



(12) 发明专利

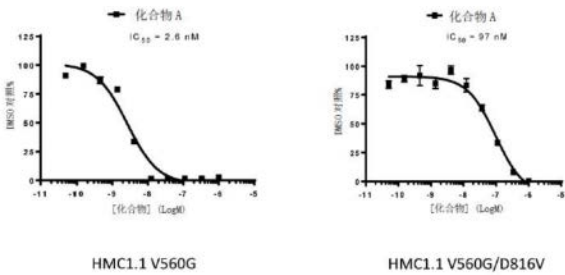
(10) 授权公告号 CN 111886006 B

(45) 授权公告日 2024. 07. 09

(21) 申请号 201980015717.4	(72) 发明人 D·L·弗林 B·D·史密斯 A·古普塔
(22) 申请日 2019.01.31	
(65) 同一申请的已公布的文献号 申请公布号 CN 111886006 A	(74) 专利代理机构 北京彩和律师事务所 11688 专利代理师 张红春
(43) 申请公布日 2020.11.03	(51) Int.Cl. A61K 31/155 (2006.01) A61K 31/4375 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
(30) 优先权数据 62/624,453 2018.01.31 US	(56) 对比文件 US 2015320759 A1, 2015.11.12 US 2016243150 A1, 2016.08.25 陆嘉德等. 肿瘤靶向治疗新探: 多靶点Raf激酶抑制剂. 《中国癌症杂志》. 2007, 第17卷 (第1期),
(85) PCT国际申请进入国家阶段日 2020.08.28	审查员 邓丽娟
(86) PCT国际申请的申请数据 PCT/US2019/016161 2019.01.31	权利要求书2页 说明书29页 附图28页
(87) PCT国际申请的公布数据 W02019/152719 EN 2019.08.08	
(73) 专利权人 德西费拉制药有限责任公司 地址 美国堪萨斯州	

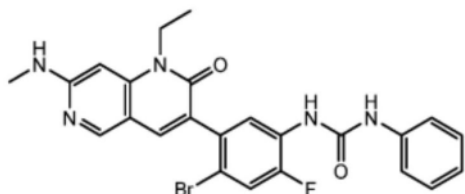
(54) 发明名称
治疗肥大细胞增多症的组合法

(57) 摘要
本公开涉及1-[4-溴-5-[1-乙基-7-(甲基氨基)-2-氧代-1,2-二氢-1,6-萘啶-3-基]-2-氟苯基]-3-苯基脲、或1-(5-(7-氨基-1-乙基-2-氧代-1,2-二氢-1,6-萘啶-3-基)-4-溴-2-氟苯基)-3-苯基脲或它们的药学上可接受的盐与MAPKAP途径抑制剂例如RAS、RAF、MEK或ERK抑制剂组合用于治疗肥大细胞增多症的用途。



1. c-KIT抑制剂和MAPKAP途径抑制剂在制备治疗有需要的患者的肥大细胞增多症的药物中的用途,所述用途包括向所述患者施用:

- a. 有效量的c-KIT抑制剂;以及
 - b. 有效量的一种或多种MAPKAP途径抑制剂,
- 其中,所述c-KIT抑制剂为下式表示的化合物A:



或其药学上可接受的盐;

所述MAPKAP途径抑制剂为丝裂原激活蛋白激酶抑制剂(MEK抑制剂),其中MEK抑制剂选自自由以下组成的组:曲美替尼、考比替尼和比美替尼;或细胞外信号调节激酶抑制剂(ERK抑制剂),其中所述ERK抑制剂为:优立替尼。

2. 如权利要求1所述的用途,其中所述肥大细胞增多症具有c-KIT突变。
3. 如权利要求2所述的用途,其中所述c-KIT突变是激活突变。
4. 如权利要求2所述的用途,其中所述c-KIT突变是c-KIT D816突变。
5. 如权利要求1-4中任一项所述的用途,其中所述肥大细胞增多症包含具有二级c-KIT突变的肥大细胞。
6. 如权利要求4所述的用途,还包括确定所述肥大细胞增多症是否具有所述c-KIT突变。
7. 如权利要求4所述的用途,还包括确定所述肥大细胞增多症是否具有所述c-KIT二级突变。
8. 如权利要求6或7所述的用途,其中确定所述肥大细胞增多症是否具有所述c-KIT突变或c-KIT二级突变包括鉴定从肿瘤样品中提取的DNA中的突变或鉴定循环肿瘤DNA中、循环外周血白细胞中、血液中或骨髓中的突变。
9. 如权利要求1所述的用途,其中所述肥大细胞增多症是系统性肥大细胞增多症。
10. 如权利要求9所述的用途,其中所述系统性肥大细胞增多症选自自由以下组成的组:惰性系统性肥大细胞增多症、系统性闷热性肥大细胞增多症、伴有克隆性血液学非肥大细胞谱系疾病的系统性肥大细胞增多症、侵袭性系统性肥大细胞增多症、肥大细胞白血病和肥大细胞肉瘤。
11. 如权利要求10所述的用途,其中所述肥大细胞增多症是惰性系统性肥大细胞增多症,任选地在不存在皮肤病变的情况下具有反复过敏性反应或血管萎陷的系统性肥大细胞增多症。
12. 如权利要求1所述的用途,其中所述肥大细胞增多症是皮肤肥大细胞增多症。
13. 如权利要求12所述的用途,其中所述皮肤肥大细胞增多症选自自由以下组成的组:斑丘疹皮肤肥大细胞增多症、肥大细胞瘤或弥漫性皮肤肥大细胞增多症。
14. 如权利要求1所述的用途,其中所述MAPKAP途径抑制剂为MEK抑制剂,所述MEK抑制剂选自自由以下组成的组:曲美替尼、考比替尼和比美替尼。

15. 如权利要求1所述的用途,其中所述MAPKAP途径抑制剂为ERK抑制剂,所述ERK抑制剂为:优立替尼。

16. 如权利要求1所述的用途,其中并行或依次施用所述c-KIT抑制剂和所述MAPKAP途径抑制剂。

17. 如权利要求1所述的用途,还包括施用另一种癌症靶向治疗剂、癌症靶向生物免疫检查点抑制剂、或化学治疗剂。

18. 如权利要求2或4所述的用途,其中所述突变是D816V。

19. 如权利要求1-2和4中任一项所述的用途,其中所述肥大细胞增多症具有另外的c-KIT突变,所述另外的c-KIT突变是Y269C、Y503_F504insAY、V560D、或K642E突变中的一个。

治疗肥大细胞增多症的组合疗法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2018年1月31日提交的U.S.S.N.62/624,453的优先权,将其全文以引用方式并入本文。

背景技术

[0003] c-KIT(也称为KIT、CD117和干细胞因子受体)是一种充当III型受体的145kDa的跨膜酪氨酸激酶蛋白。位于染色体4q11-21上的c-KIT原癌基因编码c-KIT受体,其配体是干细胞因子(SCF、青灰因子、kit配体、肥大细胞生长因子)。所述受体具有酪氨酸蛋白激酶活性,并且配体SCF的结合导致c-KIT的自磷酸化及其与底物诸如磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)的缔合。通过蛋白酪氨酸激酶的酪氨酸磷酸化在细胞信号传导中特别重要,并且可以介导主要细胞过程(诸如增殖、存活、分化、凋亡、附着、侵袭性和迁移)的信号。

[0004] 受体酪氨酸激酶c-KIT基因对于肥大细胞生长、存活、分化和体内平衡至关重要。c-KIT基因的激活突变或过表达增强了c-KIT受体启动导致肥大细胞异常增殖的细胞内途径的能力。

[0005] 肥大细胞增多症是一种罕见的障碍,其特征在于肥大细胞(MC)在皮肤、骨髓和内部器官(例如肝脏、脾脏、胃肠道和淋巴结)中异常积累。在成年期间开始的病例往往是慢性的,并且除皮肤以外还累及骨髓,然而在儿童期间,所述病症通常以皮肤表现为标志,无内部器官受累,并且在青春期期间通常可以缓解。在大多数成年患者中,肥大细胞增多症往往持续存在,并且在少数患者中可能进展为更晚期的类别。取决于患者的症状和总体表现,可以将肥大细胞增多症分类为特定类型。肥大细胞增多症的类型包括皮肤肥大细胞增多症(例如,斑丘疹皮肤肥大细胞增多症、肥大细胞瘤和弥漫性皮肤肥大细胞增多症)以及系统性肥大细胞增多症(例如,惰性系统性肥大细胞增多症(ISM)、系统性闷热性肥大细胞增多症(SSM)、伴有克隆性血液学非肥大细胞谱系疾病的系统性肥大细胞增多症(SM-AHN)、侵袭性系统性肥大细胞增多症(ASM)、肥大细胞白血病(MCL)和肥大细胞肉瘤)。在极少数情况下,侵袭性增生性肥大细胞生长导致终末器官衰竭,由此患者具有显著缩短的寿命并且需要细胞减少性疗法。发现由c-KIT的致癌突变引起的增生性肥大细胞的病理积累是系统性肥大细胞增多症的原因。主要的激活KIT突变是在残基816(KIT D816V)处的天冬氨酸至缬氨酸取代。患有系统性肥大细胞增多症的患者,其肥大细胞经常含有激活的D816V c-KIT突变,可能对侵袭性疾病是惰性的,并且他们可能经历肥大细胞介质释放相关的症状。在不存在皮肤病变的情况下具有反复过敏性反应或血管萎陷的惰性系统性肥大细胞增多症是特定亚型的惰性系统性肥大细胞增多症,并且这种克隆性MC激活障碍代表了所有肥大细胞激活综合征的很大一部分。V560G KIT突变在患有系统性肥大细胞增多症的患者中极为罕见,并且其生物学和预后影响尚不清楚。当前,大多数酪氨酸激酶抑制剂在晚期疾病状态中仅展示出适度的功效,并伴有显著的副作用。另外,一些侵袭性KIT突变(包括KIT D816V突变)对经典的ATP竞争性KIT抑制剂(诸如伊马替尼、舒尼替尼、索拉非尼和瑞戈非尼)具有抗性。c-KIT D816V的抑制剂米哚妥林(midostaurin)最近在2017年被批准用于SM的治疗。

[0006] 虽然c-KIT D816V突变是被报道为系统性肥大细胞增多症(SM)的驱动因子的一级c-KIT突变,但是赋予对某些c-KIT抑制剂的抗性的二级c-KIT突变(“二级抗性c-KIT突变”) 在肥大细胞增多症患者中也已有报道,包括例如Y269C、Y503_F504insAY、V560D或K642E点突变、框内缺失或插入、或c-KIT基因的错义突变。

[0007] c-KIT基因的激活突变或过表达与赘生性肥大细胞增殖有关联。鉴于c-KIT的复杂功能以及c-KIT抑制剂在治疗抗药性系统性肥大细胞增多症中的潜在用途,因此需要具有有利的治疗特性的抑制剂和治疗性治疗。

发明内容

[0008] 本公开部分地涉及c-KIT抑制剂(例如1-[4-溴-5-[1-乙基-7-(甲基氨基)-2-氧代-1,2-二氢-1,6-萘啶-3-基]-2-氟苯基]-3-苯基脲(化合物A))以及MAPKAP途径抑制剂(例如MEK抑制剂(诸如曲美替尼)、或ERK抑制剂(诸如优立替尼)、或RAF抑制剂(诸如LY3009120))用于诱导肥大细胞增多症细胞的凋亡的用途。

[0009] 本公开中还提供了治疗有需要的患者的肥大细胞增多症的方法,所述方法包括向所述患者施用:有效量的c-KIT抑制剂,例如1-[4-溴-5-[1-乙基-7-(甲基氨基)-2-氧代-1,2-二氢-1,6-萘啶-3-基]-2-氟苯基]-3-苯基脲(如本文所述的化合物A);以及有效量的丝裂原激活蛋白激酶抑制剂(MEK抑制剂)和/或有效量的细胞外信号调节激酶抑制剂(ERK抑制剂)。

[0010] 例如,本文提供了治疗有需要的患者的系统性肥大细胞增多症的方法,所述方法包括向所述患者施用:有效量的1-[4-溴-5-[1-乙基-7-(甲基氨基)-2-氧代-1,2-二氢-1,6-萘啶-3-基]-2-氟苯基]-3-苯基脲或其药学上可接受的盐;以及有效量的丝裂原激活蛋白激酶抑制剂(MEK抑制剂)或ERK抑制剂。

[0011] 在本公开中还考虑了治疗有需要的患者的肥大细胞增多症的方法,所述方法包括向所述患者施用:有效量的c-KIT抑制剂;以及有效量的RAF抑制剂。

附图说明

[0012] 图1A示出了与HMC1.1 V560G(左图)和HMC1.2 V560G/D816V(右图)细胞系中的运载体对照相比,在用化合物A的指定药物处理后细胞增殖的图示。

[0013] 图1B示出了与HMC1.1 V560G(左图)和HMC1.2 V560G/D816V(右图)细胞系中的运载体对照相比,在用化合物B的指定药物处理后细胞增殖的图示。

[0014] 图2A示出了在HMC1.2 V560G/D816V细胞系中用化合物A和曲美替尼的指定各种处理后胱天蛋白酶活性的图示。

[0015] 图2B提供了针对在HMC1.2 V560G/D816V细胞系中用化合物A和曲美替尼进行的各种处理基于组合索引方法的协同作用矩阵图。

[0016] 图2C提供了化合物A与MEK抑制剂曲美替尼的组合的组合索引图。

[0017] 图3A示出了在HMC1.2 V560G/D816V细胞系中用化合物B和曲美替尼的指定各种处理后的胱天蛋白酶活性的图示。

[0018] 图3B提供了针对在HMC1.2 V560G/D816V细胞系中用化合物B和曲美替尼进行的各种处理基于组合索引方法的协同作用矩阵图。

- [0019] 图3C提供了化合物B与MEK抑制剂曲美替尼的组的组合索引图。
- [0020] 图4A示出了在HMC1.2 V560G/D816V细胞系中用化合物A和比美替尼的指定各种处理后胱天蛋白酶活性的图示。
- [0021] 图4B提供了针对在HMC1.2 V560G/D816V细胞系中用化合物A和比美替尼进行的各种处理基于组合索引方法的协同作用矩阵图。
- [0022] 图4C提供了化合物A与MEK抑制剂比美替尼的组的组合索引图。
- [0023] 图5A示出了在HMC1.2 V560G/D816V细胞系中用化合物B和比美替尼的指定各种处理后胱天蛋白酶活性的图示。
- [0024] 图5B提供了针对在HMC1.2 V560G/D816V细胞系中用化合物B和比美替尼进行的各种处理基于组合索引方法的协同作用矩阵图。
- [0025] 图5C提供了化合物B与MEK抑制剂比美替尼的组的组合索引图。
- [0026] 图6A示出了在HMC1.2 V560G/D816V细胞系中用化合物A和考比替尼的指定各种处理后的胱天蛋白酶活性的图示。
- [0027] 图6B提供了针对在HMC1.2 V560G/D816V细胞系中用化合物A和考比替尼进行的各种处理基于组合索引方法的协同作用矩阵图。
- [0028] 图6C提供了化合物A与MEK抑制剂考比替尼的组的组合索引图。
- [0029] 图7A示出了在HMC1.2 V560G/D816V细胞系中用化合物B和考比替尼的指定各种处理后的胱天蛋白酶活性的图示。
- [0030] 图7B提供了针对在HMC1.2 V560G/D816V细胞系中用化合物B和考比替尼进行的各种处理基于组合索引方法的协同作用矩阵图。
- [0031] 图7C提供了化合物B与MEK抑制剂考比替尼的组的组合索引图。
- [0032] 图8A示出了在HMC1.2 V560G/D816V细胞系中用化合物A和ERK抑制剂优立替尼的指定各种处理后的胱天蛋白酶活性的图示。
- [0033] 图8B提供了针对在HMC1.2 V560G/D816V细胞系中用化合物A和ERK抑制剂优立替尼进行的各种处理基于组合索引方法的协同作用矩阵图。
- [0034] 图8C提供了化合物A与ERK抑制剂优立替尼的组的组合索引图。
- [0035] 图9A示出了在HMC1.2 V560G/D816V细胞中用单药化合物A、单药曲美替尼、和化合物A与MEK抑制剂曲美替尼的组合处理后对集落生长晕的抑制。
- [0036] 图9B示出了在HMC1.2 V560G/D816V细胞中用单药化合物A、单药曲美替尼、和化合物A与MEK抑制剂曲美替尼的组合处理后对集落生长晕的抑制的图示。箭头指示没有集落生长晕。
- [0037] 图10A示出了在HMC1.2 V560G/D816V细胞中用单药化合物B、单药曲美替尼、和化合物B与MEK抑制剂曲美替尼的组合处理后对集落生长晕的抑制。
- [0038] 图10B示出了在HMC1.2 V560G/D816V细胞中用单药化合物B、单药曲美替尼、和化合物B与MEK抑制剂曲美替尼的组合处理后对集落生长晕的抑制的图示。箭头指示没有集落生长晕。
- [0039] 图11A示出了在HMC1.2 V560G/D816V细胞中用单药化合物A、单药比美替尼、和化合物A与MEK抑制剂比美替尼的组合处理后对集落生长晕的抑制。
- [0040] 图11B示出了在HMC1.2 V560G/D816V细胞中用单药化合物A、单药比美替尼、和化

合物A与MEK抑制剂比美替尼的组合处理后对集落生长晕的抑制的图示。箭头指示没有集落生长晕。

[0041] 图12A示出了在HMC1.2 V560G/D816V细胞中用单药化合物B、单药比美替尼、和化合物B与MEK抑制剂比美替尼的组合处理后对集落生长晕的抑制。

[0042] 图12B示出了在HMC1.2 V560G/D816V细胞中用单药化合物B、单药比美替尼、和化合物B与MEK抑制剂比美替尼的组合处理后对集落生长晕的抑制的图示。箭头指示没有集落生长晕。

[0043] 图13A示出了在HMC1.2 V560G/D816V细胞中用单药化合物A、单药考比替尼、和化合物A与MEK抑制剂考比替尼的组合处理后对集落生长晕的抑制。

[0044] 图13B示出了在HMC1.2 V560G/D816V细胞中用单药化合物A、单药考比替尼、和化合物A与MEK抑制剂考比替尼的组合处理后对集落生长晕的抑制的图示。

[0045] 图14A示出了在HMC1.2 V560G/D816V细胞中用单药化合物B、单药考比替尼、和化合物B与MEK抑制剂考比替尼的组合处理后对集落生长晕的抑制。

[0046] 图14B示出了在HMC1.2 V560G/D816V细胞中用单药化合物B、单药考比替尼、和化合物B与MEK抑制剂考比替尼的组合处理后对集落生长晕的抑制的图示。

[0047] 图15A示出了在空载体 (EV, 左图) 或N-ras G12D (右图) 转染的HMC1.2V560G/D816V细胞中在24小时用化合物A和曲美替尼进行各种处理后的胱天蛋白酶活性的图示。

[0048] 图15B示出了在空载体 (左图) 或N-ras G12D (右图) 转染的HMC1.2V560G/D816V细胞中在48小时用化合物A和曲美替尼进行各种处理后的胱天蛋白酶活性的图示。

[0049] 图16A示出了在空载体 (EV, 左图) 或N-ras G12D (右图) 转染的HMC1.2V560G/D816V细胞中在24小时用化合物A和考比替尼进行各种处理后胱天蛋白酶活性的图示。

[0050] 图16B示出了在空载体 (左图) 或N-ras G12D (右图) 转染的HMC1.2V560G/D816V细胞中在48小时用化合物A和考比替尼进行各种处理后的胱天蛋白酶活性的图示。

[0051] 图17A示出了在空载体 (EV) 转染的HMC1.2 V560G/D816V细胞中用单药化合物A、单药曲美替尼、和化合物A与MEK抑制剂曲美替尼的组合处理后对集落生长晕的抑制。

[0052] 图17B示出了在空载体 (EV) 转染的HMC1.2 V560G/D816V细胞中用单药化合物A、单药曲美替尼、和化合物A与MEK抑制剂曲美替尼的组合处理后对集落生长晕的抑制的图示。箭头指示没有集落生长晕。

[0053] 图17C示出了在N-ras G12D转染的HMC1.2 V560G/D816V细胞中用单药化合物A、单药曲美替尼、和化合物A与MEK抑制剂曲美替尼的组合处理后对集落生长晕的抑制。

[0054] 图17D示出了在N-ras G12D转染的HMC1.2 V560G/D816V细胞中用单药化合物A、单药曲美替尼、和化合物1与MEK抑制剂曲美替尼的组合处理后对集落生长晕的抑制的图示。箭头指示没有集落生长晕。

[0055] 图18A示出了在空载体 (EV) 转染的HMC1.2 V560G/D816V细胞中用单药化合物A、单药考比替尼、和化合物A与MEK抑制剂考比替尼的组合处理后对集落生长晕的抑制。

[0056] 图18B示出了在空载体 (EV) 转染的HMC1.2 V560G/D816V细胞中用单药化合物A、单药考比替尼、和化合物A与MEK抑制剂考比替尼的组合处理后对集落生长晕的抑制的图示。箭头指示没有集落生长晕。

[0057] 图18C示出了在N-ras G12D转染的HMC1.2 V560G/D816V细胞中用单药化合物A、单

药考比替尼、和化合物A与MEK抑制剂考比替尼的组合处理后对集落生长晕的抑制。

[0058] 图18D示出了在N-ras G12D转染的HMC1.2 V560G/D816V细胞中用单药化合物A、单药考比替尼、和化合物A与MEK抑制剂考比替尼的组合处理后对集落生长晕的抑制的图示。箭头指示没有集落生长晕。

具体实施方式

[0059] 发现c-KIT抑制剂(例如1-[4-溴-5-[1-乙基-7-(甲基氨基)-2-氧代-1,2-二氢-1,6-萘啶-3-基]-2-氟苯基]-3-苯基脲(化合物A))和MAPKAP途径抑制剂(例如MEK抑制剂曲美替尼、或ERK抑制剂优立替尼、或RAF抑制剂LY3009120)的组合出乎意料地发生协同作用以诱导肥大细胞增多症细胞的凋亡,如所附实施例所展示。另外,本文公开的组合疗法方法具有杀细胞作用,而不是仅具有细胞生长抑制作用。

[0060] 不希望受任何特定理论的束缚,据信许多c-KIT抑制剂仅抑制c-KIT的某些突变形式,并且不会有效地抑制引起SM的c-KIT D816V突变。本公开提供了通过使用c-KIT抑制剂与MAPKAP途径抑制剂组合抑制c-KIT和MEK二者来治疗c-KIT介导的肥大细胞增多症的方法。在特定实施方案中,在本文中公开的c-KIT抑制剂为化合物A或其药学上可接受的盐、化合物B或其药学上可接受的盐、米哌妥林或其药学上可接受的盐、BLU-285或其药学上可接受的盐、PLX9486或其药学上可接受的盐、或crenolanib或其药学上可接受的盐。令人惊讶地,c-KIT抑制剂(例如化合物A和化合物B(及其药学上可接受的盐))与MEK、ERK或RAF抑制剂发生协同作用,以抑制增殖并诱导肥大细胞增多症细胞的凋亡。

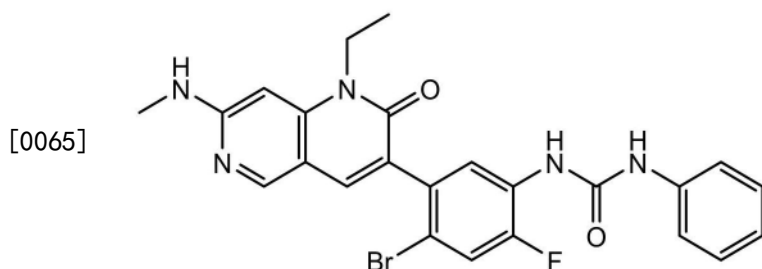
[0061] 因此,在某些实施方案中,本公开提供了通过使肥大细胞(例如包含c-KIT突变的肥大细胞)与c-KIT抑制剂和MAPKAP途径抑制剂接触,用于诱导杀细胞作用肥大细胞杀伤,诱导肥大细胞的凋亡,抑制肥大细胞的生长或增殖,抑制肥大细胞介质释放,减少组织或器官中积累的肥大细胞的量,减少肥大细胞增多症相关肿瘤(诸如肥大细胞白血病或肥大细胞肉瘤)的体积,和/或抑制肥大细胞再生的方法。在各种实施方案中,在体外、在体内或离体接触所述肥大细胞。在特定实施方案中,在本文中公开的c-KIT抑制剂为化合物A或其药学上可接受的盐、化合物B或其药学上可接受的盐、米哌妥林或其药学上可接受的盐、BLU-285或其药学上可接受的盐、PLX9486或其药学上可接受的盐、或crenolanib或其药学上可接受的盐;并且本文公开的MEK抑制剂为曲美替尼、考比替尼、司美替尼(selumetinib)或比美替尼;ERK抑制剂包括但不限于优立替尼、SCH772984、LY3214996、拉伏替尼(ravoxertinib)和VX-11e;并且RAF抑制剂包括但不限于LY3009120、维莫非尼或达拉非尼。

[0062] 在某些实施方案中,本公开包括用于治疗患有肥大细胞增多症、肥大细胞白血病或急性髓性白血病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的:(i)KIT抑制剂,例如1-[4-溴-5-[1-乙基-7-(甲基氨基)-2-氧代-1,2-二氢-1,6-萘啶-3-基]-2-氟苯基]-3-苯基脲或其药学上可接受的盐,或1-(5-(7-氨基-1-乙基-2-氧代-1,2-二氢-1,6-萘啶-3-基)-4-溴-2-氟苯基)-3-苯基脲或其药学上可接受的盐;和(ii)MAPKAP激酶抑制剂,例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼。在本文公开的任何方法的特定实施方案中,肥大细胞增多症是由肥大细胞中c-KIT基因的D816V突变引起的系统性肥大细胞增多症。

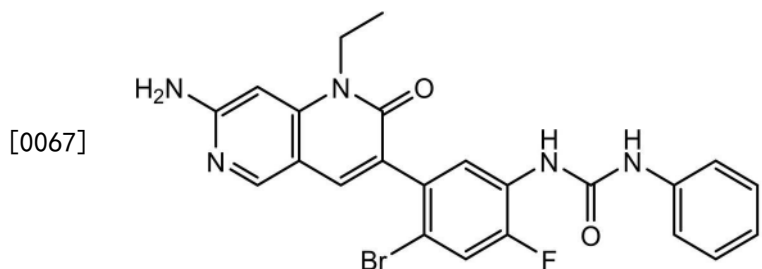
[0063] 定义

[0064] 如本文所用的“化合物A和B”分别是指1-[4-溴-5-[1-乙基-7-(甲基氨基)-2-氧

代-1,2-二氢-1,6-萘啶-3-基]-2-氟苯基]-3-苯基脲、和1-(5-(7-氨基-1-乙基-2-氧代-1,2-二氢-1,6-萘啶-3-基)-4-溴-2-氟苯基)-3-苯基脲。化合物A和B的药学上可接受的盐、互变异构体、水合物和溶剂化物也涵盖在本公开中。化合物A和B的结构如下所示：



[0066] 1-[4-溴-5-[1-乙基-7-(甲基氨基)-2-氧代-1,2-二氢-1,6-萘啶-3-基]-2-氟苯基]-3-苯基脲(化合物A)



[0068] 1-(5-(7-氨基-1-乙基-2-氧代-1,2-二氢-1,6-萘啶-3-基)-4-溴-2-氟苯基)-3-苯基脲(化合物B)

[0069] 制备化合物A和化合物B的方法被公开在US 8461179B1中,将其内容以引用方式并入本文。

[0070] 本文描述了说明性方法和材料。在说明书和所附权利要求书中,除非除非上下文另有明确指示,否则单数形式也包括复数。除非另有定义,否则本文所用的所有技术和科学术语均具有本领域普通技术人员通常所理解的相同的含义。

[0071] 在整个本公开中,引用了各种专利、专利申请和出版物。这些专利、专利申请和出版物的公开整体以引用的方式并入本公开中,以便更全面地描述截至本公开日期的本领域技术人员已知的现有技术水平。在专利、专利申请和出版物与本公开之间存在任何不一致的情况下,将以本公开为准。

