



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109640964 A

(43)申请公布日 2019.04.16

(21)申请号 201780032933.0

P·斯波尔泰利

(22)申请日 2017.05.26

(74)专利代理机构 余姚德盛专利代理事务所

(30)优先权数据

62/342,822 2016.05.27 US

(普通合伙) 33239

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.11.27

代理人 郑洪成

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2017/034855 2017.05.26

(51)Int.Cl.

A61K 31/00(2006.01)

A61K 39/395(2006.01)

A61K 31/4155(2006.01)

A61K 31/416(2006.01)

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/205843 EN 2017.11.30

(71)申请人 TG治疗有限公司

地址 美国纽约

申请人 理森制药股份公司

法国分馏及生物技术实验室

权利要求书6页 说明书44页

(72)发明人 M·S·魏斯 H·P·米什金

序列表6页 附图4页

(54)发明名称

用于治疗B细胞增殖性紊乱的抗-CD20抗体、  
P13激酶-δ选择性抑制剂和BTK抑制剂的组合

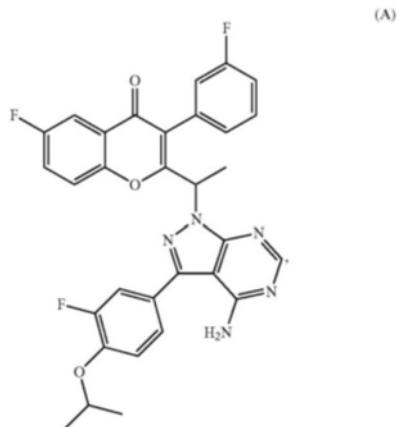
(57)摘要

本发明提供用于抑制B细胞群增殖的方法，  
其包括给予试剂的组合，其包含：(i)至少一种  
P13K-δ选择性抑制剂；(ii)至少一种抗-CD20抗  
体；和(iii)至少一种Bruton酪氨酸激酶(BTK)抑  
制剂。本发明还提供用于治疗B细胞增殖性紊乱  
(例如B细胞血液学恶性肿瘤)的方法，以及用于  
实施所声明的方法的试剂盒。

1. 一种抑制B细胞群增殖的方法,其包括:

(a) 向所述的B细胞群给予治疗有效量的试剂的组合,所述的试剂的组合包含:

(i) 选自以下的一种或多种的式A所示的至少一种P13K-δ选择性抑制剂,或其立体异构体,或其药物可接受的盐、溶剂化物或前药:



(RS)-2-(1-(4-氨基-3-(3-氟代-4-异丙氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基)乙基)-6-氟代-3-(3-氟代苯基)-4H-色烯-4-酮;

(S)-2-(1-(4-氨基-3-(3-氟代-4-异丙氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基)乙基)-6-氟代-3-(3-氟代苯基)-4H-色烯-4-酮;和

(R)-2-(1-(4-氨基-3-(3-氟代-4-异丙氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基)乙基)-6-氟代-3-(3-氟代苯基)-4H-色烯-4-酮;

(i) 至少一种抗-CD20的抗体,其中至少一种抗-CD20的抗体为ublituximab、抗-CD20的抗体或者与ublituximab相同的抗原表位结合的抗体片段;和

(iii) Bruton酪氨酸激酶(BTK)的抑制剂;以及

(b) 抑制所述的B细胞群的增殖。

2. 权利要求1所述的方法,其中所述的P13K-δ抑制剂以如下剂量给予:大约200mg至大约1200mg,大约400mg至大约1000mg,大约400mg至大约800mg,大约400mg,大约500mg,大约600mg,大约700mg,大约800mg,大约900mg,大约1000mg或大约1200mg。

3. 权利要求2所述的方法,其中每天给予所述的P13K-δ抑制剂。

4. 权利要求1-3的任意一项所述的方法,其中所述的P13K-δ抑制剂配制用于口服给予。

5. 权利要求1所述的方法,其中所述的P13K-δ抑制剂为(S)-2-(1-(4-氨基-3-(3-氟代-4-异丙氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基)乙基)-6-氟代-3-(3-氟代苯基)-4H-色烯-4-酮。

6. 权利要求1-5的任意一项所述的方法,其中所述的P13K-δ抑制剂为(S)-2-(1-(4-氨基-3-(3-氟代-4-异丙氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基)乙基)-6-氟代-3-(3-氟代苯基)-4H-色烯-4-酮p-甲苯磺酸盐(TGR-1202)。

7. 权利要求6所述的方法,其中所述的TGR-1202以每天大约400mg至大约1200mg的剂量给予。

8. 权利要求7所述的方法,其中所述的TGR-1202以每天大约400mg的剂量给予。

9. 权利要求7所述的方法,其中所述的TGR-1202以每天大约600mg的剂量给予。

10. 权利要求7所述的方法,其中所述的TGR-1202以每天大约800mg的剂量给予。
11. 权利要求6-10的任意一项所述的方法,其中所述的TGR-1202配制用于口服给予。
12. 权利要求1-11的任意一项所述的方法,其中所述的抗-CD20抗体为ublituximab。
13. 权利要求12所述的方法,其中所述的ublituximab包含序列SEQ ID NO:1,2和3的VH CDR1,CDR2和CDR3区,以及序列SEQ ID NOS:6,7和8的VL CDR1,CDR2和CDR3区。
14. 权利要求12所述的方法,其中所述的ublituximab包含SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:9的VL。
15. 权利要求1-14的任意一项所述的方法,其中所述的ublituximab以如下剂量给予:大约450mg至大约1200mg,大约600至大约1200mg,大约600至大约1000mg,大约600至大约900mg,大约600mg,大约700mg,大约800mg,大约900mg,每1至9周大约一次,每周大约一次,每周大约两次,每2周大约一次,每3周大约一次,每4周大约一次,每5周大约一次,每6周大约一次,每7周大约一次,每8周大约一次或者每9周大约一次。
16. 权利要求15所述的方法,其中所述的ublituximab以大约90mg的剂量给予。
17. 权利要求12-16的任意一项所述的方法,其中所述的ublituximab以静脉内给予。
18. 权利要求17所述的方法,其中所述的ublituximab在周期1的第1,8和15天和周期2,3,4,5,6,9和12的第一天给予,其中所述的各周期为28天。
19. 权利要求1-18的任意一项所述的方法,其中所述的BTK抑制剂选自:acalabrutinib;GDC-0834;ONO-4059;RN-486;spebrutinib;SNS-062;HM-71224;CGI-560;CGI-1746;CTA-056;CNX-774;BGB-3111;LFM-A13;PCI-45227;dasatinib;ONO-WG-307;JTE-051;AVL-263;AVL-291;AVL-101;TP-4207;PCI-45292;PCI-45466;CG-036806;TAS-5567;PCI-45261;KBP-7536;HCl-1684;PLS-123;BMS-488516;BMS-509744;和HY-11066。
20. 权利要求19所述的方法,其中所述的BTK抑制剂为伊布替尼。
21. 权利要求19所述的方法,其中所述的BTK抑制剂为acalabrutinib。
22. 权利要求20所述的方法,其中所述的伊布替尼每天以如下剂量给予一次:大约400至大约600mg,大约400mg,大约420mg,大约440mg,大约480mg,大约500mg,大约520mg,大约540mg,大约560mg,大约580mg或大约600mg。
23. 权利要求22所述的方法,其中所述的伊布替尼每天以大约420mg或大约560mg的剂量给以一次。
24. 权利要求23所述的方法,其中所述的伊布替尼每天以大约420mg的剂量给以一次。
25. 权利要求23所述的方法,其中所述的伊布替尼每天以大约560mg的剂量给以一次。
26. 权利要求1-25的任意一项所述的方法,其中所述的B细胞群在人类受试对象中。
27. 权利要求26所述的方法,其中所述的人类受试对象患有与过度B细胞增殖有关的疾病或紊乱。
28. 权利要求27所述的方法,其中所述的与过度B细胞增殖有关的疾病或紊乱为癌症。
29. 权利要求28所述的方法,其中所述的癌症为血液学恶性肿瘤。
30. 权利要求29所述的方法,其中所述的血液学恶性肿瘤为淋巴瘤、白血病或骨髓瘤。
31. 权利要求29或权利要求30所述的方法,其中所述的血液学恶性肿瘤选自急性淋巴细胞白血病(ALL),急性髓系白血病(AML),慢性淋巴细胞白血病(CLL),小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL),多发性骨髓瘤(MM),非Hodgkin淋巴瘤(NHL),外套细胞淋巴瘤(MCL),滤泡性淋巴

瘤 (FL) , Waldenstrom巨球蛋白血症 (WM) , 弥漫性大B细胞淋巴瘤 (DLBCL) , 边缘区淋巴瘤 (MZL) , Burkitt淋巴瘤,毛细胞白血病 (HCL) 和Richter转化。

32. 权利要求31所述的方法,其中所述的血液学恶性肿瘤选自慢性淋巴细胞白血病 (CLL) , 小淋巴细胞性淋巴瘤 (SLL) , 非Hodgkin淋巴瘤 (NHL) , 外套细胞淋巴瘤 (MCL) , 滤泡性淋巴瘤 (FL) , 弥漫性大B细胞淋巴瘤 (DLBCL) 和边缘区淋巴瘤 (MZL) 。

33. 权利要求28-32的任意一项所述的方法,其中所述的癌症过表达CD20。

34. 权利要求28-32的任意一项所述的方法,其中所述的癌症是化疗难以治愈的。

35. 权利要求28-32的任意一项所述的方法,其中所述的癌症是作为单一治疗给予的抗-CD20抗体,P13K- $\delta$ 抑制剂或BTK抑制剂所难以治愈的。

36. 权利要求35所述的方法,其中所述的癌症是非-TGR-1202P13K- $\delta$ 抑制剂难以治愈的。

37. 权利要求35所述的方法,其中所述的癌症是非-ublituximab抗-CD20抗体难以治愈的。

38. 权利要求35所述的方法,其中所述的癌症是利妥昔单抗难以治愈的。

39. 权利要求35所述的方法,其中所述的癌症是伊布替尼难以治愈的。

40. 权利要求28-39的任意一项所述的方法,其中所述的癌症已经复发。

41. 权利要求26-40的任意一项所述的方法,其中所述的人类受试对象具有选自以下的一个或多个基因突变:17p del,11q del,p53,未突变的IgVH以及ZAP-70+和/或CD38+,以及三倍体12。

42. 权利要求1-41的任意一项所述的方法,其中所述的试剂i、ii和iii的组合是分开给予的。

43. 权利要求42所述的方法,其中所述的试剂i、ii和iii的组合是依次给予的。

44. 权利要求43所述的方法,其中所述的试剂组合是以诱导、巩固和/或维持方案依次给予的。

45. 权利要求43或44所述的方法,其中所述的试剂i、ii或iii的两种一起给予,以便诱导部分抗肿瘤应答,然后给予所述的第三试剂,从而增强所述的抗肿瘤应答。

46. 权利要求45所述的方法,其中在向所述的受试对象给予所有的试剂i、ii和iii后,观察到完全抗肿瘤应答。

47. 权利要求45所述的方法,其中在向所述的受试对象给予所有的试剂i、ii和iii后,观察到部分抗肿瘤应答。

48. 权利要求1-47的任意一项所述的方法,其中所述的试剂i和iii每天同时或依次给予一次。

49. 权利要求48所述的方法,其中所述的试剂i和iii包含在相同的药物组合物中。

50. 权利要求1-49的任意一项所述的方法,其进一步包括给予至少一种其他的治疗试剂。

51. 权利要求50所述的方法,其中所述的至少一种其他的治疗试剂选自有丝分裂抑制剂,烷基化试剂,抗代谢物,蒽环类抗生素,长春花生物碱,植物碱,氮芥,蛋白酶抑制剂,嵌入性抗生素,生长因子抑制剂,细胞周期抑制剂,生物应答调节剂,抗激素,血管生成抑制剂,抗雄激素,DNA交互剂,嘌呤类似物,拓扑异构酶I抑制剂,拓扑异构酶II抑制剂,微管蛋

白相互作用试剂,激素试剂,胸苷酸合成酶抑制剂,非-BTK和非-P13K-δ酪氨酸激酶抑制剂,血管生成抑制剂,EGF抑制剂,VEGF抑制剂,CDK抑制剂,SRC抑制剂,c-Kit抑制剂,Her1/2抑制剂,myc的抑制剂,抗肿瘤抗体,针对生长因子受体的单克隆抗体,蛋白激酶调节剂,放射性同位素,免疫治疗,糖皮质激素和它们的任意的组合。

52. 权利要求50或权利要求51所述的方法,其中所述的至少一种其他的治疗试剂选自蛋白酶抑制剂,硼替佐米(Velcade<sup>®</sup>),卡非佐米(PR-171),PR-047,戒酒硫,lactacystin,PS-519,eponemycin,epoxomycin,阿克那霉素,CEP-1612,MG-132,CVT-63417,PS-341,乙烯砜三肽抑制剂,利托那韦,PI-083,(+/-)-7-甲基omuralide,(-)-7-甲基omuralide,来那度胺和它们的任意的组合。

53. 权利要求50或权利要求51所述的方法,其中所述的至少一种其他的治疗试剂为选自以下的组合化疗:环磷酰胺,阿霉素,长春新碱和强的松(CHOP);美罗华,环磷酰胺,阿霉素,长春新碱和强的松(R-CHOP);异环磷酰胺,卡铂和依托泊苷(ICE);美罗华,异环磷酰胺,卡铂和依托泊苷(R-ICE);利妥昔单抗,阿霉素,环磷酰胺,长春花碱酰胺,博来霉素和强的松(R-ACVBP);剂量调节的依托泊苷,阿霉素,环磷酰胺,长春新碱,强的松和利妥昔单抗(DA-EPOCH-R);地塞米松,阿糖胞苷和顺铂(DHAP);苯达莫司汀和利妥昔单抗(R-苯达莫司汀);以及吉西他滨和奥沙利铂,使用或未使用利妥昔单抗(GemOx或R-GemOx)。

54. 权利要求1-53的任意一项所述的方法,其中抑制B细胞群的增殖包括耗尽B细胞。

55. 权利要求1-53的任意一项所述的方法,其中抑制B细胞群的增殖包括促进凋亡。

56. 权利要求1-53的任意一项所述的方法,其中抑制B细胞群的增殖包括促进细胞周期停滞。

57. 权利要求1-53的任意一项所述的方法,其中抑制B细胞群的增殖包括阻断所述的B细胞受体(BCR)信号传递途径。

58. 权利要求1-57的任意一项所述的方法,其中所述的抑制B细胞群增殖的方法是治疗受试对象的B细胞增殖性紊乱。

59. 权利要求58所述的方法,其中所述的B细胞增殖性紊乱为血液学恶性肿瘤。

60. 权利要求59所述的方法,其中所述的血液学恶性肿瘤选自急性淋巴细胞白血病(ALL),急性髓系白血病(AML),慢性淋巴细胞白血病(CLL),小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL),多发性骨髓瘤(MM),非Hodgkin淋巴瘤(NHL),外套细胞淋巴瘤(MCL),滤泡性淋巴瘤(FL),Waldenstrom巨球蛋白血症(WM),B细胞淋巴瘤and弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),边缘区淋巴瘤(MZL),Burkitt淋巴瘤(BL),毛细胞白血病(HCL)和Richter转化。

61. 一种试剂盒,其包含:(a)权利要求1所述的试剂(i)-(iii)的组合;以及(b)所述的P13K-δ选择性抑制剂与ublituximab、抗-CD20抗体或者其与抗-CD20抗体相同的抗原表位结合的片段、以及BTK的抑制剂组合使用的说明书。

62. 权利要求61所述的试剂盒,其中所述的试剂盒包含ublituximab。

63. 权利要求61或权利要求62所述的试剂盒,其中所述的BTK的抑制剂为伊布替尼。

64. 权利要求61或权利要求62所述的试剂盒,其中所述的BTK的抑制剂为acalabrutinib。

65. 权利要求61-64的任意一项所述的试剂盒,其中所述的P13K-δ抑制剂为(S)-2-(1-(4-氨基-3-(3-氟代-4-异丙氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基)乙基)-6-氟代-3-

(3-氟代苯基)-4H-色烯-4-酮。

66. 权利要求61-64的任意一项所述的试剂盒,其中所述的P13K-δ抑制剂为TGR-1202。

67. 一种抑制B细胞群增殖的方法,其包括:

(a) 向所述的B细胞群给予治疗有效量的试剂的组合,所述的试剂的组合包含:

(i) 至少一种P13K-δ选择性抑制剂;

(ii) 至少一种抗-CD20抗体;和

(iii) 至少一种Bruton酪氨酸激酶(BTK)的抑制剂;以及

(b) 抑制所述的B细胞群的增殖。

68. 权利要求67所述的方法,其中所述的抗-CD20抗体是糖基化改造的,显示低的海藻糖含量,或者是抗原依赖性细胞毒性(ADCC)优化的。

69. 权利要求68所述的方法,其中所述的抗-CD20抗体为ublituximab。

70. 权利要求67-69的任意一项所述的方法,其中所述的P13K-δ选择性抑制剂选自TGR-1202,艾代拉里斯,duvelisib(IPI-145),ACP-319,INCIB-50465和ME-401。

71. 权利要求67-70的任意一项所述的方法,其中所述的BTK抑制剂选自伊布替尼;acalabrutinib;GDC-0834;ONO-4059;RN-486;spebrutinib;SNS-062;HM-71224;CGI-560;CGI-1746;CTA-056;CNX-774;BGB-3111;LFM-A13;PCI-45227;dasatinib;ONO-WG-307;JTE-051;AVL-263;AVL-291;AVL-101;TP-4207;PCI-45292;PCI-45466;CG-036806;TAS-5567;PCI-45261;KBP-7536;HCl-1684;PLS-123;BMS-488516;BMS-509744和HY-11066。

72. 权利要求67-71的任意一项所述的方法,其中所述的B细胞群在人类受试对象中。

73. 权利要求72所述的方法,其中所述的人类受试对象患有与过度B细胞增殖有关的疾病或紊乱。

74. 权利要求73所述的方法,其中所述的与过度B细胞增殖有关的疾病或紊乱为癌症。

75. 权利要求74所述的方法,其中所述的癌症为血液学恶性肿瘤。

76. 权利要求75所述的方法,其中所述的血液学恶性肿瘤为淋巴瘤,白血病或骨髓瘤。

77. 权利要求75或权利要求76所述的方法,其中所述的血液学恶性肿瘤选自急性淋巴细胞白血病(ALL),急性髓系白血病(AML),慢性淋巴细胞白血病(CLL),小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL),多发性骨髓瘤(MM),非Hodgkin淋巴瘤(NHL),外套细胞淋巴瘤(MCL),滤泡性淋巴瘤(FL),Waldenstrom巨球蛋白血症(WM),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),边缘区淋巴瘤(MZL),毛细胞白血病(HCL),Burkitt淋巴瘤(BL)和Richter转化。

78. 权利要求77所述的方法,其中所述的血液学恶性肿瘤选自慢性淋巴细胞白血病(CLL),小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL),非Hodgkin淋巴瘤(NHL),外套细胞淋巴瘤(MCL),滤泡性淋巴瘤(FL),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)和边缘区淋巴瘤(MZL)。

79. 权利要求67-78的任意一项所述的方法,其中所述的试剂i、ii和iii的组合是分开给予的。

80. 权利要求79所述的方法,其中所述的试剂i、ii和iii的组合是依次给予的。

81. 权利要求80所述的方法,其中所述的试剂的组合是以诱导、巩固和/或维持方案依次给予的。

82. 权利要求80或权利要求81所述的方法,其中所述的试剂i、ii或iii的两种一起给予,从而诱导部分抗肿瘤应答,然后给予所述的第三试剂,从而增强所述的抗肿瘤应答。

83. 权利要求82所述的方法,其中在向所述的受试对象给予所有的试剂i、ii和iii后,观察到完全抗肿瘤应答。

84. 权利要求67-83的任意一项所述的方法,其中所述的试剂i和iii每天同时或依次给予一次。

85. 权利要求84所述的方法,其中所述的试剂i和iii包含在相同的药物组合物中。

86. 一种抑制B细胞群增殖的方法,其包括:

(a) 向所述的B细胞群给予治疗有效量的试剂的组合,所述的试剂的组合包含:

(i) TGR-1202;

(ii) ublituximab; 和

(iii) 伊布替尼;以及

(b) 抑制所述的B细胞群的增殖。

88. 权利要求87所述的方法,其中所述的B细胞群的增殖与血液学恶性肿瘤有关。

89. 权利要求88所述的方法,其中所述的血液学恶性肿瘤选自急性淋巴细胞白血病(ALL),急性髓系白血病(AML),慢性淋巴细胞白血病(CL),小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL),多发性骨髓瘤(MM),非Hodgkin淋巴瘤(NHL),外套细胞淋巴瘤(MCL),滤泡性淋巴瘤(FL),Waldenstrom巨球蛋白血症(WM),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),边缘区淋巴瘤(MZL),Burkitt淋巴瘤,毛细胞白血病(HCL)和Richter转化。

90. 一种试剂盒,其包含(a)权利要求67-89的任意一项所述的试剂(i)-(iii)的组合;以及(b)所述的P13K-8选择性抑制剂与抗-CD20抗体和BTK的抑制剂的使用说明书。

## 用于治疗B细胞增殖性紊乱的抗-CD20抗体、P13激酶- $\delta$ 选择性抑制剂和BTK抑制剂的组合

### 技术领域

[0001] 本发明总体而言涉及癌症治疗领域。更具体而言，本发明涉及通过向受试对象给予试剂的组合，抑制B细胞群增殖并治疗B细胞增殖性紊乱的方法和试剂盒，例如血液学癌症，其中所述的试剂的组合包含：(i) 至少一种P13激酶 (P13K) - $\delta$ 的抑制剂；(ii) 至少一种抗-CD20抗体；以及 (iii) 至少一种Bruton酪氨酸激酶 (BTK) 抑制剂。

### 背景技术

[0002] 尽管科学和临床的专项研究进行了一个多世纪，但是到目前位置，治愈癌症仍是最大的医学挑战之一。癌症治疗主要依赖于手术、放疗和/或细胞毒性治疗。然而，在最近十年，靶向癌症治疗在肿瘤学领域打开了一个新的时代。靶向癌症治疗是多种药品，其经设计而干扰肿瘤生长和进展所必需的特异性分子；它们在广义上，分成单克隆抗体 (mAb) 或小分子。靶向治疗的一些实例包括CD20 (例如用于治疗淋巴瘤的利妥昔单抗/美罗华®), CD52 (例如阿仑单抗/Campath®), VEGF (例如贝伐单抗/Avastin®), HER2 (例如用于治疗Her2-乳腺癌和胃癌的曲妥单抗/赫塞汀®), EGFR (例如用于治疗结肠直肠癌的西妥昔单抗/爱必妥®), CTLA-4 (例如用于治疗黑素瘤的伊匹单抗/Yervoy®), 和PD-1 (例如MDX-1106, CT-011) 的单克隆抗体。小分子治疗靶向癌细胞的调节障碍的途径，例如RAS, RAF, P13K, MEK, JAK, STAT和BTK。

[0003] 尽管存在有效的B细胞癌症治疗 (例如美罗华®)，但是不理想的应答和/或对一种或多种治疗试剂的抗性仍是挑战。因此，本领域需要更有效、安全和持久的组合治疗用于治疗B细胞增殖性疾病，例如B细胞恶性肿瘤。

### [0004] 发明概述

[0005] 本发明所述的组合治疗适用于治疗或延迟受试对象中B细胞增殖性紊乱的进展，例如血液学恶性肿瘤。

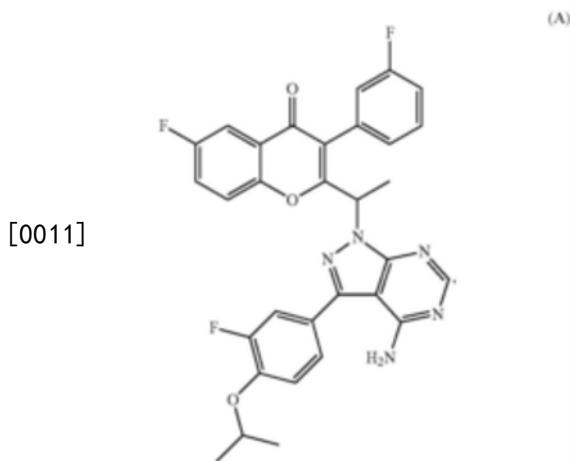
[0006] 在一个方面中，本发明提供了抑制B细胞群增殖的方法，其包括：(a) 向B细胞群给予治疗有效量的试剂的组合，所述的试剂的组合包含：(i) 至少一种P13K- $\delta$ 选择性抑制剂；(ii) 至少一种抗-CD20的抗体；以及 (iii) 至少一种Bruton酪氨酸激酶 (BTK) 的抑制剂；以及 (b) 抑制所述的B细胞群的增殖。

