



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104869995 A

(43) 申请公布日 2015. 08. 26

(21) 申请号 201380052491. 8

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2013. 08. 13

A61K 31/433(2006. 01)

(30) 优先权数据

A61K 31/45(2006. 01)

61/682, 682 2012. 08. 13 US

A61K 31/4965(2006. 01)

61/734, 149 2012. 12. 06 US

A61K 31/5377(2006. 01)

61/829, 779 2013. 05. 31 US

A61K 31/573(2006. 01)

A61P 35/00(2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2015. 04. 08

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2013/054807 2013. 08. 13

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/028543 EN 2014. 02. 20

(71) 申请人 阵列生物制药公司

地址 美国科罗拉多州

(72) 发明人 K. 布朗 R. B. 富兰克林

G. P. 欣戈拉尼 K. S. 利特威勒

B. J. 滕奎斯特 D. H. 沃克

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 曹立莉

权利要求书3页 说明书22页 附图10页

(54) 发明名称

用于治疗低 AAG 患者的癌症的 ARRY-520

(57) 摘要

本发明提供用于治疗低 [AAG] 患者的癌症的化合物 ARRY-520。

1. 化合物 ARRY-520, 其用于治疗低 [AAG] 患者的癌症。
2. 化合物 ARRY-520, 其用于治疗患者的癌症, 包括 (a) 分析来自所述患者的生物样品的 [AAG], (b) 确定所述样品是否具有低 [AAG], 以及 (c) 如果所述患者具有低 [AAG], 那么向其施用治疗有效量的 ARRY-520。
3. 化合物 ARRY-520, 其用于治疗患者的癌症, 包括 (a) 从所述患者获得生物样品; (b) 分析所述生物样品的 [AAG], (c) 确定所述样品是否具有低 [AAG], 以及 (d) 如果所述患者具有低 [AAG], 那么向其施用治疗有效量的 ARRY-520。
4. 一种用于治疗鉴别为具有低 [AAG] 的癌症患者的癌症的方法, 其包括用 ARRY-520 治疗所述患者的步骤, 包括: (a) 通过分析来自所述患者的生物样品来鉴别具有低 [AAG] 的患者, 以及 (b) 向具有低 [AAG] 的所述患者施用 ARRY-520。
5. 一种用于治疗鉴别为具有低 [AAG] 的癌症患者的癌症的方法, 其包括用 ARRY-520 治疗所述患者的步骤, 包括: (a) 从所述患者获得生物样品; (b) 通过分析来自所述患者的所述生物样品来鉴别具有低 [AAG] 的患者, 以及 (c) 向具有低 [AAG] 的所述患者施用 ARRY-520。
6. 一种检测患者更可能对 ARRY-520 作出响应的方法, 其包括从所述患者获得生物样品以及分析所述样品以测定 [AAG], 其中低 [AAG] 指示患者更可能对 ARRY-520 作出响应。
7. 一种检测患者更可能对 ARRY-520 作出响应的方法, 包括从所述患者获得生物样品, 分析所述样品以测定 [AAG], 以及确定所述患者是否更可能对 ARRY-520 作出响应, 其中低 [AAG] 指示患者更可能对 ARRY-520 作出响应。
8. 一种用于增加具有癌症的患者的响应可能性的方法, 包括: (a) 通过分析来自所述患者的生物样品来鉴别具有低 [AAG] 的患者; 以及 (b) 向归类为具有增加的响应可能性的所述患者施用 ARRY-520。
9. 一种用于增加具有癌症的患者的响应可能性的方法, 其包括: (a) 从所述患者获得生物样品; (b) 对所述样品进行分析以测量 [AAG]; (c) 确定所述样品是否具有低 [AAG]; (d) 如果所述患者具有低 [AAG], 那么将所述患者归类为具有增加的响应可能性; 以及 (e) 向归类为具有增加的响应可能性的所述患者施用 ARRY-520。
10. 一种用于预测患者将对包括施用 ARRY-520 的治疗癌症的方法作出治疗响应的可能性增加的方法, 所述方法包括: (a) 测量所述患者的生物样品的 [AAG]; (b) 确定所述样品是否具有低 [AAG], (c) 如果所述样品具有低 [AAG], 那么将所述患者归类为具有对所述治疗癌症的方法作出治疗响应的增加的可能性, 以及 (d) 向归类为具有增加的响应可能性的所述患者施用 ARRY-520。
11. 一种用于预测患者将对包括施用 ARRY-520 的治疗癌症的方法作出治疗响应的可能性增加的方法, 所述方法包括: (a) 从所述患者获得生物样品; (b) 测量所述患者的所述样品的所述 [AAG], (c) 确定所述样品是否具有低 [AAG], (d) 如果所述样品具有低 [AAG], 那么将所述患者归类为具有对所述治疗癌症的方法作出治疗响应的增加的可能性, 以及 (e) 向归类为具有增加的响应可能性的所述患者施用 ARRY-520。
12. 一种用于确定癌症患者对 ARRY-520 治疗敏感的可能性更高的方法, 其包括: (a) 分析来自所述患者的生物样品的 [AAG]; 以及 (b) 当所述生物样品的 [AAG] 低时, 将所述患者鉴别为具有对 ARRY-520 治疗敏感的更高的可能性。

13. 一种用于确定癌症患者对 ARRY-520 治疗敏感的可能性更高的方法,其包括:(a) 从所述患者获得生物样品;(b) 测量所述生物样品的 [AAG];以及 (c) 当所述生物样品的 [AAG] 低时,将所述患者鉴别为具有对 ARRY-520 治疗敏感的更高的可能性。

14. 一种使用 ARRY-520 来治疗已诊断为 [AAG] 水平小于约 1.1g/L 的患者的方法,其包括施用一个或多个单位剂量的 ARRY-520。

15. 一种使用 ARRY-520 来治疗已诊断为 [AAG] 水平小于约 1.1g/L 的患者的方法,其包括以有效产生不小于预期体外 IC_{50} 的未结合 ARRY-520 水平的量向所述患者施用一个或多个单位剂量的 ARRY-520。

16. 一种治疗具有低 [AAG] 的患者的癌症的方法,其包括向所述患者施用有效量的 ARRY-520。

17. 一种治疗具有低 [AAG] 的哺乳动物的癌症的方法,其包括向所述哺乳动物施用治疗有效量的 ARRY-520。

18. 一种治疗由 KSP 调节的疾病或病症的方法,其包括向需要所述治疗的哺乳动物施用有效量的 ARRY-520,其中所述哺乳动物具有低 [AAG]。

19. ARRY-520 在制备用于治疗具有低 [AAG] 的患者的癌症的药物中的用途。

20. 一种用于治疗具有低 [AAG] 的癌症患者的药物组合物,其包含 ARRY-520。

21. 一种用于治疗具有低 [AAG] 的癌症患者的药物组合物,其包含 ARRY-520 和药学上可接受的载体或赋形剂。

22. 如权利要求 1-21 所述的化合物、方法、用途或组合物,其中所述癌症是血液癌症。

23. 如权利要求 1-22 所述的化合物、方法、用途或组合物,其中所述癌症选自淋巴瘤、白血病以及多发性骨髓瘤。

24. 如权利要求 1-21 所述的化合物、方法、用途或组合物,其中所述癌症是实体瘤。

25. 如权利要求 1-21 或 24 所述的化合物、方法、用途或组合物,其中所述癌症选自皮肤癌、乳癌、脑癌、宫颈癌以及睾丸癌。

26. 如权利要求 1-21 或 24 所述的化合物、方法、用途或组合物,其中所述癌症选自乳腺癌、结肠直肠癌、非小细胞肺癌、胰腺癌、膀胱癌、唾液腺癌(腺样囊性癌)、食管癌、间皮瘤癌症以及混合型小细胞肺癌/非小细胞肺癌。

27. 根据权利要求 1 至 26 中任一项所述的化合物、方法、用途或组合物,其中所述低 [AAG] 是小于约 1.1g/L。

28. 根据权利要求 27 所述的化合物、方法、用途或组合物,其中所述 [AAG] 是通过 R&D Systems, Inc. Quantikine 人 α 1- 酸性糖蛋白免疫测定来测量。

29. 根据权利要求 1 至 28 中任一项所述的化合物、方法、用途或组合物,其中地塞米松与 ARRY-520 组合施用。

30. 根据权利要求 1 至 28 中任一项所述的化合物、方法、用途或组合物,其中硼替佐米与 ARRY-520 组合施用。

31. 根据权利要求 1 至 28 中任一项所述的化合物、方法、用途或组合物,其中卡非佐米与 ARRY-520 组合施用。

32. 根据权利要求 1 至 28 中任一项所述的化合物、方法、用途或组合物,其中泊马度胺与 ARRY-520 组合施用。

33. 根据权利要求 1 至 32 中任一项所述的化合物、方法、用途或组合物,其中 G-CSF 与 ARRY-520 组合施用。

用于治疗低 AAG 患者的癌症的 ARRY-520

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求于 2012 年 8 月 13 日提交的美国临时专利申请 No. 61/682, 682、于 2013 年 1 月 3 日提交的美国临时专利申请 No. 61/734, 149 以及于 2013 年 5 月 31 日提交的美国临时专利申请 No. 61/829, 779 的优先权, 并且这些申请以全文引用的方式并入本文中。

[0003] 发明背景

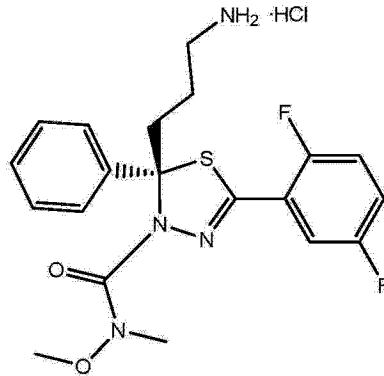
发明领域

[0004] 本发明涉及 ARRY-520 以及治疗具有低 [AAG] 的癌症患者。

[0005] 现有技术的描述

[0006] (S)-2-(3-氨基丙基)-5-(2,5-二氟苯基)-N-甲氧基-N-甲基-2-苯基-1,3,4-噻二唑-3(2H)-甲酰胺, 也称为“ARRY-520”, 其具有以下结构:

[0007]



[0008] 是一种纺锤体驱动蛋白 (“KSP”) 抑制剂 (参见 US 7, 449, 486、US 2010/0099697 以及 WO 2010/045624, 其内容以全文引用的方式并入本文中)。KSP 抑制引起增殖细胞的有丝分裂阻滞和后续细胞死亡。ARRY-520 已在复发性和难治性多发性骨髓瘤 (“MM”) 患者中显示临床活性。尽管采用静脉内 (“IV”) 施用, 但患者间的 ARRY-520 药代动力学 (“PK”) 是可变的。

[0009] 血清蛋白结合于药物可改变其功效和 PK, 并且可能影响临床活性。人血清白蛋白 (“HSA”) 和人 α 1-酸性糖蛋白 (“AAG”) 是最丰富的血浆蛋白, 其中平均生理浓度分别是约 40g/L 和 0.6-1.2g/L。AAG 是肝脏响应于炎症和感染产生的急性期血清蛋白。虽然已报导了一些肝外表达, 但 AAG 主要产生于肝脏中。有时, 在包括多发性骨髓瘤的癌症的患者的血液中, AAG 升高。AAG 血浆水平可因生理、病理以及遗传因素而不同。AAG 血浆水平的波动可对未结合药物的浓度产生直接影响, 并且因此改变药物 PK 和药效动力学 (“PD”)。当 AAG 的浓度高时, 其与关于紧密结合于 AAG 的药物的降低的响应和无进展生存期 (“PFS”) 相关联 (Bruno, Rene 等 “ α -1-Acid Glycoprotein As an Independent Predictor for Treatment Effects and a Prognostic Factor of Survival in Patients with Non-small Cell Lung Cancer Treated with Docetaxel.” *Clin. Cancer Res.* 第 9 卷 (2003): 第 1077-1082 页)。在诊断时, 多发性骨髓瘤患者的 AAG 浓度在 0.4 至 4.1g/L 范围内, 其中 24% 具有

高 AAG 浓度 (Felliniemi Tarja-Terttu 等“Immunoreactive Interleukin-6 and Acute Phase Proteins as Prognostic Factors in Multiple Myeloma.”*Blood*, 第 85 卷, 第 3 卷 (1995 年 2 月 1 日): 第 765-771 页)。还参见 Brown, Karin D. 等“An Effective Screening Approach to Assess the Impact of α -1Acid Glycoprotein Binding on the Fraction Unbound of a Drug.” 17th North American Regional International Society for the Study of Xenobiotics Meeting, Atlanta, Georgia, 2011 年 10 月 18 日, Abstract#25022, www.arraybiopharma.com/_documents/Publication/PubAttachment479.pdf。

[0010] 发明概述

[0011] 出人意料地, 已发现已施用 ARRY-520 的患者在这些患者在施用 ARRY-520 之前具有低 [AAG] 时更好地作出响应。

[0012] 在一个方面, 本发明涉及用于治疗低 [AAG] 患者的癌症的 ARRY-520。

[0013] 在另一个方面, 提供 ARRY-520, 用于治疗患者的癌症, 包括 (a) 分析来自患者的生物样品的 [AAG], (b) 确定样品是否具有低 [AAG], 以及 (c) 如果患者具有低 [AAG], 那么向其施用治疗有效量的 ARRY-520。

[0014] 在另一个方面, 提供 ARRY-520, 用于治疗患者的癌症, 包括 (a) 从患者获得生物样品; (b) 分析生物样品的 [AAG], (c) 确定样品是否具有低 [AAG], 以及 (d) 如果患者具有低 [AAG], 那么向其施用治疗有效量的 ARRY-520。

