(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202391867 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.11.28

(22) Дата подачи заявки
2022.02.01

(51) Int. Cl. ***C12Q 1/6886*** (2018.01)
A61P 35/02 (2006.01)

(54) БИОМАРКЕРЫ ДЛЯ ТЕРАПИИ ФИМЕПИНОСТАТОМ

(31) **63/145,128**
(32) **2021.02.03**
(33) **US**
(86) **PCT/US2022/014670**
(87) **WO 2022/169731 2022.08.11**

(71) Заявитель:
КЬЮРИС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Альварес Марьяно Х., Шэнь Яо (US)

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(57) Согласно настоящему изобретению предложены биомаркеры для идентификации пациентов, страдающих диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомой, которые, вероятно, чувствительны к лечению фимепиностатом. В настоящем изобретении также предложены способы лечения таких пациентов фимепиностатом.

202391867 A1

202391867 A1

БИОМАРКЕРЫ ДЛЯ ТЕРАПИИ ФИМЕПИНОСТАТОМ

РОДСТВЕННАЯ ЗАЯВКА

Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании предварительной заявки на патент США № 63/145128, поданной 3 февраля 2021 года. Полный текст вышеприведенной заявки включен в настоящий документ посредством ссылки.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома (DLBCL) и В-клеточная лимфома высокой степени злокачественности (HGBL) являются формами агрессивной В-клеточной неходжкинской лимфомы, и пациенты с диагнозом этих заболеваний по-разному реагируют на иммунохимиотерапию первой линии, а также иммунохимиотерапию спасения с последующей высокодозной химиотерапией с аутологичной трансплантацией стволовых клеток (HDC/ASCT) во второй линии. Хотя клинические исходы для пациентов с DLBCL традиционно прогнозировались по шкале Международного прогностического индекса в обоих случаях, а также по интервалу первой ремиссии для тех, кто получал иммунохимиотерапию спасения, в последнее время стало очевидным, что иммуногистохимические и молекулярные особенности этих лимфом могут служить как прогностическими, так и прогностическими биомаркерами.

MYC представляет собой протоонкоген человека, который служит фактором транскрипции, регулирующим контроль клеточной активности, в частности активацию клеточного цикла.[1, 2] В DLBCL/HGBL описанные аномалии *MYC* включают перестройку/транслокацию, увеличение числа копий/амплификацию и мутацию. Было показано, что транслокация/перестройка *MYC* предсказывает более низкую выживаемость у пациентов с впервые диагностированной DLBCL при лечении ритуксимабом, циклофосфамидом, доксорубицином, винкристином и преднизоном (R-CHOP)[3, 4] также у пациентов с R/R DLBCL после получения иммунохимиотерапии для спасения с последующей HDC/ASCT или без нее.[5] В то время как результаты для пациентов с диагнозом подгруппы HGBL с *MYC*-перестройкой/транслокацией, характеризующихся сопутствующими перестройками в *BCL2* и/или *BCL6*, известными как лимфомы с двумя транслокациями (DHL), могут быть улучшены после получения интенсивной иммунохимиотерапии первой линии,[6] долгосрочная выживаемость редко встречается в условиях рецидивирующего/рефрактерного (R/R) заболевания.[5, 7] Кроме

того, увеличение числа копий *MYC* также связано с плохим прогнозом после получения иммунохимиотерапии первой линии.[8, 9]

Независимо от аномалий *MYC*, повышенная экспрессия белка MYC путем иммуногистохимического окрашивания (ИГХ) также прогнозирует низкую выживаемость у пациентов с впервые диагностированной DLBCL при лечении R-CHOP.[8, 10] То же самое относится и к тем пациентам, у которых DLBCL демонстрирует повышенную экспрессию как белков MYC, так и BCL2, известных как двойная экспрессорная лимфома (DEL).[11-13] Также маловероятно, что пациенты с DEL достигнут длительной выживаемости после иммунохимиотерапии спасения и HDC/ASCT.[7] Интересно, что плохой прогноз пациентов с впервые диагностированной DLBCL с подтипом активированных B-клеток (ABC) по сравнению с пациентами с подтипом B-клеток зародышевого центра (GCB), которых лечат с помощью R-CHOP, может быть обусловлен высокой долей DEL в подтипе ABC, поскольку результаты выживаемости не различаются по подтипу у пациентов с DLBCL без DEL в этих клинических условиях.[13]

Приблизительно 1/3 пациентов с впервые диагностированной DLBCL/HBGL имеют «изменения MYC» в виде перестройки/транслокации *MYC* и/или экспрессии белка MYC ≥40% по ИГХ.[14] Хотя о частоте изменений MYC у пациентов с R/R DLBCL/HGBL четко не сообщалось, разумно предположить, что она, вероятно, больше, чем сообщалось в недавно диагностированных условиях, учитывая высокую вероятность неудачи лечения, как упоминалось выше. Таким образом, из-за высокой частоты изменений MYC у пациентов с диагнозом DLBCL/HGBL, а также плохих клинических исходов у этих пациентов при лечении стандартными схемами лечения, необходимы дополнительные терапевтические варианты для этих пациентов.

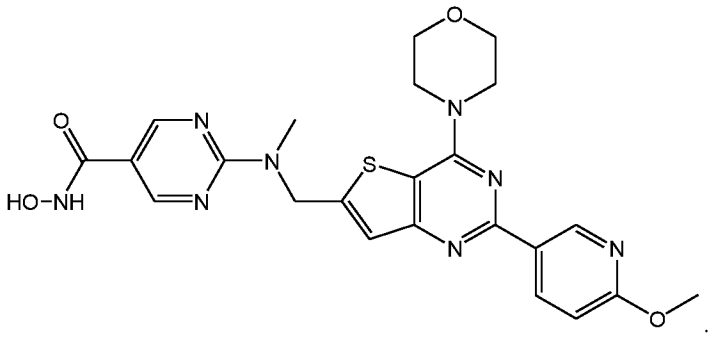
Фимепиностат (CUDC-907) является первым в своем классе пероральным низкомолекулярным ингибитором гистондезактилазы (HDAC) класса I и II, а также ферментов фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) α, β и δ. Ингибирование HDAC приводит к снижению транскрипции *MYC* и трансляции матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК) MYC, в то время как ингибирование PI3K приводит к усилению опосредованной убиквитином деградации белка MYC. Лечение фимепиностатом привело к превосходной доклинической активности ксенотрансплантатов DLBCL с изменениями MYC по сравнению с лечением монотерапией HDAC или ингибитором PI3K.[15]

Фимепиностат впервые тестировали у пациентов с R/R лимфомой или множественной миеломой в условиях фазы 1 (NCT01742988),[16] и анализ подгруппы 11 поддающихся оценке пациентов с DLBCL с заболеванием с изменением MYC, как определено центральным или местным тестированием, продемонстрировал общую частоту ответа 64% и предполагаемую продолжительность ответа 13,6 месяца.[17] Впоследствии был разработан протокол фазы 2 фимепиностата для пациентов с DLBCL, включая пациентов с изменениями MYC (NCT02674750). В настоящей заявке авторы сообщают о клинических исходах и профиле безопасности фимепиностата у пациентов с заболеванием с изменением MYC, как определено центральным тестированием, которые были включены в эти протоколы.

Существует потребность в биомаркерах и способах их применения для отбора пациентов с лимфомой, которые с наибольшей вероятностью будут отвечать на лечение фимепиностатом.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к способам определения того, будет ли субъект, страдающий диффузной В-крупноклеточной лимфомой («DLBCL»), как ожидается, реагировать на лечение фимепиностатом (отвечает на фимепиностат) или не будет реагировать на лечение фимепиностатом (не отвечает на фимепиностат). Структура фимепиностата показана ниже.



В одном варианте реализации настоящего изобретения предложен способ классификации субъекта, страдающего DLBCL, в качестве субъекта, отвечающего на лечение фимепиностатом, или субъекта, не отвечающего на лечение фимепиностатом, включающий определение множества значений активности белка у субъекта, причем каждое значение активности белка соответствует одному из набора белков у субъекта; предоставление множества значений активности белка обученному классификатору, причем обученный классификатор обучен различать субъектов, отвечающих на

лечение фимепиностатом, и субъектов, не отвечающих на лечение фимепиностатом, для терапии фимепиностатом; и получение от классификатора классификации субъекта как субъекта, отвечающего на лечение фимепиностатом, или субъекта, не отвечающего на лечение фимепиностатом.

В одном из вариантов реализации в настоящем изобретении предложен способ классификации субъекта, страдающего DLBCL, в качестве субъекта, отвечающего на лечение фимепиностатом, или субъекта, не отвечающего на лечение фимепиностатом. Способ включает определение активности одного или более маркерных белков, таких как белки мастер-регулятора, в образце опухоли от субъекта, при этом повышенная активность одного или более маркерных белков по сравнению с исходным уровнем идентифицирует субъекта как отвечающего на лечение фимепиностатом, а отсутствие повышенной активности одного или более маркерных белков по сравнению с исходным уровнем идентифицирует субъекта как не отвечающего на лечение фимепиностатом. Исходная активность маркерных белков может быть, например, определена как среднее значение по набору контрольных образцов, такому как набор контрольных образцов опухоли. Согласно определенным вариантам реализации настоящего изобретения контрольные образцы содержат 1000, 5000, 7500, 10000, 12000 или более образцов опухоли.

В одном из вариантов реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения субъекта,
страдающего DLBCL, при этом указанный субъект представляет собой субъект, отвечающий на лечение фимепиностатом. Способ включает стадию введения указанному субъекту терапевтически эффективного количества фимепиностата или его фармацевтически приемлемой соли.

В другом варианте реализации настоящего изобретения предложен способ лечения DLBCL у нуждающегося в этом субъекта, включающий стадии (1) классификации субъекта как отвечающего на лечение фимепиностатом или не отвечающего на лечение фимепиностатом и (2), если субъект является отвечающим на лечение фимепиностатом, введения указанному субъекту терапевтически эффективного количества фимепиностата или его фармацевтически приемлемой соли. Предпочтительно, в способе дополнительно предложена стадия введения указанному субъекту терапевтически эффективного количества средства для лечения DLBCL, которое не является фимепиностатом или его фармацевтически приемлемой солью,

если указанный субъект классифицирован как не отвечающий на лечение фимепиностатом.

В другом варианте реализации настоящего изобретения предложен способ лечения DLBCL у нуждающегося в этом субъекта, при этом указанный субъект представляет собой субъект, отвечающий на лечение фимепиностатом, включающий стадии, на которых (1) получают информацию, идентифицирующую указанный субъект как субъект, отвечающий на лечение фимепиностатом; и (2) вводят указанному субъекту терапевтически эффективное количество фимепиностата или его фармацевтически приемлемой соли.

В другом приведенном в качестве примера варианте реализации настоящее изобретение относится к компьютерному программному продукту для классификации субъекта, страдающего DLBCL, в качестве субъекта, отвечающего или не отвечающего на лечение фимепиностатом. Компьютерный программный продукт содержит машиночитаемый носитель данных, содержащий программные инструкции, воплощенные на нем, причем программные инструкции выполняются компьютерным процессором для выполнения способа, включающего определение множества значений активности белка у субъекта, причем каждое значение активности белка соответствует одному из набора белков у субъекта; предоставление множества значений активности белка классификатору, который обучен различать субъектов, отвечающих на лечение фимепиностатом, и субъектов, не отвечающих на лечение фимепиностатом; и получение от классификатора классификации субъекта как субъекта, отвечающего на лечение фимепиностатом, или субъекта, не отвечающего на лечение фимепиностатом.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На Фигуре 1 показан процесс отбора пациентов для клинических исследований фазы I и фазы II, описанных в разделе «Примеры».

Фигура 2(A) представляет собой график выживаемости без прогрессирования, наблюдаемый в исследованиях фазы I и фазы II, описанных в разделе «Примеры».

Фигура 2(B) представляет собой график общей выживаемости, наблюдаемой в исследованиях Фазы I и Фазы II, описанных в разделе «Примеры».

Фигура 2(C) представляет собой график продолжительности ответа, наблюдаемого в исследованиях Фазы I и Фазы II, описанных в разделе «Примеры».

Фигура 3 представляет собой график, демонстрирующий результаты анализа обогащения набора генов [GSEA] 67 белков, взаимодействующих с MYC

(вертикальные линии), в списке белков, отсортированных от наиболее до наименее дифференциально активных между пациентами, отвечающими на лечение фимепиностатом, и пациентами, не отвечающими на лечение фимепиностатом, в исследованиях Фазы I и Фазы II, описанных в разделе «Примеры».

Фигура 4(A) представляет собой тепловую карту, демонстрирующую предполагаемую активность для трех главных регуляторных (MR) белков ответа на лечение фимепиностатом, используемых биомаркерами (рядами) для всех образцов, на основе предполагаемой активности с использованием анализа белка на основе обогащенного регулона (VIPER). Клинические образцы, включенные в анализ (столбцы), были ранжированы на основе прогнозируемой вероятности ответа по NN-биомаркеру (график в виде столбцов над тепловой картой), оцененной с использованием способа исключения одного объекта (LOO-CV). Пациенты, которые ответили на лечение фимепиностатом (полный ответ (CR) и частичный ответ (PR)), и пациенты, которые не ответили на лечение фимепиностатом (прогрессирующее заболевание (PD)), показаны черным и белым цветом соответственно (строка клинической пользы). Пациенты с заболеванием с изменением MYC показаны черным цветом в ряду с изменением MYC.

