



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108778276 A

(43)申请公布日 2018.11.09

(21)申请号 201780016669.1

(22)申请日 2017.10.31

(30)优先权数据

62/416,475 2016.11.02 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.09.11

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2017/059377 2017.10.31

(87)PCT国际申请的公布数据

W02018/085292 EN 2018.05.11

(71)申请人 安罗格制药有限责任公司

地址 美国得克萨斯州

(72)发明人 V·K·柴恩

(74)专利代理机构 北京超凡志成知识产权代理
事务所(普通合伙) 11371

代理人 李丙林 王晖

(51)Int.Cl.

A61K 31/4725(2006.01)

A61K 31/4709(2006.01)

A61K 31/4184(2006.01)

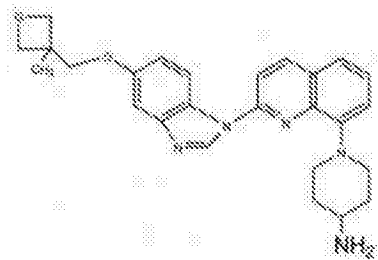
权利要求书5页 说明书26页

(54)发明名称

用于治疗FLT3突变型增殖性疾患相关突变的
的克萊拉尼

(57)摘要

本发明包括用于治疗FLT3突变型增殖性疾患的方法,包括:测量从获得自患者的肿瘤样品获得的样品中的突变的FLT3的表达和一种或多种遗传异常,其中一种或多种遗传异常的存在表明患者预后不良;并且向患者给药治疗有效量的克萊拉尼或其药学上可接受的盐,其中克萊拉尼增加具有突变的FLT3和一种或多种遗传异常二者的患者的生存机会,其中将如下所示的克萊拉尼给药于患有所述疾患的受试者。



1. 一种治疗FLT3突变型增殖性疾患的方法,包括:

测量从获得自患者的肿瘤样品获得的样品中的突变的FLT3或组成型激活FLT3突变体的表达、以及一种或多种遗传异常,其中,存在所述一种或多种遗传异常表明所述患者预后不良;以及

向所述患者给药治疗有效量的克萊拉尼或其药学上可接受的盐,其中,所述克萊拉尼增加具有所述突变的FLT3或所述组成型激活FLT3突变体以及所述一种或多种遗传异常二者的所述患者的生存机会。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述一种或多种遗传异常选自RUNX1或WT1基因突变中的至少一种。

3. 根据权利要求1或2所述的方法,其中,所述一种或多种遗传异常由FLT3-ITD、DNMT3A和NPM1基因的突变组成。

4. 根据权利要求1至3所述的方法,其中,所述一种或多种遗传异常是染色体8三体性或染色体13三体性中的至少一种。

5. 根据权利要求1至4所述的方法,其中,所述增殖性疾患选自以下中的至少一种:白血病,骨髓瘤,骨髓增生性疾病,骨髓增生异常综合征,特发性高嗜酸性粒细胞综合症(HES),膀胱癌,乳腺癌,宫颈癌,CNS癌,结肠癌,食道癌,头颈癌,肝癌,肺癌,鼻咽癌,神经内分泌癌,卵巢癌,胰腺癌,前列腺癌,肾癌,唾液腺癌,小细胞肺癌,皮肤癌,胃癌,睾丸癌,甲状腺癌,子宫癌和血液恶性病。

6. 根据权利要求1至5所述的方法,其中,所述额外的遗传异常是非整倍性,单体性,三体性或多体性。

7. 根据权利要求1至6所述的方法,其中,所述一种或多种遗传异常是染色体畸变,染色体缺失,染色体重复,染色体易位,染色体倒位,染色体插入,染色体环或等臂染色体。

8. 根据权利要求1至7所述的方法,其中,除了所述突变的FLT3之外,所述一种或多种遗传异常是驱动突变。

9. 根据权利要求8所述的方法,其中,所述驱动突变选自以下中至少一种:NPM1、DNMT3A、NRAS、KRAS、JAK2、PTPN11、TET2、IDH1、IDH2、WT1、RUNX1、CEBPA、ASXL1、BCOR、SF3B1、U2AF1、STAG2、SETBP1、ZRSR2、GRB7、SRSF2、MLL、NUP98、ETV6、TCL1A、TUSC3、BRP1、CD36、TYK2或MUTYH。

10. 权利要求1至9所述的方法,其中,所述克萊拉尼或其药学上可接受的盐的治疗有效量为每天约50至500mg、每天100至450mg、每天200至400mg、每天300至500mg、每天350至500mg或每天400至500mg;或者

所述治疗有效量的克萊拉尼或其药学上可接受的盐以连续、间歇、全身或局部中的至少一种给药;或者

所述治疗有效量的克萊拉尼或其药学上可接受的盐通过口服、静脉内或腹膜内给药。

11. 根据权利要求1至10所述的方法,其中,所述克萊拉尼或其药学上可接受的盐是苯磺酸克萊拉尼、磷酸克萊拉尼、乳酸克萊拉尼、盐酸克萊拉尼、柠檬酸克萊拉尼、乙酸克萊拉尼、甲苯磺酸克萊拉尼和琥珀酸克萊拉尼。

12. 根据权利要求1至11所述的方法,其中,所述治疗有效量的克萊拉尼或其药学上可接受的盐是:

只要受试者需要治疗所述增殖性疾患,每天给药最多至三次或更多次;或者

与其他药剂以序贯或同时方式中的至少一种,在新诊断的增殖性疾患患者中提供,以维持目前患者的缓解,或在复发/难治性增殖性疾患患者中提供;或者

作为单一药剂或与其他药剂组合,在新诊断的增殖性疾患患者中提供,以维持缓解,或在复发/难治性增殖性疾患患者中提供;或者

作为单一药剂或与其他药剂组合,在新诊断的增殖性疾患儿科患者中提供,以维持缓解,或者在复发/难治性增殖性疾患的儿科患者中提供。

13. 根据权利要求1至12所述的方法,其中,所述患者对其他酪氨酸激酶抑制剂或化疗复发/难治。

14. 一种治疗患有增殖性疾病的患者的方法,包括:

鉴定需要治疗所述增殖性疾病的所述患者,并且向所述患者给药治疗有效量的克莱拉尼或其盐,其中,所述增殖性疾病的特征在于失调FLT3受体酪氨酸激酶活性;其中,所述增殖性疾病选自以下中至少一种:白血病,骨髓瘤,骨髓增生性疾病,骨髓增生异常综合征,特发性高嗜酸性粒细胞综合症(HES),膀胱癌,乳腺癌,宫颈癌,CNS癌,结肠癌,食道癌,头颈癌,肝癌,肺癌,鼻咽癌,神经内分泌癌,卵巢癌,胰腺癌,前列腺癌,肾癌,唾液腺癌,小细胞肺癌,皮肤癌,胃癌,睾丸癌,甲状腺癌,子宫癌,和血液恶性病;以及

其中,所述患者包括失调FLT3受体酪氨酸激酶和一种或多种遗传异常二者,其中,存在所述一种或多种遗传异常表明所述患者预后不良并且所述克莱拉尼或其盐增加了具有所述突变的FLT3和所述一种或多种遗传异常二者的所述患者生存的机会。

15. 根据权利要求14所述的方法,其中,所述FLT3突变选自FLT3-ITD或FLT3-TKD中的至少一种。

16. 根据权利要求14或15所述的方法,其中,所述一种或多种遗传异常是非整倍性,单体性,三体性或多体性。

17. 根据权利要求14至16所述的方法,其中,所述一种或多种遗传异常是染色体畸变,染色体缺失,染色体重复,染色体易位,染色体倒位,染色体插入,染色体环或等臂染色体。

18. 根据权利要求14至17所述的方法,其中,所述一种或多种遗传异常包括选自以下中至少一种的驱动突变:NPM1、DNMT3A、NRAS、KRAS、JAK2、PTPN11、TET2、IDH1、IDH2、WT1、RUNX1、CEBPA、ASXL1、BCOR、SF3B1、U2AF1、STAG2、SETBP1、ZRSR2、GRB7、SRSF2、MLL、NUP98、ETV6、TCL1A、TUSC3、BRP1、CD36、TYK2或MUTYH。

19. 根据权利要求14至18所述的方法,其中,所述治疗有效量的克莱拉尼或其药学上可接受的盐通过口服、静脉内或腹膜内给药。

20. 根据权利要求14至19所述的方法,其中,所述治疗有效量的克莱拉尼或其药学上可接受的盐是:

以下中的至少一种:苯磺酸克莱拉尼、磷酸克莱拉尼、乳酸克莱拉尼、盐酸克莱拉尼、柠檬酸克莱拉尼、乙酸克莱拉尼、甲苯磺酸克莱拉尼和琥珀酸克莱拉尼;或者

与化疗药剂以序贯或同时方式中的至少一种,在新诊断的增殖性疾病中提供,以维持缓解,或在复发/难治性增殖性疾病中提供;或者

作为单一药剂或与化疗药剂组合提供,用于治疗增殖性疾病儿科患者;或者

与后标准诱导疗法或高剂量诱导疗法中的至少一种以序贯或同时方式中的至少一种,

在新诊断增殖性疾病中提供;或者

作为单一药剂在对于化疗剂难治的或在先前的化疗剂治疗之后复发的增殖性疾病的患者的治疗中提供。

21. 根据权利要求14至20所述的方法,其中所述患者对至少一种其他酪氨酸激酶抑制剂或化疗是难治的。

22. 一种治疗患有白血病的患者的方法,包括:

从怀疑有白血病的所述患者获得样品;

由所述患者样品确定所述患者具有失调FLT3受体或组成型激活FLT3受体;

进一步确定所述患者的白血病是否还特征在于额外的遗传异常;

以及

向需要这种治疗的所述患者给药治疗有效量的克萊拉尼或其盐,其中,所述白血病特征在于失调FLT3受体或组成型激活FLT3受体和导致预后不良的一种或多种遗传异常,其中,所述克萊拉尼增加具有所述失调FLT3受体或所述组成型激活FLT3受体和所述一种或多种遗传异常的所述患者的生存机会。

23. 根据权利要求22所述的方法,其中,所述白血病选自:霍奇金病;骨髓瘤;急性早幼粒细胞白血病(APL);慢性淋巴细胞白血病(CLL);慢性骨髓性白血病(CML);慢性中性粒细胞白血病(CNL);急性未分化白血病(AUL);间变性大细胞淋巴瘤(ALCL);幼淋巴细胞白血病(PML);幼年型髓单核细胞白血病(JMML);成人T细胞ALL;急性骨髓性白血病(AML),伴有三系骨髓增生异常(AMLITMDS);混合谱系白血病(MLL);骨髓增生异常综合征(MDS);骨髓增生性疾患(MPD);和多发性骨髓瘤(MM)。

24. 根据权利要求22或23所述的方法,其中,所述FLT3突变选自FLT3-ITD或FLT3-TKD中的至少一种。

25. 根据权利要求22至24所述的方法,其中,所述一种或多种遗传异常是非整倍性,单体性,三体性或多体性。

26. 根据权利要求22至25所述的方法,其中,所述一种或多种遗传异常是染色体畸变,染色体缺失,染色体重复,染色体易位,染色体倒位,染色体插入,染色体环或等臂染色体。

27. 根据权利要求22至26所述的方法,其中,所述一种或多种遗传异常包括选自以下中至少一种的驱动突变:NPM1、DNMT3A、NRAS、KRAS、JAK2、PTPN11、TET2、IDH1、IDH2、WT1、RUNX1、CEBPA、ASXL1、BCOR、SF3B1、U2AF1、STAG2、SETBP1、ZRSR2、GRB7、SRSF2、MLL、NUP98、ETV6、TCL1A、TUSC3、BRP1、CD36、TYK2或MUTYH。

28. 一种特异性抑制失调或组成型激活受体酪氨酸激酶的方法,包括:

获得样品;

确定哪种受体酪氨酸激酶失调或组成型激活;

确定存在一种或多种遗传异常中的哪种;

确定所述失调或组成型激活受体酪氨酸激酶和所述一种或多种遗传异常导致预后不良;以及

向需要这种治疗的哺乳动物给药治疗有效量的克萊拉尼或其盐,其中,所述克萊拉尼增加了具有所述失调FLT3受体或所述组成型激活FLT3受体和所述一种或多种遗传异常二者的哺乳动物的生存机会。

29. 根据权利要求28所述的方法, 其中, 所述失调FLT3受体选自FLT3-ITD或FLT3-TKD中的至少一种。

30. 根据权利要求28或29所述的方法, 其中, 所述一种或多种遗传异常是非整倍性、单体性、三体性或多体性。

31. 根据权利要求28至30所述的方法, 其中, 所述一种或多种遗传异常是染色体畸变、染色体缺失、染色体重复、染色体易位、染色体倒位、染色体插入、染色体环或等臂染色体。