[0015] 在另一个方面, 提供一种用于治疗鉴别为具有低 [AAG] 的癌症患者的癌症的方法, 其包括用 ARRY-520 治疗患者的步骤, 包括: (a) 通过分析来自患者的生物样品来将患者鉴别为具有低 [AAG], 以及 (b) 向具有低 [AAG] 的患者施用 ARRY-520。

[0016] 在另一个方面, 提供一种用于治疗鉴别为具有低 [AAG] 的癌症患者的癌症的方法, 其包括用 ARRY-520 治疗患者的步骤, 包括: (a) 从患者获得生物样品; (b) 通过分析来自患者的生物样品来将患者鉴别为具有低 [AAG], 以及 (c) 向具有低 [AAG] 的患者施用 ARRY-520。

[0017] 在另一个方面, 提供一种检测患者更可能对 ARRY-520 作出响应的方法, 包括从患者获得生物样品以及分析样品以测定 [AAG], 其中低 [AAG] 指示患者更可能对 ARRY-520 作出响应。

[0018] 在另一个方面, 提供一种检测患者更可能对 ARRY-520 作出响应的方法, 其包括从患者获得生物样品, 分析样品以测定 [AAG], 并且确定患者是否更可能对 ARRY-520 作出响应, 其中低 [AAG] 指示患者更可能对 ARRY-520 作出响应。

[0019] 在另一个方面, 提供一种用于增加具有癌症的患者的响应可能性的方法, 其包括: (a) 通过分析来自患者的生物样品来将患者鉴别为具有低 [AAG]; 以及 (b) 向归类为具有增加的响应可能性的患者施用 ARRY-520。

[0020] 在另一个方面, 提供一种用于增加具有癌症的患者的响应可能性的方法, 其包括: (a) 从患者获得生物样品; (b) 对样品进行分析以测量 [AAG]; (c) 确定样品是否具有低 [AAG]; (d) 如果患者具有低 [AAG], 那么将患者归类为具有增加的响应可能性; 以及 (e) 向归类为具有增加的响应可能性的患者施用 ARRY-520。

[0021] 在另一个方面, 提供用于预测患者将对包括施用 ARRY-520 的治疗癌症的方法作

出治疗响应的可能性增加的方法,所述方法包括:(a) 测量患者的生物样品的 [AAG];(b) 确定样品是否具有低 [AAG],(c) 如果样品具有低 [AAG],那么将患者归类为具有增加的对治疗癌症的方法作出治疗响应的可能性,以及 (d) 向归类为具有增加的响应可能性的患者施用 ARRY-520。

[0022] 在另一个方面,提供一种用于预测患者将对包括施用 ARRY-520 的治疗癌症的方法作出治疗响应的可能性增加的方法,所述方法包括:(a) 从患者获得生物样品;(b) 测量患者的样品的 [AAG];(c) 确定样品是否具有低 [AAG],(d) 如果样品具有低 [AAG],那么将患者归类为具有增加的对治疗癌症的方法作出治疗响应的可能性,以及 (e) 向归类为具有增加的响应可能性的患者施用 ARRY-520。

[0023] 在另一个方面,提供一种用于确定癌症患者对 ARRY-520 治疗敏感的可能性更高的方法,其包括:(a) 分析来自患者的生物样品的 [AAG];以及 (b) 当生物样品的 [AAG] 低时,将患者鉴别为具有更高的对 ARRY-520 治疗敏感的可能性。

[0024] 在另一个方面,提供一种用于确定癌症患者对 ARRY-520 治疗敏感的可能性更高的方法,其包括:(a) 从患者获得生物样品;(b) 测量生物样品的 [AAG];以及 (c) 当生物样品的 [AAG] 低时,将患者鉴别为具有更高的对 ARRY-520 治疗敏感的可能性。

[0025] 在另一个方面,提供一种使用 ARRY-520 来治疗已诊断为 [AAG] 水平小于约 1.1g/L 的患者的方法,其包括施用一个或多个单位剂量的 ARRY-520。

[0026] 在另一个方面,提供一种使用 ARRY-520 来治疗已诊断为 [AAG] 水平小于约 1.1g/L 的患者的方法,其包括以有效产生不小于预期体外 IC_{50} 的未结合 ARRY-520 水平的量向患者施用一个或多个单位剂量的 ARRY-520。

[0027] 在另一个方面,提供一种治疗具有低 [AAG] 的患者的癌症的方法,其包括向患者施用有效量的 ARRY-520。

[0028] 在另一个方面,提供一种治疗具有低 [AAG] 的哺乳动物的癌症的方法,其包括向哺乳动物施用治疗有效量的 ARRY-520。

[0029] 在另一个方面,提供一种治疗由 KSP 调节的疾病或病症的方法,其包括向需要所述治疗的哺乳动物施用有效量的 ARRY-520,其中所述哺乳动物具有低 [AAG]。

[0030] 在另一个方面,提供 ARRY-520 在制造用于治疗具有低 [AAG] 的患者的癌症的药剂中的用途。

[0031] 在另一个方面,提供一种用于治疗具有低 [AAG] 的癌症患者的药物组合物,其包含 ARRY-520。

[0032] 在另一个方面,提供一种用于治疗具有低 [AAG] 的癌症患者的药物组合物,其包含 ARRY-520 和药学上可接受的载体或赋形剂。

[0033] 附图简述

[0034] 图 1 示出了细胞分析。

[0035] 图 2 示出了群体 PK (“popPK”) 模型模拟。

[0036] 图 3 示出了群体 PK (“popPK”) 模型模拟。

[0037] 图 4 示出了对人临床试验的分析。

[0038] 图 5 示出了对人临床试验的分析。

[0039] 图 6 示出了分析的可变性。

[0040] 图 7 示出了比较两种分析的线性回归。

[0041] 图 8 示出了比较两种分析的线性回归。

[0042] 图 9 示出了比较两种分析的线性回归。

[0043] 图 10 示出了比较两种分析的线性回归。

[0044] 发明详述

[0045] 现将详细参考某些实施方案。虽然将描述所列举的实施方案,但应了解其不意在将本发明限于这些实施方案。相反地,本发明旨在涵盖可包括如权利要求书所定义的本发明范围内的所有替代、修改以及等效形式。本领域技术人员将识别可用于实践本发明的类似或等效于本文所描述的方法和材料的许多方法和材料。本发明决不限于所描述的方法和材料。在所并入的文献和类似材料中的一个或多个(包括但不限于定义术语、术语用法、所描述的技术等)不同于本申请或与本申请相矛盾的情况下,以本申请为准。

[0046] 定义

[0047] 本发明的方法涵盖治疗、预防以及 / 或者控制与不需要的血管形成相关或以其为特征的各种类型癌症和疾病以及病症的方法。如本文所用,除非另外规定,否则术语“治疗 (treating 或 treat)”是指在特定疾病或病症的症状发作之后施用本发明的化合物或其它额外的活性剂。术语“治疗 (treat 或 treatment)”还指治疗性或姑息性措施。有益或所要临床结果包括但不限于可检测或不可检测的症状缓和、疾病程度减轻、疾病病况稳定(即不恶化)、疾病进展延迟或减慢、疾病病况改善或减缓以及缓解(局部或总体)。“治疗”还可以意指与如果不接受治疗的预期存活相比延长存活。需要治疗者包括已经具有所述病状或病症者以及有具有所述病状或病症倾向者。如本文所用,除非另作说明,否则术语“预防”是指在症状发作之前特别是向处于癌症以及与不需要的血管形成相关或以其为特征的其它疾病和病症的风险中的患者施用。术语“预防”包括抑制特定疾病或病症的症状。具有家族性癌症以及与不需要的血管形成相关或以其为特征的疾病和病症病史的患者是预防性方案的优选候选者。如本文所用并且除非另外指出,否则术语“管理”涵盖预防罹患特定疾病或病症的患者的疾病或病症的复发,以及 / 或者延长罹患疾病或病症的患者在缓解状态的停留时间。

[0048] 术语“约”在本文中用于指近似、大约、大致或约。当结合一个数值范围使用术语“约”时,其通过扩大所阐述数值以上和以下的界限来修饰该范围。一般来说,术语“约”在本文中用于修饰超过和低于所陈述数值 20% 的偏差的值。

[0049] 术语“癌症”和“癌症的”是指或描述典型地以异常或不受调节的细胞生长为特征的哺乳动物的生理状况。“肿瘤”包含一个或多个癌细胞。癌症的实例包括但不限于癌瘤、淋巴瘤、胚细胞瘤、肉瘤以及白血病或淋巴恶性肿瘤。所述癌症的更特定实例包括鳞状细胞癌(例如上皮细胞鳞状细胞癌)、肺癌(包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌(“NSCLC”)、肺腺癌以及肺鳞状癌)、腹膜癌、肝细胞癌、胃癌(gastric/stomach cancer)(包括胃肠癌)、胰腺癌、成胶质细胞瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、肝细胞瘤、乳癌、结肠癌、直肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜或子宫癌瘤、唾液腺癌瘤、肾癌(kidney/renal cancer)、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝癌瘤、肛门癌瘤、阴茎癌瘤、皮肤癌(包括黑素瘤)以及头颈癌。

[0050] 短语“药学上可接受的”指示物质或组合物在化学上和 / 或毒理学上与包含制剂的其它成分和 / 或正在用其治疗的哺乳动物相容。

[0051] 如本文所用的短语“药学上可接受的盐”是指本文所描述的化合物的药学上可接受的有机或无机盐。

[0052] 短语“治疗有效量”或“有效量”意指本文所描述的化合物当向需要所述治疗的哺乳动物施用时足以产生以下效果的量：(i) 治疗或预防特定疾病、病状或病症，(ii) 减轻、改善或消除特定疾病、病状或病症的一个或多个症状，或 (iii) 预防或延迟本文所描述的特定疾病、病状或病症的一个或多个症状的发作。将对应于所述量的化合物量将取决于诸如以下因素而变化：特定化合物、疾病病状以及其严重性、需要治疗的哺乳动物的特性（例如重量），但仍然可由本领域技术人员常规地确定。

[0053] 术语“哺乳动物”意指具有本文所描述的疾病或处于发生本文所描述的疾病的风险中的温血动物，并且包括但不限于豚鼠、犬、猫、大鼠、小鼠、仓鼠以及灵长类动物，包括人类。

[0054] 低 [AAG] 患者

[0055] ARRY-520 在体外分析中针对 AAG 展现低微摩尔亲和力，但针对诸如白蛋白等其它常见血清蛋白不展现低微摩尔亲和力（实施例 1）。已发现用 ARRY-520 治疗具有低 [AAG] 的患者是有益的。

[0056] 术语“[AAG]”意指如在施用 ARRY-520 之前在患者的生物样品中所测量的 AAG 浓度。术语“低 [AAG]”意指 [AAG] 小于约 1.1g/L。如实施例 7 中所显示，使用 R&D Systems **Quantikine**[®] 分析在血浆中测量到 1.1g/L 水平。如实施例 8 中所显示，在分析中存在至少 8.6% 的可变性。在某一实施方案中，术语“约 1.1g/L”意指 $1.1\text{g/L} \pm 20\%$ 。在某一实施方案中，术语“约 1.1g/L”意指 $1.1\text{g/L} \pm 10\%$ 。在某一实施方案中，术语“约 1.1g/L”意指 $1.1\text{g/L} \pm 8.6\%$ 。在另一个实施方案中，低 [AAG] 意指小于如在 R&D Systems **Quantikine**[®] 分析中所测定 [AAG] 的在血浆中的约 1.1g/L（如实施例 7 中所描述）。

[0057] 还应了解，可使用各种分析来测量 [AAG]。其它分析可基于该分析中的差异给出稍有不同的结果。如果使用其它分析，那么它们应与在实施例 7 中所用的 R&D Systems **Quantikine**[®] 分析的 1.1g/L 测量值相关联。科学和统计方法是关于两个分析的相关性的领域中已知的。相关性（交叉比较）的实例显示于实施例 10 中。其它分析可包括 Randox Imola 免疫比浊、Randox Daytona 免疫比浊、Siemens Advia 免疫比浊以及 Siemens BNII 免疫比浊分析等。

[0058] 在某些实施方案中，用于测量 [AAG] 的生物样品是血液。从患者抽取血液（获得生物样品）是本领域中熟知的技术。在另一个实施方案中，用于测量 [AAG] 的生物样品是血浆。在另一个实施方案中，用于测量 [AAG] 的生物样品是血清。在内部测试中，在 R&D Systems **Quantikine**[®]、Siemens Advia、Siemens BNII 以及 Randox Imola 分析（除非在实施例中不同地规定，否则所有分析均按照制造商方案进行）中，在血清与血浆 [AAG] 之间似乎均存在良好相关性 (>0.9)。

[0059] ARRY-520 典型地是静脉内施用。ARRY-520 通常以容纳于供 IV 使用的 1 型透明玻璃小瓶中的冻干粉形式提供。在 IV 施用之前，将粉末用灭菌注射用水进行复水以形成溶液并且用生理盐水稀释。