[0072] 为了方便起见,这里收集了在说明书、实施例和权利要求书中使用的某些术语。除非另有定义,否则本公开中使用的所有技术和科学术语具有与本公开所属领域的普通技术人员通常所理解的相同的含义。除非另有指示,否则为本公开中提供的组或术语提供的初始定义单独或作为另一组的一部分适用于整个本公开中的该组或术语。

[0073] “药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂”包括但不限于已获得美国食品和药物管理局(United States Food and Drug Administration)批准可接受用于在人类或家畜中使用的任何佐剂、载体、赋形剂、助流剂、甜味剂、稀释剂、防腐剂、染料/着色剂、增味剂、表面活性剂、润湿剂、分散剂、助悬剂、稳定剂、等张剂、溶剂或乳化剂。

[0074] “药学上可接受的盐”包括酸加成盐。

[0075] “药学上可接受的酸加成盐”是指保留游离碱的生物有效性和特性的那些盐,其不是生物学上或其他方面不期望的,并且其是由无机酸和有机酸形成的,所述无机酸例如但

不限于盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等,所述有机酸例如但不限于乙酸、2,2-二氯乙酸、己二酸、海藻酸、抗坏血酸、天冬氨酸、苯磺酸、苯甲酸、4-乙酰氨基苯甲酸、樟脑酸、樟脑-10-磺酸、癸酸、己酸、辛酸、碳酸、肉桂酸、柠檬酸、环拉酸、十二烷基硫酸、乙烷-1,2-二磺酸、乙磺酸、2-羟基乙磺酸、甲酸、富马酸、半乳糖二酸、龙胆酸、葡庚糖酸、葡萄糖酸、葡萄糖醛酸、谷氨酸、戊二酸、2-氧代-戊二酸、甘油磷酸、乙醇酸、马尿酸、异丁酸、乳酸、乳糖醛酸、月桂酸、马来酸、苹果酸、丙二酸、扁桃酸、甲磺酸、粘酸、萘-1,5-二磺酸、萘-2-磺酸、1-羟基-2-萘甲酸、烟酸、油酸、乳清酸、草酸、棕榈酸、扑酸、丙酸、焦谷氨酸、丙酮酸、水杨酸、4-氨基水杨酸、癸二酸、硬脂酸、琥珀酸、酒石酸、硫氰酸、对甲苯磺酸、三氟乙酸、十一碳烯酸等。

[0076] “药物组合物”是指本文所述的化合物(例如,化合物A或其药学上可接受的盐)和本领域通常接受的用于将生物活性化合物递送至哺乳动物(例如人类)的介质的配制品。因此,这样的介质包括所有药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

[0077] “MAPKAP途径抑制剂”是MAP激酶信号传导途径的抑制剂。该途径的抑制剂包括RAS抑制剂、RAF抑制剂(例如维莫非尼、达拉非尼、LY3009120)、MEK抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、考比替尼)和ERK抑制剂(例如优立替尼)。

[0078] “需要用本公开的组合法(例如c-KIT抑制剂与MAPKAP途径抑制剂的组合)的治疗”的受试者或患者包括患有可以用本文公开的组合法进行治疗以实现有益的治疗结果的疾病和/或病症(例如肥大细胞增多症、肥大细胞白血病或急性髓性白血病)的受试者。治疗肥大细胞增多症的有益结果可能包括完全反应、部分反应、临床改善或疾病稳定,如IWG-MRT-ECNM标准所定义(Gotlib等人, Blood 2013;121:2393-401)。在某些实施方案中,需要治疗的受试者患有皮肤肥大细胞增多症(例如,斑丘疹皮肤肥大细胞增多症、肥大细胞瘤和弥漫性皮肤肥大细胞增多症)以及系统性肥大细胞增多症(例如,惰性系统性肥大细胞增多症、系统性间烧性肥大细胞增多症、伴有克隆性血液学非肥大细胞谱系疾病的系统性肥大细胞增多症、侵袭性系统性肥大细胞增多症、肥大细胞白血病和肥大细胞肉瘤)。在特定实施方案中,受试者是哺乳动物,例如人或其他哺乳动物。

[0079] 当与本文公开的化合物或其他治疗剂结合使用时,术语“有效量”是指可用于治疗或预防疾病或障碍的治疗剂(例如化合物A或MAPKAP途径抑制剂)单独或组合的量。组合法中使用的治疗剂的有效量是当在组合法中使用时可用于治疗或预防疾病或障碍的每种治疗剂的量,即使治疗剂中的一种或两种的量在不存在其他治疗剂的情况下对治疗或预防疾病或障碍无效也是如此。在某些实施方案中,有效量是导致诱导杀细胞作用肥大细胞杀伤、诱导肥大细胞的凋亡、减少组织或器官中积累的肥大细胞的量、减轻肥大细胞增多症的症状、抑制肥大细胞介质释放、抑制肥大细胞的生长、和/或诱导肥大细胞增多症消退,其中肥大细胞拥有在c-KIT激酶中的激活突变,包括激活的c-KITD816V突变。“有效量”可以根据施用模式、疾病或障碍的具体位点、以及受试者的年龄、体重和总体健康状况而变化。所施用化合物的量将取决于疾病或病症的程度、严重性和类型,所需疗法的量以及一种或多种药物配制品的释放特征。它还将取决于受试者的健康状况、尺寸、重量、年龄、性别和对药物的耐受性。通常,将化合物施用足够的时间段以实现所需的治疗效果。

[0080] 术语“治疗”(“treatment”、“treat”和“treating”)意在包括对所治疗的患者(例如患有肥大细胞增多症或急性髓性白血病(AML)的患者)进行全范围干预。治疗可以是治愈、改善或至少部分缓解所述障碍。在特定实施方案中,进行治疗的意图是在所治疗的受试

者中诱导杀细胞作用肥大细胞杀伤、诱导肥大细胞的凋亡、减少组织或器官中积累的肥大细胞的量、减轻肥大细胞增多症的症状、抑制肥大细胞介质释放、抑制肥大细胞的生长、和/或诱导肥大细胞增多症消退。在某些实施方案中,即使实际上并未消除肥大细胞增多症,用本文公开的组合疗法的治疗也减轻、减缓或逆转了一个或多个肥大细胞增多症的症状和/或诱导肥大细胞增多症的消退。在一些实施方案中,治疗包括完全消除疾病或障碍,例如肥大细胞增多症或AML。在其他实施方案中,治疗导致完全反应、部分反应、临床改善或疾病稳定,如IWG-MRT-ECNM标准所定义(Gotlib等人,Blood 2013;121:2393-401)。

[0081] 如本文所用,“肥大细胞”包括肥大细胞(mast cells)(也称为肥大细胞(mastocytes))和CD34+肥大细胞前体细胞。

[0082] 如本文所用,“赘生物”是指通过细胞增殖比正常更快地生长的异常组织。赘生物显示出部分或完全缺乏结构组织和与正常组织的功能协调,并且通常形成明显的组织肿块,所述组织肿块可能是良性的(良性肿瘤)或恶性的(癌症)。

[0083] 如本文所用,“肿瘤”是指肿块。这是可能指代良性(通常无害)或恶性(癌性)生长的一个术语。恶性生长可以源自实体器官或骨髓。后者通常被称为液体肿瘤。“肿瘤”涵盖肥大细胞白血病和肥大细胞肉瘤,在本文中统称为“肥大细胞增多症肿瘤”。

[0084] 在某些实施方案中,可以使用本领域已知的标准反应标准来测量根据本文公开的方法治疗肥大细胞增多症的治疗效果。例如,用于定量疗法对侵袭性系统性肥大细胞增多症、肥大细胞白血病、和与骨髓赘生物相关的系统性肥大细胞增多症的影响的“完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、临床改善(CI)或疾病稳定(SD)的反应标准”可以是由IWG-MRT-ECNM所定义的那些标准中的任何一种(Gotlib等人,Blood 2013;121:2393-401)。例如,完全缓解(CR)要求所有4个标准,并且反应持续时间必须是 ≥ 12 周,在BM或其他活检的真皮外器官中不存在致密的赘生性肥大细胞聚集物。血清类胰蛋白酶水平 $< 20 \text{ ng/mL}^\dagger$,用常微分将外周血计数缓解定义为 $\text{ANC} \geq 1 \times 10^9/\text{L}$,Hb水平 $\geq 11 \text{ g/dL}$,以及血小板计数 $\geq 100 \times 10^9/\text{L}$,以及可触知肝脾肿大和所有活检证实或怀疑的SM相关器官损害(CI发现)的完全解决;在不存在CR和进行性疾病(PD)二者的情况下,部分缓解(PR)*需要满足所有3个标准,并且反应持续时间必须为 ≥ 12 周,其中:在活检时骨髓和/或其他真皮外器官中赘生性MC减少 $\geq 50\%$ 表明符合条件的SM相关器官损害,血清类胰蛋白酶水平降低了 $\geq 50\%$;并且解决1种或多种活检证实或怀疑的SM相关器官损害(一个或多个CI发现);临床改善(CI)是在反应持续时间必须为 ≥ 12 周的情况下,在不存在CR/PR和指派或进行性疾病(PD)二者的情况下,需要满足一项或多项非血液学和/或血液学反应标准(参见表3)。疾病稳定(SD)不符合CR、PR、CI或PD的标准。

[0085] 判定反应的准则包括(1)在临床试验中只有疾病相关的 ≥ 2 级器官损伤才可评价为主要终点。(2)CR、PR、SD、PD、和丧失或反应(LOR)的反应判定应仅适用于在试验背景下的这些 ≥ 2 级的器官损伤发现。(3)从研究中移除患者时的疾病状态仅与一个或多个初始 ≥ 2 级器官损伤发现的更新状态有关。(4)在具有基线 ≥ 2 级器官损伤的加重的患者中,在指定名称PD或LOR之前应进行对药物相关毒性和/或其他临床问题(例如,在贫血/输血依赖性加重情况下的胃肠道出血)的排除。

[0086] 在某些实施方案中,可以使用本领域已知的标准反应标准来测量根据本文公开的方法治疗AML的治疗效果。例如,用于定量疗法对AML的效果的“AML治疗的反应标准”可以是以下定义的那些标准中的任何一种,包括完全缓解(CR)而无最小残留疾病(CR_{MRD})、完全缓

解(CR)、具有不完全血液恢复的CR(CR_i)、无形态学白血病的状态(MLFS)、部分缓解(PR)、疾病稳定(SD)或进行性疾病(PD),如由Blood.2017Jan 26;129(4):424-447所定义,并且总结为:完全缓解而无最小残留疾病(CR_{MRD}):如果研究治疗前,则CR具有通过RT-qPCR检测的对遗传标记的阴性,或者CR具有通过MFC检测的阴性;完全缓解(CR):骨髓原始细胞<5%;不存在循环原始细胞和具有Auer小体的原始细胞;不存在髓外疾病;中性粒细胞绝对计数(ANC)≥1.0×10⁹/L(1000/μL);血小板计数≥100×10⁹/L(100 000/μL);具有不完全血液学恢复的CR(CR_i):除残留中性粒细胞减少(<1.0×10⁹/L[1000/μL])或血小板减少症(<100×10⁹/L[100 000/μL])以外的所有CR标准;无形态学白血病的状态(MLFS):骨髓原始细胞<5%;不存在具有Auer小体的原始细胞;不存在髓外疾病;无所需的血液学恢复;部分缓解(PR):CR的所有血液学标准;骨髓原始细胞百分比降低至5%至25%;并且治疗前骨髓原始细胞百分比降低了至少50%。

[0087] “组合疗法”是包括向患者施用以下两种或更多种治疗剂的治疗:例如,c-KIT抑制剂(诸如化合物A或其药学上可接受的盐、米哚妥林、BLU-285、PLX9486或crenolanib)和MAPKAP途径抑制剂(包括但不限于曲美替尼、考比替尼、司美替尼、比美替尼、优立替尼、LY3009120)。所述两种或更多种治疗剂可以例如在分开的药物组合物中或同一药物组合物中同时递送,或者它们可以在不同的时间递送。例如,它们可以并行地或在重叠的时间段内递送,和/或一种治疗剂可以在其他一种或多种治疗剂之前或之后递送。用KIT抑制剂(诸如化合物A)和MAPKAP途径抑制剂的组合进行的治疗任选地包括在用两种药剂的并行治疗期之前或之后用任一种药剂进行治疗。然而,可以预期在一段时间内,患者体内存在有效量的两种或更多种治疗剂。

[0088] 治疗方法

[0089] 在一个实施方案中,本公开提供了治疗或预防肥大细胞增多症(任选地c-KIT介导的肥大细胞增多症,例如系统性肥大细胞增多症(SM))的方法,所述方法包括向有需要的受试者提供或施用有效量的c-KIT抑制剂与有效量的MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、考比替尼、司美替尼、比美替尼、优立替尼、或LY3009120)的组合。在一个实施方案中,本公开提供了治疗或预防肥大细胞增多症(任选地c-KIT介导的肥大细胞增多症,例如系统性肥大细胞增多症(SM))的方法,所述方法包括向有需要的受试者提供或施用有效量的化合物A(或其药学上可接受的盐)或化合物B(或其药学上可接受的盐)与有效量的MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、考比替尼、司美替尼、比美替尼、优立替尼、或LY3009120)的组合。在相关实施方案中,本公开提供了治疗或预防肥大细胞增多症肿瘤(任选地c-KIT介导的肥大细胞增多症肿瘤,例如肥大细胞白血病或肥大细胞肉瘤)的方法,所述方法包括向有需要的受试者提供或施用有效量的c-KIT抑制剂与有效量的MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、考比替尼、司美替尼、比美替尼、优立替尼、或LY3009120)的组合。在相关的实施方案中,本公开提供了治疗或预防肥大细胞增多症肿瘤(任选地c-KIT介导的肥大细胞增多症肿瘤,例如肥大细胞白血病或肥大细胞肉瘤)的方法,所述方法包括向有需要的受试者提供或施用有效量的化合物A(或其药学上可接受的盐)或化合物B(或其药学上可接受的盐)与有效量的MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、考比替尼、司美替尼、比美替尼、优立替尼、或LY3009120)的组合。

[0090] 在另一个实例中,本公开提供了治疗有需要的患者的肥大细胞增多症的方法,所

述方法包括向所述患者施用:有效量的c-KIT抑制剂;和有效量的一种或多种MAPKAP途径抑制剂。这样的MAPKAP途径抑制剂可以选自由以下组成的组:快速加速纤维肉瘤(RAF)激酶抑制剂、丝裂原激活蛋白激酶抑制剂(MEK抑制剂)和细胞外信号调节激酶抑制剂(ERK抑制剂)。

[0091] 在这种公开的方法的一个实施方案中,肥大细胞增多症具有c-KIT突变。在一些实施方案中,c-KIT突变是激活突变。

[0092] 在另一个实施方案中,肥大细胞增多症可能包含在c-KIT基因的外显子17中具有一级突变的肥大细胞。在一些实施方案中,一级突变是c-KITD816突变。在一些实施方案中,一级突变是D816V、D816Y、D816F、D816H、F522C、K5091、V560G、V559G、和del1419中的一个。在一些实施方案中,一级突变是D816V。

[0093] 肥大细胞增多症还可能包含具有二级c-KIT突变的肥大细胞。在一些实施方案中,二级c-KIT突变是在外显子9、11、13或17中的一者中。在一些实施方案中,二级c-KIT突变是Y269C、Y503_F504insAY、V560D、或K642E突变中的一个。

[0094] 这种公开的方法还可以包括确定肥大细胞增多症是否具有c-KIT一级突变。例如,所述方法还包括确定肥大细胞增多症是否具有c-KIT二级突变。在一些实施方案中,确定肥大细胞增多症是否具有c-KIT一级或二级突变包括鉴定从肿瘤样品中提取的DNA中的突变。在又另一个实施方案中,确定肥大细胞增多症是否具有c-KIT一级或二级突变包括鉴定循环肿瘤DNA中的突变或鉴定循环外周血白细胞中的突变。

[0095] 肥大细胞增多症可以是系统性肥大细胞增多症。在一些实施方案中,系统性肥大细胞增多症选自由以下组成的组:惰性系统性肥大细胞增多症、系统性间烧性肥大细胞增多症、伴有克隆性血液学非肥大细胞谱系疾病的系统性肥大细胞增多症、侵袭性系统性肥大细胞增多症、肥大细胞白血病和肥大细胞肉瘤。在一些实施方案中,肥大细胞增多症是惰性系统性肥大细胞增多症,任选地在不存在皮肤病变的情况下具有反复过敏反应或血管萎陷的惰性系统性肥大细胞增多症。在一些实施方案中,肥大细胞增多症是系统性间烧性肥大细胞增多症。

[0096] 在一些实施方案中,肥大细胞增多症是伴有克隆性血液学非肥大细胞谱系疾病的系统性肥大细胞增多症。在一些实施方案中,肥大细胞增多症是侵袭性系统性肥大细胞增多症。在一些实施方案中,肥大细胞增多症是肥大细胞白血病或肥大细胞肉瘤。在一些实施方案中,肥大细胞增多症是皮肤肥大细胞增多症。在一些实施方案中,肥大细胞增多症选自由以下组成的组:斑丘疹皮肤肥大细胞增多症、肥大细胞瘤或弥漫性皮肤肥大细胞增多症。

[0097] 在这种公开的方法中,c-KIT抑制剂可以选自由以下组成的组:1-[4-溴-5-[1-乙基-7-(甲基氨基)-2-氧代-1,2-二氢-1,6-萘啶-3-基]-2-氟苯基]-3-苯基脲或其药学上可接受的盐、米哚妥林或其药学上可接受的盐、甲磺酸伊马替尼、苹果酸舒尼替尼、米哚妥林、瑞戈非尼、crenolanib、PTX9486、或BLU-285(阿伐普替尼(avapritinib))或其药学上可接受的盐。

[0098] 此外,MEK抑制剂可以选自由以下组成的组:曲美替尼、司美替尼、考比替尼和比美替尼。在一些实施方案中,MEK抑制剂是比美替尼。在一些实施方案中,MEK抑制剂是曲美替尼。在一些实施方案中,ERK抑制剂选自由以下组成的组:优立替尼、SCH772984和LY3214996。在一些实施方案中,基本上并行或依次施用c-KIT抑制剂和MEK和/或ERK抑制

剂。

[0099] 所述方法还可以包括施用另一种癌症靶向治疗剂、癌症靶向生物免疫检查点抑制剂、或化学治疗剂。

[0100] 另外,根据预期方法的施用两周或更长时间的有效量的c-KIT抑制剂;和有效量的丝裂原激活蛋白激酶抑制剂(MEK抑制剂)、和/或有效量的细胞外信号调节激酶抑制剂(ERK抑制剂)可能导致患者具有至少部分缓解。

[0101] 还提供了治疗有需要的患者的系统性肥大细胞增多症的方法,所述方法包括向所述患者施用:有效量的1-[4-溴-5-[1-乙基-7-(甲基氨基)-2-氧代-1,2-二氢-1,6-萘啶-3-基]-2-氟苯基]-3-苯基脲或其药学上可接受的盐;和有效量的MAPKAP途径抑制剂。在这种公开的方法中,MAPKAP途径抑制剂选自以下组成的组:快速加速纤维肉瘤(RAF)激酶抑制剂、丝裂原激活蛋白激酶抑制剂(MEK抑制剂)和细胞外信号调节激酶抑制剂(ERK抑制剂)。

[0102] 在一个实施方案中,系统性肥大细胞增多症可能具有c-KIT突变。例如,所述突变可以是c-KITD816突变。在一些实施方案中,所述突变是D816V、D816Y、D816F、D816H、F522C、K509I、V560G、V559G、和del1419中的一个。在一些实施方案中,突变是以下中的一个:A553D、C433Y、D419Y、D572A、D816F、D816H、D816I、D816V、D816Y、D820G、del1419、dup(501-502)、E839K、F522C、I817V、InsFF419、InsV815-I816、K509I、N822I、R815K、T417V、V560G、V559I或Y418Y。在一些实施方案中,突变是D816V。

[0103] 另外,肥大细胞增多症可以具有另外的c-KIT突变,所述另外的c-KIT突变是Y269C、Y503_F504insAY、V560D、或K642E突变中的一个。

[0104] 在这种公开的方法中,MEK抑制剂可以选自以下组成的组:曲美替尼、司美替尼、考比替尼和比美替尼。在一些实施方案中,MEK抑制剂是比美替尼。在一些实施方案中,MEK抑制剂是曲美替尼。ERK抑制剂可以选自以下组成的组:优立替尼、SCH772984和LY3214996。

[0105] 本公开另外提供了治疗有需要的患者的肥大细胞增多症的方法,所述方法包括向所述患者施用:有效量的c-KIT抑制剂;以及有效量的RAF抑制剂。

[0106] 在这种公开的方法中,RAF抑制剂可以是泛-RAF或B-RAF抑制剂,包括维莫非尼、达拉非尼和LY3009120。此外,c-KIT抑制剂可以是1-[4-溴-5-[1-乙基-7-(甲基氨基)-2-氧代-1,2-二氢-1,6-萘啶-3-基]-2-氟苯基]-3-苯基脲或其药学上可接受的盐。

[0107] 在本文公开的方法的特定实施方案中,包括治疗肥大细胞增多症或肥大细胞增多症肿瘤的方法,所述方法包括:诱导杀细胞作用肥大细胞杀伤、诱导肥大细胞的凋亡、减少组织或器官中积累的肥大细胞的量、减轻肥大细胞增多症的症状、抑制肥大细胞介质释放、抑制肥大细胞的生长、和/或诱导肥大细胞增多症消退,其中所述肥大细胞拥有在c-KIT激酶中的一个或多个激活突变,例如,激活的c-KIT D816V突变。在某些实施方案中,所述方法涵盖用于消除受试者的肥大细胞增多症(例如肥大细胞增多症肿瘤)的方法。在一些实施方案中,治疗导致完全反应、部分反应、临床改善或疾病稳定,如IWG-MRT-ECNM标准所定义(Gotlib等人,Blood 2013;121:2393-401)。

[0108] 在另一个相关实施方案中,本公开提供了治疗或预防急性髓性白血病(AML)(任选地c-KIT介导的(AML))的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用有效量的c-KIT抑制剂与有效量的MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、考比替尼、司美替尼、比美替尼、优立替尼、

或LY3009120)的组合。在相关实施方案中,本公开提供了治疗或预防急性髓性白血病(AML)(任选地c-KIT介导的(AML))的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用有效量的化合物A(或其药学上可接受的盐)或化合物B(或其药学上可接受的盐)与有效量的MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、考比替尼、司美替尼、比美替尼、优立替尼、或LY3009120)的组合。

[0109] 在本文所述的方法涉及用化合物A或其药学上可接受的盐、或用化合物B或其药学上可接受的盐进行治疗的情况下,其意味着仅需要化合物A或其药学上可接受的盐、或化合物B或其药学上可接受的盐中的一种。然而,应当理解,这些方法还涵盖向患者施用与MAPKAP途径抑制剂组合的化合物A或其药学上可接受的盐、和化合物B或其药学上可接受的盐二者。本文所述的方法还涵盖向受试者施用化合物A和MAPKAP途径抑制剂,随后化合物A在体内被代谢为化合物B,并且化合物A和化合物B的体内混合物与MAPKAP途径抑制剂组合有效地治疗受试者。

[0110] 所公开的方法和组合物的特定实施方案使用以下化合物来实施:化合物A或其药学上可接受的盐和曲美替尼的组合;化合物A或其药学上可接受的盐和司美替尼的组合;化合物A或其药学上可接受的盐和考比替尼的组合;或者化合物A或其药学上可接受的盐和比美替尼的组合。

[0111] 在一个实施方案中,将化合物A或其药学上可接受的盐和MEK抑制剂(例如曲美替尼或比美替尼)施用至患有c-KIT介导的肥大细胞增多症的受试者。在另一个实施方案中,将化合物B或其药学上可接受的盐和MEK抑制剂(例如曲美替尼或比美替尼)施用至患有c-KIT介导的肥大细胞增多症的受试者。

[0112] 在相关实施方案中,将化合物A或其药学上可接受的盐和MEK抑制剂(例如曲美替尼或比美替尼)施用至患有肥大细胞增多症肿瘤的患者,所述肥大细胞增多症肿瘤包括但不限于肥大细胞白血病或肥大细胞肉瘤,其中肥大细胞增多症的肿瘤生长或肿瘤进展是由一级激活c-KIT突变(例如KIT D816V突变)引起的。在另一个实施方案中,将化合物B或其药学上可接受的盐和MEK抑制剂(例如曲美替尼或比美替尼)施用至患有肥大细胞增多症肿瘤的患者,所述肥大细胞增多症肿瘤包括但不限于肥大细胞白血病或肥大细胞肉瘤,其中肥大细胞增多症的肿瘤生长或肿瘤进展是由一级激活c-KIT突变(例如KIT D816V突变)引起的。在某些实施方案中,向患有AML的患者施用化合物A或其药学上可接受的盐、或化合物B或其药学上可接受的盐和MEK抑制剂(例如曲美替尼或比美替尼),任选地其中所述AML是由一级激活c-KIT突变(例如,c-KIT外显子8激活突变、或c-KIT外显子17突变,包括但不限于在D816或在N822处的突变(Journal of Clinical Oncology 200624:24,3904-3911))引起的。

[0113] 所公开的方法和组合物的特定实施方案使用以下化合物来实施:化合物A或其药学上可接受的盐和优立替尼的组合;化合物A或其药学上可接受的盐和SCH772984的组合;化合物A或其药学上可接受的盐和LY3214996的组合;化合物A或其药学上可接受的盐和拉伏替尼的组合;或化合物A或其药学上可接受的盐和VX-11的组合。

[0114] 在一个实施方案中,将化合物A或其药学上可接受的盐和ERK抑制剂(例如优立替尼)施用至患有c-KIT介导的肥大细胞增多症的受试者。在另一个实施方案中,将化合物B或其药学上可接受的盐和ERK抑制剂(例如优立替尼)施用至患有c-KIT介导的肥大细胞增多症的受试者。

[0115] 在相关实施方案中,将化合物A或其药学上可接受的盐和ERK抑制剂(例如优立替尼)施用至患有肥大细胞增多症肿瘤的患者,所述肥大细胞增多症肿瘤包括但不限于肥大细胞白血病或肥大细胞肉瘤,其中肥大细胞增多症的肿瘤生长或肿瘤进展是由一级激活c-KIT突变(例如KIT D816V突变)引起的。在另一个实施方案中,将化合物B或其药学上可接受的盐和ERK抑制剂(例如优立替尼)施用至患有肥大细胞增多症肿瘤的患者,所述肥大细胞增多症肿瘤包括但不限于肥大细胞白血病或肥大细胞肉瘤,其中肥大细胞增多症的肿瘤生长或肿瘤进展是由一级激活c-KIT突变(例如KIT D816V突变)引起的。在某些实施方案中,向患有AML的患者施用化合物A或其药学上可接受的盐、或化合物B或其药学上可接受的盐和ERK抑制剂(例如优立替尼),任选地其中所述AML是由一级激活c-KIT突变(例如,c-KIT外显子8激活突变、或c-KIT外显子17突变,包括但不限于在D816或在N822处的突变(Journal of Clinical Oncology 200624:24,3904-3911))引起的。

[0116] 所公开的方法和组合物的特定实施方案使用以下化合物来实施:化合物A或其药学上可接受的盐和LY3009120的组合;化合物A或其药学上可接受的盐和达拉非尼的组合;或化合物A或其药学上可接受的盐和维莫非尼的组合。

[0117] 在一个实施方案中,将化合物A或其药学上可接受的盐和RAF抑制剂(例如LY3009120、达拉非尼或维莫非尼)施用至患有c-KIT介导的肥大细胞增多症的受试者。在另一个实施方案中,将化合物B或其药学上可接受的盐和RAF抑制剂(例如LY3009120、达拉非尼或维莫非尼)施用至患有c-KIT介导的肥大细胞增多症的受试者。