32. 根据权利要求28至31所述的方法, 其中, 所述一种或多种遗传异常包括选自以下中至少一种的驱动突变: NPM1、DNMT3A、NRAS、KRAS、JAK2、PTPN11、TET2、IDH1、IDH2、WT1、RUNX1、CEBPA、ASXL1、BCOR、SF3B1、U2AF1、STAG2、SETBP1、ZRSR2、GRB7、SRSF2、MLL、NUP98、ETV6、TCL1A、TUSC3、BRP1、CD36、TYK2或MUTYH。

33. 根据权利要求28所述的方法, 其中, 以以下量提供所述治疗有效量的克莱拉尼或其盐:

以降低患者循环外周血原始细胞计数的量; 或者

以降低患者骨髓原始细胞计数的量; 或者

以每日约50至500mg, 每日100至450mg, 每日200至400mg, 每日300至500mg, 每日350至500mg, 或每日400至500mg的量; 或者

以连续, 间歇, 全身或局部中的至少一种递送的量。

34. 根据权利要求28至33所述的方法, 其中, 所述治疗有效量的克莱拉尼或其盐通过口服, 静脉内或腹膜内给药。

35. 根据权利要求28所述的方法, 其中, 所述克莱拉尼或其盐是以下中至少一种: 苯磺酸克莱拉尼、磷酸克莱拉尼、乳酸克莱拉尼、盐酸克莱拉尼、柠檬酸克莱拉尼、乙酸克莱拉尼、甲苯磺酸克莱拉尼和琥珀酸克莱拉尼。

36. 权利要求28至34所述的方法, 其中, 所述治疗有效量的克莱拉尼或其盐是以下中至少一种:

只要所述受试者需要治疗, 每天给药最多至三次或更多次; 或者与其他药剂以序贯提供或者同时方式中的至少一种, 在新诊断的增殖性疾病患者中提供, 以维持缓解, 或在复发/难治性增殖性疾病患者中提供; 或者

所述克莱拉尼或其盐作为单一药剂或与其他药剂组合, 在新诊断的增殖性疾病患者中提供, 以维持缓解, 在复发/难治性增生性疾病患者中提供; 或者

所述治疗有效量的克莱拉尼或其盐作为单一药剂或与其他药剂组合, 在新诊断的增殖性疾病儿科患者中提供以维持缓解, 或在复发/难治性增生性疾病儿科患者中提供。

37. 根据权利要求28至36所述的方法, 其中, 所述患者对先前的酪氨酸激酶抑制剂治疗复发/难治。

38. 一种治疗患者中FLT3突变型增殖性疾病的方法, 所述方法包括向所述患者给药治疗有效量的克莱拉尼或其药学上可接受的盐, 其中, 所述患者的QT间期(QTcF) > 450毫秒。

39. 根据权利要求38所述的方法, 其中, 所述克莱拉尼与其他已知延长所述患者QT间期的药剂序贯或同时给药。

40. 根据权利要求38至39所述的方法, 其中, 所述药剂是5-HT₃拮抗剂。

41. 根据权利要求40所述的方法, 其中, 所述5-HT₃拮抗剂是格拉司琼, 昂丹司琼或多拉

司琼。

42. 根据权利要求38所述的方法, 其中, 所述药剂是伊曲康唑, 酮康唑, 氟康唑, 咪康唑, 泊沙康唑, 奥美拉唑, 艾美拉唑, 泮托拉唑, 伏立康唑, 甲硝唑, 氟哌啶醇, 喷他咪, 胺碘酮, 环丙沙星, 左氧氟沙星, 莫西沙星, 阿奇霉素和他克莫司中的一种。

43. 一种治疗患者中FLT3突变型增殖性疾患的方法, 所述方法包括向所述患者给药治疗有效量的克萊拉尼或其药学上可接受的盐, 其中, 所述患者还患有心脏病症, 并且所述克萊拉尼不对所述心脏病症产生负面影响。

44. 根据权利要求43所述的方法, 其中, 所述心脏病症是高血压, 心绞痛, 急性心肌梗塞, 亚急性心肌梗塞或心律失常中的一种。

用于治疗FLT3突变型增殖性疾患相关突变的克萊拉尼

技术领域

[0001] 本发明一般地涉及一种药学上可接受的盐形式的克萊拉尼 (crenolanib) 用于治疗以特定酪氨酸激酶途径突变为特点的增殖性疾患用途, 以及一种治疗恒温动物, 优选人类的方法, 其中向患有所述增殖性疾患的受试者给药治疗有效剂量的克萊拉尼。

背景技术

[0002] 并不是限制本发明范围, 其背景以与蛋白激酶相关的形式描述。

[0003] 蛋白激酶是通过催化来自三磷酸核苷酸, 通常是三磷酸腺苷 (ATP) 的 γ 磷酸的转移并将它们共价附连到氨基酸残基丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸的游离羟基上来化学修饰其他蛋白质的酶。

[0004] 大约30%的所有人类蛋白质可被激酶活性修饰。蛋白激酶指导酶活性, 细胞定位和底物蛋白的主要功能/结合, 并调节细胞信号转导和细胞功能协调。

[0005] 研究表明, 正常或突变的蛋白激酶的异常表达通常与许多疾病的形成和传播有关。研究表明, 过度表达或不适当的蛋白激酶表达与癌症, 心血管疾病, 类风湿性关节炎, 糖尿病, 眼部疾病, 神经疾患和自身免疫性疾病有关。因此, 研究有效抑制蛋白激酶活性和功能的化合物将有助于更好地理解蛋白激酶的生理作用。

[0006] FMS样酪氨酸激酶3 (FLT3) 基因编码膜结合受体酪氨酸激酶, 其影响造血过程从而导致血液疾患和恶性病。请参阅: Drexler, HG et al. Expression of FLT3 receptor and response to FLT3 ligand by leukemic cells. *Leukemia*. 1996; 10: 588-599; Gilliland, DG and JD Griffin. The roles of FLT3 in hematopoiesis and leukemia. *Blood*. 2002; 100: 1532-1542; Stirewalt, DL and JP Radich. The role of FLT3 in hematopoietic malignancies. *Nat Rev Cancer*. 2003; 3: 650-665. FLT3受体酪氨酸激酶的激活通过FLT3配体 (FLT3L) 与在造血祖细胞和干细胞上表达的FLT3受体 (也称为干细胞酪氨酸激酶-1 (STK-1) 和胎肝激酶-2 (flk-2) 的结合而开始。

[0007] FLT3是血液恶性病中最常见的突变基因之一, 存在于约30%的成人急性骨髓性白血病 (AML) 中。请参阅: Nakao M, S Yokota and T Iwai. Internal tandem duplication of the FLT3 gene found in acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 1996; 10: 1911-1918; H Kiyoi, M Towatari and S Yokota. Internal Tandem duplication of the FLT3 gene is a novel modality of elongation mutation, which causes constitutive activation of the product. *Leukemia*. 1998; 12: 1333-1337; PD Kottaridis, RE Gale, et al. The presence of a FLT3 internal tandem duplication in patients with acute myeloid leukemia (AML) adds important prognostic information to cytogenetic risk group and response to the first cycle of chemotherapy: analysis of 854 patients from the United Kingdom Medical Research Council AML 10 and 12 trials. *Blood*. 2001; 98: 1742-1759; Yamamoto Y, Kiyoi H, Nakano Y. Activating mutation of D835 within the activation loop of FLT3 in human hematologic malignancies. *Blood*. 2001; 97: 2434-

2439;Thiede C,C Steudel,Mohr B.Analysis of FLT3-activating mutations in 979patients with acute myelogenous leukemia:association with FAB subtypes and identification of subgroups with poor prognosis.Blood.2002;99:4326-4335。在诊断为中度和高度风险骨髓增生异常综合征(MDS)的患者中,大约2%的患者检测到FLT3突变。请参阅:S Bains,Luthra R,Medeiros LJ and Zuo Z.FLT3and NPM1mutations in myelodysplastic syndromes:Frequency and potential value for predicting progression to acute myeloid leukemia.American Journal of Clinical Pathology.January 2011;135:62-69;PK Bhamidipati,Daver NG,Kantarjian H,et al.FLT3mutations in myelodysplastic syndromes(MDS)and chronic myelomonocytic leukemia(CMML).2012.Journal of Clinical Oncology.Suppl;abstract 6597。与MDS一样,急性早幼粒细胞白血病(APL)患者的FLT3突变数量很少。最常见的FLT3突变是内部串联重复(ITD),其导致FLT3受体的近膜结构域内的框内插入。在15-35%的成人AML患者中已报告存在FLT3-ITD突变。请参阅:Nakao M,S Yokota and T Iwai.Internal tandem duplication of the FLT3gene found in acute myeloid leukemia.Leukemia.1996;10:1911-1918;H Kiyoi,M Towatari and S Yokota.Internal Tandem duplication of the FLT3gene is a novel modality of elongation mutation,which causes constitutive activation of the product.Leukemia.1998;12:1333-1337;H Kiyoi,T Naoe and S Yokota.Internal tandem duplication of FLT3associated with leukocytosis in acute promyelocytic leukemia.Leukemia Study Group of the Ministry of Health and Welfare (Kohseisho).Leukemia.1997;11:1447-1452;S Schnittger,C Schoch and M Duga.Analysis of FLT3length mutations in 1003patients with acute myeloid leukemia:correlation to cytogenetics,FAB subtype,and prognosis in the AMLCG study and usefulness as a marker for the detection of minimal residual disease.Blood.2002;100:59-66.FLT3-ITD突变是患者预后不良的独立的预测因子,并且与标准化疗后复发风险增加和无疾病生存率和总体生存率降低有关。参见FM Abu-Duhier, Goodeve AC,Wilson GA,et al.FLT3internal tandem duplication mutations in adult acute myeloid leukemia define a high risk group.British Journal of Haematology.2000;111:190-195;H Kiyoi,T Naoe,Y Nakano,et al.Prognostic implication of FLT3and N-RAS gene mutations in acute myeloid leukemia.Blood.1999;93:3074-3080.FLT3受体激活环中出现FLT3点突变的频率较低。最常受影响的密码子是天冬氨酸835(D835)。D835残基的核苷酸取代发生在约5-10%的成人急性骨髓性白血病患者中。请参阅:DL Stirewalt and JP Radich.The role of FLT3in haematopoietic malignancies.Nature Reviews Cancer.2003;3:650-665;Y Yamamoto,H Kiyoi and Y Nakano,et al.Activating mutation of D835within the activation loop of FLT3in human hematologic malignancies.Blood.2001;97:2434-2439;C Thiede,Steudel C,Mohr B,et al.Analysis of FLT3-activating mutations in 979patients with acute myelogenous leukemia:association with FAB subtypes and identification of subgroups with poor prognosis.Blood.2002;99:4326-4335;U Bacher,Haferlach C,W Kern,et al.Prognostic relevance of FLT3-TKD mutations in

AML:the combination matters-an analysis of 3082patients.Blood.2008;111:2527-2537.

[0008] 成人AML患者中高频率的组成型激活突变的FLT3使得FLT3基因成为该肿瘤类型中极具吸引力的药物靶点。目前已经或正在研究针对该靶点具有不同程度的效力和选择性的几种FLT3抑制剂,并且在AML患者中试验。请参阅:T Kindler,Lipka DB,and Fischer T.FLT3as a therapeutic target in AML:still challenging after all these years.Blood.2010;116:5089-102。

[0009] 本领域已知的FLT3激酶抑制剂包括来他替尼 (Lestaurtinib) (也称作CEP 701,之前为KT-555,Kyowa Hakko,已授权给Cephalon);CHIR-258 (Chiron Corp.);EB10和IMC-EB10 (ImClone Systems Inc.);米唑妥林 (Midostaurin) (也称作PKC412,Novartis AG);坦度替尼 (Tandutinib) (也称作MLN-518,之前为COR Therapeutics Inc.的CT53518,已授权给Millennium Pharmaceuticals Inc.);舒尼替尼 (Sunitinib) (也称作SU11248,Pfizer USA);奎扎替尼 (Quizartinib) (也称作AC220,Ambit Biosciences);XL 999 (Exelixis USA,已授权给Symphony Evolution,Inc.);GTP 14564 (Merck Biosciences UK);AG1295和AG1296;CEP-5214和CEP-7055 (Cephalon)。以下的PCT国际申请和美国专利申请公开了其他激酶调节剂,包括FLT3调节剂:WO 2002032861、WO 2002092599、WO 2003035009、WO 2003024931、WO 2003037347、WO 2003057690、WO 2003099771、WO 2004005281、WO 2004016597、WO 2004018419、WO 2004039782、WO 2004043389、WO 2004046120、WO 2004058749、WO 2004058749、WO 2003024969和美国专利申请公布No.2004/0049032。请参阅:Levis M,KF Tse,et al.2001“A FLT3tyrosine kinase inhibitor is selectively cytotoxic to acute myeloid leukemia blasts harboring FLT3internal tandem duplication mutations.”Blood 98(3):885-887;Tse K F,et al.,Inhibition of FLT3-mediated transformation by use of a tyrosine kinase inhibitor.Leukemia.July 2001;15(7):1001-1010;Smith,B.Douglas et al,Single agent CEP-701,a novel FLT3inhibitor,shows biologic and clinical activity in patients with relapsed or refractory acute myeloid leukemia Blood,May 2004;103:3669-3676;Griswold,Ian J.et al.,Effects of MLN518,A Dual FLT3and KIT Inhibitor,on Normal and Malignant Hematopoiesis.Blood,Nov 2004;104(9):2912-2918[Epub ahead of print Jul 8];Yee,Kevin W.H.et al,SU5416and SU5614inhibit kinase activity of wild-type and mutant FLT3receptor tyrosine kinase.Blood,Oct 2002;100(8):2941-2949;O’Farrell,Anne-Marie et al.,SU11248is a novel FLT3tyrosine kinase inhibitor with potent activity in vitro and in vivo.Blood,May 2003;101(9):3597-3605;Stone,R.M et al.,PKC-412FLT3inhibitor therapy in AML:results of a phase II trials.Ann.Hematol.2004;83Suppl1:S89-90;以及Murata,K.et al.,Selective cytotoxic mechanism of GTP-14564,a novel tyrosine kinase inhibitor in leukemia cells expressing a constitutively active Fms-like tyrosine kinase 3 (FLT3).J Biol Chem.Aug.29,2003;278(35):32892-32898[Epub 2003Jun 18];Levis,Mark et al.,Small Molecule FLT3Tyrosine Kinase Inhibitors.Current Pharmaceutical Design,2004,10,1183-1193。

