role of ATRX in the Alternative Lengthening of Telomeres (ALT) Phenotype,* *Genes (Basel).* 2016 Sep; 7(9): 66.). В последних исследованиях было показано вовлечение РНК, содержащих длинные некодирующие РНК теломерные повторы (TERRA), ядерные рецепторы, и RPA в рекомбиногенный потенциал ALT теломеров. ATR-протеинкиназа, чрезвычайно важный регулятор рекомбинации, захватываемый репликационным белком А, может быть вовлечена в регуляцию ALT и становится целесообразной мишенью для лечения ALT опухолей (Flynn, R.L.; Cox, K.E.; Jeitany, M.; Wakimoto, H.; Bryll, A.R.; Ganem, N.J.; Bersani, F.; Pineda, J.R.; Suva, M.L.; Benes, C.H.; и др. *Alternative lengthening of telomeres renders cancer cells hypersensitive to ATR inhibitors.* *Science* 2015, 347, 273-277.)

Стратификационные методы, известные в данной области техники, можно использовать для идентификации субъектов как имеющих злокачественное новообразование, ассоциированное с активацией ALT пути (то есть, для идентификации злокачественного новообразования как ассоциированного с активацией ALT, также обозначаемого в настоящем изобретении как ALT злокачественное новообразование или ALT+ злокачественное новообразование). Например, обнаружение поддержания теломеров при отсутствии активности теломеразы (Bryan и др., *EMBO J.*, 14:4240-4248 (1995)); обнаружение профиля длин теломеров, например, путем саузерн-блоттинга с концевой рестрикцией фрагментов, находящихся в диапазоне от чрезвычайно коротких до очень длинных, и с модальной длиной приблизительно в два раза по сравнению с сопоставимыми положительными по теломеразе или нормальными клетками (Bryan и др., *EMBO J.*, 14:4240-4248 (1995); Gollahon и др., *Oncogene*, 17:709-717 (1998)), обнаружение быстрых, несинхронизированных изменений длины теломеров, вызываемых гетерогенность длин теломеров (Munane и др., *EMBO J.*, 13:4953-4962 (1994)), обнаружение ALT-ассоциированных PML тел (APB) (Yeager и др., *Cancer Res.*, 59:4175-4179 (1999)), обнаружение копированных сконструированных теломерных меток от одного теломера к другому (Pickett и др. *EMBO J.*, 28:799-809 (2009)), обнаружение нестабильности тандемных повторов на теломерах и MS32 минисателлита (Jeypalan и др., *Hum. Mol. Genet.*, 14: 1785-1794 (2005)), обнаружение обмена теломеров сестринских хроматид (T-SCE) (Fan и др. *Nucleic Acids Res.*, 37:1740-1754 (2009)), обнаружение повышения уровня теломерных t-колец (Cesare и др., *Mol. Cell. Biol.*, 24:9948-9957 (2004)), обнаружение одноцепочечной C-цепочечной теломерной ДНК (оц-С-цепь) (Grudic и др., *Nucleic Acids Res.*, 35:7267-7278 (2007)), обнаружение C колец (Henson и др., *Nat.*

Biotechnol., 27:1181-1185 (2009)). См., например, Henson и Reddel, FEBS Lett. 584(17):3800-3811 (2010); и US20150247866. В некоторых вариантах осуществления, используют, например, метод разветвленных ДНК в РНК при гибридизации *in situ* (RNA-ISH), например, как описано в WO 2015/123565.

Активацию ALT пути предпочтительно определяют с помощью одного из стратификационных методов, описанных выше.

Микросателлитная нестабильность (MSI)

MSI анализ охватывает сравнение аллельных профилей микросателлитных маркеров, созданных путем амплификации ДНК из совпадающих нормальных образцов дикого типа и тестируемых образцов, которые могут быть дефектными по репарации ошибочно спаренных оснований (MMR). Аллели, которые присутствуют в тестируемом образце, но не в соответствующих нормальных образцах дикого типа, указывают на MSI.

MSI можно анализировать, например, с помощью метода MSI-PCR, который включает флуоресцентно меченные праймеры для совместной амплификации микросателлитных маркеров, путем MSI-иммуногистохимического (ИHC) окрашивания четырех белков MMR пути: MLH1, PMS2, MSH2, или MSH6, или с помощью расчетных методов, используя данные секвенирования ДНК следующего поколения (NGS) для обнаружения аномального числа микросателлитных повторов.

Термин "высокая микросателлитная нестабильность" (также называется в настоящем изобретении "MSI-высокая") обозначает, что обнаружено существенное число, в особенности по меньшей мере одно, предпочтительно по меньшей мере два, микросателлитных маркера.

MSI статус можно обнаружить с помощью системы анализа MSI-PCR (например, с помощью Promega Corp, Madison, USA), которая основана на применении пяти близких мономорфных мононуклеотидных микросателлитных маркеров (BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24, и MONO-27). В этой системе, высокую микросателлитную нестабильность ("MSI-высокая") определяют как фенотип, в котором по меньшей мере 2 тестируемых микросателлитных маркера (BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24, и MONO-27) изменено в образце субъекта по сравнению с нормальным эталонным образцом. Низкая микросателлитная нестабильность ("MSI-низкая") определяется как фенотип, в котором изменен только один из тестируемых микросателлитных маркеров в образце субъекта по сравнению с нормальным эталонным образцом. Стабильный микросателлит (MSS) определяется как фенотип, в котором не изменен ни один из тестируемых микросателлитных маркеров в образце субъекта по сравнению с нормальным эталонным образцом. MSI статус также может быть определен с помощью метода MSI-PCR, используя пять микросателлитных локусов (BAT-25, BAT-26, D2S123, D5S346, и D17S250), рекомендованных Национальным институтом рака (NCI), которые амплифицированы в единичной многолокусной ПЦР реакции. В этой системе, высокая микросателлитная нестабильности ("MSI-высокая") определяется как фенотип, в котором по меньшей мере два тестируемых мононуклеотидных микросателлитных маркера (BAT-25, BAT-26, D2S123, D5S346, и D17S250) изменено в образце субъекта по сравнению с нормальным эталонным образцом. Низкая микросателлитная нестабильности ("MSI-низкая") определяется как фенотип, в котором изменен только один из тестируемых мононуклеотидных микросателлитных маркеров (BAT-25, BAT-26, D2S123, D5S346, и D17S250) в образце субъекта по сравнению с нормальным эталонным образцом. Стабильный микросателлит (MSS) определяется как фенотип, в котором не изменен ни один из тестируемых микросателлитных маркеров (BAT-25, BAT-26, D2S123, D5S346, и D17S250) в образце субъекта по сравнению с нормальным эталонным образцом (Boland CR, и др., A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res.* 1998; 58(22): 5248-5257). В этом контексте, "нормальный эталонный образец", используемый для MSI тестирования, может представлять собой, например, матрицу геномной ДНК, обеспечиваемой набором для исследования, или ДНК, выделенную из крови или из другой незлокачественной ткани от субъекта, подвергаемого тестированию.

MSI статус может быть оценен с помощью расчетных методов, используя данные секвенирования ДНК следующего поколения (NGS), полученных из опухолевых или других тканей. Эти расчетные методы включают, но не ограничиваясь только ими, mSINGS (Salipante, S.J. и др., "Microsatellite instability detection by next generation sequencing", *Clin. Chem.* 60, 1192-1199, 2014), MSISensor (Niu B и др., "MSISensor: microsatellite instability detection using paired tumor-normal sequence data.", *Bioinformatics.* 2014; 30(7): 1015-1016.), MANTIS (Microsatellite Analysis for Normal Tumor Instability) (Kautto EA и др., "Performance evaluation for rapid detection of pan-cancer microsatellite instability with MANTIS", *Oncotarget.* 2016 Dec 12), MOSAIC (Ronald J Hause и др., "Classification and characterization of microsatellite instability across 18 cancer types", *Nature Medicine* 22, 1342-1350, 2016), или анализ Foundation Medicine NGS-MSI, в котором используют 114 интронные гомополимерные повторяемые локусы (длиной 10-20 по в эталонном геноме человека) (Michael J. Hall и др., *J Clin Oncol* 34, 2016 (доп.4S; реферат 528).

В этих расчетных методах MSI статус может быть определен с помощью предельных чисел для MSI-высокой, MSI-низкой или MSS на основании оценки индекса для каждого образца, определенного с использованием компьютерного алгоритма и подтвержденного путем сравнения с другими методами обнаружения MSI.

