



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103068386 A

(43) 申请公布日 2013. 04. 24

(21) 申请号 201180023077. 5

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2011. 03. 11

A61K 31/45 (2006. 01)

(30) 优先权数据

A61P 35/02 (2006. 01)

61/313, 670 2010. 03. 12 US

G01N 33/574 (2006. 01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

2012. 11. 08

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2011/028097 2011. 03. 11

(87) PCT申请的公布数据

W02011/112933 EN 2011. 09. 15

(71) 申请人 细胞基因公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 彼得·H·谢弗 玲·华·张

J·布莱克·巴特莱特 卡拉·海斯

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理

有限公司 11262

代理人 武晶晶 郑霞

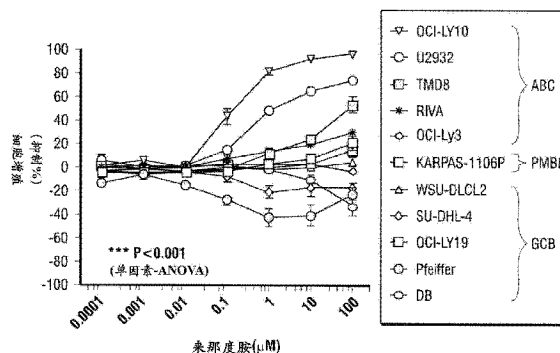
权利要求书3页 说明书32页 附图12页

(54) 发明名称

使用来那度胺治疗非霍奇金淋巴瘤的方法及
作为预测因子的基因和蛋白质生物标记

(57) 摘要

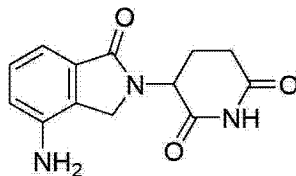
本发明公开了通过施用 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮治疗或控制包括非霍奇金淋巴瘤的特定癌症的方法。本发明还公开了使用基因和蛋白质生物标记作为非霍奇金淋巴瘤对 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮治疗的反应的预测因子的方法。



1. 一种用于治疗或控制非霍奇金淋巴瘤的方法,包括:

(i) 鉴定患有对 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮治疗敏感的非霍奇金淋巴瘤的患者;和

(ii) 向该患者施用治疗有效量的具有下述结构的 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮:



或其可药用盐、溶剂化物或水合物。

2. 权利要求 1 的方法,其中所述非霍奇金淋巴瘤是弥漫性大 B-细胞淋巴瘤。

3. 权利要求 1 的方法,其中所述非霍奇金淋巴瘤具有活化 B-细胞表型。

4. 权利要求 2 的方法,其中所述弥漫性大 B-细胞淋巴瘤具有活化 B-细胞表型。

5. 权利要求 4 的方法,其中所述弥漫性大 B-细胞淋巴瘤的特征在于在 RIVA、U2932、TMD8 或 OCI-Ly10 细胞系中过表达的一种或多种生物标记的表达。

6. 权利要求 1 的方法,其中鉴定患有对 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮治疗敏感的非霍奇金淋巴瘤的患者包括将该患者的非霍奇金淋巴瘤表型表征为活化 B-细胞亚型。

7. 权利要求 6 的方法,其中所述非霍奇金淋巴瘤表型被表征为弥漫性大 B-细胞淋巴瘤的活化 B-细胞亚型。

8. 权利要求 6 的方法,其中所述非霍奇金淋巴瘤表型的特征在于在 RIVA、U2932、TMD8 或 OCI-Ly10 细胞系中过表达的一种或多种生物标记的表达。

9. 权利要求 1 的方法,其中鉴定非霍奇金淋巴瘤表型包括从患有淋巴瘤的患者获得生物样本。

10. 权利要求 9 的方法,其中所述生物样本为淋巴结活组织检查、骨髓活组织检查或周围血液肿瘤细胞的样本。

11. 权利要求 1 的方法,其中鉴定患有对 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮治疗敏感的非霍奇金淋巴瘤的患者包括鉴定与活化 B-细胞表型相关的基因。

12. 权利要求 11 的方法,其中所述与活化 B-细胞表型相关的基因选自 IRF4/MUM1、FOXP1、SPIB、CARD11 和 BLIMP/PDRM1。

13. 权利要求 1 的方法,其中鉴定患有对 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮治疗敏感的非霍奇金淋巴瘤的患者包括测定从所述患者获得的生物样本中 NF- κ B 活性的水平。

14. 权利要求 13 的方法,其中所述生物样本为淋巴结活组织检查、骨髓活组织检查或周围血液肿瘤细胞的样本。

15. 权利要求 6 的方法,其中将所述患者的非霍奇金淋巴瘤表型表征为活化 B-细胞亚型包括测定一个或多个下述项目:

(i) 活化 B-细胞亚型细胞的存活所需的造血特异性 Ets 家族转录因子 SPIB 的过表达;

- (ii) 组成型 IRF4/MUM1 的表达高于 GCB 亚型细胞；
- (iii) 三体性 3 上调的组成型 FOXP1 的表达较高；
- (iv) 组成型 Blimp1, 即 PRDM1 的表达较高；
- (v) 组成型 CARD11 的基因表达较高；和
- (vi) NF- κ B 的活性水平相对于未活化 B- 细胞亚型 DLBCL 细胞提高。

16. 权利要求 1-15 中任一项的方法, 进一步包括施用治疗有效量的一种或多种另外的活性剂。

17. 权利要求 16 的方法, 其中所述另外的活性剂选自烷化剂、腺苷类似物、糖皮质激素、激酶抑制剂、SYK 抑制剂、PDE3 抑制剂、PDE7 抑制剂、多柔比星、苯丁酸氮芥、长春新碱、苯达莫司汀、福斯高林和利妥昔单抗。

18. 权利要求 17 的方法, 其中所述另外的活性剂为利妥昔单抗。

19. 权利要求 1-15 中任一项的方法, 其中所述化合物的施用量为约 10 至约 50mg/ 天。

20. 权利要求 19 的方法, 其中所述化合物的施用量为约 10、15、20、25 或 50mg/ 天。

21. 权利要求 19 的方法, 其中所述化合物是口服施用的。

22. 权利要求 21 的方法, 其中所述化合物是以胶囊或片剂施用。

23. 权利要求 22 的方法, 其中所述化合物是以 10mg 或 25mg 的胶囊施用。

24. 权利要求 1-15 中任一项的方法, 其中所述弥漫性大 B- 细胞淋巴瘤是对于常规疗法而言复发的、难控制的或耐受性的。

25. 权利要求 1-15 中任一项的方法, 其中在 28 天周期中施用所述化合物 21 天, 接着停药 7 天。

26. 一种用于预测非霍奇金淋巴瘤患者中肿瘤对治疗的反应的方法, 包括：

- (i) 从所述患者获得生物样本；
- (ii) 测定生物样本中 NF- κ B 活性水平；和
- (iii) 比较该生物样本中与未活化 B- 细胞淋巴瘤亚型的生物样本中的 NF- κ B 活性水平；

其中 NF- κ B 活性水平相对于未活化 B- 细胞亚型淋巴瘤细胞提高表明对 3-(4- 氨基-1- 氧基-1, 3- 二氢- 异吲哚-2- 基)- 哌啶-2, 6- 二酮治疗有效的患者肿瘤反应的可能性。

27. 一种用于监测非霍奇金淋巴瘤患者中肿瘤对治疗的反应的方法, 包括：

- (i) 从所述患者获得生物样本；
- (ii) 测定所述生物样本中 NF- κ B 活性水平；
- (iii) 向该患者施用治疗有效量的 3-(4- 氨基-1- 氧基-1, 3- 二氢- 异吲哚-2- 基)- 哌啶-2, 6- 二酮、或其盐、溶剂化物或水合物；
- (iv) 从所述患者获得第二生物样本；
- (v) 测定第二生物样本中 NF- κ B 活性水平；和
- (vi) 比较第一生物样本与第二生物样本中 NF- κ B 活性水平；

其中在第二生物样本中的 NF- κ B 活性水平相对于第一生物样本降低表明有效的患者肿瘤反应的可能性。

28. 一种用于监测非霍奇金淋巴瘤患者中药物治疗方案的患者顺应性的方法, 包括：

- (i) 从所述患者获得生物样本；
- (ii) 测定所述生物样本中 NF- κ B 活性水平；和
- (iii) 比较所述生物样本与对照未处理的样本中 NF- κ B 活性水平；