[0118] 在相关实施方案中,将化合物A或其药学上可接受的盐和RAF抑制剂(例如LY3009120、达拉非尼或维莫非尼)施用至患有肥大细胞增多症肿瘤的患者,所述肥大细胞增多症肿瘤包括但不限于肥大细胞白血病或肥大细胞肉瘤,其中肥大细胞增多症的肿瘤生长或肿瘤进展是由一级激活c-KIT突变(例如KIT D816V突变)引起的。在另一个实施方案中,将化合物B或其药学上可接受的盐和RAF抑制剂(例如LY3009120、达拉非尼或维莫非尼)施用至患有肥大细胞增多症肿瘤的患者,所述肥大细胞增多症肿瘤包括但不限于肥大细胞白血病或肥大细胞肉瘤,其中肥大细胞增多症的肿瘤生长或肿瘤进展是由一级激活c-KIT突变(例如KIT D816V突变)引起的。在某些实施方案中,向患有AML的患者施用化合物A或其药学上可接受的盐、或化合物B或其药学上可接受的盐和RAF抑制剂(例如LY3009120、达拉非尼或维莫非尼),任选地其中所述AML是由一级激活c-KIT突变(例如,c-KIT外显子8激活突变、或c-KIT外显子17突变,包括但不限于在D816或在N822处的突变(Journal of Clinical Oncology 200624:24,3904-3911))引起的。

[0119] 可以根据所公开的方法和组合物使用的说明性c-KIT抑制剂包括但不限于化合物A或其药学上可接受的盐、化合物B或其药学上可接受的盐、米哚妥林、BLU-285、PLX9486和crenolanib。可以根据所公开的方法和组合物使用的说明性MEK抑制剂包括但不限于曲美替尼、司美替尼、考比替尼和比美替尼。可以根据所公开的方法和组合物使用的说明性ERK抑制剂包括但不限于优立替尼、SCH772984、LY3214996、拉伏替尼(ravoxertinib)和VX-11e。可以根据所公开的方法和组合物使用的说明性RAF抑制剂包括但不限于LY3009120、达拉非尼和维莫非尼。

[0120] 用化合物A或其药学上可接受的盐或化合物B或其药学上可接受的盐与MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼或LY3009120)组合进行治疗涵盖在施用

MAPKAP途径抑制剂之前、之后、与其同时或与其重叠的时间段内施用化合物A或其药学上可接受的盐或化合物B或其药学上可接受的盐。应当理解,化合物A或其药学上可接受的盐、化合物B或其药学上可接受的盐、另一种c-KIT抑制剂或MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼或LY3009120)中任一种的有效量当以本文公开的组合使用时与当这些药剂中任一种本身单独用于相同目的(例如用于治疗或预防肥大细胞增多症或肥大细胞肿瘤,例如肥大细胞白血病或AML)时相比可以是不同的。在特定实施方案中,化合物A或其药学上可接受的盐的有效量或化合物B或其药学上可接受的盐的有效量当作为与MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼或LY3009120)的组合疗法施用时与当将其作为单一疗法(例如用于治疗或预防肥大细胞增多症或肥大细胞肿瘤)施用时相比是更低的量。在特定实施方案中,当作为与化合物A或其药学上可接受的盐的组合疗法施用时或当作为与化合物B或其药学上可接受的盐的组合疗法施用时(例如用于治疗或预防肥大细胞增多症或肥大细胞肿瘤),MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼或LY3009120)的有效量是较低的量。

[0121] 本文公开的任何方法可以还包括确定所治疗的肥大细胞增多症细胞、肥大细胞肿瘤或AML具有一个或多个c-KIT基因突变。可以通过用于确定从受试者获得的生物样品(例如,骨髓样品、组织样品、外周血样品或血浆样品)中基因突变的存在常规方法来进行这种确定。另外,可以通过回顾用于确定从患者获得的生物样品中一个或多个c-KIT基因突变的存在所进行的测试结果来进行这种确定。在本文公开的任何方法的某些实施方案中,对其中肥大细胞增多症、肥大细胞肿瘤或AML已被鉴定为具有一个或多个c-KIT基因突变的受试者进行所述方法。c-KIT基因突变包括但不限于本文具体描述的那些中的任何一个。在本文公开的任何方法的某些实施方案中,不对其中肥大细胞增多症、肥大细胞肿瘤或AML已被鉴定为具有一个或多个c-KIT基因突变的受试者进行所述方法。

[0122] 在本文公开的任何方法的各个方面,用化合物A或其药学上可接受的盐、或化合物B或其药学上可接受的盐与MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼或LY3009120)组合进行治疗诱导杀细胞作用肥大细胞杀伤、诱导肥大细胞的凋亡、减少组织或器官中积累的肥大细胞的量、减轻肥大细胞增多症的症状、抑制肥大细胞介质释放、抑制肥大细胞的生长、和/或诱导肥大细胞增多症消退,其中肥大细胞拥有在c-KIT激酶中的激活突变,包括,激活的c-KIT D816V突变。测量或确定肥大细胞凋亡、肥大细胞杀伤的量、对肥大细胞生长和增殖的抑制、对肥大细胞介质释放的抑制、外周血突变KIT等位基因负荷、肥大细胞增多症和肥大细胞增多症肿瘤的根除;完全反应、部分反应、临床改善或疾病稳定的方法是本领域已知的,并且包括本文所述的任何方法。

[0123] 在特定实施方案中,如与未经治疗或仅用MAPKAP途径抑制剂或仅用c-KIT抑制剂(例如化合物A或化合物B)治疗的相同类型的肥大细胞增多症细胞或肥大细胞的凋亡量相比,用以下组合进行治疗:c-KIT抑制剂(例如化合物A或其药学上可接受的盐、或化合物B或其药学上可接受的盐);和MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼或LY3009120),导致肥大细胞增多症细胞或肥大细胞的凋亡量增加。例如,凋亡可能增加了至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少两倍、至少三倍、至少四倍、至少五倍、至少十倍或至少20倍。在某些实施方案中,通过测量KIT突变肥大细胞或肥大细胞系(包括拥有KIT D816V突变的HMC1.2肥大细胞

系)的胰天蛋白酶活性来确定凋亡量。

[0124] 在特定实施方案中,如与未经治疗或仅用MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼或LY3009120)或仅用c-KIT抑制剂(例如,米哌妥林、BLU-285、化合物A或化合物B)治疗的同一器官中肥大细胞的积累量相比,用以下组合进行治疗:c-KIT抑制剂(例如化合物A或其药学上可接受的盐、或化合物B或其药学上可接受的盐);和MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼或LY3009120),导致在皮肤或内部器官(例如,肝脏、脾脏、骨髓和/或小肠)中肥大细胞的积累减少。例如,器官内积累的肥大细胞的量或数量可能减少了至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%或至少90%。

[0125] 在特定实施方案中,用以下组合进行治疗:c-KIT抑制剂(例如化合物A或其药学上可接受的盐、或化合物B或其药学上可接受的盐);和MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼或LY3009120),导致如IWG-MRT-ECNM标准(Gotlib等人,Blood 2013;121:2393-401)所定义的完全反应。

[0126] 在特定实施方案中,用以下组合进行治疗:c-KIT抑制剂(例如化合物A或其药学上可接受的盐、或化合物B或其药学上可接受的盐);和MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼或LY3009120),导致如IWG-MRT-ECNM标准(Gotlib等人,Blood 2013;121:2393-401)所定义的部分反应。

[0127] 在特定实施方案中,用以下组合进行治疗:c-KIT抑制剂(例如化合物A或其药学上可接受的盐、或化合物B或其药学上可接受的盐);和MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼或LY3009120),导致如IWG-MRT-ECNM标准(Gotlib等人,Blood 2013;121:2393-401)所定义的临床改善。

[0128] 在特定实施方案中,用以下组合进行治疗:c-KIT抑制剂(例如化合物A或其药学上可接受的盐、或化合物B或其药学上可接受的盐);和MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼或LY3009120),导致如IWG-MRT-ECNM标准(Gotlib等人,Blood 2013;121:2393-401)所定义的疾病稳定。

[0129] 在特定实施方案中,用以下组合进行治疗:c-KIT抑制剂(例如化合物A或其药学上可接受的盐、或化合物B或其药学上可接受的盐);和MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼或LY3009120),导致除了KIT D816V一级突变之外含有二级KIT突变的抗性肥大细胞的凋亡或对其生长的抑制,其中所述二级KIT突变包括但不限于c-KIT基因中的Y269C、Y503_F504insAY、V560D、或K642E点突变、框内缺失或插入、或错义突变(Lasho等人,Br J Haematol 173,153-156)。

[0130] 在特定实施方案中,用以下组合进行治疗:c-KIT抑制剂(例如化合物A或其药学上可接受的盐、或化合物B或其药学上可接受的盐);和MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼或LY3009120),诱导在其他基因(包括本文公开的任何一种)中的含有突变(例如抗性突变)的抗性肥大细胞增多症细胞的凋亡或对其生长的抑制。在某些实施方案中,此类其他基因突变可以包括NRas功能获得性突变(Haematologica2011;96(03):459-463.doi:10.3324/haematol.2010.031690)或TET2功能丧失突变(Leukemia 2009;23:900-04;Blood、2012年12月6日;120(24):4846-49)。在SM中已检测到其他表观遗传或转录调节因子突变的存在,包括分别在12%、12%和4%的患者中的DNMT3A、ASXL1和CBL突变(PloS

one.2012;7:e43090)。此外,一些肥大细胞增多症患者也呈现在剪接体机制中的突变。剪接体确保在mRNA中剪接的外显子的正确线性顺序。Hanssens等人报道,在一组72名肥大细胞增多症患者中,SRSF2的突变发生率为23.6%、SF3B1的突变发生率为5.6%、并且U2AF1的突变发生率为2.7% (Haematologica 2014;99:830-35)。与未经治疗或仅用MEK抑制剂(例如曲美替尼)或仅用c-KIT抑制剂(例如化合物A或化合物B)进行治疗相比,具有复杂的基因组驱动因子的此类肥大细胞增多症可能受益于本文公开的使用c-KIT抑制剂和MEK抑制剂的组合的治疗。例如,凋亡可能增加了至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少两倍、至少三倍、至少四倍、至少五倍倍、至少10倍或至少20倍。例如,抗性肥大细胞增多症细胞的生长量或数量可能被抑制了至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%或至少90%。

[0131] 在特定实施方案中,当用作单药疗法时,抗性肥大细胞增多症细胞通过用c-KIT抑制剂(例如化合物A、化合物B、米哌妥林、BLU-285、PLX9486或crenolanib)进行处理对凋亡介导的细胞死亡或杀细胞作用活性具有抗性,和/或通过用MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼或LY3009120)进行处理对凋亡介导的细胞死亡或杀细胞作用活性具有抗性。

[0132] 在特定实施方案中,用以下的组合进行治疗:c-KIT抑制剂(例如化合物A或其药学上可接受的盐、或化合物B或其药学上可接受的盐);与MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼或LY3009120),导致对肥大细胞增多症(例如肥大细胞增多症肿瘤)的根除。在特定实施方案中,对肥大细胞增多症的根除意味着患者中不再存在任何可检测到的肥大细胞增多症。在特定实施方案中,在开始通过本文公开的组合法治疗肥大细胞增多症之后的至少十二周、至少二十四周、至少一年、至少两年或至少5年,患者中没有可检测到的肥大细胞增多症。可以通过如IWG-MRT-ECNM标准(Gotlib等人,Blood 2013;121:2393-401)所定义的完全反应的标准来确定对肥大细胞增多症的根除。

[0133] 本公开描述了涉及施用c-KIT抑制剂(例如化合物A或其药学上可接受的盐、或化合物B或其药学上可接受的盐)、和MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼或LY3009120)的组合法。本文所述的组合法可以它们本身单独使用,或与一种或多种另外的治疗剂组合使用。例如,化合物A或其药学上可接受的盐或化合物B或其药学上可接受的盐和MAPKAP途径抑制剂可以与癌症靶向治疗剂、癌症靶向生物免疫检查点抑制剂、或化学治疗剂一起施用。在另一个实施方案中,在没有任何其他治疗剂的情况下施用化合物A或化合物B和MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼或LY3009120)。在组合法中可以将治疗剂与本文所述的另一种治疗剂一起施用或与其依次施用。

[0134] 组合法可以通过以下方式来实现:施用两种或更多种治疗剂,每种治疗剂单独配制和施用;或者在单一配制品中施用两种或更多种治疗剂。组合法也涵盖其他组合。虽然可以同时施用组合法中的两种或更多种药剂,但它们不一定如此施用。例如,第一药剂(或药剂的组合)的施用可以在第二药剂(或药剂的组合)的施用之前数分钟、数小时、数天或数周。因此,所述两种或更多种药剂可以在彼此的数分钟内、或在彼此的1、2、3、6、9、12、15、18或24小时内、或在彼此的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、14天内、或在彼此的2、3、4、5、6、7、8、9或几周内施用。在一些情况下,甚至可能有更长的间隔。尽管在许多情况下,希望在组合法中使用的两种或更多种药剂同时存在于患者体内,但这不是必须的。

[0135] 组合疗法还可以包括使用组分药剂的不同顺序两次或更多次施用在组合中使用的一种或多种药剂。例如,如果药剂X和药剂Y以组合使用,则人们可以按任何组合一次或多次例如以X-Y-X、X-X-Y、Y-X-Y、Y-Y-X、X-X-Y-Y等的顺序依次施用它们。此外,组合中的两种或更多种药剂的施用可以在施用剂量间隔之前或之后,在所述施用剂量间隔期间从治疗中省略至少一种组合药剂。

[0136] 可以根据本公开施用例如以治疗肥大细胞增多症或肥大细胞增多症肿瘤的另外的治疗剂包括但不限于选自由以下组成的组的药剂:STAT5抑制剂,包括但不限于鲁索替尼(ruxolitinib)、托法替尼或fedratinib;BTK抑制剂,包括但不限于依鲁替尼、PCI 29732、阿卡替尼(acalabrutinib)或AVL-292;PI3激酶抑制剂,包括但不限于idelalisib、dactolisib、pictilisib、LY294002、buparlisib、pilaralisib、duvelisib、PF-04691502、voxtalisib、omipalisib、gedatolisib、apitolisib或渥曼青霉素(wortmannin);AKT激酶抑制剂,包括但不限于MK-2206、哌立福辛(perifosine)、GSK690693、GSK2141795、ipatasertib、AZD5363、afuresertib或AT7867;DNA甲基化抑制剂,包括但不限于5-氮杂胞苷或5-氮杂-2'-脱氧胞苷;蛋白质体抑制剂,包括但不限于硼替佐米、卡非佐米(carfilzomib)、MLN9708、ONX 0912;干扰素 α (IFN-);克拉屈滨(cladribine);以及亲溶酶体药剂,包括但不限于氯喹、羟基氯喹或喹吖因(quinacrine)。

[0137] 在某些实施方案中,另外的治疗剂选自5-氮杂胞苷、5-氮杂-2'-脱氧胞苷和克拉屈滨。

[0138] 在特定实施方案中,将有需要的受试者用化合物A或其药学上可接受的盐、MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼或LY3009120)和5-氮杂胞苷中的一种或两种的组合进行治疗。在某些实施方案中,MAPKAP途径抑制剂是曲美替尼。在某些实施方案中,MAPKAP途径抑制剂是比美替尼。在某些实施方案中,MAPKAP途径抑制剂是优立替尼。在某些实施方案中,MAPKAP途径抑制剂是LY3009120、达拉非尼或维莫非尼。

[0139] 在特定实施方案中,将有需要的受试者用化合物A或其药学上可接受的盐、MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼或LY3009120)和5-氮杂-2'-脱氧胞苷的组合进行治疗。在某些实施方案中,MAPKAP途径抑制剂是曲美替尼。在某些实施方案中,MAPKAP途径抑制剂是比美替尼。在某些实施方案中,MAPKAP途径抑制剂是优立替尼。在某些实施方案中MAPKAP途径抑制剂是LY3009120、达拉非尼或维莫非尼。

[0140] 在特定实施方案中,将有需要的受试者用化合物A或其药学上可接受的盐、MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼或LY3009120)和克拉屈滨的组合进行治疗。在某些实施方案中,MAPKAP途径抑制剂是曲美替尼。在某些实施方案中,MAPKAP途径抑制剂是比美替尼。在某些实施方案中,MAPKAP途径抑制剂是优立替尼。在某些实施方案中,MAPKAP途径抑制剂是LY3009120、达拉非尼或维莫非尼。可以根据本公开施用的另外的治疗剂包括但不限于三氧化二砷、环磷酰胺、阿糖胞苷、柔红霉素、阿霉素、恩西地平(enasidenib)、伊达比星、奎扎替尼(quizartinib)、米托蒽醌、硫代鸟嘌呤或长春新碱。在特定实施方案中,将患有AML的受试者用化合物A或其药学上可接受的盐、和三氧化二砷、环磷酰胺、阿糖胞苷、柔红霉素、阿霉素、恩西地平、伊达比星、奎扎替尼、米托蒽醌、硫代鸟嘌呤或长春新碱的组合进行治疗。

[0141] 药物组合物

[0142] 本公开的方面涉及治疗方法,所述治疗方法涉及施用本文公开的化合物的组合、或者包含此类化合物和药学上可接受的稀释剂、赋形剂或载体的一种或多种药物组合物。在特定实施方案中,本文公开的方法涉及施用第一药物组合物和第二药物组合物,所述第一药物组合物包含c-KIT抑制剂(例如化合物A或其药学上可接受的盐和药学上可接受的稀释剂、赋形剂或载体),并且所述第二药物组合物包含MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼或LY3009120)、和药学上可接受的稀释剂、赋形剂或载体。在特定实施方案中,本文公开的方法涉及施用第一药物组合物和第二药物组合物,所述第一药物组合物包含化合物B或其药学上可接受的盐和药学上可接受的稀释剂、赋形剂或载体,并且所述第二药物组合物包含MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼或LY3009120)、和药学上可接受的稀释剂、赋形剂或载体。在特定实施方案中,本文公开的方法涉及施用药物组合物,所述药物组合物包含c-KIT抑制剂(例如化合物A或其药学上可接受的盐)、MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼或LY3009120)和药学上可接受的稀释剂、赋形剂或载体。在特定实施方案中,本文公开的方法涉及施用药物组合物,所述药物组合物包含化合物B或其药学上可接受的盐、MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼或LY3009120)、和药学上可接受的稀释剂、赋形剂或载体。

[0143] 在使用本文所述化合物的药物组合物时,药学上可接受的载体可以是固体或液体。固体形式包括散剂、片剂、可分散颗粒剂、胶囊剂、扁囊剂和栓剂。散剂和片剂可以包含从约5%至约95%的活性成分。合适的固体载体是本领域已知的,例如,碳酸镁、硬脂酸镁、滑石粉、糖或乳糖。片剂、散剂、扁囊剂和胶囊剂可以用作适合于口服施用的固体剂型。药学上可接受的载体的实例和制造各种组合物的方法可见于A.Gennaro(编辑),Remington's Pharmaceutical Sciences,第18版,(1990),Mack Publishing Co.,Easton,Pa,将其据此全文以引用方式并入。

[0144] 液体形式的制剂包括溶液、混悬剂和乳剂。例如,水或水-丙二醇溶液用于肠胃外注射,或添加甜味剂和遮光剂用于口服溶液、混悬剂和乳剂。液体形式的制剂还可以包括用于鼻内施用的溶液。

[0145] 液体(特别是可注射的)组合物可以例如通过溶解、分散等来制备。例如,将所公开的化合物溶解于药学上可接受的溶剂(例如水、盐水、水性右旋糖、甘油、乙醇等)中或与其混合,由此形成可注射的等渗溶液或混悬剂。可以将蛋白质诸如白蛋白、乳糜微粒或血清蛋白用于溶解所公开的化合物。

[0146] 肠胃外注射剂施用通常用于皮下、肌肉内或静脉内注射和输注。注射剂可以按常规形式制备,作为液体溶液或混悬剂或适合于在注射之前溶解于液体中的固体形式制备。

[0147] 也可以使用适合于吸入的气溶胶制剂。这些制剂可以包括溶液和呈粉末形式的固体,所述溶液和呈粉末形式的固体可以与药学上可接受的载体(诸如惰性压缩气体,例如氮气)组合。

[0148] 还考虑使用的是固体形式的制剂,所述固体形式的制剂意图在使用前不久被转变成用于口服或肠胃外施用的液体形式的制剂。此类液体形式包括溶液、混悬剂和乳剂。

[0149] 剂量

[0150] 在化合物A或化合物B(或其药学上可接受的盐)与MAPKAP途径抑制剂(例如曲美替尼、比美替尼、优立替尼或LY3009120)组合使用用于治疗方案的一些实施方案中,两种治疗

剂可以一起施用或者以其中将两种治疗剂单独给药和施用的“双重方案”施用。当将化合物A或B(或其药学上可接受的盐)和MAPKAP途径抑制剂单独给药时,向需要治疗的受试者施用的化合物A或化合物B(或其药学上可接受的盐)的典型剂量通常为从每天约5mg至每天约5000mg,以及在其他实施方案中,从每天约50mg至每天约1000mg。其他剂量可以为从每天约10mmol至每天约250mmol、从每天约20mmol至每天约70mmol或甚至从每天约30mmol至每天约60mmol。当用于所示效果时,所公开化合物的有效剂量的量的范围为治疗病症所需的从约0.5mg至约5000mg的所公开化合物。用于体内或体外用途的组合物可以含有约0.5、5、20、50、75、100、150、250、500、750、1000、1250、2500、3500、或5000mg的所公开化合物,或者,在从剂量列表中的一个量至另一个量的范围内。口服施用的典型推荐每日剂量方案可以按单一剂量或按两至四个分割剂量,在从约1mg/天至约500mg/天或1mg/天至200mg/天的范围内。在一个实施方案中,典型每日口服剂量方案为150mg。

[0151] 在某些实施方案中,MAPKAP途径抑制剂的剂量与先前公开的剂量和/或被食品和药物管理局(Food and Drug Administration)批准使用的剂量一致。在其他实施方案中,MAPKAP途径抑制剂的剂量小于先前批准的剂量,例如为批准剂量的约20%、约50%或约80%。在某些实施方案中,曲美替尼的剂量为每日口服约.5mg至20mg,例如每日约1mg或每日约2mg。在某些实施方案中,考比替尼的剂量为每日约10mg至200mg,例如每日约30mg或约60mg。在某些实施方案中,比美替尼的剂量为每日两次约10mg至约200mg,例如每日两次约25mg或约45mg。在某些实施方案中,司美替尼的剂量为每日约10mg至约200mg,或每日两次约30mg或约75mg。

[0152] 本文所述的化合物和/或其药学上可接受的盐以及其他治疗剂的施用量和频率也将考虑到诸如年龄、病情和患者尺寸以及所治疗症状的严重性等因素根据主治临床医师的判断进行调节。

[0153] 可以通过任何合适的途径施用本公开的化合物(例如,化合物A或化合物B(及其药学上可接受的盐)、MAPKAP途径抑制剂和其他治疗剂)。可以以胶囊剂、混悬剂、片剂、丸剂、糖衣丸、液体、凝胶、糖浆、浆液等形式口服(例如饮食)施用化合物。包封组合物(诸如在硬明胶或环糊精的包衣中)的方法是本领域已知的(Baker等人,“Controlled Release of Biological Active Agents”, John Wiley and Sons, 1986, 将其据此全文以引用方式并入)。可以将化合物与可接受的药物载体结合作为药物组合物的一部分施用至受试者。药物组合物的配制品将根据所选择的施用途径而变化。合适的药物载体可以含有不与化合物相互作用的惰性成分。载体是生物相容的,即无毒的、非炎性的、非免疫原性的,并且在施用部位没有其他不良反应。

[0154] 说明性药物组合物是包含本文所述的化合物(例如化合物A或其药学上可接受的盐)和药学上可接受的载体的片剂和明胶胶囊剂、所述药学上可接受的载体为诸如:a) 稀释剂,例如纯净水、甘油三酸酯油(诸如氢化或部分氢化的植物油、或其混合物)、玉米油、橄榄油、向日葵油、红花油、鱼油(诸如EPA或DHA、或它们的酯或甘油三酸酯或其混合物)、 ω -3脂肪酸或其衍生物、乳糖、右旋糖、蔗糖、甘露醇、山梨糖醇、纤维素、钠、糖精、葡萄糖和/或甘氨酸;b) 润滑剂,例如二氧化硅、滑石粉、硬脂酸、其镁盐或钙盐、油酸钠、硬脂酸钠、硬脂酸镁、苯甲酸钠、乙酸钠、氯化钠和/或聚乙二醇;也用于片剂;c) 粘合剂,例如硅酸镁铝、淀粉糊、明胶、黄芪胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、碳酸镁、天然糖诸如葡萄糖或 β -乳糖、玉米

甜味剂、天然和合成树胶(诸如阿拉伯树胶)、黄芪胶或海藻酸钠、蜡和/或聚乙烯吡咯烷酮,如果需要的话;d)崩解剂,例如淀粉、琼脂、甲基纤维素、膨润土、黄原胶、海藻酸或其钠盐、或泡腾混合物;e)吸收剂、着色剂、香料和甜味剂;f)乳化剂或分散剂,诸如Tween 80、Labrasol、HPMC、DOSS、caproyl 909、labrafac、labrafil、peceol、transcutol、capmul MCM、capmul PG-12、captex 355、gelucire、维生素E TGPS或其他可接受的乳化剂;和/或g)增强化合物吸收的药剂,诸如环糊精、羟丙基-环糊精、PEG400、PEG200。

[0155] 如果配制为固定剂量,则此类组合产品采用在本文所述剂量范围内或如本领域技术人员已知的本文所述化合物。

[0156] 由于本文所述的化合物(例如化合物A和B和MAPKAP途径抑制剂)旨在用于在药物组合物中使用,因此技术人员将理解,可以将它们以基本上纯的形式(例如至少60%的纯、至少75%纯、至少85%纯和至少98%纯(w/w))提供。药物制剂可以呈单位剂型。以这种形式,将制剂细分为适当大小的单位剂量,其含有适当量的化合物A或B,例如实现如本文所述的所需目的的有效量。

[0157] 实施例

[0158] 已经发现,用化合物A或其药学上可接受的盐与MAPKAP途径抑制剂的组合的治疗出乎意料地并且协同地诱导了突变c-KIT驱动的肥大细胞的凋亡,所述突变c-KIT驱动的肥大细胞是系统性肥大细胞增多症的原因。此外,这种组合疗法抑制肥大细胞增多症细胞的增殖。此外,本文公开的组合疗法似乎对肥大细胞增多症具有细胞毒性作用,而不是仅具有细胞生长抑制作用,如由组合治疗诱导的胰天蛋白酶激活所确定的。在生物化学测定和细胞测定(包括本文所述的那些)中,进行了这一意外发现的表征。

[0159] 因此,本公开文本通过以下实施例进一步阐明,这些实施例不应解释为将本公开文本限制在本文所述的具体程序的范围或精神内。应当理解,提供这些实施例是为了说明某些实施方案,并且因此不旨在限制本公开文本的范围。应当进一步理解,在不背离本公开文本的精神和/或所附权利要求书的范围的情况下,可能不得不对可以向本领域技术人员浮现的各种其他实施方案、修改及其等同物进行求助。

[0160] 实施例1.用化合物A或化合物B处理突变KIT肥大细胞系抑制肥大细胞增多症细胞系的细胞增殖和KIT磷酸化。

[0161] 进行的研究表明,用化合物A或化合物B处理抑制了突变KIT HMC1.1KIT V560G和HMC1.2 KIT V560G/D816V肥大细胞系的细胞增殖。在每个孔中接种有10,000个细胞的96孔板中进行测定。用运载体对照、化合物A或其化合物B以不同浓度处理细胞,使其生长72小时,然后评估细胞增殖。

[0162] 图1A是显示对于各种浓度的化合物A所确定的细胞增殖的相对百分比的图示。用化合物A处理抑制了HMC1.1 V560G和HMC1.2 V560G/D816V肥大细胞系的细胞增殖生长,IC50值分别为2.6nM和97nM。

[0163] 图1B是显示对于各种浓度的化合物B所确定的细胞增殖的相对百分比的图示。用化合物B处理抑制了HMC1.1 V560G和HMC1.2 V560G/D816V细胞系的细胞增殖生长,IC50值分别为2.3nM和61nM。

[0164] 实施例2.用化合物A和曲美替尼的组合处理诱导肥大细胞增多症细胞系的凋亡。

[0165] 进行的研究表明,用化合物A和MEK抑制剂曲美替尼的组合处理诱导了HMC1.2 KIT

V560G/D816V肥大细胞增多症细胞系的凋亡。在每个孔中接种有10,000个细胞的96孔板中进行测定。用运载体对照、化合物A、曲美替尼或其组合以不同浓度处理细胞,并且使细胞生长24小时。通过测量胱天蛋白酶3/7活性来评估凋亡。