[0060] 已发现 ARRY-520 的主要剂量限制毒性 (“DLT”) 是嗜中性白血球减少症。因此, 可施用预防性粒细胞集落刺激因子 (“G-CSF”)。

[0061] 通常在 14 天周期的第 1 天和第 2 天 (第 1 天和第 2 天 Q2W) 施用 ARRY-520。通常按此时间表在不存在 G-CSF 情况下按 2.5mg/m²/周期 (1.25mg/m²/天) 以及在预防性 G-CSF 存在下按 3.0mg/m²/周期 (1.5mg/m²/天) 施用 ARRY-520。然而, 还可以在 14 天周期的第 1 天 (第 1 天 Q2W) 或在 28 天周期的第 1 天和第 15 天 (第 1 天和第 15 天 Q4W) 施用 ARRY-520。

[0062] 已发现向具有低 [AAG] 的患者施用 ARRY-520 增加该患者对 ARRY-520 的响应可能性。

[0063] 因此, 一个实施方案提供 ARRY-520, 用于治疗低 [AAG] 患者的癌症。

[0064] 某些实施方案提供 ARRY-520, 用于治疗患者的癌症, 包括 (a) 分析来自患者的生物样品的 [AAG], (b) 确定样品是否具有低 [AAG], 以及 (c) 如果患者具有低 [AAG], 那么向其施用治疗有效量的 ARRY-520。

[0065] 另一个实施方案提供 ARRY-520, 用于治疗患者的癌症, 包括 (a) 从患者获得生物样品; (b) 分析生物样品的 [AAG], (c) 确定样品是否具有低 [AAG], 以及 (d) 如果患者具有低 [AAG], 那么向其施用治疗有效量的 ARRY-520。

[0066] 某些实施方案提供一种用于治疗鉴别为具有低 [AAG] 的癌症患者的癌症的方法, 其包括用 ARRY-520 治疗患者的步骤, 包括: (a) 通过分析来自患者的生物样品来将患者鉴别为具有低 [AAG], 以及 (b) 向具有低 [AAG] 的患者施用 ARRY-520。

[0067] 另一个实施方案提供一种用于治疗鉴别为具有低 [AAG] 的癌症患者的癌症的方法, 其包括用 ARRY-520 治疗患者的步骤, 包括: (a) 从患者获得生物样品; (b) 通过分析来自患者的生物样品来将患者鉴别为具有低 [AAG], 以及 (c) 向具有低 [AAG] 的患者施用 ARRY-520。

[0068] 某些实施方案提供一种检测患者更可能对 ARRY-520 作出响应的方法, 包括从患者获得生物样品以及分析样品以测定 [AAG], 其中低 [AAG] 指示患者更可能对 ARRY-520 作出响应。

[0069] 另一个实施方案提供一种检测患者更可能对 ARRY-520 作出响应的方法, 其包括从患者获得生物样品, 分析样品以测定 [AAG], 并且确定患者是否更可能对 ARRY-520 作出响应, 其中低 [AAG] 指示患者更可能对 ARRY-520 作出响应。

[0070] 某些实施方案提供一种用于增加具有癌症的患者的响应可能性的方法, 其包括: (a) 通过分析来自患者的生物样品来将患者鉴别为具有低 [AAG]; 以及 (b) 向归类为具有增加的响应可能性的患者施用 ARRY-520。

[0071] 另一个实施方案提供一种用于增加具有癌症的患者的响应可能性的方法, 其包括: (a) 从患者获得生物样品; (b) 对样品进行分析以测量 [AAG]; (c) 确定样品是否具有低 [AAG]; (d) 如果患者具有低 [AAG], 那么将患者归类为具有增加的响应可能性; 以及 (e) 向归类为具有增加的响应可能性的患者施用 ARRY-520。

[0072] 某些实施方案提供一种用于预测患者将对包括施用 ARRY-520 的治疗癌症的方法作出治疗响应的可能性增加的方法, 所述方法包括: (a) 测量患者的生物样品的 [AAG]; (b) 确定样品是否具有低 [AAG], (c) 如果样品具有低 [AAG], 那么将患者归类为具有增加的对

治疗癌症的方法作出治疗响应的可能性,以及 (d) 向归类为具有增加的响应可能性的患者施用 ARRY-520。

[0073] 另一个实施方案提供一种用于预测患者将对包括施用 ARRY-520 的治疗癌症的方法作出治疗响应的可能性增加的方法,所述方法包括:(a) 从患者获得生物样品;(b) 测量患者的样品的 [AAG];(c) 确定样品是否具有低 [AAG],(d) 如果样品具有低 [AAG],那么将患者归类为具有增加的对治疗癌症的方法作出治疗响应的可能性,以及 (e) 向归类为具有增加的响应可能性的患者施用 ARRY-520。

[0074] 某些实施方案提供一种用于确定癌症患者对 ARRY-520 治疗敏感的可能性更高的方法,其包括:(a) 分析来自患者的生物样品的 [AAG];以及 (b) 当生物样品的 [AAG] 低时,将患者鉴别为具有更高的对 ARRY-520 治疗敏感的可能性。

[0075] 某些实施方案提供一种用于确定癌症患者对 ARRY-520 治疗敏感的可能性更高的方法,其包括:(a) 从患者获得生物样品;(b) 测量生物样品的 [AAG];以及 (c) 当生物样品的 [AAG] 低时,将患者鉴别为具有更高的对 ARRY-520 治疗敏感的可能性。

[0076] 某些实施方案提供一种使用 ARRY-520 来治疗已诊断为 [AAG] 水平小于约 1.1g/L 的患者的方法,其包括施用一个或多个单位剂量的 ARRY-520。

[0077] 某些实施方案提供一种使用 ARRY-520 来治疗已诊断为 [AAG] 水平小于约 1.1g/L 的患者的方法,其包括以有效产生不小于预期体外 IC_{50} 的未结合 ARRY-520 水平的量向所述患者施用一个或多个单位剂量的 ARRY-520。在另一个实施方案中,预期体外 IC_{50} 是约 0.2ng/mL。在另一个实施方案中,预期体外 IC_{50} 是 0.2ng/mL。

[0078] 某些实施方案提供一种治疗具有低 [AAG] 的患者的癌症的方法,其包括向患者施用有效量的 ARRY-520。

[0079] 某些实施方案提供一种治疗具有低 [AAG] 的哺乳动物的癌症的方法,其包括向哺乳动物施用治疗有效量的 ARRY-520。

[0080] 某些实施方案提供一种治疗由 KSP 调节的疾病或病症的方法,其包括向需要所述治疗的哺乳动物施用有效量的 ARRY-520,其中所述哺乳动物具有低 [AAG]。

[0081] 另一个实施方案提供 ARRY-520 在制造用于治疗具有低 AAG 的患者的癌症的药剂中的用途。

[0082] 一个实施方案包括一种用于治疗具有低 [AAG] 的癌症患者的药物组合物,其包含 ARRY-520。另一个实施方案提供一种用于治疗具有低 [AAG] 的癌症患者的药物组合物,其包含 ARRY-520 以及药学上可接受的载体或赋形剂。在某些实施方案中,药学上可接受的赋形剂是甘露糖醇。

[0083] 还提供了通过施用 ARRY-520 来治疗疾病或病状的方法。在一个实施方案中,低 [AAG] 人患者是用 ARRY-520 以及药学上可接受的载体、佐剂或媒介物以用于可检测地抑制 KSP 活性的量进行治疗。

[0084] 在另一个实施方案中,一种治疗或预防需要所述治疗的哺乳动物的癌症的方法,其中所述方法包括向所述哺乳动物施用治疗有效量的 ARRY-520。

[0085] 在某些实施方案中,癌症选自乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、前列腺癌、睾丸癌、泌尿生殖道癌、食管癌、喉癌、成胶质细胞瘤、成神经细胞瘤、胃癌、皮肤癌、角化棘皮瘤、肺癌、表皮样癌瘤、大细胞癌瘤、NSCLC、小细胞癌瘤、肺腺癌瘤、骨癌、结肠癌、腺瘤、胰腺癌、腺癌瘤、甲状

腺癌、滤泡性瘤、未分化性癌瘤、乳头状癌瘤、精原细胞瘤、黑素瘤、肉瘤、膀胱癌瘤、肝癌瘤和胆道癌、肾癌瘤、骨髓病症、淋巴病症、毛细细胞癌、口腔和咽（口腔）癌、唇癌、舌癌、口癌、咽癌、小肠癌、结肠-直肠癌、大肠癌、直肠癌、脑癌和中枢神经系统癌症、霍奇金氏癌症和白血病。

[0086] 在某些实施方案中，癌症是血液癌症。在某些实施方案中，癌症选自淋巴瘤、白血病以及多发性骨髓瘤。在某些实施方案中，癌症选自白血病和多发性骨髓瘤。在某些实施方案中，癌症选自急性骨髓性白血病和多发性骨髓瘤。在某些实施方案中，癌症是多发性骨髓瘤。在某些实施方案中，癌症是急性骨髓性白血病。

[0087] 在某些实施方案中，癌症是实体瘤。在某些实施方案中，癌症选自皮肤癌、乳癌、脑癌、宫颈癌瘤以及睾丸癌。在某些实施方案中，癌症选自乳癌、结肠直肠癌、非小细胞肺癌、胰腺癌、膀胱癌、唾液腺癌（腺样囊性癌）、食管癌、间皮瘤癌症以及混合型小细胞肺癌 / 非小细胞肺癌。

[0088] 组合治疗

[0089] 本文所描述的化合物及其立体异构体和药学上可接受的盐可单独或与用于治疗的其他治疗剂组合使用。本文所描述的化合物可与一种或多种例如通过作用于不同目标蛋白质来起作用的抗过度增殖（或抗癌）药剂等其他药物组合使用。药物组合制剂或投加方案的第二化合物优选地针对本文所描述的化合物具有补充活性，使得它们不会不利地彼此影响。所述分子以对预定目标有效的量适当存在于组合中。化合物可以单一药物组合物的形式一起施用或单独施用，并且当单独施用时，其可同时或以任何顺序依序进行。所述连续施用可在时间上相靠近或在时间上距离较远。

[0090] 在某些实施方案中，G-CSF 与 ARRY-520 组合施用。

[0091] 在某些实施方案中，地塞米松（dexamethasone）与 ARRY-520 组合施用。在某些实施方案中，G-CSF 与 ARRY-520 和地塞米松组合施用。

[0092] 在某些实施方案中，硼替佐米（bortezomib）与 ARRY-520 组合施用。在某些实施方案中，G-CSF 与 ARRY-520 和硼替佐米组合施用。

[0093] 在某些实施方案中，卡非佐米（carfilzomib）与 ARRY-520 组合施用。在某些实施方案中，G-CSF 与 ARRY-520 和卡非佐米组合施用。

[0094] 在某些实施方案中，泊马度胺（pomalidomide）与 ARRY-520 组合施用。在某些实施方案中，G-CSF 与 ARRY-520 和泊马度胺组合施用。

实施例

[0095] 出于说明性目的，包括以下实施例。然而，应了解这些实施例不限制本发明而是仅意味着提出实践本发明的方法。

[0096] 在以下描述的实施例中，除非另外指出，否则所有温度均是以摄氏温度形式阐述。试剂是购自商业供应商，并且除非另外指出，否则未进一步纯化即使用。

[0097] 实施例 1

[0098] ARRY-520 TRANSIL® 结合方法

[0099] TRANSIL® 结合方法 (www.admecell.com) - 分析缓冲液：磷酸盐缓

冲盐水 (“PBS”) (pH 7.4 (Gibco 10010)) 和二甲亚砜 (“DMSO”)。板: 定购自 ADMEcell (Alameda, CA)。AGP- 全板: TBP-0211-0096; AGP- 条形板: TBP-0211-1196; HSA- 全板: TBP-0210-0096; HSA- 条形板: TBP-0210-1196。停止溶液: 加了内标的 100% 乙腈 (0.4 μM 最终浓度)。

[0100] 药物稀释: 稀释药物样品以形成最终 2 μM 药物浓度 (1% DMSO) (每一蛋白质测试使用 360 μL 最终稀释药物, 即使用 720 μL 来进行 AAG 与 HSA 实验)。将药物制成于 DMSO 中的 10mM 储备溶液。将 10mM 储备液稀释成 200 μM (0.2mM) 储备溶液 (向 196 μL DMSO 中添加 4 μL 10mM 储备溶液)。将 200 μM 储备液稀释成 20 μM 储备溶液 (向 900 μL PBS 缓冲液 (pH 7.4) 中添加 100 μL 200 μM DMSO 储备溶液)。

[0101] 将分析试剂盒在室温下解冻 (约 3 小时) 或在致冷器中在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下解冻过夜。将板放进孵育器、CO₂ (5%) 中持续 30 分钟, 然后添加化合物。制备化合物的预稀释液 (10 倍分析浓度), 参见以上药物稀释步骤。将药物稀释液在 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中升温, 然后将化合物投加至板中。注意: 仔细检查预稀释液有无任何沉淀并且保证你的测试物品有足够的缓冲液溶解度和稳定性。将测试物品溶液 (45 μL) 添加至即用型试剂盒的管/孔中并且孵育 2 分钟。通过再悬浮珠粒混合十次。将小瓶总体积 (总体积是 450 μL) 的约一半再悬浮。不使用回转式振荡器。将小瓶用外摆式离心机在 750g 下旋转 10 分钟。小心地向 96 孔板中转移 100 μL 。以拉贝洛尔 (labetalol) 作为内标添加乙腈 (50 μL) (0.4 μM 最终浓度)。将板密封用于分析。用 LC/MS (API4000) 定量上清液的浓度。还参见 Brown, Karin D. 同上。结果见于表 1 中。使用 ACD/pKa DB 软件估算 pKa 值。计算:

[0102]

$$K_d = c_{\text{游离}} \cdot \frac{1 - \frac{c_{\text{总}} - c_{\text{游离}} \cdot f_{\text{校正}}}{c_{\text{蛋白质}}}}{\frac{c_{\text{总}} - c_{\text{游离}} \cdot f_{\text{校正}}}{c_{\text{蛋白质}}}}$$

[0103] 表 1

[0104]

| 化合物 | 离子化状态 (pKa) | 相对于人 血浆的 Fu % | Kd (μM) - AVG | | AAG 对比 HAS 的倍数 偏好性 |
|----------|----------------|---------------------|----------------------------|-----|--------------------------|
| | | | AAG | HSA | |
| ARRY-520 | 碱(9.7) | 7 | 5 | 147 | 29 |

[0105] 实施例 2

[0106] 3 天细胞 (NCI H929MM) 活力分析

[0107] Cell Titer Blue 增殖分析: AAG 对 MM 细胞系中的 ARRY-520 细胞毒性活性有影响。

[0108] 试剂: RPMI-8226、H929、RPMI 1640 培养基、10% FBS、Glutamax

[0109] 试剂盒: Cell Titer-Blue 细胞活力分析, Promega Corp. (Madison Wisconsin), 目录号 G8081

- [0110] 化合物：
- [0111] 10mM DMSO 中的 ARRY-520 储备液
- [0112] 购自 Sigma-Aldrich Co. LLC (St. Louis, MO) (目录号 G9885) 的来自人血浆的 250mg AAG
- [0113] 添加 6.2mL PBS → 40mg/mL 储备液
- [0114] 储存在 4°C 下
- [0115] 程序：
- [0116] 在 96 孔 v 形底板中布置 ARRY-520 稀释液：
- [0117] 在孔 B2-B11 中放置 10 μL DMSO
- [0118] 向孔 B2 中添加 10 μL 100 μM ARRY-520 并且通过上下吸移进行混合
- [0119] 使用新的移液管尖端, 向孔 B3 中转移 10 μL B2 并且通过上下吸移进行混合
- [0120] 重复程序直到 B10, 接着从 B10 中弃去 10 μL
- [0121] 孔 B11 是 DMSO 对照孔
- [0122] 现在孔 B2-B10 具有 10 μL ARRY-520 的 1:2 倍连续稀释液 (50 μM 至 200nM)
- [0123] 向每个孔中添加 190 μL 生长培养基 (1:20 稀释液, 5% DMSO f. c.)
- [0124] 将盖子安置于板上并且放到旁边。
- [0125] 制备 AAG 溶液：
- [0126] 30mg/mL : 150 μL 40mg/mL + 50 μL PBS
- [0127] 20mg/mL : 100 μL 40mg/mL + 100 μL PBS
- [0128] 10mg/mL : 100 μL 40mg/mL + 300 μL PBS
- [0129] 5mg/mL : 100 μL 10mg/mL + 100 μL PBS
- [0130] 计算 MM 细胞的数目
- [0131] 在 8mL 生长培养基中放置 1.2×10^6 个细胞并且轻轻地混合以形成细胞悬浮液 (143 个细胞 / μL)
- [0132] 如以下所概述向两个 96 孔黑壁透明底组织培养板 (Sigma-Aldrich 目录号 CLS3904) 中添加 10 μL (1/10 体积) 化合物稀释液 (上述)。确保这 10 μL 位于每个板底部
- [0133] 将 v 形底板的孔 B2-B11 的 10 μL ARRY-520 稀释液放入 2 个相同的黑壁 96 孔板的行 B-G 中
- [0134] 向第 B-G 行的第 2-11 列添加 80 μL 150 个细胞 / μL 细胞悬浮液 (总共 12,000 个细胞 / 孔) : 板 1-RPMI 8226, 并且板 2-NCI H929
- [0135] AAG 添加：
- [0136] 向每个板的行 B 添加 10 μL PBS
- [0137] 向每个板的行 C 添加 10 μL 40mg/mL AAG 溶液 (4mg/mL f. c.)
- [0138] 向每个板的行 D 添加 10 μL 30mg/mL AAG 溶液 (3mg/mL f. c.)
- [0139] 向每个板的行 E 添加 10 μL 20mg/mL AAG 溶液 (2mg/mL f. c.)
- [0140] 向每个板的行 F 添加 10 μL 10mg/mL AAG 溶液 (1mg/mL f. c.)
- [0141] 向每个板的行 G 添加 10 μL 5mg/mL AAG 溶液 (0.5mg/mL f. c.)
- [0142] 向板的剩余外部孔中添加 100 μL 培养基

[0143] 在以 100 μ L 最终体积用化合物接种细胞之后,将板放于 37°C 孵育器 (5%或 0% CO₂) 中并且在 24、48 以及 72 小时后进行分析:

[0144] 向各个孔中添加 20 μ L Cell Titer Blue 试剂,在一个板振荡器上简单混合 10 秒,并且放回孵育器中 2-4 小时

[0145] 使用 590nm 截止滤光片在 Gemini (荧光板读数器, Spectramax, Molecular Devices) 上在 Ex/Em 560/590nm 下读取荧光

[0146] 将所计算的减去背景的荧光信号 (RFU) 输出到 Excel 中并且用于使用 XLFit4 用以下 4 参数拟合方程式分析剂量反应: $Fit = (A + ((B - A) / (1 + ((C/x)^D)))$

[0147] 结果:增加 AAG 水平使两种细胞系对 ARRY-520 的细胞敏感性明显降低。在分析中当 [AAG] 增加时对 ARRY-520 的细胞敏感性降低大于 30 倍,这与在增加 [AAG] 情况下减少的未结合 ARRY-520 一致。NCI H929 结果参见图 1。

[0148] 实施例 3

[0149] 晚期癌症患者中的 ARRY-520 研究

[0150] ARRY-520 的 1 期研究。参见 clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00462358; 以及 Goncalves, P. 等, “A Phase 1 Safety and Pharmacokinetic Study of ARRY-520 in Solid Tumors”, 2010 American Society of Clinical Oncology Annual Meeting, Abstract#2570, www.arraybiopharma.com/_documents/Publication/PubAttachment387.pdf, 该等文献的内容以全文引用的方式并入本文中。

[0151] 实施例 4

[0152] 晚期骨髓性白血病患者中的 ARRY-520 研究

[0153] ARRY-520 作为单一药剂的 2 期研究。参见 clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00637052; Garcia-Manero, Guillermo 等, “A Phase 1 Dose-Escalation Study of the Novel KSP Inhibitor ARRY-520 in Advanced Leukemias”, 2009 51st American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition, Abstract#22799, www.arraybiopharma.com/_documents/Publication/PubAttachment368.pdf; 以及 Estrov, Z. 等, “A Phase 1 Dose-Escalation Study of the Novel KSP Inhibitor ARRY-520 in Advanced Leukemias”, 2009 American Society of Clinical Oncology Annual Meeting, www.arraybiopharma.com/_documents/Publication/PubAttachment347.pdf, 该等文献的内容以全文引用的方式并入本文中。

[0154] 实施例 5

[0155] 复发性或难治性多发性骨髓瘤患者中的 ARRY-520 研究

[0156] ARRY-520 和地塞米松的 1/2 期研究。参见 clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00821249; Shah, J. J. 等, “A Phase 1/2 Trial of the KSP Inhibitor ARRY-520 in Relapsed/Refractory Multiple Myeloma”, 2010 American Society of Hematology Meeting, 出版编号 1959, www.arraybiopharma.com/_documents/Publication/PubAttachment428.pdf; Shah, J. J. 等, “ARRY-520 Shows Durable Responses in Patients with Relapsed/Refractory Multiple Myeloma in a Phase 1 Dose-Escalation Study”, 2011 American Society of Hematology Annual Meeting, www.arraybiopharma.com/_documents/Publication/PubAttachment493.pdf;

Lonial, S. 等, “The Novel KSP Inhibitor ARRY-520 Demonstrates Single-Agent Activity in Refractory Myeloma: Results From a Phase 2 Trial in Patients with Relapsed/Refractory Multiple Myeloma”, 2011 American Society of Hematology Annual Meeting, Abstract#2935, www.arraybiopharma.com/_documents/Publication/PubAttachment563.pdf; Shah, J. J. 等, “The Novel KSP Inhibitor ARRY-520 Is Active Both with and without Low-Dose Dexamethasone in Patients with Multiple Myeloma Refractory to Bortezomib and Lenalidomide: Results From a Phase 2 Study”, 2012 American Society of Hematology Meeting, www.arraybiopharma.com/_documents/Publication/PubAttachment556.pdf; Lonial, S. 等, “The Novel KSP Inhibitor ARRY-520 Demonstrates Single-Agent Activity in Refractory Myeloma: Results From a Phase 2 Trial in Patients with Relapsed/Refractory Multiple Myeloma”, 2011 American Society of Hematology Annual Meeting, Abstract 2935, www.arraybiopharma.com/_documents/Publication/PubAttachment563.pdf; 以及 Lonial, Sagar 等, “Single-Agent Activity of the Novel KSP Inhibitor ARRY-520 in Patients with Relapsed or Refractory Multiple Myeloma (RRMM): Results from Subgroup Analyses.” 2013 International Myeloma Workshop, Poster#P-224, www.arraybiopharma.com/_documents/Publication/PubAttachment563.pdf, 该等文献的内容以全文引用的方式并入本文中。

[0157] 实施例 6

[0158] PK 模型化

[0159] 群体 PK (“popPK”) 模型化是基于实施例 3 至 5 中的患者的 ARRY-520 血浆浓度。模型最佳化是使用 Phoenix 6.3 (Pharsight Corporation, St. Louis, MO) 的 QRPEM 工具来实现。模型选择是基于 AIC 比较和诊断图。模拟是针对在不同 [AAG] 情况下在第 1 天和第 2 天接受 $1.5\text{mg}/\text{m}^2$ 的 2 期剂量的典型患者。参见图 2。在大于 $1.1\text{g}/\text{L}$ 的 [AAG] 下, 未预测到持续的超过所估计的体外未结合 IC_{50} 的暴露。

[0160] 当 AAG 升高时, 预测的 KSP 抑制未持续。临床活性可能需要延长的 KSP 抑制 (超过 $0.2\text{ng}/\text{mL}$ 的未结合 ARRY-520 IC_{50} 大于 24 小时)。ARRY-520 的未结合浓度 / 时间是基于 popPK 模型对比 [AAG] 进行模拟 ($N = 50$ 个患者 / AAG 水平)。计算了大于 $0.2\text{ng}/\text{mL}$ 的未结合 ARRY-520 浓度的预期总时间。参见图 3。

[0161] 实施例 7

[0162] AAG 分析

[0163] R&D Systems, Inc. (Minneapolis, MN) **Quantikine®** 人 $\alpha 1$ -酸性糖蛋白免疫测定 (目录号 DAGP00) 是被设计用于测量细胞培养上清液、血清、血浆以及尿中的人 AAG 的 4.5 小时固相 ELISA。这一分析使用定量夹心酶免疫测定技术。对 AAG 具特异性的单克隆抗体已预涂布至微板上。将标准物和样品吸移至孔中, 并且所存在的任何 AAG 均由固定化抗体结合。在洗掉任何未结合物质之后, 向孔中添加对 AAG 具特异性的酶联多克隆抗体。在进行洗涤以移除任何未结合抗体 - 酶试剂之后, 向孔中添加底物溶液, 并且与在起始步骤中所结合的 AAG 的量成比例显色。使显色停止, 并且测量颜色的强度。除了下文另有描述的地方外均如包装说明书中所描述进行分析。

[0164] 提供于 R&D Systems, Inc. **Quantikine®** 人 AAG 免疫测定 (目录号 DAGP00) 中的材料包括:

[0165] AAG 微板 (组件号 893786)-涂有针对 AAG 的小鼠单克隆抗体的 96 孔聚苯乙烯微板 (12 个具有 8 个孔的条带)。

[0166] AAG 缀合物 (组件号 893787)-21mL 具有防腐剂的针对缀合至辣根过氧化酶的 AAG 的多克隆抗体。

[0167] AAG 标准物 (组件号 893788)-3 小瓶 (400ng/ 小瓶) 具有防腐剂的人 AAG/ 缓冲液;冻干。

[0168] 分析稀释剂 RD1-73 (组件号 895541)-12.5mL 具有防腐剂的缓冲液。

[0169] 校正稀释剂 RD5-20 浓缩物 (组件号 895346)-2 小瓶 (21mL/ 小瓶) 具有防腐剂的缓冲蛋白质基质。

[0170] 洗涤缓冲液浓缩物 (组件号 895003)-21mL 具有防腐剂的缓冲表面活性剂的 25 倍浓缩溶液。

[0171] 显色试剂 A (组件号 895000)-12.5mL 稳定化过氧化氢。

[0172] 显色试剂 B (组件号 895001)-12.5mL 稳定化色原 (四甲基联苯胺)。

[0173] 停止溶液 (组件号 895032)-6mL 2N 硫酸。

[0174] 板覆盖物 -4 条粘合带

[0175] R&D Systems, Inc. **Quantikine®** 人 AAG 免疫测定 (目录号 DAGP00) 所需的其它材料包括:

[0176] 能够测量在 450nm 下的吸光率的微板读数器,其中校正波长设定在 540nm 或 570nm

[0177] 移液管和移液管尖端。

[0178] 去离子水或蒸馏水

[0179] 洗瓶、多支管分配器或自动微板洗涤器

[0180] 500mL 刻度量筒

[0181] 2-8°C 孵育器

[0182] 用于稀释标准物和样品的试管

[0183] 样品收集和储存:血清 - 使用血清分离管 (SST) 并且使样品凝结 30 分钟,然后在 1000x g 下离心 15 分钟。移除血清并且立即分析或将试样等分并且将样品储存在 $\leq -20^{\circ}\text{C}$ 下。避免重复冷冻 - 解冻循环。血浆 - 使用 EDTA 或肝素作为抗凝剂收集血浆。在收集 30 分钟内在 1000x g 下离心 15 分钟。立即分析或将试样等分并且将样品储存在 $\leq -20^{\circ}\text{C}$ 下。避免重复冷冻 - 解冻循环。注意:未验证柠檬酸盐血浆用于这一分析。

[0184] 样品制备:血清和血浆样品需要 10,000 倍稀释。所提出的 10,000 倍稀释可通过向 990 μL 校正稀释剂 RD5-20 (1X) 中添加 10 μL 样品来实现。通过向 990 μL 校正稀释剂 RD5-20 (1X) 中添加 10 μL 稀释的样品来完成 10,000 倍稀释。

[0185] 试剂准备 (在使用之前使所有试剂达到室温):

[0186] 洗涤缓冲液 - 如果浓缩物中已形成晶体,那么升温至室温并且轻轻地混合直至晶体完全溶解。将 20mL 洗涤缓冲液浓缩物稀释到去离子水或蒸馏水中,以制备 500mL 洗涤缓冲液。

[0187] 校正稀释剂 RD5-20 (1X) - 向 80mL 去离子水或蒸馏水中添加 20mL 校正稀释剂 RD5-20 浓缩物, 以制备 100mL 校正稀释剂 RD5-20 (1X)。

[0188] 底物溶液 - 显色试剂 A 和 B 应在使用前 15 分钟内以相等体积混合在一起。避光保存。每孔需要 200 μ L 所得混合物。

[0189] AAG 标准物 - 将 AAG 标准物用 0.5mL 校正稀释剂 RD5-20 (1X) 复水。该复水产生 800ng/mL 的储备溶液。混合标准物以确保完成复水, 并且使标准物在温和搅拌下停留最少 15 分钟, 然后制备稀释液。

[0190] 向每个管中吸移 250 μ L 校正稀释剂 RD5-20 (1X)。使用 AAG 储备溶液来产生 2 倍稀释系列。在接下来的转移之前将每个管彻底混合。800ng/mL 标准物充当高标准。校正稀释剂 RD5-20 (1X) 充当零标准 (0ng/mL)。

[0191] 程序: 在使用之前使所有试剂和样品达到室温。建议所有样品和标准物至少一式两份进行分析。

[0192] 1. 如上文所描述制备所有试剂、工作标准物以及样品。

[0193] 2. 从板框架中移除过量微板条, 将它们放回含有干燥剂包的箔袋并且再密封。

[0194] 3. 向每个孔中添加 100 μ L 分析稀释剂 RD1-73。

[0195] 4. 每一孔中添加 50 μ L 标准物或样品 (血清和血浆样品需要如上文所描述进行稀释)。用所提供的粘合带覆盖。在室温下孵育 2 小时。提供板布置图以记录所分析的标准物和样品。

[0196] 5. 将每个孔吸出并且洗涤, 将该方法重复三次, 进行总共四次洗涤。通过用洗瓶、多支管分配器或自动洗涤器用洗涤缓冲液 (400 μ L) 填充每个孔来进行洗涤。在每一步将液体完全移除是获得良好性能所必需的。在最后一次洗涤之后, 通过吸出或倾析将任何剩余洗涤缓冲液移除。将板颠倒并且将其在清洁纸巾上吸干。

[0197] 6. 向每个孔中添加 200 μ L AAG 缀合物。用新的粘合带覆盖。在室温下孵育 2 小时。

[0198] 7. 重复如步骤 5 中的吸出 / 洗涤。

[0199] 8. 向每个孔中添加 200 μ L 底物溶液。在室温下孵育 30 分钟。避光保存。

[0200] 9. 向每个孔中添加 50 μ L 停止溶液。孔中的颜色应从蓝色变成黄色。如果孔中的颜色是绿色或颜色变化未均匀地出现, 那么将板轻轻拍打以确保彻底混合。

[0201] 10. 使用设定至 450nm 的微板读数器在 30 分钟内测定每个孔的光密度。如果波长校正是可获得的, 那么设定至 540nm 或 570nm。如果波长校正不可获得, 那么从 450nm 下的读数中扣除 540nm 或 570nm 下的读数。这一扣除校正了板的光学不完全性。未经校正 450nm 下直接得到的读数可能较高并且精确性较低。

[0202] 结果的计算: 计算每个标准物、对照以及样品的重复读数的平均值, 并且扣除平均零标准光密度值。通过使用能够产生四参数逻辑 (4-PL) 拟合曲线的计算机软件简化数据来形成标准曲线。作为替代方案, 通过针对 x 轴上的浓度在 y 轴上标绘每个标准物的平均吸光率来构建标准曲线, 并且通过图上的点绘制最佳拟合曲线。可通过绘制 AAG 浓度的对数相较于 O. D. 的对数的曲线来将数据线性化, 并且可通过回归分析来确定最佳拟合线。这一程序产生对数据的足够但较不精确的拟合。如果样品已稀释, 那么从标准曲线读取的浓度必须乘以稀释因子。

[0203] 基线多发性骨髓瘤患者血浆样品（来自实施例 5）中的未结合 ARRY-520 和 [AAG] 的离体分析显示于图 4 中。具有更高基线 [AAG] 的患者血浆样品与更低的可获得的 ARRY-520 相关。升高的 [AAG] 预期缺乏响应并且如图 5 中所示使治疗的时间减少。具有“高”基线 [AAG]（大于 1.1g/L）的大多数患者在少于 5 个月内结束研究。在筛检时，所有实现临床响应（最小响应（“MR”）或部分响应（“PR”））的患者的 [AAG] 均低于 1.1g/L。[AAG] 每增加 1.0g/L 停止研究的风险增加 2.5 倍 ($p < 0.01$)。如表 2 中所示，将基线 [AAG] 超过任意 1.1g/L 截止值的患者排除使得所有研究中 ARRY-520 治疗之后的响应率和研究时间增加。所有响应患者在基线处的 [AAG] 均低于 1.1g/L ($p = 0.03$; FET, 2 尾)。约 30% 的患者在基线处的 [AAG] 大于 1.1g/L。

[0204] 表 2

[0205]

| | 1 期 | | 2 期单一药剂 | | 2 期+地塞米松 | |
|-----------|---------|-------------------|---------|-------------------|----------|-------------------|
| | 所有患者 | [AAG] <1.1 g/L | 所有患者 | [AAG] <1.1 g/L | 所有患者 | [AAG] <1.1 g/L |
| 现有方案中值 | 7 | 6 | 7 | 6 | 10 | 10 |
| n (可估计的) | 27 | 20 | 27 | 21 | 18 | 12 |
| ≥PR | 3 (11%) | 3 (15%) | 5 (19%) | 5 (24%) | 4 (22%) | 4 (33%) |
| ≥MR | 4 (15%) | 4 (20%) | 6 (22%) | 6 (29%) | 6 (33%) | 6 (50%) |
| 中值研究时间(月) | 3.9 | 5.2 | 2.8 | 3.4 | 3.9 | 6.2 |

[0206] 实施例 8

[0207] AAG 分析的可变性

[0208] 在不连续的 3 天内实施例 7 的 R&D Systems, Inc. **Quantikine**® 人 α 1- 酸性糖蛋白免疫测定中一式两份试验四个样品以评估初步分割点附近的可变性。CV 在 1.7% 至 8.6% 范围内。结果显示于图 6 中。

[0209] 实施例 9

[0210] AAG 分析

[0211] 用于 α -1- 酸性糖蛋白 RX 系列 2472 的 Randox Laboratories Ltd. (Crumlin, United Kingdom) 免疫比浊蛋白质诊断试剂用于 RX Imola 系列仪器上。除了下文另有描述的地方外均如包装说明书中所描述进行分析。

[0212] 试剂组合物：

[0213]

| | |
|--------------|-------------------|
| R1. 分析缓冲液 | 初始浓度 |
| 聚乙二醇 | 最大 6% |
| Tris/HCl 缓冲液 | 20 mmol/l, pH 7.4 |
| 氯化钠 | 150 mmol/l |
| 叠氮化钠 | |

[0214] R2. 抗体试剂

[0215]

| | |
|------------------------|-------------------|
| 抗(人) α -1-酸性糖蛋白 | |
| Tris/HCl 缓冲液 | 20 mmol/l, pH 7.4 |
| 氯化钠 | 150 mmol/l |
| 叠氮化钠 | |

[0216] 所提供的材料 :R1 分析缓冲液和 R2 抗体试剂。

[0217] 需要的材料 :0.9% NaCl 溶液、Randox 液体特异性蛋白校正剂 (目录号 IT 2692)、Randox 液体分析特异性蛋白对照物级别 1 (目录号 PS 2682)、级别 2 (目录号 PS 2683) 以及级别 3 (目录号 PS 2684)。

[0218] 程序 :输入特异性蛋白校正剂说明书中所给出的批次特异性值。在分析仪 PC 的硬盘驱动器上预先确定 Randox Dedicated RX 系列分析的化学参数。所需程序应下载到分析仪软件上。将所有必需的指令编码于条码上。使用 Randox 液体分析特异性蛋白校正剂来校正。在每天质量控制中使用 Randox 液体分析特异性蛋白对照物级别 1、级别 2 以及级别 3。

[0219] 实施例 10

[0220] 分析的比较

[0221] 将实施例 7 的 R&D Systems, Inc. **Quantikine**[®] 人 α 1- 酸性糖蛋白免疫测定和 Siemens BNII 分析 (按照制造商的方案进行) 以及 Randox Imola 分析 (除实施例 9 中不同之外均按照制造商的方案进行) 进行比较。比较不同分析之间以及每个分析内的血清和血浆的值。

[0222] 在 R&D Systems **Quantikine**[®] 和 Siemens BNII 分析中在 20 个 MM 和 10 个健康志愿者的血清样品中进行比较测试。使用这一线性回归, R&D Systems **Quantikine**[®] 分析中的 1.1g/L 截止值使用 Siemens BNII 分析计算为 1.635g/L。结果显示于图 7 和表 3 中。

[0223] 表 3

[0224]

| 样品 # | R&D | BNII | 差异 % |
|------|------|------|--------|
| MM1 | 0.67 | 1.06 | 45.09% |
| MM2 | 0.66 | 0.98 | 39.02% |

| | | | |
|------|------|------|--------|
| MM3 | 0.61 | 0.82 | 29.37% |
| MM4 | 1.32 | 2.52 | 62.50% |
| MM5 | 1.19 | 1.74 | 37.54% |
| MM6 | 0.54 | 0.96 | 56.00% |
| MM7 | 0.73 | 1.05 | 35.96% |
| MM8 | 0.87 | 1.37 | 44.64% |
| MM9 | 0.65 | 1.04 | 46.15% |
| MM10 | 0.78 | 1.00 | 24.72% |
| MM11 | 0.34 | 0.63 | 59.79% |
| MM12 | 0.67 | 0.97 | 36.59% |
| MM13 | 0.79 | 1.15 | 37.11% |
| MM14 | 0.44 | 0.84 | 62.50% |
| MM15 | 0.92 | 1.60 | 53.97% |

[0225]

| | | | |
|------|------|------|--------|
| MM16 | 0.74 | 0.97 | 26.90% |
| MM17 | 1.16 | 1.32 | 12.90% |
| MM18 | 0.56 | 0.89 | 45.52% |
| MM19 | 0.83 | 1.06 | 24.34% |
| MM20 | 0.55 | 0.70 | 24.00% |
| H1 | 0.77 | 0.83 | 7.50% |
| H2 | 0.56 | 0.81 | 36.50% |
| H3 | 0.8 | 1.44 | 57.14% |
| H4 | 0.68 | 0.89 | 26.75% |
| H5 | 0.61 | 0.74 | 19.26% |

| | | | |
|-----|------|------|--------|
| H6 | 0.61 | 0.73 | 17.91% |
| H7 | 0.54 | 0.99 | 58.82% |
| H8 | 0.47 | 0.76 | 47.15% |
| H9 | 0.85 | 0.99 | 15.22% |
| H10 | 0.49 | 0.63 | 25.00% |

[0226] 在 R&D Systems Quantikine® 和 Siemens BNII 分析中在 20 个 MM 和 10 个健康志愿者的血浆样品中进行比较测试。使用这一线性回归, R&D Systems Quantikine® 分析中的 1.1g/L 截止值使用 Siemens BNII 分析计算为 1.577g/L。结果显示于图 8 和表 4 中。

[0227] 表 4

[0228]

| 样品 # | R&D | BNII | 差异% |
|------|------|------|--------|
| MM1 | 0.68 | 1.00 | 38.10% |
| MM2 | 0.72 | 1.01 | 33.53% |
| MM3 | 0.49 | 0.81 | 49.23% |
| MM4 | 1.51 | 2.40 | 45.52% |
| MM5 | 1.25 | 1.67 | 28.77% |
| MM6 | 0.59 | 0.98 | 49.68% |
| MM7 | 0.76 | 0.97 | 24.28% |
| MM8 | 0.89 | 1.37 | 42.48% |
| MM9 | 0.65 | 1.07 | 48.84% |
| MM10 | 0.74 | 0.98 | 27.91% |