其中所述生物样本中 NF- κ B 活性水平相对于对照降低表明患者对该药物治疗方案的顺应性。

29. 权利要求 26-28 中任一项的方法，其中所述非霍奇金淋巴瘤是弥漫性大 B- 细胞淋巴瘤。

30. 权利要求 26-28 中任一项的方法，其中通过酶联免疫吸附测定来测量 NF- κ B 活性水平。

31. 一种用于预测非霍奇金淋巴瘤患者中肿瘤对治疗的反应的方法，包括：

- (i) 从所述患者获得生物样本；
- (ii) 纯化来自该样本的蛋白质或 RNA；和
- (iii) 鉴定相对于非霍奇金淋巴瘤的对照未活化 B- 细胞表型，与非霍奇金淋巴瘤的活化 B- 细胞表型相关的基因表达增加；

其中与非霍奇金淋巴瘤的活化 B- 细胞表型相关的基因表达增加表明对 3-(4- 氨基 -1- 氧基 -1, 3- 二氢 - 异吲哚 -2- 基) - 哌啶 -2, 6- 二酮治疗的有效的患者肿瘤反应的可能性。

32. 权利要求 31 的方法，其中所述生物样本为肿瘤组织。

33. 权利要求 31 的方法，其中表达增加为增加约 1.5X、2.0X、3X、5X 或更多。

34. 权利要求 31-33 中任一项的方法，其中所述与活化 B- 细胞表型相关的基因选自 IRF4/MUM1、FOXP1、SPIB、CARD11 和 BLIMP/PDRM1。

35. 权利要求 31-33 中任一项的方法，其中鉴定与非霍奇金淋巴瘤的活化 B- 细胞表型相关的基因表达是通过定量实时 PCR 进行的。

36. 一种用于预测非霍奇金淋巴瘤患者中肿瘤对 3-(4- 氨基 -1- 氧基 -1, 3- 二氢 - 异吲哚 -2- 基) - 哌啶 -2, 6- 二酮治疗的反应的试剂盒，包括：

- (i) 固体载体；和
- (ii) 用于检测生物样本中非霍奇金淋巴瘤的活化 B- 细胞表型的生物标记表达的工具。

37. 权利要求 36 的试剂盒，其中所述生物标记为 NF- κ B。

38. 权利要求 36 的试剂盒，其中所述生物标记为与活化 B- 细胞表型相关的基因，选自 IRF4/MUM1、FOXP1、SPIB、CARD11 和 BLIMP/PDRM1。

使用来那度胺治疗非霍奇金淋巴瘤的方法及作为预测因子的 的基因和蛋白质生物标记

[0001] 本发明要求 2010 年 3 月 12 日提交的美国临时申请号 61/313,670 的优先权。将上述参考申请的全部内容引入本文作为参考。

[0002] 1. 发明领域

[0003] 本发明涉及基因和蛋白质生物标记作为对非霍奇金淋巴瘤的临床敏感性和患者对 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮(其也称为来那度胺(lenalidomide)或Revimid®)治疗的反应的预测因子的用途。特别地,本发明涵盖使用预后因子治疗或控制非霍奇金淋巴瘤,包括但不限于弥漫性大 B-细胞淋巴瘤(DLBCL)的方法。

[0004] 2. 发明背景

[0005] 2.1 癌症病理学

[0006] 癌症的主要特征在于源自特定正常组织的异常细胞的数量增加,这些异常细胞侵入邻近组织,或恶性细胞经淋巴或血液蔓延至局部淋巴结和远端部位(转移)。临床资料和分子生物研究表明癌症是一种多步骤过程,其从在一定条件下可能进展为瘤形成的微小肿瘤前变化开始。肿瘤损伤可以无性系地演变,且特别地在其中肿瘤细胞逃脱宿主免疫监视的条件下发展为侵入、生长、转移和异质性的能力增加。Roitt, I., Brostoff, J 和 Kale, D., Immunology, 17.1-17.12(3rd ed., Mosby, St. Louis, Mo., 1993)。

[0007] 医学文献中详细描述了众多种类的癌症。实例包括肺癌、结肠癌、直肠癌、前列腺癌、乳腺癌、脑癌和肠癌。

[0008] 淋巴瘤指起源于淋巴系统的癌症。淋巴瘤的特征在于淋巴细胞-B 淋巴细胞和 T 淋巴细胞(即 B-细胞和 T-细胞)的恶性赘生物。淋巴瘤一般始于包括但不限于胃或肠的器官中的淋巴结或淋巴组织集合。在某些情况下,淋巴瘤可涉及骨髓和血液。淋巴瘤可以从一个部位蔓延到身体其它部分。

[0009] 各种形式的淋巴瘤的治疗描述在例如美国专利号 7,468,363 中,将其全部内容引入本文作为参考。这样的淋巴瘤包括,但不限于霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、皮肤 B-细胞淋巴瘤、活化 B-细胞淋巴瘤、弥漫性大 B-细胞淋巴瘤(DLBCL)、外套细胞淋巴瘤(MCL)、滤泡性中心淋巴瘤、转化型淋巴瘤、中度分化型淋巴细胞性淋巴瘤、中度淋巴细胞性淋巴瘤(ILL)、弥漫性分化不良型淋巴细胞性淋巴瘤(PDL)、中心细胞性淋巴瘤、弥漫性小核裂细胞淋巴瘤(DSCCL)、外周性 T-细胞淋巴瘤(PTCL)、皮肤 T-细胞淋巴瘤和外套层淋巴瘤及低级滤泡性淋巴瘤。

[0010] 非霍奇金淋巴瘤(NHL)是美国男性和女性中第五大常见癌症,据估计在 2007 年有 63,190 个新病例和 18,660 例死亡。Jemal A, 等人,CA Cancer J Clin 2007;57(1):43-66。发展为 NHL 的概率随着年龄而增加,并且在老年人中 NHL 的发病率在过去十年中稳步增长,随着美国人口的老龄化趋势而引起关注。同上。Clarke C A, 等人, Cancer 2002;94(7):2015-2023。

[0011] 弥漫性大 B-细胞淋巴瘤(DLBCL)占非霍奇金淋巴瘤的约三分之一。尽管一些

DLBCL 患者用传统化疗法治疗,但其余仍死于该疾病。抗癌药可能经由诱导成熟 T 和 B 细胞的直接细胞凋亡而引起淋巴细胞的快速且持久的消除。参见 K. Stahnke. 等人, Blood 2001, 98:3066-3073。绝对淋巴细胞计数 (ALC) 已经证实为滤泡性非霍奇金淋巴瘤的预后因子,并且最新结果表明 ALC 在诊断方面是弥漫性大 B- 细胞淋巴瘤的重要预后因子。D. Kim 等人, Journal of Clinical Oncology, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. Vol 25, No. 18S (June 20 Supplement), 2007:8082。DLBCL 属于包括活化 B 细胞 (ABC) 表型、生发中心 B (GCB) 表型或原发性纵隔 B- 细胞淋巴瘤 (PMBL) 表型的各种子集。参见 Lenz & Staudt, NEJM, 2010, 362:1417-29。

[0012] 虽然在最初疗法之后获得完全缓解的患者具有治愈良机,但是没有反应或复发的患者中小于 10% 获得治愈或持续 3 年以上的反应。参见 Cerny T, 等人, Ann Oncol 2002; 13 Suppl 4:211-216。

[0013] 此外,已知利妥昔单抗消耗正常宿主 B 细胞。M. Aklilu 等人, Annals of Oncology 15:1109-1114, 2004。尽管广泛使用该疗法,但使用利妥昔单抗消耗 B 细胞的长期免疫学作用和淋巴瘤患者内重构 B 细胞池的特征尚无明确定义。参见 Jennifer H. Anolik 等人, Clinical Immunology, vol. 122, issue 2, February 2007, 第 139-145 页。

[0014] 用于患有复发性或难控制的疾病的患者的方法极大地依赖于试验性治疗,接着是干细胞移植,其可能不适于具有较差体能状态或高龄的患者。因此,对可用于治疗 NHL 患者的新方法存在巨大需求。

[0015] 随着一般群体老龄化,随着新的癌症出现和随着易感人群 (例如,感染 AIDS 或过度暴露于日光下的人) 增长,癌症发病率持续上升。因此,对可用于治疗患有癌症 (包括 NHL) 的患者的新方法和组合物存在巨大需求。