[0166] 图2A是显示针对各种治疗所确定的细胞凋亡的相对百分比的图示。图2B是基于Chou和Talalay (1984) 描述的组合索引 (CI) 方法以及Chou和Martin (2005) 的计算机软件的协同作用图的矩阵。CI<1表示协同作用,CI=1表示加和作用,并且CI>1表示拮抗作用。用化合物A和MEK抑制剂曲美替尼的组合处理出乎意料地显示出强大的协同作用以诱导HMC1.2 KIT V560G/D816V细胞的凋亡。图2C是CI的组合索引图,表明化合物A与曲美替尼的组合具有强大的协同作用以诱导HMC1.2 KIT V560G/D816V肥大细胞的凋亡。

[0167] 实施例3. 用化合物B和曲美替尼的组合处理诱导肥大细胞增多症细胞系的凋亡。

[0168] 还进行的研究表明,用化合物B和曲美替尼的组合处理诱导了HMC1.2KIT V560G/D816V肥大细胞增多症细胞系的凋亡。如实施例2中所述进行测定。通过测量胱天蛋白酶3/7活性来评估凋亡。

[0169] 图3A是显示针对各种治疗所确定的细胞凋亡的相对百分比的图示。图3B是基于Chou和Talalay (1984) 描述的组合索引 (CI) 方法以及Chou和Martin (2005) 的计算机软件的协同作用图的矩阵。CI<1表示协同作用,CI=1表示加和作用,并且CI>1表示拮抗作用。用化合物B和MEK抑制剂曲美替尼的组合处理出乎意料地显示出强大的协同作用以诱导HMC1.2 KIT V560G/D816V细胞的凋亡。图3C是CI的组合索引图,表明化合物B与曲美替尼的组合具有强大的协同作用以诱导HMC1.2 KIT V560G/D816V肥大细胞的凋亡。

[0170] 实施例4. 用化合物A和比美替尼的组合处理诱导肥大细胞增多症细胞系的凋亡。

[0171] 用化合物A和比美替尼的组合处理也诱导了HMC1.2 KIT V560G/D816V肥大细胞增多症细胞系的凋亡。如实施例2中所述进行测定。通过测量胱天蛋白酶3/7活性来评估凋亡。

[0172] 图4A是显示针对各种治疗所确定的细胞凋亡的相对百分比的图示。图4B是基于Chou和Talalay (1984) 描述的组合索引 (CI) 方法以及Chou和Martin (2005) 的计算机软件的协同作用图的矩阵。用化合物A和MEK抑制剂比美替尼的组合处理出乎意料地显示出强大的协同作用以诱导HMC1.2KIT V560G/D816V细胞的凋亡。图4C是CI的组合索引图,表明化合物A与比美替尼的组合具有强大的协同作用以诱导HMC1.2 KIT V560G/D816V肥大细胞的凋亡。

[0173] 实施例5. 用化合物B和比美替尼的组合处理诱导肥大细胞增多症细胞系的凋亡。

[0174] 图5A是显示针对化合物B和比美替尼的各种治疗所确定的细胞凋亡的相对百分比的图示。图5B是基于Chou和Talalay (1984) 描述的组合索引 (CI) 方法以及Chou和Martin (2005) 的计算机软件的协同作用图的矩阵。CI<1表示协同作用,CI=1表示加和作用,并且CI>1表示拮抗作用。用化合物B和MEK抑制剂比美替尼的组合处理出乎意料地显示出强大的协同作用以诱导HMC1.2 KIT V560G/D816V细胞的凋亡。图5C是CI的组合索引图,表明化合物B与比美替尼的组合具有强大的协同作用以诱导HMC1.2 KIT V560G/D816V肥大细胞的凋亡。

[0175] 实施例6. 用化合物A和考比替尼的组合处理诱导肥大细胞增多症细胞系的凋亡。

[0176] 图6A是显示针对化合物A和考比替尼的各种治疗所确定的细胞凋亡的相对百分比的图示。图6B是基于Chou和Talalay (1984) 描述的组合索引 (CI) 方法以及Chou和Martin

(2005)的计算机软件的协同作用图的矩阵。用化合物A和MEK抑制剂考比替尼的组合处理出乎意料地显示出强大的协同作用以诱导HMC1.2 KIT V560G/D816V细胞的凋亡。图6C是CI的组合索引图,表明化合物A与考比替尼的组合具有强大的协同作用以诱导HMC1.2KIT V560G/D816V肥大细胞的凋亡。

[0177] 实施例7.用化合物B和考比替尼的组合处理诱导肥大细胞增多症细胞系的凋亡。

[0178] 图7A是显示针对化合物B和考比替尼的各种治疗所确定的细胞凋亡的相对百分比的图示。图7B是基于Chou和Talalay (1984) 描述的组合索引 (CI) 方法以及Chou和Martin (2005) 的计算机软件的协同作用图的矩阵。CI<1表示协同作用,CI=1表示加和作用,并且CI>1表示拮抗作用。用化合物B和MEK抑制剂考比替尼的组合处理出乎意料地显示出强大的协同作用以诱导HMC1.2 KIT V560G/D816V细胞的凋亡。图7C是CI的组合索引图,表明化合物B与考比替尼的组合具有强大的协同作用以诱导HMC1.2 KIT V560G/D816V肥大细胞的凋亡。

[0179] 实施例8.用化合物A和优立替尼的组合处理诱导肥大细胞增多症细胞系的凋亡。

[0180] 图8A是显示针对化合物A和ERK抑制剂优立替尼的各种治疗所确定的细胞凋亡的相对百分比的图示。图8B是基于Chou和Talalay (1984) 描述的组合索引 (CI) 方法以及Chou和Martin (2005) 的计算机软件的协同作用图的矩阵。用化合物A和优立替尼的组合处理出乎意料地显示出强大的协同作用以诱导HMC1.2 KIT V560G/D816V细胞的凋亡。图8C是CI的组合索引图,表明化合物A与优立替尼的组合具有强大的协同作用以诱导HMC1.2KIT V560G/D816V肥大细胞的凋亡。

[0181] 实施例9.用化合物B和优立替尼的组合处理诱导肥大细胞增多症细胞系的凋亡。

[0182] 可以评价化合物B和ERK抑制剂优立替尼的组合处理对HMC1.2 KIT V560G/D816V肥大细胞的凋亡的诱导。基于如Chou和Talalay (1984) 所述的组合索引 (CI) 方法、以及Chou和Martin (2005) 的计算机软件,可以产生协同作用图的矩阵。可以使用化合物B和优立替尼的组合处理来显示用于诱导HMC1.2 KIT V560G/D816V细胞的凋亡的协同作用。可以使用CI的组合索引图来证明化合物B和优立替尼的组合用于诱导HMC1.2 KIT V560G/D816V肥大细胞的凋亡的协同作用。

[0183] 实施例10.用化合物A和SCH772984的组合处理诱导肥大细胞增多症细胞系的凋亡。

[0184] 可以评价化合物A和ERK抑制剂SCH772984的组合处理对HMC1.2KIT V560G/D816V肥大细胞的凋亡的诱导。基于如Chou和Talalay (1984) 所述的组合索引 (CI) 方法、以及Chou和Martin (2005) 的计算机软件,可以产生协同作用图的矩阵。可以使用化合物A和SCH772984的组合处理来显示用于诱导HMC1.2 KIT V560G/D816V细胞的凋亡的协同作用。可以使用CI的组合索引图来证明化合物A和SCH772984的组合用于诱导HMC1.2KIT V560G/D816V肥大细胞的凋亡的协同作用。

[0185] 实施例11.用化合物B和SCH772984的组合处理诱导肥大细胞增多症细胞系的凋亡。

[0186] 可以评价化合物B和ERK抑制剂SCH772984的组合处理对HMC1.2KIT V560G/D816V肥大细胞的凋亡的诱导。基于如Chou和Talalay (1984) 所述的组合索引 (CI) 方法、以及Chou和Martin (2005) 的计算机软件,可以产生协同作用图的矩阵。可以使用化合物A和

SCH772984的组合处理来显示用于诱导HMC1.2 KIT V560G/D816V细胞的凋亡的协同作用。可以使用CI的组合索引图来证明化合物B和SCH772984的组合用于诱导HMC1.2KIT V560G/D816V肥大细胞的凋亡的协同作用。

[0187] 实施例12. 用化合物A和LY3009120的组合处理诱导肥大细胞增多症细胞系的凋亡。

[0188] 可以评价化合物A和RAF抑制剂LY3009120的组合处理对HMC1.2KIT V560G/D816V肥大细胞的凋亡的诱导。基于如Chou和Talalay (1984) 所述的组合索引 (CI) 方法、以及Chou和Martin (2005) 的计算机软件, 可以产生协同作用图的矩阵。可以使用化合物A和LY3009120的组合处理来显示用于诱导HMC1.2 KIT V560G/D816V细胞的凋亡的协同作用。可以使用CI的组合索引图来证明化合物A和LY3009120的组合用于诱导HMC1.2KIT V560G/D816V肥大细胞的凋亡的强大协同作用。

[0189] 实施例13. 用化合物B和LY3009120的组合处理诱导肥大细胞增多症细胞系的凋亡。

[0190] 可以评价化合物B和RAF抑制剂LY3009120的组合处理对HMC1.2 KIT V560G/D816V肥大细胞的凋亡的诱导。基于如Chou和Talalay (1984) 所述的组合索引 (CI) 方法、以及Chou和Martin (2005) 的计算机软件, 可以产生协同作用图的矩阵。可以使用化合物B和LY3009120的组合处理来显示用于诱导HMC1.2 KIT V560G/D816V细胞的凋亡的协同作用。可以使用CI的组合索引图来证明化合物B和LY3009120的组合用于诱导HMC1.2 KIT V560G/D816V肥大细胞的凋亡的协同作用。

[0191] 实施例14. 用化合物A和曲美替尼的组合处理导致HMC1.2 KIT D816V肥大细胞系的集落生长晕的协同减少。

[0192] 进行的研究表明, 与用任何一种单药的处理相比, 用化合物A和MEK抑制剂曲美替尼的组合处理导致HMC1.2的集落生长晕减少。将10,000个HMC1.2细胞在软琼脂中生长, 并与各种浓度的化合物A、曲美替尼、或化合物A和曲美替尼的组合一起孵育10天。在另外5天之后, 将药物处理去除并监测活细胞的集落生长晕。

[0193] 图9A是在用曲美替尼 (0、10或25nM)、化合物A (0、25或50nM) 作为单药或作为不同浓度的化合物A和不同浓度的曲美替尼的矩阵组合进行处理之后HMC1.2肥大细胞的集落生长晕的代表性图片。用化合物A或曲美替尼的单药处理导致在去除药物后5天在所有浓度下具有集落生长晕, 然而化合物A与曲美替尼的组合导致在去除药物后5天具有较少的集落生长晕。化合物A (25nM) 与曲美替尼 (25nM) 的组合导致在去除药物5天之后将集落生长晕的完全根除。化合物A (50nM) 与曲美替尼 (10或25nM) 的组合出乎意料地导致在去除药物5天之后将活的HMC1.2细胞的生长晕完全根除至如通过5X物镜可视化所确定的检测极限, 然而用单药化合物A或单药曲美替尼处理后未观察到根除。使集落生长晕进一步延长至去除药物后另外8天 (共13天) 仍能维持根除至使用化合物A (50nM) 和曲美替尼 (10和25nM) 的组的集落生长晕的检测极限。然而, 与化合物A (25nM) 和曲美替尼 (25nM) 的组合一起孵育额外8天之后, 约15-20个集落生长出。(图9A右图)。

[0194] 图9B是定量在来自图9A的各种处理之后HMC1.2肥大细胞的集落生长晕的图示。用50nM的化合物A和10nM或25nM的曲美替尼进行的组合处理出乎意料地导致将集落生长晕根除至如通过5X物镜可视化所确定的检测极限 (参见箭头, 图9B)。用25nM的化合物A和25nM的

曲美替尼进行的组合处理出乎意料地导致将集落生长晕根除至如通过5X物镜可视化所确定的检测极限(参见箭头,图9B),用任何一种单药化合物A或曲美替尼处理后均未观察到根除。

[0195] 实施例15.用化合物B和曲美替尼进行的组合处理导致HMC1.2 KIT D816V肥大细胞系的集落生长晕的协同减少。

[0196] 如实施例14所述,还用化合物B和MEK抑制剂曲美替尼进行了研究以评价HMC1.2细胞的集落生长晕的减少。

[0197] 图10A是在用曲美替尼(0、10或25nM)、化合物B(0、25或50nM)作为单药或作为不同浓度的化合物B和不同浓度的曲美替尼的矩阵组合进行处理之后HMC1.2肥大细胞的集落生长晕的代表性图片。用化合物B或曲美替尼的单药处理导致在去除药物后5天在所有浓度下具有集落生长晕,然而化合物B与曲美替尼的组合导致在去除药物后5天具有较少的集落生长晕。化合物B(25nM)与曲美替尼(25nM)的组合导致在去除药物5天之后活的HMC1.2细胞的生长晕显著减少。化合物B(50nM)与曲美替尼(10或25nM)的组合出乎意料地导致在去除药物5天之后将活的HMC1.2细胞的生长晕完全根除至如通过5X物镜可视化所确定的检测极限,然而用单药化合物B或单药曲美替尼处理后未观察到根除。使集落生长晕进一步延长至去除药物后另外8天(共13天)仍能维持根除至使用化合物B(50nM)和曲美替尼(25nM)的组合的集落生长晕的检测极限。

[0198] 图10B是定量在来自图10A的各种处理之后HMC1.2肥大细胞的集落生长晕的图示。用50nM的化合物B和10nM或25nM的曲美替尼进行的组合处理出乎意料地导致将集落生长晕根除至如通过5X物镜可视化所确定的检测极限,然而在用任何一种单药化合物B或曲美替尼处理后均未观察到根除(参见箭头,图10B)。

[0199] 实施例16.用化合物A和比美替尼的组合处理导致HMC1.2 KIT D816V肥大细胞系的集落生长晕的协同减少。

[0200] 图11A是在用比美替尼(0、250或500nM)、化合物A(0、25或50nM)作为单药或作为不同浓度的化合物A和不同浓度的比美替尼的矩阵组合进行处理之后HMC1.2肥大细胞的集落生长晕的代表性图片。用化合物A或比美替尼的单药处理导致在去除药物后5天在所有浓度下具有集落生长晕,然而化合物A与比美替尼的组合导致在去除药物后5天具有较少的集落生长晕。化合物A(25nM)与比美替尼(250nM)的组合导致在去除药物5天之后活的HMC1.2细胞的生长晕显著减少。化合物A(50nM)与比美替尼(250nM或500nM)的组合出乎意料地导致在去除药物5天之后将活的HMC1.2细胞的生长晕完全根除至如通过5X物镜可视化所确定的检测极限,然而用单药化合物A或单药比美替尼处理后未观察到根除。使集落生长晕进一步延长至去除药物后另外8天(共13天)仍能维持根除至使用化合物A(50nM)和比美替尼(500nM)的组合的集落生长晕的检测极限。然而,在用化合物A(50nM)和比美替尼(250nM)的组合的情况下,约10-15个集落生长出。

[0201] 图11B是定量在来自图11A的各种处理之后HMC1.2肥大细胞的集落生长晕的图示。用50nM的化合物A和250nM或500nM的比美替尼进行的组合处理出乎意料地导致将集落生长晕根除至如通过5X物镜可视化所确定的检测极限,然而在用任何一种单药化合物A或比美替尼处理后均未观察到根除(参见箭头,图11B)。

[0202] 实施例17.用化合物B和比美替尼的组合处理导致HMC1.2 KIT D816V肥大细胞系

的集落生长晕的协同减少。

[0203] 图12A是在用比美替尼 (0、250或500nM)、化合物B (0、25或50nM) 作为单药或作为不同浓度的化合物B和不同浓度的比美替尼的矩阵组合进行处理之后HMC1.2肥大细胞的集落生长晕的代表性图片。用化合物B或比美替尼的单药处理导致在去除药物后5天在所有浓度下具有集落生长晕,然而化合物B与比美替尼的组合导致在去除药物后5天具有较少的集落生长晕。化合物B (25nM) 与比美替尼 (250nM) 的组合导致在去除药物5天之后活的HMC1.2细胞的生长晕显著减少。化合物B (25nM) 与比美替尼 (500nM) 的组合导致在去除药物5天之后将活的HMC1.2细胞的生长晕完全根除至如通过5X物镜可视化所确定的检测极限。化合物B (50nM) 与比美替尼 (250nM或500nM) 的组合出乎意料地导致在去除药物5天之后将活的HMC1.2细胞的生长晕完全根除至如通过5X物镜可视化所确定的检测极限,然而用单药化合物B或单药比美替尼处理后未观察到根除。使集落生长晕进一步延长至去除药物后另外8天 (共13天) 仍能维持根除至使用化合物B (50nM) 和比美替尼 (250或500nM) 的组合以及化合物B (25nM) 和比美替尼 (500nM) 的组的集落生长晕的检测极限。

[0204] 图12B是定量在来自图12A的各种处理之后HMC1.2肥大细胞的集落生长晕的图示。用25nM的化合物B和500nM的比美替尼的组合处理以及用50nM的化合物B和250nM或500nM的比美替尼的组合处理出乎意料地导致将集落生长晕根除至如通过5X物镜可视化所确定的检测极限,然而在用任何一种单药化合物B或比美替尼处理后均未观察到根除 (参见箭头, 图12B)。

[0205] 实施例18. 用化合物A和考比替尼的组合处理导致HMC1.2 KIT D816V肥大细胞系的集落生长晕的协同减少。

[0206] 图13A是在用考比替尼 (0、25或50nM)、化合物A (0、25或50nM) 作为单药或作为不同浓度的化合物A和不同浓度的考比替尼的矩阵组合进行处理之后HMC1.2肥大细胞的集落生长晕的代表性图片。用化合物A或考比替尼的单药处理导致在去除药物后5天在所有浓度下具有集落生长晕,然而与任何一种单药处理相比,化合物A与考比替尼的组合导致在去除药物后5天具有较少的集落生长晕。化合物A (50nM) 与考比替尼 (25或50nM) 的组合导致在去除药物5天之后活HMC1.2细胞的生长晕显著减少。

[0207] 图13B是定量在来自图13A的各种处理之后HMC1.2肥大细胞的集落生长晕的图示。与任何一种单药化合物A或考比替尼相比,用50nM的化合物A和25nM或50nM的考比替尼进行的组合处理导致集落生长晕的显著减少。

[0208] 实施例19. 用化合物B和考比替尼的组合处理导致HMC1.2 KIT D816V肥大细胞系的集落生长晕的协同减少。

[0209] 图14A是在用考比替尼 (0、25或50nM)、化合物B (0、25或50nM) 作为单药或作为不同浓度的化合物B和不同浓度的考比替尼的矩阵组合进行处理之后HMC1.2肥大细胞的集落生长晕的代表性图片。用化合物B或考比替尼的单药处理导致在去除药物后5天在所有浓度下具有集落生长晕,然而与任何一种单药处理相比,化合物B与考比替尼的组合导致在去除药物后5天具有较少的集落生长晕。化合物B (50nM) 与考比替尼 (25或50nM) 的组合导致在去除药物5天之后活HMC1.2细胞的生长晕显著减少。

[0210] 图14B是定量在来自图14A的各种处理之后HMC1.2肥大细胞的集落生长晕的图示。与任何一种单药化合物B或考比替尼相比,用50nM的化合物B和25nM或50nM的考比替尼进行

的组合处理导致集落生长量的显著减少。

[0211] 实施例20.用化合物A和ERK抑制剂优立替尼的组合处理导致HMC1.2 KIT D816V肥大细胞系的集落生长量的减少。

[0212] 根据实施例14的方法,可以评价化合物A和优立替尼的组合处理对HMC1.2 KIT D816V肥大细胞系的集落生长量的抑制。

[0213] 实施例21.用化合物B和ERK抑制剂优立替尼的组合处理导致HMC1.2 KIT D816V肥大细胞系的集落生长量的减少。

[0214] 根据实施例14的方法,可以评价化合物B和优立替尼的组合处理对HMC1.2 KIT D816V肥大细胞系集落生长量的抑制。

[0215] 实施例22.用化合物A和RAF抑制剂LY3009120的组合处理导致HMC1.2 KIT D816V肥大细胞系的集落生长量的减少。

[0216] 根据实施例14的方法,可以评价化合物A和RAF抑制剂LY3009120的组合处理对HMC1.2 KIT D816V肥大细胞系的集落生长量的抑制。

[0217] 实施例23.用化合物B和LY3009120的组合处理导致HMC1.2 KIT D816V肥大细胞系的集落生长量的减少。

[0218] 根据实施例14的方法,可以评价化合物B和RAF抑制剂LY3009120的组合处理对HMC1.2 KIT D816V肥大细胞系集落生长量的抑制。

[0219] 实施例24.用化合物A和MEK抑制剂曲美替尼的组合处理诱导突变的N-ras G12D转染的HMC1.2 KIT V560G/D816V肥大细胞增多症细胞系的凋亡

[0220] 进行的研究表明,用化合物A和曲美替尼的组合处理诱导了突变的N-ras G12D转染的HMC1.2 V560G/D816V细胞的凋亡。在每个孔中接种有10,000个细胞的96孔板中进行测定。用运载体对照、化合物A、曲美替尼或其组合以不同浓度处理细胞,并且使细胞生长24和48小时。通过测量胱天蛋白酶3/7活性来评估凋亡。

[0221] 图15A是显示在24小时针对各种处理所确定的胱天蛋白酶活性的相对百分比的图示。用化合物A和曲美替尼组合处理24小时诱导空载体 (EV) 转染 (左图) 的HMC1.2 V560G/D816V细胞或突变的N-ras G12D转染 (右图) 的HMC1.2 V560G/D816V细胞的凋亡。化合物A与曲美替尼的组合导致EV转染的细胞和N-ras G12D转染的HMC1.2细胞的凋亡的协同增加。

[0222] 图15B是显示在48小时针对各种处理所确定的胱天蛋白酶活性的相对百分比的图示。用化合物A和曲美替尼组合处理48小时诱导空载体 (EV) 转染 (左图) 的HMC1.2 V560G/D816V细胞或突变的N-ras G12D转染 (右图) 的HMC1.2 V560G/D816V细胞的凋亡。化合物A与曲美替尼的组合导致EV转染的细胞和N-ras G12D转染的HMC1.2细胞的凋亡的协同增加。N-ras转染的细胞的凋亡高于EV转染的细胞的凋亡。

[0223] 实施例25.用化合物A和MEK抑制剂考比替尼的组合处理诱导突变的N-ras G12D转染的HMC1.2 KIT V560G/D816V肥大细胞增多症细胞系的凋亡

[0224] 图16A是显示在24小时针对各种处理所确定的胱天蛋白酶活性的相对百分比的图示。用化合物A和考比替尼组合处理24小时诱导空载体 (EV) 转染 (左图) 的HMC1.2 V560G/D816V细胞或突变的N-ras G12D转染 (右图) 的HMC1.2 V560G/D816V细胞的凋亡。化合物A与考比替尼的组合导致EV转染的细胞和N-ras G12D转染的HMC1.2细胞的凋亡的协同增加。N-ras转染的细胞的凋亡高于EV转染的细胞的凋亡。

[0225] 图16B是显示在48小时针对各种处理所确定的胱天蛋白酶活性的相对百分比的图示。用化合物A和考比替尼组合处理48小时诱导空载体 (EV) 转染 (左图) 的HMC1.2 V560G/D816V细胞或突变的N-ras G12D转染 (右图) 的HMC1.2 V560G/D816V细胞的凋亡。化合物A与考比替尼的组合导致EV转染的细胞和N-ras G12D转染的HMC1.2细胞的凋亡的协同增加。N-ras转染的细胞的凋亡高于EV转染的细胞的凋亡。

[0226] 实施例26. 用化合物A和MEK抑制剂曲美替尼的组合处理导致用N-ras G12D或空载体转染的HMC1.2 KIT D816V肥大细胞系的集落生长晕的协同减少。

[0227] 进行的研究表明, 与用任何一种单药处理相比, 用化合物A和曲美替尼进行的组合处理导致用空载体 (EV) 转染或用N-ras G12D转染的HMC1.2的集落生长晕减少。将HMC1.2细胞与各种浓度的化合物A、曲美替尼、或化合物A和曲美替尼的组合一起孵育10天。在另外5或13天之后, 将药物处理去除并监测活细胞的集落生长晕。

[0228] 图17A是在用曲美替尼 (0、1、10或25nM)、化合物A (0、25或50nM) 作为单药或作为不同浓度的化合物A和不同浓度的曲美替尼的矩阵组合进行处理之后EV转染的HMC1.2肥大细胞的集落生长晕的代表性图片。用化合物A或曲美替尼的单药处理导致在去除药物后5天在所有浓度下具有集落生长晕, 然而化合物A与曲美替尼的组合导致在去除药物后5天具有较少的集落生长晕。化合物A (50nM) 与曲美替尼 (1nM) 的组合导致与单药化合物A或单药曲美替尼相比, 与1nM曲美替尼组合的集落生长晕显著减少。化合物A (50nM) 与曲美替尼 (10或25nM) 的组合出乎意料地导致在去除药物5天之后将活的HMC1.2细胞的生长晕完全根除至如通过5X物镜可视化所确定的检测极限, 然而用单药化合物A或单药曲美替尼处理后未观察到根除。使集落生长晕进一步延长了去除药物后另外8天 (去除药物后总共13天) 仍能维持根除至使用化合物A (50nM) 和曲美替尼 (25nM) 的组的集落生长晕的检测极限。

[0229] 图17B是定量在来自图17A的各种处理之后EV转染的HMC1.2肥大细胞的集落生长晕的图示。用50nM的化合物A和10nM或25nM的曲美替尼进行的组合处理出乎意料地导致将集落生长晕根除至如通过5X物镜可视化所确定的检测极限, 然而在用任何一种单药化合物A或曲美替尼处理后均未观察到根除 (参见箭头, 图17B)。

[0230] 图17C是在用曲美替尼 (0、1、10或25nM)、化合物A (0、25或50nM) 作为单药或作为不同浓度的化合物A和不同浓度的曲美替尼的矩阵组合进行处理之后N-ras G12D转染的HMC1.2细胞的集落生长晕的代表性图片。用化合物A或曲美替尼的单药处理导致在去除药物后5天在所有浓度下具有集落生长晕, 然而化合物A与曲美替尼的组合导致在去除药物后5天具有较少的集落生长晕。化合物A (25nM) 与曲美替尼 (25nM) 的组合导致在去除药物5天之后活的HMC1.2细胞的生长晕显著减少, 并且化合物A (50nM) 与曲美替尼 (10或25nM) 的组合出乎意料地导致在去除药物5天之后将N-ras G12D转染的活的HMC1.2细胞的生长晕完全根除至如通过5X物镜可视化所确定的检测极限, 然而在使用任何一种单药化合物A或曲美替尼处理后均未观察到根除。使集落生长晕进一步延长了去除药物后另外8天 (去除药物后总共13天) 仍能维持对使用化合物A (50nM) 和曲美替尼 (25nM) 的组的集落生长晕的根除 (图17C)。

[0231] 图17D是定量来自图17C的各种处理的集落生长晕的图示。与用任何一种单药处理相比, 用化合物A和曲美替尼进行的组合处理导致更好地阻断集落生长晕。用50nM的化合物A和10nM或25nM的曲美替尼进行的组合处理出乎意料地导致在去除药物5天之后将集落生

长晕根除至如通过5X物镜可视化所确定的检测极限,然而在用任何一种单药化合物A或曲美替尼处理后均未观察到根除(参见箭头,图17D)。

[0232] 实施例27. 用化合物A和考比替尼进行的组合处理导致用N-ras G12D或空载体转染的HMC1.2 KIT D816V肥大细胞系的集落生长晕协同减少。

[0233] 进行的研究表明,与用任何一种单药处理相比,用化合物A和考比替尼进行的组合处理导致用空载体(EV)转染或用N-ras G12D转染的HMC1.2的集落生长晕减少。将HMC1.2细胞与各种浓度的化合物A、考比替尼、或化合物A和考比替尼的组合一起孵育10天。在另外5或10天之后,将药物处理去除并监测活细胞的集落生长晕。