[0010] 上述抑制剂目前已经完成或正处于临床前阶段,或I期和II期试验中作为复发性AML的单药疗法研究,或复发性AML的III期联合疗法研究。尽管在临床前研究中报道了这些化合物成功抑制FLT3,但在临床阶段中FLT3突变型AML患者很少会获得完全缓解。对于大多数患者,临床反应非常短暂。AML临床试验的反应标准是改编自AML国际工作组。请参阅Cheson et al.Revised Recommendations of the International Working Group for Diagnosis,Standardization of Response Criteria,Treatment Outcomes,and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia.J Clin Oncol.2003;21:4642-4649。有反应者是获得完全反应(CR)、血液计数未完全恢复情况下的完全反应(Cri),或部分缓解(RR)的患者。简言之,标准如下:

[0011] 1.完全缓解(CR):

[0012] a.外周血计数:

[0013] i.无循环原始细胞(blast)

[0014] ii.中性粒细胞计数 $\geq 1.0 \times 10^9/L$

[0015] iii.血小板计数 $\geq 100 \times 10^9/L$

[0016] b.骨髓穿刺和活检:

[0017] i. $\leq 5\%$ 原始细胞

[0018] ii.无棒状小体(Auer rods)

[0019] iii.无髓外白血病

[0020] 2.血计数未完全恢复情况下的完全缓解(Cri):

[0021] a.外周血细胞计数:

[0022] i.无循环的原始细胞

[0023] ii.中性粒细胞计数 $< 1.0 \times 10^9/L$,或者

[0024] iii.血小板计数 $< 100 \times 10^9/L$

[0025] b.骨髓穿刺和活检:

[0026] i. $\leq 5\%$ 的原始细胞

[0027] ii.无棒状小体

[0028] iii.无髓外白血病

[0029] 3.部分缓解:

[0030] a.如果治疗前有异常,则需满足除以下之外的所有CR标准:

[0031] b.骨髓原始细胞降低 $\geq 50\%$,但仍 $> 5\%$

[0032] 至今,FLT3抑制剂的临床反应主要限制在清除外周血(PB)原始细胞,其经常会在数周内回升,而骨髓(BM)原始细胞则大部分未受影响。例如,使用先前提到的具有针对突变的FLT3活性的多激酶抑制剂索拉非尼(sorafenib)治疗,虽然有效清除外周血原始细胞,但仅仅中度降低骨髓原始细胞。请参阅:G Borthakur et al.Phase I study of sorafenib in patients with refractory or relapsed acute leukemias.Haematologica.Jan 2011;96:62-8.Epub2010Oct 15.骨髓原始细胞百分数在AML诊断和分类中发挥关键作用。骨髓中升高的原始细胞比例的存在与显著短的总生存期相关。请参阅:Small D.FLT3mutations:biology and treatment.Hematology Am Soc Hematol Educ Program.2006:178-84;HM Amin et al.Having a higher blast percentage in

circulation than bone marrow:clinical implications in myelodysplasia syndrome and acute lymphoid and myeloid leukemias. *Leukemia*.2005;19:1567-72。为有效治疗 FLT3 突变型 AML 患者并克服在这类患者人群中尚未满足的需要,需要一种抑制剂,其显著耗尽外周血和骨髓中原始细胞,将高危和重度预治疗的患者桥接至干细胞移植,并帮助降低早期疾病患者的复发率和提高早期疾病患者的总生存期。

[0033] 独立于患者的 FLT3 状态,遗传异常——包括复发性突变、染色体非整倍性和结构异常——在表征白血病,在帮助确定疾病侵袭性,治疗反应和预后方面历史上发挥了关键作用。在下表中,“有利风险”疾病与最高达 65% 的长期生存率相关,“中度风险”疾病与约为 25% 的长期生存率相关,“不良风险”疾病与低于 10% 的长期生存率相关。参见 VanderWalde, A., “Genetics of Acute Myeloid Leukemia,” 可从 <http://emedicine.medscape.com/article/1936033-overview> (最后更新于 2016 年 4 月 1 日) 获得。

[0034]

风险组	遗传异常
有利风险	t(8;21) (q22;q22.1); RUNX1-RUNX1T1 inv(16) (p13.1;q22) 或者 t(16;16)(p13.1;q22); CBFB-MYH11 没有 FLT3-ITD 或者 FLT3-ITD ^低 的突变的 NPM1 双等位基因突变的 CEBPA
中度风险	突变的 NPM1 和 FLT3-ITD ^高 没有 FLT3-ITD 或者 FLT3-ITD ^低 的野生型 NPM1 (没有不利风险的遗传病变) t(9;11)(p21.3;q23.3); MLLT3-KMT2A 细胞遗传学异常未被分类为有利或不利
不良风险	T(6;9)(p23;q34.1); DEK-NUP214 t(v;11q23.3); KMT2A 重排 t(9;22)(q34.1;q11.2); BCR-ABL1 inv(3)(q21.3q26.2)或 t(3;3)(q21.3;q26.2); GATA2, MECOM(EVI1) -5 或 del(5q); -7; -17/abn(17p) 复杂核型, 单体核型 野生型 NPM1 和 FLT3-ITD ^高 突变的 RUNX1 突变的 ASXL1 突变的 TP53

[0035] 参阅: Döhner, H., et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood*. 2016; 129: 424-447。

[0036] 此外,在 AML 的背景下,临床医生和研究人员最近开始逐渐从形态分类方案转变为通过致病基因组变化得到的分类方案。参阅: Papaemmanuil, E., et al. Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 2016; 374: 2209-2221。值得注意的是,最近对 1540 例 AML 患者的分析揭示了 5234 例“驱动突变”(使用被

广泛接受的癌症相关基因的遗传标准),涉及这些患者中的76个基因或区域,其突变频率与先前研究中发现的一致。这些驱动突变包括复发性融合基因,非整倍性和白血病基因突变(例如碱基取代和小(200-bp)插入或缺失),所有这些都发现对个体患者预后有影响。在96%的患者样品中确定出至少1个驱动突变,在86%的患者样品中发现2个或更多个驱动突变。这种全面的分析导致确定了先前未确定的白血病相关基因,以及这些患者样品中的复杂共突变模式,表明根据更新的基因组分类方案评估未来AML患者的预后的更新需求。因此,根据这项综合研究,提出了11个基因组亚组。

[0037] 这些患者样品中的总体生存率与驱动突变的数量相关,与年龄和细胞计数无关。通过旨在探索遗传,临床和诊断变量对总体生存率的相对贡献的多变量模型,来确定基因组特征是总体患者生存率的最有力的预测因子。

[0038] 因此,该研究表明在鉴定的基因组亚组中临床表现和总体生存率存在相当大的差异。这一发现以及个体突变的预后效应因其他驱动突变的存在与否而显著改变的发现表明,有必要评估AML患者中存在的许多驱动突变,以提供更全面的个体患者预后。

[0039] 在1540位患者分析中鉴定的所提出的基因组亚组之一依赖于TP53的存在,复杂的核型改变,非整倍性或其组合。该TP53/非整倍性亚组患者的特点为年龄较大,原始细胞较低,并且对诱导治疗的反应较差。一种这样的非整倍性,即染色体8三体性(发生在10-15%的AML患者中),已经被描述为“具有潜在的隐性畸变的疾病调节性继发事件,如除了已知的导致临床异质性和改变预后的异常外,其被经常报告的那样”,并且已经在AML患者中作为不良或中间预后因素交替关联。请参阅:Bakshi,S.,et al.Trisomy8in leukemia:A GCRI experience.Indian J Hum Genet.2012;18:106-108。

[0040] 此外,发现某些复杂的基因相互作用,例如NPM1,DNMT3A和FLT3-ITD之间的三向相互作用,放大了单独存在的基因突变的有害作用。也就是说,FLT3-ITD最有害的作用在伴随NPM1和DNMT3A突变的患者中最具临床相关性;在没有这些突变的情况下,FLT3-ITD对患者预后的有害作用明显不太显著。这样的观察结果提示,与突变热点/簇(如FLT3)的临床关联可以通过共突变基因的差异来调节。

[0041] 因此,已经证明其他驱动损伤(包括基因突变,染色体非整倍性,融合基因和复杂核型)的存在或不存在,提供比单独一个驱动突变的患者状态更全面的患者预后分析。鉴于这种背景,开发能够克服这些特别严峻的患者预后的疗法的需求具有新的重要性。

[0042] 本发明试图克服现有技术的缺点。

发明内容

[0043] 在一种实施方式中,本发明包括一种用于治疗FLT3突变型增殖性疾患的方法,包括:测量从获得自患者的肿瘤样品获得的样品中的突变的FLT3或组成型激活FLT3突变体的表达、以及一种或多种遗传异常,其中一种或多种遗传异常的存在表明患者预后不良;向患者给药治疗有效剂量的克萊拉尼(crenolanib)或其药学上可接受的盐,其中克萊拉尼增加了具有突变的FLT3或组成型激活FLT3突变体和一种或多种遗传异常的患者的生存机会。在一个方面,一种或多种遗传异常选自RUNX1或WT1基因突变中的至少一种。在另一方面,一种或多种遗传异常由FLT3-ITD、DNMT3A和NPM1基因中的突变组成。在另一方面,一种或多种遗传异常是染色体8三体性或染色体13三体性中的至少一种。在另一方面,增殖性疾患选自于

以下中的至少一种：白血病、骨髓瘤、骨髓增生性疾病、骨髓增生异常综合征、特发性高嗜酸性粒细胞综合征 (HES)、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、CNS癌、结肠癌、食道癌、头颈部癌、肝癌、肺癌、鼻咽癌、神经内分泌癌、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、肾癌、唾液腺癌、小细胞肺癌、皮肤癌、胃癌、睾丸癌、甲状腺癌、子宫癌和血液恶性病。另一方面，额外的遗传异常是非整倍性，单体性，三体性或多体性。另一方面，一种或多种遗传异常是染色体畸变、染色体缺失、染色体重复、染色体易位、染色体倒位、染色体插入、染色体环或等臂染色体。在另一个方面，一种或多种遗传异常是除了突变的FLT3之外的驱动突变。另一方面，驱动突变选自于以下中至少一种：NPM1、DNMT3A、NRAS、KRAS、JAK2、PTPN11、TET2、IDH1、IDH2、WT1、RUNX1、CEBPA、ASXL1、BCOR、SF3B1、U2AF1、STAG2、SETBP1、ZRSR2、GRB7、SRSF2、MLL、NUP98、ETV6、TCL1A、TUSC3、BRP1、CD36、TYK2或MUTYH。另一方面，克莱拉尼或其药学上可接受的盐的治疗有效量为每日约50至500mg，每日100至450mg，每日200至400mg，每日300至500mg，每日350至500mg，或每日400至500mg；或者治疗有效剂量的克莱拉尼或其药学上可接受的盐以连续，间歇，全身或局部中的至少一种给药；或者，治疗有效剂量的克莱拉尼或其药学上可接受的盐通过口服，静脉内或腹膜内给药。另一方面，克莱拉尼或其药学上可接受的盐为苯磺酸克莱拉尼、磷酸克莱拉尼、乳酸克莱拉尼、盐酸克莱拉尼、柠檬酸克莱拉尼、乙酸克莱拉尼、甲苯磺酸克莱拉尼和琥珀酸克莱拉尼。另一方面，治疗有效剂量的克莱拉尼或其药学上可接受的盐是：每天给药最多至三次或更多，只要受试者需要治疗增殖性疾病；或者与其他药剂以序贯或同时方式中的至少一种方式，在新诊断为增殖性疾病的患者中提供以维持目前患者的缓解，或在复发性/难治性增殖性疾病患者中提供；或者作为单一药剂或与其他药剂组合，在新诊断为增殖性疾病的患者中提供以维持缓解，或在复发性/难治性增殖性疾病患者中提供；或者作为单一药剂或与其他药剂组合，在新诊断为增殖性疾病儿科患者中提供，以维持缓解，或在复发性/难治性增殖性疾病儿科患者中提供。另一方面，该患者对其他酪氨酸激酶抑制剂或化疗复发/难治。