Фигуры 4(B) и 4(C) представляют собой графики, показывающие результаты анализа графика зависимости чувствительности от частоты ложноположительных заключений (ROC) для LOO-CV, выполненного для всех образцов (n=22) (B) и только для MY-измененных образцов (n=13) (C). Площадь под кривой ROC (AUC) и ее 95% доверительный интервал (CI) показаны внутри каждого графика.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В настоящем изобретении предложен биомаркер, который позволяет прогнозировать ответ на лечение фимепиностатом, и способы применения этого биомаркера для классификации субъекта, страдающего DLBCL, в качестве субъекта, отвечающего на лечение фимепиностатом, или субъекта, не отвечающего на лечение фимепиностатом. В настоящем изобретении дополнительно предложены способы лечения DLBCL у субъекта, нуждающегося в этом, после классификации субъекта в качестве субъекта, отвечающего на лечение фимепиностатом.

Определение активности белка

Согласно различным вариантам реализации активность белка определяют для одного или более субъектов на основании генетических данных. Активность белка для популяции субъектов используют для идентификации белков MR, как описано выше, и для обучения классификаторов на основе наборов известных отвечающих и не отвечающих на лечение субъектов. Аналогичным образом, активность белка у отдельного субъекта используют для классификации этого субъекта как отвечающего или не отвечающего на лечение на основании вывода о вероятности ответа. В частности, для данного субъекта сконструирован вектор признаков, который содержит значения активности белка для одного или более белков.

Различные показатели активности белка подходят для применения согласно настоящему изобретению. Например, как описано ниже, VIPER обеспечивает показатели активности белков, которые экспрессируют активность для всех регуляторных белков в одном и том же масштабе, с точки зрения нормализованных баллов обогащения. Однако следует понимать, что альтернативные способы определения активности белка обеспечивают альтернативные показатели значений активности белка, например, абсолютное или относительное содержание в образце или абсолютное обогащение.

В различных вариантах реализации, описанных в настоящем документе, используется алгоритм VIPER для определения активности белка в форме нормализованных баллов обогащения для множества белков на основе заданной модели регуляции транскрипции. Алгоритм VIPER дополнительно описан в WO 2017/040311 и патенте США 10 790 040 B2, каждый из которых таким образом полностью включен в настоящую заявку посредством ссылки.

Следует понимать, что альтернативные способы определения активности белка у субъекта также применимы для практической реализации способов, описанных в настоящем документе. Примеры альтернативных алгоритмов для выведения активности белка из данных экспрессии генов включают: анализ обогащения ChIP-X (ChEA), который дополнительно описан в Keenan, A. B. et al. ChEA3: transcription factor enrichment analysis by orthogonal omics integration. Nucleic Acids Res. 47, W212–W224 (2019); TFEA.ChIP, который дополнительно описан в Puente-Santamaria, L., Wasserman, W. W. & Del Peso, L. TFEA.ChIP: a tool kit for transcription factor binding site enrichment analysis capitalizing on ChIP-seq datasets. Bioinformatics 35, 5339–5340 (2019); анализ связывания для регуляции транскрипции (BART), который дополнительно описан в Wang, Z. et al. BART: a transcription factor prediction tool with query gene sets or

epigenomic profiles. Bioinformatics 34, 2867–2869 (2018); получение когорты генов для регуляторов транскрипции, выведенные статистикой Колмогорова-Смирнова (MAGICTRICKS), которая дополнительно описана в Roopra A. MAGICTRICKS: A tool for predicting transcription factors and cofactors that drive gene lists. https://doi.org/10.1101/492744; DoRothEA, которая далее описана в Garcia-Alonso, L. et al. Transcription factor activities enhance markers of drug sensitivity in cancer. Cancer Res. 78, 769–780 (2018); и NetFactor, который дополнительно описан в Ahsen, M. E. et al. NeTFactor, a framework for identifying transcriptional regulators of gene expression-based biomarkers. Sci. Rep. 9, 12970 (2019).

Кроме того, биохимические подходы могут быть использованы для оценки количества белков, включенных в данный биомаркер, такой как иммуноокрашивание (иммунофлуоресценция или иммунохимия) образцов ткани с последующим гистологическим исследованием, проточной цитометрией, масс-цитометрией или цитометрическими массивами гранул, массивами белков с обращенной фазой, анализами IVD на основе гранул, такими как Luminex и масс-спектрометрия.

Способы классификации субъекта как отвечающего или не отвечающего на лечение фимепиностатом

Набор белков MR может быть определен различными способами, в том числе описанными в связи с примерами ниже. Например, кластерный анализ может быть выполнен с отдельным уменьшением размерности или без него, чтобы определить гетерогенность отвечающих и не отвечающих кластеров в n-мерном векторном пространстве, причем *n* соответствует количеству рассматриваемых белков. Следует понимать, что для уменьшения размерности доступны различные способы, включая неконтролируемые методы уменьшения размерности, такие как анализ главных компонентов (PCA), случайная проекция и анализ агломерации признаков. Кроме того, следует понимать, что доступны различные способы кластерного анализа, включая иерархическую кластеризацию и кластеризацию k-средних. Следует понимать, что для определения корреляции данного значения белка с классификацией в качестве отвечающего на лечение или не отвечающего на лечение доступны различные статистические способы.

В различных описанных вариантах реализации систему DarwinOncoTarget™ применяют для идентификации и ранжирования потенциальных белковых предикторов способности и не способности к ответу на лечение. В Таблице 1 представлен список 10 лучших белков, демонстрирующих дифференциальную активность между

отвечающими и не отвечающими на лечение пациентами, отсортированных по p-величине с поправкой на частоту ложных открытий (FDR). Первые три из этого списка обеспечивают пример биомаркера, описанный в настоящей заявке.

В различных вариантах реализации подмножество белков выбрано путем выполнения процесса перекрестной валидации, такого как способа исключения одного объекта. Согласно таким вариантам реализации модель обучают на всех данных, за исключением одной точки, и делают прогноз для этой точки. Следует понимать, что перекрестная валидация может быть использована для оптимизации отбора белков и/или количества белков. Кроме того, повторное применение перекрестной валидации может быть использовано с несколькими моделями для выбора оптимальной пары модели и белков. Соответственно, следует понимать, что для обучения классификатора, как указано в настоящем документе, может быть выбрано переменное количество белков. В частности, в различных вариантах реализации изобретения любое подмножество белков MR, представленных в Таблице 1, может быть использовано для обучения одного или более классификаторов. Следует понимать, что, хотя уменьшение количества MR-белков, используемых для обучения данного классификатора, может иметь вычислительные преимущества, классификатор может быть обучен со всеми или некоторыми потенциальными белками, в то же время с получением обученного классификатора, подходящего для идентификации отвечающих и не отвечающих на лечение субъектов. В частности, хотя включение дополнительных белков с низкой ценностью может увеличить время обучения, данный классификатор будет снижать значение белков с низкой ценностью, подчеркивая при этом белки с высокой ценностью в процессе обучения. В некоторых вариантах реализации выбрано заданное количество белков, обладающих самой высокой дифференциальной активностью между отвечающими и не отвечающими на лечение субъектами.

Набор для обучения, включающий отвечающих и не отвечающих на лечение субъектов, определяют путем секвенирования РНК множества субъектов. Нормализованные баллы обогащения (NES) определяют для множества белков в наборе для обучения. В некоторых вариантах реализации изобретения нормализованные баллы обогащения определяют путем применения VIPER.

Во время фазы обучения согласно различным вариантам реализации баллы активности белка для отвечающих и не отвечающих на лечение субъектов определяют, как указано выше. Вектор признаков строится для каждого из отвечающих и не

отвечающих на лечение субъектов и предоставляется классификатору. Согласно некоторым вариантам реализации классификатор содержит SVM. Согласно некоторым вариантам реализации классификатор содержит искусственную нейронную сеть. Согласно некоторым вариантам реализации классификатор содержит случайный лес принятия решений. Следует понимать, что множество других классификаторов подходят для применения согласно настоящему изобретению, включая линейные классификаторы, машины опорных векторов (SVM), линейный дискриминантный анализ (LDA), логистическую регрессию, случайный лес, методы регрессии Риджа, или нейронные сети, такие как рекуррентные нейронные сети (RNN). Кроме того, следует понимать, что также может быть использована ансамблевая модель, содержащая любую комбинацию вышеперечисленного.

Подходящие искусственные нейронные сети включают, но не ограничиваются ими, нейронную сеть прямого распространения, сеть на основе радиальных базисных функций, самоорганизующуюся карту, квантование вектора обучения, рекуррентную нейронную сеть, сеть Хопфилда, машину Больцмана, сеть эхо-состояний, сеть с долговременной и кратковременной памятью, двунаправленную рекуррентную нейронную сеть, иерархическую рекуррентную нейронную сеть, стохастическую нейронную сеть, модульную нейронную сеть, ассоциативную нейронную сеть, глубокую нейронную сеть, глубокую сеть доверия, сверточные нейронные сети, сверточную глубокую сеть доверия, большую нейронную сеть хранения и поиска памяти, глубокую машину Больцмана, глубоко укладывающуюся сеть (deep stacking network), тензорную глубоко укладывающуюся сеть (tensor deep stacking network), ограниченную «spike and slab» машину Больцмана, сложную иерархическую глубокую модель, сеть глубокого кодирования, многослойную машину с ядерной организацией или глубокую Q-сеть.

На основе набора для обучения классификатор обучают оценивать вероятность того, что субъект будет отвечать на лечение, в виде числа от 0 до 1, что может быть использовано для классификации такого субъекта как отвечающего или не отвечающего на лечение.

В фазе классификации в соответствии с различными вариантами реализации определяют белковую активность данного субъекта. Значения активности белка представлены в качестве вектора признаков в обученном классификаторе, который обеспечивает в качестве выходных данных расчетную вероятность того, что субъект будет отвечать на лечение.

У пациентов с DLBCL, получавших фимепиностат, проводили поиск биомаркера, прогнозирующего ответ на лечение фимепиностатом, с использованием алгоритма VIPER, как обсуждалось выше. Анализ VIPER проводили на биопсиях опухолей до лечения у 11 пациентов, отвечающих на лечение фимепиностатом, и 11 пациентов, не отвечающих на лечение фимепиностатом, из клинических исследований Фазы I и Фазы II, описанных в разделе «Примеры». Для этого анализа субъекты, которые достигли частичного ответа (ЧО) или полного ответа (ПО) на лечение фимепиностатом, считались отвечающими на лечение, в то время как субъекты с прогрессирующим заболеванием (ПЗ) считались не отвечающими на лечение.

Лучшие 10 белков, демонстрирующих дифференциальную активность между отвечающими и не отвечающими на лечение фимепиностатом, приведены в Таблице 1 ниже и отсортированы по p-величине с поправкой на частоту ложных открытий (FDR).

EntrezID	Обозначение гена	FDR	Описание
57326	PBXIP1	1,07E-18	белок 1, взаимодействующий с гомеобоксом пре-B-клеточного лейкоза
2113	ETS1	9,02E-11	гомолог 1 онкогена v-ets вируса эритробластоза E26 (птичий)
27329	ANGPTL3	2,49E-06	ангиопоэтин-подобный 3
8089	YEATS4	1,25E-05	Содержащий YEATS домен 4
3603	IL16	3,66E-05	интерлейкин 16 (лимфоцитарный хемоаттрактантный фактор)
89846	FGD3	3,66E-05	Содержащий домен FYVE, RhoGEF и PH 3
55729	ATF7IP	7,67E-05	белок, взаимодействующий с активирующим фактором транскрипции 7
9319	TRIP13	7,80E-05	взаимодействующий с рецептором гормона щитовидной железы 13
8535	CBX4	7,80E-05	гомолог хромобокса 4
951	CD37	7,80E-05	Молекула CD37

В некоторых вариантах реализации субъект классифицируют или идентифицируют как субъект, отвечающий на лечение фимепиностатом, или субъект, не отвечающий на лечение фимепиностатом, путем определения активности белка любого из белков, приведенных в Таблице 1, или комбинации двух или более из них.

Предпочтительно, субъект классифицируют или идентифицируют как отвечающий на лечение фимепиностатом или не отвечающий на лечение фимепиностатом путем определения белковой активности комбинации трех или более белков в Таблице 1.

Согласно предпочтительным вариантам реализации один или более белков, активность которых применяют для классификации субъекта как субъекта, отвечающего на лечение фимепиностатом, или субъекта, не отвечающего на лечение фимепиностатом, в способах согласно настоящему изобретению представляют собой один, два или три из следующих белков MR:

PBXIP1 человека, белок 1, взаимодействующий с фактором транскрипции пре-B-клеточного лейкоза, описан, например, как UniProtKB: Q96AQ6 по URL-адресу https://www.uniprot.org/uniprot/Q96AQ6.

ETS1 человека, белок C-ets-1, описан, например, как UniProtKB P14921 по URL-адресу https://www.uniprot.org/uniprot/P14921.

ANGPTL3 человека, белок 3, родственный ангиопоэтину, описан, например, как UniProtKB Q9Y5C1 по URL https://www.uniprot. org/uniprot/Q9Y5C1.