[0016] 2.2. 治疗方法

[0017] 目前的癌症疗法可包括外科手术、化疗、激素疗法和 / 或放射疗法以根除患者中的瘤细胞 (参见例如, Stockdale, 1998, Medicine, 第 3 卷, Rubenstein and Federman, eds., 第 12 章, 第 IV 节)。最近,癌症疗法也可以包括生物学疗法或免疫疗法。所有这些方法都对患者造成显著不利。例如,外科手术可能由于患者的健康状况而有禁忌或者可能不为患者所接受。另外,外科手术可能不会完全除去肿瘤组织。放射疗法仅仅当肿瘤组织显示出比正常组织更高放射敏感性时才有效。放射疗法也可常常引起严重的副作用。激素疗法很少以单试剂提供。尽管激素疗法可能有效,但其通常用于在其它治疗已除去大部分癌细胞之后预防或延迟癌症复发。生物疗法和免疫疗法在数量上受限,且可能产生副作用比如皮疹或肿胀、流行性感冒样症状,包括发热、发冷和疲劳、消化道问题或过敏性反应。

[0018] 关于化疗,可获得多种化疗剂用于治疗癌症。大多数癌症化疗剂通过抑制 DNA 合成直接作用,或者通过抑制脱氧核糖核苷酸三磷酸盐前体间接起作用,以防止 DNA 复制和相应细胞分裂。Gilman 等人, Goodman and Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics, Tenth Ed. (McGraw Hill, New York)。

[0019] 尽管多种化疗剂可用,但化疗具有许多缺点。Stockdale, Medicine, vol. 3, Rubenstein and Federman, eds., ch. 12, sect. 10, 1998。几乎所有的化疗剂都是有毒的,并且化疗引起显著且常常有害的副作用,包括严重的恶心、骨髓抑制和免疫抑制。另外,即使施用化疗剂的组合,许多肿瘤细胞对化疗剂是耐受性的或产生抗性。实际上,对治疗方法中使用的

具体化疗剂具有耐受性的那些细胞通常被证实对其他药物具有耐受性,即使那些试剂通过与特定治疗中所用的药物不同的机制起作用。该现象称为多向耐药性 (pleiotropic drug resistance) 或多药耐药性 (multidrug resistance drug)。因为耐药性,许多癌症被证实为标准化疗治疗方案所难控制的。

[0020] 仍然显著需要治疗、预防和控制癌症,特别是标准疗法比如外科手术、放射疗法、化疗和激素疗法所难控制的肿瘤,同时降低或避免与常规疗法相关的毒性和 / 或副作用的安全有效的方法。

[0021] 此外,仍然需要预测和监测对癌症疗法反应的能力以便在临床实践中提高对癌症患者的护理品质、避免不必要的治疗及增加癌症疗法的成功率。

[0022] 3. 发明简述

[0023] 本文提供使用基因和蛋白质生物标记作为对非霍奇金淋巴瘤的临床敏感性及患者对 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮治疗的反应的预测因子的方法。

[0024] 本文还提供使用预后因子治疗或控制非霍奇金淋巴瘤,包括但不限于弥漫性大 B-细胞淋巴瘤 (DLBCL) 的方法。

[0025] 本文提供的方法涵盖用于筛选或鉴定癌症患者例如非霍奇金淋巴瘤患者用于用 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮治疗的方法。特别地,本文提供用于选择对 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮的疗法具有较高反应速率的患者的方法。

[0026] 在一个实施方案中,本文提供一种预测非霍奇金淋巴瘤患者中肿瘤对治疗反应的方法,所述方法包括从患者获得肿瘤组织,从肿瘤纯化蛋白质或 RNA,并通过例如蛋白质或基因表达分析测定存在或不存在生物标记。所述监测的表达可以是例如 mRNA 表达或蛋白质表达。在某些实施方案中,生物标记为与 DLBCL 的活化 B-细胞表型相关的基因。所述基因选自 IRF4/MUM1、FOXP1、SPIB、CARD11 和 BLIMP/PDRM1。在一个实施方案中,所述生物标记为 NF- κ B。

[0027] 在一个实施方案中,从肿瘤纯化 mRNA 或蛋白质,并且通过基因或蛋白质表达分析来测定生物标记的存在或不存在。在某些实施方案中,通过定量实时 PCR (QRT-PCR)、微点阵、流式细胞仪或免疫荧光来测量生物标记的存在或不存在。在其它实施方案中,通过基于酶联免疫吸附测定的方法 (ELISA) 或本领域已知的其它类似方法测定生物标记的存在或不存在。

[0028] 在另一个实施方案中,本文提供一种预测非霍奇金淋巴瘤患者中肿瘤对治疗反应的方法,所述方法包括从患者获得肿瘤细胞,在 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮的存在或不存在下培养所述细胞,从培养细胞纯化蛋白质或 RNA,并通过例如蛋白质或基因表达分析测定生物标记的存在或不存在。所述监测的表达可以是例如 mRNA 表达或蛋白质表达。

[0029] 在另一个实施方案中,本文提供一种监测非霍奇金淋巴瘤患者中肿瘤对 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮治疗的反应的方法。所述方法包括从患者获得生物样本,测定生物样本中生物标记的表达,向患者施用 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮,此后从患者获得第二生物样本,测定第

二生物样本中生物标记的表达,并比较表达水平,其中在治疗之后生物标记表达水平增加表明有效肿瘤反应的可能性。在一个实施方案中,在治疗之后生物标记表达水平的降低表明有效肿瘤反应的可能性。所述监测的生物标记表达可以是例如 mRNA 表达或蛋白质表达。处理的样本中的表达可以增加例如约 1.5X、2.0X、3X、5X 或更多。

[0030] 在仍然另一个实施方案中,提供用于监测患者对药物治疗方案的顺应性的方法。所述方法包括从患者获得生物样本,测定样本中至少一种生物标记的表达水平,和确定患者样本中的表达水平相对于对照未处理的样本中的表达水平是否增加或降低,其中表达水平增加或降低表明患者对药物治疗方案的顺应性。在一个实施方案中,一种或多种生物标记的表达增加。所述监测的生物标记表达可以是例如 mRNA 表达或蛋白质表达。处理的样本中的表达可以增加例如约 1.5X、2.0X、3X、5X 或更多。

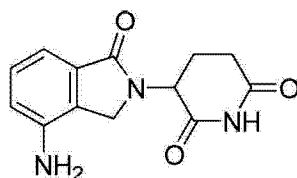
[0031] 在另一个实施方案中,本文提供预测非霍奇金淋巴瘤患者、特别是 DLBCL 患者对 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮治疗的敏感性的方法。所述方法包括从患者获得生物样本,任选地从生物样本分离或纯化 mRNA,通过例如 RT-PCR 扩增 mRNA 转录物,其中特定生物标记的基准水平较高表明癌症对 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮的治疗敏感的可能性较高。在某些实施方案中,生物标记为与活化 B-细胞表型相关的基因。所述基因选自 IRF4/MUM1、FOXP1、SPIB、CARD11 和 BLIMP/PDRM1。

[0032] 在一个实施方案中,本文提供一种用于治疗或控制非霍奇金淋巴瘤的方法,包括:

[0033] (i) 鉴定患有对 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮治疗敏感的非霍奇金淋巴瘤的患者;和

[0034] (ii) 向该患者施用治疗有效量的具有下述结构的 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮:

[0035]



[0036] 或其可药用盐或溶剂化物(例如水合物)。

[0037] 在一个实施方案中,所述非霍奇金淋巴瘤为弥漫性大 B-细胞淋巴瘤。

[0038] 在另一个实施方案中,所述非霍奇金淋巴瘤具有活化 B-细胞表型。

[0039] 在一个实施方案中,鉴定患有对 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮治疗敏感的非霍奇金淋巴瘤的患者包括鉴定与活化 B-细胞表型相关的基因。在一个实施方案中,与活化 B-细胞表型相关的基因选自 IRF4/MUM1、FOXP1、SPIB、CARD11 和 BLIMP/PDRM1。

[0040] 在一个实施方案中,鉴定患有对 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮治疗敏感的患者包括测定患者中 NF- κ B 活性水平。在另一个实施方案中,测定患者中 NF- κ B 活性水平包括测定从患者获得的肿瘤细胞中基准 NF- κ B 活性水平。