[0229]

| | | | |
|------|------|------|--------|
| MM11 | 0.33 | 0.61 | 59.57% |
| MM12 | 0.66 | 0.92 | 32.91% |
| MM13 | 0.77 | 1.14 | 38.74% |
| MM14 | 0.44 | 0.83 | 61.42% |

| | | | |
|------|------|------|--------|
| MM15 | 0.88 | 1.46 | 49.57% |
| MM16 | 0.71 | 0.97 | 30.95% |
| MM17 | 1.04 | 1.32 | 23.73% |
| MM18 | 0.59 | 0.91 | 42.67% |
| MM19 | 0.81 | 1.03 | 23.91% |
| MM20 | 0.5 | 0.68 | 30.51% |
| H1 | 0.71 | 0.83 | 15.58% |
| H2 | 0.47 | 0.79 | 50.79% |
| H3 | 0.81 | 1.32 | 47.89% |
| H4 | 0.6 | 0.88 | 37.84% |
| H5 | 0.61 | 0.74 | 19.26% |
| H6 | 0.59 | 0.77 | 26.47% |
| H7 | 0.64 | 0.96 | 40.00% |
| H8 | 0.43 | 0.76 | 55.46% |
| H9 | 0.78 | 1.00 | 24.72% |
| H10 | 0.47 | 0.55 | 15.69% |

[0230] 在 R&D Systems Quantikine®和 Randox Imola 分析中在 20 个 MM 和 10 个健康志愿者的血清样品中进行比较测试。使用这一线性回归, R&D Systems Quantikine®分析中的 1.1g/L 截止值使用 Randox Imola 分析计算为 1.510g/L。结果显示于图 9 和表 5 中。

[0231] 表 5

[0232]

| 样品 # | R&D | Imola | 差异% |
|------|------|--------|--------|
| MM1 | 0.67 | 1.0144 | 40.89% |
| MM2 | 0.66 | 0.7632 | 14.50% |
| MM3 | 0.61 | 0.7842 | 24.99% |
| MM4 | 1.32 | 2.4052 | 58.26% |

[0233]

| | | | |
|------|------|--------|--------|
| MM5 | 1.19 | 1.7283 | 36.89% |
| MM6 | 0.54 | 0.8491 | 44.50% |
| MM7 | 0.73 | 0.9776 | 29.00% |
| MM8 | 0.87 | 1.2995 | 39.59% |
| MM9 | 0.65 | 0.9467 | 37.16% |
| MM10 | 0.78 | 0.9102 | 15.41% |
| MM11 | 0.34 | 0.59 | 53.76% |
| MM12 | 0.67 | 0.7906 | 16.51% |
| MM13 | 0.79 | 0.9579 | 19.21% |
| MM14 | 0.44 | 0.7758 | 55.24% |
| MM15 | 0.92 | 1.309 | 34.90% |
| MM16 | 0.74 | 0.8935 | 18.79% |
| MM17 | 1.16 | 1.2222 | 5.22% |
| MM18 | 0.56 | 0.8364 | 39.59% |
| MM19 | 0.83 | 0.9556 | 14.07% |
| MM20 | 0.55 | 0.6469 | 16.19% |
| H1 | 0.77 | 0.8067 | 4.66% |
| H2 | 0.56 | 0.6945 | 21.44% |
| H3 | 0.8 | 1.063 | 28.23% |
| H4 | 0.68 | 0.7849 | 14.32% |
| H5 | 0.61 | 0.6837 | 11.39% |
| H6 | 0.61 | 0.6834 | 11.35% |
| H7 | 0.54 | 0.9057 | 50.59% |

| | | | |
|-----|------|--------|--------|
| H8 | 0.47 | 0.7162 | 41.51% |
| H9 | 0.85 | 0.9556 | 11.70% |
| H10 | 0.49 | 0.601 | 20.35% |

[0234] 在 R&D Systems Quantikine®和 Randox Imola 分析中在 20 个 MM 和 10 个健康志愿者的血浆样品中进行比较测试。使用这一线性回归, R&D Systems Quantikine®分析中的 1.1g/L 截止值使用 Randox Imola 分析计算为 1.462g/L。结果显示于图 10 和表 6 中。

[0235] 表 6

[0236]

| 样品 # | R&D | Imola | 差异% |
|------|------|--------|--------|
| MM1 | 0.68 | 0.9916 | 37.28% |
| MM2 | 0.72 | 0.7535 | 4.55% |
| MM3 | 0.49 | 0.7717 | 44.65% |
| MM4 | 1.51 | 2.3279 | 42.62% |
| MM5 | 1.25 | 1.6753 | 29.08% |
| MM6 | 0.59 | 0.8318 | 34.01% |
| MM7 | 0.76 | 0.9486 | 22.08% |
| MM8 | 0.89 | 1.2362 | 32.57% |
| MM9 | 0.65 | 0.9517 | 37.67% |
| MM10 | 0.74 | 0.8981 | 19.30% |
| MM11 | 0.33 | 0.5866 | 55.99% |
| MM12 | 0.66 | 0.7685 | 15.19% |
| MM13 | 0.77 | 0.9596 | 21.92% |
| MM14 | 0.44 | 0.7462 | 51.63% |
| MM15 | 0.88 | 1.2265 | 32.90% |
| MM16 | 0.71 | 0.877 | 21.05% |
| MM17 | 1.04 | 1.1887 | 13.34% |

| | | | |
|------|------|--------|--------|
| MM18 | 0.59 | 0.8074 | 31.11% |
| MM19 | 0.81 | 0.9816 | 19.16% |
| MM20 | 0.5 | 0.6286 | 22.79% |
| H1 | 0.71 | 0.7843 | 9.94% |
| H2 | 0.47 | 0.6642 | 34.24% |
| H3 | 0.81 | 0.999 | 20.90% |
| H4 | 0.6 | 0.7558 | 22.98% |
| H5 | 0.61 | 0.658 | 7.57% |
| H6 | 0.59 | 0.6798 | 14.14% |
| H7 | 0.64 | 0.8789 | 31.46% |
| H8 | 0.43 | 0.6892 | 46.32% |
| H9 | 0.78 | 0.8869 | 12.83% |
| H10 | 0.47 | 0.5452 | 14.81% |

[0237] 应了解,所列举的实施方案不意在将本发明限制于这些实施方案。相反地,本发明旨在涵盖可包括如权利要求书所定义的本发明范围内的所有替代、修改以及等效形式。因此,先前的描述被视为仅说明本发明的原理。

[0238] 词语“包含”、“包含着”、“包括”、“包括着”以及“包括了”在用于本说明书和以下权利要求书中时意在指定存在所陈述的特征、整体、组件或步骤,但它们不排除存在或添加一个或多个其它特征、整体、组件、步骤或其群组。