[0044] 在一种实施方式中，本发明包括一种治疗患有增殖性疾病患者的方法，包括：鉴定需要治疗增殖性疾病的患者以及向该患者给药治疗有效量的克莱拉尼或其盐，其中增殖性疾病的特征为FLT3受体酪氨酸激酶活性失调，其中增殖性疾病可以选自以下中至少一种：白血病、骨髓瘤、骨髓增生性疾病、骨髓增生异常综合征、特发性高嗜酸性粒细胞综合征 (HES)、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、CNS癌、结肠癌、食道癌、头颈部癌、肝癌、肺癌、鼻咽癌、神经内分泌癌、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、肾癌、唾液腺癌、小细胞肺癌、皮肤癌、胃癌、睾丸癌、甲状腺癌、子宫癌和血液恶性病；并且其中患者包括失调FLT3受体酪氨酸激酶和一种或多种遗传异常，其中一种或多种遗传异常的存在表明患者预后不良并且克莱拉尼或其盐增加了具有突变的FLT3和一种或多种遗传异常二者的患者生存的机会。在一方面，FLT3突变选自FLT3-ITD或FLT3-TKD中的至少一种。在另一方面，一种或多种遗传异常是非整倍性，单体性，三体性或多体性。另一方面，一种或多种遗传异常是染色体畸变，染色体缺失，染色体重复，染色体易位，染色体倒位，染色体插入，染色体环或等臂染色体。另一方面，一种或多种遗传异常包括驱动突变，该驱动突变选自于以下中至少一种：NPM1、DNMT3A、NRAS、KRAS、JAK2、PTPN11、TET2、IDH1、IDH2、WT1、RUNX1、CEBPA、ASXL1、BCOR、SF3B1、U2AF1、STAG2、SETBP1、ZRSR2、GRB7、SRSF2、MLL、NUP98、ETV6、TCL1A、TUSC3、BRP1、CD36、TYK2或MUTYH。另一方面，可通过口服、静脉内或腹膜内给药治疗有效量的克莱拉尼或其药学上可接受的盐。另

一方面,治疗有效克萊拉尼或其药學上可接受的盐是:苯磺酸克萊拉尼、磷酸克萊拉尼、乳酸克萊拉尼、盐酸克萊拉尼、柠檬酸克萊拉尼、乙酸克萊拉尼、甲苯磺酸克萊拉尼和琥珀酸克萊拉尼中的至少一种;或者与其他化疗剂以序贯或同时的方式中的至少一种方式,在新诊断增殖性疾病中提供,以维持缓解,或在复发性/难治性增殖性疾病中提供;或者作为单一药剂或与其他化疗剂组合提供,用于治疗增殖性疾病的儿科患者;或与后标准诱导疗法或高剂量诱导疗法中的至少一种以序贯或同时的方式中的至少一种,在新诊断增殖性疾病中提供;作为单一药剂在患有对于化疗剂难治的或在先前的化疗剂治疗之后复发的增殖性疾病的患者的治疗中提供。另一方面,该患者对于其他酪氨酸激酶抑制剂或化疗中的至少一种难治。

[0045] 在另一种实施方式中,本发明包括一种治疗患有白血病患者方法,包括:从疑似白血病患者获得样品;根据患者样品确定患者具有失调FLT3受体或者组成型激活FLT3受体;进一步确定患者的白血病是否还以额外的遗传异常为特点;并向需要这种治疗的患者给药治疗有效量的克萊拉尼或其盐,其中该白血病的特点为失调FLT3受体或者组成型激活FLT3受体和导致预后不良一种或多种遗传异常,其中克萊拉尼增加了具有失调FLT3受体或者组成型激活FLT3受体和一种或多种遗传异常二者的患者生存的机会。一方面,白血病选自:霍奇金病;骨髓瘤;急性早幼粒细胞白血病(APL);慢性淋巴细胞白血病(CLL);慢性骨髓性白血病(CML);慢性中性粒细胞白血病(CNL);急性未分化白血病(AUL);间变性大细胞淋巴瘤(ALCL);幼淋巴细胞白血病(PML);幼年型髓单核细胞白血病(JMML);成人T细胞ALL;急性骨髓性白血病(AML),伴有三系骨髓增生异常(AML/TMDS);混合谱系白血病(MLL);骨髓增生异常综合征(MDS);骨髓增生性疾患(MPD);和多发性骨髓瘤(MM)。另一方面,FLT3突变选自FLT3-ITD或FLT3-TKD中的至少一种。在另一方面,一种或多种遗传异常是非整倍性,单体性,三体性或多体性。另一方面,一种或多种遗传异常是染色体畸变,染色体缺失,染色体重复,染色体易位,染色体倒位,染色体插入,染色体环或等臂染色体。另一方面,一种或多种遗传异常包括驱动突变,该驱动突变选自于以下中至少一种:NPM1、DNMT3A、NRAS、KRAS、JAK2、PTPN11、TET2、IDH1、IDH2、WT1、RUNX1、CEBPA、ASXL1、BCOR、SF3B1、U2AF1、STAG2、SETBP1、ZRSR2、GRB7、SRSF2、MLL、NUP98、ETV6、TCL1A、TUSC3、BRP1、CD36、TYK2或MUTYH。

[0046] 在另一实施方式中,本发明包括一种特异性抑制失调或者组成型激活受体酪氨酸激酶的方法,包括:获得样品;确定哪些受体酪氨酸激酶是失调或者为组成型激活;确定存在哪一种或更多种遗传异常;确定失调或者组成型激活受体酪氨酸激酶和导致预后不良的一种或者多种遗传异常;向需要这种治疗的哺乳动物给药治疗有效量的克萊拉尼或其盐;其中克萊拉尼增加了具有失调FLT3受体或者组成型激活FLT3受体和一种或多种遗传异常二者的哺乳动物生存的机会。一方面,失调FLT3受体选自FLT3-ITD或FLT3-TKD中的至少一种。在另一方面,一种或多种遗传异常是非整倍性,单体性,三体性或多体性。另一方面,一种或多种遗传异常是染色体畸变,染色体缺失,染色体重复,染色体易位,染色体倒位,染色体插入,染色体环或等臂染色体。另一方面,一种或多种遗传异常包括选自于以下至少一种的驱动突变:NPM1、DNMT3A、NRAS、KRAS、JAK2、PTPN11、TET2、IDH1、IDH2、WT1、RUNX1、CEBPA、ASXL1、BCOR、SF3B1、U2AF1、STAG2、SETBP1、ZRSR2、GRB7、SRSF2、MLL、NUP98、ETV6、TCL1A、TUSC3、BRP1、CD36、TYK2或MUTYH。另一方面,以以下方式提供治疗有效量的克萊拉尼或其盐:以降低患者循环外周血原始细胞计数的量;或以减少患者骨髓原始细胞计数的量;或以

每日约50至500mg,每日100至450mg,每日200至400mg,每日300至500mg,每日350至500mg,或每日400至500mg的量;或者以连续,间歇,全身或局部的至少一种方式递送的量。一方面,通过口服、静脉内或腹膜内给药治疗有效量的克莱拉尼或其盐。另一方面,克莱拉尼或其盐是苯磺酸克莱拉尼、磷酸克莱拉尼、乳酸克莱拉尼、盐酸克莱拉尼、柠檬酸克莱拉尼、乙酸克莱拉尼、甲苯磺酸克莱拉尼和琥珀酸克莱拉尼中的至少一种。另一方面,治疗有效量的克莱拉尼或其盐是下列中的至少一种:只要受试者需要治疗,每天给药最多至三次或更多次;或者以序贯或同时的方式中的至少一种方式与其他药剂组合,在新诊断为增殖性疾病患者中提供,以维持缓解,或在复发性/难治性增殖性疾病患者中提供;或者克莱拉尼或其盐作为单一药剂或与其他药剂组合,在新诊断为患增殖性疾病的患者中提供,以维持缓解,或在复发性/难治性增殖性疾病患者中提供;和/或治疗有效量的克莱拉尼或其盐作为单一药剂或与其他药剂组合,在新诊断增殖性疾病儿科患者中提供,以维持缓解,或在复发性/难治性增殖性疾病儿科患者中提供。另一方面,该患者对先前的酪氨酸激酶抑制剂复发或难治。

[0047] 在又另一种实施方式中,本发明包括治疗患者中FLT3突变型增殖性疾患的方法,该方法包括向患者给药治疗有效量的克莱拉尼或其药学上可接受的盐,其中患者具有QT间期(QTcF) >450毫秒。在一个方面,克莱拉尼与已知延长患者QT间期的其他药剂序贯或同时施用。另一方面,该药剂是5-HT₃拮抗剂。另一方面,5-HT₃拮抗剂是格拉司琼(granisetron)、昂丹司琼(odansetron)或多拉司琼(dolasetron)。另一方面,所述药剂是伊曲康唑(itraconazole),酮康唑(ketoconazole),氟康唑(fluconazole),咪康唑(miconazole),泊沙康唑(posaconazole),奥美拉唑(omeprazole),埃索美拉唑(esomeprazole),泮托拉唑(pantoprazole),伏立康唑(voriconazole),甲硝唑(metronidazole),氟哌啶醇(haloperidol),喷他脒(pentamidine),胺碘酮(amiodarone),环丙沙星(ciprofloxacin),左氧氟沙星(levofloxacin),莫西沙星(moxifloxacin),阿奇霉素(azithromycin)和他克莫司(tacrolimus)中的一种。

[0048] 在又另一种实施方式中,本发明包括治疗患者中FLT3突变型增殖性疾患的方法,该方法包括向患者给药治疗有效量的克莱拉尼或其药学上可接受的盐,其中患者还患有心脏病症,且克莱拉尼不会对心脏病症有负面影响。在一个方面,心脏病症是高血压,心绞痛,急性心肌梗塞,亚急性心肌梗塞或心律失常中的一种。

[0049] 在一种实施方式中,本发明包括治疗FLT3突变型增殖性疾患的方法,该FLT3突变型增殖性疾患还以患者的额外的遗传异常为特点,其包括向患者给药治疗有效量的克莱拉尼或其药学上可接受的盐。

[0050] 本发明的另一种实施方式包括治疗患有增殖性疾病的患者的方法,包括:鉴定需要治疗的增殖性疾病的患者,并向需要这种治疗的患者给药治疗有效量的克莱拉尼或其盐,其中增殖性疾病以失调FLT3受体酪氨酸激酶活性为特点,选自以下至少一种:白血病、骨髓瘤、骨髓增生性疾病、骨髓增生异常综合征、特发性高嗜酸性粒细胞综合症(HES)、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、CNS癌症、结肠癌、食道癌、头颈癌、肝癌、肺癌、鼻咽癌、神经内分泌癌、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、肾癌、唾液腺癌、小细胞肺癌、皮肤癌、胃癌、睾丸癌、甲状腺癌、子宫癌和血液恶性病;并且其进一步的特点为患者中的额外的遗传异常。

[0051] 本发明的又另一实施方式包括治疗患有白血病的患者的方法,包括:从怀疑患有白血病的患者获得样品;根据患者样品确定患者具有失调FLT3受体;进一步确定患者的白

血病是否还以额外的遗传异常为特点;对需要这种治疗的患者给药治疗有效量的克莱拉尼或其盐,其中该白血病的特点为失调FLT3受体酪氨酸激酶活性和额外的遗传异常。

[0052] 本发明的又另一种实施方式包括特异性抑制失调受体酪氨酸激酶的方法,其进一步的特点在于额外的遗传异常,包括:获得患者样品;确定哪种受体酪氨酸激酶失调;确定存在哪些其他遗传异常;向需要这种治疗的哺乳动物给药治疗有效量的克莱拉尼或其盐,其中失调受体酪氨酸激酶是FLT3受体酪氨酸激酶。在一个方面,FLT3受体酪氨酸激酶进一步定义为组成型激活突变的FLT3。本发明的内容不一定描述了本发明的所有必要特征。

附图说明

[0053] 不适用。

具体实施方式

[0054] 虽然下文详细描述本发明各种实施方式的制作和使用,但应该理解,本发明提供了许多可适用的发明构思,它们可以体现为各种特定的内容。本文中讨论的特定实施方式仅是制作和使用本发明具体方式的示例,不限制本发明的范围。