[0041] 本文还提供用于预测有效的 NHL 治疗的可能性或用于监测用 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮治疗的有效性的试剂盒。所述试剂盒包括固体载体,和用于监测生物样本中至少一种生物标记的蛋白质表达的工具。这样的试剂盒可以采用例如浸渍片(dipstick)、膜、晶片、盘、测试条、过滤器、微球、载片、多孔板或光学纤维。试剂盒的固体载体可以例如塑料、硅、金属、树脂、玻璃、膜、粒子、沉淀物、凝胶、聚合物、薄片、球体、多糖、毛细管、膜、板或载片。生物样本可以例如细胞培养物、细胞系、组织、口腔组织、胃肠组织、器官、细胞器、体液、血样、尿液样本或皮肤样本。生物样本可以例如淋巴结活组织检查(biopsy)、骨髓活组织检查或周围血液肿瘤细胞的样本。

[0042] 在另一个实施方案中,本文提供用于预测有效的 NHL 治疗的可能性或用于监测 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮治疗的有效性的试剂盒。所述试剂盒包括固体载体、接触载体的核酸,其中所述核酸与 mRNA 的至少 20、50、100、200、350 或更多的碱基互补,和用于检测生物样本中 mRNA 表达的工具。

[0043] 在另一个实施方案中,本文提供用于预测有效的 NHL 治疗的可能性或用于监测 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮治疗的有效性的试剂盒。所述试剂盒包括固体载体、至少一种接触载体的核酸,其中所述核酸与 mRNA 的至少 20、50、100、200、350、500 或更多的碱基互补,和用于检测生物样本中 mRNA 表达的工具。

[0044] 在某些实施方案中,本文提供的试剂盒采用通过定量实时 PCR(QRT-PCR)、微点阵、流式细胞仪或免疫荧光检测生物标记表达的工具。在其它实施方案中,通过基于 ELISA 的方法或本领域已知的其它类似方法测定生物标记的表达。

[0045] 在本发明的特定方法中,3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮与常用于治疗、预防或控制癌症的疗法组合施用。这样的常规疗法的实例包括,但不限于外科手术、化疗、放射疗法、激素疗法、生物学疗法和免疫疗法。

[0046] 本文还提供药物组合物、单一单位剂型、给药方案和试剂盒,其包括 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮或其可药用盐、溶剂化物、水合物、立体异构体、包合物或前药和第二或另外的活性剂。第二活性剂包括药物的特定组合或“混合物(cocktails)”。

[0047] 4. 附图简述

[0048] 图 1:在各种细胞遗传学特征的细胞系的组中,来那度胺在活化 B-细胞表型的 DLBCL 细胞系之间显示出较大的抗增殖活性。

[0049] 图 2A 至 2D:基因表达分析显示来那度胺-敏感性 RIVA、U2932 和 OCI-Ly3 细胞具有一些典型的活化 B-细胞型 DLBCL 特征。

[0050] 图 3A:来那度胺-敏感性活化 B-细胞型 DLBCL 细胞显示出比其它类型 DLBCL 细胞更高的 NF- κ B p65 活性。

[0051] 图 3B:来那度胺-敏感性活化 B-细胞型 DLBCL 细胞显示出比其它类型 DLBCL 细胞更高的 NF- κ B p50 活性。

[0052] 图 4:在 1 μ M 来那度胺对 DLBCL 细胞的抗增殖作用和基准 NF κ B p50 活性之间观察到显著相关性。

[0053] 图 5A:来那度胺的临床可达浓度(1 μ M)显著抑制 U2932 细胞中 NF κ Bp65 活性。

[0054] 图 5B:来那度胺的临床可达浓度(1 μ M)显著抑制 U2932 细胞中 NF κ Bp50 活性。

[0055] 图 6A :来那度胺显著地抑制 U2932 亚型的活化 B- 细胞型 DLBCL 细胞中 NFkB p65 活性。

[0056] 图 6B :来那度胺显著地抑制 U2932 亚型的活化 B- 细胞型 DLBCL 细胞中 NFkB p50 活性。

[0057] 5. 发明详述

[0058] 本文提供的方法部分是基于以下发现 :可以将与非霍奇金淋巴瘤细胞中的活化 B- 细胞表型相关的某些基因或蛋白质的表达用作指示疾病治疗的功效或进展的生物标记。特别地,这些生物标记可用于预测、评价和追踪用 3-(4- 氨基 -1- 氧基 -1, 3- 二氢 - 异吲哚 -2- 基)- 哌啶 -2, 6- 二酮治疗患者的有效性。

[0059] 不受特定理论的限制,免疫调节化合物比如 3-(4- 氨基 -1- 氧基 -1, 3- 二氢 - 异吲哚 -2- 基)- 哌啶 -2, 6- 二酮可以在某些类型的癌症比如非霍奇金淋巴瘤中介导生长抑制、细胞凋亡和血管生成因子的抑制。在用 3-(4- 氨基 -1- 氧基 -1, 3- 二氢 - 异吲哚 -2- 基)- 哌啶 -2, 6- 二酮治疗前后,检查一些细胞类型中一些癌症相关基因的表达,发现一些癌症相关基因或蛋白质的表达水平可用作预测和监测癌症治疗的生物标记。

[0060] 还发现,相对于其他类型的淋巴瘤细胞,在非霍奇金淋巴瘤的活化 B- 细胞表型的细胞中 NF- κ B 活性水平提高,并且这样的细胞可能对 3-(4- 氨基 -1- 氧基 -1, 3- 二氢 - 异吲哚 -2- 基)- 哌啶 -2, 6- 二酮治疗敏感。这表明在淋巴瘤细胞中 NF- κ B 活性的基准活性可以为非霍奇金淋巴瘤患者中 3-(4- 氨基 -1- 氧基 -1, 3- 二氢 - 异吲哚 -2- 基)- 哌啶 -2, 6- 二酮治疗的预测性生物标记。

[0061] 因此,在某些实施方案中,本文提供用于预测非霍奇金淋巴瘤患者中肿瘤对治疗反应的方法。在一个实施方案中,本文提供一种预测非霍奇金淋巴瘤患者中肿瘤对治疗反应的方法,所述方法包括从患者获得肿瘤组织,从肿瘤纯化蛋白质或 RNA,并通过例如蛋白质或基因表达分析测定生物标记的存在或不存在。所述监测的表达可以是例如 mRNA 表达或蛋白质表达。在某些实施方案中,生物标记为与 DLBCL 的活化 B- 细胞表型相关的基因。所述基因选自 IRF4/MUM1、FOXP1、CARD11 和 BLIMP/PDRM1。在一个实施方案中,生物标记为 NF- κ B。

[0062] 在另一个实施方案中,所述方法包括从患者获得肿瘤细胞,在 3-(4- 氨基 -1- 氧基 -1, 3- 二氢 - 异吲哚 -2- 基)- 哌啶 -2, 6- 二酮的存在或不存在的下培养所述细胞,从培养细胞纯化蛋白质或 RNA,并通过例如蛋白质或基因表达分析测定生物标记的存在或不存在。

[0063] 在某些实施方案中,通过定量实时 PCR(QRT-PCR)、微点阵、流式细胞仪或免疫荧光来测定生物标记的存在或不存在。在其它实施方案中,通过基于 ELISA 的方法 (ELISA) 或本领域已知的其它类似方法测定生物标记的存在或不存在。

[0064] 本文提供的方法涵盖用于筛选或鉴定癌症患者例如非霍奇金淋巴瘤患者用于用 3-(4- 氨基 -1- 氧基 -1, 3- 二氢 - 异吲哚 -2- 基)- 哌啶 -2, 6- 二酮治疗的方法。特别地,本文提供用于选择对 3-(4- 氨基 -1- 氧基 -1, 3- 二氢 - 异吲哚 -2- 基)- 哌啶 -2, 6- 二酮的疗法具有较高反应速率的患者的方法。

[0065] 在一个实施方案中,所述方法包括从患者获得肿瘤细胞,在 3-(4- 氨基 -1- 氧基 -1, 3- 二氢 - 异吲哚 -2- 基)- 哌啶 -2, 6- 二酮的存在或不存在的下培养所述细胞,从培养细胞纯化蛋白质或 RNA,并测定特定生物标记的存在或不存在。所述监测的生物标记表达可