[0234] 图18A是在用考比替尼(25或50nM)、化合物A(0、25或50nM)作为单药或作为不同浓度的化合物A和不同浓度的考比替尼的矩阵组合进行处理之后EV转染的HMC1.2肥大细胞的集落生长晕的代表性图片。用化合物A或考比替尼的单药处理导致在去除药物后5天在所有浓度下具有集落生长晕,然而化合物A与考比替尼的组合导致在去除药物处理后5天具有较少的集落生长晕。化合物A(25nM)与考比替尼(25和50nM)的组合导致在去除药物处理5天之后活的HMC1.2细胞的生长晕显著减少。化合物A(50nM)与考比替尼(50nM)的组合出乎意料地导致在去除药物处理5天之后将活的HMC1.2细胞的生长晕完全根除至如通过5X物镜可视化所确定的检测极限,然而用单药化合物A或单药考比替尼处理后未观察到根除。使集落生长晕进一步延长了去除药物处理后另外5天(去除药物后总共10天)仍能维持根除至使用化合物A(50nM)和考比替尼(50nM)的组的集落生长晕的检测极限。

[0235] 图18B是定量在来自图18A的各种处理之后EV转染的HMC1.2肥大细胞的集落生长晕的图示。用50nM的化合物A和50nM的考比替尼进行的组合处理出乎意料地导致将集落生长晕根除至如通过5X物镜可视化所确定的检测极限,然而在用任何一种单药化合物A或考比替尼处理后均未观察到根除(参见箭头,图18B)。

[0236] 图18C是在用考比替尼(0、25或50nM)、化合物A(0、25或50nM)作为单药或作为不同浓度的化合物A和不同浓度的考比替尼的矩阵组合进行处理之后N-ras G12D转染的HMC1.2肥大细胞的集落生长晕的代表性图片。用化合物A或考比替尼的单药处理导致在去除药物处理后5天在所有浓度下具有集落生长晕,然而化合物A与考比替尼的组合导致在去除药物处理后5天具有较少的集落生长晕。化合物A(25nM)与考比替尼(25和50nM)的组合导致在去除药物5天之后活的HMC1.2细胞的生长晕显著减少。化合物A(50nM)与考比替尼(25或50nM)的组合出乎意料地导致在去除药物处理5天之后将活的HMC1.2细胞的生长晕完全根除至如通过5X物镜可视化所确定的检测极限,然而用单药化合物A或单药考比替尼处理后未观察到根除。使集落生长晕进一步延长至去除药物处理后另外10天仍能维持根除至使用化合物A(50nM)和考比替尼(25或50nM)的组的集落生长晕的检测极限。

[0237] 图18D是定量来自图18C的各种处理的集落生长晕的图示。与用任何一种单药处理相比,用化合物A和考比替尼进行的组合处理导致更好地阻断集落生长晕。用50nM的化合物A和25或50nM的考比替尼进行的组合处理出乎意料地导致在去除药物5天之后将集落生长晕根除至如通过5X物镜可视化所确定的检测极限,然而在用任何一种单药化合物A或考比替尼处理后均未观察到根除(参见箭头,图18D)。

[0238] 等同物

[0239] 仅使用常规实验,本领域技术人员将认识到或能够确定本公开中具体描述的具体

实施方案的许多等同物。此类等同物旨在被涵盖在以下权利要求书的范围内。

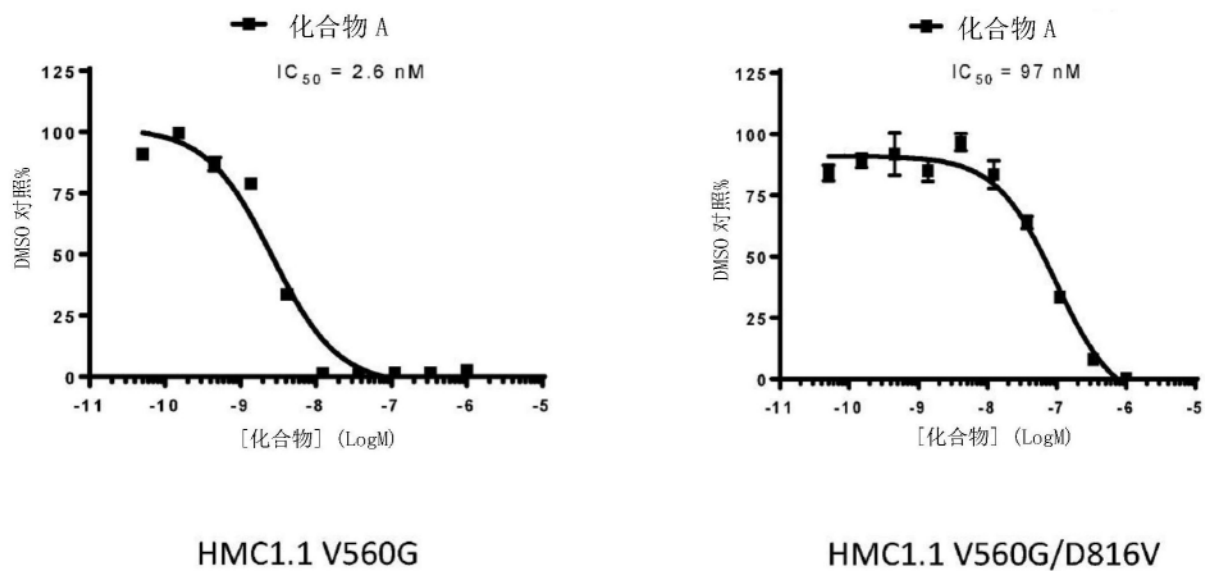


图1A

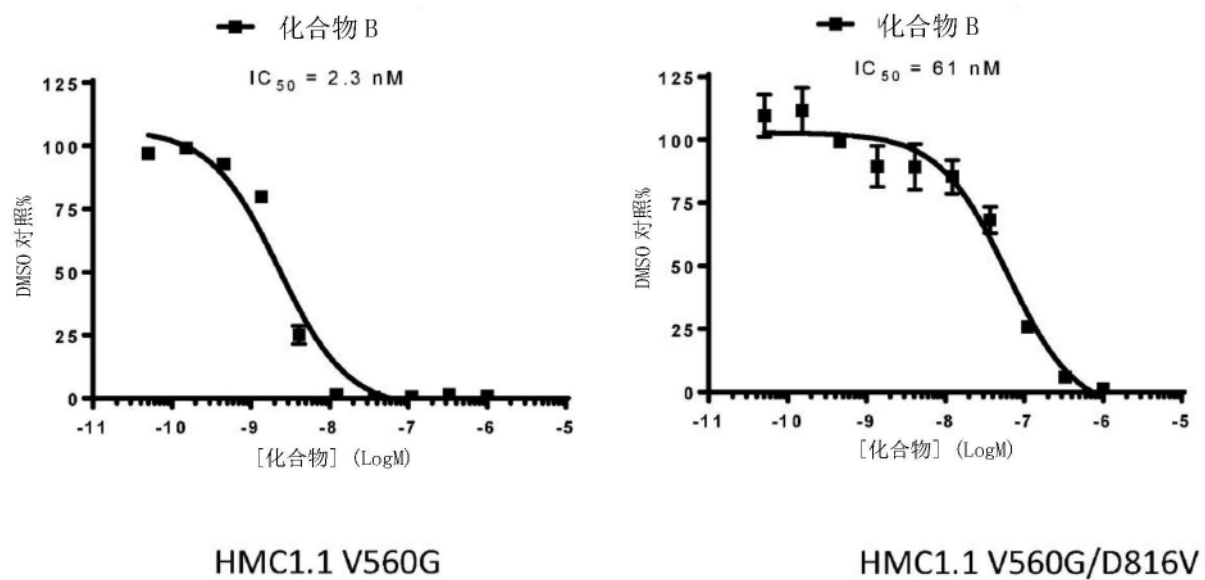
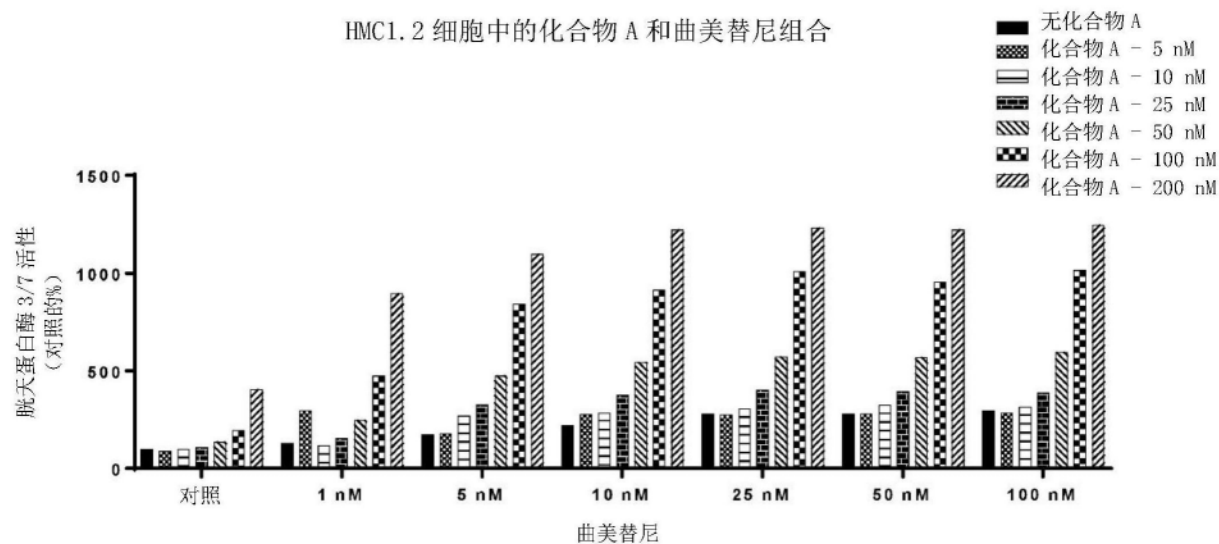


图1B



组合索引	化合物 A 5 nM	化合物 A 10 nM	化合物 A 25 nM	化合物 A 50 nM	化合物 A 100 nM	化合物 A 200 nM
曲美替尼 1 nM	0.03993	2.64367	6.01481	0.44649	0.11076	0.01411
曲美替尼 5 nM	1.25589	0.19588	0.13256	0.05909	0.0101	0.00315
曲美替尼 10 nM	0.24985	0.23826	0.09809	0.03722	0.0063	9.34E-04
曲美替尼 25 nM	0.63422	0.36434	0.10901	0.03338	0.0032	8.28E-04
曲美替尼 50 nM	1.10038	0.48744	0.18814	0.03977	0.00477	9.35E-04
曲美替尼 100 nM	1.87791	1.06924	0.35501	0.04047	0.00308	6.93E-04

图2B

组合索引图

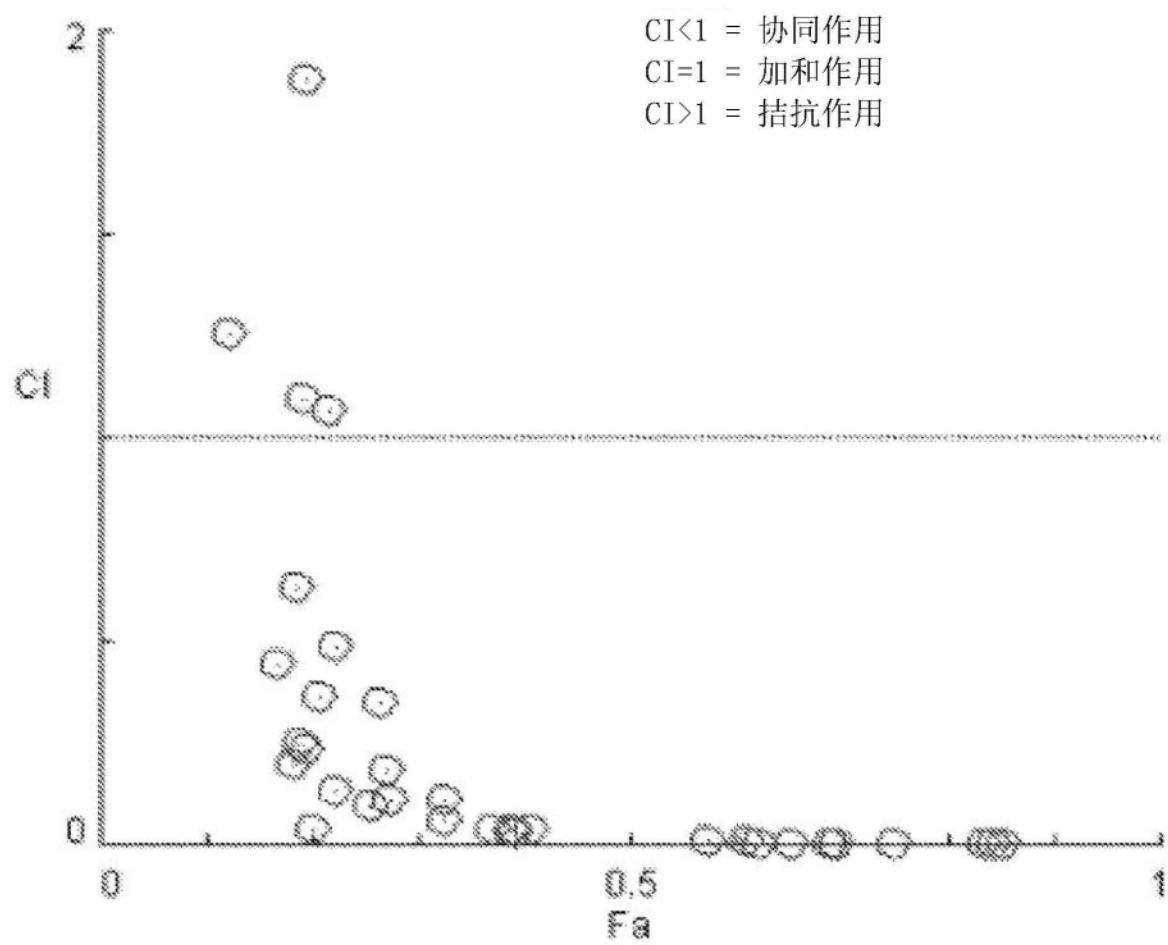


图2C

HMC1.2 细胞中的化合物 B 和曲美替尼组合

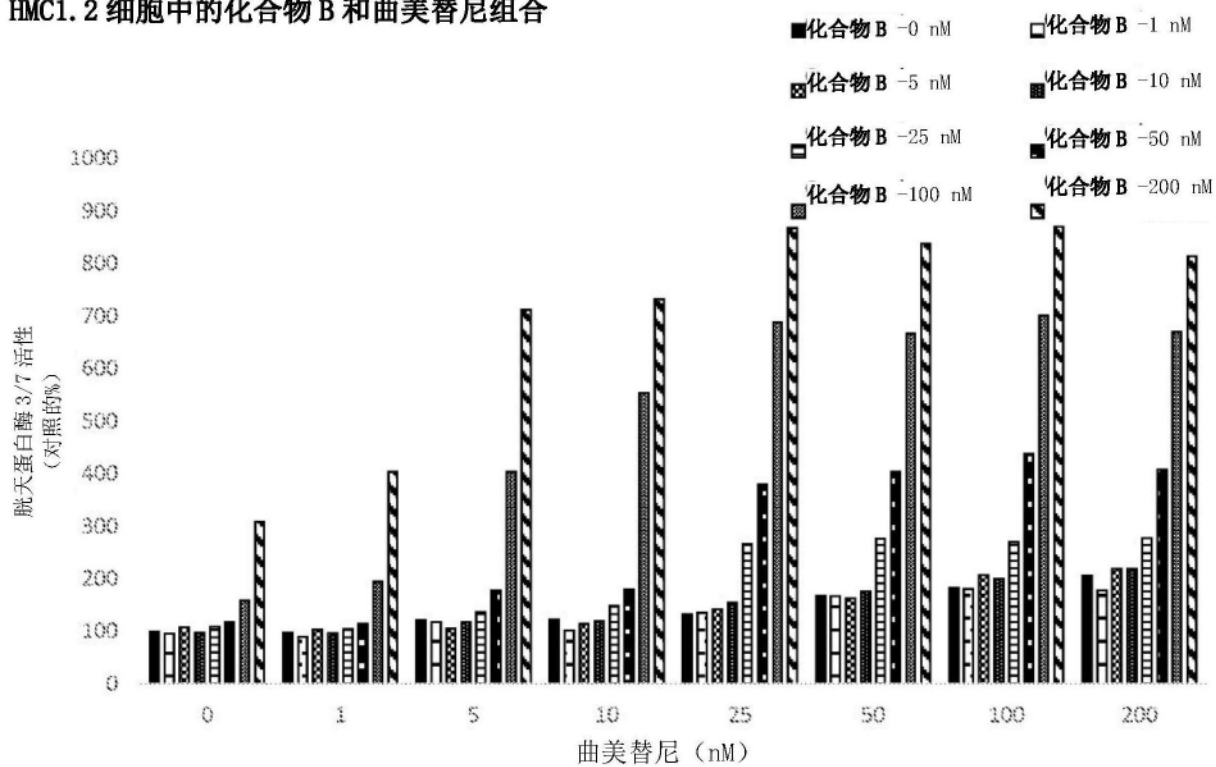


图3A

CI	化合物 B 1nM	化合物 B 5 nM	化合物 B 10 nM	化合物 B 25 nM	化合物 B 50 nM	化合物 B 100 nM	化合物 B 200 nM
曲美替尼 1 nM	1.68069	1.40334	3.41889	5.07162	5.64363	0.57337	0.00964
曲美替尼 5 nM	1.05523	2.96535	1.86572	1.4174	0.53113	0.00478	2.29E-05
曲美替尼 10 nM	5.38596	3.16063	2.68309	1.06576	0.56445	2.84E-04	1.44E-05
曲美替尼 25 nM	1.94547	1.57549	0.96476	0.03258	0.00435	1.97E-05	2.51E-07
曲美替尼 50 nM	0.85054	1.07585	0.6726	0.0344	0.00289	3.12E-05	7.64E-07
曲美替尼 100 nM	0.97626	0.35944	0.48969	0.06284	0.00169	1.52E-05	2.14E-07
曲美替尼 200 nM	2.11003	0.45464	0.48568	0.08116	0.00419	3.14E-05	1.63E-06

图3B

组合索引图

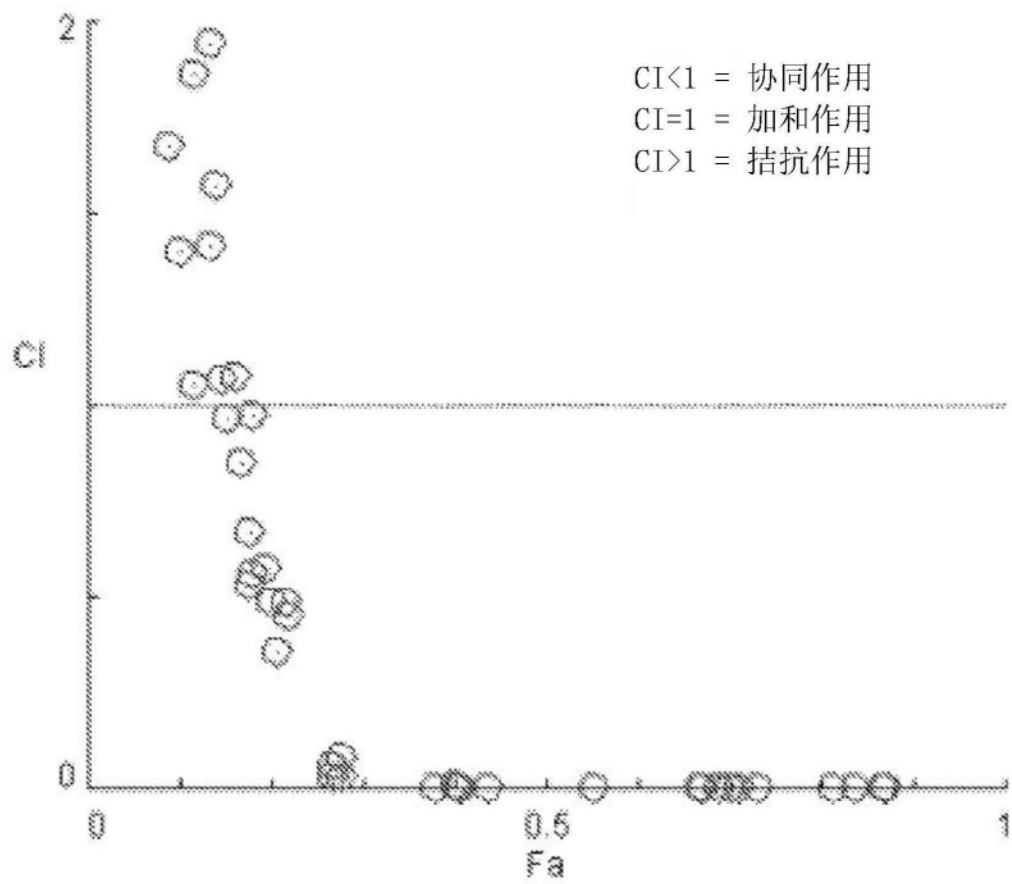


图3C

HMC1.2 细胞中的化合物 A 和比美替尼组合

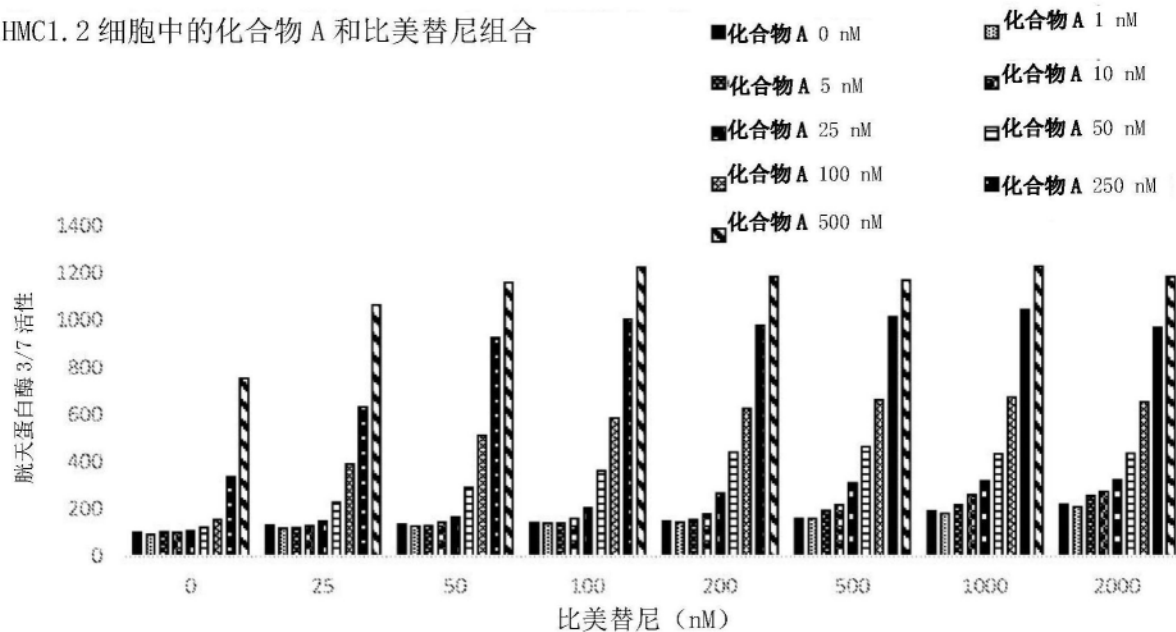


图4A

CI	化合物 A 0 nM	化合物 A 5 nM	化合物 A 10 nM	化合物 A 25 nM	化合物 A 50 nM	化合物 A 100 nM	化合物 A 250 nM	化合物 A 500 nM
比美替尼 25 nM	1.57049	1.6855	1.51394	1.54333	0.74303	0.23806	0.07988	0.00293
比美替尼 50 nM	1.78444	1.57824	1.10552	1.1015	0.33617	0.08494	0.00687	5.98E-04
比美替尼 100 nM	1.40574	1.90927	0.81771	0.53885	0.15853	0.04623	0.00308	1.07E-04
比美替尼 250 nM	2.92199	1.67399	0.69022	0.233	0.0771	0.03398	0.00408	1.07E-04
比美替尼 500 nM	2.19283	0.50712	0.29592	0.13935	0.06226	0.02526	0.00273	5.07E-04
比美替尼 1000 nM	1.38598	0.3404	0.14626	0.12693	0.08277	0.02281	0.00192	9.26E-05
比美替尼 2000 nM	0.73725	0.15871	0.13631	0.12471	0.08017	0.02714	0.00442	3.54E-04

图4B

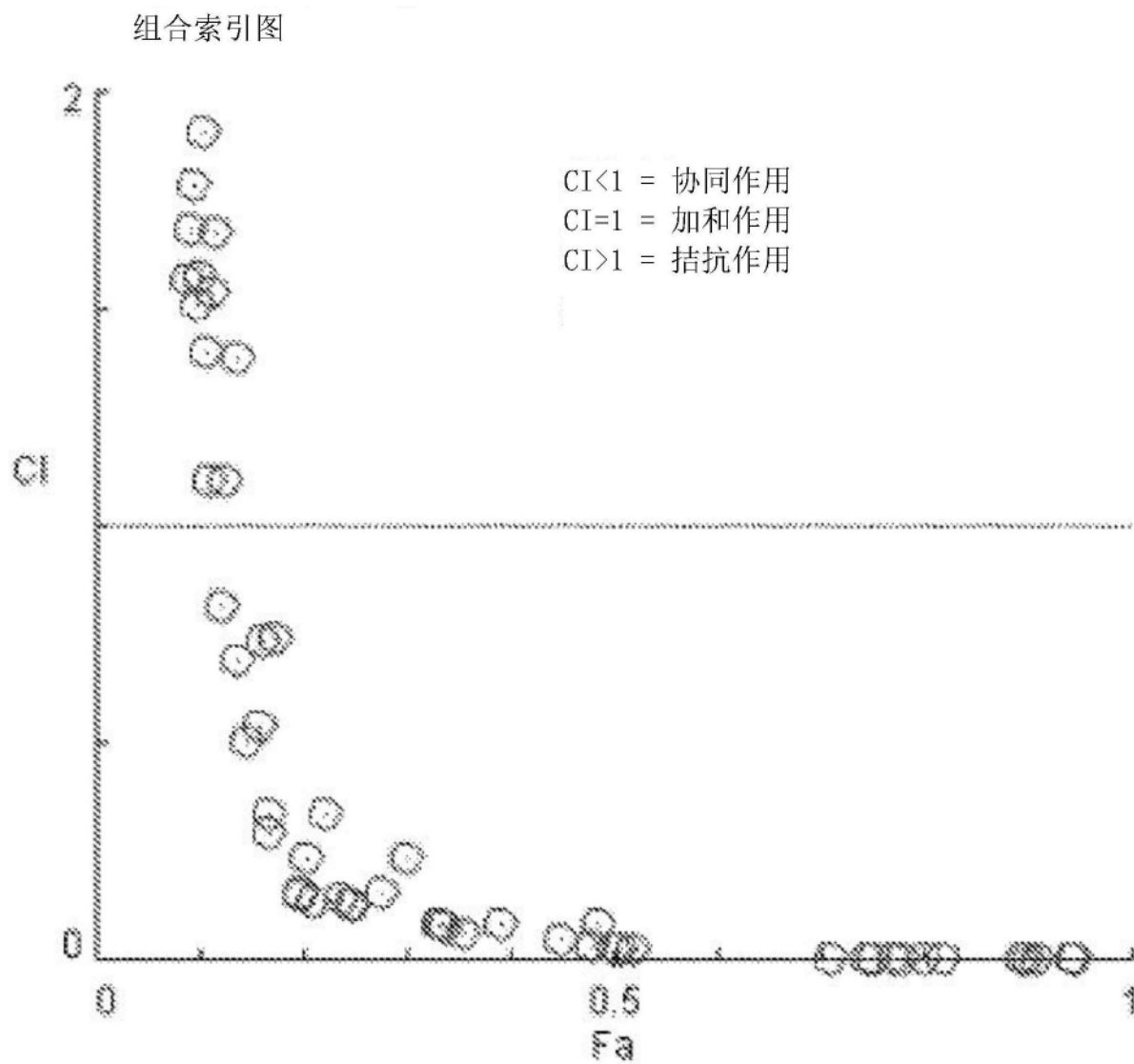


图4C

HMC1.2 细胞中的化合物 B 和比美替尼组合

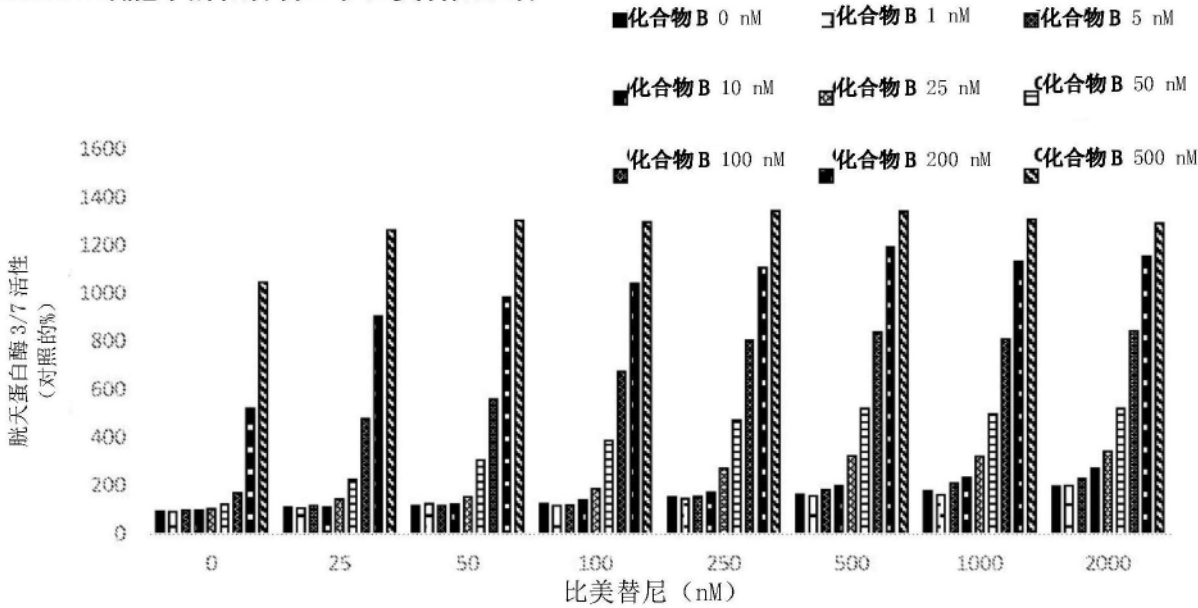


图5A

CI	化合物 B 1nM	化合物 B 5 nM	化合物 B 10 nM	化合物 B 25 nM	化合物 B 50 nM	化合物 B 100 nM	化合物 B 200 nM	化合物 B 500 nM
比美替尼 25 nM	1.16697	1.12369	1.92347	1.87175	1.33032	0.40022	0.08512	0.00433
比美替尼 50 nM	0.80429	1.59151	1.83453	1.76275	0.64013	0.24461	0.04974	0.00128
比美替尼 100 nM	2.04491	2.46078	1.33485	1.04913	0.35742	0.12945	0.03332	0.00166
比美替尼 250 nM	1.19498	1.06822	0.83211	0.43195	0.20689	0.06245	0.01894	3.14E-05
比美替尼 500 nM	1.32017	0.62726	0.56972	0.28981	0.15592	0.0513	0.00726	5.92E-05
比美替尼 1000 nM	2.02996	0.4532	0.37085	0.30154	0.17875	0.06054	0.01473	0.00107
比美替尼 2000 nM	0.8794	0.43685	0.25074	0.25665	0.1561	0.04969	0.0117	0.00191