В предпочтительных вариантах реализации субъект классифицируют или идентифицируют как отвечающий на лечение фимепиностатом или не отвечающий на лечение фимепиностатом путем определения активности всех трех белков PBXIP1, ETS1 и AGPTL3, которые были определены как дифференциально активные у отвечающих на лечение по сравнению с не отвечающими на лечение, и были идентифицированы как основные регуляторы чувствительности к фимепиностату. В исследовании, описанном в настоящем документе, эти три белка обеспечивали оптимальную прогностическую эффективность на основе перекрестной валидации по принципу исключения одного объекта (площадь под кривой графика зависимости чувствительности от частоты ложноположительных заключений). Классификатор 3 белков правильно идентифицировал 11 отвечающих на лечение (82%) и неправильно классифицировал 2 из 11 не отвечающих на лечение (18%).

Классификация субъекта может быть реализована с использованием подходящей компьютерной программы для идентификации отвечающих на лечение фимепиностатом и не отвечающих на лечение фимепиностатом субъектов. Компьютерная программа предпочтительно реализована на машиночитаемом носителе данных и содержит программные инструкции, которые выполняются процессором для

выполнения способа, включающего определение множества значений активности белка у субъекта, страдающего DLBCL, причем каждое значение активности белка соответствует одному или более из белков PBXIP1, ETS1 и AGPTL3; предоставление множества значений активности белка обученному классификатору, причем обученный классификатор обучают различать отвечающих на лечение фимепиностатом и не отвечающих на лечение фимепиностатом субъектов; и получение от классификатора классификации субъекта как субъекта, отвечающего на лечение фимепиностатом, или субъекта, не отвечающего на лечение фимепиностатом.

Способы лечения DLBCL

В одном из вариантов реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения пациента, страдающего DLBCL, включающий определение значений активности белка одного или более из PBXIP1, ETS1 и AGPTL3 в биопсии опухолевой ткани у субъекта; классификацию субъекта как отвечающего или не отвечающего на лечение фимепиностатом; и, если субъект классифицирован как отвечающий на лечение фимепиностатом, введение субъекту терапевтически эффективного количества фимепиностата или его фармацевтически приемлемой соли.

В другом варианте реализации настоящее изобретение относится к способу лечения субъекта, страдающего DLBCL, включающему введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества фимепиностата или его фармацевтически приемлемой соли, где указанный субъект является субъектом, отвечающим на лечение фимепиностатом.

В другом варианте реализации настоящее изобретение относится к способу лечения субъекта, страдающего DLBCL, где субъект классифицирован как субъект, отвечающий на лечение фимепиностатом, включающему введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества фимепиностата или его фармацевтически приемлемой соли.

В другом варианте реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения субъекта, страдающего DLBCL, включающий получение информации о значениях активности белка одного или более из PBXIP1, ETS1 и AGPTL3; и введение субъекту терапевтически эффективного количества фимепиностата или его фармацевтически приемлемой соли. Предпочтительно, субъекта лечат только фимепиностатом или его фармацевтически приемлемой солью, только если установлено, что субъект отвечает на лечение фимепиностатом.

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению субъект страдает рецидивирующей/рефрактерной (R/R) DLBCL. В некоторых вариантах реализации субъект страдает R/R DLBCL и прошел по меньшей мере одну или две предшествующие терапии до лечения фимепиностатом. В некоторых вариантах реализации изобретения субъект страдает R/R DLBCL и прошел 1, 2, 3 или 4 предшествующие терапии до лечения фимепиностатом.

Согласно определенным вариантам реализации настоящего изобретения DLBCL относится к подтипу ABC или подтипу GCB. В некоторых вариантах реализации рак представляет собой рецидивирующую или рефрактерную DLBCL.

В некоторых вариантах реализации способов согласно изобретению DLBCL представляет собой DLBCL с изменением MYC. Согласно определенным вариантам реализации настоящего изобретения DLBCL представляет собой DLBCL с двумя транслокациями или с двойной экспрессией (Quintanilla-Martinez, L., *Hematol. Oncol.* 2015, **33**:50-55).

В способах лечения согласно настоящему изобретению фимепиностат вводят в виде свободного основания или в форме фармацевтически приемлемой соли. Предпочтительно фимепиностат вводят в форме фармацевтически приемлемой соли.

Комбинированная терапия

Согласно определенным вариантам реализации способов лечения согласно настоящему изобретению указанный фимепиностат или его фармацевтически приемлемая соль могут быть введены в комбинации с одним или более отдельными агентами, которые модулируют протеинкиназы, участвующие в различных болезненных состояниях. Примеры таких киназ могут включать, но не ограничиваются перечисленными: серин/треонин-специфические киназы, рецепторные тирозин-специфические киназы и нерецепторные тирозин-специфические киназы. Серин/треонинкиназы включают митоген-активированные протеинкиназы (MAPK), мейоз-специфическую киназу (MEK), RAF и aurora-киназу. Примеры семейств рецепторных киназ включают рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) (например, HER2/neu, HER3, HER4, ErbB, ErbB2, ErbB3, ErbB4, Xmrk, DER, Let23); рецептор фактора роста фибробластов (FGF) (например, FGF-R1,GFF-R2/BEK/CEK3, FGF-R3/CEK2, FGF-R4/TKF, KGF-R); рецептор фактора роста/рассеяния гепатоцитов (HGFR) (например, MET, RON, SEA, SEX); рецептор инсулина (например, IGFI-R); Eph (например, CEK5, CEK8, EBK, ECK, EEK, EHK-1, EHK-2, ELK, EPH, ERK, HEK,

MDK2, MDK5, SEK); Axl (например, Mer/Nyk, Rse); RET; и рецептор фактора роста тромбоцитов (PDGFR) (например, PDGFα-R, PDGβ-R, CSF1-R/FMS, SCF-R/C-KIT, VEGF-R/FLT, NEK/FLK1, FLT3/FLK2/STK-1). Семейства нерецепторных тирозинкиназ включают, но не ограничиваются ими, BCR-ABL (например, p43 [abl], ARG); BTK (например, ITK/EMT, TEC); CSK, FAK, FPS, JAK, SRC, BMX, FER, CDK и SYK.

В другом аспекте настоящего изобретения фимепиностат или его фармацевтически приемлемая соль могут быть введены в комбинации с одним или более отдельными агентами, которые модулируют некиназные биологические мишени или процессы. Такие мишени включают гистондеацетилазы (HDAC), ДНК-метилтрансферазу (DNMT), белки теплового шока (например, HSP90), белки, связанные с сигнальным путем hedgehog (например, sonic hedgehog, patched, smoothened) и протеосомы.

Согласно определенным вариантам реализации фимепиностат или его фармацевтически приемлемая соль могут быть объединены с ингибитором BCL2, таким как венетоклакс. В этом варианте реализации изобретения DLBCL предпочтительно представляет собой DLBCL с изменением MYC, DLBCL с двумя транслокациями или DLBCL с двойной экспрессией.

Согласно определенным вариантам реализации фимепиностат или его фармацевтически приемлемая соль могут быть объединены с противоопухолевыми агентами (например, малыми молекулами, моноклональными антителами, антисмысловой РНК и слитыми белками), которые ингибируют одну или более биологических мишеней, такими как Zolinza, Tarceva, Iressa, Tykerb, Gleevec, Sutent, Sprycel, Nexavar, Sorafinib, CNF2024, RG108, BMS387032, Affinitak, Avastin, Herceptin, Erbitux, AG24322, PD325901, ZD6474, PD184322, Obatodax, ABT737, GDC-0449, IPI-926, BMS833923, LDE225, PF-04449913 и AEE788. Такие комбинации могут повышать терапевтическую эффективность по сравнению с эффективностью, достигаемой любым из агентов отдельно, и могут предотвращать или задерживать появление устойчивых мутационных вариантов.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации фимепиностат или его фармацевтически приемлемую соль вводят в комбинации с химиотерапевтическим агентом. Химиотерапевтические агенты охватывают широкий спектр терапевтических методов лечения в области онкологии. Указанные агенты вводят на различных стадиях заболевания с целью уменьшения размеров опухолей, уничтожения оставшихся после

операции раковых клеток, индуцирования ремиссии, поддержания ремиссии и/или облегчения симптомов, связанных с раком или его лечением. Примеры таких агентов включают, не ограничиваясь перечисленным, алкилирующие агенты, такие как производные иприта (мехлоретамин, циклофосфамид, хлорамбуцил, мелфалан, ифосфамид), этиленимины (тиотепа, гексаметилмеланин), алкилсульфонаты (бусульфан), гидразины и триазины (альтретамин, прокарбазин, дакарбазин и темозоломид), нитрозомочевины (кармустин, ломустин и стрептозоцин), ифосфамид и соли металлов (карбоплатин, цисплатин и оксалиплатин); растительные алкалоиды, такие как подофиллотоксины (этопозид и тенизопид), таксаны (паклитаксел и доцетаксел), алкалоиды барвинка (винкристин, винбластин, виндезин и винорелбин) и аналоги камптотеканов (иринотекан и топотекан); противоопухолевые антибиотики, такие как хромомицины (дактиномицин и пликамицин), антрациклины (доксорубицин, даунорубицин, эпирубицин, митоксантрон, вальрубицин и идарубицин), и различные антибиотики, такие как митомицин, актиномицин и блеомицин; антиметаболиты, такие как антагонисты фолиевой кислоты (метотрексат, пеметрексед, ралтитрексед, аминоптерин), антагонисты пиримидина (5-фторурацил, флоксуридин, цитарабин, капецитабин и гемцитабин), антагонисты пурина (6-меркаптопурин и 6-тиогуанин) и ингибиторы аденозиндезаминазы (кладрибин, флударабин, меркаптопурин, клофарабин, тиогуанин, неларабин и пентостатин); ингибиторы топоизомеразы, такие как ингибиторы топоизомеразы I (иронотекан, топотекан) и ингибиторы топоизомеразы II (амсакрин, этопозид, этопозида фосфат, тенипозид); моноклональные антитела (алемтузумаб, гемтузумаб озогамицин, ритуксимаб, трастузумаб, ибритумомаб тиоксетан, цетуксимаб, панитумумаб, тозитумомаб, бевацизумаб); и различные противоопухолевые препараты, такие как ингибиторы рибонуклеотидредуктазы (гидроксимочевина); ингибитор адренокортикальных стероидов (митотан); ферменты (аспарагиназа и пегаспарагаза); агенты, оказывающие воздействие на микротрубочки (эстрамустин); ретиноиды (бексаротен, изотретиноин, третиноин (ATRA) и леналидомид).

В некоторых предпочтительных вариантах реализации фимепиностат или его фармацевтически приемлемую соль вводят в комбинации с химиопротекторным агентом. Химиопротекторные агенты действуют для защиты организма или минимизации побочных эффектов химиотерапии. Примеры таких агентов включают, но не ограничиваются перечисленными, амфостин, месна и дексразоксан.

В одном аспекте изобретения фимепиностат или его фармацевтически приемлемую соль вводят в комбинации с лучевой терапией. Излучение обычно доставляется внутрь (имплантация радиоактивного материала вблизи расположения рака) или снаружи, относительно машины, которая использует фотонное (рентгеновское или гамма-излучение) или частичное излучение. Если комбинированная терапия дополнительно включает лучевую терапию, лучевую терапию можно проводить в любое подходящее время до тех пор, пока не будет достигнут благоприятный эффект от совместного действия комбинации терапевтических агентов и лучевой терапии. Например, в соответствующих случаях благоприятный эффект все еще достигается, когда лучевую терапию временно исключают из плана введения терапевтических агентов, возможно, на несколько дней или даже недель.

Следует понимать, что фимепиностат или его фармацевтически приемлемая соль могут быть использованы в комбинации с иммунотерапевтическим агентом. Одна из форм иммунотерапии представляет собой создание активного системного опухолеспецифического иммунного ответа хозяина путем введения вакцинной композиции в участок, удаленный от опухоли. Были предложены различные типы вакцин, включая изолированные противоопухолевые вакцины и антиидиотипические вакцины. Другой подход заключается в использовании опухолевых клеток субъекта, подлежащего лечению, или производного таких клеток (обзор Schirrmacher *et al.*, (1995) *J. Cancer Res. Clin. Oncol. 12* 1:487). В патенте США № 5484596, Hanna Jr., *et al.* заявлен способ лечения операбельной карциномы для предотвращения рецидива или метастазов, включающий хирургическое удаление опухоли, диспергирование клеток коллагеназой, облучение клеток и вакцинацию пациента по меньшей мере тремя последовательными дозами, составляющими примерно 10^7 клеток.

Фармацевтические композиции

В предпочтительных вариантах реализации фимепиностат или его фармацевтически приемлемую соль вводят субъекту в фармацевтической композиции. Фармацевтическая композиция содержит терапевтически эффективное количество фимепиностата или его фармацевтически приемлемой соли, составленных вместе с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями или вспомогательными веществами.