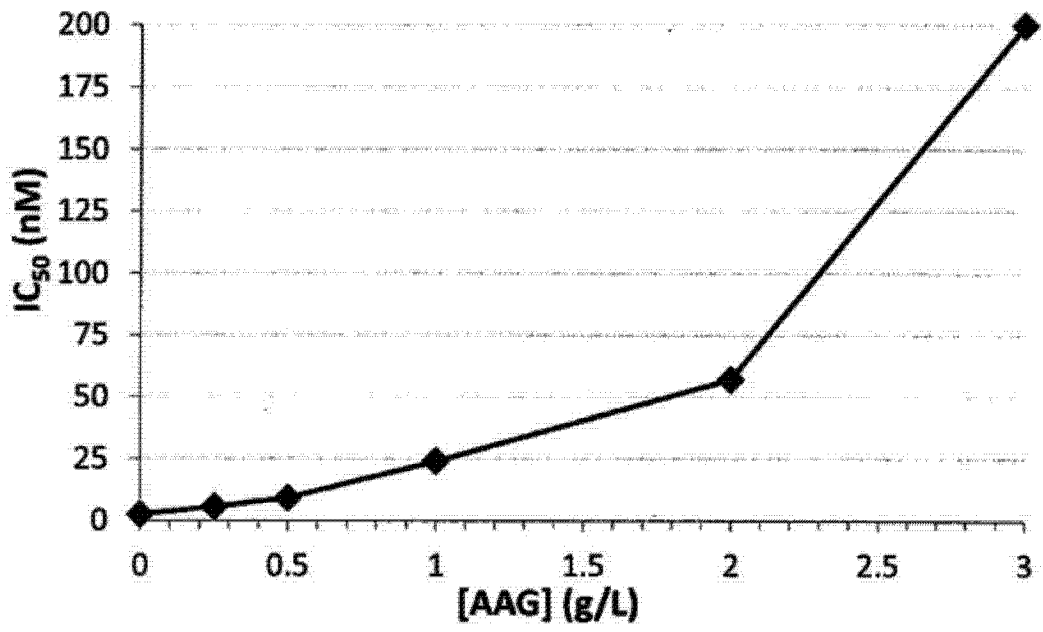


图 1

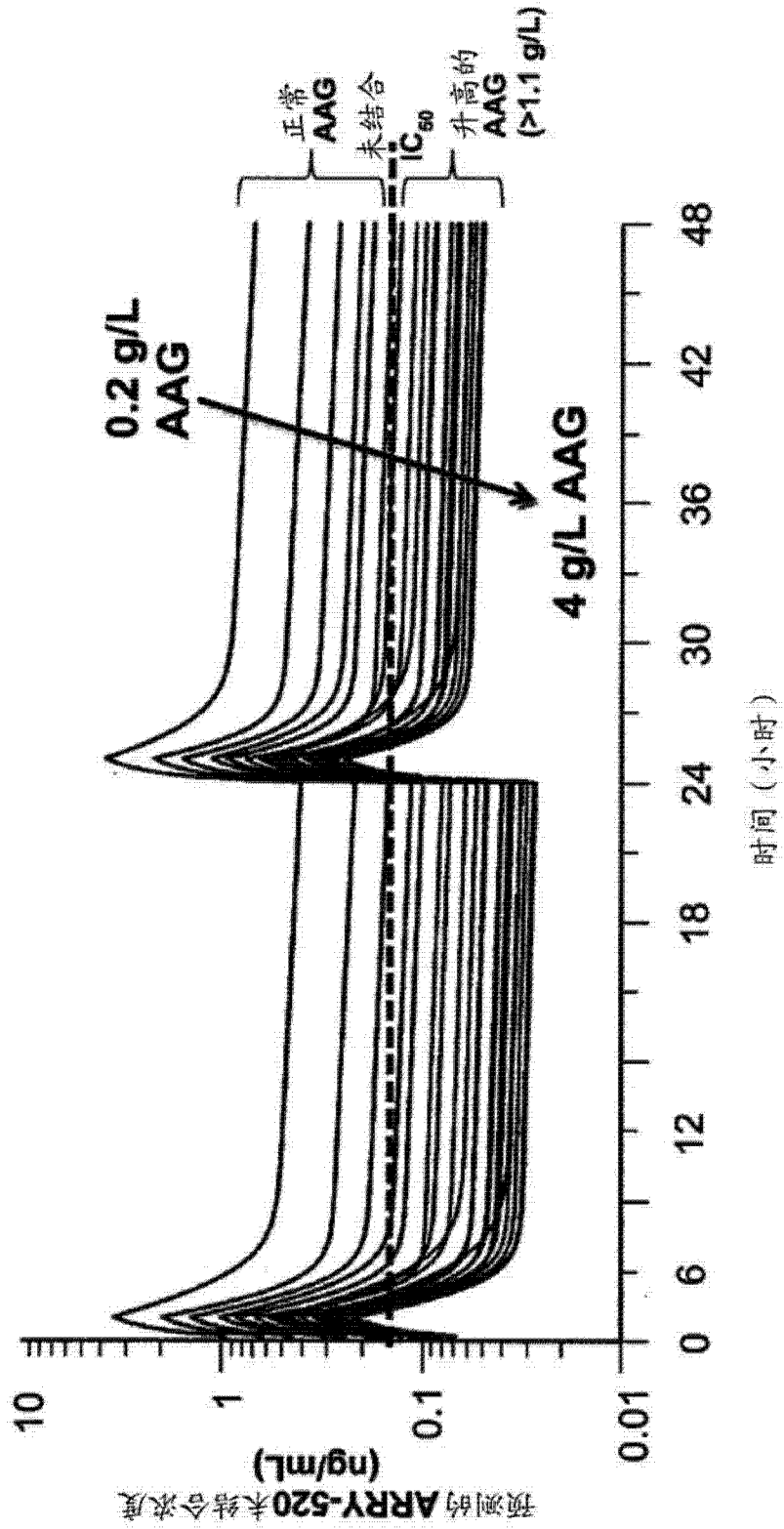


图 2

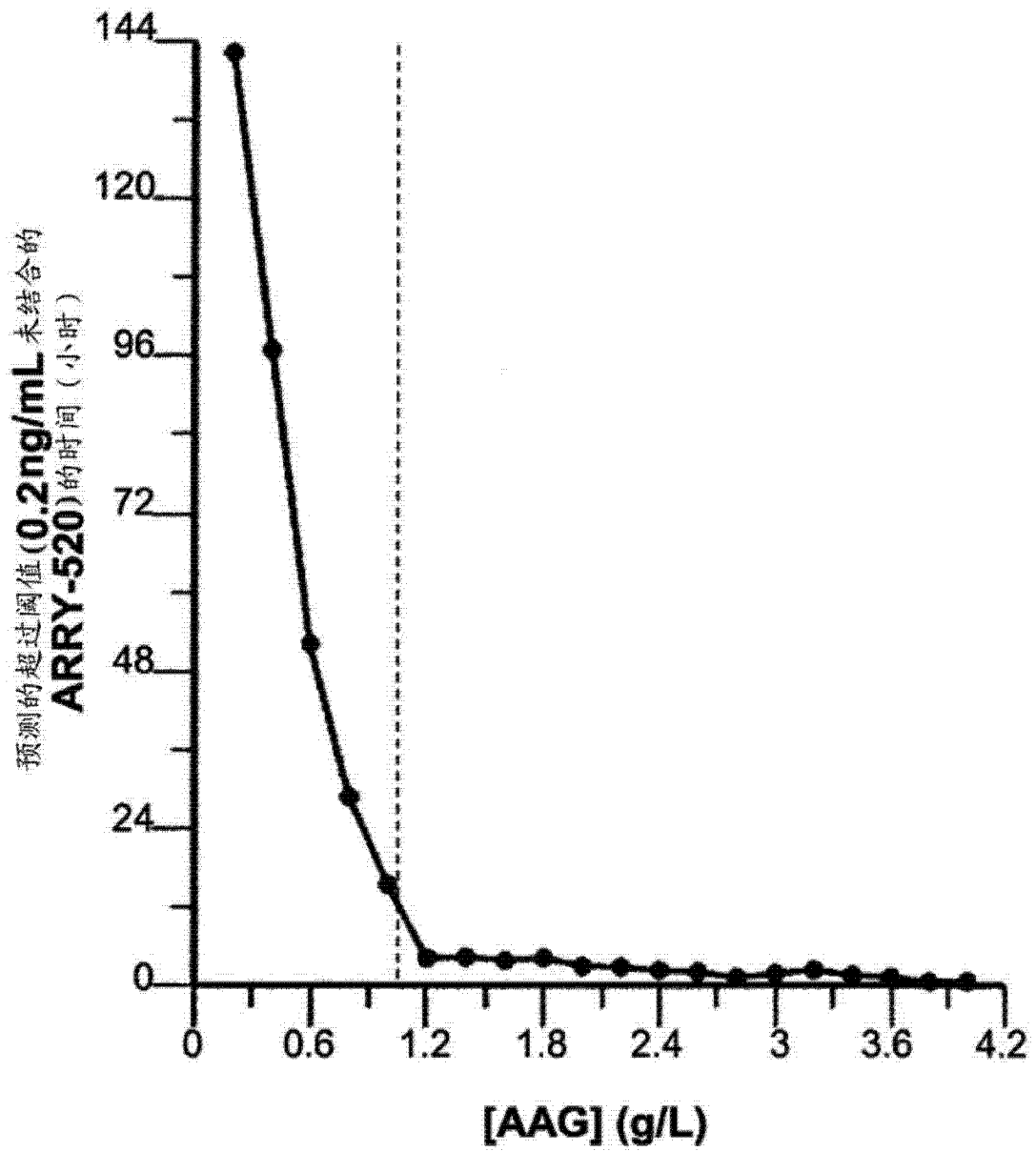


图 3

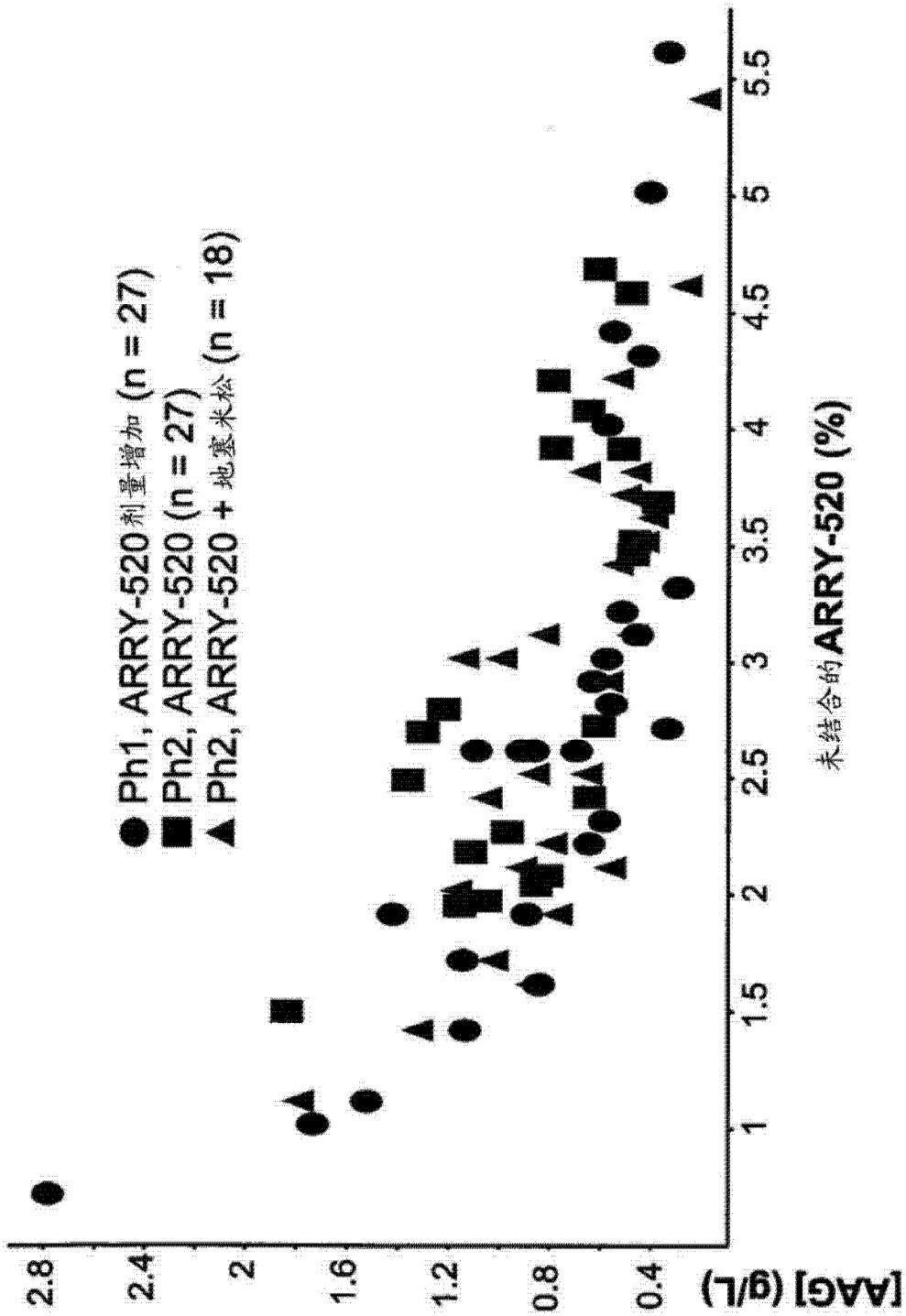


图 4

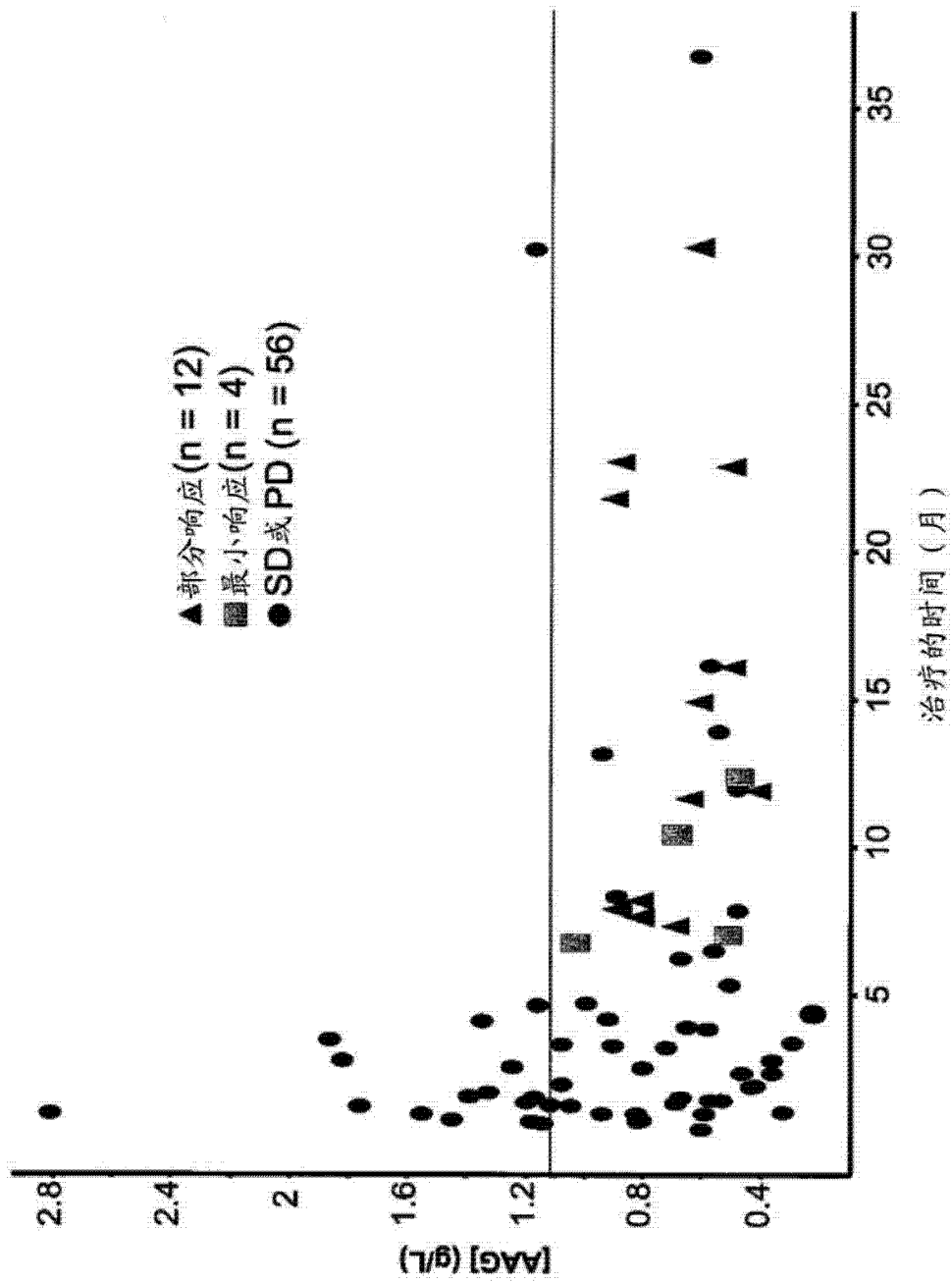


图 5