以是例如 mRNA 表达或蛋白质表达。处理的样本中的表达可以增加例如约 1.5X、2.0X、3X、5X 或更多。在某些实施方案中,生物标记为与活化 B- 细胞表型相关的基因。所述基因选自 IRF4/MUM1、FOXP1、SPIB、CARD11 和 BLIMP/PDRM1。在一个实施方案中,生物标记为 NF- κ B。

[0066] 在另一个实施方案中,本文提供用于监测非霍奇金淋巴瘤患者中肿瘤对 3-(4- 氨基 -1- 氧基 -1,3- 二氢 - 异吲哚 -2- 基) - 哌啶 -2,6- 二酮的治疗的的反应的方法。所述方法包括从患者获得生物样本,测定生物样本中一种或多种生物标记的表达,向患者施用 3-(4- 氨基 -1- 氧基 -1,3- 二氢 - 异吲哚 -2- 基) - 哌啶 -2,6- 二酮,此后从患者获得第二生物样本,测定第二生物样本中生物标记的表达,并比较生物标记表达水平,其中在治疗之后生物标记表达的水平增加表明有效肿瘤反应的可能性。在一个实施方案中,治疗之后生物标记表达水平降低表明有效肿瘤反应的可能性。在某些实施方案中,所述生物标记为与活化 B- 细胞表型相关的基因。所述基因选自 IRF4/MUM1、FOXP1、CARD11 和 BLIMP/PDRM1。在一个实施方案中,生物标记为 NF- κ B。

[0067] 在某些实施方案中,所述方法包括测定与活化 B- 细胞表型相关的一种或多种生物标记基因的表达。所述基因选自 IRF4/MUM1、FOXP1、CARD11 和 BLIMP/PDRM1。所述监测的表达可以例如 mRNA 表达或蛋白质表达。处理的样本中的表达可以增加例如约 1.5X、2.0X、3X、5X 或更多。

[0068] 在仍然另一个实施方案中,提供一种用于监测患者对药物治疗方案的顺应性的方法。所述方法包括从患者获得生物样本、测定样本中至少一种生物标记的表达水平、和测定与对照未处理的样本中表达水平相比,患者样本中表达水平是否增加或降低,其中表达水平的增加或降低表明患者对药物治疗方案的顺应性。在一个实施方案中,一种或多种生物标记的表达增加。所述监测的表达可以是例如 mRNA 表达或蛋白质表达。处理的样本中的表达可以增加例如约 1.5X、2.0X、3X、5X 或更多。在某些实施方案中,生物标记为与活化 B- 细胞表型相关的基因。所述基因选自 IRF4/MUM1、FOXP1、CARD11 和 BLIMP/PDRM1。在一个实施方案中,生物标记为 NF- κ B。

[0069] 在另一个实施方案中,提供用于预测 NHL、特别是 DLBCL 患者对 3-(4- 氨基 -1- 氧基 -1,3- 二氢 - 异吲哚 -2- 基) - 哌啶 -2,6- 二酮治疗的敏感性的方法。所述方法包括从患者获得生物样本,任选地从生物样本分离或纯化 mRNA,通过例如 RT-PCR 扩增 mRNA 转录物,其中一种或多种特定生物标记的基准水平较高表明癌症对 3-(4- 氨基 -1- 氧基 -1,3- 二氢 - 异吲哚 -2- 基) - 哌啶 -2,6- 二酮的治疗敏感的可能性较高。在一个实施方案中,生物标记为与选自 IRF4/MUM1、FOXP1、CARD11 和 BLIMP/PDRM1 的活化 B- 细胞表型相关的基因。

[0070] 在另一个实施方案中,预测 NHL 例如 DLBCL 患者中对 3-(4- 氨基 -1- 氧基 -1,3- 二氢 - 异吲哚 -2- 基) - 哌啶 -2,6- 二酮治疗的敏感性的方法包括从患者获得肿瘤样本,将肿瘤样本包埋入石蜡包埋的、甲醛溶液固定的块体中,并用针对 CD20、CD10、bcl-6、IRF4/MUM1、bcl-2、细胞周期蛋白 D2 和 / 或 FOXP1 的抗体染色所述样本,如在 Hans 等人, Blood, 2004, 103:275-282 中描述的,本文将其全部引入作为参考。在一个实施方案中,CD10、bcl-6 和 IRF4/MUM-1 染色可用于将 DLBCL 分成 GCB 和非 GCB 亚群,以预测结果。

[0071] 在一个实施方案中,本文提供一种用于预测非霍奇金淋巴瘤患者中肿瘤对治疗反应的方法,包括:

[0072] (i) 从所述患者获得生物样本;

[0073] (ii) 测定生物样本中 NF- κ B 途径的活性 ;和

[0074] (iii) 比较该生物样本中与未活化的 B- 细胞淋巴瘤亚型的生物样本中的 NF- κ B 活性水平 ;

[0075] 其中相对于未活化的 B- 细胞亚型淋巴瘤细胞而言 NF- κ B 活性水平增加表明对 3-(4- 氨基 -1- 氧基 -1, 3- 二氢 - 异吲哚 -2- 基)- 哌啶 -2, 6- 二酮治疗的有效患者肿瘤反应的可能性。

[0076] 在一个实施方案中,测定生物样本中 NF- κ B 途径的活性包括测定该生物样本中 NF- κ B 水平。

[0077] 在一个实施方案中,本文提供一种监测非霍奇金淋巴瘤患者中肿瘤对治疗反应的方法,包括 :

[0078] (i) 从所述患者获得生物样本 ;

[0079] (ii) 测定该生物样本中 NF- κ B 活性水平 ;

[0080] (iii) 向患者施用治疗有效量的 3-(4- 氨基 -1- 氧基 -1, 3- 二氢 - 异吲哚 -2- 基)- 哌啶 -2, 6- 二酮或其盐、溶剂化物或水合物 ;

[0081] (iv) 从所述患者获得第二生物样本 ;

[0082] (v) 测定第二生物样本中 NF- κ B 活性水平 ;和

[0083] (vi) 比较第一生物样本与第二生物样本中 NF- κ B 活性水平 ;

[0084] 其中相对于第一生物样本而言第二生物样本中 NF- κ B 活性水平降低表明有效患者肿瘤反应的可能性。

[0085] 在一个实施方案中,本文提供一种用于监测非霍奇金淋巴瘤患者中患者对药物治疗方案的顺应性方法,包括 :

[0086] (i) 从所述患者获得生物样本 ;

[0087] (ii) 测定该生物样本中 NF- κ B 活性水平 ;和

[0088] (iii) 比较该生物样本与对照未处理的样本中的 NF- κ B 活性水平 ;

[0089] 其中相对于对照而言该生物样本中 NF- κ B 活性水平降低表明患者对药物治疗方案的顺应性。

[0090] 在一个实施方案中,所述非霍奇金淋巴瘤为弥漫性大 B- 细胞淋巴瘤。

[0091] 在另一个实施方案中,通过酶联免疫吸附测定来测定 NF- κ B 活性水平。

[0092] 在一个实施方案中,本文提供一种用于预测非霍奇金淋巴瘤患者中肿瘤对治疗反应的方法,包括 :

[0093] (i) 从所述患者获得生物样本 ;

[0094] (ii) 培养来自该生物样本的细胞 ;

[0095] (iii) 纯化来自该培养细胞的 RNA ;和

[0096] (iv) 鉴定相对于非霍奇金淋巴瘤的对照未活化的 B- 细胞表型,与非霍奇金淋巴瘤的活化的 B- 细胞表型相关的基因表达增加 ;

[0097] 其中与非霍奇金淋巴瘤的活化 B- 细胞表型相关的基因的表达增加表明对 3-(4- 氨基 -1- 氧基 -1, 3- 二氢 - 异吲哚 -2- 基)- 哌啶 -2, 6- 二酮治疗的有效患者肿瘤反应的可能性。

[0098] 在一个实施方案中,表达增加为增加约 1.5X、2.0X、3X、5X 或更多。

[0099] 在一个实施方案中,与活化 B- 细胞表型相关的基因选自 IRF4/MUM1、FOXP1、CARD11 和 BLIMP/PDRM1。

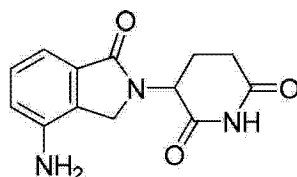
[0100] 在一个实施方案中,鉴定与非霍奇金淋巴瘤的活化 B- 细胞表型相关的基因表达是通过定量实时 PCR 进行的。