Предпочтительно фармацевтически приемлемый носитель или вспомогательное вещество представляет собой нетоксичный, инертный твердый, полутвердый или жидкий наполнитель, разбавитель, инкапсулирующий материал или вспомогательный состав любого типа. Некоторые примеры материалов, которые могут служить в качестве фармацевтически приемлемых носителей, представляют собой сахара, такие как лактоза, глюкоза и сахароза; циклодекстрины, такие как альфа- (α), бета- (β) и гамма- (γ) циклодекстрины; крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; целлюлозу и ее производные, такие как карбоксиметилцеллюлоза натрия, этилцеллюлоза и ацетат целлюлозы; порошкообразную трагакантовую камедь; солод; желатин; тальк; вспомогательные вещества, такие как масло какао и воски для изготовления суппозиториев; масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; гликоли, такие как пропиленгликоль; сложные эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат; агар; буферные агенты, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия; альгиновую кислоту; апирогенную воду; изотонический физиологический раствор; раствор Рингера; этиловый спирт и фосфатные буферные растворы, а также другие нетоксичные совместимые смазывающие материалы, такие как лаурилсульфат натрия и стеарат магния, а также красители, высвобождающие агенты, покрывающие агенты, подсластители, ароматизаторы и отдушки, консерванты и антиоксиданты, также могут присутствовать в композиции, согласно заключению составителя.

Фармацевтическую композицию можно вводить перорально, парентерально, при помощи ингаляционного спрея, местно, ректально, назально, буккально, вагинально или при помощи имплантированного резервуара, предпочтительно при пероральном введении или введении при помощи инъекции. Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению могут содержать любые обычные нетоксичные фармацевтически приемлемые носители, адъюванты или среды. В некоторых случаях pH состава можно регулировать с помощью фармацевтически приемлемых кислот, оснований или буферов для повышения стабильности составленного соединения или его формы доставки. Термин «парентеральный» в настоящем документе включает подкожную, внутрикожную, внутривенную, внутримышечную, внутрисуставную, внутриартериальную, интрасиновиальную, интрастернальную, интратекальную, внутриочаговую и внутричерепную инъекцию или инфузию.

Жидкие лекарственные формы для перорального введения представляют собой фармацевтически приемлемые эмульсии, микроэмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. В дополнение к фимепиностату или его фармацевтически приемлемой соли, жидкие лекарственные формы могут содержать инертные разбавители, обычно применяемые в данной области техники, такие как, например, вода или другие растворители, солюбилизирующие агенты и эмульгаторы, такие как этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, диметилформамид, масла (в частности, хлопковое, арахисовое, кукурузное, зародышевое, оливковое, касторовое и кунжутное масла), глицерин, тетрагидрофурфуриловый спирт, полиэтиленгликоли и сложные эфиры сорбитана и жирных кислот и их смеси. Кроме инертных разбавителей, указанные композиции для перорального приема могут также содержать адъюванты, такие как смачивающие агенты, эмульгаторы и суспендирующие агенты, подсластители, вкусовые и ароматизирующие агенты.

Составы для инъекций, например, стерильные водные или масляные суспензии для инъекций можно приготовить в соответствии с известным уровнем техники с использованием подходящих диспергирующих или смачивающих агентов и суспендирующих агентов. Стерильный состав для инъекций может также представлять собой стерильный инъекционный раствор, суспензию или эмульсию в нетоксичном парентерально приемлемом разбавителе или растворителе, например, в виде раствора в 1,3-бутандиоле. Среди приемлемых носителей и растворителей, которые можно использовать, можно указать воду, раствор Рингера, удовлетворяющий требованиям или превышающий требования по чистоте, установленные Фармакопеей США, и изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, стерильные нелетучие масла традиционно могут быть использованы в качестве растворителя или суспендирующей среды. С этой целью можно применять любое мягкое нелетучее масло, в том числе синтетические моно- или диглицериды. Кроме того, для приготовления инъекционных препаратов применяют жирные кислоты, такие как олеиновая кислота.

Инъекционные составы можно стерилизовать, например, путем фильтрования через фильтр, задерживающий бактерии, или путем введения стерилизующих агентов в форме стерильных твердых композиций, которые можно растворять или диспергировать в стерильной воде или другой стерильной инъекционной среде перед применением.

Для продления действия лекарственного средства часто бывает желательным замедлить всасывание лекарственного средства при подкожной или внутримышечной инъекции. Это можно обеспечить путем использования жидкой суспензии кристаллического или аморфного материала с малой растворимостью в воде. Скорость всасывания лекарственного средства, таким образом, зависит от скорости его растворения, которая, в свою очередь, может зависеть от размера кристалла и кристаллической формы. В качестве альтернативы, отсроченное всасывание вводимой парентерально формы лекарственного средства обеспечивают путем растворения или суспендирования лекарственного средства в масляной среде. Инъекционные депо-формы получают путем формирования микрокапсульных матриц лекарственного средства в биоразлагаемых полимерах, таких как полилактид-полигликолид. В зависимости от соотношения количеств лекарственного средства и полимера и природы конкретного используемого полимера можно контролировать скорость высвобождения лекарственного средства. Примеры других биоразлагаемых полимеров включают поли(ортоэфиры) и поли(ангидриды). Инъекционные депо-составы также получают путем заключения лекарственного средства в липосомы или микроэмульсии, которые являются совместимыми с тканями организма.

Композиции для ректального или вагинального введения предпочтительно представляют собой суппозитории, которые могут быть получены путем смешивания фимепиностата или его фармацевтически приемлемой соли с подходящими нераздражающими вспомогательными веществами или носителями, такими как масло какао, полиэтиленгликоль или воск для суппозиториев, которые являются твердыми при температуре окружающей среды, но жидкими при температуре тела и, следовательно, размягчаются в прямой кишке или полости влагалища с высвобождением активного соединения.

Предпочтительные фармацевтические композиции включают твердые лекарственные формы для перорального введения, такие как капсулы, таблетки, пилюли, порошки и гранулы. В таких твердых лекарственных формах активное соединение смешано с по меньшей мере одним инертным, фармацевтически приемлемым наполнителем или носителем, таким как цитрат натрия или дикальцийфосфат и/или: a) наполнителями или сухими разбавителями, такими как крахмалы, лактоза, сахароза, глюкоза, маннит и кремниевая кислота; b) связующими агентами, такими как, например, карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидон, сахароза и гуммиарабик; c) увлажнителями, такими как

глицерин; d) дезинтегрирующими агентами, такими как агар-агар, карбонат кальция, картофельный крахмал или крахмал из тапиоки, альгиновая кислота, некоторые силикаты и карбонат натрия; e) замедляющими растворение агентами, такими как парафин; f) ускорителями абсорбции, такими как четвертичные аммониевые соединения; g) смачивающими агентами, такими как, например, цетиловый спирт и моностеарат глицерина; h) абсорбентами, такими как каолин и бентонитовая глина; и i) смазывающими агентами, такими как тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердыми полиэтиленгликолями, лаурилсульфатом натрия и их смесями. В случае капсул, таблеток и пилюль лекарственная форма также может содержать буферные агенты.

Твердые композиции аналогичного типа также могут применяться в качестве наполнителей в мягких и твердых желатиновых капсулах с использованием таких наполнителей как лактоза или молочный сахар, а также высокомолекулярные полиэтиленгликоли и тому подобное.

Твердые лекарственные формы таблеток, драже, капсул, пилюль и гранул могут быть получены с покрытиями и оболочками, такими как энтеросолюбильные покрытия и другие покрытия, хорошо известные в области получения фармацевтических составов. Они могут необязательно содержать матирующие агенты и также могут иметь такой состав, что они высвобождают исключительно или предпочтительно активный ингредиент(ы) в определенной части кишечного тракта, необязательно, с отсрочкой. Примеры заключающих композиций, которые могут применяться, включают полимерные вещества и воски.

Лекарственные формы для местного или трансдермального введения фимепиностата или его фармацевтически приемлемой соли включают мази, пасты, кремы, лосьоны, гели, порошки, растворы, спреи, ингалянты или пластыри. Активный компонент смешивают в стерильных условиях с фармацевтически приемлемым носителем и любыми необходимыми консервантами или буферами, которые могут потребоваться. Состав для внутриглазного введения, ушные капли, глазные мази, порошки и растворы также рассматриваются как входящие в объем настоящего изобретения.

Мази, пасты, кремы и гели могут содержать, помимо фимепиностата или его фармацевтически приемлемой соли, вспомогательные вещества, такие как животные и растительные жиры, масла, воски, парафины, крахмал, трагакантовую камедь, производные целлюлозы, полиэтиленгликоли, силиконы, бентониты, кремниевую кислоту, тальк и оксид цинка или их смеси.

Порошки и спреи могут содержать, помимо фимепиностата или его фармацевтически приемлемой соли, вспомогательные вещества, такие как лактоза, тальк, кремниевая кислота, гидроксид алюминия, силикаты кальция и полиамидный порошок, или смеси этих веществ. Спреи могут дополнительно содержать обычные пропелленты, такие как хлорфторуглеводороды.

Трансдермальные пластыри имеют дополнительное преимущество обеспечения регулируемой доставки соединения в организм. Такие лекарственные формы могут быть получены путем растворения или диспергирования соединения в подходящей среде. Усилители всасывания также могут применяться для увеличения скорости потока соединения через кожу. Скорость можно контролировать либо путем применения регулирующей скорость мембраны, либо за счет диспергирования соединения в полимерной матрице или геле.

Для доставки в легкие терапевтическую композицию согласно настоящему изобретению готовят и вводят пациенту в твердой или жидкой форме в виде частиц путем прямого введения (например, ингаляции в дыхательную систему). Твердые или жидкие твердые частицы активного соединения, полученные для реализации настоящего изобретения, включают частицы вдыхаемого размера, то есть частицы достаточно малого размера, чтобы проходить через рот и гортань при вдыхании и в бронхи и альвеолы легких. Доставка аэрозольных терапевтических средств, в частности, аэрозольных антибиотиков, известна в данной области техники (см., например, патент США № 5767068 VanDevanter *et al.*, патент США № 5508269, Smith *et al.,* и WO 98/43650 от Montgomery, все из которых включены в настоящий документ посредством ссылки).

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению фимепиностат или его фармацевтически приемлемую соль вводят перорально. Фармацевтические композиции, подходящие для перорального введения, включают твердые формы, такие как пилюли, таблетки, каплеты, капсулы (каждая из которых включает составы с немедленным высвобождением, с отсроченным высвобождением и с замедленным высвобождением), гранулы и порошки; и жидкие формы, такие как растворы, сиропы, эликсиры, эмульсии и суспензии. В некоторых вариантах реализации фармацевтическая композиция представляет собой таблетку или капсулу, содержащую примерно 30 мг (эквивалент свободного основания) фимепиностата. В некоторых вариантах реализации фимепиностат присутствует в таблетке или капсуле в форме бензолсульфонатной соли или метансульфонатной соли.

Определения

Используемый в настоящем документе термин «субъект» представляет собой человека (т.е. мужчину или женщину любой возрастной группы, например, субъекта-ребенка (например, младенца, ребенка, подростка) или взрослого субъекта (например, молодого взрослого, взрослого среднего возраста или пожилого человека)). Предпочтительно субъект представляет собой взрослого человека.

Термин «лечение» при использовании в настоящем документе означает уменьшение, подавление, ослабление, снижение, остановку или стабилизацию развития или прогрессирования заболевания (например, заболевания или расстройства, описанного в настоящем документе), уменьшение тяжести заболевания или улучшение симптомов, связанных с заболеванием.

«Терапевтически эффективное количество фимепиностата» в настоящей заявке относится к количеству, достаточному для достижения желаемого терапевтического эффекта. Например, терапевтически эффективное количество может представлять собой количество, достаточное для улучшения по меньшей мере одного признака или симптома заболеваний или состояний, описанных в настоящем документе. В конкретном варианте реализации терапевтически эффективное количество фимепиностата составляет от примерно 10 мг до примерно 200 мг. В дополнительном конкретном варианте реализации терапевтически эффективное количество фимепиностата составляет 60 мг в сутки. В конкретном режиме дозирования фимепиностат вводят субъекту в дозе 60 мг в день в дни с 1 по 5 каждую неделю лечения, и фимепиностат не вводят в дни 6 и 7. Фимепиностат предпочтительно вводят в однократной суточной дозе 60 мг. Фимепиностат предпочтительно вводят перорально. Фимепиностат имеет как кислотные, так и основные функциональные группы и, следовательно, может образовывать соли как с фармацевтически приемлемыми кислотами, так и с фармацевтически приемлемыми катионами. Когда фимепиностат вводят в форме фармацевтически приемлемой соли, количества фимепиностата, описанные в настоящем документе, относятся к эквивалентному количеству неионизированного (свободное основание/кислота) фимепиностата.