[0007] 在一些实施方案中，P13K- $\delta$ 抑制剂选自TGR-1202 (还称为umbralisib)，艾代拉里斯，duvelisib (IPI-145), ACP-319; INCB-50465; 和ME-401。

[0008] 在另一个方面中，本发明提供了用于抑制B细胞群增殖的方法，其包括：

[0009] (a) 向所述的B细胞群给予治疗有效量的试剂的组合，所述的试剂的组合包含：

[0010] (i) 选自以下的一种或多种的式A所示的至少一种P13K- $\delta$ 选择性抑制剂，或其立体异构体，或其药物可接受的盐、溶剂化物或前药：



- [0012] (RS)-2-(1-(4-氨基-3-(3-氟代-4-异丙氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基)乙基)-6-氟代-3-(3-氟代苯基)-4H-色烯-4-酮；
- [0013] (S)-2-(1-(4-氨基-3-(3-氟代-4-异丙氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基)乙基)-6-氟代-3-(3-氟代苯基)-4H-色烯-4-酮；和
- [0014] (R)-2-(1-(4-氨基-3-(3-氟代-4-异丙氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基)乙基)-6-氟代-3-(3-氟代苯基)-4H-色烯-4-酮；
- [0015] (ii) 至少一种抗-CD20的抗体，其中至少一种抗-CD20的抗体为ublituximab、抗-CD20的抗体或者与ublituximab相同的抗原表位结合的抗体片段；和
- [0016] (iii) 至少一种Bruton酪氨酸激酶(BTK)的抑制剂；以及
- [0017] (b) 抑制所述的B细胞群的增殖。
- [0018] 在一些实施方案中，式A所示的P13K-δ抑制剂为(S)-2-(1-(4-氨基-3-(3-氟代-4-异丙氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基)乙基)-6-氟代-3-(3-氟代苯基)-4H-色烯-4-酮。
- [0019] 在一些实施方案中，式A所示的P13K-δ抑制剂为(S)-2-(1-(4-氨基-3-(3-氟代-4-异丙氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基)乙基)-6-氟代-3-(3-氟代苯基)-4H-色烯-4-酮p-甲苯磺酸(PTSA)盐(还称为TGR-1202)。
- [0020] 在一些实施方案中，抑制B细胞群增殖的方法包括耗尽B细胞。在一些实施方案中，此类方法用于癌症复发的患者。
- [0021] 在一些实施方案中，抑制B细胞群增殖的方法包括促进所述的B细胞的凋亡。
- [0022] 在一些实施方案中，抑制B细胞群增殖的方法包括促进细胞周期停滞。
- [0023] 在一些实施方案中，抑制B细胞群增殖的方法包括阻断B细胞受体(BCR)信号传递途径。
- [0024] 在一些实施方案中，每天给予一定剂量的P13K-δ抑制剂，其中所述的剂量为：大约200mg至大约1200mg，大约400mg至大约1000mg，大约400mg至大约800mg，大约400mg，大约500mg，大约600mg，大约700mg，大约800mg，大约900mg，大约1000mg，或大约1200mg。
- [0025] 在一些实施方案中，每天给予剂量大约400mg至大约1200mg的TGR-1202。在一些实施方案中，每天给予剂量大约400mg的TGR-1202。在一些实施方案中，每天给予剂量大约600mg的TGR-1202。在一些实施方案中，每天给予剂量大约800mg的TGR-1202。
- [0026] 在一些实施方案中，P13K-δ抑制剂配制用于口服给予。在一些实施方案中，P13K-δ

抑制剂为TGR-1202，并且配制用于口服给予。在一些实施方案中，以分批状态给予TGR-1202。

[0027] 在一些实施方案中，抗-CD20的抗体是糖基化改造的，在其Fc区显示低的海藻糖含量，或者是优化的抗体依赖性细胞毒性(ADCC)。

[0028] 在一些实施方案中，抗-CD20的抗体是ublituximab(还称为TG-1101和UTX)。在一些实施方案中，ublituximab包含序列SEQ ID NO:1,2和3的VH CDR1,CDR2和CDR3区；以及序列SEQ ID NO:6,7和8的VL CDR1,CDR2和CDR3区。在一些实施方案中，ublituximab包含SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:9的VL。

[0029] 在一些实施方案中，以如下剂量给予ublituximab：大约450mg至大约1200mg，大约600至大约1200mg，大约600至大约1000mg，大约600至大约900mg，大约600mg，大约700mg，大约800mg或大约900mg。

[0030] 可以每周大约两次、每1至9周大约一次、每周大约一次、每2周大约一次、每3周大约一次、每4周大约一次、每5周大约一次、每6周大约一次、每7周大约一次、每8周大约一次或者每9周大约一次给予Ublituximab。本领域的任一技术人员将理解的是，ublituximab的剂量和/或给予ublituximab的频率在治疗过程中，可以根据患者的临床应答、副作用等而改变(降低或升高)。

[0031] 在一些实施方案中，以大约900mg的剂量给予ublituximab。在一些实施方案中，静脉内给予ublituximab。优选地，通过静脉内注入给予ublituximab。

[0032] 在一些实施方案中，BTK抑制剂选自1-[ (3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基]哌啶-1-基]丙-2-烯-1-酮(Imbruvica®,伊布替尼或PCI-32765)；1-(R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基]哌啶-1-基]-2,3,-二羟基丙-1-酮(PCI-45227)；4-{8-氨基-3-[ (2S)-1-(2-butynoyl)-2-吡咯烷基]咪唑并[1,5-a]吡嗪-1-基}-N-(2-吡啶基)苯甲酰胺(acalabrutinib或ACP-196)；(R)-N-(3-(6-((4-(1,4-二甲基-3-氧代哌嗪-2-基)苯基)氨基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢吡嗪-2-基)-2-甲基苯基)-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-2-氨甲酰(GDC-0834)；(S)-9-(1-丙烯酰基哌啶-3-基)-6-氨基-7-(4-苯氧基苯基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮(ONO-4059或GS-4059)；6-环丙基-8-氟代-2-[2-(羟基甲基)-3-[1-甲基-5-[5-(4-甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基]氨基]-6-氧代吡啶-3-基]苯基]异喹啉-1-酮(RN-486)；N-(3-((5-氟代-2-((4-(2-甲氧基乙氧基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)丙烯酰胺(spebrutinib、AVL-292或CC-292)；SNS-062，其是由Sunesis Pharmaceuticals and Biogen研发的，参见Binnerts,M.E.等人，2015AACR-NCI-EORTC International Conference on Molecular Targets and Cancer Therapeutics,Boston,MA,November 8,2015)；N-(3-((2-((4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)氨基)噻吩并[3,2-d]嘧啶-4-基)氧基)苯基)丙烯酰胺(HM-71224)；4-(叔丁基)-N-(3-(8-(苯基氨基)咪唑并[1,2-a]吡嗪-6-基)苯基)苯甲酰胺(CGI-560)；N-[3-[4,5-二氢-4-甲基-6-[(4-(4-吗啉基羰基)苯基)氨基]-5-氧代吡嗪基]-2-甲基苯基]-4-(1,1-二甲基乙基)-苯甲酰胺(CGI-1746)；4-(4-((3-丙烯酰胺苯基)氨基)-5-氟代嘧啶-2-基)氨基)苯氧基)-N-甲基吡啶酰胺(CNX-774)；7-苄基-1-(3-(哌啶-1-基)丙基)-2-(4-(吡啶-4-基)苯基)-1H-咪唑并[4,5-g]喹喔啉-6(5H)-酮(CTA-056)； $\alpha$ -氰基- $\beta$ -羟基- $\beta$ -甲基-N-(2,5-二溴苯基)丙烯酰胺(LFM-A13)；N-(2-氯代-6-甲基苯基)-2-[[6-[4-(2-羟基乙基)哌嗪-1-基]

2-甲基嘧啶-4-基]氨基]-1,3-噻唑-5-氨甲酰(Sprycel®、Dasatinib或BMS-354825);BGB-3111,其是由Beigene Co.Ltd.研发的,参见Tam,C.等人,Abstract#832,Am.Society Hematology (ASH) Annual Meeting,Orlando,FL,Dec.5-8,2015);ONO-WG-307,其是由Ono Pharmaceuticals研发的,参见Kozaki,R.等人,Cancer Res 72 (8Suppl):Abstract No.857 (2012);Yasuhiro,T.等人,Cancer Res 72 (8Suppl):Abstract No.2021 (2012);JTE-051,其是由Japan Tobacco Inc.研发的;AVL-263或CC-263,其是由Avila Therapeutics/Celgene Corporation研发的;AVL-291或CC-291、和AVL-101或CC-101,其是由Avila Therapeutics/Celgene Corporation研发的,参见Evans,E.等人,Paper presented at the 100th AACR Annual Meeting;April 18-22,2009;Denver,CO;还参见D'Cruz,O.J.等人,Onco Targets Ther.6:161-176 (2013);TP-4207,其是由Tolero Pharmaceuticals, Inc.研发的;PCI-45292,其是由Pharmacyclics, Inc.研发的,参见Chang,B.Y.等人,Arthritis Rheum 62:Suppl.10,Abstract No.286 (2010);Pan,Z.等人,Chem Med Chem 2:58-61 (2007);PCI-45466,其是由Pharmacyclics, Inc.研发的,参见美国专利申请公开No.2016/0038495;CG-036806,其是由Crystal Genomics研发的;TAS-5567,其是由Taiho Oncology研发的,参见Kawagishi,A.等人,Mol Cancer Ther 12 (11Suppl) (2013):A274and Irie,H.等人,Mol Cancer Ther 12 (11Suppl):A273 (2013);PCI-45261,其是由Pharmacyclics, Inc.研发的;KBP-7536,其是由KBP BioSciences研发的,例如参见美国专利申请公开No.2015/0267261;HCI-1684,其是由Huntsman Cancer Institute研发的,参见Bearss,D.J.等人,Cancer Res 71 (8Suppl):Abstract No.2788 (2011);PLS-123,其是由Peking University Cancer Hospital研发的,参见Ding,N.等人,Oncotarget 6:15122-15136 (April 2015);BMS-488516,其是由Bristol-Myers Squibb研发的,参见Lin,T.A.等人,Biochemistry 43:11056-11062 (2004);Won,J.等人,International Reviews of Immunology 27:19-41 (2008);BMS-509744,其是由Bristol-Myers Squibb研发的,参见Lin,T.A.等人,Biochemistry 43:11056-11062 (2004);Won,J.等人,International Reviews of Immunology 27:19-41 (2008);苯甲酰胺,N-[5-[[5-[(4-乙酰基-1-哌嗪基)羰基]-4-甲氧基-2-甲基苯基]硫代]-2-噻唑基]-4-[(1,2-二甲基丙基)氨基]甲基]-(HY-11066,CTK4I7891,HMS3265G21,HMS3265G22,HMS3265H21,HMS3265H22,CAS No.439574-61-5,AG-F-54930)。

[0033] 在一些实施方案中,BTK抑制剂为1-[ (3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基]哌啶-1-基]丙-2-烯-1-酮(伊布替尼)。

[0034] 在一些实施方案中,BTK抑制剂为4-{8-氨基-3-[(2S)-1-(2-butynoyl)-2-吡咯烷基]咪唑并[1,5-a]吡嗪-1-基}-N-(2-吡啶基)苯甲酰胺(acalabrutinib或ACP-196)。

[0035] 在一些实施方案中,每天一次给予如下剂量的伊布替尼:大约200至大约800mg,大约400至大约600mg,大约400mg,大约420mg,大约440mg,大约480mg,大约500mg,大约520mg,大约540mg,大约560mg,大约580mg或大约600mg。

[0036] 在一些实施方案中,每天一次给予剂量为大约420mg或大约560mg/天的伊布替尼。在一些实施方案中,每天一次给予剂量为大约420mg/天的伊布替尼。在一些实施方案中,每天一次给予剂量为大约560mg/天的伊布替尼。

[0037] 在一些实施方案中,口服给予伊布替尼。

[0038] 在一些实施方案中,增殖有待被抑制的B细胞群在人类受试对象中。在一些实施方案中,人类受试对象患有与过度B细胞增殖有关的疾病或紊乱。在一些实施方案中,与过度B细胞增殖有关的疾病为癌症。在一些实施方案中,人类受试对象患有癌症。在一些实施方案中,癌症为B细胞血液学恶性肿瘤。在某些实施方案中,B细胞血液学恶性肿瘤为淋巴瘤或白血病。

[0039] 在一些实施方案中,B细胞血液学恶性肿瘤选自急性淋巴细胞白血病(ALL),急性髓系白血病(AML),急性单核细胞白血病(AMoL),慢性淋巴细胞白血病(CL),高风险CLL,小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL),高风险SLL,多发性骨髓瘤(MM),非Hodgkin淋巴瘤(NHL),外套细胞淋巴瘤(MCL),滤泡性淋巴瘤(FL),Waldenstrom巨球蛋白血症(WM),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),边缘区淋巴瘤(MZL),Burkitt淋巴瘤(BL),毛细胞白血病(HCL)和Richter转化。

[0040] 在一些实施方案中,B细胞血液学恶性肿瘤选自慢性淋巴细胞白血病(CL),小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL),非Hodgkin淋巴瘤(NHL),外套细胞淋巴瘤(MCL),滤泡性淋巴瘤(FL),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)和边缘区淋巴瘤(MZL)。

[0041] 在一些实施方案中,血液学恶性肿瘤选自Burkitt淋巴瘤,非Burkitt高度恶性B细胞淋巴瘤,原发性纵隔B细胞淋巴瘤(PMBL),免疫母细胞性大细胞淋巴瘤,前体B淋巴母细胞淋巴瘤,B细胞幼淋巴细胞白血病,淋巴浆细胞性淋巴瘤,浆细胞骨髓瘤,浆细胞瘤,纵隔(胸腺)大B细胞淋巴瘤,血管内大B细胞淋巴瘤,原发性渗出性淋巴瘤,Hodgkin淋巴瘤或淋巴瘤样肉芽肿。

[0042] 在一些实施方案中,癌症过表达CD20。

[0043] 在一些实施方案中,癌症是化疗难治的。

[0044] 在一些实施方案中,当单独给予本发明所述的任何试剂时(即,用作单一治疗),癌症是本发明所述的任何试剂难治的,即,抗-CD20抗体,P13K-δ选择性抑制剂或BTK抑制剂。在一些实施方案中,癌症是非-TGR-1202P13K-δ抑制剂难治的。

[0045] 在一些实施方案中,癌症是非-ublituximab抗-CD20抗体难治的。

[0046] 在一些实施方案中,癌症是利妥昔单抗难治的。

[0047] 在一些实施方案中,癌症是BTK抑制剂难治的。

[0048] 在一些实施方案中,癌症是伊布替尼难治的。

[0049] 在一些实施方案中,癌症已经复发。

[0050] 在一些实施方案中,人类受试对象具有选自17p del,11q del,p53,未突变的IgVH及ZAP-70+和/或CD38+,以及三倍体12的一个或多个基因突变。

[0051] 在一些实施方案中,本发明所述的方法的试剂(i,ii和iii)是分开给予的。

[0052] 在一些实施方案中,本发明所述的方法的试剂(i,ii和iii)是依次给予的,但是无需特定的顺序(或给予顺序)。在一些实施方案中,本发明所述的方法的试剂(i和iii)是同时或依次给予的。

[0053] 在一些实施方案中,试剂的组合是以诱导、巩固和/或维持的方案依次给予的。

[0054] 在一些实施方案中,试剂i,ii或iii中的两种一起给予,以便诱导部分抗肿瘤应答,然后给予第三试剂,从而增强抗肿瘤应答。在一些实施方案中,在向所述的受试对象给予所有试剂(例如本发明公开的i,ii和iii)后,观察完全抗肿瘤应答(CR)。在一些实施方案中,给予本发明所述的任何方法的受试对象取得完全应答,并且具有轻微后遗症(MRD)。

[0055] 在一些实施方案中,当组合给予所有三种试剂时,给予本发明所述的任何方法的受试对象取得部分应答(PR)。在一些实施方案中,给予本发明所述的任何方法的受试对象取得部分应答(PR)或持续至少两个月的完全应答(CR)。

[0056] 在一些实施方案中,在维持治疗中,给予试剂i,iii或iii的至少一种,从而在成功治疗后保持B细胞增殖性紊乱免于复发。在一些实施方案中,在延长的时间内在维持治疗中给予所述的试剂,例如直到难以管理的毒性或发生疾病进展。在一些实施方案中,当发生疾病进展时,结束维持治疗。

[0057] 在一些实施方案中,本发明所述的方法的试剂(i和iii)包含在相同的药物组合物中。在一些实施方案中,药物组合物用于口服给予。

[0058] 在一些实施方案中,本发明所述的方法进一步包括向受试对象给予用于抑制B细胞增殖的至少一种其他的治疗试剂。在一些实施方案中,至少一种其他的治疗试剂选自有丝分裂抑制剂,烷基化试剂,抗代谢物,蒽环类抗生素,长春花生物碱,植物碱,氮芥,蛋白酶抑制剂,嵌入性抗生素,生长因子抑制剂,细胞周期抑制剂,生物应答调节剂,抗激素,血管生成抑制剂,抗雄激素,DNA交互剂,嘌呤类似物,拓扑异构酶I抑制剂,拓扑异构酶II抑制剂,微管蛋白相互作用试剂,激素试剂,胸苷酸合成酶抑制剂,非BTK和非P13K-δ酪氨酸激酶抑制剂,血管生成抑制剂,EGF抑制剂,VEGF抑制剂,CDK抑制剂,SRC抑制剂,c-Kit抑制剂,Her1/2抑制剂,myc抑制剂,抗肿瘤抗体,定向针对生长因子受体的单克隆抗体,蛋白激酶调节剂,放射性同位素,免疫治疗,糖皮质激素和它们的组合。

[0059] 在一些实施方案中,至少一种其他的治疗试剂为抗癌试剂,其选自DNA交互剂,例如顺铂或阿霉素;拓扑异构酶II抑制剂,例如依托泊昔;拓扑异构酶I抑制剂,例如CPT-11或托泊替康;微管蛋白相互作用试剂,例如紫杉醇,多西他赛或埃博霉素(例如伊沙匹隆),天然形成的或合成的;激素试剂,例如tamoxifen;胸苷酸合成酶抑制剂,例如5-氟代尿嘧啶;抗代谢物,例如甲氨蝶呤;其他的酪氨酸激酶抑制剂,例如Iressa和OSI-774;血管生成抑制剂;EGF抑制剂;VEGF抑制剂;CDK抑制剂;SRC抑制剂;c-Kit抑制剂;Her1/2抑制剂和定向针对生长因子受体的单克隆抗体,例如爱必妥(EGF)和赫塞汀(Her2);以及其他蛋白激酶调节剂。在本发明的方法和试剂盒中使用的其他抗癌试剂是肿瘤学领域中那些技术人员已知的。

[0060] 在一些实施方案中,至少一种其他的治疗试剂选自蛋白酶抑制剂,硼替佐米(Velcade<sup>®</sup>),卡非佐米(PR-171),PR-047,戒酒硫,lactacystin,PS-519,eponemycin,epoxomycin,阿克那霉素,CEP-1612,MG-132,CVT-63417,PS-341,乙烯砜三肽抑制剂,利托那韦,PI-083,(+/-)-7-甲基omuralide,(-)-7-甲基omuralide,来那度胺和它们的组合。

[0061] 在一些实施方案中,其他治疗试剂为化疗的组合,例如"CHOP"(一种组合,其包含(i)环磷酰胺,例如cytoxan,(ii)阿霉素或其他的拓扑异构酶II抑制剂,例如adriamycin,(iii)长春新碱或其他的vincas,例如oncovin;和(iv)类固醇,例如氢化可的松或泼尼松龙);"R-CHOP"(一种组合,其包含美罗华,环磷酰胺,阿霉素,长春新碱和强的松);"ICE"(一种组合,其包含异环磷酰胺,卡铂和依托泊昔);"R-ICE"(一种组合,其包含美罗华,异环磷酰胺,卡铂和依托泊昔);"R-ACVBP"(利妥昔单抗,阿霉素,环磷酰胺,长春花碱酰胺,博来霉素和强的松的组合);"DA-EPOCH-R"(剂量调节的依托泊昔,阿霉素,环磷酰胺,长春新碱,强的松和利妥昔单抗的组合);"R-苯达莫司汀"(苯达莫司汀和利妥昔单抗的组合);"GemOx"或

R-GemOx”(吉西他滨和奥沙利铂的组合,具有或不具有利妥昔单抗);以及“DHAP”(一种组合,其包含地塞米松,阿糖胞苷和顺铂)。

[0062] 在一些实施方案中,提供抑制B细胞群增殖的方法,其包括(a)向B细胞群给予治疗有效量的试剂的组合,所述的试剂的组合包含:(i)TGR-1202;(ii)ublituximab;和(iii)伊布替尼;以及(b)抑制所述的B细胞群的增殖。

[0063] 在一些实施方案中,B细胞群的增殖与血液学恶性肿瘤有关。在一些实施方案中,血液学恶性肿瘤选自急性淋巴细胞白血病(ALL),急性髓系白血病(AML),慢性淋巴细胞白血病(CLL),小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL),多发性骨髓瘤(MM),非Hodgkin淋巴瘤(NHL),外套细胞淋巴瘤(MCL),滤泡性淋巴瘤(FL),Waldenstrom巨球蛋白血症(WM),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),边缘区淋巴瘤(MZL),Burkitt淋巴瘤,毛细胞白血病(HCL)和Richter转化。

[0064] 在一个方面中,本发明提供一种试剂盒,其包含至少一种P13K-δ选择性抑制剂、至少一种抗-CD20抗体和至少一种BTK抑制剂;以及(b)使用P13K-δ选择性抑制剂的说明书,其中所述的P13K-δ选择性抑制剂与抗-CD20抗体和BTK抑制剂组合。

[0065] 在另一个方面中,本发明提供一种试剂盒,其包含式A所示的至少一种P13K-δ选择性抑制剂、至少一种抗-CD20抗体和至少一种BTK抑制剂。在某些实施方案中,可以用于实施本发明所述的方法的其他试剂及其组合也包含在所述的试剂盒中。

[0066] 在一些实施方案中,所述的试剂盒包含(a)本发明所述的式A所示的P13K-δ选择性抑制剂,或其立体异构体,或者其药物可接受的盐、溶剂化物或前药;抗-CD20抗体或其与ublituximab相同的抗原表位结合的片段;以及BTK抑制剂;以及(b)使用所述的P13K-δ选择性抑制剂的说明书,其中所述的P13K-δ选择性抑制剂与ublituximab、抗-CD20抗体或其与ublituximab相同的抗原表位结合的片段、以及BTK抑制剂。

[0067] 在一些实施方案中,试剂盒中的BTK抑制剂为伊布替尼。在一些实施方案中,试剂盒中的BTK抑制剂为acalabrutinib。

[0068] 在一些实施方案中,试剂盒中的P13K-δ选择性抑制剂为(S)-2-(1-(4-氨基-3-(3-氟代-4-异丙氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基)乙基)-6-氟代-3-(3-氟代苯基)-4H-色烯-4-酮。在一些实施方案中,P13K-δ选择性抑制剂为(S)-2-(1-(4-氨基-3-(3-氟代-4-异丙氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基)乙基)-6-氟代-3-(3-氟代苯基)-4H-色烯-4-酮p-甲苯磺酸(PTSA)盐(TGR-1202)。

[0069] 在一些实施方案中,所述的试剂盒进一步包含ublituximab,或者抗-CD20抗体或其与ublituximab相同的抗原表位结合的片段。

[0070] 在一些实施方案中,所述的试剂盒进一步包含可以用于抑制B细胞增殖的一种或多种其他的治疗试剂。

[0071] 附图简述

[0072] 图1为阶段1/1b临床试验的研究设计的示意图,其中向38位NHL(n=22)和CLL(n=16)患者给予TGR1202+Ublituximab+伊布替尼。NHL患者包括患有DLBCL,FL,MCL,SLL和MZL的那些。实施例1中提供患者组织学的详细情况。在第1天开始,每天一次给予TGR-1202和伊布替尼。在周期1的第1、8和15天以及在周期2,3,4,5,6,9和12的第1天给予Ublituximab输注(如箭头(↓)所示)。

[0073] 图2为描述在36位CLL和NHL患者中TGR-1202+Ublituximab+伊布替尼的组合效力

的柱状图。在接受至少一次基线后扫描的所有患者中，在疾病负担下与基线处的最佳百分率变化，从而评估疾病/肿瘤负担，并根据用于NHL和CLL的标准的国际工作组标准测定应答(参见实施例1中的引文)。

[0074] 图3为柱状图，其描绘在研究时具有多种组织学的患者的天数(持续时间)。在研究时，百分之八十一的患者超过六个月。在研究时中值时间为11.1个月(范围0.4-30.1+个月)。“PD”表示进行性疾病。

[0075] 图4为描述在36位CLL和NHL患者中TGR-1202+Ublituximab+伊布替尼的组合效力的表，其是在临床应答的比例(即，完全应答(CR)；部分应答(PR)；整体应答比例(ORR)；稳定的疾病(SD)；进行性疾病(PD))中反应的。