MSI также может быть обнаружена путем иммуногистохимического окрашивания (ИHC) четырех

микросателлитных маркерных белков: MLH1, PMS2, MSH2, или MSH6. Если обнаруживается, что количество любого из этих четырех белков существенно уменьшено с помощью ИНС, в особенности, если по меньшей мере один из четырех белков не может быть обнаружен с помощью ИНС, то образец метят как MSI-высокий.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора настоящего изобретения микросателлитная нестабильность характеризуется изменением одного или нескольких, предпочтительно двух или более, микросателлитных маркеров, выбранных из BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24, MONO-27, D2S123, D5S346, D17S250 в образце субъекта по сравнению с нормальным эталонным образцом и/или микросателлитная нестабильность характеризуется отсутствием одного или нескольких белков, выбранных из MLH1, PMS2, MSH2 и/или MSH6.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора настоящего изобретения микросателлитная нестабильность характеризуется изменением одного или нескольких, предпочтительно двух или более, микросателлитных маркеров, выбранных из BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24, MONO-27, D2S123, D5S346 и/или D17S250 в образце субъекта по сравнению с нормальным эталонным образцом.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора настоящего изобретения микросателлитная нестабильность характеризуется изменением одного или нескольких, предпочтительно двух или более, микросателлитных маркеров, выбранных из BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24 и/или MONO-27 в образце субъекта по сравнению с нормальным эталонным образцом.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора настоящего изобретения микросателлитная нестабильность характеризуется изменением по меньшей мере одного, предпочтительно по меньшей мере двух, микросателлитных маркеров, выбранных из BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24, и MONO-27 в образце субъекта по сравнению с нормальным эталонным образцом.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора настоящего изобретения микросателлитная нестабильность характеризуется изменением одного или нескольких микросателлитных маркеров, выбранных из BAT-25, BAT-26, D2S123, D5S346 и/или D17S250 в образце субъекта по сравнению с нормальным эталонным образцом.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора настоящего изобретения микросателлитная нестабильность характеризуется изменением по меньшей мере одного, предпочтительно по меньшей мере двух, микросателлитных маркеров, выбранных из BAT-25, BAT-26, D2S123, D5S346 и/или D17S250 в образце субъекта по сравнению с нормальным эталонным образцом.

В другом варианте осуществления применения/способа/фармацевтической композиции/набора настоящего изобретения микросателлитная нестабильность характеризуется отсутствием одного или нескольких белков, выбранных из MLH1, PMS2, MSH2 и/или MSH6.

В другом варианте осуществления определяют с помощью иммуногистохимического окрашивания белков MMR пути (MLH1, PMS2, MSH2 или MSH6). В этом методе, фенотип "MSI-высокая" характеризуется существенным уменьшением количества одного или нескольких белков, выбранных из MLH1, PMS2, MSH2 и/или MSH6, в особенности потерей экспрессии по меньшей мере одного из белков, выбранных из MLH1, PMS2, MSH2 и/или MSH6. В этом контексте, термин "потеря экспрессии" обозначает отсутствие позитивного ядерного окрашивания в опухолевой клетке, в особенности в опухолевой клетке, с помощью ИНС.

Процентные значения в тестах и примерах, которые представлены ниже, представляют собой, если специально не указано иначе, проценты по весу; части представляют собой весовые части. Соотношения растворителей, степени разведения и данные концентраций для растворов жидкость/жидкость основаны в каждом случае на объеме.

Экспериментальный раздел Приготовление соединения А

Соединение А приготавливали в соответствии с процедурой, описанной в примере 111 международной патентной заявки WO 2016020320.

Пример 1.

Лечение различных клеточных линий рака предстательной железы с помощью соединения А.

LAPC-4 клетки рака предстательной железы человека получали от VTT Technical Research Center (Finland). Их высевали в среду RPMI 1640 (RPMI = Институт памяти Розуэлла Парка) без фенолового красного + 10% очищенной на активированном угле FCS (FCS = Фетальная телячья сыворотка) + 2 mM L-Глутамин при 4000 клеток на лунку в микротитровальный планшет на 96 лунок. Через 1 день, клетки обрабатывали с помощью R1881 (1 nM) и соединения А (день 0). Количество клеток определяли с помощью окрашивания аламаровым синим (2 ч) в день 7. Флуоресценцию определяли на устройстве Victor X3 (возбуждение 530 нм; эмиссия 590 нм). Ингибирование роста клеток рассчитывали путем нормирования по отношению к показаниям флуоресценции (число клеток), измеренной при окончании эксперимента для клеток, обработанных с помощью R1881 отдельно, по сравнению с показаниями флуоресценции (число клеток), измеренной при окончании эксперимента для клеток, обработанных ДМСО.

VCaP клетки рака предстательной железы человека получали от VTT Technical Research Center (Finland). Их высевали в DMEM среду (DMEM = модифицированная по способу Дульбекко среда Игла) со стабильным глутамином + 10% FCS в количестве 16000 клеток на лунку в микротитровальный планшет на 96 лунок. Соединение А добавляли в день 0. Количество клеток определяли с помощью окрашивания аламаровым синим (2 ч) в день 0 и день 7. Флуоресценцию определяли на устройстве Victor X3 (возбуждение 530 нм; эмиссия 590 нм). Ингибирование роста клеток рассчитывали путем нормирования по отношению к показаниям флуоресценции (число клеток), измеренной при окончании эксперимента для клеток, обработанных с помощью R1881 отдельно, по сравнению с показаниями флуоресценции (число клеток), измеренной в начале эксперимента для клеток, обработанных ДМСО.

LNCaP клетки рака предстательной железы человека получали от DSMZ-Немецкая коллекция микроорганизмов и клеточных культур (Germany) (DSMZ ACC-256). Их высевали в RPMI1640 среду без фенолового красного + 10% очищенной на активированном угле FCS в количестве 600 клеток на лунку в белый планшет на 384 лунки. Добавляли R1881 (1 нМ) и соединение А в день 0. Количество клеток определяли с помощью CellTiter-Glow (Promega) в день 0 и день 6. Люминесценцию определяли на Victor X3. Ингибирование роста клеток рассчитывали путем нормирования по отношению к показаниям флуоресценции (число клеток), измеренной при окончании эксперимента для клеток, обработанных с помощью R1881 отдельно, по сравнению с показаниями флуоресценции (число клеток), измеренной в начале эксперимента для клеток, обработанных ДМСО.

22RV1 клетки рака предстательной железы человека получали от Американской коллекции типовых культур (ATCC CRL-2505). Их высевали в RPMI1640 среду, дополненную 10% FCS в количестве 5000 клеток на лунку в микротитровальный планшет на 96 лунок. Через 24 ч, клетки с одного микротитровального планшета окрашивали с помощью кристаллического фиолетового (= => 0 планшет), в то время как клетки с тестируемых планшетов подвергали воздействию тестируемых веществ непрерывно в течение 4 дней. Пролиферацию клеток определяли путем окрашивания кристаллическим фиолетовым. Поглощающую способность определяли фотометрически при 595 нм, используя прибор Tecan Sunrise. Изменение в процентах роста клеток рассчитывали путем нормирования по отношению к показаниям поглощающей способности (число клеток) в начале обработки клеток (0 планшет) и показаниям поглощающей способности (число клеток) нелеченной контрольной группы.

DU-145 клетки рака предстательной железы человека получали от DSMZ-Немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (Германия) (DSMZ ACC-261). Их высевали в DMEM/Ham F12 среде в количестве 5000 клеток на лунку в микротитровальный планшет на 96 лунок. Через 24 ч, клетки с одного микротитровального планшета окрашивали с помощью кристаллического фиолетового (= => 0 планшет), в то время как клетки с тестируемых планшетов подвергали воздействию тестируемых веществ непрерывно в течение 4 дней. Пролиферацию клеток определяли путем окрашивания кристаллическим фиолетовым. Поглощающую способность определяли фотометрически при 595 нм, используя прибор Tecan Sunrise. Изменение в процентах роста клеток рассчитывали путем нормирования по отношению к показаниям поглощающей способности (число клеток) в начале обработки клеток (0 планшет) и показаниям поглощающей способности (число клеток) нелеченной контрольной группы.

PC-3 клетки рака предстательной железы человека получали от DSMZ-Немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (Германия) (DSMZ ACC-465). Их высевали в DMEM/Ham F12 среде со стабильным Глутамином + 10% FCS в количестве 5000 клеток на лунку в микротитровальный планшет на 96 лунок. Через 24 ч, клетки с одного микротитровального планшета окрашивали с помощью кристаллического фиолетового (= => 0 планшет), в то время как клетки с тестируемых планшетов подвергали воздействию тестируемых веществ непрерывно в течение 4 дней. Пролиферацию клеток определяли путем окрашивания кристаллическим фиолетовым. Поглощающую способность определяли фотометрически при 595 нм, используя прибор Tecan Sunrise. Изменение в процентах роста клеток рассчитывали путем нормирования по отношению к показаниям поглощающей способности (число клеток) в начале обработки клеток (0 планшет) и показаниям поглощающей способности (число клеток) нелеченной контрольной группы.

Лечение других раковых клеточных линий с применением соединения А.

Клетки (см. табл. 3: Тестируемые системы) высевали в их подходящую среду, дополненную 10% FCS в количестве 1250 - 5000 клеток на лунку (в зависимости от их скорости пролиферации) в микротитровальные планшеты на 96 лунок. Клеткам предоставляли возможность прикрепиться в течение 24 ч, и после этого добавляли соединение, используя цифровой распределитель. Конечная концентрация Соединения А находилась в диапазоне от $1\text{E-}09$ моль/л до $3\text{E-}06$ моль/л, и конечная концентрация растворителя ДМСО составляла 0,03%. После непрерывного инкубирования в течение 4х дней, клетки фиксировали с помощью глутаральдегида, окрашивали кристаллическим фиолетовым, и записывали поглощающую способность при 595 нм. Все измерения осуществляли в четырех повторах. Значения нормировали к поглощающей способности клеток, обработанных растворителем (=100%) и поглощающей способности эталонного планшета, которые фиксировали в момент времени нанесения соединения (=0%). Полумаксимальное ингибирование роста (IC_{50}) определяли в виде концентрации соединения, которая необходима для достижения 50% ингибирования роста клеток, используя подгонку по 4м параметрам.