图5B

组合索引图

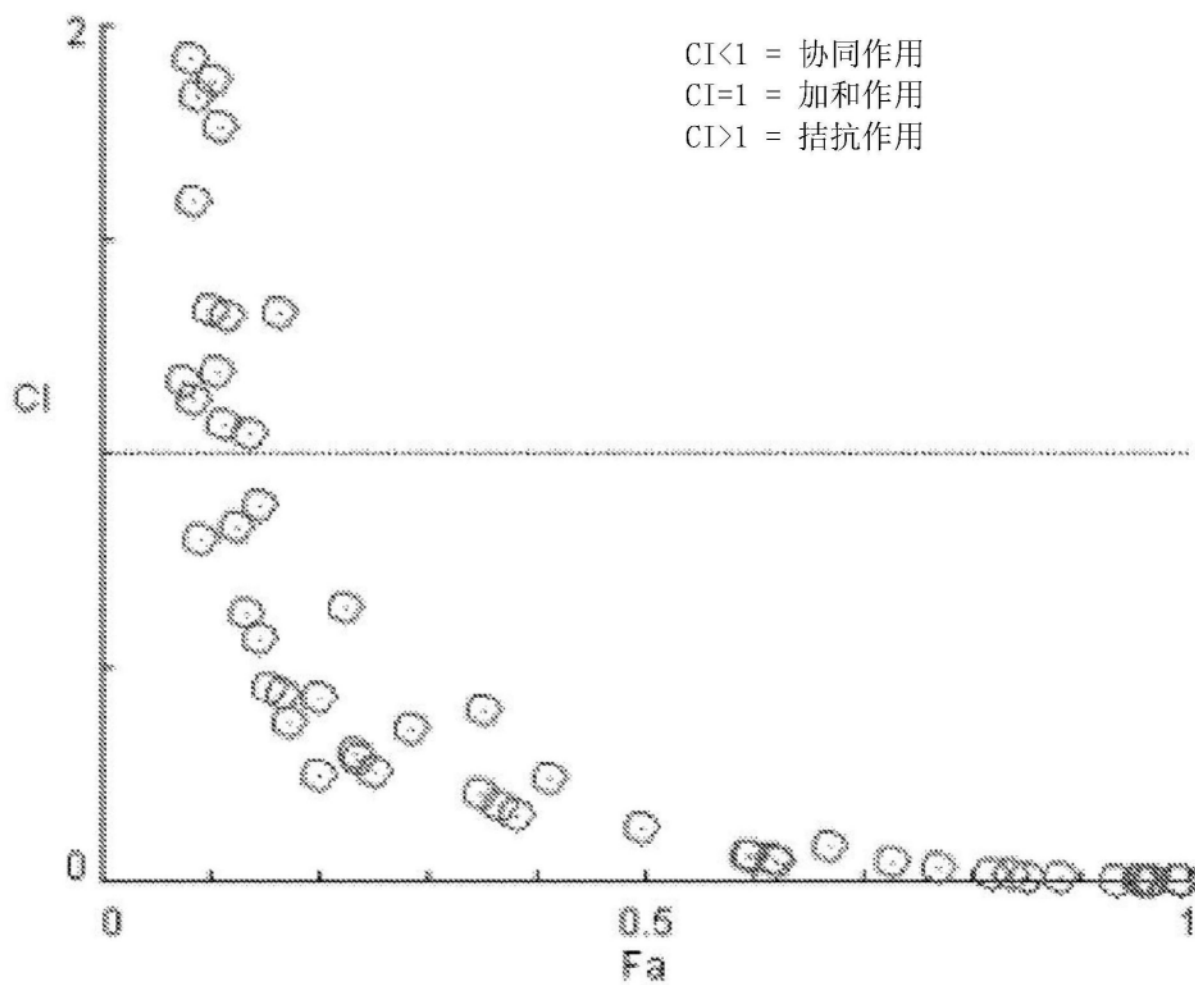


图5C

HMC1.2 细胞中的化合物 A 和考比替尼组合

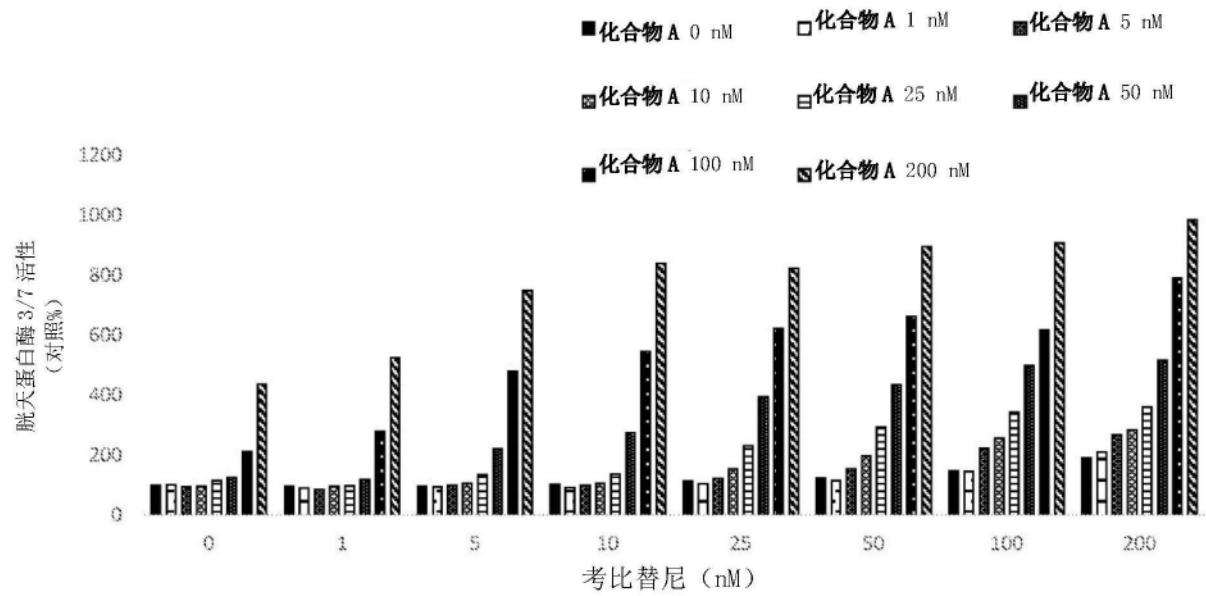


图6A

CI	化合物 A 1nM	化合物 A 5 nM	化合物 A 10 nM	化合物 A 25 nM	化合物 A 50 nM	化合物 A 100 nM	化合物 A 200 nM
考比替尼 1 nM	0.72367	2.58457	2.84597	6.37493	5.86712	0.38735	0.02608
考比替尼 5 nM	2.03327	2.22709	2.49475	1.92929	0.5199	0.02364	0.00107
考比替尼 10 nM	4.07508	3.47138	3.05888	1.91627	0.20704	0.00993	1.78E-04
考比替尼 25 nM	4.08228	1.74076	0.60978	0.22536	0.03575	0.0036	2.63E-04
考比替尼 50 nM	3.97974	0.59607	0.21652	0.07886	0.02071	0.00202	3.67E-05
考比替尼 100 nM	1.21021	0.08536	0.0658	0.03731	0.00925	0.00381	2.38E-05
考比替尼 200 nM	0.11777	0.03679	0.04185	0.02953	0.00733	2.49E-04	4.83E-08

图6B

组合索引图

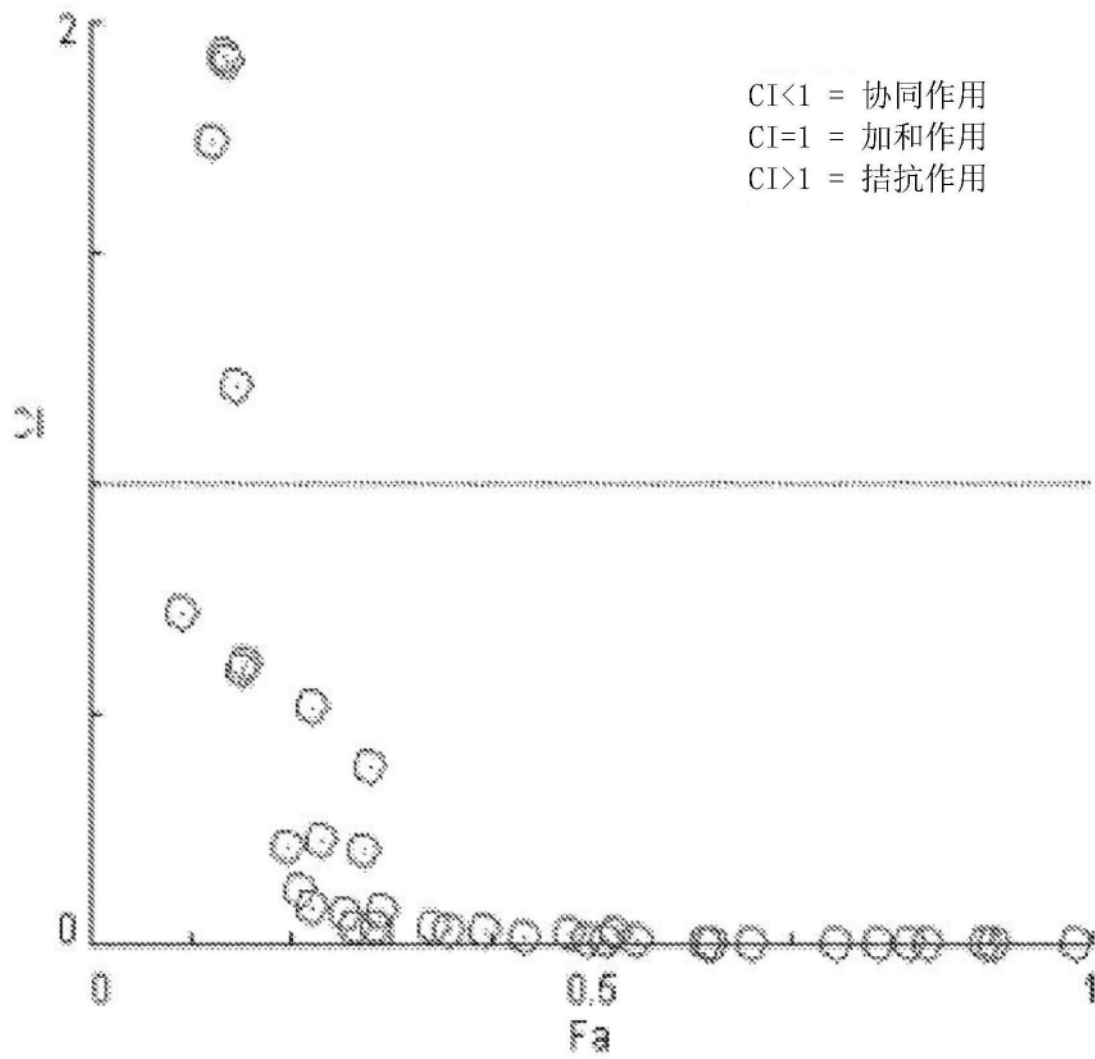


图6C

HMC1.2 细胞中的化合物 B 和考比替尼组合

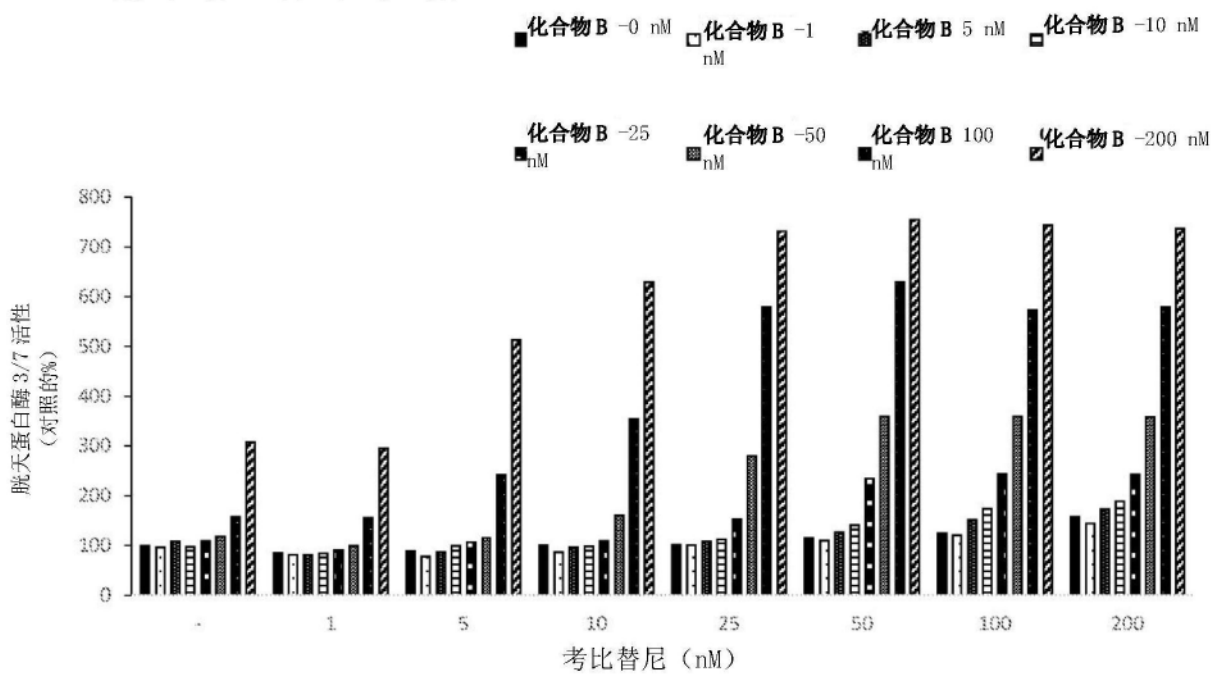


图7A

CI	化合物 B 1nM	化合物 B 5 nM	化合物 B 10 nM	化合物 B 25 nM	化合物 B 50 nM	化合物 B 100 nM	化合物 B 200 nM
考比替尼 1 nM	1.39961	3.77808	5.66631	9.38659	11.3003	2.06695	0.08926
考比替尼 5 nM	5.34532	4.24727	2.63326	4.01626	5.27338	0.1571	0.00124
考比替尼 10 nM	4.35207	2.99291	3.57716	3.86343	0.87975	0.01274	1.33E-04
考比替尼 25 nM	2.75567	1.98415	2.09289	0.60486	0.03221	1.80E-04	1.49E-05
考比替尼 50 nM	2.28329	0.93831	0.593	0.04964	0.00576	6.67E-05	8.50E-06
考比替尼 100 nM	1.88398	0.34755	0.17375	0.03918	0.00578	1.98E-04	1.09E-05
考比替尼 200 nM	0.79643	0.18837	0.12431	0.04216	0.00592	1.77E-04	1.29E-05

图7B

组合索引图

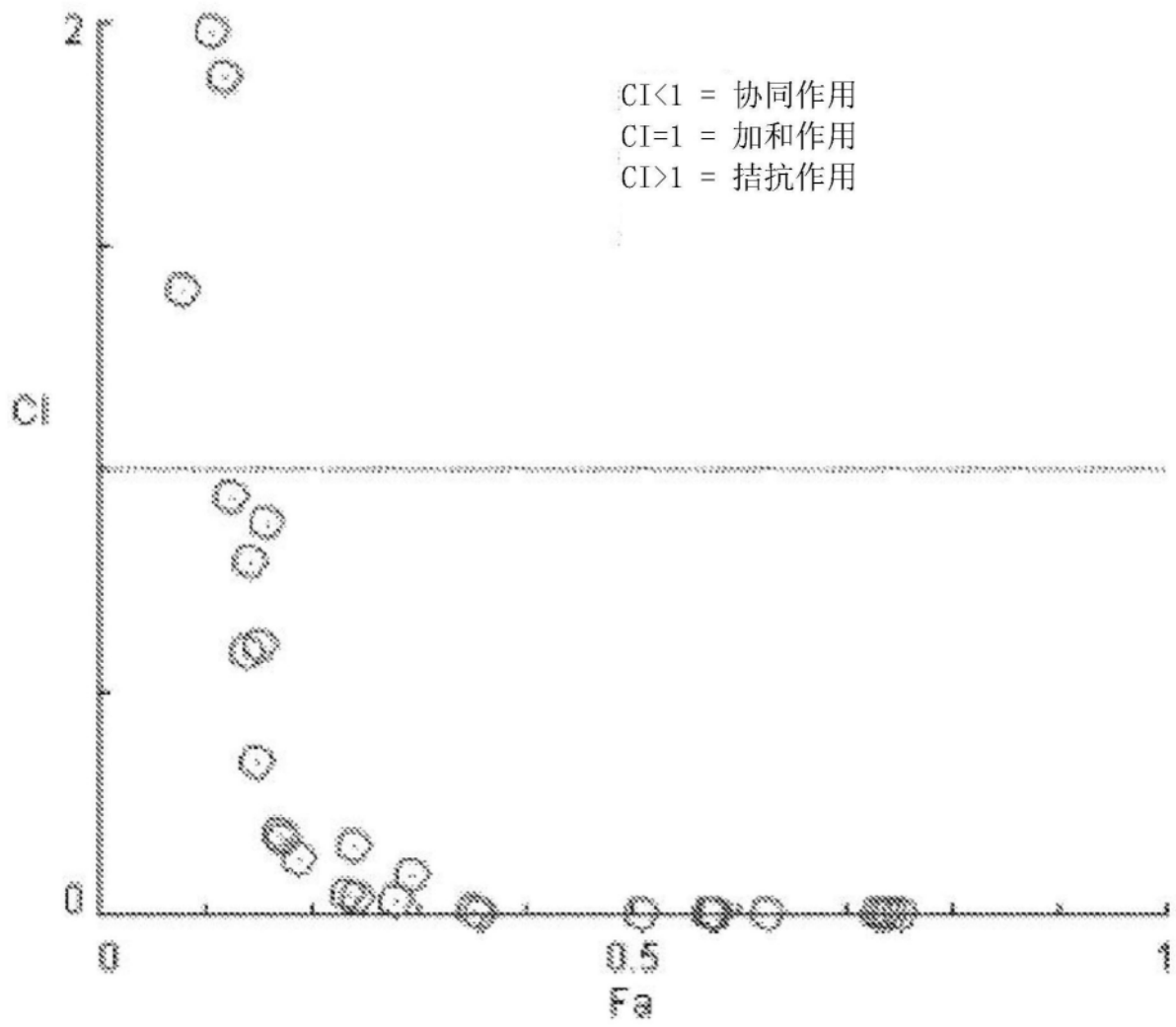


图7C

HMC1.2 细胞中的化合物 A 和优立替尼组合

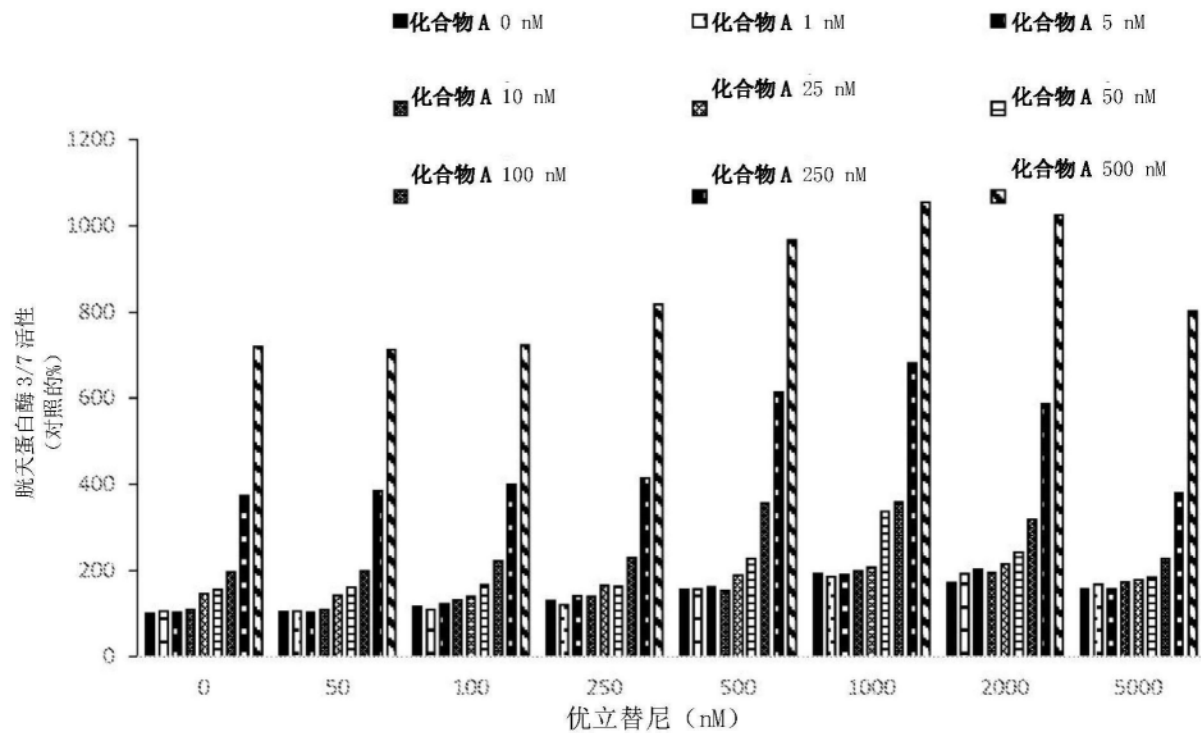


图8A

CI	化合物 A 1nM	化合物 A 5 nM	化合物 A 10 nM	化合物 A 25 nM	化合物 A 50 nM	化合物 A 100 nM	化合物 A 250 nM	化合物 A 500 nM
优立替尼 50 nM	1.60258	2.92097	2.92056	2.33011	3.16429	3.40419	0.95172	0.0969
优立替尼 100 nM	2.34725	1.48965	1.55963	2.64283	2.89453	2.47874	0.83763	0.0861
优立替尼 250 nM	2.52682	1.04818	1.63023	1.59316	3.17247	2.16888	0.71586	0.03154
优立替尼 500 nM	0.5764	0.68476	1.29507	1.07784	1.14575	0.51154	0.12022	0.00349
优立替尼 1000 nM	0.25087	0.36296	0.45054	0.83564	0.31409	0.5004	0.065	2.04E-04
优立替尼 2000 nM	0.34059	0.33951	0.63595	0.77262	0.96933	0.75802	0.15375	7.35E-04
优立替尼 5000 nM	2.6495	5.10326	2.44488	2.61636	3.22495	2.41533	1.00502	0.03806