Используемый в настоящей заявке термин "фармацевтически приемлемая соль" относится к солям, подходящим с медицинской точки зрения для применения в контакте с тканями людей и животных, не обладающим чрезмерной токсичностью, не вызывающим раздражения, аллергической реакции и тому подобного, и обладающим

разумным коэффициентом риска. Фармацевтически приемлемые соли хорошо известны в данной области техники. Например, S.M. Berge *et al*. подробно описывают фармацевтически приемлемые соли в J. Pharmaceutical *Sciences*, 66: 1-19 (1977). Соли могут быть получены *in situ* во время окончательного выделения и очистки соединений согласно настоящему изобретению или отдельно путем взаимодействия свободного основания с подходящей органической кислотой или неорганической кислотой. Примеры фармацевтически приемлемых и нетоксичных кислотно-аддитивных солей включают, но не ограничиваются ими, соли аминогруппы, образующиеся путем присоединения неорганических кислот, таких как хлористоводородная кислота, бромистоводородная кислота, фосфорная кислота, серная кислота и хлорная кислота, или органических кислот, таких как уксусная кислота, малеиновая кислота, винная кислота, лимонная кислота, янтарная кислота, лактобионовая кислота или малоновая кислота, или другими способами, применяемыми в данной области техники, такими как, например, ионный обмен. Другие фармацевтически приемлемые соли включают, но не ограничиваются ими, адипаты, альгинаты, аскорбаты, аспартаты, бензолсульфонаты, бензоаты, бисульфаты, бораты, бутираты, камфораты, камфорсульфонаты, цитраты, циклопентанпропионаты, диглюконаты, додецилсульфаты, этансульфонаты, формиаты, фумараты, глюкогептонаты, глицерофосфаты, глюконаты, гемисульфаты, гептаноаты, гексаноаты, гидроиодиды, 2-гидроксиэтансульфонаты, лактобионаты, лактаты, лаураты, лаурилсульфаты, малаты, малеаты, малонаты, метансульфонаты, 2-нафталинсульфонаты, никотинаты, нитраты, олеаты, оксалаты, пальмитаты, памоаты, пектинаты, персульфаты, 3-фенилпропионаты, фосфаты, пикраты, пивалаты, пропионаты, стеараты, сукцинаты, сульфаты, тартраты, тиоцианаты, *n*-толуолсульфонаты, ундеканоаты, валераты и другие подобные им соли. Типичные соли щелочных или щелочноземельных металлов включают соли натрия, лития, калия, кальция, магния и тому подобное. Другие фармацевтически приемлемые соли по мере целесообразности могут содержать нетоксичные катионы аммония, четвертичного аммония и аминов, и быть образованы с применением противоионов (анионов), таких как галогенид, гидроксид, карбоксилат, сульфат, фосфат, нитрат, алкилсульфонат, содержащий от 1 до 6 атомов углерода, сульфонат и арилсульфонат. Предпочтительные фармацевтически приемлемые соли фимепиностата включают натриевую соль, калиевую соль, сульфатную соль, метансульфонатную соль и бензолсульфонатную соль. Особенно предпочтительной солью фимепиностата является метансульфонатная соль.

Термины «главный регуляторный белок(и)», «главный регулятор(ы)» и «белок(и) MR» в настоящем документе являются взаимозаменяемыми и относятся к аберрантно активированным/инактивированным белкам в ткани на основе заданного статистического порога, например, при p-значении примерно 0,01 или менее, скорректированном для проверки нескольких гипотез.

В контексте настоящего описания термин «предшествующая терапия» относится к известной терапии DLBCL, включающей введение одного или более терапевтических агентов, но не включает терапию фимепиностатом. Типичные предшествующие методы лечения пациента с DLBCL включают иммунохимиотерапию и схему, состоящую из ритуксимаба, циклофосфамида, доксорубицина, винкристина и преднизона (R-CHOP).

Используемый в настоящей заявке термин «DLBCL с изменением MYC» представляет собой DLBCL, которая демонстрирует повышенную экспрессию белка MYC и/или перестройку гена *MYC* и/или увеличение количества копий *MYC*.

ПРИМЕРЫ

Клинические исследования фимепиностата

Дизайн исследования и участники

Включенные субъекты были включены либо в часть увеличения дозы и расширения исследования фазы 1, в которой оценивался фимепинзотат с ритуксимабом или без него (часть 1), либо в исследование фазы 2 с монотерапией фимепиностатом.

В исследовании фазы 1/части 1 ключевыми критериями включения были возраст ≥18 лет с гистопатологически подтвержденным диагнозом DLBCL или трансформированной фолликулярной лимфомы (tFL), рефрактерной или рецидивирующей после по меньшей мере 2 предыдущих режимов, общим состоянием по шкале Восточной объединенной онкологической группы (ECOG) 0-2, измеримым заболевание по исходной рентгенологической оценке и адекватной гематологической и органной функцией. Ключевыми критериями исключения были получение системной противораковой терапии в течение 3 недель после включения в исследование, продолжающееся лечение хронической иммуносупрессивной терапией, активная лимфома ЦНС и желудочно-кишечные заболевания, которые могут препятствовать всасыванию фимепиностата. Для исследования фазы 2 ключевыми критериями

включения были возраст ≥18 лет с гистопатологически подтвержденным диагнозом DLBCL, HGBL или tFL, рефрактерным или рецидивирующим после 2-4 предшествующих линий терапии для лечения *de novo* DLBCL и не подходящим для (или неудачным) аутологичной или аллогенной трансплантации стволовых клеток (SCT), общим состоянием по шкале Восточной объединенной онкологической группы (ECOG) 0-1, измеримым заболеванием по исходной рентгенологической оценке, подтвержденной доступностью жизнеспособной ткани (определяемой как самая последняя доступная архивная опухолевая ткань или свежие образцы опухоли) для центральных лабораторных FISH и ИГХ-тестирования до дозирования в исследовании и адекватной гематологической и органной функцией. Ключевыми критериями исключения были получение системной противораковой терапии в течение 2 недель после включения в исследование или экспериментальной терапии в течение 5 конечных периодов полувыведения ($t_{1/2}$) или за 4 недели до включения в исследование, известная первичная медиастинальная, глазная, эпидуральная лимфома, лимфома яичка или молочной железы, и текущая или запланированная терапия глюкокортикоидами, за исключением доз ≤ 10 мг/сутки преднизолона или эквивалента.

Оба протокола были одобрены институциональными наблюдательными советами всех участвующих центров и проводились в соответствии с этическими принципами, которые берут свое начало в Хельсинкской декларации, и согласуются с руководящими принципами надлежащей клинической практики Международной конференции по гармонизации, применимыми нормативными требованиями и политикой Curis.

Процедуры

Пациенты получали капсулы фимепиностата (Pharmatek Laboratories Inc., Сан-Диего, Калифорния, США) перорально, в течение 30 минут после еды, в 21-дневных циклах до тех пор, пока не будет задокументировано прогрессирование заболевания или не будут выполнены другие критерии отмены. В протоколе фазы 2 изменение дозы и/или интенсивности схемы приема фимепиностата допускалось в соответствии с протоколом из-за токсичности. Безопасность и переносимость оценивали по частоте возникновения и степени тяжести нежелательных явлений в соответствии с Общими терминологическими критериями оценки степени тяжести нежелательных явлений NCI (CTCAE v4.03) в обоих протоколах.

Популяция с назначенным лечением включала всех пациентов из обоих протоколов, которые получили по меньшей мере одну дозу фимепиностата. Оцениваемая популяция включает всех пациентов, которые получили по меньшей мере одну дозу исследуемого лекарственного средства (фаза 1) или один полный цикл лечения (фаза 2) и завершили по меньшей мере одну оценку заболевания после исходного уровня. Пациенты были повторно распределены по стадиям в соответствии с пересмотренными критериями ответа на злокачественную лимфому.[18]

Заболевание с изменением MYC определяли как один или более из следующих результатов центрального тестирования образцов опухоли: экспрессия белка MYC в ≥40% клеток лимфомы путем иммуногистохимического окрашивания (ИГХ), перестройка *MYC* путем флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) или >2 копий *MYC* в FISH. ИГХ-окрашивание MYC (клон кролика Y69) и BCL2 (клон мыши 124) для пациентов, включенных в исследование фазы 1 (обратите внимание, что *MYC* FISH не проводилось централизованно в этом исследовании), проводили в Mosaic Laboratories, LLC (Lake Forest, CA, США). ИГХ-окрашивание MYC (клон кролика Y69) и BCL2 (клон мыши 124), а также FISH с зондами для расщепления *MYC* (8q24) и *BCL6* (3q27) и слитым зондом *BCL2* (t(14;18)) для пациентов, включенных в исследование фазы 2, проводили в NeoGenomics Laboratories, Inc (Форт-Майерс, штат Флорида, США), с положительными пороговыми значениями для перестройки *MYC* (>10%), увеличения числа копий *MYC* (>20%), перестройки *BCL2* (≥0,5%) и перестройки *BCL6* (>10%), как определено в стандарте лаборатории.

Исходы, представляющие интерес, включали общую частоту ответа, частоту полного ответа, медианную выживаемость без признаков прогрессирования заболевания (PFS), медианную общую выживаемость (OS), медианную продолжительность ответа (DOR) и медианное время до ответа (TTR).

Время выживания оценивали с помощью метода Каплана-Мейера и 95% доверительных интервалов (CI), рассчитанных с помощью биномиального точного метода. Все статистические анализы проводили с использованием Stata версии 13 (StataCorp, College Station, TX, США).

Профили RNASeq из биопсий до лечения 22 пациентов, участвующих в исследованиях фазы 1 и 2, были получены с помощью секвенирования Illumina. Активность белка измеряли с помощью предполагаемой активности белка с использованием анализа белка на основе обогащенного регулона (VIPER), который преобразует профили экспрессии гена образца опухоли в точные профили активности

белка для приблизительно 6000 регуляторных белков на основе экспрессии их транскрипционных мишеней (DarwinHealth).[19] В отличие от сырых данных экспрессии генов, VIPER-интерферируемая активность белка чрезвычайно воспроизводима, и эта методология (алгоритм DarwinOncoTarget) была одобрена отделом валидации CLIA/CLEP Департамента здравоохранения Нью-Йорка в качестве предложения в категории «Молекулярные и клеточные опухолевые маркеры для онкологии»[20] и показала свою эффективность для обнаружения биомаркеров.[21] Активность 6213 регуляторных белков, аннотированных как факторы транскрипции (GO: 0003700 или GO: 0004677 и GO: 0030528 или GO: 0045449) или факторы ко-транскрипции (GO: 0003712 или GO: 0030528 или GO: 0045449) или сигнальные белки (GO: 0007165 и GO: 0005622 или GO: 0005886) в Gene Ontology[22] выводили с помощью metaVIPER,[23] используя транскрипционные регуляторные сети (интерактомы), выведенные путем анализа когорт DLBCL и острого миелоидного лейкоза (AML) с использованием алгоритма ARACNe.[24] MetaVIPER - это расширение алгоритма VIPER, поддерживающее интеграцию нескольких регулирующих сетей. Классификатор чувствительности к фимепиностату был сгенерирован путем обучения нейронной сети[25] с использованием верхних $k = 1, \ldots, 10$ наиболее дифференциально активных белков между образцами отвечающих на лечение и не отвечающих на лечение субъектов.

Результаты

Идентификация/отбор пациентов показаны на Фигуре 1. Из 105 пациентов с DLBCL/HGBL, получавших лечение по протоколам фазы 1 и 2, 86 прошли тестирование на экспрессию белка MYC и/или перестройку *MYC* и/или увеличение числа копий *MYC*, а 60 продемонстрировали один или более положительных результатов и были классифицированы как демонстрирующие заболевание с изменением MYC. Впоследствии были исключены три пациента, 2 из которых никогда не получали дозы, а 1 получал только 1 линию предшествующей терапии, что привело к тому, что популяция пациентов, которым было назначено лечение, составила 57 пациентов, все из которых получили по меньшей мере одну дозу фимепиностата. Популяция оцениваемых пациентов, как определено протоколами фазы 1 и фазы 2, включала 43 пациента.

Все пациенты получали фимепиностат в дозе 60 мг перорально в режиме - 5 дней приема/2 дня отсутствие приема - в качестве начальной дозы, за исключением 1

пациента, включенного в протокол фазы 1, который получал 60 мг перорально три раза в неделю. Три пациента, участвующие в протоколе фазы 1, получали одновременно ритуксимаб.

Исходные характеристики популяции, которой было назначено лечение (n=57), описаны в Таблице 2.

Таблица 2

Характеристика	n (%)
Возраст (медиана)	63 года
Возраст >60	
Нет	22 (39)
Да	35 (61)
Пол	
Женский	22 (39)
Мужской	35 (61)
Оценка по шкале ECOG	
0-1	52 (91)
2	5 (9)
Стадия	
I-II	9 (16)
III-IV	48 (84)
LDH > верхняя граница нормы	
Нет	19 (33)
Да	37 (66)
Неизвестно	1 (1)
Наибольший диаметр опухоли (медиана)	4,7 см
Самая большая опухоль >5 см	
Нет	34 (60)
Да	23 (40)
Предыдущие линии терапии	
2	32 (56)
3	15 (26)
≥4	10 (18)
Наилучший ответ на последнюю предшествующую терапию	
Прогрессирование заболевания	28 (49)
Стабилизация заболевания	7 (12)
Частичный ответ	4 (7)
Полный ответ	7 (12)
Неизвестно	11 (20)
Клеточное происхождение по алгоритму Ганса[30]	
Не-GCB	9 (16)

GCB	24 (42)
Неизвестно	24 (42)
MYC ИГХ ≥40%	
Нет	4 (7)
Да	53 (93)
Перестройка *MYC*	
Нет	33 (50)
Да	13 (31)
Неизвестно	11 (19)
Увеличенное количество копий *MYC*	
Нет	33 (50)
Да	13 (31)
Неизвестно	11 (19)
Лимфома с двумя транслокациями (DHL)	
Нет	34 (60)
Да	8 (14)
Неизвестно	15 (26)
Двойная экспрессорная лимфома (DEL)*	
Нет	5 (10)
Да	28 (57)
Неизвестно	16 (33)

*Исключая пациентов с DHL
ECOG=Восточная объединенная онкологическая группа. ЛДГ=лактатдегидрогеназа. GCB=зародышевый центр B. IC =иммуногистохимическое окрашивание

Ключевые характеристики включают средний возраст 63 года, 84% пациентов с III-IV стадией заболевания, 66% пациентов с повышенным уровнем лактатдегидрогеназы (ЛДГ), 40% пациентов с наибольшим диаметром опухоли ≥5 сантиметров, 44% пациентов, получавших ≥3 линий предшествующей терапии, и 49% пациентов с прогрессирующим заболеванием в качестве наилучшего задокументированного ответа на предшествующую терапию. Как определено центральным обзором, 93% опухолей экспрессировали белок MYC ≥40%, 31% демонстрировали перестройку *MYC* и 31% прирост числа копий *MYC*. Кроме того, 14% опухолей можно было классифицировать как лимфому с двумя транслокациями (перестройка *MYC* и перестройка *BCL2* и/или *BCL6*) и 57% как двойную экспрессорную лимфому (не являющуюся лимфомой с двумя транслокациями с экспрессией белка MYC ≥40% и экспрессией белка BCL2 ≥50% при ИГХ, соответственно).[7, 12]

Как описано в Таблице 3, для оцениваемой популяции пациентов у 9/43 пациентов достигнут ответ (21%, 95% CI 10-36%), а у 6/43 пациентов достигнут полный ответ (14%, 95% CI 5-28%). Восемь пациентов достигли стабилизации заболевания. Как показано на Фигуре 2, медиана PFS составляла 1,4 месяца (95% CI 1,3-1,7 месяца), медиана OS 7,1 месяца (95% CI 3,8-13,2 месяца) и медиана DOR еще не достигнута (95% CI 1,4 месяца - еще не достигнута). Расчетные 6-месячные PFS, OS и DOR составляли 18% (95% CI 8-31%), 54% (95% CI 37-68%) и 73% (95% CI 28-93%), соответственно.