[0076] 发明详述

[0077] 定义

[0078] 为了有利于理解本发明，下文定义多个术语和短语。

[0079] 术语“CD20”(还称为B淋巴细胞CD20抗原、MS4A1、B淋巴细胞表面抗原B1、Bp35和白细胞表面抗原Leu-16)是指任何天然的CD20，除非另外说明。如本文所用，术语“CD20”涵盖“全长”未加工的CD20，以及在细胞内通过加工而得到的任何形式的CD20。该术语还涵盖CD20的天然形成的变体，例如拼接变体、等位基因变体和同种型。本发明所述的CD20多肽可以由多种来源分离得到，例如由人类组织类型或另一种来源；或者通过重组或合成方法制备。CD20序列的实例包括但不限于NCBI参考编号NP\_068769.2和NP\_690605.1。

[0080] 术语“抗体”是指通过免疫球蛋白分子的可变区内的至少一个抗原识别位点，识别并特异性结合靶物(例如蛋白质、多肽、肽、碳水化合物、多核苷酸、脂质或上述的组合)的免疫球蛋白分子。如本文所用，术语“抗体”涵盖完整的多克隆抗体、完整的单克隆抗体、抗体片段(例如Fab,Fab',F(ab')2和Fv片段)、单链Fv(scFv)突变体、多特异性抗体(例如由至少两个完整的抗体生成的双特异性抗体)、嵌合抗体、人源化抗体、人类抗体、融合蛋白质(包含抗体的抗原决定部分)以及任何其他改性的免疫球蛋白分子(包含抗原识别位点)，前体条件是抗体展现所需的生物学活性即可。根据免疫球蛋白的重链恒定结构域的性质(分别为 $\alpha$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 、 $\gamma$ 和 $\mu$ )，抗体可以为五种主要种类的免疫球蛋白的任意一种：IgA,IgD,IgE,IgG和IgM，或者它们的亚类(同型)(例如IgG1,IgG2,IgG3,IgG4,IgA1和IgA2)。不同种类的免疫球蛋白具有不同的且公知的亚基结构，以及三维构造。抗体可以是裸露的或者与其他分子缀合，例如毒素、放射性同位素等。

[0081] “阻断”抗体或“拮抗剂”抗体为抑制或降低它所结合的抗原(例如CD20)的生物活性的抗体。在某些实施方案中，阻断抗体或拮抗剂抗体基本上或完全抑制抗原的生物学活性。理想的是，生物学活性降低10%，20%，30%，50%，70%，80%，90%，95%或者甚至100%。

[0082] 术语“抗-CD20抗体”或“与CD20结合的抗体”是指如下抗体，其能够以足够的亲和性与CD20结合、使得抗体在靶向CD20中用作诊断和/或治疗试剂。抗-CD20抗体与不相关的非-CD20蛋白质结合的程度比抗体与CD20结合的程度低大约10%，这是通过例如放射性免疫测试(RIA)测量的。在某些实施方案中，与CD20结合的抗体具有 $\leq 1\mu M$ , $\leq 100nM$ , $\leq 10nM$ , $\leq 1nM$ 或 $\leq 0.1nM$ 的解离常数。

[0083] 术语“抗体片段”是指完整的抗体的部分，并其是指完整抗体的抗原决定可变区。

抗体片段的实例包括但不限于Fab,Fab',F(ab')<sub>2</sub>,Fv片段,线性抗体,单链抗体,以及由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0084] “单克隆抗体”是指单一抗原决定簇或抗原表位的高度特异性识别和结合中,所涉及的同源抗体群。这与多克隆抗体相反,多克隆抗体通常包含定向针对不同的抗原决定簇的不同的抗体。术语“单克隆抗体”涵盖完全的和全长的单克隆抗体、以及抗体片段(例如例如Fab,Fab',F(ab')<sub>2</sub>,Fv)、单链(scFv)突变体、包含抗体部分的融合蛋白质以及包含抗原识别位点的任何其他修饰的免疫球蛋白分子。此外,“单克隆抗体”是指以任意种方式制备的这种抗体,其包括但不限于杂交瘤、噬菌体选择、重组表达和转基因动物。

[0085] 术语“人源化抗体”是指非人类(例如鼠科)抗体的形式,其为免疫球蛋白链、嵌合免疫球蛋白或其包含最少非人类(例如鼠科)序列的片段。通常,人源化抗体为人类免疫球蛋白,其中得自互补性决定区(CDR)的残基被得自非人类物种(例如小鼠、大鼠、兔、仓鼠)的具有所需的特异性、亲和性和能力的CDR替代(Jones et al.,Nature 321:522-525 (1986); Riechmann et al.,Nature 332:323-327 (1988); Verhoeyen et al.,Science 239:1534-1536 (1988))。在一些情况下,人类免疫球蛋白的Fv框架区(FR)残基被得自非人类物种的具有所需的特异性、亲和性和能力的抗体中相应的残基替代。人源化抗体可以通过Fv框架区和/或被替代的非人类残基中其他残基的取代而进一步修饰,从而改善并优化抗体的特异性、亲和性和/或能力。通常,人源化抗体包含至少一个、通常为两个或三个可变结构域的几乎全部,其中所述的结构域包含相当于非人类免疫球蛋白的所有的或几乎所有的CDR区,而FR区的全部或几乎全部为人类免疫球蛋白共有序列的那些。人源化抗体还可以包含免疫球蛋白恒定区或结构域(Fc)的至少一部分,通常为人类免疫球蛋白的至少一部分。用于生成人源化抗体的方法的实例在美国专利No.5,225,539或5,639,641中描述。

[0086] 抗体的“可变区”是指单独的或组合的抗体轻链的可变区或抗体重链的可变区。重链和轻链的可变区均由十个框架区(FR)构成,所述的框架区通过三个互补性决定区(CDR)连接,还称为超变区。各链中的CDR通过FR密切接近地保持在一起,并且得自其他链的CDR有助于抗体的抗原结合位点的形成。具有至少两种技术用于测定CDR:(1)基于跨物种序列变异性的方法(即,Kabat et al.Sequences of Proteins of Immunological Interest,(5th ed.,1991,National Institutes of Health,Bethesda Md.));以及(2)基于抗原-抗体复合物的晶体学研究的方法(Al-lazikani et al,J.Molec.Biol.273:927-948 (1997))。此外,这两种方法的组合在本领域中有时用于测定CDR。

[0087] 当涉及可变结构域中的残基(轻链大约残基1-107,重链的残基1-113)时,通常使用Kabat编号系统(例如Kabat et al.,Sequences of Immunological Interest.5<sup>th</sup> Ed.Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,Md.(1991))。

[0088] 如同在Kabat中编号的氨基酸位置是指在Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,5<sup>th</sup> Ed.Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,Md.(1991)中,用于抗体编辑的重链可变结构域或轻链可变结构域的编号系统。使用该编号系统,实际上的线性氨基酸序列可以包含相当于可变结构域的FR或CDR的缩短序列或插入FR或CDR中的较少的或其他的氨基酸。例如重链可变结构域在H2的残基52之后可以包含单一的氨基酸插入物(根据Kabat,残基52a)以及在重链FR残基82之后插入的残基(例如根据Kabat,残基82a,82b或82c等)。通过将抗体序列的同源区域与“标准的”

Kabat 编号序列比对,对于给定抗体,可以测定残基的 Kabat 编号。相反, Chothia 是指结构环的位置 (Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196: 901-917 (1987))。当使用 Kabat 编号惯例时,根据环的长度, Chothia CDR-H1 环在 H32 和 H34 之间结束 (这是因为 Kabat 编号方案在 H35A 和 H35B 处放置插入物; 如果 35A 和 35B 不存在, 则环在 32 处结束; 如果仅 35A 存在, 则环在 33 处结束; 如果 35A 和 35B 存在, 则环在 34 处结束)。AbM 超变区代表了 Kabat CDR 和 Chothia 结构环之间的平衡, 并且被 Oxford Molecular's AbM 抗体建模软件使用。

环	Kabat	AbM	Chothia
L1	L24-L34	L24-L34	L24-L34
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L56
L3	L89-L97	L89-L97	L89-L97
H1	H31-H35B	H26-H35B <u>(Kabat 编号 !)</u>	H26-H32..34
[0089]			
H1	H31-H35	H26-H35 <u>(Chothia 编号 !)</u>	H26-H32
H2	H50-H65	H50-H58	H52-H56
H3	H95-H102	H95-H102	H95-H102

[0090] 术语“人类抗体”是指由人类生产的抗体或具有氨基酸序列的抗体, 其相当于使用本领域已知的任何技术制备的人生产的抗体。人类抗体的这种定义包括完整的或全长的抗体、其片段和/或包含至少一个人类重链和/或轻链多肽的抗体, 例如包含鼠科轻链和人类重链多肽的抗体。

[0091] 术语“嵌合抗体”是指其中免疫球蛋白分子的氨基酸序列是由两个或多个物种衍生得到的抗体。通常, 轻链和重链的可变区相当于由哺乳动物的一个物种(例如小鼠、大鼠、兔等)衍生得到的抗体的可变区, 并且具有所需的特异性、亲和性和能力, 同时恒定区与由另一个物种(通常为人类)衍生得到的抗体的序列同源, 从而避免在该物种中引发免疫应答。

[0092] 术语“抗原表位”或“抗原决定簇”在本文中可交换使用, 并且是指能够被特定抗体识别并特异性结合的抗原的部分。当抗原为多肽时, 抗原表位可以由连续的氨基酸和不连续的氨基酸(通过蛋白质的三级折叠并列设置)形成。由连续的氨基酸形成的抗原表位在蛋白质变性时, 通常得到保持, 而由三级折叠形成的抗原表位在蛋白质变性时, 通常失去。在独特的空间构造中, 抗原表位通常包含至少 2 个、更通常包含至少 5 个或 8-10 个氨基酸。

[0093] “结合亲和性”通常是指分子(例如抗体)及其结合伴侣(例如抗原)的单一结合位点之间非共价相互作用的总强度。除非另外指出, 否则如本文所用, “结合亲和性”是指内在结合亲和性, 其反映了结合对(例如抗体和抗原)成员之间的 1:1 相互作用。分子 X 与其伴侣 Y 的亲和性通常可以通过解离常数(Kd)表示。亲和性可以通过本领域已知的一般方法测量, 包括本发明所述的那些。低亲和性的抗体通常缓慢地结合抗体, 并且往往易于解离, 而高亲和性的抗体通常更快地结合抗原, 并且更长时间的保持结合。多种测量结合亲和性的方法是本领域已知的, 这些方法的任意一种都可以用于本发明的目的。具体的示意性实施方案在本发明中描述。

[0094] 当“或者更好”在本文中用于指结合亲和性时, 其是指分子及其结合伴侣之间的更

强的结合。当“或者更好”在本文中用于指更强的结合时,其是指更小的Kd数值。例如对抗原的亲和性为“0.6nM或更好”的抗体,抗体对抗原的亲和性为<0.6nM,即,0.59nM,0.58nM,0.57nM等,或者低于0.6nM的任何值。

[0095] 如本文所用,短语“基本相似的”或“基本相同的”表示两个数字(通常与本发明的抗原有关的数值以及与参照/比较抗体有关的另一个数值)之间足够高的相似程度,使得本领域的任一技术人员认为在通过所述的值(例如Kd值)测量的生物学特征的内容中,两个值之间的差异较小或者不具有生物学和/或统计学意义。所述的两个值之间的差异作为参照/比较抗体的值的函数,低于大约50%、低于大约40%、低于大约30%、低于大约20%或者低于大约10%。

[0096] 被“分离的”多肽、抗体、多核苷酸、载体、细胞或组合物为不能在自然界中找到的形式的多肽、抗体、多核苷酸、载体、细胞或组合物、分离的多肽、抗体、多核苷酸、载体、细胞或组合物包含这些:它们被纯化到一定程度,使得它们不在为在自然界中发现它们时的形式。在一些实施方案中,经分离的抗体、多核苷酸、载体、细胞或组合物是基本纯的。

[0097] 如本文所用,“基本纯的”是指至少50%纯的(即,不含污染物)、至少90%纯的、至少95%纯的、至少98%纯的或者至少99%纯的材料。

[0098] 术语“癌症”和“癌症的”是指或者描述哺乳动物的生理学状况,其中细胞群表征为不受控的或不受调节的细胞生长。癌症的实例包括例如癌,淋巴瘤,母细胞瘤,肉瘤和白血病。

[0099] 如本文所用,术语“B细胞增殖性紊乱”或“B细胞淋巴组织增生性紊乱”是指受试对象的疾病或紊乱,其中受试对象中的B细胞群是以过量的定量生产的,例如在B细胞恶性肿瘤(B细胞癌症)中所见。

[0100] 术语“B细胞癌症”或“B细胞恶性肿瘤”是指血液、骨髓或淋巴结中B细胞不受控的或不受调节的生长。本领域的任一技术人员应该理解的是B细胞恶性肿瘤是一种血液学恶性肿瘤,其包括淋巴瘤、白血病和骨髓瘤。B细胞恶性肿瘤可以是髓性的或侵入性的。可以使用本发明的方法或试剂盒治疗的血液学恶性肿瘤的非限定性实例包括急性淋巴细胞白血病(ALL),急性髓系白血病(AML),慢性淋巴细胞白血病(CLL),小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL),多发性骨髓瘤(MM),非Hodgkin淋巴瘤(NHL),外套细胞淋巴瘤(MCL),滤泡性淋巴瘤(FL),Waldenstrom巨球蛋白血症(WM),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),边缘区淋巴瘤(MZL)(其包括结外MZL,结节性MZL和脾脏MZL),毛细胞白血病(HCL),Burkitt淋巴瘤(BL)和Richter转化。在一些实施方案中,DLBCL为活化的B细胞DLBCL(ABC-DLBCL)、生发中心B细胞样DLBCL(GBC-DLBCL)、双重打击DLBCL(DH-DLBCL)或三重打击DLBCL(TH-DLBCL)。在一些实施方案中,某些CLL(或其他白血病,例如本发明所述的那些)由于存在一个或多个基因突变,而被认为是“高风险的”。如本文所用,例如“高风险”CLL是指表征为以下基因突变的至少一个的CLL:17p del;11q del;p53;未突变的IgVH以及ZAP-70+和/或CD38+;和三倍体12。

[0101] “肿瘤”和“赘生物”是指由良性的(非癌症的)或恶性的(癌症的)(包括癌前病变)过度细胞生长或增殖所导致的任意一块组织。

[0102] 术语“癌细胞”、“肿瘤细胞”和语法等价物是指由肿瘤或癌前病变衍生的总细胞群,包括非致瘤的细胞(其包含大部分肿瘤细胞群)和致瘤干细胞(癌症干细胞)。如本文所用,当术语“肿瘤细胞”单独指缺乏再生和分化能力以便区分这些肿瘤细胞与癌症干细胞的

那些细胞时,通过术语“非致瘤的”修饰。

[0103] 术语“受试对象”是指任何动物(例如哺乳动物),包括但不限于人类、非人类、啮齿动物等,其是指特定治疗的受体。通常,术语“受试对象”和“患者”在本发明中可交换使用,是指人类受试对象。

[0104] 细胞“群”可以指单个细胞或多个细胞。细胞或多个细胞可以是培养中的细胞(体外)或有机体中的细胞(体内)。例如细胞群可以是人类受试对象或患者。“B细胞群”是指单个B细胞或多个B细胞。本领域的任一技术人员应该理解,“B细胞”(还称为“B淋巴细胞”)是指淋巴细胞亚型的白细胞(WBC)类型。B细胞通过分离抗体在适应性免疫系统中发挥体液免疫成分的作用。

[0105] 术语“药物配制物”是指如下形式的制备物,其能够使活性组分的生物学活性是有效的,并且其不包含对给予该配制物的受试对象而言具有不可接受的毒性的其他成分。这种配制物可以无菌的。

[0106] 本发明所述的抗体或试剂的“有效量”为足以实现明确陈述的目的的量。本领域的那些技术人员可以凭经验并且以与所陈述目的有关的常规方式测定“有效量”。

[0107] 术语“治疗有效量”是指如本文所公开的试剂(例如单克隆抗体、小分子、化疗药品等)有效地“治疗”受试对象或哺乳动物的疾病或紊乱的量。在其中的情况下,治疗有效量的试剂或药品可以减少癌细胞的数量;减小肿瘤的尺寸;抑制(即,减慢至某一程度,在某些实施方案中,终止)癌细胞浸润至周围器官中;抑制(即,减慢至某一程度,在某些实施方案中,终止)肿瘤转移;抑制肿瘤生长达到某一程度;和/或减轻一种或多种与癌症有关的症状达到某一程度。参见本发明中“治疗”的定义。对于药品可以抑制生长和/或杀死存在的癌细胞的程度而言,其可以是抑制细胞的和/或细胞毒性的。“预防有效量”是指在一定剂量和所需的时间内,有效取得所需的预防结果的量。通常但不是必须的,由于预防剂量在疾病之前或在疾病的前期阶段用于受试对象,所以预防有效量低于治疗有效量。

[0108] 术语例如分词形式的“治疗”、名词形式的“治疗”、将来形式的“治疗”、“具有治疗作用”、分词形式的“减轻”、将来形式的“减轻”或“减慢进程”是指1)治愈、减慢、减轻所诊断的病理学状况或紊乱(例如血液学恶性肿瘤)的症状,和/或阻止其进展的治疗性量度;和2)预防和/或减慢靶向病理学状况或紊乱的发展的预防性或预防量度。因此,需要治疗的那些包括已经患有所述的紊乱的那些;倾向于患有所述的紊乱的那些;以及其中所述的紊乱有待于抑制的那些。在某些实施方案中,如果患者显示以下的一种或多种,则根据本发明的方法,受试对象成功治疗癌症:减少恶疾,增加生存时间,延长肿瘤进展的时间,减少肿瘤的质量,减轻肿瘤负担和/或延长肿瘤转移的时间、延长肿瘤复发或进行性疾病、肿瘤应答、完全应答(CR)、部分应答(PR)、稳定疾病、无病进展生存期(PFS)、总体生存率(OS)的时间,其均是由the National Cancer Institute and the U.S.Food and Drug Administration针对新药批准设定的标准来测量的。参见Johnson et al, J.Clin.Oncol.21:1404-1411 (2003)。在一些实施方案中,如上文所定义,“治疗有效的”还涵盖毒性或不利副作用的减少,和/或耐受性的改善。

[0109] 抗-CD20抗体(例如ublituximab),P13K-δ选择性抑制剂(例如TGR-1202)和BTK抑制剂(例如伊布替尼)的“组合”与“试剂的组合”通常同义的。“试剂的组合”是指这三种试剂的每一种的至少一种(可以超过一种类型的各种试剂)同时和/或依次给予相同的B细胞群

或相同的受试对象。因此,例如在给予P13K-δ选择性抑制剂之前或之后(例如小时(多个)、天(多个)、周(多个)或月(多个))、在给予BTK抑制剂之前或之后(例如小时(多个)、天(多个)、周(多个)或月(多个)),给予抗-CD20抗体,构成给予试剂的组合。本领域的任一技术人员由内容显而易见的是,“试剂的组合”还可也包括抗-CD20抗体(例如ublituximab),P13K-δ选择性抑制剂(例如TGR-1202)和BTK抑制剂、以及一种或多种其他的治疗试剂,如本文所述。此外,同时给予抗-CD20抗体或其片段、P13K-δ选择性抑制剂和BTK抑制剂也构成给予抗-CD20抗体或其片段、P13K-δ选择性抑制剂和BTK抑制剂的组合,而不管抗-CD20抗体或其片段、P13K-δ选择性抑制剂和BTK抑制剂是否在单一的药物配制物一起给予,或者在分开的药物配制物中以相同的或不同的给予途径同时给予。此外,术语“试剂的组合”意图包括其中通过相同的或不同的给予途径、或者在相同的时间或不同的时间给予多种试剂的治疗方案。

[0110] 如本文所用,术语“诱导”或“诱导治疗”是指给予以用于治疗B细胞增殖性紊乱的本发明公开的第一试剂或试剂的组合。如果第一试剂或试剂的组合不能得到完全应答或其导致严重的副作用,则可以加入或者替代使用其他试剂(参见“巩固”部分)。诱导还称为原始疗法或原始治疗,并且以诱导疾病负担产生一些初始的降低为目标而给予。例如诱导治疗可以包括使用抗-CD20抑制剂和P13K-δ抑制剂。

[0111] 如本文所用,“巩固”或“巩固治疗”是指在诱导治疗后给予的治疗。巩固治疗用于杀死在诱导治疗后在肌体中可能残留的任何恶性B细胞。例如如果抗-CD20抑制剂和P13K-δ抑制剂用作诱导治疗,则巩固治疗可以包括使用BTK抑制剂。巩固还称为强化治疗。

[0112] 如本文所用,“维持”或“维持治疗”是指在使用初始治疗的成功治疗后给予以帮助保持B细胞增殖性紊乱免疫复发的治疗。维持治疗可以包括使用在巩固阶段中使用的相同的试剂进行治疗,并且在该阶段中的试剂可以在延长的时间内给予。

[0113] 在公认的动物模型或人类临床试验中,对治疗“未应答”、“较差的应答”或者“难治的”肿瘤(例如使用抗-CD20抗体),或者对原始治疗产生应答但随着治疗继续仍生长的肿瘤,与未治疗或使用安慰剂治疗比较,所述的肿瘤对所述的治疗的应答未显示统计学意义的改善。

[0114] “多核苷酸”或“核酸”在本文中可交换使用,是指任何长度的核苷酸的聚合物,并且包括DNA和RNA。核苷酸可以是脱氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、修饰的核苷酸或碱基、和/或它们的类似物或者可以通过DNA或RNA聚合物引入聚合物中的任何底物。多核苷酸可以包含改性的核苷酸,例如甲基化的核苷酸和它们的类似物。核苷酸结构的修饰如果存在,则可以在聚合物组装之前或之后进行。核苷酸的序列可以通过非核苷酸成分中断。

[0115] 术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”在本文中可交换使用,是指任何长度的氨基酸的聚合物。该聚合物可以是线性的或支化的,其可以包含改性氨基酸,并且其可以被非氨基酸中断。所述的术语还涵盖天然改性的或通过干预改性的氨基酸聚合物;例如二硫键形成,糖基化,脂质化,乙酰化,磷酸化或者任何其他的操作或修饰,例如与标记成分缀合。还包含在所述的定义内的是例如包含氨基酸的一个或多个类似物(例如包括非天然的氨基酸等)以及包含本领域已知的其他改性的多肽。应该理解的是,由于本发明的多肽是基于抗体,所以在某些实施方案中,所述的多肽可以形成单链或结合链。

[0116] 在两个或多个核酸或多肽的内容中,术语“一致的”或百分“一致性”是指在比较和

比对(如果需要,引入空隙)以达到最大对应时,相同的或者具有特定百分率的相同的核苷酸或氨基酸残基的两个或多个序列或亚序列,但是不能将任何保守的氨基酸取代视为序列一致性的一部分。使用序列比较软件或算法、或者通过视觉检查,测量百分一致性。本领域已知多种算法和软件可以用于获得氨基酸或核苷酸序列的比对。序列比对算法的一个此类非限定性实例为Karlin等人在Proc.Natl.Acad.Sci.,87:2264-2268(1990)中所述的算法(其在Karlin et al., Proc.Natl.Acad.Sci., 90:5873-5877(1993)中修改),并被引入到NBLAST和XBLAST程序中(Altschul et al., Nucleic Acids Res., 25:3389-3402(1991))。在某些实施方案中,如Altschul et al., Nucleic Acids Res., 25:3389-3402(1997)中所述,可以使用Gapped BLAST。BLAST-2,WU-BLAST-2(Altschul et al., Methods in Enzymology, 266:460-480(1996)), ALIGN, ALIGN-2(Genentech, South San Francisco, California) 或 Megalign(DNASTAR) 均为其他公共可利用的可以用于比对序列的软件程序。在某些实施方案中,使用GCG软件中的GAP程序,测定两个核苷酸序列之间的百分一致性(例如使用NWSgapdna.CMP矩阵,并且间隙权重为40,50,60,70或90,长度权重为1,2,3,4,5或6)。在某些备选的实施方案中,引入Needleman和Wunsch(J.Mol.Biol.48:444-453(1970))的算法的GCG软件包中的GAP程序可以用于测定两个氨基酸序列之间的百分一致性(例如使用Blossum 62或者PAM250矩阵,并且间隙权重为16,14,12,10,8,6或4,长度权重为1,2,3,4,5)。备选地,在某些实施方案中,使用Myers和Miller(CABIOS,4:11-17(1989))的算法,测定核苷酸或氨基酸序列之间的百分一致性。例如使用ALIGN程序(2.0版)并使用PAM120,测定百分一致性,其中具有残基表、间隙长度罚分为12,间隙罚分为4。本领域的任一技术人员可以测定特定比对软件为了最大比对而使用的合适的参数。在某些实施方案中,使用比对软件的缺省参数。在某些实施方案中,第一氨基酸序列与第二序列氨基酸的百分一致性“X”计算为 $100 \times (Y/Z)$ ,其中Y为在第一和第二序列的比对(通过视觉检查或者特定的序列比对程序比对)中评分为相同匹配的氨基酸残基的数量,并且Z为第二序列中残基的总数。如果第一序列的长度长于第二序列,第一序列与第二序列的百分一致性大于第二序列与第二序列的百分一致性。