Растущие неприкрепленно клетки GRANTA-519, Jeko-1, JVM-2, NCI-H929, Rec-1 и SU-DHL-8 высеивали в 150 мкл ростовой среды при 4000 клеток на лунку (NCI-H929, 5000 клеток на лунку) в микротитровальные планшеты на 96 лунок и инкубировали в течение 24 ч при 37°C. Добавляли соединение А, используя цифровой распределитель к клеткам с тестируемых планшетов и инкубировали непрерывно в течение 4 дней при 37°C. Для определения жизнеспособности клеток (что соответствует числу клеток), добавляли CTG раствор (Promega Cell Titer Glo раствор, № G755B и G756B). После инкубирования дополнительно в течение 10 мин, измеряли люминесценцию с помощью оборудования Perkin Elmer Victor V. Все измерения осуществляли в четырех повторах. Процентное значение жизнеспособности клеток рассчитывали путем нормирования по отношению к показаниям люминесценции (число клеток) в начале обработки клеток (эталонный планшет измеряли во время добавления соединения в экспериментальные планшеты) и показаниям люминесценции (число клеток) нелеченной контрольной группы. Полуэквивалентное ингибирование роста (IC₅₀) определяли в виде концентрации соединения, которая необходима для достижения 50% ингибирования роста клеток, используя подгонку по 4м параметрам.

Лечение изогенные раковых клеточных линий с применением соединения А.

Изогенные DLD-1 клеточные линии DLD-1 родительские, DLD-1 BRCA2 (-/-) и DLD-1 ATM (-/-) (см. табл. 3: Тестируемые системы) высеивали в RPMI 1640 (RPMI = Институт памяти Розуэлла Парка) среду без фенолового красного + 10% очищенной на активированном угле FCS (FCS = Фетальная телячья сыворотка) + 2 мМ L-Глутамин + 25 мМ бикарбоната натрия в количестве 2500 клеток на лунку в микротитровальный планшет на 96 лунок. Клеткам предоставляли возможность прилипнуть в течение 24 ч, и после этого добавляли соединение, используя цифровой распределитель. Конечная концентрация Соединения А находилась в диапазоне 7Е-10 моль/л и 5Е-06 моль/л, и конечная концентрация растворителя ДМСО составляла 0,03%. После непрерывного инкубирования в течение 7 дней при 37°C, определяли жизнеспособность клеток (что соответствует числу клеток), используя добавление CTG раствора (Promega Cell Titer Glo раствор, № G755B и G756B). После инкубирования дополнительно в течение 10 мин, измеряли люминесценцию с помощью оборудования Perkin Elmer Victor V. Все измерения осуществляли в четырех повторах. Процентное значение жизнеспособности клеток рассчитывали путем нормирования по отношению к показаниям люминесценции (число клеток) в начале обработки клеток (эталонный планшет измеряли во время добавления соединения в экспериментальные планшеты) и показаниям люминесценции (число клеток) нелеченной контрольной группы. Полуэквивалентное ингибирование роста (IC₅₀) определяли в виде концентрации соединения, которая необходима для достижения 50% ингибирования роста клеток, используя подгонку по 4м параметрам.

Тестируемые системы

Клеточная линия	Опухолевая единица	Источник
A2780	карцинома яичника	ECACC-93112519
AsPC1	карцинома поджелудочной железы	ATCC CRL-1682
VxPC3	карцинома поджелудочной железы	ATCC CRL-1687
Caco2	карцинома толстой и прямой кишки	DSMZ ACC-169
GRANTA-519	лимфома из клеток зоны мантии	DSMZ ACC-342
DLD-1 (родительская)	карцинома толстой и прямой кишки	HD PAR-008
DLD-1 BRCA2 (- /-)	карцинома толстой и прямой кишки	HD 105-007
DLD-1 ATM (-/-)	карцинома толстой и прямой кишки	HD 105-061, клон 11517
HeLa	аденокарцинома шейки матки человека	ATCC CCL-2
HT-144	злокачественная меланома	ATCC HTB-63
HT-29	карцинома толстой и прямой кишки	DSMZ ACC-299
Jeko-1	лимфома из клеток зоны мантии	DSMZ ACC-553
LOVO	карцинома толстой и прямой кишки	DSMZ ACC-350
MDA-MB-436	карцинома молочной железы	CLS 300278
MDA-MB-468	карцинома молочной железы	ATCC HTB-132
MIAPaca-2	карцинома поджелудочной железы	ATCC CRL-1420
NCI-H460	немелкоклеточный рак лёгких	ATCC HTB-177
NCI-H929	множественная миелома	ATCC CRL-9068
OVCAR-8	карцинома яичника	NCI-60 панель, Идент. № образца 25
REC-1	лимфома из клеток зоны мантии	ATCC CRL-3004
SK-OV-3	карцинома яичника	ATCC HTB-77
SU-DHL-8	В-клеточная DLBCL из зародышевого центра	DSMZ ACC-573
JVM-2	лимфома из клеток зоны мантии	ATCC CRL-3002
TMD-8	активированная В-клеточная DLBCL	Charite, Берлин, Германия
C4-2B	рак предстательной железы	MD Онкологический центр Андерсона
HCT116	карцинома толстой и прямой кишки	DSMZ ACC-581
IGR-OV-1	карцинома яичника	NCI-60 панель, Идент. № образца 26
NCI-H23	немелкоклеточный рак лёгких	ATCC CRL-5800
NCI-H1838	немелкоклеточный рак лёгких	ATCC CRL-5899
NCI-H1703	немелкоклеточный рак лёгких	ATCC CRL-5889
A549	немелкоклеточный рак лёгких	DSMZ ACC-107
NCI-H2030	немелкоклеточный рак лёгких	ATCC CRL-5914
HCC70	карцинома молочной железы	ATCC CRL-2315
M059J	глиобластома	ATCC CRL-2366
U-87MG	глиобластома	ATCC HTB-14
SH-SY5Y	нейробластома	ATCC CRL-2266

ATCC = Американская коллекция типовых культур; NCI = Национальный институт рака; CLS = Cell Line Service GmbH, Германия; DSMZ = Немецкая коллекция микроорганизмов и клеточных культур GmbH, Германия; MD Онкологический центр Андерсона, Хьюстон, США; HD = Horizon Discovery Ltd

Результаты.

Генетические мутации и изменения числа копий ДНК вышеуказанных раковых клеточных линий определяли путем тестирования нацеленного полного секвенирования экзона и/или получали из общедоступных баз данных Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE, Barretina, Caponigro, Stransky и др. The Cancer Cell Line Encyclopedia enables predictive modelling of anticancer drug sensitivity. Nature. 2012 28;483(7391):603-7.), Genentech Panel (Klijn C, Durinck S, Stawiski EW, Haverty PM, Jiang Z, и др., A comprehensive transcriptional portrait of human cancer cell lines. Nat Biotechnol. 2015 Mar;33(3):306-12.) и Sanger Cell Line Panel в базе данных COSMIC (www.cancer.sanger.ac.uk; "COSMIC: exploring the world's knowledge of somatic mutations in human cancer", Forbes и др., Nucleic Acids Res. 2015, Jan; 43 (Database issue):D805-11. doi: 10.1093/nar/gku1075. Epub 2014 Oct 29).

Мутации в генах повреждения ДНК (DDR) или репарации ошибочно спаренных оснований (MMR), а также мутации в генах, включая онкогенный репликационный стресс или в генах TP53/супрессор опухоли этих раковых клеточных линий (табл. 3), перечислены в табл. 4, отобранные функциональные мутации этих клеточных линий описаны в табл. 5.

Тестировали активность соединения А в этих клеточных линиях. Как показано в табл. 4, соединение А ингибирует пролиферацию тестируемых опухолевых клеточных линий. Эти результаты свидетельствуют о том, что соединение А эффективно ингибирует пролиферацию опухолевых клеточных линий че-

ловека при тестировании в виде единственного средства и что генетический фон клеток оказывает влияние на их чувствительность к ингибированию АТР.

Активность соединения А также тестировали в изогенных клеточных линиях, в родительских DLD-1 клетках и в двух клонах DLD-1 клеток, которые дефектны по BRCA2 или ATM: DLD-1 BRCA2 (-/-) и DLD-1 ATM (-/-). Как показано в табл. 6, соединение А ингибирует пролиферацию родительской DLD-1 в меньшей степени по сравнению с мутантными клеточными линиями. Наиболее сильный эффект был обнаружен в ATM дефектных DLD-1 клетках. Эти результаты свидетельствуют о том, что мутации в генах BRCA2 и ATM сенсбилизируют опухолевые клетки к лечению с применением соединения А.