Таблица 3 – Результаты оцениваемой популяции (n=43)

Результат	Измерение
Ответ на лечение	
Полный ответ	6 (14%, 95% CI 5-28%)
Частичный ответ	3 (7%, 95% CI 1-19%)
Стабилизация заболевания	8 (19%, 95% CI 8-33%)
Прогрессирование заболевания	26 (60%, 95% CI 44-75%))
Общий ответ	9 (21%, 95% CI 10-36%)
Медиана выживаемости без признаков прогрессирования заболевания	1,4 месяца (95% CI 1,3-1,7 месяца)
Без прогрессирования через 6 месяцев	18% (95% CI 8-31%)
Медиана общей выживаемости	7,1 месяца (95% CI 3,8-13,2 месяца)
Жив через 6 месяцев	54% (95% CI 37-68%)
Медиана продолжительности ответа	Еще не достигнуто (95% CI 1,4 месяца - еще не достигнуто)
Непрерывный ответ через 6 месяцев	73% (95% CI 28-93%)
Медианное время до ответа	2,8 месяца (95% CI 1,0-2,8 месяца)

CI=доверительный интервал.

Медианное TTR составляло 2,8 месяца (95% CI 1,0-2,8 месяца), а у 27/34 (79%) пациентов, у которых в конечном итоге наблюдалось прогрессирование заболевания, оно обнаруживалось до 2,8 месяца лечения. Следует отметить, что 1 пациент, достигший стабилизации заболевания в качестве наилучшего ответа на лечение, продолжал лечение в течение 25,7 месяцев и в конечном итоге прекратил лечение в пользу активного наблюдения.

Исходные характеристики и результаты 9 пациентов, отвечающих на лечение, описаны в Таблице 4. Следует отметить, что три пациента прекратили лечение, отвечая на продолжение клеточной терапии (химерные антиген-рецептор-модифицированные Т-клетки у 2 пациентов и ASCT у 1 пациента), и у 2 пациентов в конечном итоге наблюдалось прогрессирование заболевания.

Таблица 4 – Отдельные характеристики пациентов, достигших частичного или полного ответа

Идентификатор субъекта	Возраст/пол	Оценка по шкале ECOG	Стадия	LDH >ULN	Наибольший диаметр опухоли (см)	Предыдущие линии терапии	Наилучший ответ на последнюю предшествующую терапию	% экспрессии MYC с помощью ИГХ	Увеличение MYC RA/CN	DHL/DEL	Наилучший ответ	TTR/DOR (месяцы)	Причина прекращения лечения	Статус в конце исследования
1	62/F	1	III	Да	2.0	2	CR	65	Нет/Нет	Нет/Неизв.	CR	1,2/4,1	Решение исследователя	Живой
2	69/M	1	IV	Да	4.9	3	PR	40	Нет/Нет	Нет/Да	CR	2,7/30,0	Завершение исследования в → индивидуальном порядке	Живой
3	53/M	0	IV	Да	5.2	2	PD	70	Неизв./ Неизв.	Неизв./Неизв.	PR	2,8/24,4	Завершение исследования → CART терапии	Живой
4	54/F	0	II	Да	1.9	2	PD	90	Да/Нет	ДА/Не опр.	CR	2,8/23,8	Завершение исследования → CART терапии	Живой
5	76/F	1	IV	Нет	4.0	2	PD	80	Неизв./ Неизв.	Нет/Да	PR	1,0/1,0	Зачисление в хоспис	Скончался
6	53/F	1	II	Нет	2.2	4	Неизв.	95	Нет/Нет	Нет/Да	PR	2,8/4,2	PD	Живой
7	52/F	0	IV	Да	3.3	2	PD	95	Да/Да	Неизв./Неизв.	CR	1,3/4,1	PD	Скончался

8	55/M	0	III	Нет	1.4	2	SD	60	Неизв./ Неизв.	Неизв./Да	CR	1,3/2,8	Переход к SCT	Живой
9	46/M	0	III	Нет	4.6	2	SD	45	Неизв./ Неизв.	Неизв./Неизв.	CR	4,0/40,5	Завершение исследования в → индивидуальном порядке	Живой

ECOG=Восточная объединенная онкологическая группа. ЛДГ=лактатдегидрогеназа. IHC=иммуногистохимическое окрашивание. DHL=лимфома с двумя транслокациями DEL=двойная экспрессорная лимфома. TTR=время до ответа. DOR=продолжительность ответа M=мужчина. F=женщина. Unk=неизвестно. CART= Т-клетки, модифицированные химерным антигенным рецептором. SCT= трансплантация стволовых клеток

5

Нежелательные явления, возникшие после начала лечения (НЯВПНТ), возникающие на одного пациента по наивысшей степени тяжести с частотой ≥10%, перечислены в Таблице 5. Наиболее распространенными НЯВПНТ любой степени были диарея (72%), тошнота (52%) и тромбоцитопения (38%). Наиболее частыми нежелательными явлениями 3 или 4 степени были (24%), нейтропения (15%), диарея (12%) и анемия (12%). У трех пациентов наблюдались НЯВПНТ 5-й степени тяжести: дыхательная недостаточность, маловероятно считающаяся связанной с лечением у 1 пациента, сепсис, считающийся не связанным с лечением у 1 пациента, и обструкция трахеи, считающаяся не связанной с лечением у 1 пациента. Два пациента, не подлежащих оценке, прекратили лечение из-за НЯВПНТ: рвота 2 степени, которая считалась связанной с лечением у 1 пациента, и гиперкальциемия 4 степени, маловероятно считающаяся связанной с лечением у 1 пациента.

Таблица 5 – Нежелательные явления, возникшие после начала лечения (≥10% пациентов) для популяции пациентов, которым было назначено лечение (n=58)

Явление	Степени 1 - 2	Степень 3	Степень 4	Всего
Диарея	35 (60)	7 (12)	0 (0)	42 (72)
Тошнота	30 (52)	0 (0)	0 (0)	30 (52)
Тромбоцитопения	8 (14)	11 (19)	3 (5)	22 (38)
Усталость	18 (31)	1 (2)	0 (0)	19 (33)
Снижение аппетита	18 (31)	0 (0)	0 (0)	18 (31)
Рвота	15 (26)	1 (2)	0 (0)	16 (28)
Запор	14 (24)	0 (0)	0 (0)	14 (24)
Анемия	6 (10)	7 (12)	0 (0)	13 (22)
Гипокалиемия	7 (12)	6 (10)	0 (0)	13 (22)
Нейтропения	2 (3)	7 (12)	2 (3)	11 (19)
Боль в животе	6 (10)	3 (5)	0 (0)	9 (16)
Повышенная температура	9 (16)	1 (2)	0 (0)	10 (17)
Кашель	9 (16)	0 (0)	0 (0)	9 (16)
Одышка	6 (10)	3 (5)	0 (0)	9 (16)
Головокружение	8 (14)	0 (0)	0 (0)	8 (14)
Снижение массы	7 (12)	1 (2)	0 (0)	8 (14)
Артралгия	7 (12)	0 (0)	0 (0)	7 (12)
Гипомагниемия	7 (12)	0 (0)	0 (0)	7 (12)
Боль в конечности	6 (10)	1 (2)	0 (0)	7 (12)
Снижение количества лейкоцитов	3 (5)	3 (5)	1 (2)	7 (12)
Боль в спине	5 (9)	1 (2)	0 (0)	6 (10)
Гипофосфатемия	2 (3)	4 (7)	0 (0)	6 (10)
Снижение количества лимфоцитов	3 (5)	3 (5)	0 (0)	6 (10)

Периферический отек	6 (10)	0 (0)	0 (0)	6 (10)
Инфекция верхних дыхательных путей	6 (10)	0 (0)	0 (0)	6 (10)

Параллельно с клиническими испытаниями фазы 1 и 2 проводили VIPER для определения того, коррелируют ли паттерны экспрессии генов с активностью белков, ассоциированных с MYC, а также с биомаркерным паттерном клинического ответа. Для этого анализа были включены 22 образца опухоли до лечения от 11 отвечающих и 11 не отвечающих пациентов,13 из которых имели изменение MYC. Следует отметить, что для 9 образцов с отсутствием изменения MYC, 5 не прошли централизованное тестирование на изменения MYC. Значительное обогащение 67 контекст-специфических белков MYC, взаимодействующих с B-клетками, наблюдалось среди белков, наиболее дифференциально активных между отвечающими на лечение фимепиностатом и не отвечающими на него ($p < 0,001$, Анализ обогащения набора генов [GSEA], Фигура 3). В рамках алгоритма обнаружения биомаркеров OncoMarker[21] классификатор Neural-Network был обучен профилям активности белка анализируемых образцов опухоли. Анализ выявил три белка - PBXIP1, ETS1 и ANGPTL3 - в качестве главных регуляторов (MR) чувствительности к фимепиностату (Фигура 4A), что дает оптимальную прогностическую мощность на основе перекрестной валидации по принципу исключения одного объекта (LOO-CV) (площадь под кривой графика зависимости чувствительности от частоты ложноположительных заключений [AUC] = 0,901, 95% CI 0,776-1 [Фигура 4B]). Биомаркер правильно идентифицировал 9 из 11 отвечающих (82%) и неправильно классифицировал только 2 из 11 не отвечающих (18%) пациентов (Фигура 4A). При ограничении этого анализа 13 пациентами с измененным MYC биомаркер чувствительности к фимепиностату имел эквивалентную эффективность (LOO-CV AUC = 0,881, 95% CI 0,689-1 [Фигура 4C]) и правильно идентифицировал 5 из 6 отвечающих на лечение пациентов (83%) и неправильно классифицировал только 1 из 7 не отвечающих на лечение пациентов (14%) (Фигура 4A).

Обсуждение

Приблизительно у 1/3 пациентов с впервые диагностированной DLBCL/HGBL наблюдается заболевание с изменением MYC, и у этих пациентов существует риск отсутствия эффективности лечения после направленной на излечение иммунохимиотерапии первой и второй линии и HDC/ASCT. В когорте пациентов с

R/R DLBCL/HGBL с изменением MYC, как определено центральным тестированием, которые получали лечение двойным ингибитором HDAC/PI3K фимепиностатом и могли оценить ответ, общая частота ответа составила 21%. Кроме того, медиана продолжительности ответа у пациентов, отвечающих на лечение, еще не была достигнута, и 73% пациентов, отвечающих на лечение, по оценкам, имели постоянный ответ через 6 месяцев. Кроме того, 4 отвечающих пациента оставались на лечении в течение более 2 лет без прогрессирования заболевания. Медиана времени до ответа составила 2,8 месяца, при этом приблизительно у 80% пациентов наблюдалось прогрессирование заболевания до этой временной точки, что указывает на то, что потенциал терапевтической активности фимепиностата, возможно, не был реализован большинством пациентов, демонстрирующих неэффективность лечения.

Анализ с помощью VIPER показал, что дифференциально активные белки у пациентов, отвечающих на лечение, по сравнению с пациентами, не отвечающими на лечение, были значительно обогащены B-клеточными контекст-специфическими белками, взаимодействующими с MYC, что подтверждает доклинические данные о том, что лечение фимепиностатом аннулирует активность MYC посредством нескольких механизмов действия. Кроме того, чувствительность к фимепиностату была точно предсказана с помощью одного и того же классификатора с тремя белками как в когорте образцов опухоли без отбора по статусу изменения MYC, так и в подгруппе с заболеванием с изменением MYC. Тот факт, что большинство этих образцов опухоли, как было известно, имели изменение MYC, и AUC для этого биомаркера, прогнозирующего клинический ответ у пациентов с заболеванием с изменением MYC, составляла почти 0,9, представляют собой убедительное обоснование для попытки подтвердить этот вывод у дополнительных пациентов с заболеванием с изменением MYC, получавших фимепиностат в клинических испытаниях.