[0117] 一个非限定性实例,如果任何特定的多核苷酸与参照序列具有某些百分序列一致(例如至少80%一致的、至少85%一致的、至少90%一致性的,在一些实施方案中,至少95%,96%,97%,98%或99%一致的),在某些实施方案中,可以使用Bestfit程序测定(Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 for Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Madison, WI 53711)。Bestfit使用Smith和Waterman, Advances in Applied Mathematics 2:482-489(1981)的局部同源性算法,发现两个序列之间最佳的同源性链段。当根据本发明使用Bestfit或任何其他序列比对程序测定特定序列与参照序列是否是例如95%一致的,则设定参数,使得在参照核苷酸序列的全长上计算一致性的百分率,并且允许在参照序列中至多5%的核苷酸总数的同源性间隙。

[0118] 在一些实施方案中,本发明的两个核酸或多肽基本上是一致的,这意味着当为了达到最大对应进行比较和比对时,它们具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%,并且在一些实施方案中为至少95%、96%、97%、98%、99%核苷酸或氨基酸残基一致性,这是使用序列比较算法或通过视觉检查测量的。在某些实施方案中,在长度为至少大约

10, 大约20, 大约40–60个残基或者它们之间的任何整数值的序列区域上, 或者在比60–80个残基、至少大约90–100个残基更长的区域上存在一致性, 或者序列在所比较的全长序列上基本上是一致的, 例如核苷酸序列的编码区域。

[0119] 在本发明公开中表示量、材料的比例、材料的物理性质和/或用途的所有数字都可以理解为通过词语“大约”修饰, 除非以其他方式清除表明。当术语“大约”用于指数字或数字范围时, 其是指在试验变异范围(或者在统计学试验误差范围内)内被称为近似值的数字或数字范围, 因此数字或数字范围可以在所述的数字或数字范围的1%至15%之间改变。

[0120] 本发明的化合物可以包含一个或多个不对称中心(手性中心), 因此可以形成对映异构体、非对映异构体和其他立体异构体形式, 根据绝对立体化学, 其可以定义为(R)-或(S)-。本发明公开是指涵盖所有这种可能的形式以及它们的外消旋和拆分形式, 以及它们的混合物。基于本发明公开, 可以根据本领域已知的方法分离单一的对映异构体。

[0121] 如本文所用, 术语“立体异构体”为用于单一分子的所有异构体的一般术语, 其仅在原子的空间取向中不同。其包含对映异构体和具有多于一个手性中心的化合物的异构体(彼此非镜像(非对映异构体))。

[0122] 术语“手性中心”是指连接四个不同基团的碳原子。

[0123] 术语“对映异构体”和“对映异构的”是指不能附加在镜像上并因此是光学活性的分子, 其中对映异构体在一个方向上旋转偏振光的平面, 并且其镜像化合物在相反的方向上旋转偏振光的平面。

[0124] 术语“外消旋的”是指等份对映异构体的混合物, 并且其混合物是非光学活性的。

[0125] 术语“拆分”是指分离、浓缩或耗尽分子的两种对映异构体形式的一种。

[0126] 本发明公开涵盖本发明的化合物的溶剂化物。溶剂化物通常不显著地改变化合物的生理学活性或毒性, 并且可以原样发挥药理学等价物的作用。如本文所用, 术语“溶剂化物”为本发明公开的化合物与溶剂分子的组合、物理结合和/或溶剂化, 例如溶剂化物、一溶剂化物或半溶剂化物, 其中溶剂分子与本发明公开的化合物的比例分别为大约2:1, 大约1:1或大约1:2。这种物理结合涉及程度改变的离子和共价键, 包括氢键。在某些例子中, 可以分离溶剂化物, 例如在一种或多种溶剂分子被引入结晶固体的晶格中时。因此, “溶剂化物”涵盖溶液相和可分离的溶剂化物。本发明的化合物可以与药物可接受的溶剂形成溶剂化的形式存在, 例如水、甲醇、乙醇等, 并且本发明公开意图包含本发明的化合物的溶剂化和非溶剂化形式。一种类型的溶剂化物为水合物。“水合物”涉及特定的一小组溶剂化物, 其中溶剂分子为水。溶剂化物通常可以发挥药物等价物的作用。溶剂化物的制备是本领域已知的。例如参见Caira, M. et al., J. Pharmaceut. Sci. 93:601–611 (2004); van Tonder, E.C. et al., AAPS Pharm. Sci. Tech. 5 (1): Article 12 (2004); and Bingham, A.L. et al., Chem. Commun. 603–604 (2001)。制备溶剂化物的典型的非限定性工艺涉及在大约20°C至大约25°C的温度下将本方面的化合物溶解于所需的溶剂(有机物、水或它们的混合物)中, 然后以足以形成晶体的速度冷却溶液, 并通过已知的方法分离晶体, 例如过滤。分析技术(例如红外光谱仪)可以溶液证明溶剂在溶剂化物的晶体中的存在。

[0127] 术语“前药”是指这样的化合物, 其为化合物的非活性前体, 在肌体内通过正常的代谢过程转化成活性形式。前药的设计通常在Hardman, J.G. et al. (eds.), Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9<sup>th</sup> ed., pp. 11–16 (1996) 中讨

论。全面的讨论在Higuchi et al., Prodrugs as Novel Delivery Systems, Vol.14, ASCD Symposium Series和Roche (ed.), Bioreversible Carriers in Drug Design, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press (1987) 中提供。为了说明,通过例如酯键或酰胺键的水解,前药可以转化成药物活性形式,由此在所得的产物上引入或暴露官能团。前药可以被设计成与内源化合物反应,从而形成水溶性缀合物,其进一步增强化合物的药物性质,例如增长的循环半衰期。备选地,前药可设计成使用例如葡萄糖醛酸、硫酸盐、谷胱甘肽、氨基酸或乙酸盐在官能团上形成共价修饰。所得的缀合物可以是非活性的,并且在尿中排泄,或者使得所得的缀合物比母体化合物更有效。高分子量的缀合物还可以被排泄至胆汁中,经过酶切割,并释放返回至循环中,由此有效地增加初始给予的化合物的生物学半衰期。本发明的化合物的前药意图涵盖在本发明的范围内。

[0128] 本发明还包括仅在一个或多个富含同位素的原子存在下具有差异的化合物,例如氢被氘或氚替代,或者碳被富含<sup>13</sup>C或<sup>14</sup>C的碳替代。本发明的化合物在构成该化合物的一个或多个原子处还可以包含非天然比例的原子同位素。例如可以使用放射性同位素放射性标记化合物,例如氚(<sup>3</sup>H)、碘-125(<sup>125</sup>I)或碳-14(<sup>14</sup>C)。本发明的化合物的所有同位素变体,无论是放射活性的还是非放射活性的,都涵盖在本发明的范围内。

[0129] 本发明公开进一步涵盖本发明的化合物的盐,包括非毒性的药物可接受的盐。药物可接受的加成盐的实例包括无机和有机酸加成盐和碱盐。药物可接受的盐包括但不限于金属盐,例如钠盐、钾盐、铯盐等;碱土金属,例如钙盐、镁盐等;有机胺盐,例如三乙基胺盐、吡啶盐、甲基吡啶盐、乙胺盐、三乙胺盐、二环己基胺盐、N,N'-二苄基亚乙基二胺盐等;无机酸盐,例如盐酸盐、氢溴酸盐、磷酸盐、硫酸盐等;有机酸盐,例如柠檬酸盐、乳酸盐、酒石酸盐、马来酸盐、延胡索酸盐、扁桃酸盐、乙酸盐、二氯乙酸盐、三氟乙酸盐、草酸盐、甲酸盐、琥珀酸盐、巴莫酸盐、安息香酸盐、水杨酸盐、抗坏血酸盐、甘油磷酸盐、酮戊二酸盐等;磺酸盐,例如甲磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐等;天然氨基酸的盐,例如甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、正亮氨酸、酪氨酸、胱氨酸、半胱氨酸、甲硫氨酸、脯氨酸、羟脯氨酸、组氨酸、鸟氨酸、赖氨酸、精氨酸和丝氨酸;以及非天然氨基酸的盐,例如D-二聚体或取代的氨基酸;胍的盐;以及取代的胍的盐,其中取代基选自硝基、氨基、烷基、烯基、炔基、铵、或者取代的铵盐和铝盐。

[0130] 用于生物学活性试剂的术语“选择性抑制剂”是指与脱靶信号传递的活性相比,通过与靶物直接或间接的相互作用,所述的试剂选择性降低靶向信号传递活性的能力。

[0131] 术语“P13K-δ选择性抑制剂”(还称为P13K-δ抑制剂)是指这样的化合物,与P13K家族(a、b和g)的其他同种型相比,其更高效地选择性地抑制P13K-δ同种型的活性。在一些实施方案中,P13K-δ选择性抑制剂是指式A所示的化合物,如本发明所述,与P13K家族(a、b和g)的其他同种型相比,其更高效地选择性地抑制P13K-δ同种型的活性。例如式A所示的P13K-δ选择性抑制剂可以为这样的化合物,与δ型P13-激酶相比,所述的化合物展现出50%抑制浓度(IC<sub>50</sub>),这与其他型P13K同种型(即,a、b和g)的抑制IC<sub>50</sub>相比,低至少20倍或更低。

[0132] 术语“Bruton酪氨酸激酶”(还称为“BTK”,无丙种球蛋白酪氨酸激酶(ATK),或者B细胞祖细胞激酶(BPK))是指在B细胞抗原受体(BCR)信号传递途径中非受体酪氨酸激酶。BTK(蛋白质酪氨酸激酶的Tec家族成员)在发育的多个阶段主要在B淋巴细胞中表达(除了最终分化的浆细胞)。BTK为信号传导蛋白质,其调节正常的B细胞发育、分化和发挥功能,并

且还涉及成熟B细胞淋巴组织增生性紊乱的起始、生存和进展，例如B细胞恶性肿瘤。Akinleye,A.等人,J.Hematol.Oncol.6:59(2013)。如本文所用,BTK得自智人,如美国专利No.6,326,469(Gen Bank Acc.No.NP\_000052)所公开。

[0133] “BTK的抑制剂”或“BTK抑制剂”是指靶向BTK并抑制BTK酪氨酸磷酸化和/或B细胞活化,和/或以其他方式抑制或降低或消除BTK蛋白质的生物学活性的小分子。“不可逆的BTK抑制剂”是指在与BTK接触时,导致与BTK的氨基酸残基形成新的共价键的分子。BTK的可逆和不可逆的抑制剂都可以用于本发明的方法和试剂盒中。

[0134] 如本文所用,术语“协同作用”是指通过化合物的组合给予而产生的高于加和(greater-than-additive)的治疗作用,其中使用所述的组合而获得的治疗作用超过了以其他方式由单独给予单独的化合物而得到的加和的作用。本发明的实施方案包括在血液学癌症的治疗中产生协同作用的方法,其中所述的作用比相应的加和作用高至少5%,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100%,至少200%,至少500%或至少1000%。

[0135] 如本文所用,“治疗协同作用”是指如本文所述,试剂的组合给予(即,抗-CD20抗体、式A所示的P13K-δ选择性抑制剂和BTK抑制剂)会产生比抗-CD20抗体、式A所示的P13K-δ选择性抑制剂和BTK抑制剂(单独使用时和/或两种试剂组合时)的加和作用更高的治疗作用。

[0136] 如本发明公开和权利要求书所用,单数形式“a”、“an”和“the”包括复数形式,除非内容中另外清楚地表明。

[0137] 应该理解的是,本发明中使用语言“包含”来描述实施方案时,还提供以“由……组成”和/或“基本上由……组成”所描述的其他类似的实施方案。

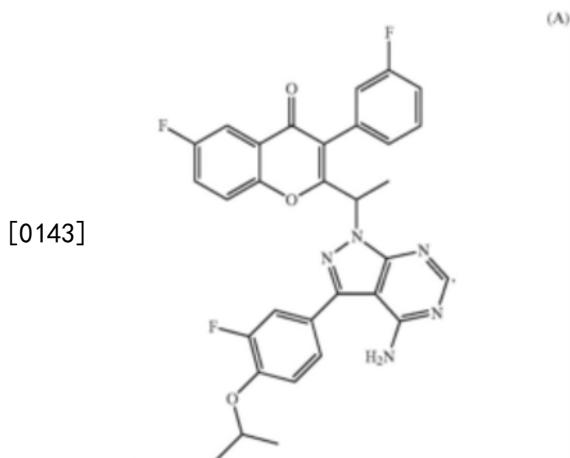
#### [0138] 方法

[0139] 在一个方面中,本发明提供了抑制B细胞群增生的方法,其包括(a)向B细胞群给予治疗有效量的试剂的组合,所述的试剂的组合包含:(i)至少一种P13K-δ选择性抑制剂;(ii)至少一种抗-CD20抗体;以及(iii)至少一种Bruton酪氨酸激酶(BTK)的抑制剂;以及(b)抑制所述的B细胞群的增殖。

[0140] 在另一个方面中,本发明提供了抑制B细胞群增殖的方法,包括:

[0141] (a)向所述的B细胞群给予治疗有效量的试剂的组合,所述的试剂的组合包含:

[0142] (i)选自以下的一种或多种的式A所示的至少一种P13K-δ选择性抑制剂,或其立体异构体,或其药物可接受的盐、溶剂化物或前药:



- [0144] (RS)-2-(1-(4-氨基-3-(3-氟代-4-异丙氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基)乙基)-6-氟代-3-(3-氟代苯基)-4H-色烯-4-酮；
- [0145] (S)-2-(1-(4-氨基-3-(3-氟代-4-异丙氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基)乙基)-6-氟代-3-(3-氟代苯基)-4H-色烯-4-酮；和
- [0146] (R)-2-(1-(4-氨基-3-(3-氟代-4-异丙氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基)乙基)-6-氟代-3-(3-氟代苯基)-4H-色烯-4-酮；
- [0147] (ii) 至少一种抗-CD20的抗体，其中至少一种抗-CD20的抗体为ublituximab、抗-CD20的抗体或者与ublituximab相同的抗原表位结合的抗体片段；和
- [0148] (iii) 至少一种Bruton酪氨酸激酶(BTK)的抑制剂；以及
- [0149] (b) 抑制所述的B细胞群的增殖。
- [0150] 在一些实施方案中，抑制B细胞群增殖的方法包括耗尽B细胞。在一些实施方案中，该方法对癌症复发的受试对象是有效的。
- [0151] 在一些实施方案中，抑制B细胞群增殖的方法包括促进所述的B细胞的凋亡。
- [0152] 在一些实施方案中，抑制B细胞群增殖的方法包括促进细胞周期停滞。
- [0153] 在一些实施方案中，抑制B细胞群增殖的方法耗尽B细胞。
- [0154] 在一些实施方案中，抑制B细胞群增殖的方法包括阻断B细胞受体(BCR)信号传递途径。
- [0155] 在一些实施方案中，抑制B细胞群增殖的方法是治疗受试对象的B细胞增殖性紊乱。在一些实施方案中，B细胞增殖性紊乱为血液学恶性肿瘤。在一些实施方案中，血液学恶性肿瘤选自急性淋巴细胞白血病(ALL)，急性髓系白血病(AML)，慢性淋巴细胞白血病(CLL)，小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL)，多发性骨髓瘤(MM)，非Hodgkin淋巴瘤(NHL)，外套细胞淋巴瘤(MCL)，滤泡性淋巴瘤(FL)，Waldenstrom巨球蛋白血症(WM)，弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)，边缘区淋巴瘤(MZL)，Burkitt淋巴瘤(BL)，毛细胞白血病(HCL)和Richter转化。
- [0156] P13K-δ选择性抑制剂
- [0157] 磷酸肌醇3激酶(P13K)为在每个细胞类型中通过生成磷酸肌醇第二信使分子来调节多样的生物学功能的酶家族。P13K涉及多种细胞功能，包括细胞增殖和存活、细胞分化、细胞内运输和免疫力。由于这些磷酸肌醇第二信使的活性是通过它们的磷酸化状态确定的，所以发挥改性这些脂质作用的激酶和磷酸酶是正确执行细胞内信号传递事件的中心。P13K在肌醇环的3-羟基残基处将脂质磷酸化(Whitman et al., Nature 332:664 (1988))，

从而生成磷酸化的磷脂(PIP3),其作为第二信使,募集具有脂质结合结构域的激酶(包含plekstrin同源(PH)区域),例如Akt和磷酸肌醇依赖性激酶-1(PDK1)。Akt与膜PIP3结合导致Akt转位至细胞质膜中,使Akt与PDK1接触,其负责活化Akt。肿瘤抑制剂磷酸酶PTEN(在染色体Ten上被删除的磷酸酶和张力蛋白同源序列)使PIP3脱磷酸化,因此起到Akt活化的负调节剂的作用。P13K Akt和PDK1在许多细胞过程的调节中是重要的,包括细胞周期调节、增殖、生存、凋亡和运动性,并且是疾病的分子机制的重要成分,例如癌症、糖尿病和免疫炎症(Vivanco et al., Nature Rev.Cancer 2:489 (2002); Phillips et al., Cancer 83:41 (1998))。

[0158] P13K家族由四种不同的种类组成:I, II, III和IV类。I-III类为脂质激酶, IV类为丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。

[0159] P13K的I类家族的成员为调节和催化亚基的二聚体。I类家族由四种同种型构成,通过110kDa催化亚基a,b,g和d确定。参见Engelman, J.A., Nat Rev Genet 7:606-619 (2006); Carnero, A., Curr Cancer Drug Targets 8:187-198 (2008); 和Vanhaesebroeck, B., Trends Biochem Sci 30:194-204 (2005)。I类可以细分成两个亚类:Ia类,通过p110a,b和d、以及调节亚基(p85,p55或p50)的组合形成;而Ib类,通过p110g和p101调节亚基形成。P13K的δ(d)同种型在造血起源的细胞中高度表达,并受到强烈的上调调节,并且在多种血液恶性肿瘤中突变。

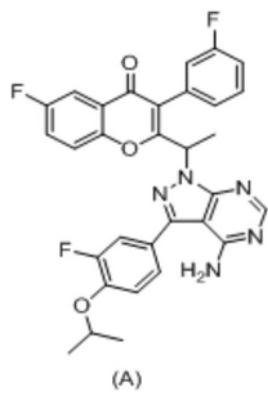
[0160] 关于P13K和相关的蛋白激酶途径的研究已经由多个研究组公开,包括Liu等人,Nature Reviews Drug Discovery 8:627-644 (2009);Nathan等人,Mol.Cancer Ther.8 (1) (2009);和Marone等人,Biochimica et Biophysica Acta 1784:159-185 (2008)。两种已知的P13K抑制剂(LY294002和渥曼青霉素)是非特异性P13K抑制剂,这是因为它们不能区分I类P13K的四个成员:a,β,γ和δ。多种P13K抑制剂已经进入临床试验用于治疗癌症和多种类型的癌症(包括乳腺癌、非小细胞肺癌(NSCLC)和血液学癌症),并且被视为受到关注的治疗领域。

[0161] P13K-δ选择性抑制剂的一个实例为艾代拉里斯(商品名Zydelig®),其由U.S.FDA在2014年批准用于治疗复发的CLL(与美罗华®组合;参见Furman, R.R. et al., N. Eng. J. Med. 370:997-1007 (2014));复发的滤泡B细胞非Hodgkin淋巴瘤(FL)和复发的小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL)(另一种类型的非Hodgkin淋巴瘤)。参见Zydelig®的全部描述信息(Gilead Sciences)。艾代拉里斯具有独特的且有限的毒性概况,包括免疫介导的大肠炎(级别3≥5%)、肺炎(级别3≥4%)和转氨酶升高(级别3≥8%)。因此,FDA对Zydelig®的批准伴有黑框警告,注意致命的且严重的毒性的可能性,包括肝脏、严重腹泻、大肠炎、肺炎和肠穿孔。Id。

[0162] P13K-δ选择性抑制剂的另一个实例为duvelisib(IPI-145)。参见O'Brian, S.等人,Blood 124:Abstract 3334 (2014)。尽管duvelisib在研发剂量(25mg每天两次)下靶向P13K-δ和γ,但是其主要仅抑制δ同种型。Id。另一种P13K-δ选择性抑制剂为ACP-319(之前为AMG-319)。参见Lanasa, M.C.等人,Blood 122:Abstract 678 (2013)。ACP-319目前由Acerta Pharma B.V.研发。ME-401是由MEI Pharma研发的新型口服P13K-δ选择性抑制剂。参见Moreno, O.等人,"Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of ME-401,

an Oral, Potent, and Selective Inhibitor of Phosphatidylinositol3-Kinase P110 $\delta$ , Following Single Ascending Administration to Healthy Volunteers" (Abstract # CT157), 在 the American Association for Cancer Research (AACR) Annual Meeting, New Orleans (April 16-20, 2016) 呈现。INCB-50465 是由 Incyte Corporation 研发的另一种 PI3K- $\delta$  选择性抑制剂, 其在 I/II 期临床试验中用于治疗 B 细胞恶性肿瘤。参见 Forero-Torres, A. 等人, "Preliminary safety, efficacy, and pharmacodynamics of a highly selective PI3K $\delta$  inhibitor, INCB050465, in patients with previously treated B-cell malignancies" (Abstract # CT056), 在 the AACR Annual Meeting, New Orleans (April 16-20, 2016) 呈现。

[0163] 如本文所提供的，至少一种P13K- $\delta$ 选择性抑制剂用于本发明的方法(和试剂盒)中。在一个实施方案中，如本发明所述与抗-CD20抗体和BTK抑制剂组合使用的P13K- $\delta$ 选择性抑制剂为式A所示的化合物：



[0164]

[0165] 或者其立体异构体，或者其药物可接受的盐、溶剂化物或前药。在优选的实施方案中，式A所示的化合物为选自以下的一种或多种：

[0166] (RS)-2-(1-(4-氨基-3-(3-氟代-4-异丙氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基)乙基)-6-氟代-3-(3-氟代苯基)-4H-色烯-4-酮；

[0167] (S)-2-(1-(4-氨基-3-(3-氟代-4-异丙氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基)乙基)-6-氟代-3-(3-氟代苯基)-4H-色烯-4-酮；以及

[0168] (R)-2-(1-(4-氨基-3-(3-氟代-4-异丙氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基)乙基)-6-氟代-3-(3-氟代苯基)-4H-色烯-4-酮。

[0169] 可以使用在国际专利申请公开No.WO 2011/055215 A2和美国专利申请公开No.2011/0118257 A1中所公开的一般合成方法,制备式A所示的P13K-8抑制剂。

[0170] 在一些实施方案中，每天给予受试对象如下剂量的P13K-δ抑制剂：大约200mg至大约1200mg，大约400mg至大约1000mg，大约400mg至大约800mg，大约400mg，大约500mg，大约600mg，大约700mg，大约800mg，大约900mg，大约1000mg或大约1200mg。

[0171] 在一些实施方案中，式A所示的P13K-δ抑制剂为(S)-2-(1-(4-氨基-3-(3-氟代-4-异丙氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基)乙基)-6-氟代-3-(3-氟代苯基)-4H-色烯-4-酮。

[0172] 在优选的实施方案中,式A所示的P13K-8抑制剂为(S)-2-(1-(4-氨基-3-(3-氟代-4-异丙氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基)乙基)-6-氟代-3-(3-氟代苯基)-4H-色烯-4-酮p-甲苯磺酸(PTSA)盐(还称为(S)-2-(1-(4-氨基-3-(3-氟代-4-异丙氧基苯基)-

1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基)-乙基)-6-氟代-3-(3-氟代苯基)-4H-色烯-4-酮4-甲基苯磺酸盐,TGR-1202和umbralisib)。

[0173] TGR-1202的制备在国际公开No.WO 2014/006572和美国专利公开No.2014/0011819中描述,其中的每一份文献均以引用方式全文并入本文。除了描述TGR-1202的合成以外,WO 2014/006572和US 2014/0011819还公开了该分子抑制、调节和/或调控P13K的信号传导的治疗活性。在美国专利No.9,150,579中还描述了TGR-1202,其于2015年10月6日发行。国际公开No.WO 2015/181728(以引用方式全文并入本文)描述了TGR-1202的固体状态形式,其在口服给予时展现出增强的溶解性和药代动力学。这些申请和专利的每一份的全部内容以引用方式并入本文。

[0174] TGR-1202(或umbralisib)为下一代P13K- $\delta$ 抑制剂,其具有独特的分子结构,并且在研发中具有不同于其他P13K- $\delta$ 抑制剂的活性概况,包括:(1)对P13K的 $\delta$ 同种型具有更高的选择性;(2)能够进行每天一次给药剂量的延长的半衰期;以及(3)对于肝脏毒性和大肠炎而言显著的是,不同于其他P13K- $\delta$ 抑制剂的安全性概况。