Таблица 4

Ингибирование пролиферации опухолевых клеток с помощью соединения А

Происхождение	Клеточная линия	DDR/MMR дефекты	Онкогенный репликационный стресс или TP53/опухолевые супрессоры	in vitro (IC50, нМ)
Предстательная железа	LNCaP	ARID1Afs, ATG5fs, ATMA1119V/K1572N, ATRXEE2264-2265E, BRCA2fs, CHEK2T430N, ERCC3A740T;R391W, ERCC5L1023I, FANCAE369D,Q652*, HDAC2A62V, MLH31541V, MSH3PPA66-68-;fs, POLBfs, POLHD631G, PRKDCfs, RAD50fs, RAD54LL532M, RB1акцептор_сплайсинга, SLX4S605N, TDP2T308S, TP53BP1R639Q;Q111*, TRRAPR2665W;P3554L, WDR48G107*, XRCC3P87L, XRCC4L70M	APCR2714C, ATRK1379N, ERBB3K177N, MYCN45S, PTENfs, TOP2Afs, TOP2BG323*/V889A	18
Предстательная железа	22Rv1	ATMK1101E, ARID1Afs, BARD1fs, BRCA2V1810I,fs, DCLRE1Cfs, FANCAfs, MSH3fs, NBNR43Q, PALB2V1123M, PARP4R970W, PRKDCfs, RAD18L314V, RAD50T532I,SLX4fs, TP53BP1fs, USP1fs, WRNfs, XRCC2fs	PIK3CAQ546R, ATRfs, BRAFL597R, ERBB3R683Q, TP53Q331R	36
Предстательная железа	VCaP	MSH3PPA66-68-, MSH6fs	CCND1S219N, TMPRSS2-ERG, MYCamp, TP53R248W	51
Предстательная железа	LapC4	ARID1A-2138-2139X, BAP1P723L, BRCA2fs, CDK12W1459X, ERCC2E313K, ERCC3R642Q/V443A/E259D, ERCC5G1080R, FANCD2N405S,P714L,P1081X,донор_сплайсинга, GEN1K42E, H2AFXN95S, LIG4T219A, MLH3K585X, MSH2M300R,донор_сплайсинга, MSH3K381X, PALB2V398A, PARP1W589C, PARP3H441R, PARP4T1170I,V1065A,Q1059R,I1039T,V626D, POLHD140N, POLQS1797I.M587I, PRKDCQ4041H, RAD17R49X, RAD51C320Y, RAD54BI164T, REV3LS2862T,P2172L, TRRAPD394G,M1087I,P2026L,H3174Y,A3655V, WDR48S611P, WRNE3X,K1126X	ATRR1951*stop/amp, CDC7A342V/D571G, EGFRV980D, TP53H178PX,R175H	55
Предстательная железа	DU-145	ATG5донор_сплайсинга, BRCA1E962K, BRCA2S2284L, BRIP1T132N, DYRK1AR226H, FANCBG702W, FANCIfs, GEN1Q554H, LIG4R32C, MLH1A586V,splice, MSH2L736I,	KRASamp, DYRK1R226H, TMPRSS2акцептор_сплайсинга, TP53V274F;P223L	110

		MSH6S1067I, PMS2H189Y, POLA1A550S, POLLA285T, POLQV124M, PRKDCfs, RAD50N509K, RB1K715*, REV3LR2523C, RPA2E252D, TP53BP1акцептор_сплайсинга, TRRAPfs;A1389T, UIMC1A96D, UBE2Nfs, USP1fs, XPAs, XRCC1акцептор_сплайсинга, XRCC2fs		
Предстательная железа	PC3	MSH3AAAAAAAAAPP55-64A;PPA66-68, PRKDCfs	MYCamp, TP53fs	490
Предстательная железа	C4-2B	MSI-H, ARID1A_c.854delG_p.G285fs*78, ATRX-E2265del, MSH2loss, TRRAP-Q1984*	PTENdel	50
Молочная железа	HCC70	MSH3PPA66-68-, RB1DN479-480D	PTENfs, TP53R248Q	27
Молочная железа	MDA-MB-436	BRCA1донор_сплайсинга, FANCIS812G, MLH3F92L, PRKDC1824F;fs,	TMPRSS2V101F, MYCamp+, TP53fs	120
Молочная железа	MDA-MB-468	BLMD554V, BRCA2M965I, FANCAQ869*,FANCEG245-, FBXO18G193A, SLX4E1784Q	ERBB2fs, ATRP? (2633+5A>G, Замещение - интронное) PTENдонор_сплайсинга, TP53R273H	130
Шейка матки	HeLa	BRIP1R855H, REV3LQ2891*, UIMC1R536W	EGFR1646L	150
Ободочная и прямая кишка	LOVO	MSI-H, ARID1A-F2141fs*59, ATM-сайт сплайсинга 1236-2_1237delAGGC, CHEK2-T389fs*25, ERCC3Q711R, FANCAR350W, FBXW7R505C,MSH2-G71del, MSH3L795H, NBNfs, POLHT477I, BLMfs, POLQfs, PRKDCfs, RAD50fs, XRCC2-L117fs*17	APCR1114*;R2816Q;fs, KRASG13D	71
Ободочная и прямая кишка	HT29	FANCMfs, POLNR761*, POLQS1819*, PRKDCfs, WRNL1255V	APCE853*,fs, MYCamp, BRAFV600E,T119S, PIK3CAP449T, TP53R273H	160
Ободочная и прямая кишка	Caco2	нет	APCQ1367*, ERBB3D857N	240
Ободочная и прямая кишка	HCT-116	ATMA1127V, ATRXTK1529-1530K, BRCA2fs, CDK12P250H, CHEK2L398P, ERCC5донор_сплайсинга, FANCAfs, FBXO18A1062V,GEN1R401Q, MLH1S252*,MSH3fs, MSH6fs, POLHA112T, POLQK2571N, PRKDCY2964C, RAD50fs, REV3Lfs, SLX4A1461fs*2, TRRAPH3023Y;T3663A, USP1R180*, WRNE480V	ERBB3Q261*, TOP2Afs, TOP2BR651H, KRASG13D, PIK3CAH1047R	25
Глиобластома	U-87MG	RAD50D515G, RAD54LR691Q	ATRXN564S PTENдонор_сплайсинга,	64

Глиобластома	M059J	FANCAR1409W, PRKDCfs, RAD54BP98L, TDP2R317*	CCNE1R95L, ERBB2W452S, PTENfs, TP53E286K	80
Легкие	NCI-H1838	ATMW1279*, BRCA1C328Y, CDK12R1473Q, RAD50L347P, MSH3AAAAAAAAPP55-64A;PPA66-68-, PRKDCfs	ATRP1991S, TP53R273L	24
Легкие	NCI-H1703	ATMV1521L;G1998E, BRCA1G890V, FANCD2V97I, MSH3AAAAAAAAPP55-64A;PPA66-68-, PRKDCfs	TP53донор_сплайсинга	46
Легкие	NCI-H460	NBNG224A, REV3LQ1367L, MSH3AAAAAAAAPP55-64A, PRKDCfs	KRASQ61H, PIK3CAE545K, MYCamp	65
Легкие	NCI-H2030	MSH3AAAAAAAAPP55-64A;PPA66-68-, PRKDCfs	KRASG12C, TP53G262V	160
Легкие	NCI-H23	ATMQ1919P, BARD1A168T, BRIP1E1054A, FANCD1048Y, MSH3E251*, MDC1N1233S, NBNV153I, PMS2E491K, PRKDCfs, SLX4ED1148-1149D	CCNE1D83N, KRASG12C/amp, TOP2BH977Y, MYCamp, NRASamp, TP53M246I	18
Легкие	A549	ATРакцептор_сплайсинга, MSH3PPA66-68-, PRKDCfs	KRASG12S, ATRsplice, CCNE1amp	29
Лимфома, В-клетки	SU-DHL-8	ATMK1964E, FANCD2R1165Q, FEN1L190V, REV3LV1004E, PRKDCfs	MYCp72S, Q10H, BRAFT599TT, CDC7K42N, TOP2AG1197E, TP53R249G;Y234N	9
Лимфома, В-клетки	TMD-8	BRIP1S59P, ERCC2H148R, MLH1V16L	APCK1170E, MYCF3L	179
Лимфома, клетки зоны мантии	REC-1	ATMS707P/amp, PRKDCK3872R;fs, POLNN382S	KRASamp, TP53Q317*;G245D	10
Лимфома, клетки зоны мантии	Jeko-1	ATMamp, ATRXR246C, BAP1S609G, BRCA1N742S, CHEK2V218A, DCLRE1ARI002C, ERCC2V231M, MLH3I397-, PRKDCfs, RB1R621S, SLX4G395C	ATRT1751A, TMPRSS2Y82D, TP53fs	18
Лимфома, клетки зоны мантии	GRANTA-519	ATMR2832C	нет	30
Лимфома, клетки зоны мантии	JVM-2	FANCMQ1701*, MSH3AAAAAAAAPP55-64A, PRKDCfs	нет	32
Меланома	HT-144	ATMW2845*, PRKDCfs, XRCC3E278K	BRAFV600E	40
Нейробластома	SH-SY5Y	CHEK2fs, MSH3PPA66-68-, PRKDCfs	нет	13