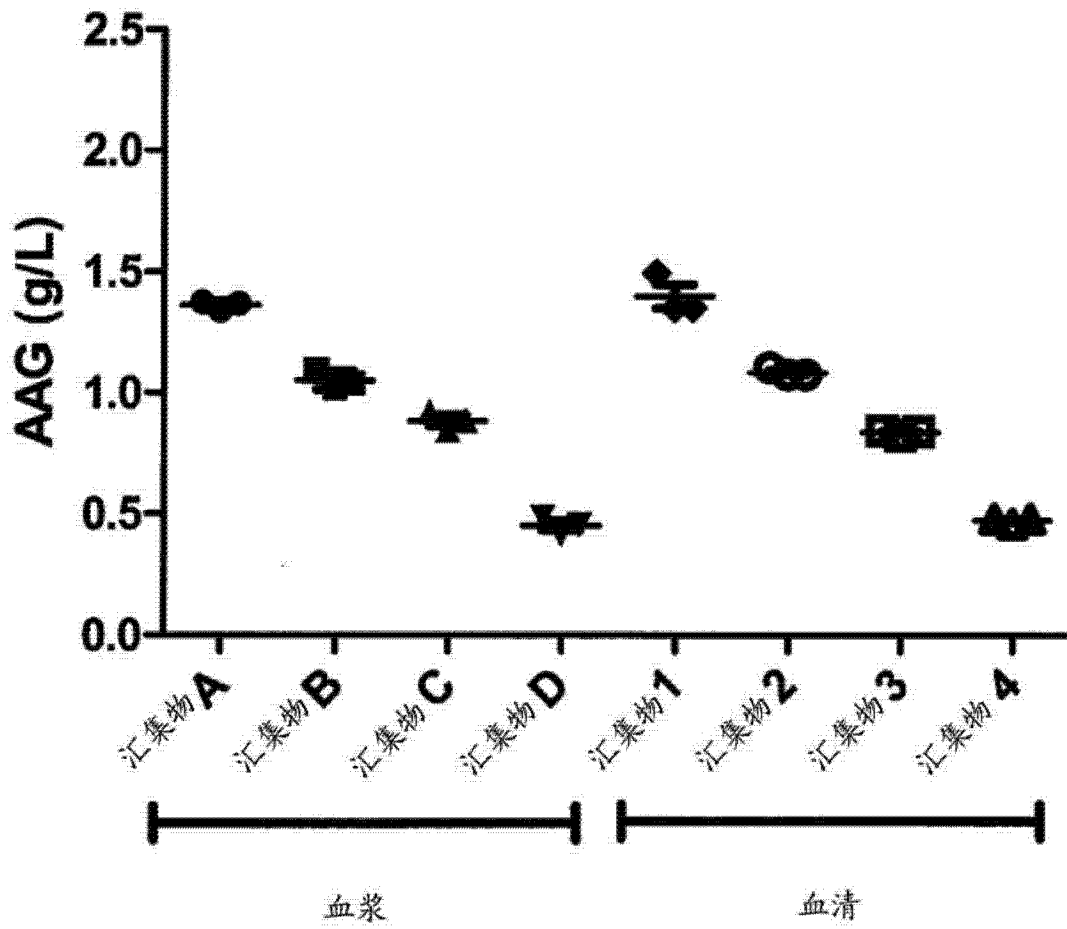


图 6

R&D Systems Quantikine 对比 Siemens BNII

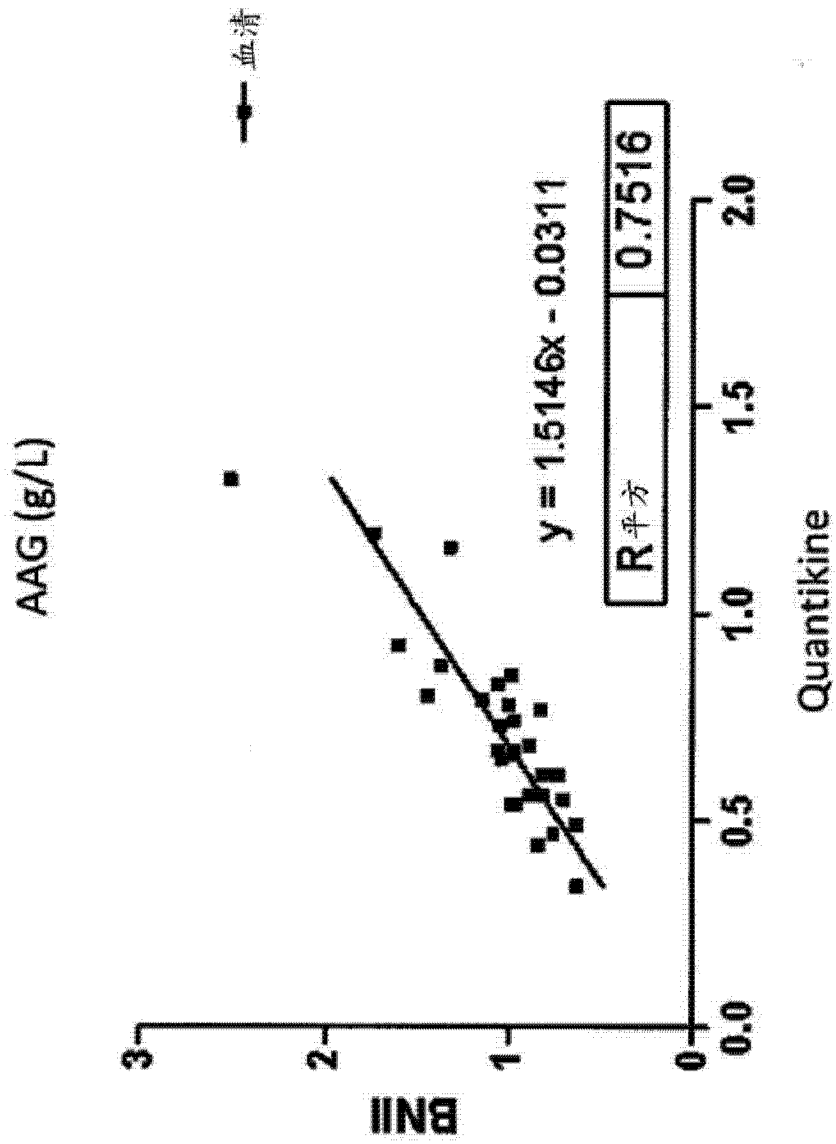


图 7

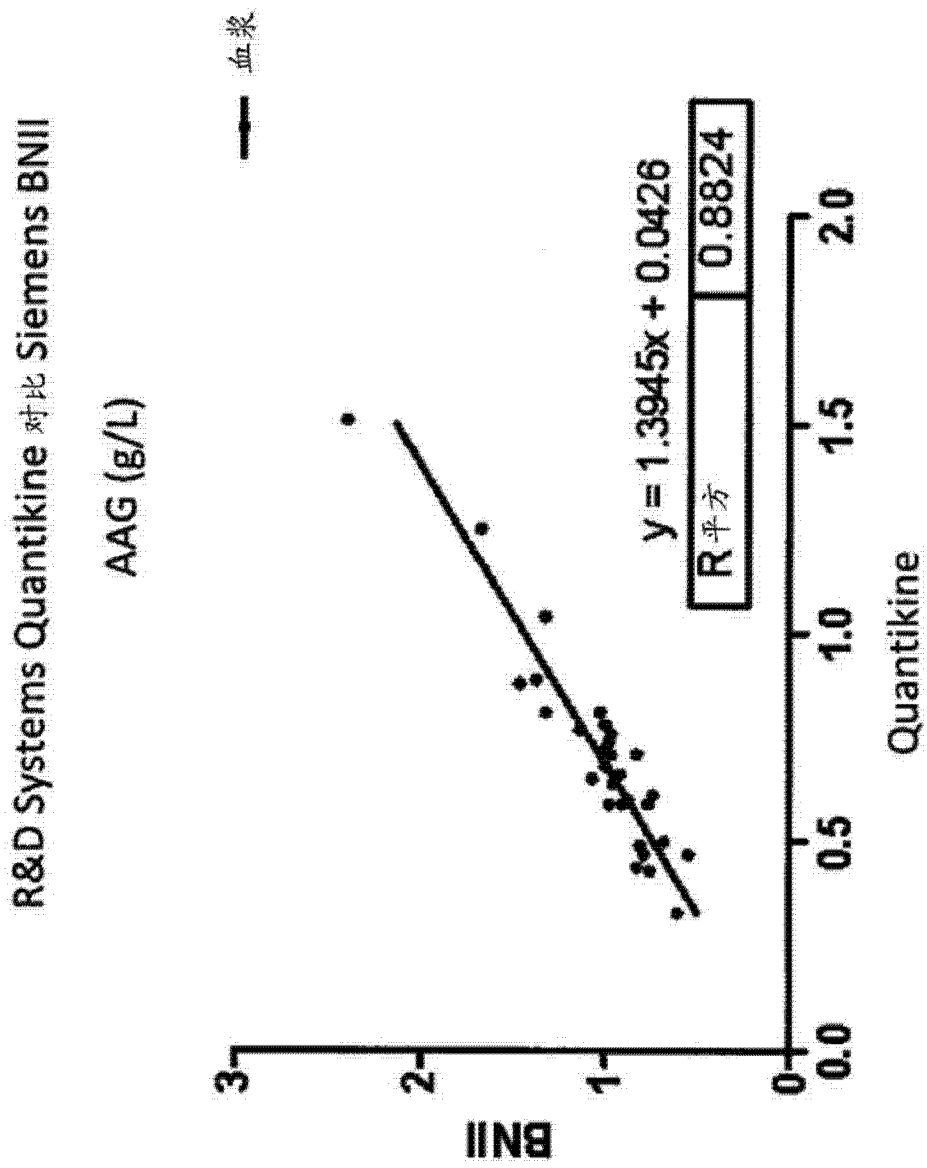


图 8

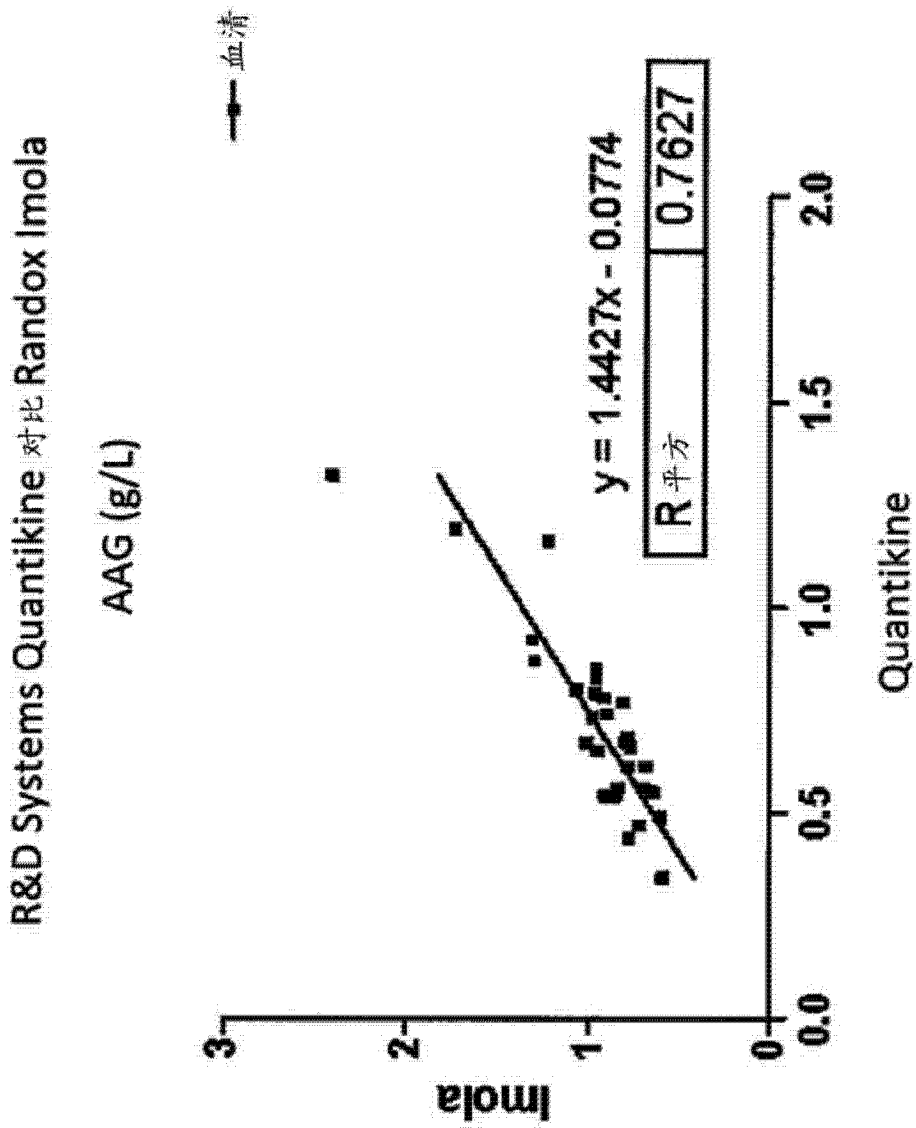


图 9

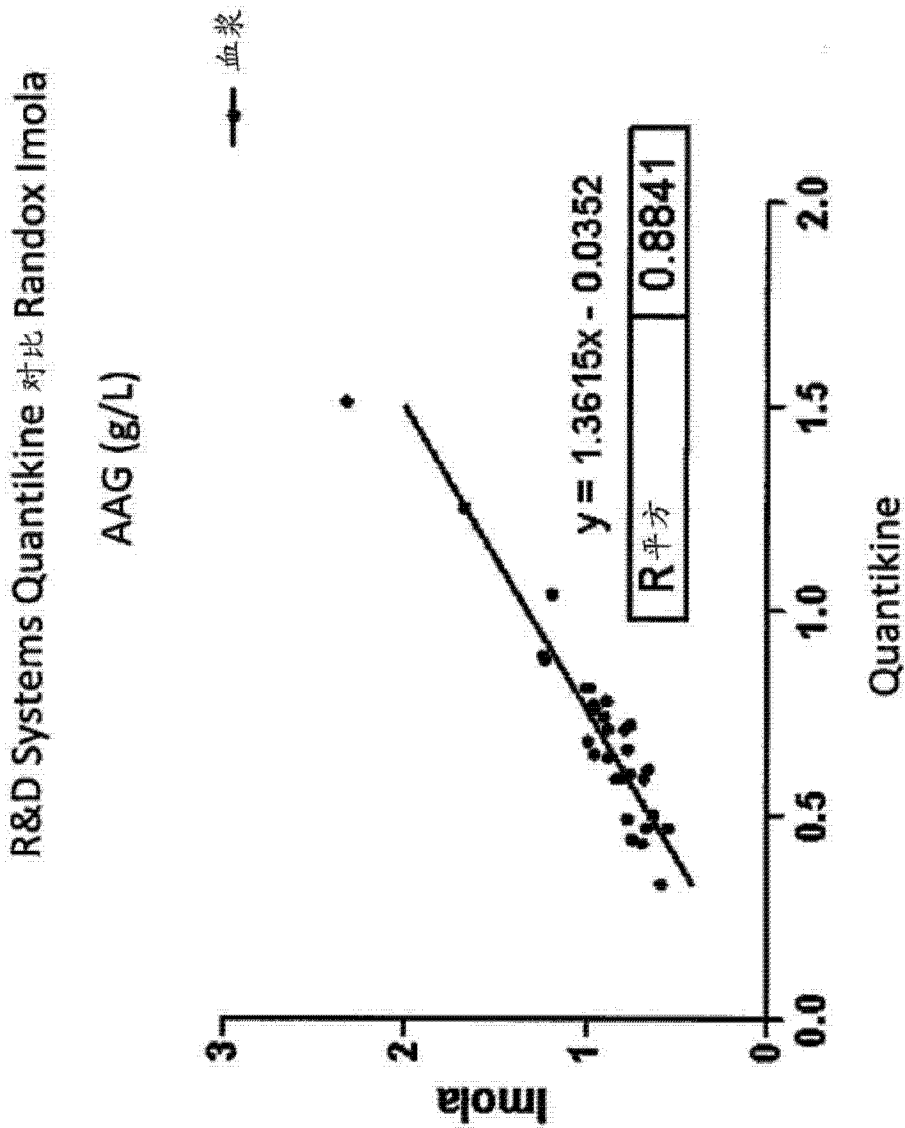


图 10