[0101] 本文还提供一种用于治疗或控制非霍奇金淋巴瘤的方法,包括:

[0102] (i) 鉴定患有对 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮治疗敏感的非霍奇金淋巴瘤的患者;和

[0103] (ii) 向患者施用治疗有效量具有下述结构的 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮:

[0104]



[0105] 或其可药用盐、溶剂化物或水合物。

[0106] 在一个实施方案中,所述非霍奇金淋巴瘤为弥漫性大 B- 细胞淋巴瘤。

[0107] 在另一个实施方案中,所述非霍奇金淋巴瘤具有活化 B- 细胞表型。

[0108] 在另一个实施方案中,所述弥漫性大 B- 细胞淋巴瘤的特征在于在 RIVA、U2932、TMD8 或 OCI-Ly10 细胞系中过表达的一种或多种生物标记的表达。

[0109] 在一个实施方案中,鉴定患有对 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮治疗敏感的淋巴瘤的患者包括表征患者的淋巴瘤表型。

[0110] 在一个实施方案中,所述淋巴瘤表型被表征为活化 B- 细胞亚型。

[0111] 在一个实施方案中,所述淋巴瘤表型被表征为弥漫性大 B- 细胞淋巴瘤的活化 B- 细胞亚型。

[0112] 在某些实施方案中,鉴定淋巴瘤表型包括从患有淋巴瘤的患者获得生物样本。在一个实施方案中,生物样本为细胞培养物或组织样本。在一个实施方案中,生物样本为肿瘤细胞样本。在另一个实施方案中,生物样本为淋巴结活组织检查、骨髓活组织检查或周围血液肿瘤细胞的样本。在一个实施方案中,生物样本为血液样本。

[0113] 在一个实施方案中,鉴定患有对 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮治疗敏感的非霍奇金淋巴瘤的患者包括鉴定与活化 B- 细胞表型相关的基因。在一个实施方案中,与活化 B- 细胞表型相关的基因选自 IRF4/MUM1、FOXP1、CARD11 和 BLIMP/PDRM1。

[0114] 在一个实施方案中,鉴定患有对 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮治疗敏感的非霍奇金淋巴瘤的患者包括测定患者的 NF- κ B 活性水平。在另一个实施方案中,测定患者的 NF- κ B 活性水平包括测定从所述患者获得的肿瘤细胞中的基准 NF- κ B 活性水平。

[0115] 在另一个实施方案中,所述弥漫性大 B- 细胞淋巴瘤的特征在于一个或多个下述的:

[0116] (i) 活化 B- 细胞亚型细胞的存活所需的造血特异性 Ets 家族转录因子的过表达;

- [0117] (ii) 组成型 IRF4/MUM1 的表达高于 GCB 亚型细胞；
- [0118] (iii) 三体性 3 上调的组成型 FOXP1 的表达较高；
- [0119] (iv) 组成型 Blimp1, 即 PRDM1 的表达较高；和
- [0120] (v) 组成型 CARD11 的基因表达较高；和
- [0121] (vi) NF- κ B 活性水平相对于未活化的 B- 细胞亚型 DLBCL 细胞提高了。
- [0122] 可以与本文提供的预后因子同时使用的另外的预后因子为疾病（肿瘤）负荷、绝对淋巴细胞计数（ALC）、自淋巴瘤的最后利妥昔单抗疗法以来的时间或上述所有预后因子。
- [0123] 本文还提供用于预测有效 NHL 治疗的可能性或监测 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮的治疗有效性的试剂盒。所述试剂盒包括固体载体，和用于监测生物样本中至少一种生物标记的蛋白质表达的工具。这样的试剂盒可以采用例如浸渍片（dipstick）、膜、晶片、盘、测试条、过滤器、微球、载片、多孔板或光学纤维。试剂盒的固体载体可以为例如塑料、硅、金属、树脂、玻璃、膜、粒子、沉淀物、凝胶、聚合物、薄片、球体、多糖、毛细管、膜、板或载片。生物样本可以为例如细胞培养物、细胞系、组织、口腔组织、胃肠组织、器官、细胞器、体液、血样、尿液样本或皮肤样本。生物样本可以为例如淋巴结活组织检查、骨髓活组织检查或周围血液肿瘤细胞的样本。
- [0124] 在一个实施方案中，试剂盒包括固体载体、接触该载体的核酸和用于检测生物样本中 mRNA 表达的工具，其中所述核酸与 NHL 中活化 B- 细胞表型相关的基因的至少 20、50、100、200、350 或更多碱基互补。在一个实施方案中，与活化 B- 细胞表型相关的基因选自 IRF4/MUM1、FOXP1、CARD11 和 BLIMP/PDRM1。
- [0125] 在一个实施方案中，提供一种用于预测有效 NHL 治疗的可能性或用于监测 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮治疗的有效性的试剂盒。所述试剂盒包括固体载体，和用于检测生物样本中 NF- κ B 表达的工具。在一个实施方案中，所述生物样本为细胞培养物或组织样本。在一个实施方案中，所述生物样本为肿瘤细胞样本。在另一个实施方案中，所述生物样本为淋巴结活组织检查、骨髓活组织检查、周围血液肿瘤细胞的样本。在一个实施方案中，所述生物样本为血液样本。在一个实施方案中，NHL 为 DLBCL。
- [0126] 在某些实施方案中，本文提供的试剂盒采用通过定量实时 PCR (QT-PCR)、微点阵、流式细胞仪或免疫荧光检测生物标记表达的工具。在其它实施方案中，通过基于 ELISA 的方法或本领域已知的其它类似方法测定生物标记的表达。
- [0127] 另外的 mRNA 和蛋白质表达技术可以与本文提供的方法和试剂盒结合使用，例如 cDNA 杂交和细胞计量珠粒阵列法（cytometric bead array methods）。。
- [0128] 在一个实施方案中，本文提供一种用于预测非霍奇金淋巴瘤患者中肿瘤对 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮治疗反应的试剂盒，包括：
- [0129] (i) 固体载体；和
- [0130] (ii) 用于检测生物样本中非霍奇金淋巴瘤的活化 B- 细胞表型的生物标记表达的工具。
- [0131] 在一个实施方案中，生物标记为 NF- κ B。
- [0132] 在一个实施方案中，生物标记为与活化 B- 细胞表型相关的基因，并且选自 IRF4/

MUM1、FOXP1、CARD11 和 BLIMP/PDRM1。

[0133] 在本发明的特定方法中,3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮与通常用于治疗、预防或控制癌症的疗法组合施用。这样的常规疗法的实例包括,但不限于外科手术、化疗、放射疗法、激素疗法、生物学疗法和免疫疗法。

[0134] 本文还提供药物组合物、单一单位剂型、剂量施用方案和试剂盒,其包括 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮、或其可药用盐、溶剂化物、水合物、立体异构体、包合物或前药,和第二或另外的活性剂。第二活性剂包括药物的特定组合或“混合物 (cocktails)”。

[0135] 在某些实施方案中,本文提供的用于治疗、预防和/或控制淋巴瘤的方法可以对标准治疗没有响应的患者。在一个实施方案中,所述淋巴瘤为对常规疗法而言复发的、难控制的或耐受性的。

[0136] 在其它实施方案中,本文提供的用于治疗、预防和/或控制淋巴瘤的方法可以用于治疗未处理的 (naive) 患者,即还没有接受治疗的患者。

[0137] 在某些实施方案中,3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮或其可药用盐、溶剂化物或水合物与治疗有效量的一种或多种另外的活性剂组合或交替施用。在一个实施方案中,中所述另外的活性剂选自烷化剂、腺苷类似物、糖皮质激素、激酶抑制剂、SYK 抑制剂、PDE3 抑制剂、PDE7 抑制剂、多柔比星、苯丁酸氮芥、长春新碱、苯达莫司汀、福斯高林、利妥昔单抗或其组合。

[0138] 在一个实施方案中,另外的活性剂为利妥昔单抗。

[0139] 在一个实施方案中,糖皮质激素为氢化可的松或地塞米松。

[0140] 在一个实施方案中,每天施用约 5 至约 50mg 的量的 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮。

[0141] 在一个实施方案中,每天施用约 5 至约 25mg 的量的 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮。

[0142] 在另一个实施方案中,每天施用约 5、10、15、25、30 或 50mg 的量的 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮。

[0143] 在另一个实施方案中,每天施用 10 或 25mg 的 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮。