Яичники	A2780	ARID1AQ1430*, R1721fs*4, ATMP604S, FANCMfs, PARP4G630E, POLHR356Q, PRKDCfs	ATRI123V, ERBB3V1082I, PTEN K128_R130del, TOP2BV530I, BRAFV226M, PIK3CAE365K	21
Яичники	SK-OV-3	ARID1AQ586*, ATМакцептор_сплайсинга, FANCM205V, FBXW7R505L, TDPIY46C	APCfs, TOPBP1N295S, PIK3CAH1047R, KRASamp, CDC7del, TP53fs	33
Яичники	IGROV-1	MSI-H, ARIDIAD1850fs*4, G276fs*87, ATMR248Q, BRCA1K654fs*47, BRCA2P3150T, CHEK1fs, FANCA3prime_UTR, MLH1S505fs*3, MRE11AR525K, MSH3G539V; F780L; D943N, MSH6fs, PALB2T787I, POLQfs: L45I, POLNfs, PRKDCC1454Y, Y155C, RAD50fs, RAD52E130K, RB1fs, TDP1N179S, TRRAP2051F, USP1V636I, UIMC1A418T	ERBB3K742, PIK3CAR38C; *1069W, PTENfs, TOP2AH605Q, TOPBP1D395G, TP53Y126C	96
Яичники	OVCAR8	ATMV613L, MSH6T727S, REV3LL3040V	APCA1225S, ERBB2G776V, KRASP121H, MYCamp, TP53акцептор_сплайсинга	110
Поджелудочная железа	BxPC3	ERCC2R156Q, PRKDCfs	BRAFVTAPTP487-492A, TP53Y220C	44
Поджелудочная железа	AsPc-1	FBXW7R465C, PARP4M1110L, PRKDCfs	DYRK1AS14C, KRASG12D, TP53fs	49
Поджелудочная железа	MIAPaCa2	ARID1AP1940L, MLH1T270I, PALB2S64L	KRASG12C, TP53R248W	380

Таблица 5

Функциональные мутации генов тестируемых клеточных линий

Происхождение	Клеточная линия	Функциональная мутация		
		DDR/MMR вредные	TP53/опухолевые супрессоры	онкогенный репликационный стресс
Предстательная железа	LNCaP	ARID1Afs, ATGfs, ATRXEE2264-2265E, BRCA2fs, FANCAE369D, Q652*, MSH3PPA66-68-;fs, PRKDCfs, RAD50fs, RB1акцептор_сплайсинга, WDR48G107*	TP53BP1R639Q; Q111*	ATRK1379N, ERBB3K177N, MYCN45S, TOP2Afs, TOP2BG323*/V889A

Предстательная железа	22Rv1	ARID1Afs, BARD1fs, BRCA2V1810I,fs, DCLRE1Cfs, FANCAfs, MSH3fs, PRKDCfs, SLX4fs, USP1fs, WRNfs, XRCC2fs	TP53Q331R, TP53BP1fs	PIK3CAQ546R, ATRfs, BRAFL597R, ERBB3R683Q
Предстательная железа	VCaP	MSH3PPA66-68-, MSH6fs	TP53R248W	CCND1S219N, TMPRSS2-ERG, MYCamp
Предстательная железа	LapC4	ATM донор_сплайсинга, BRCA2fs, FANCD2 донор_сплайсинга, MSH2 splice_dono	TP53H178PX,R175H	ATRR1951*stop/amp, CDC7A342V/D571G, EGFRV980D
Предстательная железа	DU-145	ATG5донор_сплайсинга, FANCIfs, PRKDCfs, RB1K715*, TRRAPfs; UBE2Nfs, USP1fs, XPAs, XRCC1акцептор_сплайсинга, XRCC2fs	TP53V274F;P223L, TP53BP1акцептор_сплайсинга	KRASamp, DYRK1R226H, TMPRSS2акцептор_сплайсинга
Предстательная железа	PC3	MSH3AAAAAAAAAPP55-64A;PPA66-68-, PRKDCfs	TP53fs	MYCamp
Предстательная железа	C4-2B	MSI-H, ARID1A_c.854delG_p.G285fs*78, MSH2loss,TRRAP-Q1984*,ATRX-E2265del	PTENdel	нет
Молочная железа	HCC70	MSH3PPA66-68-, RB1DN479-480D	PTENfs, TP53R248Q	нет
Молочная железа	MDA-MB-436	BRCA1донор_сплайсинга, PRKDCL1824F;fs	TP53fs	TMPRSS2V101F, MYCamp
Молочная железа	MDA-MB-468	FANCAQ869*	PTENдонор_сплайсинга, TP53R273H	ERBB2fs, ATRP? (2633+5A>G,Замещение - интронное)
Шейка матки	HeLa	REV3LQ2891*	нет	EGFR1646L

Ободочная кишка	LOVO	MSI-H, ARID1A-F2141fs*59, ATM-сайт сплайсинга 1236-2_1237delAGGC, CHEK2-T389fs*25, MSH2-G71del, NBNfs, BLMfs, POLQfs, PRKDCfs, RAD50fs, XRCC2-L117fs*17	APCR1114*	KRASG13D
Ободочная кишка	HT29	FANCMfs, POLNR761*, POLQS1819*, PRKDCfs	APCE853*.fs, TP53R273H	MYCamp, BRAFV600E, T119S, PIK3CAP449T
Ободочная кишка	Caco2	нет	APCQ1367*	ERBB3D857N
Ободочная кишка	HCT-116	ATMA1127V, ATRXTK1529-1530K, BRCA2fs, ERCC5донор_сплайсинга, FANCAfs, MLH1S252*, MSH3fs, MSH6fs, RAD50fs, REV3Lfs, SLX4A1461fs*2, USP1R180*	нет	ERBB3Q261*, TOP2Afs, TOP2BR651H, KRAS G13D, PIK3CA H1047R
Глиобластома	U-87MG	нет	PTENдонор_сплайсинга	ATRXN564S
Глиобластома	M059J	PRKDCfs, TDP2R317*	PTENfs, TP53E286K	CCNE1R95L, ERBB2W452S
Легкие	NCI-H1838	ATMW1279*, MSH3AAAAAAAAAPP55-64A;PPA66-68-, PRKDCfs	TP53R273L	ATRP1991S
Легкие	NCI-H1703	ATMG1998E, MSH3AAAAAAAAAPP55-64A;PPA66-68-, PRKDCfs	TP53донор_сплайсинга,	нет
Легкие	NCI-H460	MSH3AAAAAAAAAPP55-64A, PRKDCfs	нет	KRASQ61H, PIK3CAE545K, MYCamp
Легкие	NCI-H2030	MSH3AAAAAAAAAPP55-64A;PPA66-68-, PRKDCfs	TP53G262V	KRASG12C

Легкие	NCI-H23	ATMQ1919P, MSH3E251*, PRKDCfs, SLX4ED1148- 1149D	TP53M246I	CCNE1D83N, KRASG12C/amp, TOP2BH977Y, MYCamp, NRASamp
Легкие	A549	MSH3PPA66-68-, PRKDCfs	нет	KRASG12S, ATRsplice, CCNEamp
Лимфома, В- клетки	SU-DHL-8	ATMK1964E, PRKDCfs,	TP53R249G;Y23 4N ,	MYCp72S,Q10H, BRAFT599TT, CDC7K42N, TOP2AG1197E
Лимфома, В- клетки	TMD-8	нет	нет	MYCF3L
Лимфома, клетки зоны мантии	REC-1	PRKDCfs	TP53Q317*;G24 5D,	KRASamp
Лимфома, клетки зоны мантии	Jeko-1	MLH3I397-, PRKDCfs, RB1R621S	TP53fs	ATRT1751A, TMPRSS2Y82D
Лимфома, клетки зоны мантии	GRANTA- 519	ATMR2832C	нет	нет
Лимфома, клетки зоны мантии	JVM-2	FANCMQ1701*, MSH3AAAAAAAAAPP55- 64A, PRKDCfs	нет	нет
Меланома	HT-144	ATMW2845*, PRKDCfs	нет	BRAFV600E
Нейробластома	SH-SY5Y	CHEK2fs, MSH3PPA66-68- , PRKDCfs,	нет	нет
Яичники	A2780	ARID1AQ1430*,R1721fs*4 , ATMP604S, FANCMfs, PRKDCfs,	PTEN K128_R130del	ATRI123V,ERBB3V1082I, TOP2BV530I, BRAFV226M, PIK3CAE365K
Яичники	SK-OV-3	ARID1AQ586*, ATМакцелтор_сплайсинга	APCfs, TP53fs	TOPBP1N295S, PIK3CAH1047R, KRASamp, CDC7del

Яичники	IGROV-1	MSI-H, ARID1A D1850fs*4, G276fs*87, ATMR248Q, BRCA1K654fs*47, CHEK1fs, MLH1S505fs*3, MSH6fs, POLQfs; POLNfs, RAD50fs	PTENfs, TP53Y126C	ERBB3K742, PIK3CAR38C;*1069W, TOP2AH605Q, TOPBP1D395G
Яичники	OVCAR8	ATMV613L	TP53акцептор_с плайсинга	ERBB2G776V, KRASP121H, MYCamp
Поджелудочная железа	VхPC3	PRKDCfs	TP53Y220C	BRAFVTAPTP487-492A,
Поджелудочная железа	AsPc-1	PRKDCfs	TP53fs	DYRK1A S14C, KRASG12D
Поджелудочная железа	MIA PaCa2	нет	TP53R248W	KRASG12C

Сокращения, используемые в табл. 4 и 5:

DDR: репарация повреждений ДНК;

MMR: репарация ошибочно спаренных оснований;

fs: сдвиг рамки;

del: делеция;

*: стоп-кодон;

amp: амплификация гена;

MSI-H: высокая микросателлитная нестабильность;

IC₅₀: концентрация соединения, необходимая для достижения 50% ингибирования максимального роста клеток.