[0175] 在复发的和难以治愈的血液学恶性肿瘤患者中,在单一试剂的I期剂量递增研究中,评价TGR-1202(例如参见Burris et al., "Activity of TGR-1202, a novel once-daily PI3K $\delta$  inhibitor, in patients with relapsed or refractory hematologic malignancies," J.Clinical Oncology (ASCO Annual Meeting Abstracts) 32 (15) :2513 (2014))。该研究报告,TGR-1202在复发的或者难治愈的血液学恶性肿瘤患者中良好地耐受,并且在每天剂量 $\geq 800\text{mg}$ 下未报告肝脏毒性和临床活性迹象。Id.在长期随访中,还证明TGR-1202比现有抑制剂的有利的安全性概况。参见Burris,H.等人, "Long-term follow-up of the PI3K delta inhibitor TGR-1202 demonstrates a differentiated safety profile and high response rates in CLL and NHL: Integrated-analysis of TGR-1202 monotherapy and combined with ublituximab," American Society of Clinical Oncology Annual Meeting (ASCO), Abstract#7512 (June 3, 2016)。

[0176] 在一些实施方案中,每天以大约400mg至大约1200mg的剂量给予TGR-1202。在一些实施方案中,每天以大约400mg的剂量给予TGR-1202。在一些实施方案中,每天以大约600mg的剂量给予TGR-1202。在一些实施方案中,每天以大约800mg的剂量给予TGR-1202。

[0177] 在一些实施方案中,P13K- $\delta$ 抑制剂配制用于口服给予。在某些实施方案中,P13K- $\delta$ 抑制剂为TGR-1202,并且其配制用于每天口服给予。在某些实施方案中,TGR-1202以分批状态给予。

#### [0178] 抗-CD20抗体

[0179] CD20是一种疏水性跨膜磷蛋白,其主要在人类和小鼠的前B细胞和成熟外周B细胞中表达。在人类中,CD20还在大部分的成熟B细胞恶性肿瘤中强烈且均匀地表达,例如大部分的非HodgkinB细胞淋巴瘤(NHL)和B型慢性淋巴细胞白血病(B-CLL)。CD20抗原在造血干细胞或浆细胞上不表达。

[0180] 抗-CD20单克隆抗体已经并且持续地研发用于治疗B细胞疾病。嵌合抗-CD20单克隆抗体利妥昔单抗(美罗华®)已经成为用于多种CD20阳性B细胞淋巴瘤的标准治疗方法,并且是最先批准用于肿瘤学适应症的mAb.Demarest,SJ等人,mAbs 3:338-351 (2011)。然而,存在相当大量的患者,他们对于利妥昔单抗的治疗是难以治愈的,或者在使用利妥昔单

抗(用作单一试剂,或者甚至与化疗方案组合)延长治疗的过程中发展出抗性。

[0181] 如本文所提供的,抗-CD20抗体及其抗原结合片段可以与P13K-8选择性抑制剂和BTK抑制剂组合使用,用于治疗B细胞增殖性紊乱,例如B细胞恶性肿瘤。超过一种抗-CD20抗体可以用于本发明的方法和试剂盒中。

[0182] 除了利妥昔单抗以外,多种其他抗-CD20抗体是本领域已知的,包括例如ublituximab,ofatumumab(HuMax;Intrace1),ocrelizumab,veltuzumab,GA101(阿托珠单抗),AME-133v(Applied Molecular Evolution),ocaratumab(Mentrik Biotech),PR0131921,托西莫单抗,替伊莫单抗-噻西坦,hA20(Immunomedics,Inc.),BLX-301(Biolex Therapeutics),Reditux(Dr.Reddy's Laboratories)和PRO70769(在W02004/056312中描述)。

[0183] 利妥昔单抗为定向针对CD20抗原的基因改造的嵌合鼠科/人类单克隆抗体。利妥昔单抗为在美国专利No.5,736,137中被称为“C2B8”的抗体。利妥昔单抗抗体的氨基酸序列和通过在中国仓鼠卵细胞(CHO)中重组表达进行生产的示例性方法在美国专利No.5,736,137中公开,该文献以引用方式全文并入本文。利妥昔单抗以美罗华®出售。

[0184] Ofatumumab为抗-CD20 IgG1κ人类单克隆抗体。研究表明与利妥昔单抗相比,ofatumumab以较慢的速度与CD20解离,并结合近膜端抗原表位.Zhang等人,Mabs 1:326-331(2009)。抗原表位图谱表明与利妥昔单抗靶向的位置相比,ofatumumab结合与CD20的N-末端更近定位的抗原表位,并且包含抗原的细胞外的环.Id.。

[0185] Ublituximab(还称为UTX,TG-1101,TGX-1101,Utuxin™,LFB-R603,TG20,EMAB603)未靶向CD20抗原上独特的抗原表位的嵌合单克隆抗体,并且其经糖基化改造用于对Fc γ RIIIa受体的所有变体增强的亲和性,由此证明比利妥昔单抗和ofatumab更强的抗体依赖性细胞毒性("ADCC")活性。参见Miller,J.等人,Blood 120:Abstract No.2756(2012);Deng,C.等人,J.Clin.Oncol.31:Abstract No.8575(2013);O'Connor,O.A.等人,J.Clin.Oncol.32:5s(2014),(suppl;Abstract No.8524)。Ublituximab在美国专利No.9,234,045中也进行描述。Ublituximab经改造而具有有效的活性,展现独特的一级氨基酸序列并允许低的海藻糖含量(其被设计用于诱导优异的ADCC)。在利妥昔单抗难治的患者中,观察到对单一试剂ublituximab的应答.Id.。

[0186] 在优选的实施方案中,在本文所述的方法(和试剂盒)中使用的抗-CD20抗体为ublituximab(还称为TG-1101)或抗-CD20抗体,其与ublituximab相同的抗原表位结合。在特别优选的实施方案中,抗-CD20抗体为ublituximab。在一些实施方案中,ublituximab包含序列SEQ ID NO:1,2和3的VH CDR1,CDR2和CDR3区域,以及序列SEQ ID NO:6,7和8的VH CDR1,CDR2和CDR3区域。在一些实施方案中,ublituximab包含SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:9的VL。

[0187] Ublituximab包含下文提供的抗体序列:

[0188] 可变重链(VH) CDR1:Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Asn (SEQ ID NO:1)

[0189] 可变重链(VH) CDR2:Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr (SEQ ID NO:2)

[0190] 可变重链(VH) CDR3:Ala Arg Tyr Asp Tyr Asn Tyr Ala Met Asp Tyr (SEQ ID NO:3)

[0191] 可变重链(VH):Gln Ala Tyr Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro

Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Arg Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Gly Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Gly Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Tyr Asp Tyr Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO:4)

[0192] 恒定重链:Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Pro Gly Lys (SEQ ID NO:5)

[0193] 可变轻链(VL)CDR1:Ser Ser Val Ser Tyr (SEQ ID NO:6)

[0194] 可变轻链(VL)CDR2:Ala Thr Ser (SEQ ID NO:7)

[0195] 可变轻链(VL)CDR3:Gln Gln Trp Thr Phe Asn Pro Pro Thr (SEQ ID NO:8)

[0196] 可变轻链(VL):Gln Ile Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Phe Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Thr Phe Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO:9)

[0197] 恒定轻链:Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys (SEQ ID NO:10)

[0198] 在一些实施方案中,以如下剂量给予ublituximab:大约450mg至大约1200mg,大约600至大约1200mg,大约600至大约1000mg,大约600至大约900mg,大约600mg,大约700mg,大约800mg或大约900mg。在某些实施方案中,以大约900mg的剂量给予ublituximab。

[0199] 可以每1至9周大约一次、每周大约一次、每周大约两次、每2周大约一次、每3周大约一次、每4周大约一次、每5周大约一次、每6周大约一次、每7周大约一次、每8周大约一次或者每9周大约一次给予Ublituximab。本领域的任一技术人员将理解的是,ublituximab的剂量和/或给予ublituximab的频率在治疗过程中可以根据患者的临床应答、副作用等变化(降低或升高)。

[0200] 在一些实施方案中,ublituximab以静脉内方式给予,优选通过输注给予。

[0201] 在一些实施方案中,抗-CD20抗体或其片段结合与ublituximab相同的抗原表位。在一些实施方案中,抗-CD20抗体或其片段结合包含CD20的氨基酸N153-S179的序列。在一些实施方案中,抗-CD20抗体或其片段结合CD20的氨基酸N153-S179的不连续抗原表位。

[0202] 在一些实施方案中,抗-CD20抗体或其片段以一定的亲和性与CD20结合,其中所述的亲和性表征为解离常数KD低于大约 $10^{-7}M$ ,低于大约 $10^{-8}M$ 或低于大约 $10^{-9}M$ 。在一些实施方案中,抗-CD20抗体或其片段以一定的亲和性与CD20结合,其中所述的亲和性表征为解离常数KD为 $10^{-10}$ 至 $10^{-9}M$ 。在一些实施方案中,抗-CD20抗体或其片段以一定的亲和性与CD20结合,其中所述的亲和性表征为解离常数KD为 $0.7 \times 10^{-9}M$ 。如抗体结合解离常数的内容中所用,术语“大约”允许在用于测量抗体亲和性的方法中固有的变化程度。例如根据所用仪器的精确度水平、基于测量样品的数量的标准误差、以及舍入误差,术语“大约 $10^{-2}M$ ”可以包括例如 $0.05M$ 至 $0.005M$ 。

[0203] 在一些实施方案中,抗-CD20抗体对Fc- $\gamma$  RIII (CD16) 展现高的亲和性。在一些实施方案中,由于抗体的Fc区对CD16高度的亲和性,所以此类抗体没有被IgG多克隆抗体、特别是血清中存在的IgG替代。在一些实施方案中,所述的抗体以至少 $2 \times 10^6 M^{-1}$ ,至少 $2 \times 10^7 M^{-1}$ , $2 \times 10^8 M^{-1}$ 或 $2 \times 10^7 M^{-1}$ 的亲和性与CD16(例如在噬菌体上表达)结合,例如通过Scatchard分析或BIAcore技术(无标记表面等离子体共振基技术)测定。

[0204] 在一些实施方案中,抗-CD20抗体是糖基化改造的。如本文所用,“糖基化改造的”抗-CD20抗体是指抗体Fc区域中的糖分子(N-多糖)已经在制造过程中通过遗传、酶、化学方法改变或改造、或者选择,从而例如增加抗体对效应器细胞上的Fc受体的亲和性,和/或降低其在Fc区域中特定的碳水化合物含量。

[0205] 在一些实施方案中,抗-CD20抗体展现糖基化模式,其表征为其Fc区域低的海藻糖含量。例如在一些实施方案中,组合物包含抗-CD20抗体,其中所述的抗体包含在Fc- $\gamma$  糖基化位点上结合的N-糖昔-连接的糖链(Asn 297, EU numbering),其中在组合物的所有抗体的N-糖昔-连接的糖链中,海藻糖含量低于65%,低于60%,低于55%,低于50%,低于45%或低于40%。在一些实施方案中,在组合物的所有抗体的N-糖昔-连接的糖链中,海藻糖含量为15至45%、或者20至40%。

[0206] 在一些实施方案中,抗-CD20抗体展现强效的体外抗体依赖性细胞毒性(ADCC),并且可以据说是“ADCC-优化的”。在一些实施方案中,使用得自健康供体的自然杀伤(NK)细胞,在浓度50ng/ml下,抗-CD20抗体产生至少大约10%,至少大约15%,至少大约20%,至少大约25%或至少大约30%的ADCC平稳期。用于测量ADCC的技术是本领域已知的,并且在例

如de Romeuf,C.等人,British Journal of Haematology 140:635-643 (2008) 中提供。在一些实施方案中,使用得自健康供体的NK细胞,在50ng/ml浓度下,抗-CD20抗体产生大约35%的ADCC平稳期。

[0207] 在一些实施方案中,抗-CD20抗体可以降低NF- $\kappa$ -B活性。在一些实施方案中,抗-CD20抗体可以降低SNAIL表达。在一些实施方案中,抗-CD20抗体可以升高RKIP活性。在一些实施方案中,抗-CD20抗体可以升高PTEN活性。在一些实施方案中,抗-CD20抗体可以升高细胞对TRAIL凋亡的敏感性。

[0208] 在一些实施方案中,抗-CD20抗体是Fc- $\gamma$ -RIIIA (CD16) 优化的。能够活化III型Fc受体并具有特定的多糖结构的抗体已经在例如美国专利No.7,931,895中描述,其以引用方式全文并入本文。因此,在一些实施方案中,抗-CD20抗体在Asn 297 (EU编号) 处使用二触角和/或寡甘露糖昔型的N-糖基化修饰,如美国专利No.7,931,895中所述。例如在美国公开的申请No.2005/0271652中,提供了生产抗体的方法,其中所述的抗体对免疫系统的效应器细胞的受体CD16具有强的亲和性,其中所述的文献以引用方式全文并入本文。

[0209] 在一些实施方案中,抗-CD20抗体具有高的ADCC活性。例如在美国专利No.7,713,524中,提供了生产具有高ADCC活性的抗体的方法,其中所述的文献以引用方式全文并入本文。

[0210] 因此,在一些实施方案中,分离的抗体或者其抗原结合片段、变体或衍生物包含、基本上由或者由免疫球蛋白重链可变结构域(VH结构域)组成,其中VH结构域的至少一个CDR(即,一个、两个或三个)具有与序列SEQ ID N0:1,2或3的CDR1,CDR2或CDR3区域至少80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%,99%或一致的氨基酸序列,其中抗体或者其包含VH结构域的抗原结合片段可以特异性地或优选地结合CD20。

[0211] 在另一个实施方案中,分离的抗体或者其抗原结合片段、变体或衍生物包含、基本上由或者由免疫球蛋白重链可变结构域(VH结构域)组成,其中VH结构域的至少一个CDR(即,一个、两个或三个)具有与序列SEQ ID N0:1,2或3的CDR1,CDR2或CDR3区域一致的氨基酸序列(除了1,2,3,4或5个保守性氨基酸取代以外),其中抗体或者其包含VH结构域的抗原结合片段、变体或衍生物可以特异性地或优选地结合CD20。

[0212] 在另一个实施方案中,分离的抗体或者其抗原结合片段、变体或衍生物包含、基本上由或者由VH结构域组成,其中VH结构域具有与序列SEQ ID N0:4的VH氨基酸序列至少80%,85%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%或100%一致的氨基酸序列,其中抗体或者其包含VH结构域的抗原结合片段、变体或衍生物可以特异性地或优选地结合CD20。

[0213] 在另一个实施方案中,分离的抗体或者其抗原结合片段、变体或衍生物包含、基本上由或者由重链组成,其中重链具有与包含SEQ ID N0:4和5的重链氨基酸序列至少至少80%,85%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%或100%一致的氨基酸序列,其中抗体或者其包含重链的抗原结合片段、变体或衍生物可以特异性地或优选地结合CD20。

[0214] 在一些实施方案中,分离的抗体或者其抗原结合片段、变体或衍生物包含、基本上由或者由免疫球蛋白轻链可变结构域(VL结构域)组成,其中VL结构域的至少一个CDR(即,一个、两个或三个)具有与序列SEQ ID N0:6,7或8的CDR1,CDR2或CDR3区域至少80%,85%,

90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%或一致的氨基酸序列, 其中抗体或者其包含VL结构域的抗原结合片段可以特异性地或优选地结合CD20。

[0215] 在另一个实施方案中, 分离的抗体或者其抗原结合片段、变体或衍生物包含、基本上由或者由免疫球蛋白轻链可变结构域(VL结构域)组成, 其中VL结构域的至少一个CDR(即, 一个、两个或三个)具有与序列SEQ ID N0:6, 7或8的CDR1, CDR2或CDR3区域一致的氨基酸序列(除了1, 2, 3, 4或5个保守性氨基酸取代以外), 其中抗体或者其包含VL结构域的抗原结合片段、变体或衍生物可以特异性地或优选地结合CD20。

[0216] 在另一个实施方案中, 分离的抗体或者其抗原结合片段、变体或衍生物包含、基本上由或者由VL结构域组成, 其中VL结构域具有与序列SEQ ID N0:9的VL氨基酸序列至少至少80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%或100%一致的氨基酸序列, 其中抗体或者其包含VH结构域的抗原结合片段、变体或衍生物可以特异性地或优选地结合CD20。

[0217] 在另一个实施方案中, 分离的抗体或者其抗原结合片段、变体或衍生物包含、基本上由或者由轻链组成, 其中轻链具有与包含SEQ ID N0:9和10的轻链氨基酸序列至少至少80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%或100%一致的氨基酸序列, 其中抗体或者其包含轻链的抗原结合片段、变体或衍生物可以特异性地或优选地结合CD20。

[0218] 在一些实施方案中, 分离的抗体或者其抗原结合片段、变体或衍生物包含、基本上由或者由免疫球蛋白重链可变结构域(VH结构域)和免疫球蛋白轻链可变结构域(VL结构域)组成, 其中VH结构域的至少一个CDR(即, 一个、两个或三个)具有与序列SEQ ID N0:1, 2或3的CDR1, CDR2或CDR3区域至少80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%或一致的氨基酸序列, 其中VL结构域的至少一个CDR(即, 一个、两个或三个)具有与序列SEQ ID N0:6, 7或8的CDR1, CDR2或CDR3区域至少80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%或一致的氨基酸序列, 并且其中抗体或者其包含VH结构域和VL结构域的抗原结合片段可以特异性地或优选地结合CD20。

[0219] 在另一个实施方案中, 分离的抗体或者其抗原结合片段、变体或衍生物包含、基本上由或者由免疫球蛋白重链可变结构域(VH结构域)和免疫球蛋白轻链可变结构域(VL结构域)组成, 其中VH结构域的至少一个CDR(即, 一个、两个或三个)具有与序列SEQ ID N0:1, 2或3的CDR1, CDR2或CDR3区域一致的氨基酸序列(除了1, 2, 3, 4或5个保守性氨基酸取代以外), 其中VL结构域的至少一个CDR(即, 一个、两个或三个)具有与序列SEQ ID N0:6, 7或8的CDR1, CDR2或CDR3区域一致的氨基酸序列(除了1, 2, 3, 4或5个保守性氨基酸取代以外), 并且其中抗体或者其包含VH和VL的抗原结合片段、变体或衍生物可以特异性地或优选地结合CD20。

[0220] 在一些实施方案中, 分离的抗体或者其抗原结合片段、变体或衍生物包含序列SEQ ID N0:1, 2和3的VH CDR1, CDR2和CDR3区域, 以及SEQ ID N0:6, 7和8的VL CDR1, CDR2和CDR3区域。

[0221] 在另一个实施方案中, 分离的抗体或者其抗原结合片段、变体或衍生物包含、基本上由或者由VH结构域和VL结构域组成, 其中VH具有与序列SEQ ID N0:4的VH氨基酸序列至少至少80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%或一致的氨基

酸序列,其中VL结构域具有与序列SEQ ID N0:9的VL氨基酸序列至少80%,85%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%或一致的氨基酸序列,并且其中抗体或者其包含VH结构域和VL结构域的抗原结合片段、变体或衍生物可以特异性地或优选地结合CD20。

[0222] 在一些实施方案中,抗-CD20抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID N0:4的VH和SEQ ID N0:9的VL。

[0223] 在一些实施方案中,抗-CD20抗体或其抗原结合片段结合包含SEQ ID N0:4的VH和SEQ ID N0:9的VL的抗体的相同的抗原表位。

[0224] 在另一个实施方案中,分离的抗体或者其抗原结合片段、变体或衍生物包含、基本上由或者由重链和轻链组成,其中所述的重链具有与包含SEQ ID N0:4和5的重链氨基酸序列至少80%,85%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%或100%一致的氨基酸序列,其中所述的轻链具有与包含SEQ ID N0:9和10的轻链氨基酸序列至少80%,85%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%或100%一致的氨基酸序列,并且其中抗体或者其包含重链和轻链的抗原结合片段、变体或衍生物可以特异性地或优选地结合CD20。

[0225] 在一些实施方案中,抗-CD20抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID N0:4和5的重链和包含SEQ ID N0:9和10的轻链。

[0226] 在一些实施方案中,抗-CD20抗体或其抗原结合片段结合包含SEQ ID N0:4和SEQ ID N0:5的抗体的相同的抗原表位。

[0227] 在一些实施方案中,抗-CD20抗体为ublituximab。

[0228] 在一些实施方案中,抗-CD20抗体为EMAB603(参见WO2006/064121,该文献以引用方式全文并入本文),其是由克隆子R603-12D11生产的,并且保藏在the Collection Nationale des Cultures de Microorganismes,登录号为CNCM I-3529。

[0229] 在一些实施方案中,抗-CD20抗体是在大鼠杂交瘤YB2/0细胞系中生产的(细胞YB2/3HL.P2.G11.16Ag.20,在the American Type Culture Collection登记,ATCC号为CRL-1662)。

[0230] 能够特异性结合CD20并且保持所需的活性的抗体的精确化学结构取决于多种因素。由于可电离的氨基和羧基基团存在于分子中,所以可以获得酸性或碱性盐、或者中性形式的特定的多肽。当被放置在合适的环境条件下时保持其生物学活性的所有此类制备物均包含在本文所用的抗-CD20抗体的定义内。此外,抗体的一级氨基酸序列可以通过使用糖部分(糖基化)或通过其他补充分子(例如脂质、磷酸酯、乙酰基基团等)衍生化而增强。其还可以通过与糖类缀合而增强。这种增强的某些方面是通过生产宿主的翻译后加工系统来完成的;其他此类修饰可以在体内引入。在任何事件中,此类修饰包含在本文所用的抗-CD20抗体的定义中,只要抗-CD20抗体的所需的性质没被破坏即可。预计的是,此类修饰可以在多种测试中通过增强或减弱多肽的活性而定量或定性地影响活性。此外,链中单独的氨基酸残基可以通过氧化、还原或其他衍生化而修饰,并且多肽可以被切割从而获得保留活性的片段。不会破坏所需的性质(例如对CD20的结合特异性)的此类改变不会将多肽序列由本文所用的所关注的抗-CD20抗体的定义范围内除去。

[0231] 关于多肽变体的制备和使用,本领域提供大量的指导。在制备抗-CD20结合分子的

变体中，例如抗体或者其抗原结合片段、变体或衍生物，本领域的任一技术人员可以容易地确定对天然蛋白质的核苷酸或氨基酸序列的何种修饰会得到适用于药物组合物的治疗活性成分的变体。

[0232] 可以仅在框架区或者仅在抗体分子的CDR区域内引入突变。引入的突变可以是沉默的或者是中性错义突变，即，对抗体结合抗原的能力不具有或具有较少的影响。这些类型的突变可以用于优化密码子的使用，或者改善杂交瘤的抗体的生产。备选地，非中性错义突变可以改变抗体结合抗原的能力。大部分沉默的且中性错义突变的位置可能在框架区内，而大部分非中性错义突变的位置可能在CDR内，但是这不是绝对必须的。本领域的任一技术人员能够设计并测试具有所需性质的突变分子，例如抗原结合活性未改变或者结合活性改变（例如抗原结合活性改善或者抗体特异性改变）。在诱变后，编码的蛋白质可以常规表达，并且可以使用本文所述的技术或通过本领域已知的常规修饰技术，测定编码蛋白质的功能和/或生物学活性（例如免疫特异性地结合CD20多肽的至少一个抗原表位的能力）。

[0233] 在某些实施方案中，抗-CD20抗体包含至少一个优化的互补性决定区（CDR）。“优化的CDR”意图在于CDR是经修饰和优化的序列，其是基于持续的或改善的结合亲和性和/或抗-CD20活性（赋予包含优化的CDR的抗-CD20抗体）而选择的。“抗-CD20活性”可以包含例如调控与CD20有关的以下活性的一种或多种的活性，例如诱导B细胞凋亡的活性、诱导针对B细胞的ADCC的能力（例如CLL细胞）、抑制NF- $\kappa$ B活性的能力、抑制Snaill表达的能力、去阻遏RKIP的能力、去阻遏PTEN的能力、使肿瘤细胞对TRAIL凋亡致敏的能力或者任何其他与CD20有关的活性。此类活性在例如Baritaki,S.等人,Int.J.Oncol.38:1683-1694(2011)中描述，该文献的内容以引用方式全文并入本文。所述的修饰可以涉及CDR内氨基酸残基的替代，使得抗-CD20抗体保持对CD20抗原的特异性，并且具有改善的结合亲和性和/或改善的抗-CD20活性。