图8B

组合索引图

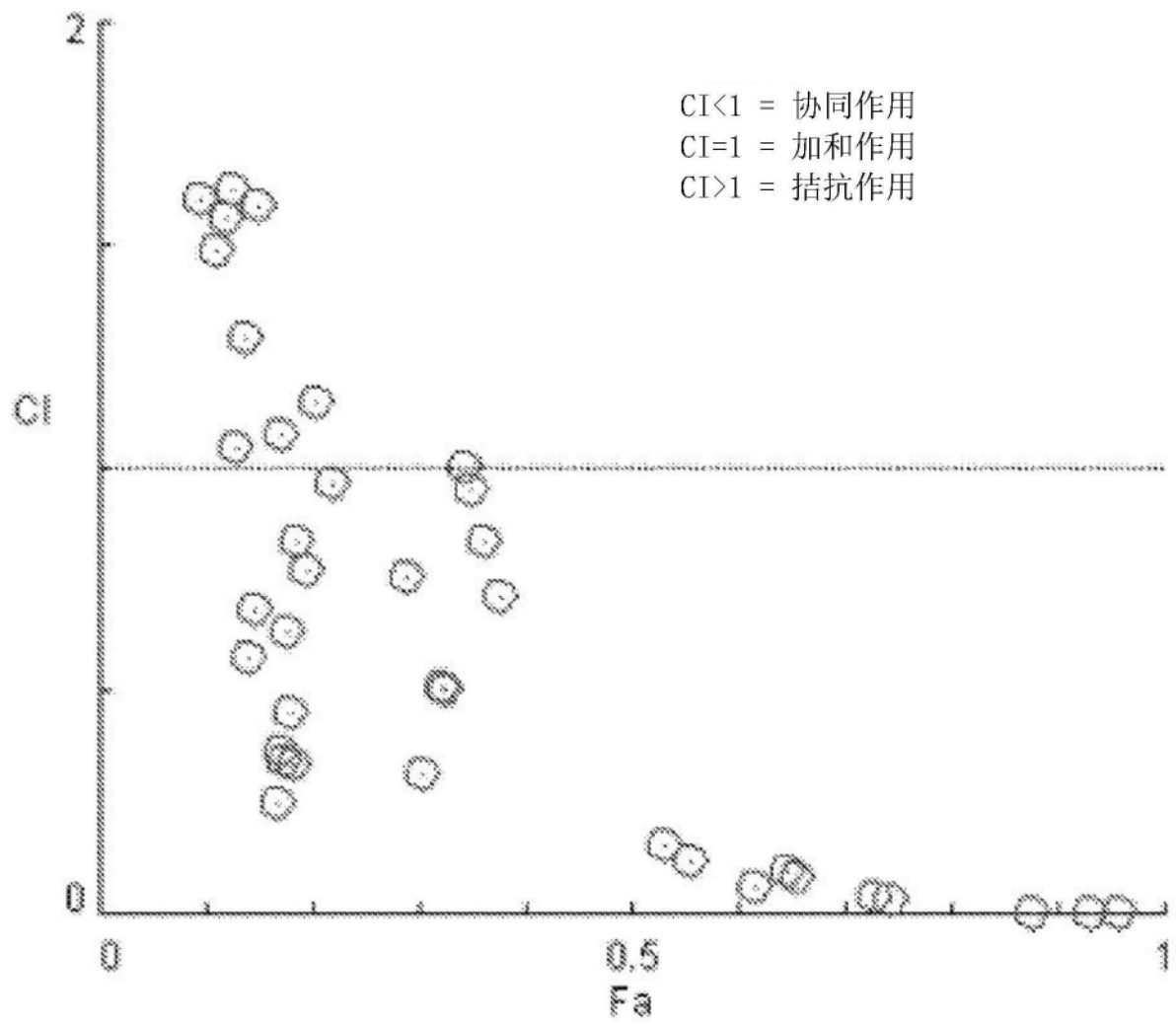


图8C

HMC1.2 细胞

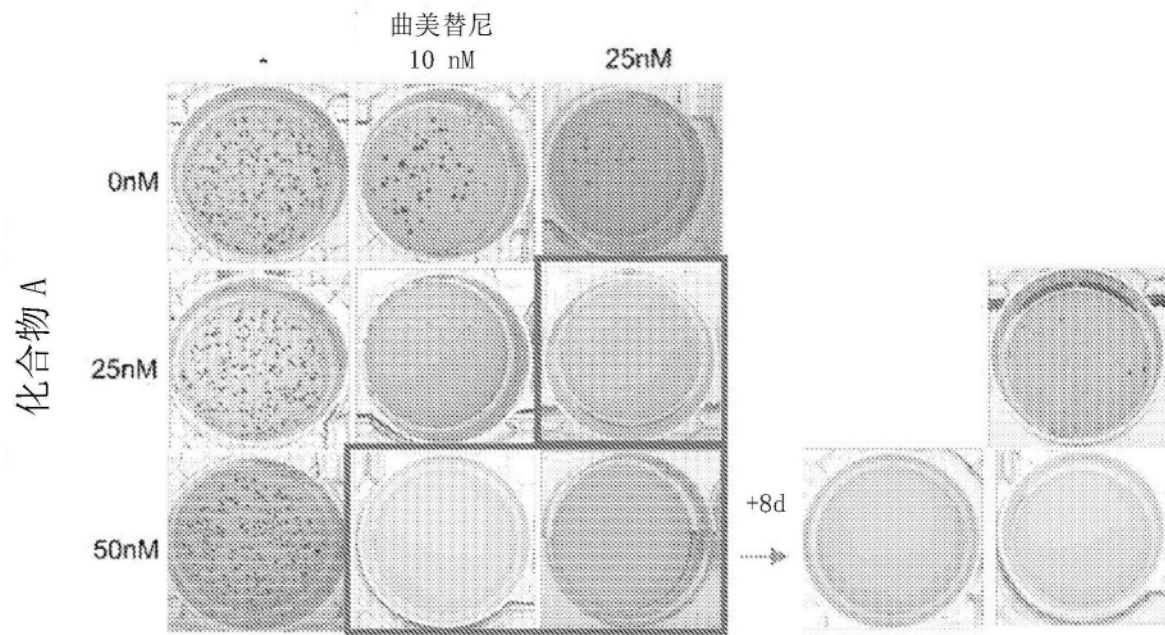


图9A

HMC1.2 细胞中的化合物 A 和曲美替尼

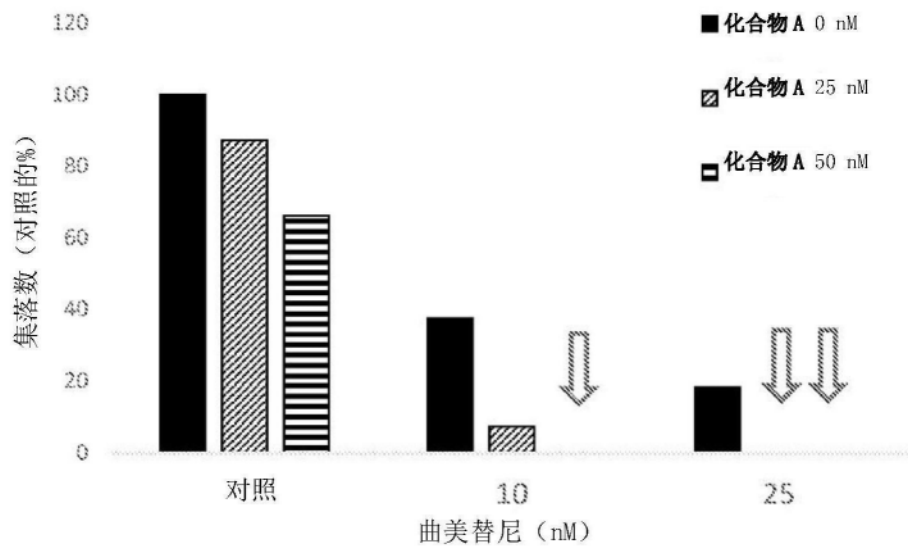


图9B

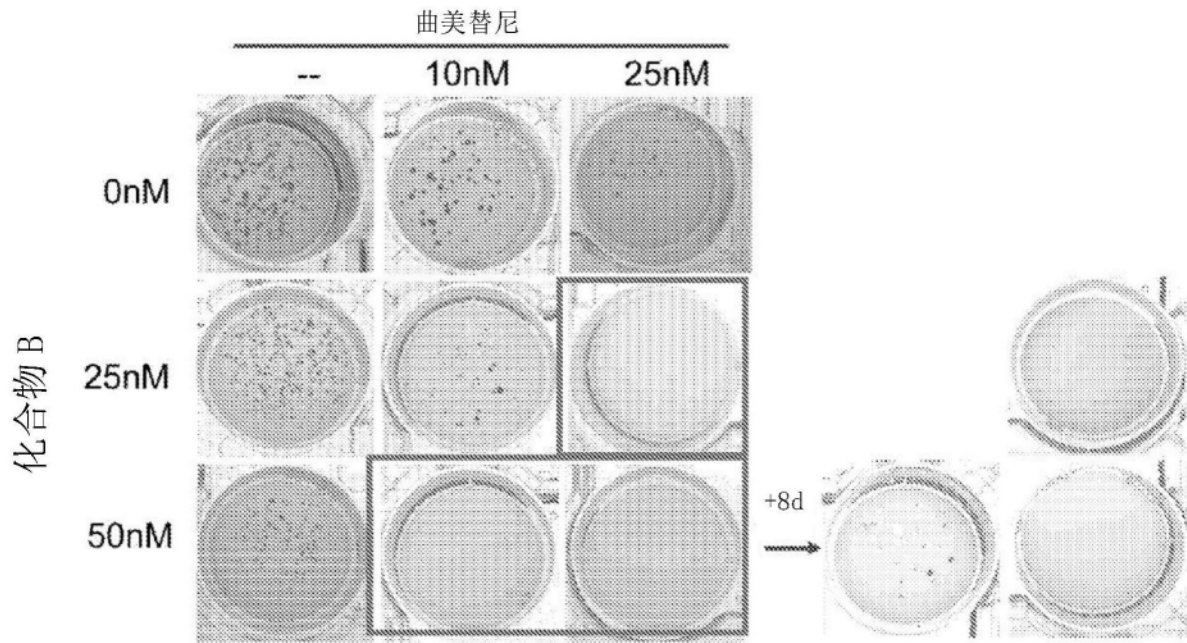


图10A

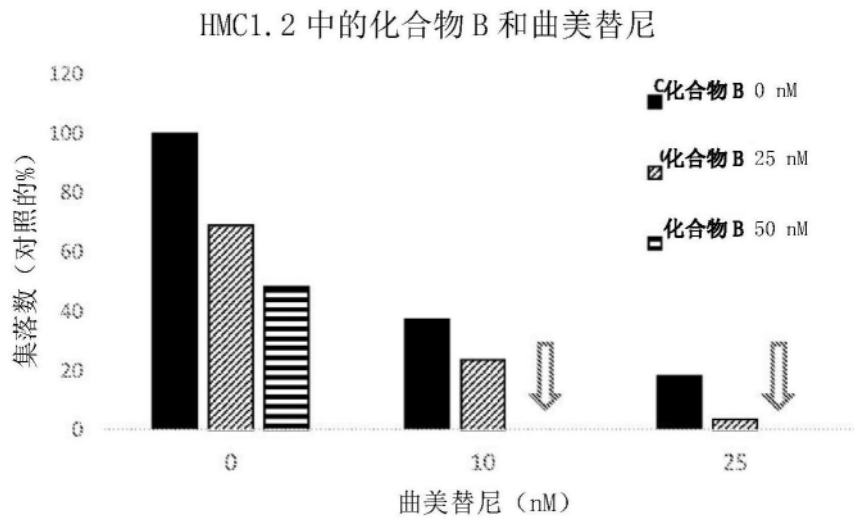


图10B

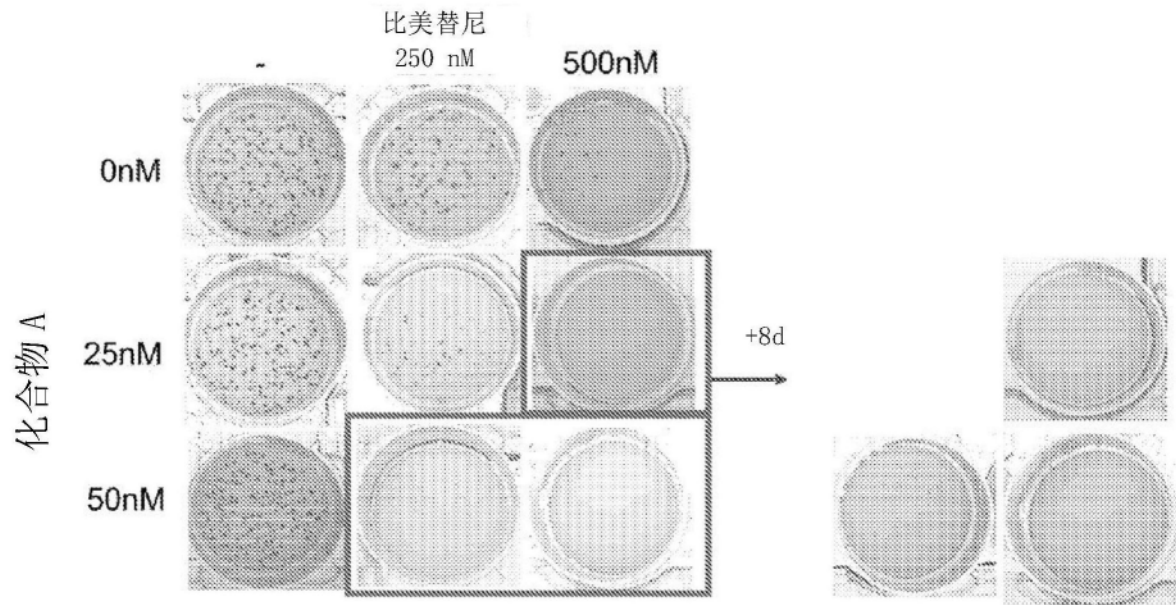


图11A

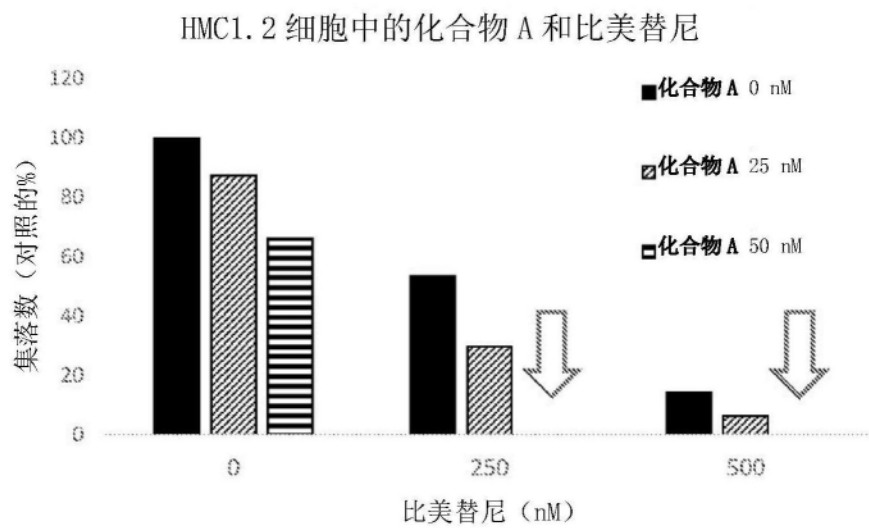


图11B

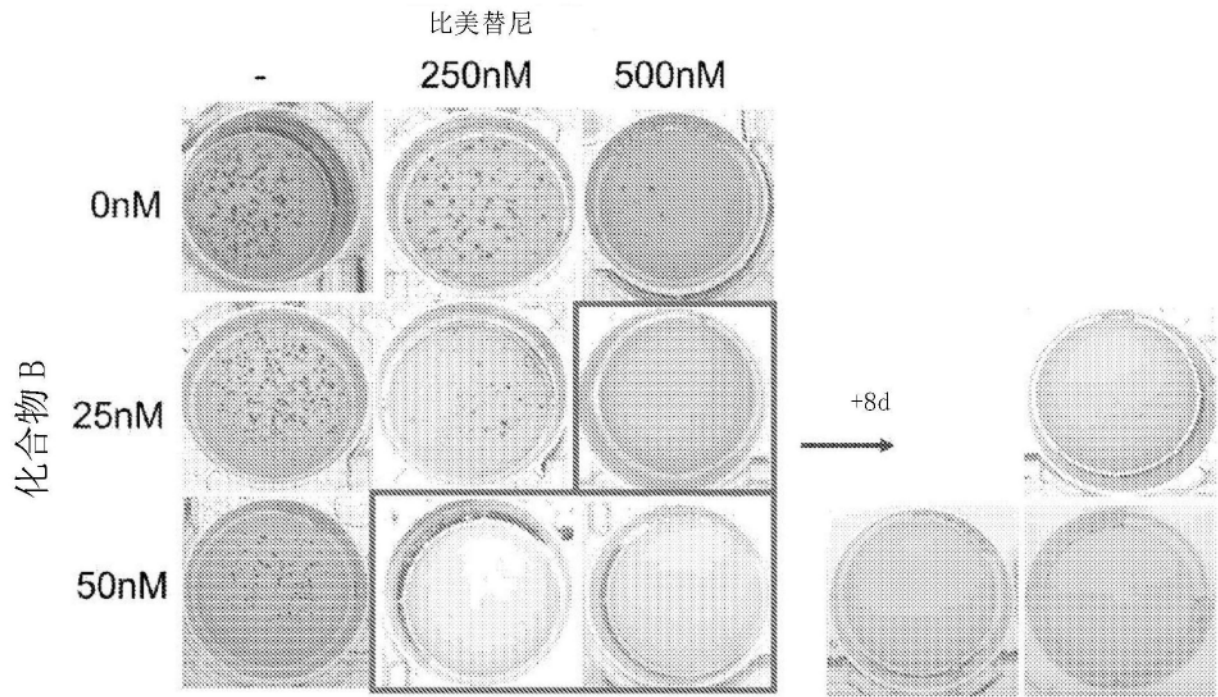


图12A

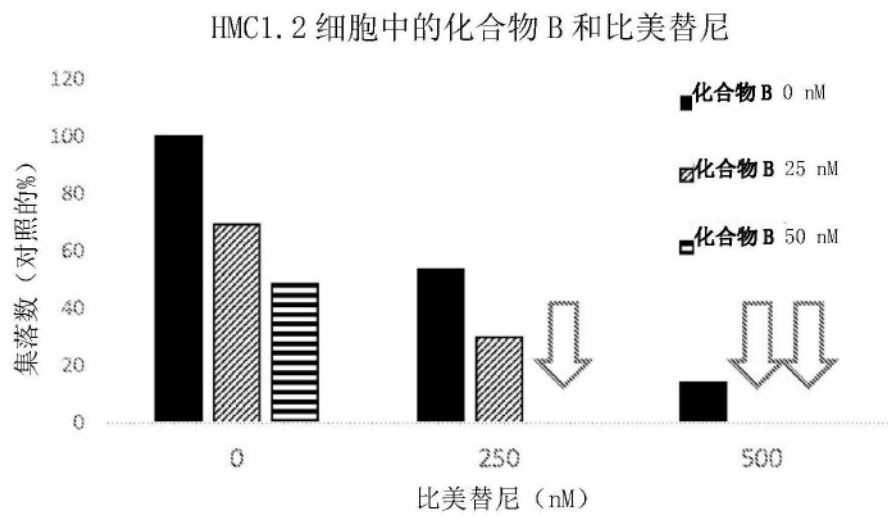


图12B

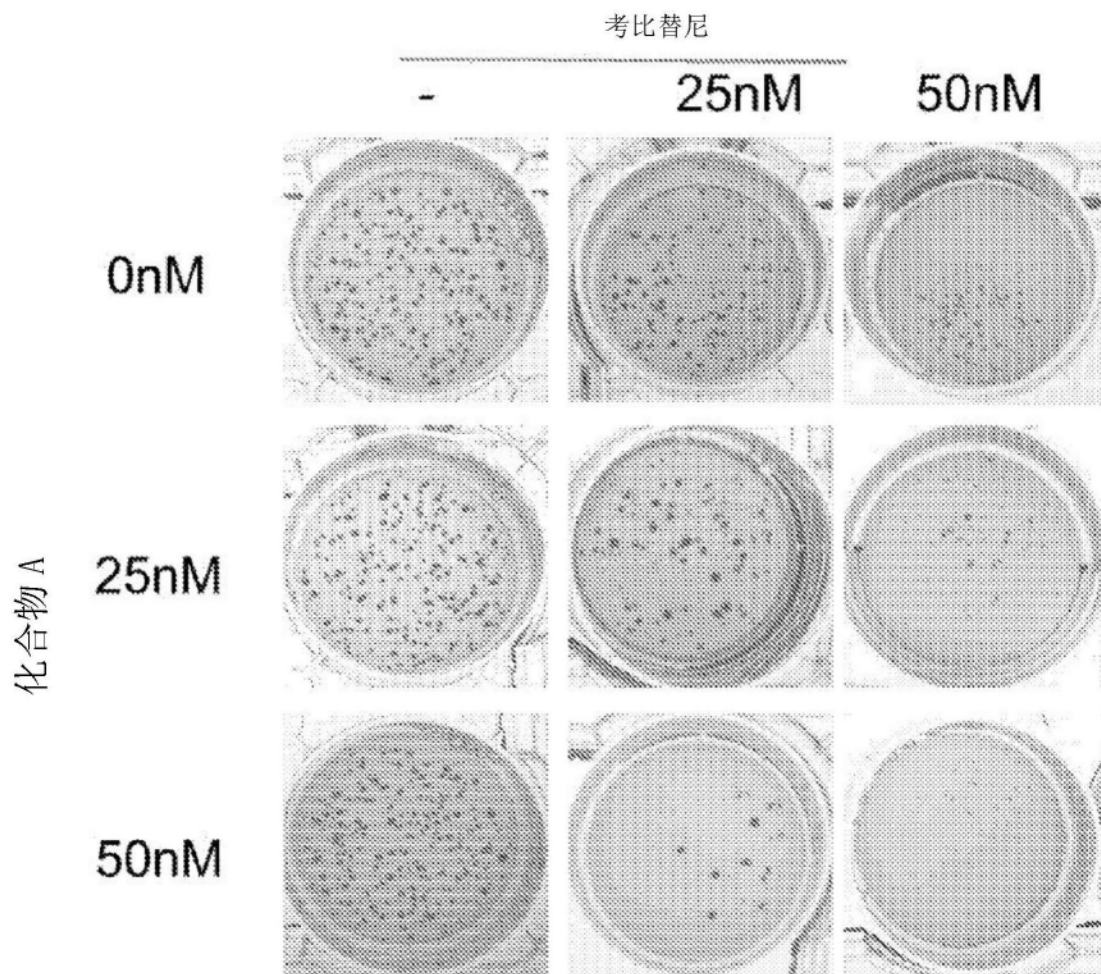


图13A

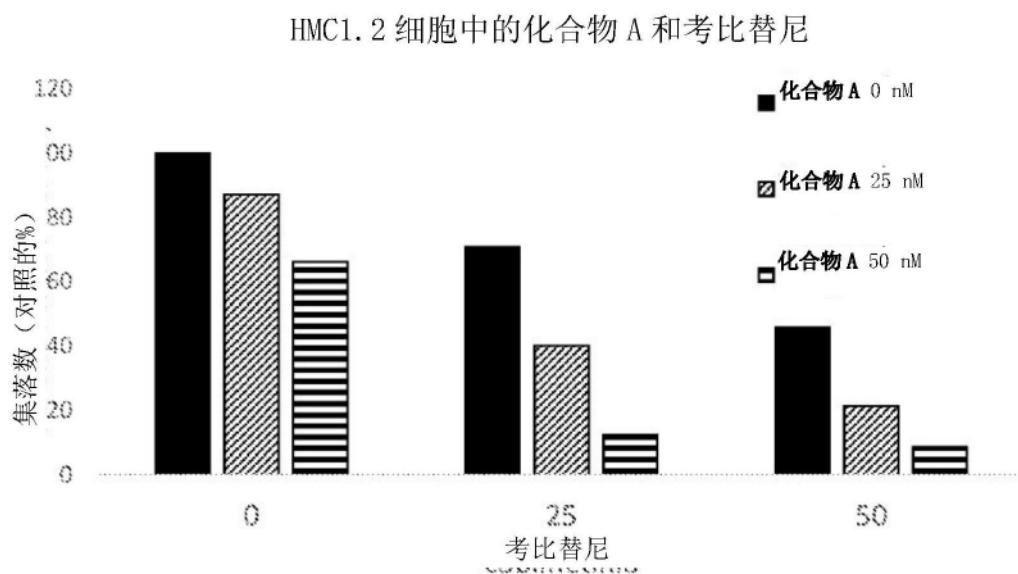


图13B

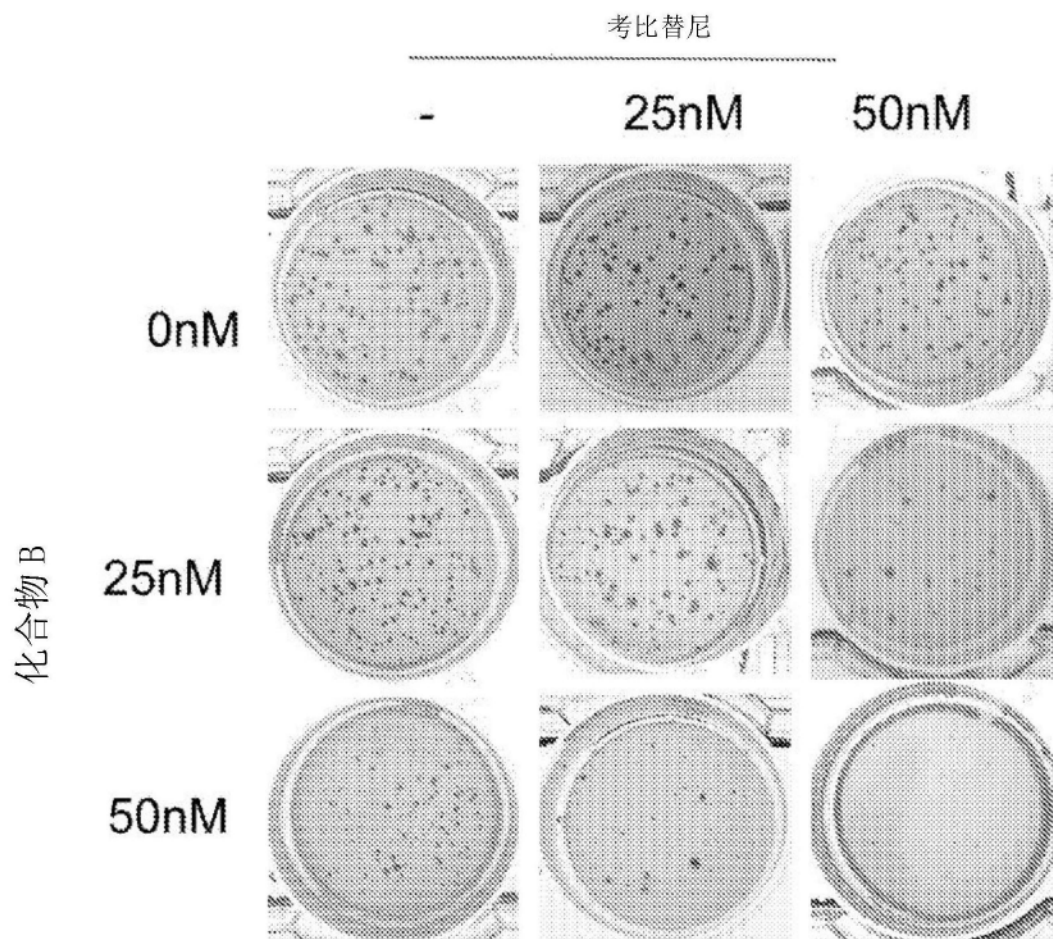


图14A

HMC1.2 细胞中的化合物 B 和考比替尼

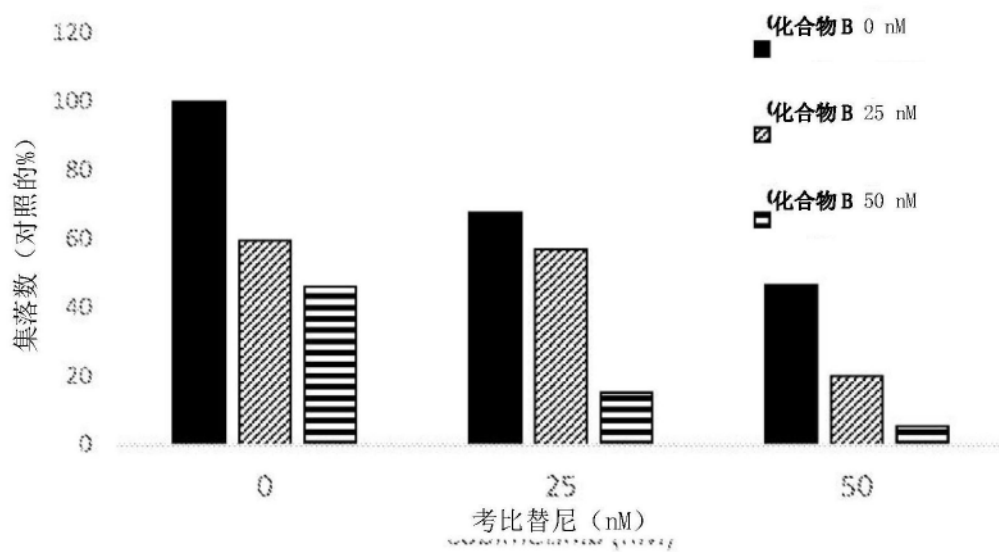