Таблица 6

Ингибирование пролиферации изогенной опухолевой клеточной линии с помощью соединения А

Происхождение	Клеточная линия	Дефект	in vitro (IC ₅₀ , nM)
Ободочная и прямая кишка	DLD-1 родительская		50
Ободочная и прямая кишка	DLD-1 BRCA2 (-/-)	BRCA2 дефицит (вредная мутация BRCA2)	27
Ободочная и прямая кишка	DLD-1 ATM (-/-)	ATM дефицит (вредная мутация ATM)	1,5

Сокращения, используемые в табл. 6:

IC₅₀: концентрация соединения, необходимая для достижения 50% ингибирования максимального роста клеток.

Пример 2.

Модели ксенотрансплантации in vivo.

Противоопухолевую активность соединения А исследовали на мышинных ксенотрансплантационных моделях рака человека. Для этого, мышам имплантировали подкожно опухолевые клетки. При среднем размере опухоли 20-30 мм животных рандомизировали на леченные и контрольные группы (n=10 животных/группу) и лечение начинали с применением только наполнителя или соединения А (состав: 60% PEG400/10% этанол/30% вода; путь введения: р.о./per os, пероральный; доза/схема: 50 мг/кг два раза в сутки в течение 3 дней введения /4 "выходных" дней). Объем для перорального введения составлял 10 мл/кг. Временной интервал между двумя введениями в сутки составлял 6-7 ч. Эксперимент заканчивали, если нелеченная контрольная группа имела опухоли площадью ≤225 мм². Размер опухоли и вес тела определяли три раза в неделю. Изменения веса тела являлись показателем токсичности, связанной с лечением (>10% = критическое, остановка лечения до восстановления, >20% = токсичное, прекращение). Площадь опухоли определяли путем измерения с помощью электронного штангенциркуля (длина (м) x ширина (мм)). Противоопухолевую эффективность в условиях in vivo выражали в виде соотношения Т/С (Лечение /контроль), рассчитанного на основании площади опухолей при окончании исследования согласно формуле [(площадь опухоли леченной группы в день x) - (площадь опухоли леченной группы в день перед первым лечением)] / [(площадь опухоли контрольной группы в день x) - (площадь опухоли контрольной группы в день перед первым лечением)]. Соединение, имеющее Т/С ниже 0,5, определяли как активное (эффективное). Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения SigmaStat.

Осуществляли однофакторный дисперсионный анализ и отличия от контроля сравнивали с помощью процедуры попарного сравнения (метод Дюннета).

Результаты (табл. 7).

Соединение А продемонстрировало значительную противоопухолевую эффективность на различных ксенотрансплантатных моделях опухолей человека при лечении в качестве монотерапии, индуцируя стабильное заболевание при раке яичника (A2780), раке предстательной железы (PC3), раке ободочной и прямой кишки (LOVO) и полную ремиссию опухоли при лимфоме из клеток зоны мантии (REC-1) при хорошей переносимости.

Таблица 7

Противоопухолевая активность соединения А на различных ксенотрансплантатных моделях рака человека у мышей

Ксенотрансплантатная модель	T/C ^a	Макс. потеря веса ^b (%)
REC-1	-0,13*	-10
PC3	-0,02*	-7
LOVO	0,13*	-8
A2780	0,13*	-6

* P < 0,05 (по сравнению с контролем, леченным носителем)

а) T/C = соотношение площади опухоли леченных относительно [(площадь опухоли леченной группы в день x) - (площадь опухоли леченной группы в день перед первым лечением)]/[(площадь опухоли контрольной группы в день x) - (площадь опухоли контрольной группы в день перед первым лечением)]

б) Потеря веса тела: изменения веса тела по сравнению с исходным весом тела в начале лечения (> 10% = критическое, остановка лечения до восстановления, > 20% = токсическое, прекращение)

Сокращение 2QD обозначает два раза в сутки, po обозначает перорально.

Пример 3.

Лечение изогенных клеточных линий DT40 лимфомы цыплят с помощью соединения А.

DT40 клетки из изогенных клеточных линий (см. табл. 8) высевали в 40 мкл ростовой среды (RPMI 1640 среда, содержащая стабилизированный глутамин (№ FG1215, Merck/Biochrom), дополненная 10% фетальной телячьей сывороткой, 1% сывороткой цыплят, 100 Ед/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 5Е-05М β-меркаптоэтанола) в количестве 200 клеток на лунку в белый микротитровальный планшет на 384 лунки (№ 6007680; Perkin Elmer Life Sciences) и инкубировали в течение 24 ч при 37°C. Добавляли Соединение А, используя цифровой распределитель (Tecan) к клеткам с тестируемых планшетов и инкубировали непрерывно в течение 3 дней при 37°C. Для определения жизнеспособности клеток (что соответствует числу клеток) добавляли 10 мкл/лунку СТГ раствора (Promega Cell Titer Glo раствор, № G755B и G756B). После инкубирования дополнительно в течение 10 мин, анализировали люминесценцию, используя оборудование PHERAstar FSX (BMG Labtech). Все измерения осуществляли в четырех повторах. Процентное значение жизнеспособности клеток рассчитывали путем нормирования по отношению к показаниям люминесценции (число клеток) в начале обработки клеток (эталонный планшет измеряли во время добавления соединения в экспериментальные планшеты) и показаниям люминесценции (число клеток) нелеченной контрольной группы. Полумаксимальное ингибирование роста (IC₅₀) определяли в виде концентрации соединения, которая необходима для достижения 50% ингибирования роста клеток, используя подгонку по 4м параметрам. Для оценки относительной клеточной чувствительности изогенных DT40 клеточных линий к Соединению А, среднее IC₅₀ каждой мутантной клеточной линии разделяли на среднее IC₅₀ клеток дикого типа, и затем частное превращали в логарифмический масштаб (основание 2). Log₂ соотношения ≤ -1 или ≥ +1, что соответствовало 2-х кратному изменению чувствительно относительно клеток дикого типа, рассматривали как особенно релевантные.

Результаты.

Активность соединения А тестировали на панели 46 изогенных клеточных линий, имеющих происхождение из DT40 клеток лимфомы цыплят, которые не экспрессируют TP53 (Такао и др., Oncogene 1999; 18: 7002-7009), охватывая инактивацию различных генов, вовлеченных в передачу сигналов повреждения ДНК и репарации ДНК. Относительные чувствительности к соединению А рассчитывали для мутантных клеточных линий относительно родительской клеточной линии дикого типа (табл. 9). Результаты указывают на то, что клетки, которые дефицитны по генам TP53BP1, RAD9A, RAD17, H2AFX, RAD52, BRCA1, BRCA2, UBE2N, PCNA, PARP1, TDP2, FANCD2, FANCG, POLL, POLL/POLB двойные мутированные, REV3L, FEN1, XPA, ERCC5, или BLM являются 2-х кратно или более, чем 2-х кратно более чувствительны к Соединению А по сравнению с клетками дикого типа. Сильные сенсбилизации (> 4-кратные) наблюдали для RAD17, PARP1, FANCD2, UBE2N, RAD9A, REV3L, TP53BP1, ERCC5, и

BLM дефицитных DT40 клеток, в то время как наиболее сильные эффекты (> 8-х кратные) были обнаружены в PCNA, FEN1, H2AFX, BRCA1 дефицитных DT40 клетках. Эти результаты свидетельствуют о том, что вредные мутации в генах TP53BP1, RAD9A, RAD17, H2AFX, RAD52, BRCA1, BRCA2, UBE2N, PCNA, PARP1, TDP2, FANCD2, FANCG, POLL, POLL/POLB двойные мутированные, REV3L, FEN1, XPA, ERCC5, или BLM сенсibiliзируют опухолевые клетки к лечению с применением соединения А.

Таблица 8

DT40 изогенные мутантные клеточные линии. Все клеточные линии получали из университета Киото, Япония