[0055] 下文定义了许多术语以帮助理解本发明。本文定义的术语具有本发明相关领域的普通技术人员通常理解的含义。术语诸如“一”、“一个”和“该”不应仅指单数实体,而是包括可用于说明的具体实例的一般类。本文的术语用于描述本发明的具体实施方式,但利用它们并不限制本发明,除了在权利要求中描述的。

[0056] 本发明包括本发明化合物治疗受试者中与FLT3激酶活性或表达有关的疾患的用途。

[0057] 克莱拉尼(4-哌啶胺,1-[2-[5-(3-甲基-3-氧杂环丁烷)甲氧基]-1H-苯并咪唑-1-基]-8-喹啉基))以及其药学上可接受的盐,是对组成型激活FLT3突变(包括FLT3ITD和FLT3TKD突变)有选择性的蛋白酪氨酸激酶抑制剂。与技术中现有的FLT3抑制剂不同,已显示克莱拉尼的苯磺酸盐形式可非常有效地消耗重度预治疗的FLT3突变型AML患者中循环外周血原始细胞以及骨髓原始细胞百分率,而没有显着增加患者QT延长。目前正在研究克莱拉尼在治疗患有复发性或难治性组成型激活FLT3突变型原发性AML或继发于骨髓增生异常综合征的AML的患者中用途。

[0058] 通过正在进行的临床试验,目前正在开发对克莱拉尼在伴随FLT3突变以及其他细胞遗传学或分子异常的患者中的功效的分析。

[0059] 克莱拉尼的安全性和耐受性在2003年11月至2006年9月期间在具有晚期实体瘤的重度预治疗患者的临床I期首次人体剂量递增单药研究中进行了评估(方案A5301001;参见N Lewis et al., J Clin Oncol. 2009; 27: p5262-5269)。招募了59名患者并完成了该研究。大多数治疗相关的不良事件为1级或2级严重程度。没有累积毒性的证据。在每日一次60-200mg范围的较低药物剂量治疗的患者中,观察到的最常见的不良事件是1级恶心和呕吐,通常在给药后大约45分钟发生。这些患者中没有3级或4级毒性。在每日一次280mg和340mg的高剂量下,肝酶升高是最严重的副作用。在停用克莱拉尼后,肝酶水平恢复正常。本发明已经证明,对于被诊断患有组成型激活FLT3突变型复发或难治性AML的人类患者每天三次给药100mg苯磺酸克莱拉尼并不总是导致肝酶升高。参见本患者应用的实施例部分中的实

施例二。它还表明,当肝酶升高时,可通过停止药物约1周并以每天三次80mg的减量剂量重新开始克萊拉尼来减少肝酶水平。

[0060] 尽管接受了克萊拉尼剂量,但在临床I期剂量递增安全性研究中治疗的59名患者中均未观察到2/3/4级QT延长。类似地,在目前正在进行的儿科神经胶质瘤试验中,其中24名儿童用克萊拉尼的苯磺酸盐形式治疗,基线QT延长和治疗中QT延长没有显著差异。同样地,本发明没有显示在每天三次向被诊断为组成型激活FLT3突变型复发或难治性AML的人类患者给药100mg苯磺酸克萊拉尼后QT延长的病例。本领域已知的其他FLT3抑制剂引起显著的QTc延长,导致严格的临床研究纳入和排除标准以预防严重的不良事件。例如,两项单独的奎扎替尼(quizartinib) AML研究显示该化合物引起显著的Q延长。在76名患者I期单药剂研究中,在FLT3野生型和FLT3 ITD突变型的复发和难治性AML两方面对该化合物的评估将QT延长确定为剂量限制性毒性。参见:J Cortes et al.AC220,a potent,selective, second generation FLT3receptor tyrosine kinase (RTK) inhibitor,in a first-in-human (FIH) phase I AML study.Blood (ASH Annual Meeting Abstracts) 2009Nov.。此外,来自62例FLT3ITD激活突型复发或难治性AML患者的奎扎替尼单药治疗II期试验的临时数据表明,无症状QT延长是最常见的(>19%) 药物相关不良事件之一。所有等级的QT延长发生在21名(34%) 患者中。记录的QT间期延长事件中多于一半是3级(18%)。将奎扎替尼的起始剂量减少超过30%并未减轻所有QT延长的病例。参见J Cortes et al.A phase II open-label,AC220monotherapy efficacy study in patients with refractory/relapsed FLT3-ITD positive acute myeloid leukemia:updated interim results.Blood (ASH Annual Meeting Abstracts) 2011Dec.。

[0061] 如本文所用,术语“预后不良”是指生存机会降低(例如,总体生存率、无复发生存率或无转移生存率降低)。例如,预后不良导致生存机会降低,包括从诊断或首次治疗或缓解的时间起算的生存时间等于或少于60个月,诸如50个月,40个月,30个月,20个月,12个月,6个月或3个月。

[0062] 相反,“预后良好”是指生存机会增加,例如总体生存率、无复发生存率或无转移生存率增加。例如,良好的预后具有增加的生存机会,包括从诊断时起至少60个月的生存时间,诸如从诊断或首次治疗时间开始的60个月,80个月,100个月,120个月,150个月或更长的生存时间。

[0063] 可以使用本领域已知的任何合适的方法进行突变的FLT3和/或一种或多种遗传异常的检测。例如,可以通过使用核酸扩增方法(诸如RT-PCR)或高通量测序(即“下一代测序(next-generation sequencing)”)检测核酸分子(诸如DNA)来完成基因突变的检测。还可以使用检测结构和数值变化的核型分析或原位杂交来检测染色体异常。

[0064] 在突变的FLT3肿瘤中,表达的改变或一种或多种遗传异常的存在,诸如例如染色体易位、缺失、替代基因剪接、编码或内含子-外显子边界区域内的突变或缺失,可以导致预后可测量的降低。除了预先存在的FLT3突变之外,本文公开的额外的遗传异常显著降低了患者的预后。预后不良可以指任何负面临床结果,例如但不限于生存可能性降低(例如总生存率,无复发生存率或无转移生存率),生存时间减少(例如,少于5年,或少于一年),恶性肿瘤的存在,疾病严重程度的增加,对治疗的反应的降低,肿瘤复发的增加,转移的增加等。在特定的实例中,预后不良是生存机会降低(例如,生存时间从诊断或首次治疗的时间起等于

或小于60个月,诸如50个月,40个月,30个月,20个月,12个月,6个月或3个月。

[0065] 在该方法的其他实施方式中,肿瘤样品中相对于对照的一种或多种遗传异常(除FLT3突变之外)的存在表明该肿瘤患者的预后不良。该方法包括检测导致预后不良的一种或多种遗传异常的存在,包括例如非整倍性(例如,单体性,三体性或多体性),染色体畸变(例如,缺失,复制,易位,倒位,插入,环或等臂染色体),或驱动突变的存在,例如NPM1、DNMT3A、NRAS、KRAS、JAK2、PTPN11、TET2、IDH1、IDH2、WT1、RUNX1、CEBPA、ASXL1、BCOR、SF3B1、U2AF1、STAG2、SETBP1、ZRSR2、GRB7、SRSF2、MLL、NUP98、ETV6、TCL1A、TUSC3、BRP1、CD36、TYK2或MUTYH。

[0066] 如本文所用,短语“导致癌症的突变”和“驱动突变”可互换使用,指的是存在于癌组织中并且能够诱导细胞癌发生的突变。通常,如果在癌组织中发现突变,其中不存在其他已知的致癌基因突变(换句话说,如果突变以与已知致癌基因突变互斥的方式存在),那么可以确定该突变是导致癌症的突变,因此,是“驱动突变”。

[0067] 在该方面的一个实施方式中,本发明提供了降低或抑制受试者中FLT3的激酶活性的方法,包括向受试者给药本发明化合物的步骤。

[0068] 如本文所用,术语“受试者”或“患者”可互换使用,是指已成为医学治疗,观察或实验对象的动物,诸如哺乳动物或人。

[0069] 在该方面的一种实施方式中,本发明提供了降低或抑制受试者中FLT3的激酶活性的方法,包括向受试者给药本发明化合物的步骤。

[0070] 术语“受试者”是指已经作为治疗,观察或实验对象的动物,诸如哺乳动物或人。

[0071] 在该方面的其它实施方式中,本发明提供了治疗患有由突变型FLT3的异常激酶活性驱动的细胞增殖性疾患的受试者的治疗方法。在一种实施例中,本发明提供了治疗与突变型FLT3有关的细胞增殖性疾患的方法,包括向受试者给药包括本发明化合物的治疗有效量的药物组合物。所述治疗剂可以在FLT3驱动的特征性症状出现时给药,从而使疾病或疾患得到治疗。

[0072] 如本文所用,术语“治疗有效量”指研究人员、兽医、医生或其它临床医师所寻求的,引发受试者中生物学或药理学反应的活性化合物或药物盐的量,所述反应包括缓解所治疗疾病或疾患的症状。

[0073] 用于测定包含本发明化合物的药物组合物的治疗有效剂量的方法是本领域已知的。

[0074] 如本文所用,术语“组合物”旨在涵盖包含特定量的特定成分的产品,以及直接或间接由特定量的特定成分的组合产生的任何产品。

[0075] 如本文所用,术语“FLT3有关的疾患”或“FLT3受体有关的疾患”或“FLT3受体酪氨酸激酶有关的疾患”或“FLT3驱动的特征性疾患”包括与FLT3活性相关或涉及FLT3活性的疾病,例如,导致FLT3组成型活化的突变。“FLT3相关疾病”的实例包括FLT3突变造成的FLT3过度刺激所致的疾患,或者由于FLT3异常高量的突变造成FLT3活性异常高量所致的疾患。已知FLT3的过度活性涉及许多疾病的发病机理,包括下列列出的细胞增殖性疾患,肿瘤疾患和癌症。

[0076] 术语“细胞增殖性疾患”指多细胞生物中一种或多种细胞亚组的过量细胞增殖,从而对该多细胞生物造成伤害(即,不适或预期寿命降低)。细胞增殖性疾患可在不同类型的

动物和人中发生。本文所用的“细胞增殖性疾患”包括肿瘤疾患。

[0077] 本文所用的术语“肿瘤疾患”指异常或不受控细胞生长所致肿瘤。肿瘤疾患的实例包括但不限于以下疾病,例如:骨髓增殖性疾患,诸如血小板减少症、原发性血小板增多症(ET)、特发性骨髓外化生、骨髓纤维化(MF)、骨髓纤维化伴有骨髓外化生(MMM)、慢性特发性骨髓纤维化(UIMF)和真性红细胞增多症(PV)、血细胞减少症及恶变前骨髓增生异常综合征;癌症,诸如神经胶质瘤癌症、肺癌、乳腺癌、结肠直肠癌、前列腺癌、胃癌、食道癌、结肠癌、胰腺癌、卵巢癌和血液恶性病,包括骨髓增生异常、多发性骨髓瘤、白血病和淋巴瘤。血液恶性病的实例包括,例如白血病、淋巴瘤、霍奇金病和骨髓瘤。还有急性淋巴细胞性白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、急性早幼粒细胞性白血病(APL)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、慢性中性粒细胞性白血病(CNL)、急性未分化性白血病(AUL)、间变性大细胞淋巴瘤(ALCL)、幼淋巴细胞性白血病(PML)、幼年型髓单核细胞白血病(JMML)、成人T细胞ALL、AML,伴有三系骨髓增生异常(AMLITMDS)、混合谱系白血病(MLL)、骨髓增生异常综合征(MDS)、骨髓增殖性疾患(MPD)和多发性骨髓瘤(MM)。