图14B

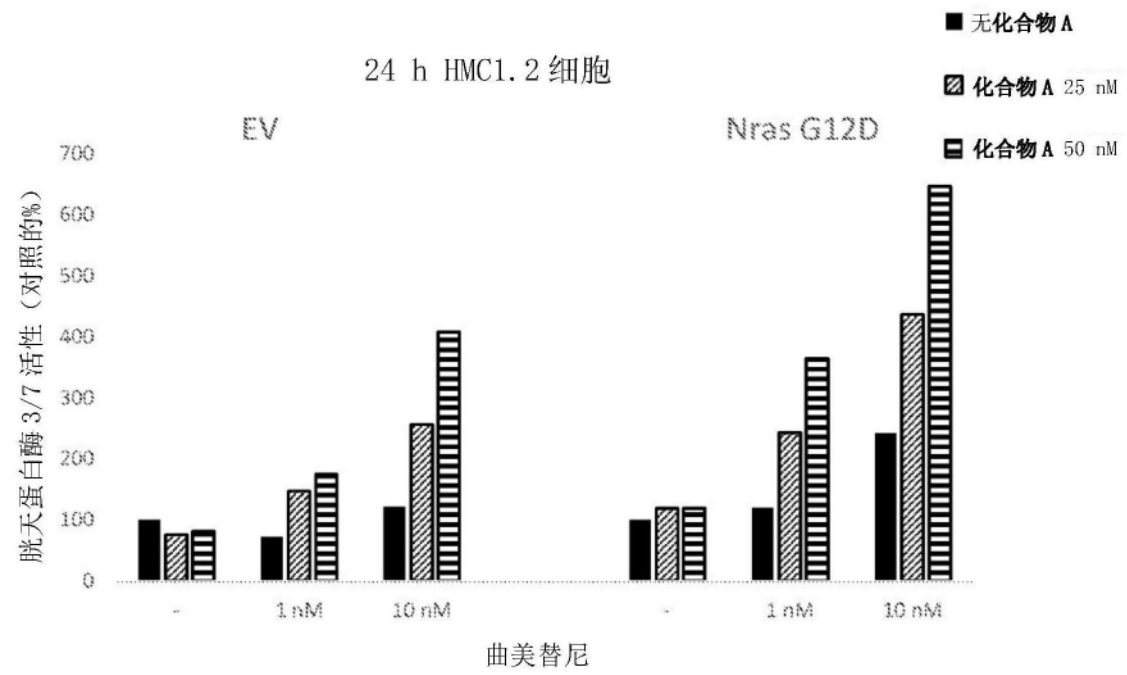


图15A

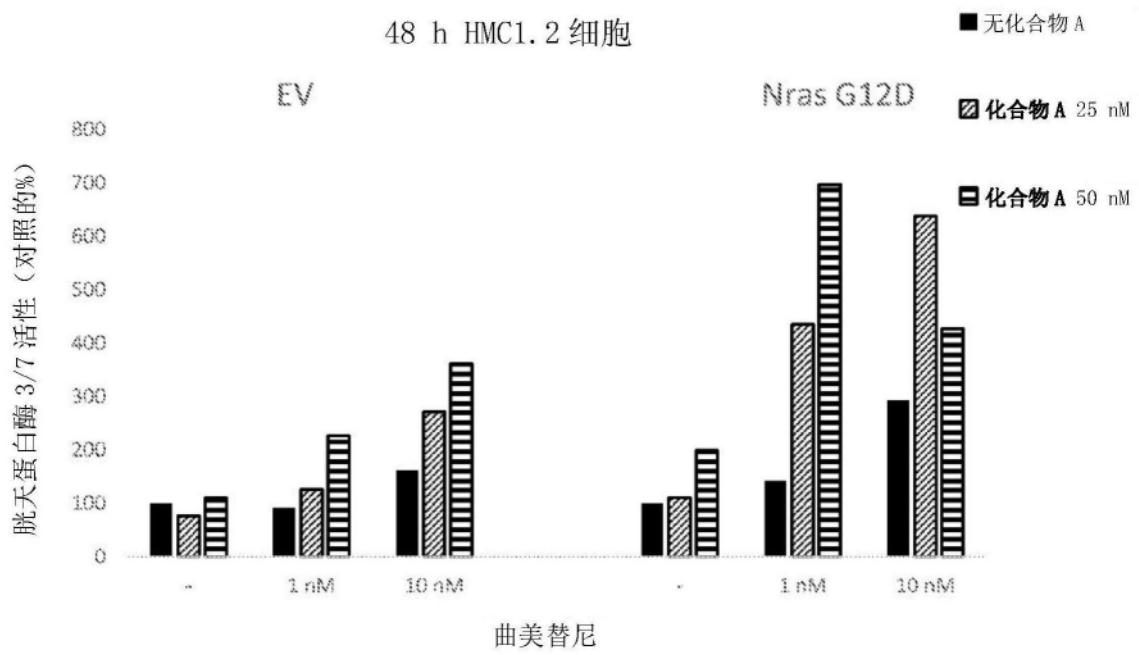


图15B

HMC1.2 细胞中的化合物 A 和考比替尼 - 24 h

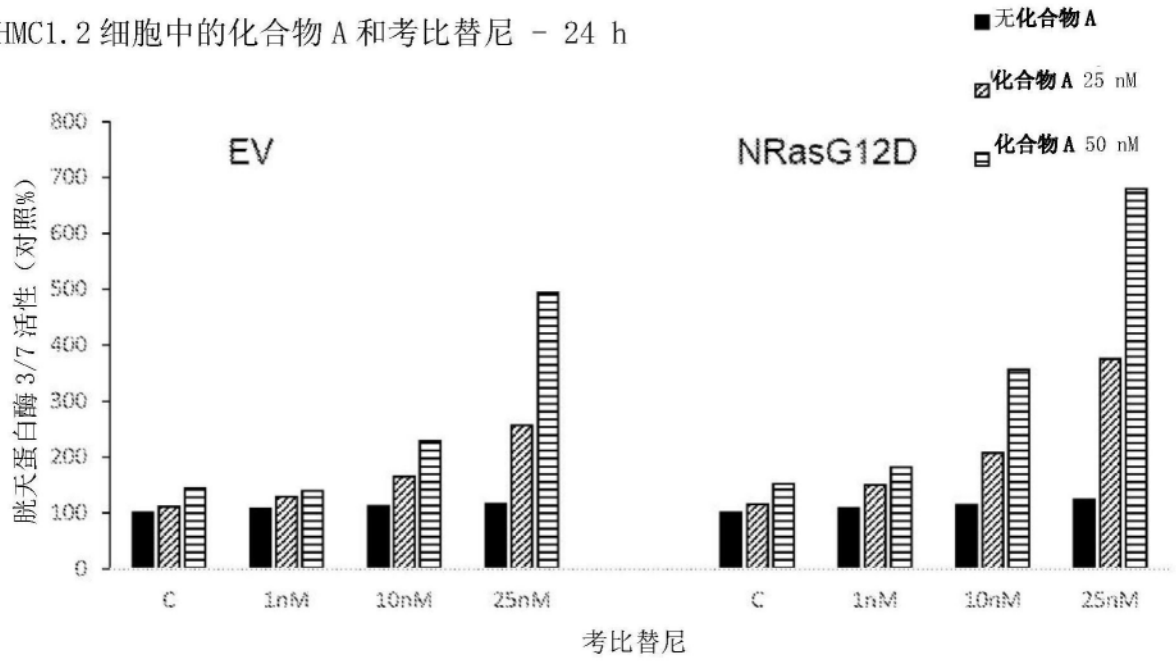


图16A

HMC1.2 细胞中的化合物 A 和考比替尼 - 48 h

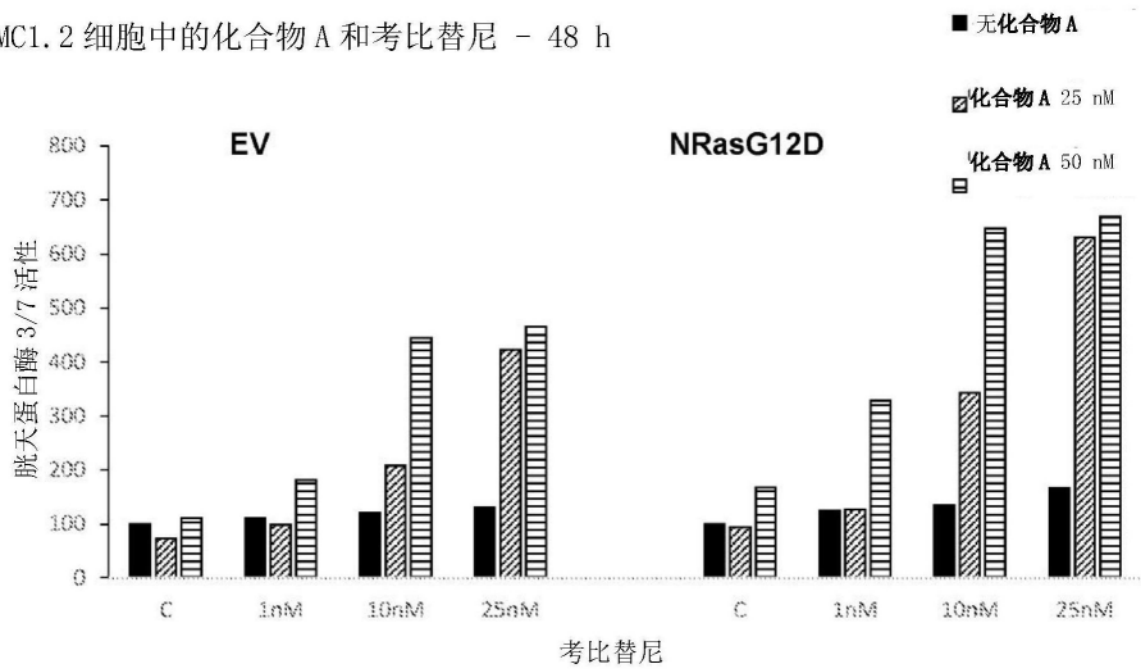


图16B

HMC1.2-EV 细胞

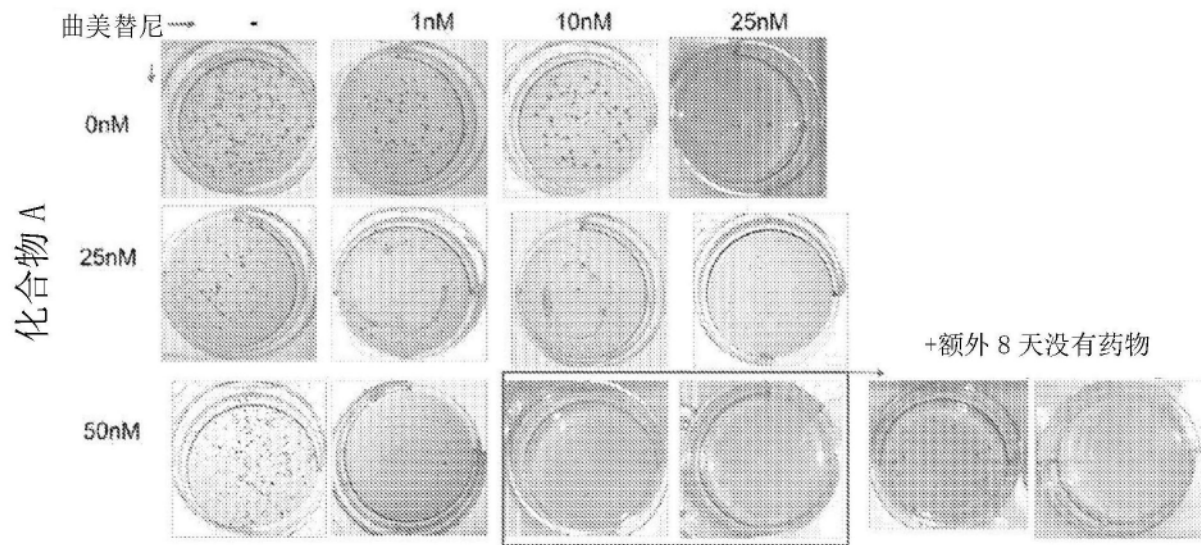


图17A

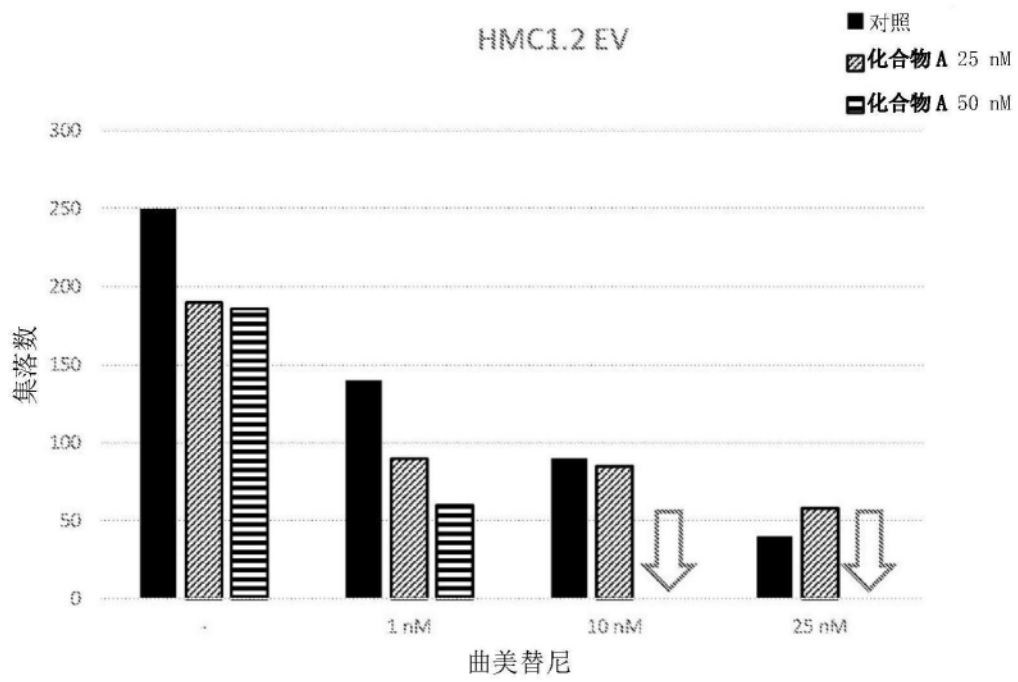


图17B

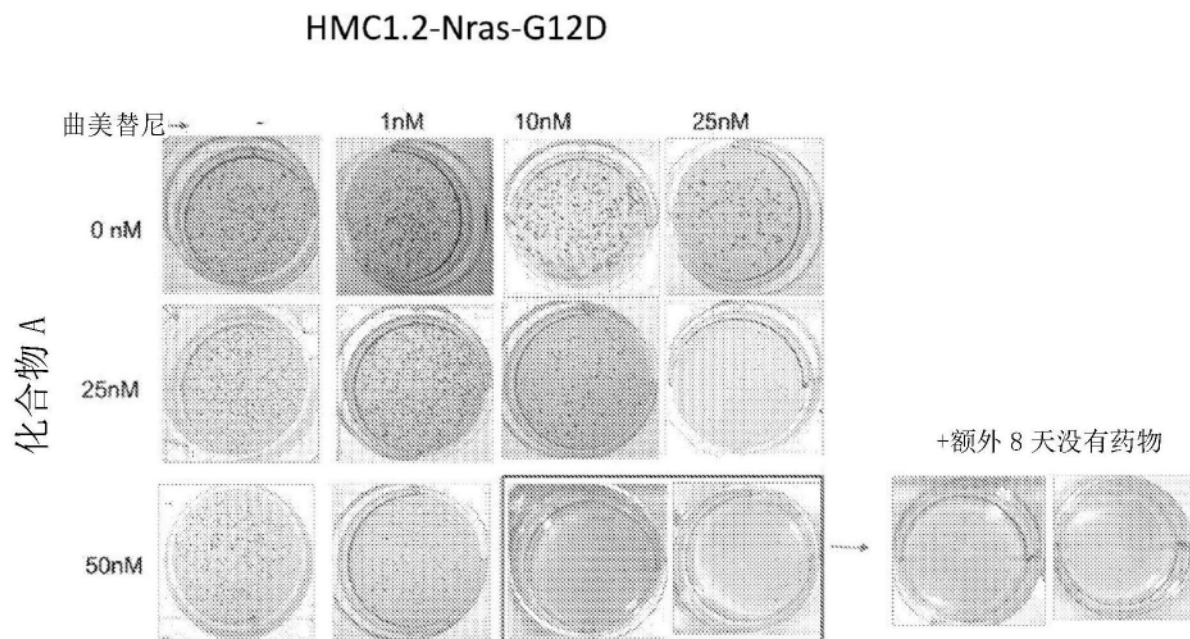


图17C

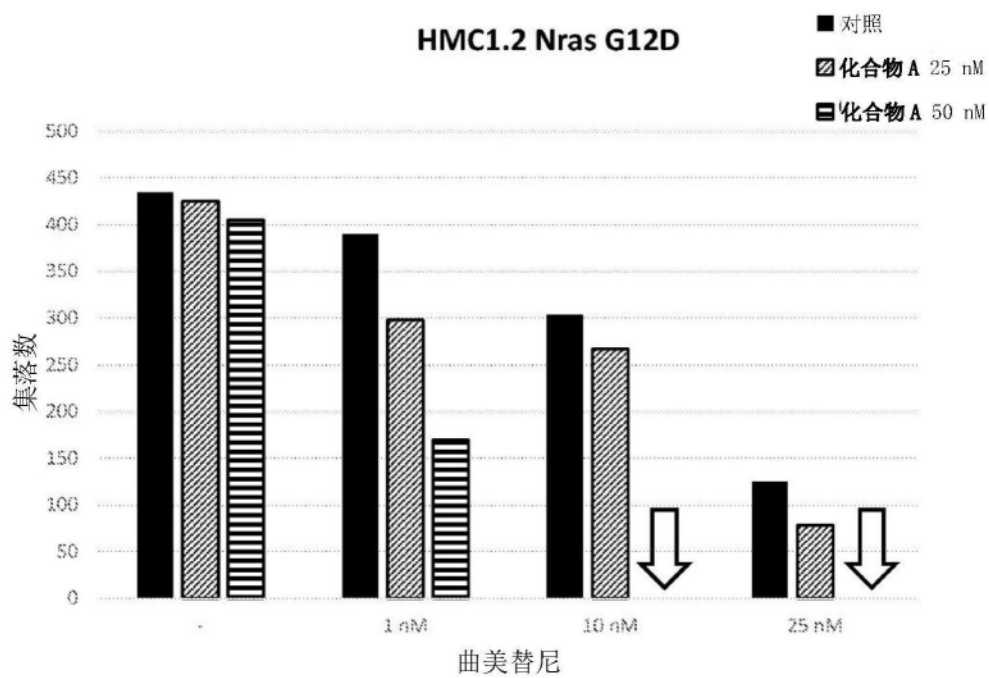


图17D

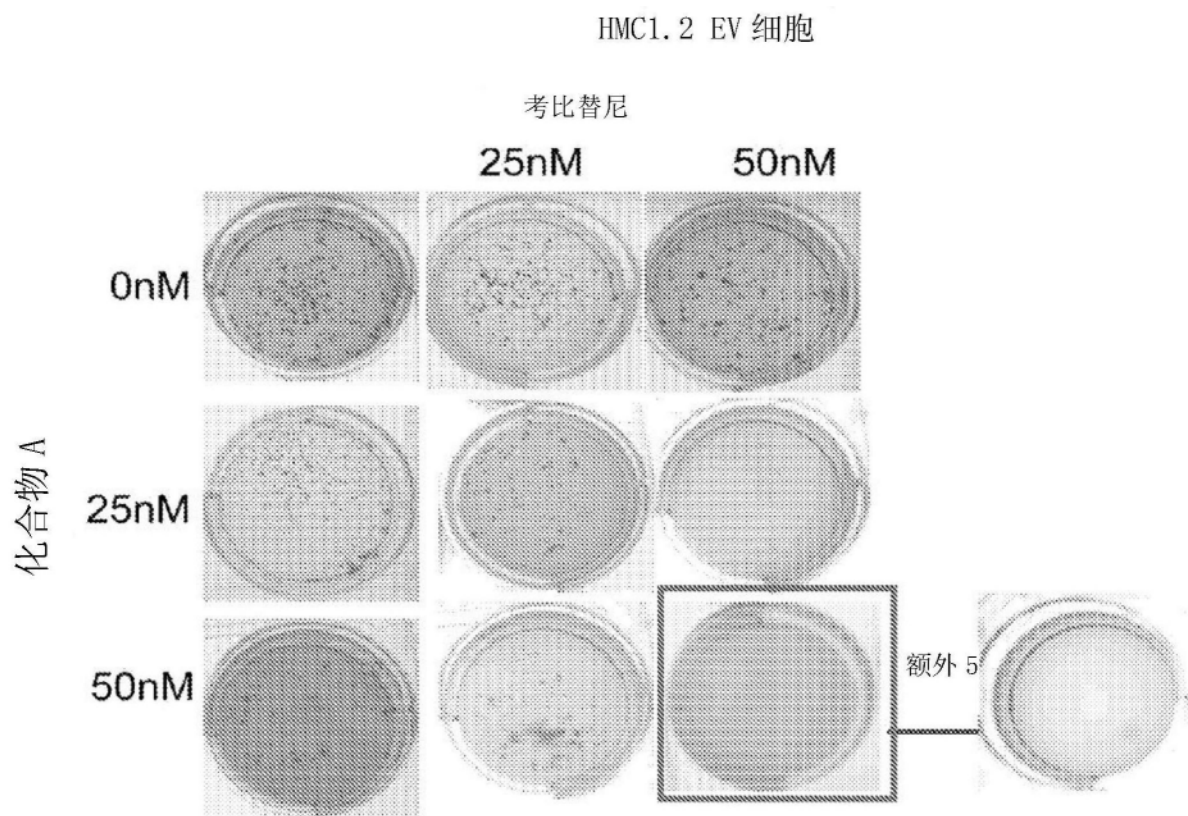


图18A

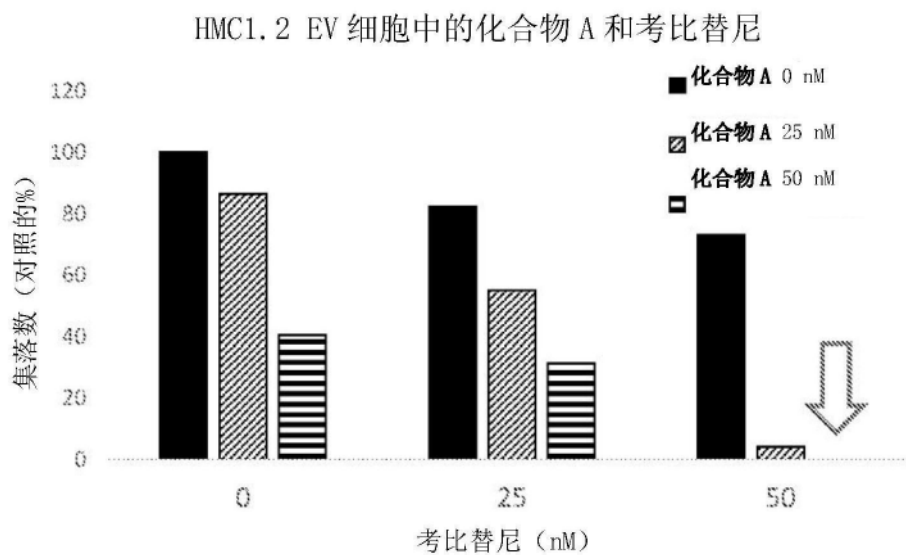


图18B

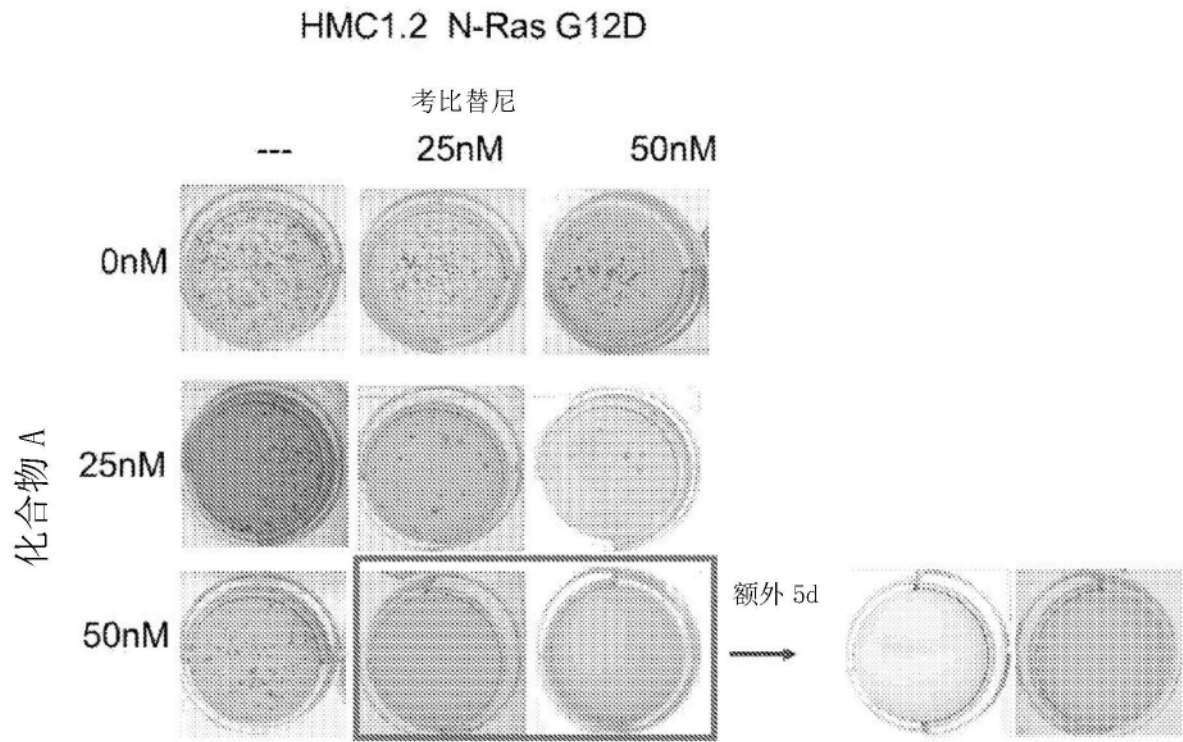


图18C

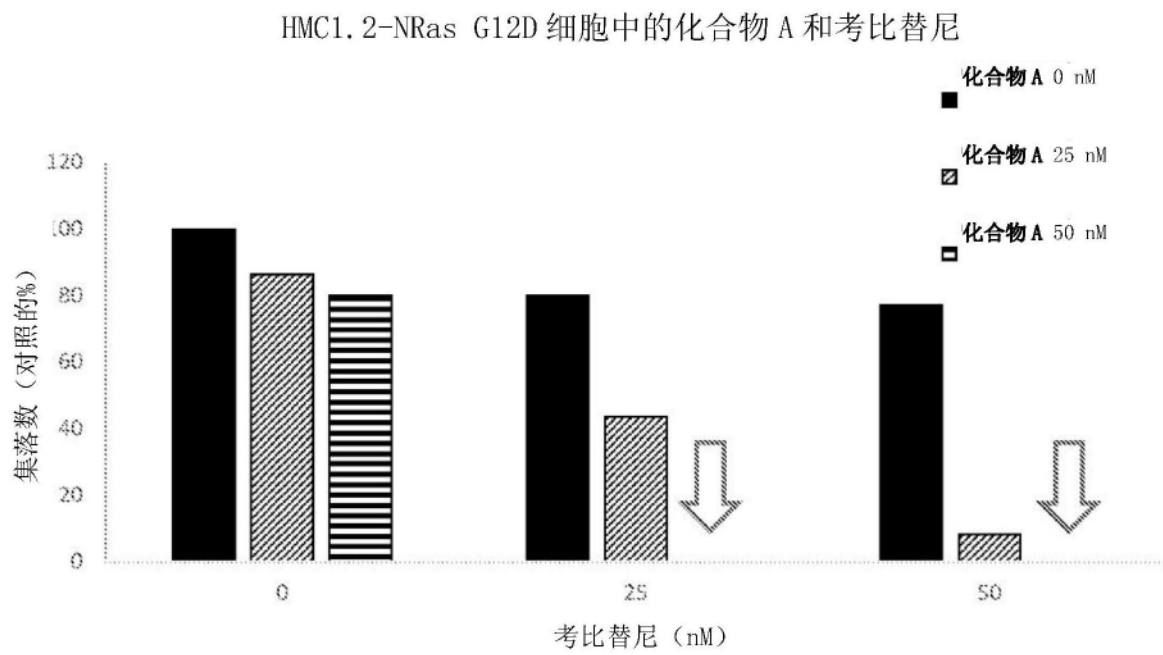


图18D