Исходы пациентов с DLBCL/HGBL с изменением MYC, зарегистрированные в клинических испытаниях коммерчески доступных методов лечения R/R DLBCL, перечислены в Таблице 6.[26-29] Хотя общая частота ответа на лечение фимепиностатом ниже, чем у пациентов с заболеванием с изменением MYC, получавших большинство из этих методов лечения, отсутствие данных о выживаемости и продолжительности ответа для пациентов с заболеванием с изменением MYC повышает неопределенность в отношении долгосрочной пользы этих методов лечения для этой популяции пациентов.

Таблица 6: Исходы пациентов с DLBCL/HGBL с изменением MYC, о которых сообщалось в клинических испытаниях коммерчески доступных методов лечения R/R DLBCL

Терапия	Дизайн исследования	Тип пациента	Размер образца	ORR/CRR	Медиана PFS/OS/DOR
Selinexor	Проспективная фаза 2	MYC ИГХ >40%	47	13% (ORR)	Не сообщалось
Тафиситамаб/леналидомид	Проспективная фаза 2	Транслокация *MYC*	7	57%/43%	Не сообщалось
Тизагенлеклейцел	Проспективная фаза 2	DHL	16	50%/25%	Не сообщалось
Полатузумаб/бендамустин/ритуксимаб	Проспективная фаза 2	DEL	11	46%/36%	Не сообщалось

R/R=рецидивирующий/рефрактерный. FDA США = Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США ORR=общая частота ответа. CRR= частота полного ответа. PFS= выживаемость без признаков прогрессирования заболевания. OB=общая выживаемость. DOR=продолжительность ответа DHL=лимфома с двумя транслокациями IHC=иммуногистохимическое окрашивание. DEL=двойная экспрессорная лимфома.

Сильные стороны данного анализа включают централизованный обзор изменений MYC, а также надежное отслеживание исходов и токсичности у пациентов, возникающих в результате проспективного сбора данных из протоколов клинических испытаний. Слабые стороны данного анализа включают невозможность с уверенностью идентифицировать всех пациентов с заболеванием с изменением MYC, получавших лечение по этим протоколам клинических исследований, из-за отсутствия ткани для центрального тестирования всех форм изменения MYC во всех случаях, а также небольшого размера выборки, что исключает значимые однофакторные и многофакторные анализы, которые могли бы предсказать связь исходных характеристик с ответом на заболевание и/или выживаемостью.

В заключение, объективные ответы наблюдались после лечения фимепиностатом у пациентов с R/R DLBCL/HGBL с заболеванием с изменением MYC, с длительной продолжительностью ответа у пациентов, отвечающих на лечение. Эти результаты подтверждают использование фимепиностата в этих клинических

условиях, а также дальнейшее исследование в комбинации с другими агентами и/или в более ранних линиях терапии с продолжением изучения биомаркеров, которые могут предсказать клиническую активность, в надежде, что терапевтический эффект фимепиностата может быть реализован у большей части пациентов.

Цитируемые источники

1. Meyer N, Penn LZ. Reflecting on 25 years with MYC. *Nature reviews Cancer* 2008; **8**(12): 976-90.

2. Dang CV, O'Donnell KA, Zeller KI, Nguyen T, Osthus RC, Li F. The c-Myc target gene network. *Seminars in cancer biology* 2006; **16**(4): 253-64.

3. Savage KJ, Johnson NA, Ben-Neriah S, et al. MYC gene rearrangements are associated with a poor prognosis in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP chemotherapy. *Blood* 2009; **114**(17): 3533-7.

4. Barrans S, Crouch S, Smith A, et al. Rearrangement of MYC is associated with poor prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated in the era of rituximab. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2010; **28**(20): 3360-5.

5. Cuccuini W, Briere J, Mounier N, et al. MYC+ diffuse large B-cell lymphoma is not salvaged by classical R-ICE or R-DHAP followed by BEAM plus autologous stem cell transplantation. *Blood* 2012; **119**(20): 4619-24.

6. Petrich AM, Gandhi M, Jovanovic B, et al. Impact of induction regimen and stem cell transplantation on outcomes in double-hit lymphoma: a multicenter retrospective analysis. *Blood* 2014; **124**(15): 2354-61.

7. Herrera AF, Mei M, Low L, et al. Relapsed or Refractory Double-Expressor and Double-Hit Lymphomas Have Inferior Progression-Free Survival After Autologous Stem-Cell Transplantation. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2017; **35**(1): 24-31.

8. Valera A, Lopez-Guillermo A, Cardesa-Salzmann T, et al. MYC protein expression and genetic alterations have prognostic impact in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with immunochemotherapy. *Haematologica* 2013; **98**(10): 1554-62.

9. Li S, Seegmiller AC, Lin P, et al. B-cell lymphomas with concurrent MYC and BCL2 abnormalities other than translocations behave similarly to MYC/BCL2 double-hit lymphomas. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 2015; **28**(2): 208-17.

10. Meriranta L, Pasanen A, Alkodsi A, Haukka J, Karjalainen-Lindsberg ML, Leppa S. Molecular background delineates outcome of double protein expressor diffuse large B-cell lymphoma. *Blood advances* 2020; **4**(15): 3742-53.

11. Green TM, Young KH, Visco C, et al. Immunohistochemical double-hit score is a strong predictor of outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2012; **30**(28): 3460-7.

12. Johnson NA, Slack GW, Savage KJ, et al. Concurrent expression of MYC and BCL2 in diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2012; **30**(28): 3452-9.

13. Hu S, Xu-Monette ZY, Tzankov A, et al. MYC/BCL2 protein coexpression contributes to the inferior survival of activated B-cell subtype of diffuse large B-cell lymphoma and demonstrates high-risk gene expression signatures: a report from The International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program. *Blood* 2013; **121**(20): 4021-31; quiz 250.

14. Landsburg DJ. Management of Patients with MYC-Altered Lymphomas. *Current hematologic malignancy reports* 2016; **11**(3): 208-17.

15. Sun K, Atoyan R, Borek MA, et al. Dual HDAC and PI3K Inhibitor CUDC-907 Downregulates MYC and Suppresses Growth of MYC-dependent Cancers. *Molecular cancer therapeutics* 2017; **16**(2): 285-99.

16. Younes A, Berdeja JG, Patel MR, et al. Safety, tolerability, and preliminary activity of CUDC-907, a first-in-class, oral, dual inhibitor of HDAC and PI3K, in patients with relapsed or refractory lymphoma or multiple myeloma: an open-label, dose-escalation, phase 1 trial. *The Lancet Oncology* 2016; **17**(5): 622-31.

17. Oki Y, Kelly KR, Flinn I, et al. CUDC-907 in relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma, including patients with MYC-alterations: results from an expanded phase I trial. *Haematologica* 2017; **102**(11): 1923-30.

18. Cheson BD, Pfistner B, Juweid ME, et al. Revised response criteria for malignant lymphoma. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2007; **25**(5): 579-86.

19. Alvarez MJ, Shen Y, Giorgi F, et al. Functional characterization of somatic mutations in cancer using network-based inference of protein activity. *Nat Genet* 2016; **48**(8): 838-47.

20. Neal M. Assay Validation Review, Wadsworth Center, NY State Department of Health, PFI: 7313, Project ID: 63859. 2019.

21. Chari A, Vogl DT, Gavriatopoulou M, et al. Oral Selinexor-Dexamethasone for Triple-Class Refractory Multiple Myeloma. *The New England journal of medicine* 2019; **381**(8): 727-38.

22. Ashburner M, Ball CA, Blake JA, et al. Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium. *Nat Genet* 2000; **25**(1): 25-9.

23. Hongxu DH, Douglass EF, Sonabend AM, et al. Quantitative Assessment of Protein Activity in Orphan Tissues and Single Cells Using the metaVIPER Algorithm. *Nature Methods* 2018; **9**(1): 1471.

24. Basso K, Margolin AA, Stolovitzky G, Klein U, Dalla-Favera R, Califano A. Reverse engineering of regulatory networks in human B cells. *Nature genetics* 2005; **37**(4): 382-90.

25. Bishop CM. Neural Networks for Pattern Recognition: Clarendon Press, Oxford.; 1995.

26. Kalakonda N, Maerevoet M, Cavallo F, et al. Selinexor in patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma (SADAL): a single-arm, multinational, multicentre, open-label, phase 2 trial. *The Lancet Haematology* 2020; **7**(7): e511-e22.

27. Salles G, Duell J, Gonzalez Barca E, et al. Tafasitamab plus lenalidomide in relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma (L-MIND): a multicentre, prospective, single-arm, phase 2 study. *The Lancet Oncology* 2020; **21**(7): 978-88.

28. Schuster SJ, Bishop MR, Tam CS, et al. Tisagenlecleucel in Adult Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *The New England journal of medicine* 2019; **380**(1): 45-56.

29. Sehn LH, Herrera AF, Flowers CR, et al. Polatuzumab Vedotin in Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2020; **38**(2): 155-65.

30. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood* 2004; **103**(1): 275-82.

Идеи всех патентов, опубликованных заявок и ссылок, цитируемых в настоящей заявке, полностью включены в настоящую заявку посредством ссылки.

Хотя настоящее изобретение было в частности показано и описано со ссылками на его примерные варианты реализации, специалистам в данной области техники

понятно, что в нем могут быть сделаны различные изменения в форме и деталях без отклонения от объема настоящего изобретения, охватываемого прилагаемой формулой изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ классификации субъекта, страдающего диффузной В-крупноклеточной лимфомой, в качестве субъекта, отвечающего на лечение фимепиностатом или не отвечающего на лечение фимепиностатом, включающий стадию определения активности одного или более маркерных белков в образце опухоли у субъекта, при этом повышенная или пониженная активность одного или более маркерных белков по сравнению с исходным уровнем классифицирует субъекта как субъекта, отвечающего на лечение фимепиностатом, и отсутствие повышенной или пониженной активности одного или более маркерных белков по сравнению с исходным уровнем классифицирует субъекта как субъекта, не отвечающего на лечение фимепиностатом.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что активность одного или более маркерных белков предоставлена обученному классификатору, причем обученный классификатор обучен различать отвечающих на лечение фимепиностатом и не отвечающих на лечение фимепиностатом субъектов; и получение от классификатора классификации субъекта как отвечающего на лечение фимепиностатом или не отвечающего на лечение фимепиностатом.

3. Способ по п. 1 или п. 2, отличающийся тем, что один или более маркерных белков выбраны из группы, состоящей из PBXIP1, ETS1, ANGPTL3, YEATS4, IL16, FGD3, ATF7IP, TRIP13, CBX4 и CD37.

4. Способ по п. 3, отличающийся тем, что указанный способ включает стадию определения активности двух или более маркерных белков.

5. Способ по п. 4, отличающийся тем, что указанный способ включает стадию определения активности трех или более маркерных белков.

6. Способ по п. 1 или п. 2, отличающийся тем, что один или более маркерных белков выбраны из группы, состоящей из PBXIP1, ETS1 и ANGPTL3.

7. Способ по п. 6, отличающийся тем, что указанный способ включает стадию определения активности PBXIP1, ETS1 и ANGPTL3.

8. Способ по любому из пп. 1-7, отличающийся тем, что активность белка определяют с использованием алгоритма VIPER.

9. Способ по любому из пп. 1-8, отличающийся тем, что указанный субъект является наивным по отношению к лечению фимепиностатом.

10. Способ лечения диффузной В-крупноклеточной лимфомы у нуждающегося в этом субъекта, включающий стадию введения указанному субъекту терапевтически эффективного количества фимепиностата или его фармацевтически приемлемой соли, при этом указанный субъект классифицирован как субъект, отвечающий на лечение фимепиностатом, с помощью способа по любому из пп. 1-9.

11. Способ лечения диффузной В-крупноклеточной лимфомы у нуждающегося в этом субъекта, включающий:
(a) классификацию субъекта как субъекта, отвечающего на лечение фимепиностатом, или субъекта, не отвечающего на лечение фимепиностатом, с помощью способа по любому из пп. 1-9; и
(b) (i) если субъект классифицирован как отвечающий на лечение фимепиностатом, введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества фимепиностата или его фармацевтически приемлемой соли; и
(ii) если субъект классифицирован как не отвечающий на лечение фимепиностатом, введение субъекту терапевтически эффективного количества терапии диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, которая не является фимепиностатом или его фармацевтически приемлемой солью.

12. Способ лечения DLBCL у нуждающегося в этом субъекта, при этом указанный субъект представляет собой субъект, отвечающий на лечение фимепиностатом, включающий стадии, на которых (a) получают информацию, идентифицирующую указанный субъект как субъект, отвечающий на лечение фимепиностатом; и (b) вводят указанному субъекту терапевтически эффективное количество фимепиностата или его фармацевтически приемлемой соли.

13. Способ по любому из пп. 10-12, отличающийся тем, что фимепиностат вводят в виде метансульфонатной соли или бензолсульфонатной соли.