[0078] 突变的FLT3,组成型激活FLT3突变体的表达和一种或多种遗传异常可以使用标准分子生物学技术确定,包括RNA或DNA水平的测序、蛋白质表达、蛋白质功能、RNA、DNA和/或蛋白质的存在或不存在,该技术如本领域技术人员所知,遵循以下教导,例如标准的测序技术(包括下一代测序(NGS))、克隆、RNA和DNA分离、扩增和纯化、染色体异常的检测和鉴定,以及各种分离技术是各种本领域技术人员已知和普遍采用。许多标准技术在以下描述: Sambrook et al. (1989) *Molecular Cloning*, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory, Plainview, N.Y.; Maniatis et al. (1982) *Molecular Cloning*, Cold Spring Harbor Laboratory, Plainview, N.Y.; Wu (ed.) (1993) *Meth. Enzymol.* 218, Part I; Wu (ed.) (1979) *Meth. Enzymol.* 68; Wu et al. (eds.) (1983) *Meth. Enzymol.* 100 and 101; Grossman and Moldave (eds.) *Meth. Enzymol.* 65; Miller (ed.) (1972) *Experiments in Molecular Genetics*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y.; Old and Primrose (1981) *Principles of Gene Manipulation*, University of California Press, Berkeley; Schleif and Wensink (1982) *Practical Methods in Molecular Biology*; Glover (ed.) (1985) *DNA Cloning Vol. I and II*, IRL Press, Oxford, UK; Hames and Higgins (eds.) (1985) *Nucleic Acid Hybridization*, IRL Press, Oxford, UK; Setlow and Hollaender (1979) *Genetic Engineering: Principles and Methods*, Vols. 1-4, Plenum Press, New York; Fitch et al. (1993) *Annu. Rev. Microbiol.* 47: 739-764; Tolstoshev, et al. (1993) in *Genomic Research in Molecular Medicine and Virology*, Academic Press; and Ausubel et al. (1992) *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene/Wiley, New York, N.Y.. 使用的缩写和命名被认为是本领域的标准,并且通常用于专业期刊,诸如本文引用的那些期刊。上述技术可用于检测遗传异常,诸如非整倍性、单倍性、三倍性或多倍性;染色体畸变,例如缺失、重复、易位、倒位、插入、环或等臂染色体中的一种或多种。其他遗传异常包括驱动突变,例如选自以下中至少一种: NPM1、DNMT3A、NRAS、KRAS、JAK2、PTPN11、TET2、IDH1、IDH2、WT1、RUNX1、CEBPA、ASXL1、BCOR、SF3B1、U2AF1、STAG2、SETBP1、ZRSR2、GRB7、SRSF2、MLL、NUP98、ETV6、TCL1A、TUSC3、BRP1、CD36、TYK2或MUTYH,它们都来自于人或动物,其名称可从Genecards.com获得,它们的当前登录号、序列和探针通过

引用并入本文。

[0079] 在另一实施方式中,本发明可与其他疗法组合为组合治疗以便治疗或抑制受试者中FLT3相关的细胞增殖性疾患的发作。组合治疗包括给药治疗有效量的本发明化合物和一种或多种其它抗细胞增殖疗法,其它抗细胞增殖疗法包括但不限于化疗和放疗。

[0080] 在本发明的一种实施方式中,本发明化合物可与化疗组合给药。本文所用的化疗指涉及化疗剂的疗法。各种化疗剂可与本发明联用。仅是举例,紫杉烷化合物,特别是多西他赛与本发明化合物以每平方米身体表面积75mg的剂量(mg/m^2)组合安全给药。

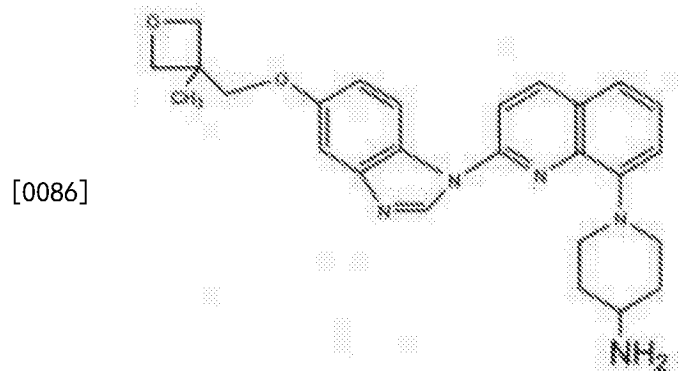
[0081] 化疗是本领域技术人员已知的。化疗的合适剂量和方案类似于临床治疗中已经采用的那些,其中所述化疗与其它疗法组合递送或单独使用。

[0082] 在本发明的另一实施方式中,本发明化合物可与放射疗法组合给药。本文所用的“放射疗法”指包括将有需要的受试者暴露于放射的疗法。放射疗法是本领域技术人员已知的。放射疗法的合适剂量和方案类似于临床治疗中已经采用的那些,其中所述放射疗法与其它疗法组合递送或单独使用。

[0083] 在本发明的另一实施方式中,本发明化合物与靶向疗法组合给药。本文所用的“靶向疗法”指靶向参与肿瘤发展或致癌信号传导的特定类型蛋白质的疗法。例如,抗血管内皮生长因子的酪氨酸激酶抑制剂已用于治疗癌症。

[0084] 本发明还包括方法,该方法包括使用除了本发明化合物之外的第二药剂,二者同时或序贯(以任何顺序)给药。

[0085] 在一种实施方式中,本发明的治疗有效量的具有化学式I的化合物:



[0087] 或其药学上可接受的盐或溶剂化物,以治疗或预防有效量对抗增殖性疾病,该增殖性疾病选自以下中的至少一种:白血病、骨髓瘤、骨髓增生性疾病、骨髓增生异常综合征、特发性高嗜酸性粒细胞综合症(HES)、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、CNS癌、结肠癌、食道癌、头颈部癌、肝癌、肺癌、鼻咽癌、神经内分泌癌、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、肾癌、唾液腺癌、小细胞肺癌、皮肤癌、胃癌、睾丸癌、甲状腺癌、子宫癌和血液恶性病。药学上可接受的盐(包括盐酸盐、磷酸盐和乳酸)以与苯磺酸盐类似的方式制备,并已为现有技术人员熟知。

[0088] 本发明中的化合物可全身给药于受试者,例如口服、静脉内、皮下、肌肉、皮内或胃肠外。还可以对受试者局部给药本发明中的化合物。

[0089] 本发明中的化合物可配制成缓释或速释剂,目的是保持本发明中的化合物与靶向组织接触所需时间范围。

[0090] 适合于口服给药的组合物包括固体形式,诸如丸、药片、囊片、胶囊、颗粒和粉末,液体形式,诸如溶液、乳剂和混悬液。用于胃肠外给药的形式包括无菌溶液、乳剂和混悬剂。

[0091] 本发明化合物的每日剂量可在每名成年人类每日50至500mg的宽范围内变化。对于口服给药,优选以包含20至100毫克的片剂形式提供组合物。本发明的化合物可以以每日最多达3次或更多次的方案给药。优选每日3次。本领域的技术人员可确定最佳给药剂量,其随着所使用本发明的化合物、给药方式、给药时间、制剂强度和疾病情况详情而变化。需要根据与患者特点相关的因素来调整剂量,诸如年龄、体重和饮食。

[0092] 本发明的化合物的制备。用于制备式I的化合物的一般性合成方法在以下中提供: 详见美国专利No.5,990,146 (1999年11月23日授权) (Warner-Lambert Co.) 以及PCT公布的申请编号W0 99/16755 (1999年4月8日公布) (Merck&Co.) W0 01/40217 (2001年7月7日公布) (Pfizer, Inc.), 美国专利申请No.US 2005/0124599 (Pfizer, Inc.) 以及美国专利No.7,183,414 (Pfizer, Inc.), 相关部分通过引用并入本文。

[0093] 药学上可接受的盐,例如盐酸盐、磷酸盐和乳酸盐以类似于苯磺酸盐的方式制备,并且其是本领域普通技术人员熟知的。本发明的下列代表化合物仅作示例,而非限制本发明的范围,包括克莱拉尼,如苯磺酸克莱拉尼、磷酸克莱拉尼、乳酸克莱拉尼、盐酸克莱拉尼、柠檬酸克莱拉尼、乙酸克莱拉尼、甲苯磺酸克莱拉尼和琥珀酸克莱拉尼。

[0094] 实施例内容

[0095] 实施例A: 来自新诊断患者的白血病原始细胞除了FLT3-ITD突变以外,还携带NPM1和DNMT3A基因突变。在诱导联合化疗后序贯给药苯磺酸克莱拉尼之后,患者骨髓原始细胞减少至小于5%。

[0096] 实施例B: 来自新诊断患者的白血病原始细胞除了FLT3-ITD突变以外,还携带RUNX1基因突变。在诱导联合化疗后序贯给药苯磺酸克莱拉尼之后,患者骨髓原始细胞减少至小于5%并且桥接至同种异体造血干细胞移植(HSCT)。

[0097] 实施例C: 来自新诊断患者的白血病原始细胞除了FLT3-ITD突变以外,还携带RUNX1基因突变和含有染色体8三体性和染色体13三体性的异常核型。在诱导联合化疗后序贯给药苯磺酸克莱拉尼之后,患者骨髓原始细胞减少至小于5%并且桥接至同种异体造血干细胞移植(HSCT)。

[0098] 实施例D: 来自复发/难治性患者的白血病原始细胞中除了FLT3-ITD突变以外,还携带染色体8三体性和(6;9)易位的异常核型。在挽救性组合化疗后序贯给药苯磺酸克莱拉尼之后,患者骨髓原始细胞减少至小于5%。

[0099] 实施例E: 来自新诊断患者的白血病原始细胞中除了FLT3-ITD突变以外,还携带WT1基因突变。在诱导联合化疗后序贯给药苯磺酸克莱拉尼之后,患者骨髓原始细胞减少至小于5%并且桥接至同种异体造血干细胞移植(HSCT)。

[0100] 实施例F: 来自先前TKI失败的复发/难治性患者的白血病原始细胞中除了FLT3-ITD突变以外,还携带WT1基因突变。经苯磺酸克莱拉尼单一疗法后,患者骨髓原始细胞减少至小于5%。

[0101] 实施例G: 来自先前TKI失败的复发/难治性患者的白血病原始细胞中除了FLT3-ITD突变以外,还携带异常的复杂核型。在诱导联合化疗后序贯给药苯磺酸克莱拉尼之后,患者骨髓原始细胞减少至小于5%并且桥接至同种异体造血干细胞移植(HSCT)。

[0102] 实施例H: 来自先前TKI失败的复发/难治性患者的白血病原始细胞中除了FLT3-ITD突变以外,还携带NPM1、DNMT3A和WT1基因突变以及异常的复杂核型。经苯磺酸克莱拉尼

单一疗法后,患者骨髓原始细胞减少至小于10%。

[0103] 实施例A:苯磺酸克萊拉尼疗法对具有正常核型具有FLT3-ITD、NPM1和DNMT3A突变的新诊断的AML患者的效果:实现骨髓原始细胞减少至小于5%并且血液学恢复。

[0104] 一名54岁的女性被诊断出患有AML并且FLT3-ITD突变和FLT3-TKD突变均为阳性。患者的白血病原始细胞也携带NPM1和DNMT3A基因突变。由于FLT3-ITD、NPM1和DNMT3A的突变被定性为独立的驱动突变,并且与预后特别差相关,患者表现出该三重突变使得她处于AML患者的显著高风险组,与反应率不良,累积复发率增加,以及生存缩短相关联。预计有一半的携带这些突变的患者会在诊断1年内死亡。参见Papaemmanuil, E., “Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia,” New England J. Med. Vol. 374, No. 23, pp. 2209-2221 (9 June 2016)。

[0105] 在诊断时,发现患者有63%的骨髓原始细胞。在诊断后,在新诊断的AML患者的临床试验(NCT02283177)中向患者提供口服苯磺酸克萊拉尼。该患者最初接受诱导化疗,包括七天的阿糖胞苷和三天的柔红霉素;在第10天,患者开始一日三次100mg苯磺酸克萊拉尼的疗法。

[0106] 在临床试验的第35天进行的骨髓活检显示患者的骨髓原始细胞减少至小于5%,归类为完全缓解。患者在疗法开始后超过一年仍然生存且无疾病。

[0107] 下表A显示了克萊拉尼清除实施例A(具有正常核型具有FLT3-ITD、NPM1和DNMT3A突变的新诊断AML患者,用化疗和苯磺酸克萊拉尼治疗后)的骨髓中恶性白血病和维持恶性白血病清除状态的能力。

[0108]

临床试验天数	骨髓原始细胞 (%)
0	63%
35	< 5%
238	< 5%
294	< 5%
406	< 5%

[0109] 实施例B:苯磺酸克萊拉尼疗法对具有正常核型具有FLT3-ITD和RUNX1突变的新诊断AML患者的效果:实现骨髓原始细胞减少至小于5%并且血液学恢复。

[0110] 一名23岁的女性被诊断出患有AML并且FLT3-ITD、RUNX1和DNMT3A突变均为阳性。FLT3-ITD和RUNX1突变均独立地将她归类为高风险AML患者,其与反应率不良,累积复发率增加,以及生存缩短相关。

[0111] 在诊断时,发现患者有70%的骨髓原始细胞。在诊断后,在新诊断的AML患者的临床试验(NCT02283177)中向患者提供口服苯磺酸克萊拉尼。该患者最初接受诱导化疗,包括

七天的阿糖胞苷和三天的柔红霉素；在第9天，患者开始一日三次100mg苯磺酸克莱拉尼的疗法。

[0112] 在临床试验的第36天进行的骨髓活检显示患者的骨髓原始细胞减少至小于5%，归类为完全缓解。患者在治疗开始后超过600天仍然生存且无疾病。用标准疗法治疗的携带RUNX1突变的患者中，只有不到15%的患者可以无疾病生存超过600天。参见：Mendler, J., RUNX1 Mutations Are Associated With Poor Outcome in Younger and Older Patients With Cytogenetically Normal Acute Myeloid Leukemia and With Distinct Gene and MicroRNA Expression Signatures. J Clin. Oncol. 2012;30:3109-3118。