[0234] 在某些抗-CD20抗体或者其抗原结合片段中，一个或多个恒定区结构域的至少一部分被删除或以其他方式改变，从而提供所需的生物化学特征，例如与大致相同免疫原性的完全未改变抗体相比，降低的效应器功能、非共价二聚化的能力、增加的定位于肿瘤位点的能力、降低的血清半衰期或者增加的血清半衰期。例如某些抗体是结构域被删除的抗体，其包含与免疫球蛋白重链相似的多肽链，但是其缺少一个或多个重链结构域的至少一部分。例如在某些抗体中，改性抗体的恒定区的一个完整结构域被删除，例如CH2结构域的全部或部分被删除。

[0235] 在某些抗-CD20抗体或者其抗原结合片段中，可以使用本领域已知的技术使Fc部分突变，从而降低效应器的功能。例如恒定区的修饰可以用于修饰二硫键或寡糖部分，其可以得到增强的定位，这是由于增强的抗原特异性或抗体灵活性。所得的生理学概况、生物利用度和修饰的其他生物化学作用可以使用公知的免疫技术而无需过度的试验容易地测量和定量。

[0236] 在某些实施方案中，抗-CD20抗体或者其抗原结合片段在待治疗的动物中不会激发有害的免疫应答，例如在人类中。在一个实施方案中，抗-CD20抗体或者其抗原结合片段可以使用本领域公认的技术经修饰而降低它们的免疫原性。例如抗体可以人源化、灵长动物化(primatized)、去免疫化，或者可以制备嵌合抗体。这些类型的抗体衍生自非人类抗体，通常为鼠科或灵长动物的抗体，它们保持或者基本上保持了亲代抗体的抗原结合性质，

但是其在人类中是较少免疫原性的。这可以通过多种方法实现,包括(a)将完整的非人类可变结构域接枝到人类恒定区上,从而生成嵌合抗体;(b)将一个或数多个非人类互补性决定区(CDR)的至少一部分接枝到人类框架区和恒定区中,其中保留或未保留重要的框架残基;或者(c)移植完整的非人类可变结构域,但是使用人类样部分通过替换表面残基而“遮盖”它们。此类方法在Morrison等人,Proc.Natl.Acad.Sci.81:6851-6855(1984);Morrison等人,Adv.Immunol.44:65-92(1988);Verhoeyen等人,Science 239:1534-1536(1988);Padlan,Molec.Immun.28:489-498(1991);Padlan,Molec.Immun.31:169-217(1994),以及美国专利No.5,585,089,5,693,761,5,693,762和6,190,370中公开,所有这些文献以引用方式全文并入本文。

[0237] 可以使用本领域已知的技术,由完整的前体或亲代抗体制备改性形式的抗体或者其抗原结合片段。

[0238] 可以使用本领域已知的技术,制备或制造抗-CD20抗体或者其抗原结合片段。在某些实施方案中,抗体分子或者其片段是“重组生产的”,即,是使用重组DNA技术生产的。抗-CD20抗体或者其片段可以通过本领域已知的任何合适的技术生成,包括单克隆抗体的生成或单克隆抗体的制备,例如通过杂交瘤或噬菌体展示。

[0239] 多种宿主表达载体系统可以用于表达抗体分子。可以使用两种表达载体共转染宿主细胞,第一载体编码重链衍生的多肽,第二载体编码轻链衍生的多肽。两种载体可以包含相同的可选择标志物,其能够等量地表达重链和轻链多肽。备选地,可以使用编码重链和轻链多肽的单一载体。在这种情况下,有利的是在重链之前放置轻链,以避免无毒性的重链过量(Proudfoot,Nature 322:52(1986);Kohler,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:2197(1980))。还可以使用编码重链衍生的多肽和轻链衍生的多肽的单一载体转染宿主细胞。用于重链和轻链的编码序列可以包含cDNA或基因组DNA。

[0240] 表达载体或多个载体可以通过常规技术转移至宿主细胞中,然后通过常规的技术培养转染的细胞,从而生产抗体。因此,提供包含多肽的宿主细胞,其中所述的多肽编码与异源启动子可操作地连接的抗体或者其重链或轻链。在用于表达双链抗体的某些实施方案中,编码重链和轻链的载体可以在用于表达完整的免疫球蛋白分子的宿主细胞中共表达。

[0241] 宿主表达系统代表了媒介物,通过该媒介物,可以生产并随后纯化所关注的编码序列,而且还代表了这样的细胞,当使用合适的核苷酸编码序列转化或转染该细胞时,其可以原位表达CD20抗体。这些包括但不限于微生物有机体,例如使用包含抗体编码序列的噬菌体DNA、质粒DNA或粘粒DNA表达载体转化的细菌(例如大肠杆菌(E.coli)、枯草芽孢杆菌(B.subtilis));使用包含抗体编码序列的重组酵母菌表达载体转化的酵母菌(例如酵母菌,毕赤酵母(Pichia))使用包含抗体编码序列的重组病毒表达载体(例如杆状病毒(baculovirus))感染的昆虫细胞系统;使用重组病毒表达载体(例如花椰菜花叶病毒,CaMV;烟草花叶病毒,TMV)或使用包含抗体编码序列的重组质粒表达载体(例如Ti质粒)感染的植物细胞系统;或者容纳重组表达构建体的哺乳动物细胞系统(例如COS,CHO,BLK,293,3T3细胞),其中所述的构建体包含由哺乳动物细胞基因组(例如金属硫蛋白启动子)或由哺乳动物病毒(例如腺病毒晚期启动子;牛痘病毒7.5K启动子)衍生的启动子。例如用于表达完整重组抗体分子的细菌细胞(例如大肠杆菌)或真菌细胞用于表达重组抗体分子。例如哺乳动物细胞(例如中国仓鼠卵细胞(CHO)),联合载体(例如得自人类巨细胞病毒的主要

中间早期基因启动子元件)为抗体的有效的表达系统(Foecking et al., Gene 45:101 (1986); Cockett et al., Bio/Technology 8:2 (1990))。在一些实施方案中,抗-CD20抗体在非CHO细胞的宿主细胞中生产。

[0242] 一旦抗体被重组表达,则其可以通过本领域已知的用于纯化免疫球蛋白分子的任何方法纯化,例如通过色谱(例如离子交换色谱、亲和层析、特别是对蛋白质A后特定抗原的亲和层析,以及尺寸排阻柱色谱)、离心、差别性溶解度或者用于蛋白质纯化的任何其他的标准技术。

[0243] 在一些实施方案中,抗-CD20抗体是由杂交瘤细胞系生产的。在一些实施方案中,抗-CD20抗体是在YB2/0 (ATCC CRL-1662) 中生产的。

[0244] 在一些实施方案中,抗-CD20抗体为ublituximab,并且其以选自以下的剂量给予:大约450mg至大约1200mg,大约600至大约1200mg,大约600至大约1000mg,大约600至大约900mg,大约600mg,大约700mg,大约800mg,每周大约两次大约900mg,每1至9周大约一次,每周大约一次,每周大约两次,每2周大约一次,每3周大约一次,每4周大约一次,每5周大约一次,每6周大约一次,每7周大约一次,每8周大约一次或者每9周大约一次。在优选的实施方案中,每1至9周大约一次大约900mg的剂量给予ublituximab。

[0245] Bruton酪氨酸激酶(BTK)的抑制剂

[0246] BTK为非受体酪氨酸激酶Tec家族的成员,并且在除了T淋巴细胞和自然杀伤(NK)细胞的所有造血细胞类型中表达的重要的信号传递酶。BTK是连接细胞表面B细胞受体(BCR)刺激与下游细胞内应答的B细胞信号传递途径的重要成分。BTK调节B细胞发育、活化、信号传递和存活(Kurosaki, T., Curr Op Imm 12:276-281 (2000); Schaeffer, E.M. and Schwartzberg, P.L., Curr Op Imm 12:282-288 (2000))。此外,BTK在多种其他造血细胞信号传递途径中其作用,例如在巨噬细胞中Toll样受体(TLR)和细胞因子介导的TNF- $\alpha$ 生产,在肥大细胞中IgE受体(FcepsilonRI)的信号传递,在B系淋巴样细胞中抑制Fas/APO-1凋亡的信号传递,以及胶原蛋白刺激的血小板聚集。例如参见Jeffries, C.A.等人,J. Biol. Chem. 278:26258-26264 (2003); Horwood, N.J.等人,The Journal of Experimental Medicine 197:1603-1611 (2003); Iwaki, S.等人,J. Biol. Chem. 280:40261-40270 (2005); Vassilev, A.等人,J. Biol. Chem. 274:1646-1656 (1999),和Quek, L.S.等人,Current Biology 8:1137-1140 (1998)。BTK在多种B细胞恶性肿瘤中发挥细胞增殖和细胞存活的重要调节剂的作用。

[0247] 在一些实施方案中,BTK抑制剂选自1-[ (3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基]哌啶-1-基]丙-2-烯-1-酮(Imbruvica®,伊布替尼或PCI-32765);1-(R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基]哌啶-1-基]-2,3,-二羟基丙-1-酮(PCI-45227);4-{8-氨基-3-[ (2S)-1-(2-butynoyl)-2-吡咯烷基]咪唑并[1,5-a]吡嗪-1-基}-N-(2-吡啶基)苯甲酰胺(acalabrutinib或ACP-196);(R)-N-(3-(6-((4-(1,4-二甲基-3-氧代哌嗪-2-基)苯基)氨基)-4-甲基-5-氧代-4,5-二氢吡嗪-2-基)-2-甲基苯基)-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-2-氨甲酰(GDC-0834);(S)-9-(1-丙烯酰基哌啶-3-基)-6-氨基-7-(4-苯氧基苯基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮(ONO-4059或GS-4059);6-环丙基-8-氟代-2-[2-(羟基甲基)-3-[1-甲基-5-[[5-(4-甲基哌嗪-1-基)吡啶-2-基]氨基]-6-氧代吡啶-3-基]苯基]异喹啉-1-酮(RN-486);N-(3-((5-氟代-2-((4-(2-甲氧基乙

氧基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)丙烯酰胺(spebrutinib、AVL-292或CC-292);SNS-062,其是由Sunesis Pharmaceuticals and Biogen研发的,参见Binnerts,M.E.等人,2015AACR-NCI-EORTC International Conference on Molecular Targets and Cancer Therapeutics,Boston,MA,November 8,2015;N-(3-((2-((4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)氨基)噻吩并[3,2-d]嘧啶-4-基)氧基)苯基)丙烯酰胺(HM-71224);4-(叔丁基)-N-(3-(8-(苯基氨基)咪唑并[1,2-a]吡嗪-6-基)苯基)苯甲酰胺(CGI-560);N-[3-[4,5-二氢-4-甲基-6-[[4-(4-吗啉基羰基)苯基]氨基]-5-氧代吡嗪基]-2-甲基苯基]-4-(1,1-二甲基乙基)-苯甲酰胺(CGI-1746);4-(4-((3-丙烯酰胺苯基)氨基)-5-氟代嘧啶-2-基)氨基)苯氨基)-N-甲基吡啶酰胺(CNX-774);7-苄基-1-(3-(哌啶-1-基)丙基)-2-(4-(吡啶-4-基)苯基)-1H-咪唑并[4,5-g]喹喔啉-6(5H)-酮(CTA-056),; $\alpha$ -氰基- $\beta$ -羟基- $\beta$ -甲基-N-(2,5-二溴苯基)丙烯酰胺(LFM-A13);N-(2-氯代-6-甲基苯基)-2-[[6-[4-(2-羟基乙基)哌嗪-1-基]-2-甲基嘧啶-4-基]氨基]-1,3-噻唑-5-氨甲酰(Sprycel®、Dasatinib或BMS-354825);BGB-3111,其是由Beigene Co.Ltd.研发的,参见Tam,C.等人,Abstract#832,Am.Society Hematology (ASH) Annual Meeting,Orlando,FL,Dec.5-8,2015);ONO-WG-307,其是由Ono Pharmaceuticals研发的,参见Kozaki,R.等人,Cancer Res 72(8 Suppl):Abstract No.857(2012);Yasuhiro,T.等人,Cancer Res 72(8 Suppl):Abstract No.2021(2012);JTE-051,其是由Japan Tobacco Inc.研发的;AVL-263或CC-263,其是由Avila Therapeutics/Celgene Corporation研发的;AVL-291或CC-291、和AVL-101或CC-101,其是由Avila Therapeutics/Celgene Corporation研发的,参见Evans,E.等人,Paper presented at the 100th AACR Annual Meeting;April 18-22,2009;Denver,CO;see also D'Cruz,O.J.等人,Oncotargets Ther.6:161-176(2013);TP-4207,其是由Tolero Pharmaceuticals,Inc.研发的;PCI-45292,其是由Pharmacyclics,Inc.研发的,参见Chang,B.Y.等人,Arthritis Rheum 62:Suppl.10,Abstract No.286(2010);Pan,Z.等人,Chem Med Chem 2:58-61(2007);PCI-45466,其是由Pharmacyclics,Inc.研发的,参见美国专利申请公开No.2016/0038495;CG-036806,其是由Crystal Genomics研发的;TAS-5567,其是由Taiho Oncology研发的,参见Kawagishi,A.等人,Mol Cancer Ther 12(11Suppl)(2013):A274and Irie,H.等人,Mol Cancer Ther 12(11Suppl):A273(2013);PCI-45261,其是由Pharmacyclics,Inc.研发的;KBP-7536,其是由KBP BioSciences研发的,例如参见美国专利申请公开No.2015/0267261;HCl-1684,其是由Huntsman Cancer Institute研发的,参见Bearss,D.J.等人,Cancer Res 71(8Suppl):Abstract No.2788(2011);PLS-123,其是由Peking University Cancer Hospital研发的,参见Ding,N.等人,Oncotarget 6:15122-15136(April 2015);BMS-488516,其是由Bristol-Myers Squibb研发的,参见Lin,T.A.等人,Biochemistry 43:11056-11062(2004);Won,J.等人,International Reviews of Immunology 27:19-41(2008);BMS-509744,其是由Bristol-Myers Squibb研发的,参见Lin,T.A.等人,Biochemistry 43:11056-11062(2004);Won,J.等人,International Reviews of Immunology 27:19-41(2008);苯甲酰胺,N-[5-[[5-[(4-乙酰基-1-哌嗪基)羰基]-4-甲氧基-2-甲基苯基]硫代]-2-噻唑基]-4-[(1,2-二甲基丙基)氨基]甲基]-(HY-11066,CTK4I7891,HMS3265G21,HMS3265G22,HMS3265H21,HMS3265H22,CAS No.439574-61-5,AG-F-54930)。

[0248] 在一些实施方案中,BTK抑制剂为4-{8-氨基-3-[ (2S)-1-(2-butynoyl)-2-吡咯烷基]咪唑并[1,5-a]吡嗪-1-基}-N-(2-吡啶基)苯甲酰胺(acalabrutinib或ACP-196)。

[0249] 在一些实施方案中,BTK抑制剂为1-[ (3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基]哌啶-1-基]丙-2-烯-1-酮(伊布替尼)。参见Imbruvica®全部描述信息(Pharmacyclics LLC and Janssen Biotech, Inc.)。此外,参见Honigsberg,L.A.等人,PNAS 107:13075-13080 (2010) 和美国专利No.7,514,444,8,697,711,8,703,780,8,088,309和8,088,781。

[0250] 在一些实施方案中,每天一次给予如下剂量的伊布替尼:大约200至大约800mg,大约400至大约600mg,大约400mg,大约420mg,大约440mg,大约480mg,大约500mg,大约520mg,大约540mg,大约560mg,大约580mg或大约600mg。

[0251] 在一些实施方案中,每天一次给予大约420mg或大约560mg剂量的伊布替尼。在一些实施方案中,每天一次给予大约420mg剂量的伊布替尼。在一些实施方案中,每天一次给予大约560mg剂量的伊布替尼。

[0252] 治疗B细胞增殖性紊乱(例如B细胞恶性肿瘤)的方法

[0253] 在一些实施方案中,增殖有待抑制的B细胞群在人类受试对象中。在一些实施方案中,人类受试对象患有与过度B细胞增殖有关的疾病或紊乱。在一些实施方案中,与过度B细胞增殖有关的疾病为癌症。在一些实施方案中,人类受试对象为癌症。在一些实施方案中,癌症为血液学恶性肿瘤。在一些实施方案中,血液学恶性肿瘤为淋巴瘤、白血病或骨髓瘤。

[0254] 在一些实施方案中,血液学恶性肿瘤选自急性淋巴细胞白血病(ALL),急性髓系白血病(AML),慢性淋巴细胞白血病(CL),小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL),多发性骨髓瘤(MM),非Hodgkin淋巴瘤(NHL),外套细胞淋巴瘤(MCL),滤泡性淋巴瘤(FL),Waldenstrom巨球蛋白血症(WM),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),边缘区淋巴瘤(MZL)(其包括结外MZL和结节性MZL),毛细胞白血病(HCL),Burkitt淋巴瘤(BL)和Richter转化。

[0255] 在一些实施方案中,血液学恶性肿瘤选自慢性淋巴细胞白血病(CL),小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL),非Hodgkin淋巴瘤(NHL),外套细胞淋巴瘤(MCL),滤泡性淋巴瘤(FL),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)和边缘区淋巴瘤(MZL)。

[0256] 在一些实施方案中,癌症过表达CD20。

[0257] 在一些实施方案中,癌症是化疗难以治愈的。

[0258] 在一些实施方案中,癌症是非-TGR-1202P13K-δ抑制剂难以治愈的。

[0259] 在一些实施方案中,癌症是非-ublituximab抗-CD20抗体难以治愈的。

[0260] 在一些实施方案中,当本发明所述的任何试剂单独给予受试对象时(即,用作单一治疗),癌症是所述的试剂难以治愈的,即,抗-CD20抗体、P13K-δ选择性抑制剂或BTK抑制剂。

[0261] 在一些实施方案中,癌症是BTK抑制剂难以治愈的。在一些实施方案中,癌症是伊布替尼难以治愈的。

[0262] 在一些实施方案中,癌症是利妥昔单抗难以治愈的。

[0263] 在一些实施方案中,癌症是复发的。

[0264] 在一些实施方案中,人类受试对象具有选自17p del,11q del,p53,未突变的IgVH及ZAP-70+和/或CD38+,以及三倍体12的一个或多个基因突变。

[0265] 组合物的给予

[0266] 在一些实施方案中,将与本发明所述的方法组合使用的试剂(即,本发明所述的i、ii和iii)分开给予受试对象。

[0267] 在一些实施方案中,将与本发明所述的方法组合使用的试剂(即,i,ii和iii)依次给予的受试对象,但是注意如下,具体的给予顺序是不重要的。在一些实施方案中,本发明所述的方法的试剂(i和iii)是同时或依次给予的。在一些实施方案中,在本发明所述的方法中与抗-CD20抗体(即,ii)组合使用的试剂(即,i和ii)同时或依次给予受试对象。在一些实施方案中,多种试剂(即,i和iii)包含在相同的药物组合物中。在一些实施方案中,多种试剂(即,i和iii)配制用于口服给予。

[0268] 在一些实施方案中,试剂的组合以诱导、巩固和/或维持的方案给予。

[0269] 在一些实施方案中,一起给予试剂i,ii或iii中的两种,以便诱导部分抗肿瘤应答,然后给予第三试剂,从而增强抗肿瘤应答。在一些实施方案中,在将所有的试剂(即,i,ii和iii,如本发明所公开)给予所述的受试对象以后,观察到完全抗肿瘤应答(CR)。在一些实施方案中,给予本发明所述的任何方法的受试对象取得完全应答,并伴有轻微后遗症(MRD)。

[0270] 在一些实施方案中,当所有三种试剂组合给予时,给予本发明所述的任何方法的受试对象取得部分应答(PR)。在一些实施方案中,给予本发明所述的任何方法的受试对象取得部分应答(PR)或持续至少两个月的完全应答(CR)。

[0271] 在一些实施方案中,在维持治疗中,给予试剂i,ii和/或iii的至少一种,从而在成功治疗后保持B细胞增殖紊乱免于复发。在一些实施方案中,在延长的时间内在维持治疗中给予所述的试剂,例如直到难以管理的毒性或发生疾病进展。在一些实施方案中,当发生疾病进展时,结束维持治疗。在一些实施方案中,每三个月持续给予UTX输注,直至疾病进展。在一些实施方案中,每天给予TGR-1202单一试剂治疗,直至疾病进展。在一些实施方案中,每天给予伊布替尼单一试剂,直至疾病进展。在一些实施方案中,每天给予TGR-1202和伊布替尼治疗,直至疾病进展。

[0272] 在一些实施方案中,本发明所述的方法包括向受试对象给予用于抑制B细胞增殖的至少一种其他的治疗试剂。在一些实施方案中,至少一种其他的治疗试剂选自有丝分裂抑制剂,烷基化试剂,抗代谢物,葱环类抗生素,长春花生物碱,植物碱,氮芥,蛋白酶抑制剂,嵌入性抗生素,生长因子抑制剂,细胞周期抑制剂,生物应答调节剂,抗激素,血管生成抑制剂,抗雄激素,DNA交互剂,嘌呤类似物,拓扑异构酶I抑制剂,拓扑异构酶II抑制剂,微管蛋白相互作用试剂,激素试剂,胸苷酸合成酶抑制剂,非-BTK和非-P13K-δ酪氨酸激酶抑制剂,血管生成抑制剂,EGF抑制剂,VEGF抑制剂,CDK抑制剂,Src抑制剂,c-Kit抑制剂,Her1/2抑制剂,myc的抑制剂,抗肿瘤抗体,定向针对生长因子受体的单克隆抗体,蛋白激酶调节剂,放射性同位素,免疫治疗,糖皮质激素和它们的组合。

[0273] 在一些实施方案中,至少一种其他的治疗试剂为选自以下的抗癌试剂:DNA交互剂,例如顺铂或阿霉素;拓扑异构酶II抑制剂,例如依托泊苷;拓扑异构酶I抑制剂,例如CPT-11或托泊替康;微管蛋白相互作用试剂,例如紫杉醇,多西他赛或埃博霉素(例如伊沙匹隆),天然形成的或合成的;激素试剂,例如tamoxifen;胸苷酸合成酶抑制剂,例如5-氟代尿嘧啶;抗代谢物,例如甲氨蝶呤;其他的酪氨酸激酶抑制剂,例如Iressa和OSI-774;血管

生成抑制剂;EGF抑制剂;VEGF抑制剂;CDK抑制剂;SRC抑制剂;c-Kit抑制剂;Her1/2抑制剂和定向针对生长因子受体的单克隆抗体,例如爱必妥(EGF)和赫塞汀(Her2);以及其他蛋白激酶调节剂。可以用于本发明的方法和试剂盒中的其他抗癌试剂是肿瘤学领域中那些技术人员已知的。

[0274] 在一些实施方案中,至少一种其他的治疗试剂选自蛋白酶抑制剂,硼替佐米(Velcade<sup>®</sup>),卡非佐米(PR-171),PR-047,戒酒硫,lactacystin,PS-519,eponemycin,epoxomycin,阿克那霉素,CEP-1612,MG-132,CVT-63417,PS-341,乙烯砜三肽抑制剂,利托那韦,PI-083,(+/-)-7-甲基omuralide,(-)-7-甲基omuralide,来那度胺和它们的组合。

[0275] 在一些实施方案中,至少一种其他的治疗试剂为已知用于治疗血液学恶性肿瘤的化疗的组合,例如"CHOP"(一种组合,其包含(i)环磷酰胺,例如cytoxan,(ii)阿霉素或其他的拓扑异构酶II抑制剂,例如adriamycin,(iii)长春新碱或其他的vincas,例如oncovin;和(iv)类固醇,例如氢化可的松或泼尼松龙);"R-CHOP"(一种组合,其包含美罗华,环磷酰胺,阿霉素,长春新碱和强的松);"ICE"(一种组合,其包含异环磷酰胺,卡铂和依托泊苷);"R-ICE"(一种组合,其包含美罗华,异环磷酰胺,卡铂和依托泊苷);"R-ACVBP"(利妥昔单抗,阿霉素,环磷酰胺,长春花碱酰胺,博来霉素和强的松的组合);"DA-EPOCH-R"(剂量调节的依托泊苷,阿霉素,环磷酰胺,长春新碱,强的松和利妥昔单抗的组合);"R-苯达莫司汀"(苯达莫司汀和利妥昔单抗的组合);"GemOx或R-GemOx"(吉西他滨和奥沙利铂的组合,具有或不具有利妥昔单抗);以及"DHAP"(一种组合,其包含地塞米松,阿糖胞苷和顺铂)。

[0276] 通常用于癌症治疗内容的任何溶瘤试剂在本发明公开的治疗方法具有用途。例如the U.S.Food and Drug Administration(FDA)持续批准溶瘤试剂的配方用于在美国使用。FDA的国际代理机构保持相似的配方。本领域的那些技术人员应该理解的是,在所有美国批准的化疗方法上都需要的“产品标签”描述了示例性试剂的批准的适应症、剂量形成、毒性数据等。