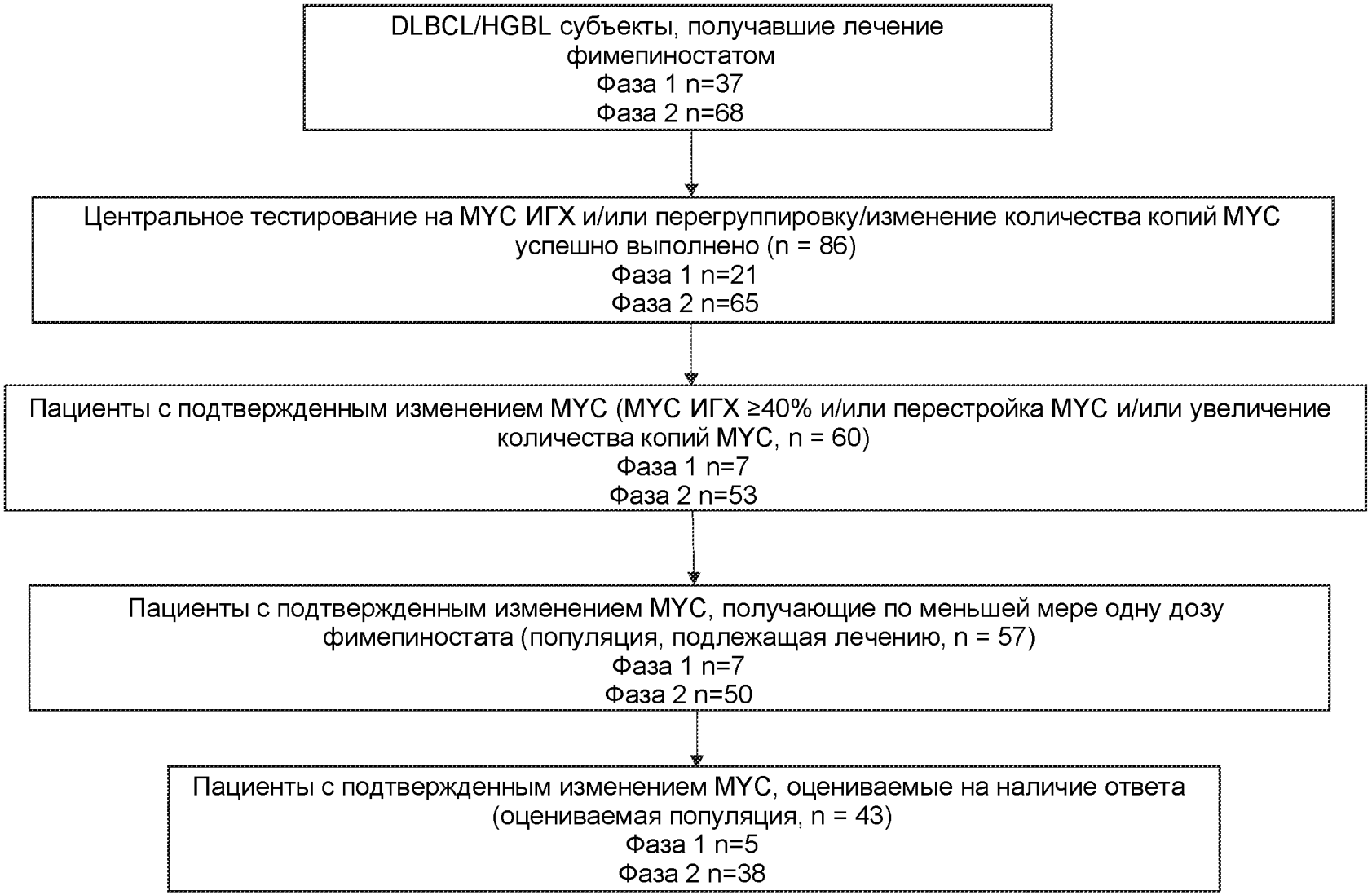
14. Способ по любому из пп. 10-13, отличающийся тем, что указанный фимепиностат или его фармацевтически приемлемую соль вводят перорально.

15. Способ по п. 14, отличающийся тем, что указанный фимепиностат или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозе, эквивалентной 60 мг свободного основания.

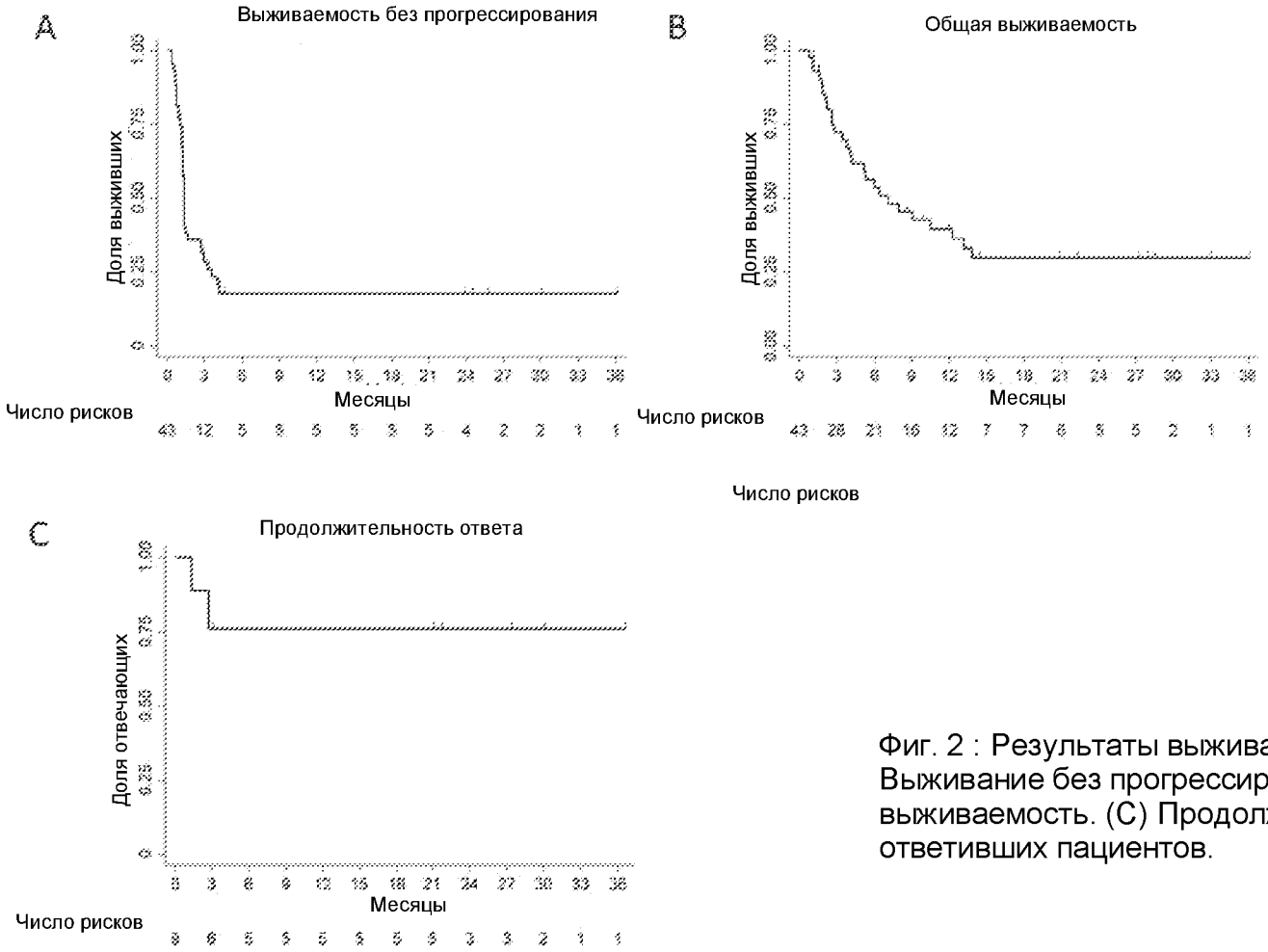
16. Способ по п. 14, отличающийся тем, что фимепиностат или его фармацевтически приемлемую соль вводят в дозе 60 мг эквивалента свободного основания в течение пяти дней с последующим прекращением введения фимепиностата или его фармацевтически приемлемой соли в течение двух дней.

17. Способ по п. 15 или п. 16, отличающийся тем, что указанный фимепиностат вводят в виде метансульфонатной соли.

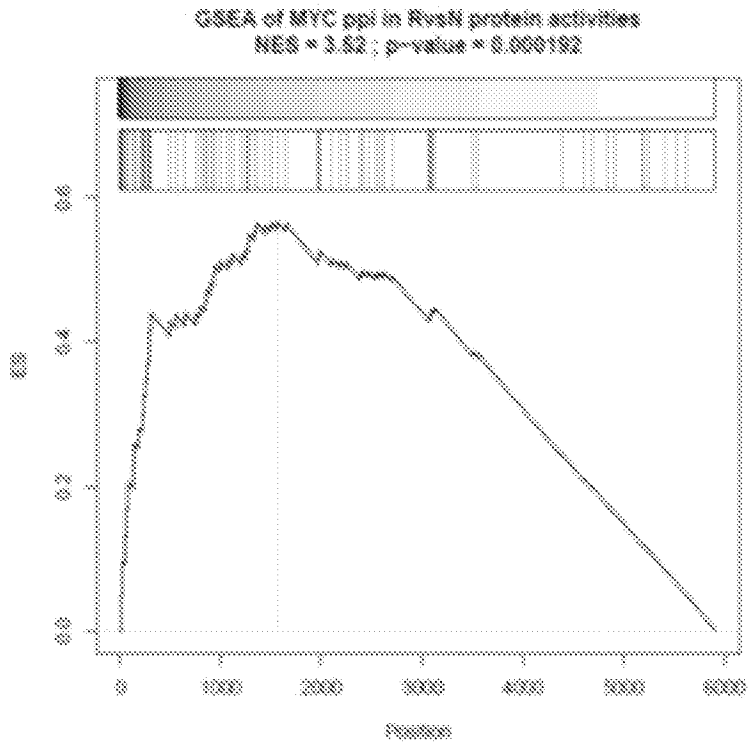
ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)



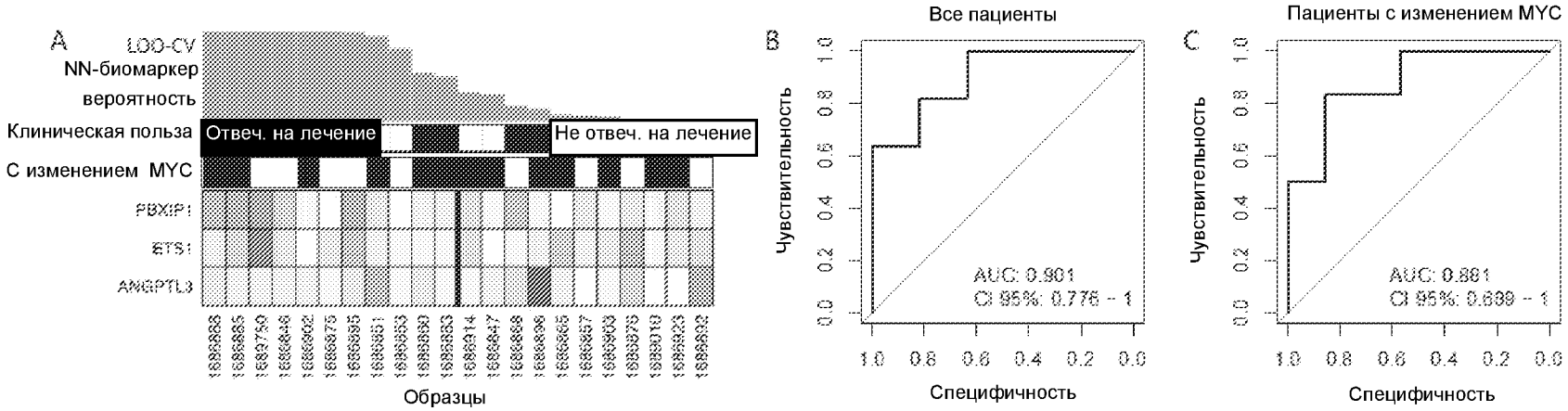
Фиг. 1



Фиг. 2 : Результаты выживания оцениваемой популяции (A) Выживание без прогрессирования. (B) Общая выживаемость. (C) Продолжительность ответа у ответивших пациентов.



Фиг. 3: GSEA 67 взаимодействующих с MYC белков, специфичных для контекста B-клеток (красные вертикальные линии), в списке белков, отсортированных от наибольшей до наименьшей дифференциальной активности между пациентами, отвечающими на лечение фимепиностатом, и пациентами, не отвечающими на лечение фимепиностатом.



Фигура 4: : LOO-CV анализ биомаркеров ответа на фимепиностат. (A) Тепловая карта, демонстрирующая предполагаемую активность для трех MR белков ответа на лечение фимепиностатом, используемых биомаркерами (рядами) для всех образцов, на основе VIPER. Клинические образцы, включенные в анализ (столбцы), были ранжированы на основе прогнозируемой вероятности ответа по NN-биомаркеру (график в виде столбцов над тепловой картой), оцененной с использованием LOO-CV. Пациенты, которые ответили на лечение фимепиностатом (CR и PR), и пациенты, которые не ответили на лечение фимепиностатом (PD), показаны черным и белым цветом соответственно (строка клинической пользы). Пациенты с заболеванием с изменением MYC показаны черным цветом в ряду с изменением MYC. (B и C) ROC анализ для LOO-CV, выполненного для всех образцов (n=22) (B) и только для MY-измененных образцов (n=13) (C). Площадь под кривой ROC (AUC) и ее 95% доверительный интервал (CI) показаны внутри каждого графика.