[0113] 下表B显示了克莱拉尼清除实施例B (具有正常核型具有FLT3-ITD和RUNX1突变的新诊断AML患者，用化疗和苯磺酸克莱拉尼治疗后) 的骨髓中恶性白血病和维持恶性白血病清除状态的能力。

[0114]

临床试验天数	骨髓原始细胞 (%)
0	70%
36	< 5%
96	< 5%
120	< 5%

[0115] *由于患者保持缓解，因此在第120天后研究没有进行额外的骨髓活检。

[0116] 实施例C：苯磺酸克莱拉尼疗法对具有FLT3-ITD和RUNX1突变、染色体8三体性、和染色体13三体性的新诊断AML患者的效果：实现骨髓原始细胞减少至小于5%并且血液学恢复。

[0117] 一名34岁的女性被诊断出患有AML并且FLT3-ITD和RUNX1突变均为阳性。这些突变均独立地将她归类为高风险AML患者，其与反应率不良，累积复发率增加，以及生存缩短相关。

[0118] 该患者还显示出异常核型，特点为出现染色体8三体性和染色体13三体性。染色体8三体性特点为独立的驱动突变，与AML的其他驱动突变特点 (诸如患者的FLT3突变状态) 分离和分开并且该突变本身独立地与预后不良相关。染色体13三体性也是一个独立的，不良的预后因素，并且与RUNX1突变密切相关。参见：Dicker, F., et al. Trisomy 13 is strongly associated with AML1/RUNX1 mutations and increased FLT3 expression in acute myeloid leukemia. Blood. 2007;110:1308-1316。患者呈现出这些组合的突变和细胞遗传学特点，使得该患者处于比单独的FLT3-ITD突变风险更高的组。

[0119] 在诊断时，发现患者有81%的骨髓原始细胞。在诊断后，在新诊断的AML患者的临床试验 (NCT02283177) 中向患者提供口服苯磺酸克莱拉尼。该患者最初接受诱导化疗，包括七天的阿糖胞苷和三天的柔红霉素；在第9天，患者开始一日三次100mg苯磺酸克莱拉尼的

疗法。

[0120] 在临床试验的第36天进行的骨髓活检显示患者的骨髓原始细胞减少至小于5%，归类为完全缓解，并且再也检测不到FLT3-ITD和RUNX1突变的存在。核型分析还揭示患者现在表现出正常的核型，未检测到克隆异常，包括在基线检测到的染色体8三体性和染色体13三体性。患者在治疗开始后超过500天仍然生存且无疾病。用标准疗法治疗携带这些突变的患者中，不到10%的患者可以无疾病生存超过500天。参见：Herold,T., Isolated trisomy 13 defines a homogeneous AML subgroup with high frequency of mutations in spliceosome genes and poor prognosis. Blood. 2014;124:1304-1311。

[0121] 下表C显示了克莱拉尼清除在实施例C (具有FLT3-ITD和RUNX1突变、染色体8三体性和染色体13三体性的新诊断AML患者，用化疗和苯磺酸克莱拉尼治疗后) 的骨髓中恶性白血病和维持恶性白血病清除状态的能力。

[0122]

临床试验天数	骨髓原始细胞 (%)
0	81%
36	< 5%
74	< 5%
144	< 5%

[0124] *由于患者保持缓解，因此在第144天后研究没有进行额外的骨髓活检。

[0125] 实施例D: 苯磺酸克莱拉尼疗法对具有FLT3-ITD突变、染色体8三体性和 (6;9) 易位的复发/难治性AML患者的效果: 实现骨髓原始细胞减少至小于5%并且血液学恢复。

[0126] 一名75岁的男性被诊断出患有AML并且FLT3-ITD突变为阳性且携带 (6;9) 易位，二者均将他归类为高风险AML患者群体，其与治疗反应率不良，累积复发率增加，以及生存缩短相关。参见：Papaemmanuil,E., et al. Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia. N Engl J Med. 2016;374:2209-2221。

[0127] 诊断后，患者最初接受诱导化疗。患者在大约7个月后复发，骨髓原始细胞百分比为39%。

[0128] 进一步的遗传学分析表明除了初始诊断时存在的FLT3-ITD突变和 (6;9) 易位以外，患者还获得染色体8三体性的染色体异常。染色体8三体性表征为独立的驱动突变，与AML的其他驱动突变特点 (诸如该患者的FLT3突变状态和 (6;9) 易位) 分离和分开，并且染色体8三体性本身与预后不良相关。患者表现出这三个特点使得该患者处于风险显著较高的组中。

[0129] 在复发时，在复发或难治性AML患者的临床试验中 (NCT02626338) 向患者提供口服苯磺酸克莱拉尼。该患者最初用挽救性化疗治疗，包括6天的阿糖胞苷和3天的米托蒽醌；在

第8天,患者开始一日三次100mg苯磺酸克萊拉尼疗法。

[0130] 在临床试验的第34天进行的骨髓活检显示患者的骨髓原始细胞减少至小于5%,归类为完全缓解。进一步的分析表明患者现在表现出正常的雄性核型。患者保持缓解超过400天。用标准疗法治疗携带这些突变的患者中,不到10%的患者预计可以生存超过400天。参见:Levis,M.,et al.Results from a randomized trial of salvage chemotherapy followed by lestaurtinib for patients with FLT3mutant AML in first relapse.Blood.2011;117:3294-3301。

[0131] 下表D显示了克萊拉尼清除实施例D(具有FLT3-ITD突变、染色体8三体性和(6;9)易位的复发/难治性AML患者,用挽救化疗和苯磺酸克萊拉尼治疗后)的骨髓中恶性白血病和维持恶性白血病清除状态的能力。

[0132]

临床试验天数	骨髓原始细胞 (%)
0	39%
34	< 5%
115	< 5%

[0133] *由于患者保持缓解,因此在第115天后研究没有进行额外的骨髓活检。

[0134] 实施例E:苯磺酸克萊拉尼疗法对具有FLT3-ITD和WT1突变具有正常核型的新诊断AML患者的效果:实现骨髓原始细胞减少至小于5%并且血液学恢复。

[0135] 一名22岁的女性被诊断出患有AML并且FLT3-ITD、WT1和NPM1突变均为阳性。FLT3-ITD和NPM1突变二者均独立地将她归类为高风险AML患者,其与反应率不良,累积复发率增加,以及生存缩短相关。

[0136] 在诊断时,发现患者有65%的骨髓原始细胞。在诊断后,在新诊断的AML患者的临床试验(NCT02283177)中向患者提供口服苯磺酸克萊拉尼。该患者最初接受诱导化疗,包括七天的阿糖胞苷和三天的伊达比星;在第12天,患者开始一日三次100mg苯磺酸克萊拉尼的疗法。

[0137] 在临床试验的第34天进行的骨髓活检显示患者的骨髓原始细胞减少至小于5%,归类为完全缓解。患者在治疗开始后超过700天仍然生存且无疾病。用标准疗法治疗的具有WT1突变的患者中,不到15%的患者预计可以无疾病生存超过700天。参阅:Paschka,P.,et al.Wilms' Tumor 1Gene Mutations Independently Predict Poor Outcome in Adults With Cytogenetically Normal Acute Myeloid Leukemia:A Cancer and Leukemia Group B Study.J Clin Oncol.2008;26:4595-4602。

[0138] 下表E显示了克萊拉尼清除实施例E(具有FLT3-ITD和WT1突变具有正常核型的新诊断AML患者,用化疗和苯磺酸克萊拉尼治疗后)骨髓中恶性白血病和维持恶性白血病清除状态的能力。

[0139]

临床试验天数	骨髓原始细胞 (%)
0	65%
34	< 5%
82	< 5%
196	< 5%

[0140] 实施例F: 苯磺酸克萊拉尼疗法对具有FLT3-ITD和WT1突变具有正常核型的复发/难治性AML患者的效果: 实现骨髓原始细胞减少至小于5%并且血液学恢复。

[0141] 一名72岁女性被诊断患有AML, 最初接受诱导化疗。大约四个月后, 患者复发并用多种挽救疗法治疗, 包括多激酶抑制剂米哚妥林 (midostaurin) (由于存在FLT3-ITD突变)。在同种异体干细胞移植后六周, 患者再次复发。患者多次复发以及先前激酶抑制剂治疗的病史, 将该患者归类于高风险组。

[0142] 进一步分析显示患者具有FLT3-ITD基因以及WT1基因的突变。由于WT1突变与预后不良和治疗失败有关, FLT3-ITD和WT1突变的共同发生使患者处于甚至更高风险组。参阅: Paschka, P., et al. Wilms' Tumor 1 Gene Mutations Independently Predict Poor Outcome in Adults With Cytogenetically Normal Acute Myeloid Leukemia: A Cancer and Leukemia Group B Study. J Clin Oncol. 2008; 26: 4595-4602。

[0143] 在同种异体干细胞移植后复发时, 在复发或难治性AML患者的临床试验 (NCT01657682) 中, 向患者提供口服苯磺酸克萊拉尼。患者开始每天200mg/m²的苯磺酸克萊拉尼的疗法。

[0144] 在临床试验的第54天进行的骨髓活检显示患者的骨髓原始细胞减少至小于5%, 归类为完全缓解。

[0145] 下表F显示了克萊拉尼清除实施例F (先前TKI失败具有FLT3-ITD和WT1突变的复发/难治性AML患者) 的骨髓中恶性白血病的能力。

[0146]

临床试验天数	骨髓原始细胞 (%)
0	15%
29	12%
54	< 5%

[0147] 实施例G: 苯磺酸克萊拉尼疗法对具有FLT3-ITD突变和复杂核型的复发/难治性

AML患者的效果:实现骨髓原始细胞减少至小于5%并且血液学恢复。

[0148] 一名43岁的女性被诊断出患有AML并且FLT3-ITD突变阳性。患者对包括诱导化疗和索拉非尼(一种酪氨酸激酶抑制剂)的初始疗法没有反应。该患者在初始治疗结束时有19%的骨髓原始细胞,这表明她仍然是FLT3-ITD突变阳性,并且还表现出由染色体15单体性、染色体21三体性、染色体11三体性、双着丝粒和衍生染色体组成的异常核型。FLT3-ITD突变和复杂核型均独立地将她归类为高风险AML患者,其与反应率差,累积复发率增加和生存缩短相关。参见Papaemmanuil,E.,“Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia,”New England J.Med.Vol.374,No.23,pp.2209-2221 (9June 2016)。

[0149] 然后在复发或难治性AML患者的临床试验(NCT02400281)中为患者提供口服苯磺酸克萊拉尼。该患者最初接受了挽救性化疗,包括四天的阿糖胞苷和三天的伊达比星;在第5天,患者开始一日三次100mg苯磺酸克萊拉尼的疗法。

[0150] 在临床试验的第20天进行的骨髓活检显示患者的骨髓原始细胞减少至小于5%,归类为完全缓解。患者保持缓解超过200天。用标准疗法治疗的具有这些突变的复发/难治性患者中,不到20%预期可以实现完全缓解。参阅:Levis,M.,et al.Results from a randomized trial of salvage chemotherapy followed by lestaurtinib for patients with FLT3mutant AML in first relapse.Blood.2011;117:3294-3301。

[0151] 下表G显示了克萊拉尼清除实施例G(先前TKI失败的具有FLT3-ITD突变和复杂核型的复发/难治性AML患者,用挽救性化疗和苯磺酸克萊拉尼治疗后)的骨髓中恶性白血病的

能力。

[0152]

临床试验天数	骨髓原始细胞 (%)
0	19%
20	< 5%

[0153] 实施例H:苯磺酸克萊拉尼疗法对具有带FLT3-ITD突变和复杂核型的复发/难治性AML患者的效果:实现骨髓原始细胞减少至小于10%并且有血液学恢复。

[0154] 一名48岁的女性被诊断出患有FLT3-ITD突变阳性的AML并且具有正常的雌性核型,最初用诱导化疗治疗。大约7个月后,患者复发并接受了多种挽救治疗,包括化疗和酪氨酸激酶抑制剂索拉非尼。患者对这些疗法没有反应,并且在治疗后有46%的骨髓原始细胞,这些原始细胞的FLT3-ITD,FLT3-TKD,NPM1,DNMT3A和WT1突变呈阳性。同时存在FLT3-ITD,NPM1和DNMT3A突变以及WT1突变二者均使患者处于高风险组。患者进一步表现出异常的复杂核型,特点为(1;6),(4;19)和(10;15)易位。由于复杂的核型被表征为独立的驱动突变,与AML其他驱动突变特点(诸如患者的FLT3突变状态)分离和分开,并且本身与预后不良相关,患者呈现出的这三组特点将其处于显著更高风险组。

[0155] 然后在复发或难治性AML患者中向患者提供单剂克萊拉尼的口服苯磺酸克萊拉尼(NCT01657682)。患者开始每天200mg/m²的苯磺酸克萊拉尼的疗法。