[0277] 包含P13K-δ抑制剂,抗-CD20抗体和BTK抑制剂(或者任何或所有试剂的多于一种的试剂)可以以任何顺序或在任何间隔下给予,其可以由本领域那些技术人员测定。例如式A所示的P13K-δ抑制剂、ublituximab或与ublituximab相同的抗原表位结合的抗-CD20抗体、以及BTK抑制剂可以依次(以任何顺序)、同时或者通过依次和同时给予的任何组合而给予。式A所示的P13K-δ抑制剂、ublituximab或与ublituximab相同的抗原表位结合的抗-CD20抗体、以及BTK抑制剂的任何组合可以在相同的药物组合物中或者在分开的药物组合物中给予。例如式A所示的P13K-δ抑制剂和BTK抑制剂可以在相同的药物组合物中给予。

[0278] 可以根据分钟(例如0-60分钟)、小时(例如0-24小时)、天(例如0-7天)和/或周(例如0-52周)的所需的任何数量的时间间隔,给予试剂的组合物(同时和/或依次(以任何顺序)),其可以由本领域任一技术人员决定和测定。剂量还可以在一段时间内改变,例如在一段时间内(例如1,2,3,4,5或6周)以每周一次的剂量开始,然后每两周一次的剂量、每三周一次、每四周一次、每五周一次或者每六周一次。

[0279] 与本发明的方法组合使用的P13K-δ选择性抑制剂、抗-CD20抗体和BTK抑制剂可以配制成为给予哺乳动物(包括人类)的药物组合物。药物组合物包含药物可接受的载体,包括例如离子交换剂,氧化铝,硬脂酸铝,卵磷脂,血清蛋白(例如人类血清白蛋白),缓冲剂物质(磷酸盐),甘氨酸,山梨酸,山梨酸钾,饱和的植物脂肪酸的部分甘油酯混合物,水,盐

或电解质(例如鱼精蛋白硫酸盐,磷酸氢二钠,磷酸氢钾,氯化钠,锌盐,硅胶,三硅酸镁),聚乙烯吡咯烷酮,纤维素基物质,聚乙二醇,羧甲基纤维素钠,聚丙烯酸酯,蜡,聚乙烯-聚丙烯-嵌段聚合物,聚乙二醇和羊毛脂。

[0280] 与本发明的方法组合使用的试剂可以通过任何合适的方法给予,例如口服、肠胃外、心室内、吸入喷雾、局部、直肠、鼻内、口腔、阴道内或通过植入型储库。各种试剂的给予方式不必是相同的。

[0281] 在优选的实施方案中,P13K-δ抑制剂(例如TGR-1202)是口服给予的。

[0282] 在优选的实施方案中,BTK抑制剂(例如伊布替尼)是口服给予的。

[0283] 如本文所用,术语“肠胃外”包括皮下、静脉内、肌肉内、关节内、滑液内、胸骨内、鞘内、肝脏内、病灶内和颅内注射或输注技术。肠胃外配制物可以为单次剂量、输注或加载单次剂量,然后为维持剂量。这些组合物可以在具体的固定的或可变的间隔下给予,例如每天一次或者在“根据需要的”基础上。在优选的实施方案中,抗-CD20抗体ublituximab以静脉内(IV)给予,优选通过输注给予。

[0284] 某些药物组合物可以以可接受的剂型口服给予,例如胶囊、片剂、水性悬液或溶液。某些药物组合物还可以通过鼻气雾剂或吸入给予。此类组合物可以在盐水中制备成溶液,其中使用苄醇或其他合适的防腐剂、吸收促进剂(以增强生物利用度)和/或其他常规的溶解或分散试剂。

[0285] 用于任何特定患者的具体剂量和治疗方案取决于多种因素,包括所用的特定的治疗试剂、患者的年龄、体重、一般健康情况、性别、饮食、给予时间、排泄的速度、药品组合以及所治疗的疾病的严重性。在一些情况下,必须根据扫描或活组织检查结果修改剂量。医学护理人员对这些因素的判断在本领域普通技术人员的技术认为内。剂量还取决于待治疗的单个患者、给予途径、配制物的类型、所用的化合物的特征、肿瘤负担和所需的效果。可以通过本领域公知的药理学和药代动力学原理,测定使用量。

[0286] 在一些实施方案中,抗-CD20抗体为ublituximab,并且以如下剂量给予:大约450mg至大约1200mg,大约600至大约1200mg,大约600至大约1000mg,大约600至大约900mg,大约600mg,大约700mg,大约800mg或大约900mg。在优选的实施方案中,以大约900mg的剂量给予ublituximab。

[0287] 可以每周大约两次、每1至9周大约一次、每周大约一次、每2周大约一次、每3周大约一次、每4周大约一次、每5周大约一次、每6周大约一次、每7周大约一次、每8周大约一次或者每9周大约一次给予Ublituximab。本领域的任一技术人员应该理解的是,ublituximab的剂量和/或给予ublituximab的频率在治疗过程中可以根据患者的临床应答、副作用等改变。

[0288] 在一些实施方案中,周期1和周期2的第1,8和15天、在周期4,6,9和12的第1天给予ublituximab,其中各周期为28天。

[0289] 在一些实施方案中,以如下剂量每天一次给予式A所示的P13K-δ选择性抑制剂:大约200mg至大约1200mg,大约400mg至大约1000mg,大约400mg至大约800mg,大约400mg,大约500mg,大约600mg,大约700mg,大约800mg,大约900mg,大约1000mg或大约1200mg。

[0290] 在一些实施方案中,式A所示的P13K-δ选择性抑制剂为(S)-2-(1-(4-氨基-3-(3-氟代-4-异丙氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基)乙基)-6-氟代-3-(3-氟代苯基)-

4H-色烯-4-酮PTSA盐(TGR-1202),并且其以每天大约400mg至大约1200mg的剂量给予。在一些实施方案中,每天以大约400mg的剂量给予TGR-1202。在一些实施方案中,每天以大约600mg的剂量给予TGR-1202。在一些实施方案中,每天以大约800mg的剂量给予TGR-1202。

[0291] 在一些实施方案中,BTK抑制剂为1-[ (3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基]哌啶-1-基]丙-2-烯-1-酮(伊布替尼)。在一些实施方案中,以下剂量每天一次给予伊布替尼:大约200至大约800mg,大约400至大约600mg,大约400mg,大约420mg,大约440mg,大约480mg,大约500mg,大约520mg,大约540mg,大约560mg,大约580mg或大约600mg。在一些实施方案中,每天以大约420mg或者每天以大约560mg的剂量给予伊布替尼。在一些实施方案中,每天以大约420mg的剂量给予伊布替尼。在一些实施方案中,每天以大约560mg的剂量给予伊布替尼。可以用于本发明的方法中的其他非ibrutinab BTK抑制剂的剂量可以由本领域的那些技术人员根据科学/医学文献常规测定。

[0292] 补充活性化合物也可以被引入至本方面的方法和试剂盒中。例如抗-CD20抗体、P13K-δ选择性抑制剂和BTK抑制剂可以与一种或多种其他治疗试剂共同配制和/或共同给予。作为非限定性实例,所述的方法和试剂盒可以与抗癌试剂共同配制,例如例如DNA交互剂,例如顺铂或阿霉素;拓扑异构酶II抑制剂,例如依托泊昔;拓扑异构酶I抑制剂,例如CPT-11或托泊替康;微管蛋白相互作用试剂,例如紫杉醇,多西他赛或埃博霉素(例如伊沙匹隆),天然形成的或合成的;激素试剂,例如tamoxifen;胸苷酸合成酶抑制剂,例如5-氟代尿嘧啶;代谢物,例如甲氨蝶呤;其他的酪氨酸激酶抑制剂,例如Iressa和OSI-774;血管生成抑制剂;EGF抑制剂;VEGF抑制剂;CDK抑制剂;SRC抑制剂;c-Kit抑制剂;Her1/2抑制剂和定向针对生长因子受体的单克隆抗体,例如爱必妥(EGF)和赫塞汀(Her2);以及其他蛋白激酶调节剂。其他的活性试剂还可以为蛋白酶抑制剂,硼替佐米(Velcade<sup>®</sup>),卡非佐米(PR-171),PR-047,戒酒硫,lactacystin,PS-519,eponemycin,epoxomycin,阿克那霉素,CEP-1612,MG-132,CVT-63417,PS-341,乙烯砜三肽抑制剂,利托那韦,PI-083,(+/-)-7-甲基omuralide,(-)-7-甲基omuralide,来那度胺(Revlimid<sup>®</sup>)或它们的组合。

### [0293] 试剂盒

[0294] 在一个方面中,本发明提供一种试剂盒,其包含(a)至少一种P13K-δ选择性抑制剂、至少一种抗-CD20抗体和至少一种BTK抑制剂;以及(b)P13K-δ选择性抑制剂与抗-CD20抗体和BTK抑制剂组合使用的说明书。

[0295] 在另一个方面中,本发明提供一种试剂盒,其包含至少一种式A所示的P13K-δ选择性抑制剂、至少一种抗-CD20抗体(其为ublituximab或者与ublituximab相同的抗原表位结合的抗体)、以及至少一种BTK抑制剂。在一些实施方案中,可以用于实施本发明所述的方法的其他试剂以及它们的组合包含在所述的试剂盒中。此类试剂盒可以包含例如用于治疗B细胞恶性肿瘤的本领域那些技术人员已知的其他化合物和/或组合物,用于给予该化合物和/或组合物的装置(多种),以及由管理药物或生物学产品的制造、使用或出售的政府机构描述形式的书面说明书。

[0296] 在一些实施方案中,试剂盒包含(a)式A所示的P13K-δ选择性抑制剂(例如TGR-1202),其立体异构体,或者其药物可接受的盐、溶剂化物或前药;ublituximab、抗-CD20抗体或者其与ublituximab相同的抗原表位结合的片段;以及BTK的抑制剂;以及(b)将所述的P13K-δ选择性抑制剂与ublituximab、抗-CD20抗体或其与ublituximab相同的抗原表位结

合的片段、以及BTK的抑制剂组合使用的说明书。

[0297] 在一些实施方案中，试剂盒中BTK的抑制剂为伊布替尼。在一些实施方案中，试剂盒中BTK的抑制剂为acalabrutinib。

[0298] 在一些实施方案中，试剂盒中P13K-δ选择性抑制剂为(S)-2-(1-(4-氨基-3-(3-氟代-4-异丙氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基)乙基)-6-氟代-3-(3-氟代苯基)-4H-色烯-4-酮。

[0299] 在一些实施方案中，试剂盒中P13K-δ选择性抑制剂为(S)-2-(1-(4-氨基-3-(3-氟代-4-异丙氧基苯基)-1H-吡唑啉[3,4-d]嘧啶-1-基)乙基)-6-氟代-3-(3-氟代苯基)-4H-色烯-4-酮PTSA盐(TGR-1202,还称为umbralisib)。

[0300] 在一些实施方案中，所述的试剂盒进一步包含ublituximab、抗-CD20抗体或者其与ublituximab相同的抗原表位结合的片段。

[0301] 在一些实施方案中，所述的试剂盒进一步包含ublituximab。

[0302] 本领域任一技术人员容易地意识到，用于本发明方法中的本发明所述的公开的试剂组合(抗体和小分子抑制剂)可以容易地引入本领域公知的所建立的试剂盒格式之一中。

[0303] 本发明进一步提供多种试剂盒，其包含(a)式A所示的P13K-δ选择性抑制剂、抗-CD20抗体、BTK抑制剂或它们的组合；以及(b)其他的抗癌试剂。在一些实施方案中，所述的试剂盒包含TGR-1202, ublituximab, 伊布替尼和另一种BTK的抑制剂(如本发明所述)，以及选自以下的化疗试剂：DNA交互剂，例如顺铂或阿霉素；拓扑异构酶II抑制剂，例如依托泊昔；拓扑异构酶I抑制剂，例如CPT-11或托泊替康；微管蛋白相互作用试剂，例如紫杉醇，多西他赛或埃博霉素(例如伊沙匹隆)，天然形成的或合成的；激素试剂，例如tamoxifen；胸苷酸合成酶抑制剂，例如5-氟代尿嘧啶；抗代谢物，例如甲氨蝶呤；其他的酪氨酸激酶抑制剂，例如Iressa和OSI-774；血管生成抑制剂；EGF抑制剂；VEGF抑制剂；CDK抑制剂；SRC抑制剂；c-Kit抑制剂；Her1/2抑制剂以及定向针对生长因子受体的单克隆抗体，例如爱必妥(EGF)和赫塞汀(Her2)；以及其他蛋白激酶调节剂。

[0304] 使用式A所示的P13K-δ选择性抑制剂、Ublituximab或与Ublituximab相同的抗原表位结合的抗-CD20抗体、以及BTK抑制剂的组合

[0305] 式A所示的P13K-δ选择性抑制剂、ublituximab或与ublituximab相同的抗原表位结合的抗-CD20抗体、以及BTK抑制剂的组合可以用于治疗受试对象的B细胞增殖性疾病(例如B细胞恶性肿瘤)的方法中。

[0306] 在一些实施方案中，式A所示的P13K-δ选择性抑制剂可以用于制造治疗B细胞增殖性紊乱的药剂，其中式A所示的P13K-δ选择性抑制剂与抗-CD20抗体和BTK抑制剂组合给予(例如依次或同时)，其中所述的抗-CD20抗体为ublituximab或与ublituximab相同的抗原表位结合的抗体。此外，抗-CD20抗体可以用于制造治疗B细胞增殖性紊乱的药剂，其中抗-CD20抗体与式A所示的P13K-δ选择性抑制剂和BTK抑制剂组合物给予(例如依次或同时)。在一些实施方案中，抗-CD20抗体为ublituximab。在一些实施方案中，P13K-δ选择性抑制剂为TGR-1202。在一些实施方案中，抗-CD20抗体为ublituximab，而P13K-δ选择性抑制剂为TGR-1202。

[0307] 本发明进一步提供通过向受试对象组合给予本发明的有效量的试剂来抑制受试对象的P13K-δ同种型和/或CD20和/或BTK的方法。

[0308] 本发明进一步提供通过向患者组合给予本发明的有效量的试剂来治疗、预防和/或抑制P13K-δ介导的疾病、紊乱或状况和/或CD20介导的疾病、紊乱或状况(例如癌症或其他增殖性疾病或紊乱)和/或BTK介导的疾病、紊乱或状况的方法。

[0309] 本发明进一步提供通过向患者组合给予本发明的有效量的试剂来治疗P13K-δ同种型和/或CD20-或BTK-相关疾病、紊乱或状况的方法。在一些实施方案中,组合给予的试剂的量足以通过选择性抑制P13K-δ和/或CD20和/或BTK来治疗P13K-δ同种型和/或CD20和/或BTK-相关疾病、紊乱或状况。

[0310] 在一些实施方案中,本发明进一步提供通过向需要治疗的患者给予有效量的至少一种P13K-δ选择性抑制剂、至少一种抗-CD20抗体和至少一种BTK抑制剂来治疗B细胞增殖性疾病的方法。在一些实施方案中,抗-CD20抗体为ublituximab。在一些实施方案中,P13K-δ选择性抑制剂为TGR-1202。在一些实施方案中,BTK抑制剂为伊布替尼。在一些实施方案中,抗-CD20抗体为ublituximab,P13K-δ选择性抑制剂为TGR-1202。在一些实施方案中,抗-CD20抗体为ublituximab,P13K-δ选择性抑制剂为TGR-1202,而BTK抑制剂为伊布替尼。

[0311] 在一些实施方案中,本发明进一步提供通过向需要治疗的患者给予治疗有效量的本发明的至少一种式A所示的P13K-δ选择性抑制剂、至少一种抗-CD20抗体(其为ublituximab或与ublituximab相同的抗原表位结合的抗体)和至少一种BTK抑制剂,来治疗B细胞增殖性疾病的方法。在一些实施方案中,组合给予的试剂的量足以通过选择性抑制P13K-δ、和/或抑制CD20、和/或抑制BTK来治疗B细胞增殖性疾病。在一些实施方案中,B细胞增殖性紊乱为B细胞恶性肿瘤(例如淋巴瘤、白血病或骨髓瘤)。在一些实施方案中,抗-CD20抗体为ublituximab。在一些实施方案中,P13K-δ选择性抑制剂为TGR-1202。在一些实施方案中,BTK抑制剂为伊布替尼。在一些实施方案中,抗-CD20抗体为ublituximab,而P13K-δ选择性抑制剂为TGR-1202。在一些实施方案中,抗-CD20抗体为ublituximab,P13K-δ选择性抑制剂为TGR-1202,而BTK抑制剂为伊布替尼。

[0312] 本发明进一步提供通过向需要治疗的患者给予本发明的有效量的试剂的组合、并进一步结合(同时或依次)至少一种其他的抗癌试剂,来治疗B细胞增殖性疾病的方法。在一个实施方案中,式A所示的P13K-δ选择性抑制剂的量足以通过选择性抑制P13K-δ来治疗(或促进治疗)B细胞增殖性疾病。

[0313] 本发明的试剂的组合特别用于治疗多种血液学癌症,例如但不限于急性淋巴细胞白血病(ALL),急性髓系白血病(AML),慢性淋巴细胞白血病(CLL),小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL),多发性骨髓瘤(MM),非Hodgkin淋巴瘤(NHL),外套细胞淋巴瘤(MCL),滤泡性淋巴瘤(FL),Waldenstrom巨球蛋白血症(WM),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),边缘区淋巴瘤(MZL),毛细胞白血病(HCL),Burkitt淋巴瘤(BL)和Richter转化。

[0314] 本领域那些技术人员应该理解的是其他类型的淋巴瘤或白血病在本发明的试剂的组合中具有用途,例如B细胞前淋巴细胞白血病,淋巴浆细胞性淋巴瘤,浆细胞骨髓瘤/浆细胞瘤,Hodgkin淋巴瘤以及Burkitt淋巴瘤/Burkitt细胞白血病。

[0315] 在一些实施方案中,非Hodgkin淋巴瘤(NHL)为侵入性NHL或惰性NHL。亲和性NHL的实例包括B细胞赘生物,弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),T/NK细胞赘生物,间变性大细胞淋巴瘤,外周T细胞淋巴瘤,前体型B淋巴母细胞白血病/淋巴瘤,前体型T淋巴母细胞白血病/淋巴瘤,Burkitt淋巴瘤,成人型T细胞淋巴瘤/白血病(HTLV1+),原发性CNS淋巴瘤,外套细

胞淋巴瘤(MCL),多态性移植后淋巴细胞增殖性紊乱(PTLD),AIDS相关的淋巴瘤,真性组织淋巴瘤和母细胞性NK细胞淋巴瘤。最普通的侵入性NHL类型为弥漫性大细胞淋巴瘤。惰性NHL的非限定性实例包括滤泡性淋巴瘤,小淋巴细胞性淋巴瘤,边缘区淋巴瘤(例如结外边缘区淋巴瘤(还称为粘膜相关性淋巴样组织--MALT淋巴瘤),结节边缘区B细胞淋巴瘤(单核细胞样B细胞淋巴瘤),脾脏边缘区淋巴瘤),和淋巴浆细胞性淋巴瘤(Waldenstrom巨球蛋白血症)。在一些实施方案中,受试对象患有侵入性NHL或惰性NHL。

[0316] 在一些实施方案中,患者具有选自以下的状况:外套细胞淋巴瘤(MCL),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),滤泡性淋巴瘤(FL),急性淋巴细胞白血病(ALL),急性髓系白血病(AML),慢性淋巴细胞白血病(CLL),小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL),多发性骨髓瘤(MM)和边缘区淋巴瘤。

[0317] 本发明的试剂的组合作为凋亡的调控剂用于治疗、预防和抑制癌症(包括但不限于上文提及的B细胞恶性肿瘤的类型)。

[0318] 本发明的试剂的组合还可以用于癌症的化学预防。化学预防涉及通过阻断引发诱变事件、阻断癌前细胞(其已经遭受损伤)的进展而抑制浸润性癌症的发展,或抑制肿瘤复发。所述的化合物还可以用于抑制肿瘤血管发生或转移。本发明的一个实施方案为通过给予本发明的有效量的一种或多种化合物而抑制肿瘤血管发生或转移的方法。

[0319] 在上文提及的治疗方法中,一种或多种其他的治疗试剂可以与本发明的试剂的组合一起给予。例如本发明的试剂的组合可以用于与已知的抗癌治疗(例如放射治疗)或与一种或多种细胞抑制、细胞毒性或抗癌试剂结合(一起或依次给予),例如DNA交互剂,例如顺铂或阿霉素;拓扑异构酶II抑制剂,例如依托泊昔;拓扑异构酶I抑制剂,例如CPT-11或托泊替康;微管蛋白相互作用试剂,例如紫杉醇,多西他赛或埃博霉素(例如伊沙匹隆),天然形成的或合成的;激素试剂,例如tamoxifen;胸苷酸合成酶抑制剂,例如5-氟代尿嘧啶;代谢物,例如甲氨蝶呤;其他的酪氨酸激酶抑制剂,例如Iressa和OSI-774;血管生成抑制剂;EGF抑制剂;VEGF抑制剂;CDK抑制剂;SRC抑制剂;c-Kit抑制剂;Her1/2抑制剂和定向针对生长因子受体的单克隆抗体,例如爱必妥(EGF)和赫塞汀(Her2);以及其他其他的蛋白激酶调节剂。其他的活性试剂还可以为蛋白酶抑制剂,硼替佐米(Velcade<sup>®</sup>),卡非佐米(PR-171),PR-047,戒酒硫,lactacystin,PS-519,eponemycin,epoxomycin,阿克那霉素,CEP-1612,MG-132,CVT-63417,PS-341,乙烯砜三肽抑制剂,利托那韦,PI-083,(+/-)-7-甲基omuralide,(-)-7-甲基omuralide,来那度胺(Revlimid<sup>®</sup>)或它们的组合。

[0320] 本发明的试剂的组合还可以用于与一种或多种类固醇抗炎药品(例如强的松或泼尼松龙)、非类固醇抗炎药品(NSAID)或免疫选择性抗炎衍生物(ImSAID)结合(一起或依次给予)。

[0321] 在一些实施方案中,患者具有复发的或难治的状况(即,B细胞癌症)。在一些实施方案中,受试对象是化学治疗难以治愈的,或者在使用化学治疗后复发的。在一些实施方案中,受试对象是非-TGR-1202P13K-8抑制剂难以治愈的。在一些实施方案中,受试对象是本发明所述的试剂(i,ii或iii)难以治愈的,其中所述的试剂单独给予(即,作为单一治疗)。

[0322] 在一些实施方案中,癌症对使用利妥昔单抗的治疗具有抗性。在一些实施方案中,癌症对使用利妥昔单抗的治疗显示降低的应答。在一些实施方案中,受试对象之前已经使用利妥昔单抗治疗过。

[0323] 在特定的实施方案中,所述的方法包括在受试对象中,降低NF- $\kappa$ -B活性的水平,降低SNAIL表达,升高RKIP活性,升高PTEN活性,升高肿瘤对TRAIL凋亡的敏感性,降低P13K- $\delta$ 活性的水平或者它们的组合。

[0324] 在特定的实施方案中,本发明所述的式A所示的P13K- $\delta$ 抑制剂、抗-CD20抗体ublituximab和BTK抑制剂的组合耗尽了人类全血的B细胞。在一些实施方案中,所述的三联体组合耗尽人类全血的B细胞,其程度高于单独的式A所示的P13K- $\delta$ 抑制剂、抗-CD20抗体ublituximab和BTK抑制剂耗尽人类全血的B细胞。在一些实施方案中,式A所示的P13K- $\delta$ 抑制剂、抗-CD20抗体ublituximab和BTK抑制剂的组合耗尽人类全血的B细胞,其程度高于式A所示的P13K- $\delta$ 抑制剂的耗尽、抗-CD20抗体ublituximab的耗尽、以及通过BTK抑制剂的耗尽的总和。

[0325] 在一些实施方案中,式A所示的P13K- $\delta$ 抑制剂、抗-CD20抗体和BTK抑制剂可以用于治疗与过度B细胞增殖有关的疾病或紊乱的方法中,其中所述的方法包括向有需要的受试对象给予式A所示的P13K- $\delta$ 抑制剂、抗-CD20抗体ublituximab和BTK抑制剂。在一些实施方案中,式A所示的P13K- $\delta$ 抑制剂、抗-CD20抗体和BTK抑制剂可以用于治疗与过度B细胞活性有关的疾病或紊乱的方法中,其中所述的方法包括向有需要的受试对象给予式A所示的P13K- $\delta$ 抑制剂、抗-CD20抗体和BTK抑制剂。在一些实施方案中,式A所示的P13K- $\delta$ 抑制剂、抗-CD20抗体和BTK抑制剂可以用于治疗与过量B细胞有关的疾病或紊乱的方法中,其中所述的方法包括向有需要的受试对象给予式A所示的P13K- $\delta$ 抑制剂、抗-CD20抗体和BTK抑制剂。在一些实施方案中,抗-CD20抗体为ublituximab。在一些实施方案中,P13K- $\delta$ 选择性抑制剂为TGR-1202。在一些实施方案中,BTK抑制剂为伊布替尼。在一些实施方案中,抗-CD20抗体为ublituximab,而P13K- $\delta$ 选择性抑制剂为TGR-1202。在一些实施方案中,抗-CD20抗体为ublituximab,P13K- $\delta$ 选择性抑制剂为TGR-1202,而BTK抑制剂为伊布替尼。

[0326] 当将本发明公开的试剂给予受试对象(例如人类受试对象)时,所述的试剂可以作为组合物通过任何合适的途径(例如皮内,肌肉内,腹膜内,肠胃外,静脉内,皮下,鼻内,硬膜外,口服,舌下,口腔,大脑内,叶鞘内,经皮,经粘膜,直肠,吸入或局部)给予,其中所述的组合物包含药物可接受的载体或赋形剂。传递可以是局部的或系统的。药物组合物可以制成溶液,悬液,乳液,片剂,药丸,丸剂,粉末,多颗粒,胶囊,含液体胶囊,含粉末胶囊,含多颗粒胶囊,锭剂,持释配制物,栓剂,粘膜薄膜,舌下片剂或片,气溶胶,喷雾或者适合使用的任何其他形式。在一个实施方案中,组合物为片剂形式。在另一个实施方案中,组合物为胶囊形式。合适的药物赋形剂的其他实例在Remington's Pharmaceutical Sciences 1447-1676 (Alfonso R.Gennaro ed., 19th ed. 1995) 中描述,所述的文献以引用方式全文并入本文。

[0327] 在某些实施方案中,本发明公开的试剂配制成为例如片剂、胶囊、凝胶胶囊、囊片、锭剂、水性或油性溶液、悬液、粒子、粉末、乳液、糖浆或酏剂形式用于口服给予。片剂可以压制、包有肠溶衣、包有糖衣、包有薄膜、多重压制或多层的。

[0328] 在某些实施方案中,本发明公开的试剂配制成为药物组合物用于静脉内给予。通常,此类组合物包含无菌等渗水性缓冲剂。在需要的情况下,所述的组合物还可以包含增溶试剂。通常,多种组分可以分开供入,或者一起混合在单位剂量型中,例如在密闭容器(例如标明活性试剂定量的安瓿或药囊)中作为冻干粉末或无水浓缩物。在通过输注给予的情况下,可

以使用例如包含无菌药物级水或盐水的输液瓶,分配组合物。在通过输注给予的情况下,可以提供用于注射或盐水的无菌水的安剖,使得多个组分可以在给予之前混合。

## 实施例

[0329] 实施例1:用于治疗B细胞恶性肿瘤的式A所示的P13K- $\delta$ 抑制剂(TGR-1202)、抗-CD20抗体(ublituximab)和BTK抑制剂(伊布替尼)的三重组合

[0330] 背景:出现用于B细胞恶性肿瘤的新型靶向试剂,但是少数研究成功且安全地将这些试剂组合。Ublituximab(UTX)为新型的糖基化改造的1型嵌合IgG1mAb,其靶向CD20抗原上的独特的抗原表位,该抗原表位不被妥昔单抗或ofatumumab所靶向。参见Miller,J.等人,Blood 120:Abstract No.2756(2012);Deng,C.等人,J.Clin.Oncol.31:Abstract No.8575(2013);O'Connor,O.A.等人,J.Clin.Oncol.32:5s(2014),(suppl;Abstract No.8524)。Ublituximab经糖基化改造而用于强效的活性,从而显示独特的一级氨基酸序列和低的海藻糖含量,其经设计而诱导优异的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性("ADCC")。在利妥昔单抗难治的患者中,已经观察到使用单一试剂ublituximab的应答。Id.