Клеточная линия	Ген	Функция делектированного (ых) (мутированного (ых) гена (ов), и аннотация	Обр.
KU70	XRCC6	Негомологичное соединение концов	1
ЛИГАЗА IV	LIG4	Негомологичное соединение концов	2
ДНК-ПК	PRKDC	Негомологичное соединение концов	3
RAP80	UIMC1	Функциональное взаимодействие с Top2, компонентом BRCA1-A комплекса, K63 полиубиквитин связывающий белок	4
53BP1	TP53BP1	Ингибирование гомологичной рекомбинации (Гомологичная рекомбинация)	5
ATM	ATM	Повреждение контрольной точки	6
RAD9	RAD9A	Повреждение контрольной точки	7
RAD17	RAD17	Повреждение контрольной точки	7
H2AX	H2AFX	Гомологичная рекомбинация	8
RAD52	RAD52	Гомологичная рекомбинация, Rad51 подобный белок, Гомологичная рекомбинация, ренатурация одноцепочечной ДНК	9
NBS1p70	NBN	Гомологичная рекомбинация	10
BRCA1	BRCA1	Гомологичная рекомбинация	11
BRCA2	BRCA2	Гомологичная рекомбинация	12
UBC13	UBE2N	E2 лигаза, пострепликативная репарация, Гомологичная рекомбинация	13
RAD18	RAD18	E3 лигаза PCNA, Пострепликативная репарация	14
PCNAK164R	PCNA	Пострепликативная репарация	15
PARP1	PARP1	Обнаружение повреждения ДНК, поли(АДФ-рибозил)ирование, репарация SSB и DSB	16
TDP1	TDP1	Удаление Top1 отщепленного комплекса (Top1cc)	17
TDP2	TDP2	Удаление Top2 отщепленного комплекса (Top2cc)	18
TDP1/TDP2	TDP1/TDP2	(См. выше)	19
FANCC	FANCC	Репарация междуцепочечных поперечных сшивок, Гомологичная рекомбинация	20
FANCD2	FANCD2	Репарация междуцепочечных поперечных сшивок, Гомологичная рекомбинация	21
FANCG	FANCG	Репарация междуцепочечных поперечных сшивок, Гомологичная рекомбинация	22
USP1	USP1	Репарация междуцепочечных поперечных сшивок, Гомологичная рекомбинация	23
UAF1	WDR48	Репарация междуцепочечных поперечных сшивок, Гомологичная рекомбинация, USP1 фактор ассоциации	23
SNM1A/1B	DCLRE1A / DCLRE1B	Репарация междуцепочечных поперечных сшивок	24
ARTEMIS	DCLRE1C	5'-3' экзонуклеаза, негомологичное соединение концов	24
POLB	POLB	Экцизионная репарация оснований ДНК	25
POLL	POLL	ДНК полимеразы, Экцизионная репарация оснований ДНК	25
POLB/POLL	POLB/POLL	(См. выше)	25
POLN	POLN	Синтез «через/сквозь» повреждённые участки ДНК полимеразы	26
POLQ	POLQ	Синтез «через/сквозь» повреждённые участки ДНК полимеразы, Экцизионная репарация оснований ДНК, Домен геликазы	26
POLN/POLQ	POLN-POLQ	(См. выше)	26
POLH	POLH	Синтез «через/сквозь» повреждённые участки ДНК полимеразы	27
POLZ	REV3L	Синтез «через/сквозь» повреждённые участки ДНК полимеразы	28
POLH/POLZ	POLH-REV3L	(См. выше)	29
FEN1	FEN1	5' лоскутная эндонуклеаза, Экцизионная репарация оснований ДНК, Гомологичная рекомбинация	30
XPA	XPA	Ядерная эксцизионная репарация	31
XPG	ERCC5	Ядерная эксцизионная репарация	32
FBH1	FBXO18	ДНК геликазы, Сходный фенотип с BLM	33
BLM	BLM	RecQ геликазы, отвечающая за синдром Блума	34
WRN	WRN	RecQ геликазы, отвечающая за синдром Вернера,	35
MSH3	MSH3	Репарация ошибочно спаренных оснований	36
ATG5	ATG5	Связанный с аутофагией 5 гомолог, аутофагия, отрицательная регуляция апоптоза	37

Таблица 9

Ингибирование пролиферации изогенных DT40 клеток с помощью соединения А и относительные чувствительности (\log_2 соотношение)

Клеточная линия	Ген	IC ₅₀ (M)	\log_2 (соотношение)
Дикий тип		1,3E-07	0,00
KU70	XRCC6	1,2E-07	-0,12
ЛИГАЗА IV	LIG4	1,0E-07	-0,38
ДНК-ПК	PRKDC	8,5E-08	-0,61
RAP80	UIMC1	1,0E-07	-0,38
53BP1	TP53BP1	3,7E-08	-1,81
ATM	ATM	1,1E-07	-0,24
RAD9	RAD9A	2,5E-08	-2,38
RAD17	RAD17	2,1E-08	-2,63
H2AX	H2AFX	1,2E-08	-3,44
RAD52	RAD52	5,4E-08	-1,27
NBS1p70	NBN	1,2E-07	-0,12
BRCA1	BRCA1	1,4E-08	-3,22
BRCA2	BRCA2	4,7E-08	-1,47
UBC13	UBE2N	2,4E-08	-2,44
RAD18	RAD18	6,7E-08	-0,96
PCNAK164R	PCNA	8,5E-09	-3,93
PARP1	PARP1	2,2E-08	-2,56
TDP1	TDP1	9,9E-08	-0,39
TDP2	TDP2	5,6E-08	-1,22
TDP1/TDP2	TDP1/TDP2	6,6E-08	-0,98
FANCC	FANCC	8,1E-08	-0,68
FANCD2	FANCD2	2,3E-08	-2,50
FANCG	FANCG	5,2E-08	-1,32
USP1	USP1	1,3E-07	0,00
UAF1	WDR48	7,0E-08	-0,89
SNM1A/1B	DCLRE1A / DCLRE 1B	9,9E-08	-0,39
ARTEMIS	DCLRE1C	2,0E-07	0,62
POLB	POLB	1,3E-07	0,00
POLL	POLL	4,7E-08	-1,47
POLB/POLL	POLB/POLL	5,6E-08	-1,22
POLN	POLN	1,3E-07	0,00
POLQ	POLQ	7,4E-08	-0,81
POLN/POLQ	POLN-POLQ	9,2E-08	-0,50
POLH	POLH	7,7E-08	-0,76
POLZ	REV3L	3,1E-08	-2,07
POLH/POLZ	POLH-REV3L	1,2E-07	-0,12
FEN1	FEN1	1,1E-08	-3,56
XPA	XPA	4,6E-08	-1,50
XPG	ERCC5	4,1E-08	-1,66
FBH1	FBXO18	1,5E-07	0,21
BLM	BLM	4,3E-08	-1,60
WRN	WRN	7,1E-08	-0,87
MSH3	MSH3	7,1E-08	-0,87
ATG5	ATG5	1,5E-07	0,21

Ссылки.

1. Takata M, Sasaki MS, Sonoda E, Morrison C, Hashimoto M, Utsumi H, et al. Homologous recombination and non-homologous end-joining pathways of DNA double-strand break repair have overlapping roles in the maintenance of chromosomal integrity in vertebrate cells. *Embo J* 1998;17:5497-508.
2. Adachi N, Ishino T, Ishii Y, Takeda S, Koyama H. DNA ligase IV-deficient cells are more resistant to ionizing radiation in the absence of Ku70: Implications for DNA double-strand break repair. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2001;98:12109-13.
3. Fukushima T, Takata M, Morrison C, Araki R, Fujimori A, Abe M, et al. Genetic analysis of the DNA-dependent protein kinase reveals an inhibitory role of Ku in late S/G2 phase DNA double-strand break repair. *J Biol Chem* 2001;276:44413-8.
4. Iijima J, Zeng Z, Takeda S, Taniguchi Y. RAP80 Acts Independently of BRCA1 in Repair of Topoisomerase II Poison-Induced DNA Damage. *Cancer Res* 2010;70:8467-8474
5. Nakamura K, Sakai W, Kawamoto T, Bree RT, Lowndes NF, Takeda S, et al. Genetic dissection of vertebrate 53BP1: a major role in non-homologous end joining of DNA double strand breaks. *DNA Repair (Amst)* 2006;5:741-9.
6. Takao N, Kato H, Mori R, Morrison C, Sonoda E, Sun X, et al. Disruption of ATM in p53-null cells causes multiple functional abnormalities in cellular response to ionizing radiation. *Oncogene* 1999;18:7002-9.
7. Kobayashi M, Hirano A, Kumano T, Xiang SL, Mihara K, Haseda Y, Matsui O, Shimizu H, Yamamoto K. Critical role for chicken Rad17 and Rad9 in the cellular response to DNA damage and stalled DNA replication. *Genes Cells* 2004; 9:291-303
8. Sonoda E, Zhao GY, Kohzaki M, Dhar PK, Kikuchi K, Redon C, et al. Collaborative roles of gammaH2AX and the Rad51 paralog Xrcc3 in homologous recombinational repair. *DNA Repair (Amst)* 2007;6:280-92.
9. Yamaguchi-Iwai Y, Sonoda E, Buerstedde JM, Bezzubova O, Morrison C, Takata M, et al. Homologous recombination, but not DNA repair, is reduced in vertebrate cells deficient in RAD52. *Mol Cell Biol* 1998;18:6430-5.
10. Nakahara M, Sonoda E, Nojima K, Sale JE, Takenaka K, Kikuchi K, et al. Genetic evidence for single-strand lesions initiating Nbs1-dependent homologous recombination in diversification of Ig v in chicken B lymphocytes. *PLoS genetics* 2009;5:e1000356.
11. Martin RW, Orelli BJ, Yamazoe M, Minn AJ, Takeda S, Bishop DK. RAD51 upregulation bypasses BRCA1 function and is a common feature of BRCA1-deficient breast tumors. *Cancer Res* 2007;67:9658-65.
12. Hatanaka A, Yamazoe M, Sale JE, Takata M, Yamamoto K, Kitao H, et al. Similar effects of Brca2 truncation and Rad51 paralog deficiency on immunoglobulin V gene diversification in DT40 cells support an early role for Rad51 paralogs in homologous recombination. *Molecular and cellular biology* 2005;25:1124-34.
13. Zhao GY, Sonoda E, Barber LJ, Oka H, Murakawa Y, Yamada K et al. A critical role for the ubiquitin-conjugating enzyme Ubc13 in initiating homologous recombination. *Mol Cell*. 2007;25:663-75.