[0156] 在临床试验的第29天进行的骨髓活检显示患者的骨髓原始细胞减少至7%,归类

为部分缓解。

[0157] 下表H显示了克莱拉尼显著降低实施例H(先前TKI失败的具有FLT3-ITD和WT1突变和复杂核型的复发/难治性AML的患者)的骨髓中恶性白血病的能力。

[0158]

临床试验天数	骨髓原始细胞(%)
0	46%
29	7%

[0159] 对于本发明的任何方法、试剂盒、试剂或组合物,可实施本说明书讨论的任何实施方式是预期的,反之亦然。此外,可利用本发明的组合物实施本发明的方法。

[0160] 应该理解,本文所述的特定实施方式是为说明目的显示,不是对本发明的限制。本发明的主要特征可用于各种实施方式中而不脱离本发明的范围。本领域技术人员会认识到或能够使用不超出常规的实验来确定本文所述具体流程的许多等价物。此类等价物应视作落在本发明的范围内并被权利要求所覆盖。

[0161] 说明书述及的所有出版物和专利申请说明了本发明所属领域的技术人员的技术水平。所有出版物和专利申请均通过引用并入本文,其程度如同提到的每个单独的出版物或专利申请被具体和单独地通过引用并入。

[0162] 当与权利要求和/或说明书中的术语“包括”结合使用时,使用词语“一”或“一个”可以表示“一个”,但它也与“一个或多个”、“至少一个”和“一个或多于一个”的含义一致。。在权利要求中使用术语“或”用于表示“和/或”,除非明确指出仅指替代物或者替代物相互排斥,尽管本公开支持仅指替代物以及“和/或”的定义。本申请通篇使用术语“约”表明某数值包括用于测定该数值的方法、装置的固有误差,或研究对象之间存在的变化。

[0163] 如在本说明书和权利要求书中所使用的,词语“包括(comprising)”(和任何形式的包括,例如“包括(comprise)”和“包括(comprises)”),“具有(having)”(和任何形式的具有,例如“具有(have)”和“具有(has)”),“包括(including)”(以及任何形式的包括,例如“包括(includes)”和“包括(include)”)或“包含(containing)”(以及任何形式的含有,例如“包含(contains)”和“包含(contain)”)是包容性的或开放式的,不排除额外的未述及的其他元素或方法步骤。在本文提供的任何组合物和方法的实施方式中,“包括”可以用“基本上由.....组成”或“由.....组成”代替。如本文所用,短语“基本上由.....组成”需要指定的整体或步骤以及不实质上影响要求保护的发明的特征或功能的那些整体或步骤。如本文所用,术语“由.....组成”用于表示存在所述整体(例如,特征,元素,特点,性质,方法/过程步骤或限制)或整体的组(例如,仅限于特征,元素,特点,性质,方法/过程步骤或限制)。

[0164] 本文所用的术语“或其组合”指该术语之前所列项目的排列和组合。例如,“A、B、C或其组合”应包括以下中至少一种:A、B、C、AB、AC、BC或ABC,如果在特定情况中顺序是至关重要的,还包括BA、CA、CB、CBA、BCA、ACB、BAC或CAB。继续该实例,明显包括的含有一个或多个项目或术语的重复的组合,例如BB、AAA、AB、BBC、AAABCCCC、CBAAAA、CABABB等等。本领域

域技术人员应理解,任何组合中项目或术语的数量通常不作限制,除非上下文中明显有限制。

[0165] 如本文所用,近似词语,例如但不限于“约”、“实质性”或“实质性地”指这样一种条件:当如此修饰时,应理解为不必是绝对的或完美的,但被认为足够接近那些的条件以至于本领域普通技术人员保证能指定该条件为存在。该描述可以变化的程度将取决于可以设置多大的变化,并且仍然使本领域普通技术人员认识到修改的特征仍然具有未修改特征的所需特点和能力。一般而言,但是根据前述讨论,被近似词语,例如“约”修饰的数值可自所述值改变至少±1、2、3、4、5、6、7、10、12或15%。

[0166] 根据本公开,无需过度的实验即可以制备和实施本文公开和要求保护的所有组合物和/或方法。虽然根据优选的实施方式描述了本发明的组合物和方法,本领域技术人员应该明白可对组合物和/或方法以及本文所述的步骤或步骤顺序作出改变而不脱离本发明的构思、精神和范围。对本领域技术人员是显而易见的所有此类相似的替代和修改应视作落在随附权利要求限定的本发明精神、范围和构思内。

[0167] 对于每个权利要求,每个从属权利要求可以依附于独立权利要求和每个先前从属权利要求(对于每个和所有权利要求)只要先前权利要求为权利要求项或要素提供适当的先行基础即可。

[0168] 参考文献

[0169] DREXLER,et al.“Expression of FLT3 receptor and response to FLT3ligand by leukemic cells”Leukemia.April 10,1996;10:588-599 (ABSTRACT ONLY)

[0170] GILLILAND,et al.“The roles of FLT3 in hematopoiesis and leukemia.”Blood.Sept.1,2002;100:1532-1542

[0171] STIREWALT,et al.“The role of FLT3 in haematopoietic malignancies”Nature Reviews Cancer.2003;3:650-665

[0172] NAKAO,et al.ABSTRACT ONLY:“Internal tandem duplication of the FLT3 gene found in acute myeloid leukemia.”Leukemia.1996;10:1911-1918

[0173] KIYOI,et al.“Internal tandem duplication of the FLT3 gene is a novel modality of elongation mutation which causes constitutive activation of the product”Leukemia.1998;12:1333-1337

[0174] KOTTARIDIS,et al.“The presence of a FLT3 internal tandem duplication in patients with acute myeloid leukemia (AML) adds important prognostic information to cytogenetic risk group and response to the first cycle of chemotherapy:analysis of 854 patients from the United Kingdom Medical Research Counsel AML 10 and 12 trials”Blood.Sept.15,2001;98:1742-1759

[0175] YAMAMOTO,et al.“Activating mutation of D835 within the activation loop of FLT3 in human hematologic malignancies”Blood.2001;97:2434-2439

[0176] THIEDE,et al.“Analysis of FLT3-activating mutations in 979 patients with acute myelogenous leukemia:association with FAB subtypes and identification of subgroups with poor prognosis”Blood.2002;99:4326-4335

[0177] BAINS,et al.“FLT3 and NPM1 mutations in myelodysplastic syndromes:

Frequency and potential value for predicting progression to acute myeloid leukemia"American Journal of Clinical Pathology.January 2011;135:62-69

[0178] BHAMIDPATI,et al."FLT3 mutations in myelodysplastic syndromes (MDS) and chronic myelomonocytic leukemia (CMML).2012.Journal of Clinical Oncology.Suppl;abstract 6597

[0179] KIYOI,et al."Internal tandem duplication of FLT3 associated with leukocytosis in acute promyelocytic leukemia"Leukemia Study Group of the Ministry of Health and Welfare (Kohseisho).Leukemia.1997;11:1447-1452

[0180] SCHNITTGER,et al."Analysis of FLT3 length mutations in 1003patients with acute myeloid leukemia:correlation to cytogenetics,FAB subtype,and prognosis in the AMLCG study and usefulness as a marker for the detection of minimal residual disease"Blood.2002;100:59-66

[0181] ABU-DUHIER,et al."FLT3 internal tandem duplication mutations in adult acute myeloid leukemia define a high-risk group"British Journal of Hematology.June 7,2000;111:190-195

[0182] KIYOI et al."Prognostic implication of FLT3 and N-RAS gene mutations in acute myeloid leukemia"Blood.May 1,1999;93:3074-3080

[0183] BACHER,et al."Prognostic relevance of FLT3-TKD mutations in AML:the combination matters-an analysis of 3082 patients"Blood.March 1,2008;111:2527-2537

[0184] KINDLER,et al."FLT3 as a therapeutic target in AML:still challenging after all these years"Blood.Dec.9,2010;116:5089-102

[0185] LEVIS,et al."A FLT3 tyrosine kinase inhibitor is selectively cytotoxic to acute myeloid leukemia blasts harboring FLT3 internal tandem duplication mutations"Blood.August 1,2001;98 (3) :885-887

[0186] SMITH,et al.Single agent CEP-701,a novel FLT3 inhibitor,shows biologic and clinical activity in patients with relapsed or refractory acute myeloid leukemia Blood,May 2004;103:3669-3676

[0187] GRISWOLD,et al."Effects of MLN518,a dual FLT3 and KIT inhibitor,on normal and malignant hematopoiesis"Blood.Nov.2004;104 (9) :2912-2918

[0188] YEE,et al.,SU5416 and SU5614 inhibit kinase activity of wild-type and mutant FLT3 receptor tyrosine kinase.Blood,Oct 2002;100 (8) :2941-2949

[0189] O'Farrell et al.,SU11248 is a novel FLT3 tyrosine kinase inhibitor with potent activity in vitro and in vivo.Blood,May 2003;101 (9) :3597-3605

[0190] Murata,K.et al.,Selective cytotoxic mechanism of GTP-14564,a novel tyrosine kinase inhibitor in leukemia cells expressing a constitutively active Fms-like tyrosine kinase 3 (FLT3).J Biol Chem.Aug.29,2003;278 (35) : 32892-32898[Epub 2003 Jun 18]

[0191] Stone,R.M et al.,PKC-412 FLT3 inhibitor therapy in AML:results of a

phase II trials. *Ann. Hematol.* 2004; 83 Suppl 1: S89-90

[0192] CHESON, et al. "Revised Recommendations of the International Working Group for Diagnosis, Standardization of Response Criteria, Treatment Outcomes, and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia" *J Clin Oncol.* Dec. 15, 2003; 21: 4642-4649

[0193] LEVIS, et al. "Small Molecule FLT3 Tyrosine Kinase Inhibitors" *Current Pharmaceutical Design.* 2004, 10, 1183-1193

[0194] BORTHAKUR, et al. "Phase I study of sorafenib in patients with refractory or relapsed acute leukemias." *Haematologica.* Jan. 2011; 96: 62-8. Epub Oct. 15, 2010

[0195] Small D. FLT3 mutations: biology and treatment. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2006: 178-84

[0196] AMIN, et al. "Having a higher blast percentage in circulation than bone marrow; clinical implications in myelodysplastic syndrome and acute lymphoid and myeloid leukemias" *Leukemia.* July 28, 2005; 19: 1567-72

[0197] VANDERWALDE, A., "Genetics of Acute Myeloid Leukemia," available at <http://emedicine.medscape.com/article/1936033-overview> (last updated 1 Apr. 2016)

[0198] PAPAEMMANUIL, E., "Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia," *New England J. Med.* Vol. 374, No. 23, pp. 2209-2221 (9 June 2016)

[0199] DÖHNER, H., et al. "Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel," *Blood.* Vol. 129, No. 3, pp. 424-447 (28 Nov. 2016).

[0200] BAKSHI, S., et al. "Trisomy 8 in leukemia: A GCRI experience," *Indian J Hum Genet.* 2012; 18: 106-108.

[0201] LEWIS, et al. "Phase I study of the safety, tolerability, and pharmacokinetics of oral CP-868-596, a highly specific platelet-derived growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor in patients with advanced cancers" *J Clin Oncol.* Nov. 1, 2009; 27 (31), 5262-5269

[0202] CORTES, et al. "AC220, a potent, selective, second generation FLT3 receptor tyrosine kinase (RTK) inhibitor, in a first-in-human (FIH) phase I AML study" *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2009 Nov.

[0203] CORTES, et al. "A phase II open-label, AC220 monotherapy efficacy study in patients with refractory/relapsed FLT3-ITD positive acute myeloid leukemia: updated interim results" *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2011 Dec

[0204] MENDLER, J., "RUNX1 Mutations Are Associated With Poor Outcome in Younger and Older Patients With Cytogenetically Normal Acute Myeloid Leukemia and With Distinct Gene and MicroRNA Expression Signatures," *J. Clin. Oncol.* Vol. 30, No. 25, pp. 3109-3118 (2 July 2012)

[0205] DICKER,F.,et al.“Trisomy 13 is strongly associated with AML1/RUNX1mutations and increased FLT3 expression in acute myeloid leukemia,”Blood.2007;110:1308-1316.

[0206] HEROLD,T.,et al.“Isolated trisomy 13 defines a homogeneous AML subgroup with high frequency of mutations in spliceosome genes and poor prognosis,”Blood.2014;124:1304-1311.

[0207] LEVIS,M.,et al.“Results from a randomized trial of salvage chemotherapy followed by lestaurtinib for patients with FLT3 mutant AML in first relapse,”Blood.2011;117:3294-3301.

[0208] PASCHKA,P.,et al.“Wilms’ Tumor 1 Gene Mutations Independently Predict Poor Outcome in Adults With Cytogenetically Normal Acute Myeloid Leukemia:A Cancer and Leukemia Group B Study,”J Clin Oncol.2008;26:4595-4602.