[0331] Umbralisib(还称为TGR-1202)为下一代高度特异性每天一次口服可用的P13K- $\delta$ 抑制剂,其在患有多发的或难以治愈的(rel/ref)血液学恶性肿瘤中具有活性。参见O' Connor,O.A.等人,Blood 126:Abstract No.4154(2015);Burris,H.等人,J Clin Oncol 33(2015)(suppl;abstract 7069);Burris,H.等人,J Clin Oncol 32:5s,(2014)(suppl;abstract 2513);Burris,H.等人,Blood 124:Abstract No.1984(2014)。TGR-1202具有独特的分子结构,这为TGR-1202提供有利的安全性概况(值得注意的是对于肝脏毒性和大肠炎而言)。Id.。已经证明与现有技术的抑制剂相比,TGR-1202的有利的安全性(包括长期随访)。Burris,H.等人,"Long-term follow-up of the PI3K delta inhibitor TGR-1202 demonstrates a differentiated safety profile and high response rates in CLL and NHL: Integrated-analysis of TGR-1202 monotherapy and combined with ublituximab,"American Society of Clinical Oncology Annual Meeting(ASCO),Abstract#7512(June 3,2016)。P13K的 $\delta$ 同种型在造血来源的细胞中高度表达,并且受到强烈的上调节,而且在多种血液学恶性肿瘤中经常突变。

[0332] 口服给予的BTK抑制剂(伊布替尼)是目前FDA批准的,以商品名Imbruvica®出售,用于治疗多种B细胞赘生物,例如外套细胞淋巴瘤,CLL,和Waldenstrom巨球蛋白血症(非Hodgkin淋巴瘤(NHL)形式)。参见Imbruvica®全部描述信息(Pharmacyclics LLC and Janssen Biotech, Inc.)。还参见Honigsberg,L.A.等人,PNAS 107:13075-13080(2010),和美国专利No.7,514,444,8,697,711,8,703,780,8,088,309和8,088,781。

[0333] 在1期临床试验中,在38名患有复发的且难治愈的B细胞恶性肿瘤(例如慢性淋巴细胞白血病(CLL)和Non-Hodgkins淋巴瘤(NHL))的患者中,评价抗-CD20抗体(ublituximab),+PI3K- $\delta$ 抑制剂(TGR-1202),+BTK抑制剂(伊布替尼)的三重组合的安全性、最大耐受剂量(MTD)和效力。

[0334] 方法:有资格参与试验的患者患有确诊的慢性淋巴细胞白血病(CLL),小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL),或B细胞非-Hodgkin淋巴瘤(NHL),并且使用美国东部肿瘤协作组(Eastern Cooperative Oncology Group(ECOG) p)体力状况(PS)≤2,以及充分的器官系统功能(即,

ANC $\geqslant$ 500/ $\mu$ l; 血小板 $\geqslant$ 30K/ $\mu$ l)。通常,患者显示在至少一次现有技术治疗方案之后复发,或者是现有治疗方案难治的,并且对现有技术的治疗数量无限定。(一个特例是初治的CLL/SLL患者)。患有其他B细胞淋巴细胞增殖性紊乱(即,Richter转化)的患者、或者对现有的P13K-δ抑制剂或现有的BTK抑制剂难以治愈(不应答)的患者也是合格的。在90天后由现有的自体干细胞移植复发的患者也是合格的。

[0335] 向总计38名患者(n=38)给予三重组合,其中包括6名滤泡性淋巴瘤(FL)患者,16名慢性淋巴细胞白血病(CLL)患者,4名小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL)患者,6名弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)患者,2名边缘区淋巴瘤(MZL)患者,以及4名外套细胞淋巴瘤(MCL)患者。患者中值年龄为65岁(范围32-85)。29名男性和9名女性患者接受中值为3的现有技术治疗方案(范围0-6)。接受3次或更多的现有技术治疗的患者数量为21(55%)。关于所研究的38名患者的体力状况的ECOG级别:14名患者为ECOG 0;21名患者为ECOG 1;而3名患者为ECOG 2。参见Oken,M.M.等人,Am J Clin.Oncol.5:649-655(1982)。13名患者(34%)是即刻现有技术治疗难以治愈的,并且15名患者是利妥昔单抗难以治愈的(39%)。

[0336] 在剂量递增设计中,独立地评价三组(组1、2和3)CLL和SLL患者以及三组(组1、2和3)NHL患者(其包含亚型FL,DLBCL,MZL和MCL),从而评价安全性和剂量限制性毒性(DLT)。使用TGR-1202剂量递增,评价各CLL和NHL组患者的三组患者,其中微粉化剂量为400mg(组1)、然后600mg(组2)和800mg(组3)。TGR-1202与伊布替尼组合每天给予一次,其中每天给予一次420mg(对于CLL患者)和560mg(对于NHL患者)的TGR-1202。在周期1的第1天开始每天给予一次TGR-1202和伊布替尼。参见图1。

[0337] 然而,未每天给予Ublituximab(UTX)。在周期1的第1,8和15天以及周期2,3,4,5,6,9和12的第1天向患者静脉内输注剂量为900mg的UTX。每个周期为28天。此后,在第8周并且每12周都进行扫描,以评估效力。在第12个月后,所有患者继续TGR-1202和伊布替尼的每天治疗。参见图1。

[0338] 结果:

[0339] 安全性和耐受性

[0340] 对三十八名(38)患者进行安全性评价。在38名患者中,在TGR-1202的剂量水平高达800mg下,与TGR-1202和伊布替尼组合物的UTX被良好地耐受,其中所述的剂量是本研究中目前为止所测试的最高剂量水平。由47%患者所报告的最频繁报告的不良事件(AE)是腹泻和疲劳,并且仅一件3或4级腹泻事件被报告。其他不良事件报告如下:头昏眼花(37%),一件3或4级事件;失眠和恶心(34%);粒细胞减少症、咳嗽和输液相关反应(IRR)(32%),并且有7名(18%)患者经历3或4级粒细胞减少症;血小板减少症(29%),并且3名(8%)患者经历3或4级事件;发热和皮疹(29%),并且各种情况均具有一件3或4级事件;贫血症(26%),并且一件3或4级事件;鼻窦炎(24%);呼吸困难和胃炎(21%),并且各种情况均具有一件3或4级事件;以及肺炎(18%),并且11%经历3或4级事件。在超过10%的患者中,肺炎和粒细胞减少症仅为3或4级不良事件。

[0341] 在目前为止所治疗的38名患者中,两名患者由于不良事件(肺炎和脓毒病)中断。在CLL 1水平组(400mg TGR-1202)中,由于水痘带状疱疹反应,观察到一例剂量限制性毒性(DLT)。未观察到其他的DLT。

[0342] 临床活性

[0343] 对38名患者中的三十六名(36)患者进行效力评价(两名患者在初次效力评估之前中断,其中1名患者根据研究者自由决断权剔除,1名患者由于肺炎剔除)。根据Hallek,M.等人,Blood 111:5446-5456 (2008)列出的标准国际工作组指导原则,检查治疗CLL的效力。根据Cheson,B.D.等人,J Clin Oncol 25:579-586 (2007)列出的标准国际工作组指导原则,检查治疗NHL的效力。

[0344] 在TGR-1202的所有三个剂量水平中观察临床应答。

[0345] 图2为描述效力的柱状图,其通过在所有患者疾病负担中与基线的最佳百分率变化所反映,其中所述的患者接受至少一次基线后扫描,从而评估疾病/肿瘤负担。图4表示根据临床应答水平的效力结果(即,CR,PR,ORR,SD和PD)。

[0346] 在CLL/SLL组中,100%的患者(19名中的19名患者)接受目标应答,并且16名CLL患者中的8名患者具有17p和/或11q删除(高风险特征)。参见图2和4。三名CLL患者具有现有技术的BTK和/或P13K-δ抑制剂治疗,包括一名艾代拉里斯和伊布替尼难以治愈的患者,其达到持续1.5年的完全应答。

[0347] 患有边缘区淋巴瘤(MZL)的两名患者取得客观应答,并且一名患者具有完全应答(CR),一名患者具有部分应答(PR)。参见图2和4。

[0348] 在患有重度治疗前( $\geq 4$ 现有技术系列治疗)滤泡性淋巴瘤(FL)的5名患者中,80%(5名患者中的4名患者)取得目标应答,包括2名具有现有技术的自体干细胞移植(ASCT),1名是现有技术伊布替尼难以治愈的,并且1名具有5种现有技术系列的利妥昔单抗基治疗。参见图2和4。

[0349] 在四名外套细胞淋巴瘤(MCL)患者中,100%的患者(4名患者中的4名患者)取得目标应答,其中2名患者取得完全应答(CR),其是通过骨髓确认未决的放射性治疗来确定的,并且2名患者取得部分应答(PR)。参见图2和4。一名MCL患者目前保持继续研究,接近800天(图3)。

[0350] 在研究中显示进行性疾病(PD)的5名患者患有弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)。DLBCL患者具有中值为四的现有技术治疗,并且6名DLBCL患者中的4名为非生发中心B细胞样(GCB)亚型。参见图4。

[0351] 研究的持续时间:81%的患者研究持续超过6个月。研究的中值之间为11.1个月(范围0.4-30.1+个月)。(参见图3)。一名CLL患者和一名FL患者研究超过900天。图3。

[0352] 结论:这是用于治疗B细胞恶性肿瘤的抗-CD20抗体,P13K-δ抑制剂和BTK抑制剂的第一三重组合。UTX+TGR-1202+伊布替尼的组合被良好地耐受,并且在重度治疗前且高风险B细胞恶性肿瘤中观察到临床活性。

[0353] 上文中借助于功能建立模块来描述本发明,表明具体功能及其关系的实施方式。为了便于描述,这些功能建立模块的边界在本文中是随意定义的。备选边界可以定义,前提条件是具体的功能及其关系是适合实施的。

[0354] 上述具体实施方案的描述如此完全地表明本发明的一般性质,以至于通过利用本领域技术范围内的知识,其他人在不脱离本发明的一般概念的情况下,可以容易地修改和/或改编这种具体实施方案用于多种应用中,而无需过度的试验。因此,基于本发明呈现的教导和指导,这种改编和修改将涵盖在所公开的实施方案的等价物的含义和范围内。应该理解的是,本发明的短语或术语是为了描述而不是限定,这样本说明书的术语或短语由技术

人员根据教导和指导来解释。

## 序列表.txt

<110> TG治疗有限公司  
M · S · 魏斯  
H · P · 米什金  
P · 斯波尔泰利

<120> 用于治疗B细胞增殖性紊乱的抗-CD20抗体、P13激酶-δ选择性抑制剂和BTK抑制剂的组合

<130> 3261.007PC01/EKS/KRM

<160> 10

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> Ublituximab 可变重链CDR1

<400> 1

[0001] Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Asn  
1 5

<210> 2

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> Ublituximab 可变重链CDR2

<400> 2

Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr  
1 5

<210> 3

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> Ublituximab 可变重链CDR3

<400> 3

Ala Arg Tyr Asp Tyr Asn Tyr Ala Met Asp Tyr  
1 5 10

<210> 4  
 <211> 118  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>  
 <223> Ublituximab可变轻链

<400> 4

Gln	Ala	Tyr	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Val	Arg	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	

Ser	Val	Lys	Met	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr
	20					25							30		

Asn	Met	His	Trp	Val	Lys	Gln	Thr	Pro	Arg	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile
	35				40							45			

Gly	Gly	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asn	Gly	Asp	Thr	Ser	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe
	50				55					60					

[0002] Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Gly Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65		70		75		80	
----	--	----	--	----	--	----	--

Met	Gln	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys
			85				90						95		

Ala	Arg	Tyr	Asp	Tyr	Asn	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
	100				105							110			

Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser										
	115														

<210> 5  
 <211> 330  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>  
 <223> Ublituximab恒定重链

<400> 5

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1			5					10					15		

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr  
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
115 120 125

[0003]

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu  
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu  
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 325 330

<210> 6

<211> 5

[0004] <212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> Ublituximab可变轻链CDR1

<400> 6

Ser Ser Val Ser Tyr  
 1 5

<210> 7

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> Ublituximab可变轻链CDR2

<400> 7

Ala Thr Ser  
 1

<210> 8

<211> 9

<212> PRT  
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>  
 <223> Ublituximab可变轻链CDR3

<400> 8

Gln Gln Trp Thr Phe Asn Pro Pro Thr  
 1 5

<210> 9  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>  
 <223> Ublituximab Variable light chain

<400> 9

Gln Ile Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Ala Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
 [0005] 20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr  
 35 40 45

Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser  
 50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Phe Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu  
 65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Thr Phe Asn Pro Pro Thr  
 85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 10  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> Ublituximab恒定轻链

<400> 10

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
35 40 45

[0006]

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
100 105

### 研究涉及 (TGR-1202 + Ublituximab + Ibrutinib)

**剂量递增方案 :**

组别	Ublituximab 剂量	TGR 剂量 (QD)	Ibrutinib (QD)
1	900 mg	400 mg	420 mg CLL / 560 mg NHL
2	900 mg	600 mg	420 mg CLL / 560 mg NHL
3	900 mg	800 mg	420 mg CLL / 560 mg NHL

**治疗方案 :**

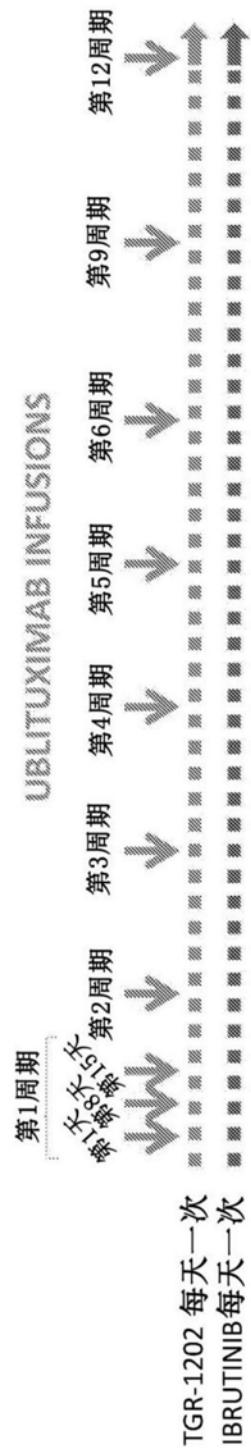


图1

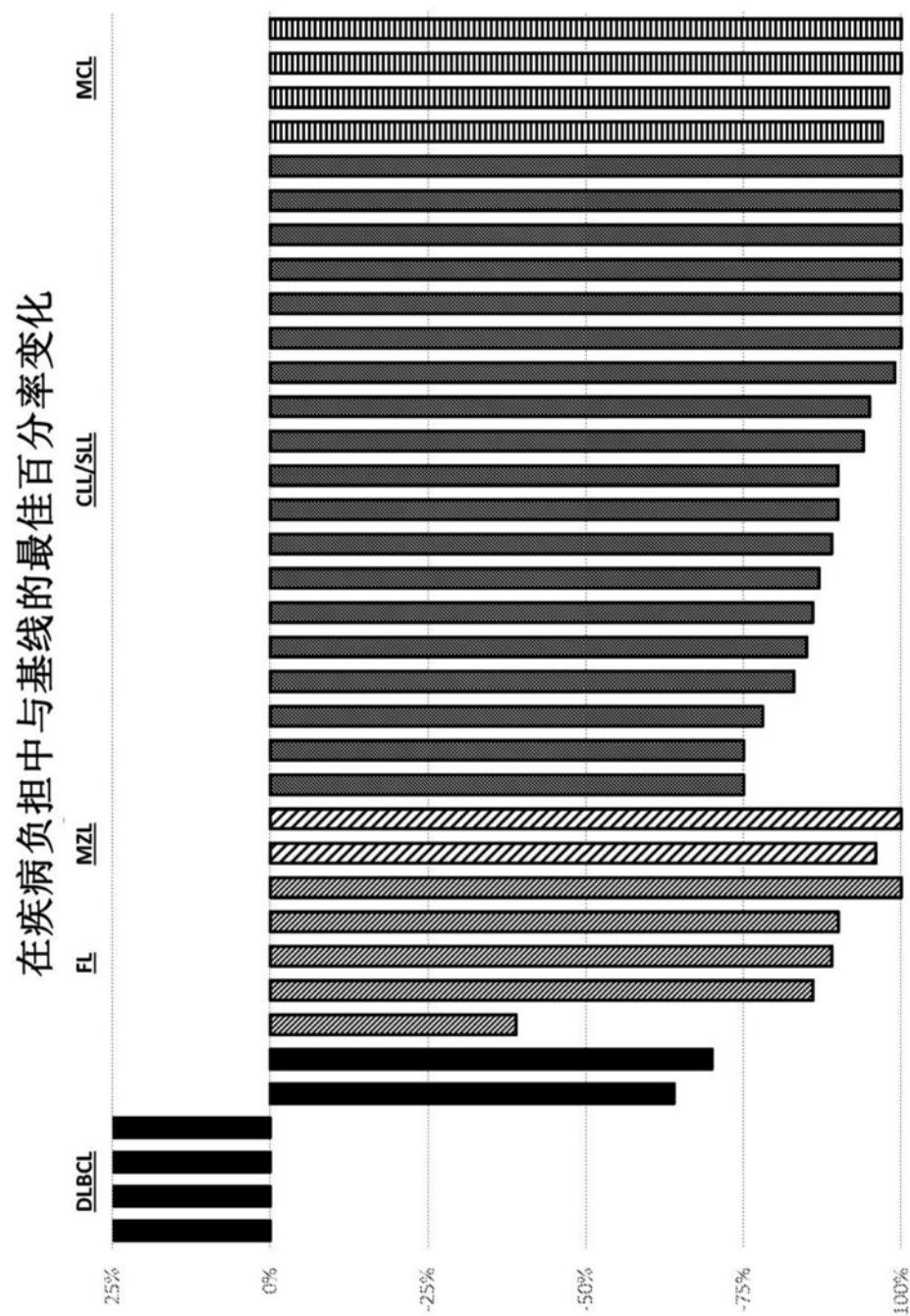


图2

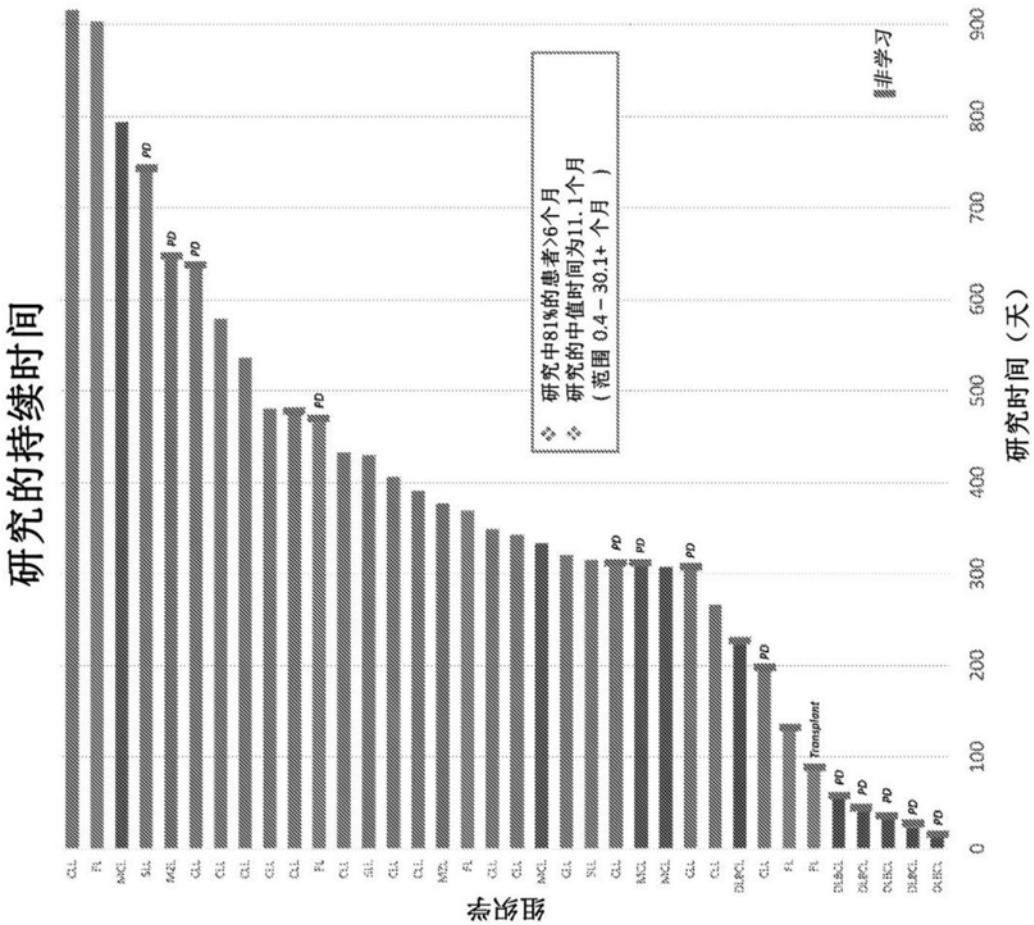


图3

结果  
效力

类型	Pts (n)	CR <sup>†</sup> (n)	PR (n)	ORR n (%)	SD (n)	PD (n)
CLL/SLL	19	6	13	19 (100%)	-	-
MZL	2	1	1	2 (100%)	-	-
MCL	4	2	2	4 (100%)	-	-
FL	5	1	3	4 (80%)	1	-
DLBCL	6	-	1	1 (17%)	-	5
总计	36	10	20	30 (83%)	1	5

<sup>†</sup>CLL: 放射性CR未决骨髓确认

图4