14. Yamashita YM, Okada T, Matsusaka T, Sonoda E, Zhao GY, Araki K, et al. RAD18 and RAD54 cooperatively contribute to maintenance of genomic stability in vertebrate cells. *Embo J* 2002;21:5558-66.
15. Arakawa H, Moldovan GL, Saribasak H, Saribasak NN, Jentsch S, Buerstedde JM. A role for PCNA ubiquitination in immunoglobulin hypermutation. *PLoS biology* 2006;4:e366.
16. Hochegger H, Dejsuphong D, Fukushima T, Morrison C, Sonoda E, Schreiber V, et al. Parp-1 protects homologous recombination from interference by Ku and Ligase IV in vertebrate cells. *Embo J.* 2006;25:1305-14.
17. Murai J, Huang SY, Das BB, Dexheimer TS, Takeda S, Pommier Y. Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 (TDP1) repairs DNA damage induced by topoisomerases I and II and base alkylation in vertebrate cells. *J Biol Chem* 2012;287:12848-57.
18. Zeng Z, Cortes-Ledesma F, El Khamisy SF, Caldecott KW. TDP2/TTRAP is the major 5'-tyrosyl DNA phosphodiesterase activity in vertebrate cells and is critical for cellular resistance to topoisomerase II-induced DNA damage. *J Biol Chem* 2011;286:403-9.
19. Zeng Z, Sharma A, Ju L, Murai J, Umans L, Vermeire L, et al. TDP2 promotes repair of topoisomerase I-mediated DNA damage in the absence of TDP1. *Nucleic Acids Res* 2012.
20. Hirano S, Yamamoto K, Ishiai M, Yamazoe M, Seki M, Matsushita N, et al. Functional relationships of FANCC to homologous recombination, translesion synthesis, and BLM. *Embo J* 2005;24:418-27.
21. Yamamoto K, Hirano S, Ishiai M, Morishima K, Kitao H, Namikoshi K, et al. Fanconi anemia protein FANCD2 promotes immunoglobulin gene conversion and DNA repair through a mechanism related to homologous recombination. *Molecular and cellular biology* 2005;25:34-43.
22. Yamamoto K, Ishiai M, Matsushita N, Arakawa H, Lamerdin JE, Buerstedde JM, et al. Fanconi anemia FANCG protein in mitigating radiation- and enzyme-induced DNA double-strand breaks by homologous recombination in vertebrate cells. *Molecular and cellular biology* 2003;23:5421-30.
23. Murai J, Yang K, Dejsuphong D, Hirota K, Takeda S, D'Andrea AD. The USP1/UAF1 Complex Promotes Double-Strand Break Repair through Homologous Recombination. *Mol Cell Biol* 2011;31:2462-9.

24. Ishiai M, Kimura M, Namikoshi K, Yamazoe M, Yamamoto K, Arakawa H, et al. DNA cross-link repair protein SNM1A interacts with PIAS1 in nuclear focus formation. *Molecular and cellular biology* 2004;24:10733-41.
25. Tano K, Nakamura J, Asagoshi K, Arakawa H, Sonoda E, Braithwaite EK, et al. Interplay between DNA polymerases beta and lambda in repair of oxidation DNA damage in chicken DT40 cells. *DNA Repair (Amst)* 2007;6:869-75.
26. Yoshimura M, Kohzaki M, Nakamura J, Asagoshi K, Sonoda E, Hou E, et al. Vertebrate POLQ and POLbeta cooperate in base excision repair of oxidative DNA damage. *Molecular cell* 2006;24:115-25.
27. Kawamoto T, Araki K, Sonoda E, Yamashita YM, Harada K, Kikuchi K, et al. Dual roles for DNA polymerase eta in homologous DNA recombination and translesion DNA synthesis. *Molecular cell* 2005;20:793-9.
28. Sonoda E, Okada T, Zhao GY, Tateishi S, Araki K, Yamaizumi M, et al. Multiple roles of Rev3, the catalytic subunit of polzeta in maintaining genome stability in vertebrates. *Embo J* 2003;22:3188-97.
29. Hirota K, Sonoda E, Kawamoto T, Motegi A, Masutani C, Hanaoka F, et al. Simultaneous disruption of two DNA polymerases, Poleta and Polzeta, in Avian DT40 cells unmasks the role of Poleta in cellular response to various DNA lesions. *PLoS genetics* 2010;6.
30. Matsuzaki Y, Adachi N, Koyama H. Vertebrate cells lacking FEN-1 endonuclease are viable but hypersensitive to methylating agents and H2O2. *Nucleic Acids Res* 2002;30:3273-7.
31. Okada T, Sonoda E, Yamashita YM, Koyoshi S, Tateishi S, Yamaizumi M, et al. Involvement of vertebrate polkappa in Rad18-independent postreplication repair of UV damage. *J Biol Chem* 2002;277:48690-5.
32. Kikuchi K, Taniguchi Y, Hatanaka A, Sonoda E, Hohegger H, Adachi N, et al. Fen-1 facilitates homologous recombination by removing divergent sequences at DNA break ends. *Molecular and cellular biology* 2005;25:6948-55.
33. Kohzaki M, Hatanaka A, Sonoda E, Yamazoe M, Kikuchi K, Vu Trung N, et al. Cooperative roles of vertebrate Fbh1 and Blm DNA helicases in avoidance of crossovers during recombination initiated by replication fork collapse. *Mol Cell Biol* 2007;27:2812-20.
34. Imamura O, Fujita K, Shimamoto A, Tanabe H, Takeda S, Furuichi Y, et al. Bloom helicase is involved in DNA surveillance in early S phase in vertebrate cells. *Oncogene* 2001;20:1143-51.
35. Imamura O, Fujita K, Itoh C, Takeda S, Furuichi Y, Matsumoto T. Werner and Bloom helicases are involved in DNA repair in a complementary fashion. *Oncogene* 2002;21:954-63.
36. Nojima K, Hohegger H, Saberi A, Fukushima T, Kikuchi K, Yoshimura M, Orelli BJ, Bishop DK, Hirano S, Ohzeki M, Ishiai M, Yamamoto K, Takata M, Arakawa H, Buerstedde JM, Yamazoe M, Kawamoto T, Araki K, Takahashi JA, Hashimoto N, Takeda S, Sonoda E. Multiple repair pathways mediate tolerance to chemotherapeutic cross-linking agents in vertebrate cells. *Cancer Res.* 2005; 65:11704-11711.
37. Maede Y, Shimizu H, Fukushima T, Kogame T et al. Differential and common DNA repair pathways for topoisomerase I- and II-targeted drugs in a genetic DT40 repair cell screen panel. *Mol Cancer Ther* 2013; 13; 214–20.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение 2-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-4-(1-метил-1H-пиразол-5-ил)-8-(1H-пиразол-5-ил)-1,7-нафтиридина или его фармацевтически приемлемой соли в способе лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта, где указанный субъект или гиперпролиферативное заболевание характеризуется одним или несколькими биомаркерами, который (которые) включает(ют) одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, в котором один или несколько генов/белков представляет(ют) собой BRCA1.

2. Применение по п.1, где способ лечения гиперпролиферативного заболевания включает стадии:

а) определение присутствия одного или нескольких биомаркеров, который (которые) включает(ют) одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, в котором один или несколько генов/белков представляет(ют) собой BRCA1, в образце, полученном от субъекта;

б) введение терапевтически эффективного количества 2-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-4-(1-метил-1H-пиразол-5-ил)-8-(1H-пиразол-5-ил)-1,7-нафтиридина или его фармацевтически приемлемой соли субъекту, если один или несколько биомаркеров, определяемых на стадии (а), определены положительно.

3. Применение по п.2, где образец, полученный от субъекта, представляет собой образец *in vitro*.

4. Применение одного или нескольких биомаркеров, который (которые) включает(ют) одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, в котором один или несколько генов/белков представляет(ют) собой BRCA1, для идентификации субъекта, имеющего гиперпролиферативное заболевание, поддающееся лечению 2-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-4-(1-метил-1H-пиразол-5-ил)-8-(1H-пиразол-5-ил)-1,7-нафтиридином или его фармацевтически приемлемой солью.

5. Набор для лечения гиперпролиферативного заболевания у субъекта, содержащий 2-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-4-(1-метил-1H-пиразол-5-ил)-8-(1H-пиразол-5-ил)-1,7-нафтиридин или его фармацевтически приемлемую соль и средства для обнаружения одного или нескольких биомаркеров, который (которые) включает(ют) одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, в котором один или несколько генов/белков представляет(ют) собой BRCA1, для идентификации субъекта, имеющего гиперпролиферативное заболевание.

6. Способ идентификации субъекта, имеющего гиперпролиферативное заболевание, поддающееся лечению 2-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-4-(1-метил-1H-пиразол-5-ил)-8-(1H-пиразол-5-ил)-1,7-нафтиридином или его фармацевтически приемлемой солью, где способ включает обнаружение одного или нескольких биомаркеров, который (которые) включает(ют) одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, в котором один или несколько генов/белков представляет(ют) собой BRCA1 в образце, полученном от субъекта.

7. Способ определения, будет ли субъект, имеющий гиперпролиферативное заболевание, отвечать на лечение 2-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-4-(1-метил-1H-пиразол-5-ил)-8-(1H-пиразол-5-ил)-1,7-нафтиридином или его фармацевтически приемлемой солью, где способ включает обнаружение одного или нескольких биомаркеров, который (которые) включает(ют) одну или несколько вредных мутаций в одном или нескольких генах/белках, в котором один или несколько генов/белков представляет(ют) собой BRCA1 в образце, полученном от субъекта.