[0144] 在一个实施方案中,每天施用 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮两次。

[0145] 在一个实施方案中,口服施用 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮。

[0146] 在一个实施方案中,以胶囊或片剂施用 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮。

[0147] 在一个实施方案中,在 28 天的周期中,施用 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮 21 天,接着停药 7 天。

[0148] 本文还提供可用于本文公开的方法的药物组合物 (例如单一单位剂型)。特定药物组合物包括 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮或其可药用盐、溶剂化物或水合物和第二活性剂。

[0149] 5.1 定义

[0150] 如本文使用的,且除非另有说明,术语“治疗”指当患者患有指定癌症时,采取降低癌症严重性、或延迟或减缓癌症进展的行为。

[0151] 当提及用化合物治疗时,术语“敏感性”和“敏感”为相对术语,其指化合物减轻或降低待治疗的肿瘤或疾病的进展有效性的程度。例如,当提及用化合物治疗细胞或肿瘤时使用,术语“敏感性增加”指肿瘤治疗的有效性增加至少 5% 以上。

[0152] 如本文使用的,且除非另有说明,术语“治疗有效量”指在治疗或控制癌症方面足够提供治疗益处、或者足够延迟或最小化与癌症存在相关的一种或多种症状的量。化合物的治疗有效量指单独或与其它疗法组合使用的治疗剂的量,该量在治疗或控制癌症中提供治疗益处。术语“治疗有效量”可以涵盖改善整个治疗、减少或避免癌症的症状或病因、或者增强另一种治疗剂的治疗效果的量。

[0153] 如本文使用的“有效患者肿瘤反应”指对患者的任何治疗益处的增加。“有效患者肿瘤反应”可以为例如肿瘤进展速率降低 5%、10%、25%、50% 或 100%。“有效患者肿瘤反应”可以为例如癌症的身体症状减少 5%、10%、25%、50% 或 100%。“有效患者肿瘤反应”也可以为例如患者的反应提高 5%、10%、25%、50%、100%、200% 以上,如通过任何合适的方法,比如基因表达、细胞计数、测定结果等来测量。

[0154] 术语“可能性”一般指事件的发生机率增加。当关于患者肿瘤反应的有效性使用时,术语“可能性”一般涵盖肿瘤进展或肿瘤细胞生长的速率将降低的几率增加。当提及患者肿瘤反应的有效性使用时,术语“可能性”也可以一般地指比如 mRNA 或蛋白质表达的指标增加,其可证实治疗肿瘤的进展增大。

[0155] 术语“预测”一般指预先确定或告知。例如,当用于“预测”癌症治疗的有效性时,术语“预测”可以指在最初、在治疗开始之前、或在治疗期间已实质上进展之前,可以确定癌症治疗结果的可能性。

[0156] 如本文使用的术语“监测”一般指监视、监督、调节、观察、追踪或监控活性。例如,术语“监测化合物的有效性”指追踪在治疗患者或肿瘤细胞培养物中的癌症的有效性。类似地,当分别或在临床试验中与患者顺应性结合使用时,“监测”指追踪或证实患者实际地正在服用如所指定待试验的免疫调节化合物。监测可以例如通过跟踪 mRNA 或蛋白质生物标记的表达来进行。

[0157] 癌症或癌症相关疾病的改善可以表征为完全响应或部分响应。“完全响应”指在任何之前异常放射摄影学研究、骨髓和脑脊液 (CSF) 或异常单克隆蛋白质测定的标准化下,不存在临床可检测的疾病。“部分响应”指在不存在新病变的情况下,所有可测量的肿瘤负荷 (即,受试者中存在的恶性细胞数量,或肿瘤块的测量体积或异常单克隆蛋白质的量) 降低至少约 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80% 或 90%。术语“治疗”同时涵盖完全响应和部分响应。

[0158] 如本文使用的“肿瘤”指所有的瘤细胞生长和增殖,无论是否恶性或良性,和所有癌前和癌性细胞和组织。如本文使用的“肿瘤的”指导致异常组织生长的任何形式的调节异常或未调节的细胞生长,无论恶性或良性。因此,“瘤细胞”包括具有调节异常或未调节的细胞生长的恶性和良性细胞。

[0159] 术语“癌症”和“癌性”指或描述哺乳动物中通常特征在于未调节的细胞生长的生

理状况。癌症的实例包括,但不限于血液源性肿瘤(例如,多发性骨髓瘤、淋巴瘤和白血病)和实体瘤。

[0160] 术语“难控制的或耐受性的”指患者甚至在强化治疗之后,仍在其淋巴系统、血液和/或血液形成组织(例如骨髓)中具有残余癌细胞(例如白血病或淋巴瘤细胞)的情形。

[0161] 如本文使用的在本文中可互换地使用的术语“多肽”和“蛋白”指在连续阵列中三个或以上氨基酸经由肽键连接的氨基酸的聚合物。术语“多肽”包括蛋白质、蛋白质片段、蛋白质类似物、低聚肽等。如本文使用的术语多肽也可以指肽。构成多肽的氨基酸可以是源自天然的、或者可以是合成的。所述多肽可以是生物样本中纯化的。

[0162] 术语“抗体”在本文中以最广泛的含义使用,涵盖完全组装的抗体、保持其特异性结合抗原的能力的抗体片段(例如 Fab、F(ab')₂、Fv 及其它片段)、单链抗体、双特异抗体(diabodies)、抗体嵌合体、杂交抗体、双特异性抗体、人源化抗体、等。术语“抗体”同时涵盖多克隆抗体和单克隆抗体。

[0163] 如本文使用的术语“表达的”或“表达”指从基因转录得到与基因的两个核酸链之一的区域至少部分互补的 RNA 核酸。如本文使用的术语“表达的”或“表达”也指从 RNA 分子翻译得到蛋白质、多肽或其部分。

[0164] “上调”的 mRNA 一般在给定治疗或病症时增加。“下调”的 mRNA 一般指响应给定治疗或病症, mRNA 的表达水平下降。在某些情况下, mRNA 水平在给定治疗或病症下可以保持不变。

[0165] 与未治疗的对照相比,当用免疫调节化合物治疗时,来自患者样本的 mRNA 可以“上调”。该上调可以例如比较性对照 mRNA 水平增加约 5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、90%、100%、200%、300%、500%、1,000%、5,000% 以上。

[0166] 或者, mRNA 可以响应施用某些免疫调节化合物或其它试剂而“下调”,或以较低水平表达。下调 mRNA 可以例如以比较性对照 mRNA 水平的约 99%、95%、90%、80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%、10%、1% 以下的水平存在。

[0167] 类似地,与未处理的对照相比,当用免疫调节化合物处理时,来自患者样本的多肽或蛋白质生物标记的水平可以增加。该增加可以例如比较性对照蛋白水平的约 5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、90%、100%、200%、300%、500%、1,000%、5,000% 以上。

[0168] 可选地,蛋白质生物标记的水平可以响应施用某些免疫调节化合物或其它试剂而下降。该降低可以例如以比较性对照蛋白水平的约 99%、95%、90%、80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%、10%、1% 以下的水平存在。

[0169] 如本文使用的术语“确定”、“测量”、“评价”、“评估”和“测定”一般指任何形式的测量,包括确定元素是否存在。这些术语同时包括定量和/或定性测定。评价可以是相对的或绝对的。“评价...的存在”可以包括测定所存在的某物的量,以及确定其存在或不存在。

[0170] 术语“核酸”和“多核苷酸”在本文中可互换地使用,描述由以下组成的任何长度的聚合物:核苷酸,例如脱氧核糖核苷酸核糖核苷酸,或合成产生的化合物,其可以与天然存在的核酸以类似于两种天然存在的核酸的序列特异性方式杂交,例如可以参与沃森-克里克(Watson-Crick)碱基配对相互作用。如本文在多核苷酸序列的情形中使用的术语“碱基”与“核苷酸”(即,多核苷酸的单体亚单位)是同义的。术语“核苷”意味着包括不仅包含

已知嘌呤和嘧啶碱基,而且包含已经修饰的其它杂环碱基的那些部分。这样的修饰包括甲基化嘌呤或嘧啶、酰化嘌呤或嘧啶、烷基化核糖或其它杂环。另外,术语“核苷”包括不仅包含常见核糖和脱氧核糖,而且也包含其它糖的那些部分。修饰的核苷或核苷酸也包括对糖部分的修饰,例如其中一个或多个羟基被卤素原子或脂族基替换,或者官能化为醚、胺等。“类似物”指具有在文献中公认的结构特点的分子,如具有类似结构的模拟物、衍生物或其它类似术语,包括例如引入非天然核苷酸的多核苷酸、核苷酸模拟物比如 2'-修饰的核苷、肽核酸、寡聚核苷磷酸酯、和具有附加取代基团比如保护基或连接部分的任何多核苷酸。

[0171] 术语“互补”指多核苷酸之间基于多核苷酸序列的特异性结合。如本文使用的,如果在杂交试验中在严格条件下第一多核苷酸和第二多核苷酸彼此结合,例如它们在杂交试验中产生既定或可检测水平的信号,则第一多核苷酸和第二多核苷酸互补。如果多核苷酸部分遵守常规碱基对规则,例如 A 与 T(或 U) 配对, G 与 C 配对,则该多核苷酸部分彼此互补,尽管可能存在错配、插入或缺失序列的小区域(例如少于约 3 个碱基)。

[0172] 在两种核酸序列的情形中,“序列同一性”或“一致性”指当两种序列进行比对以在指定比较窗上达成最大对应时相同,且可考虑添加、缺失和取代的残基。

[0173] 在多核苷酸的情形中,呈各种语法形式的术语“实质上一致”或“同源”一般指多核苷酸包括具有与参考序列期望的同一性,例如至少 60% 同一性、优选地至少 70% 序列同一性、更优选地至少 80%、仍更优选地至少 90% 和甚至更优选地至少 95% 的序列。核苷酸序列实质上一致的另一个指征为两种分子在严格条件下是否彼此杂交。

[0174] 术语“分离”和“纯化”指分离物质(比如 mRNA 或蛋白质),使得物质包括该物质所属样本的大部分,即多于通常以天然或非分离状态所发现的该物质。典型地,样本的大部分包括该样本的例如大于 1%、大于 2%、大于 5%、大于 10%、大于 20%、大于 50% 以上,通常至多约 90%-100%。例如,分离 mRNA 的样本可以典型地包括至少约 1% 的总 mRNA。用于纯化多核苷酸的技术是本领域所熟知的,包括例如凝胶电泳、离子交换层析、亲和层析、流式分选和根据密度的沉降。

[0175] 如本文使用的术语“样本”指物质或物质混合物,其通常,但不一定呈包含一种或多种感兴趣组分的液体形式。

[0176] 如本文使用的“生物样本”指从生物学个体获得的样本,包括体内或原位获得、取得或收集的源于生物学组织或流体的样本。生物样本还包括来自包含癌前或癌细胞或组织的生物学个体的区域的样本。这样的样本可以是,但不限于来自哺乳动物分离的器官、组织、部分和细胞。示例性的生物样本包括,但不限于细胞溶解产物、细胞培养物、细胞系、组织、口腔组织、胃肠组织、器官、细胞器、体液、血样、尿液样本、皮肤样本等。优选的生物样本包括,但不限于全血、部分纯化的血液、PBMC、组织活组织检查等。

[0177] 如本文使用的术语“俘获剂”指经由足以使试剂结合或浓缩来自均匀混合物的 mRNA 或蛋白质的相互作用来结合 mRNA 或蛋白质的试剂。

[0178] 如本文使用的术语“探针”指指向特异性目标 mRNA 生物标记序列的俘获剂。因此,探针组的每个探针具有相应的目标 mRNA 生物标记。探针 / 目标 mRNA 双链为通过杂交探针与其目标 mRNA 生物标记形成的结构。

[0179] 术语“核酸”或“寡核苷酸探针”指能够经一种或多种类型的化学键,通常经互补碱基配对,通常经氢键形成而结合互补序列的目标核酸,比如本文提供的 mRNA 生物标

记。如本文使用的,探针可以包括天然碱基(例如 A、G、C 或 T)或修饰碱基(7-去氮杂鸟苷(7-deazaguanosine)、肌苷等)。另外,探针中的碱基可以通过与磷酸二酯键不同的键结合,只要该键不会干扰杂交。本领域技术人员应当理解,根据杂交条件的严格性,探针可以结合缺乏与探针序列的完全互补性的目标序列。所述探针优选地用同位素例如发色团、发光团(lumiphores)、色原体直接标记,或者用生物素间接标记,该生物素随后可以结合抗生物素蛋白-生物素复合物。通过测定探针的存在或不存在,人们可以检测感兴趣的目标 mRNA 生物标记存在或不存在。

[0180] 术语“严格的测定条件”指如下条件:对产生具有足够互补性的核苷酸结合对(例如探针和靶 mRNA)而言相容,以在测定中提供期望特异性水平,同时一般与在具有不足互补性的结合成员之间形成结合对而言不相容以提供期望特异性。术语严格测定条件一般指杂交和洗涤条件的组合。

[0181] 关于核酸的“标记物”或“可检测部分”指如下组合:当与核酸连接时,导致该核酸是通过例如光谱、光化学、生物化学、免疫化学或化学方法可检测的。示例性的标记物包括,但不限于放射性同位素、磁性珠粒、金属珠粒、胶体微粒、荧光染料、酶、生物素、地高辛、半抗原等。“标记的核酸或寡核苷酸探针”通常为如下一种:其通过连接基或化学键共价结合标记物,或者通过离子键、范德华力、静电引力、疏水性相互作用或氢键非共价结合标记物,使得可通过检测结合核酸或探针的标记物的存在来检测核酸或探针的存在。

[0182] 如本文使用的术语“聚合酶链反应”或“PCR”一般指其中少量核酸、RNA 和 / 或 DNA 为例如在 Mullis 的美国专利 No. 4,683,195 中描述的扩增的程序。通常,需要获得来自感兴趣区域末端或之外的序列信息,使得可设计寡核苷酸引物;这些引物的序列与待扩增的模板的相反链相同或类似。两个引物的 5' 端核苷酸可以与扩增物质的末端相符合。PCR 可用于扩增特异性 RNA 序列,来自全部基因组 DNA 的 DNA 序列,和来自全部细胞 RNA、噬菌体或质粒序列转录的 cDNA 等。一般参见 Mullis 等人, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 51:263(1987); Erlich, ed., PCR Technology, (Stockton Press, NY, 1989)。

[0183] 本文中当关于 PCR 方法使用术语“循环数”或“CT”时,指荧光水平通过已设定阈值水平的 PCR 循环数。CT 测量可用于例如估算原始样本中 mRNA 的水平。CT 测量通常用在术语“dCT”或“CT 差”评分中,此时从另一种核酸的 CT 减去一种核酸的 CT。

[0184] 如本文使用的,且除非另有说明,术语“光学纯”指包含化合物的一种光学异构体且基本上不含该化合物的其它异构体的组合物。例如,具有一个手性中心的光学纯组合物将基本上不含该化合物的相对对映异构体。具有两个手性中心的化合物的光学纯组合物将基本上不含该化合物的其它非对映异构体。典型的光学纯化合物包含大于约 80% 重量的化合物的一种对映异构体和少于约 20% 重量的该化合物的其它对映异构体、更优选地大于约 90% 重量的化合物的一种对映异构体和少于约 10% 重量的该化合物的其它对映异构体、甚至更优选地大于约 95% 重量的化合物的一种对映异构体和少于约 5% 重量的该化合物的其它对映异构体、更优选地大于约 97% 重量的化合物的一种对映异构体和少于约 3% 重量的该化合物的其它对映异构体、和最优选地大于约 99% 重量的化合物的一种对映异构体和少于约 1% 重量的该化合物的其它对映异构体。

[0185] 如本文使用的,且除非另有说明,术语“可药用盐”涵盖该术语所指的化合物的无毒酸和碱加成盐。可接受的无毒酸加成盐包括衍生自本领域已知的有机和无机酸或

碱的那些,所述有机和无机酸包括例如盐酸、氢溴酸、磷酸、硫酸、甲烷基磺酸、乙酸、酒石酸、乳酸、琥珀酸、柠檬酸、苹果酸、马来酸、山梨酸、乌头酸、水杨酸、邻苯二甲酸、恩贝酸(embolic acid)、庚酸等。

[0186] 性质上为酸性的化合物能够与各种可药用碱性成盐。可用于制备这样的酸性化合物的可药用碱加成盐的碱为形成无毒的碱加成盐的那些,即包含药理学可接受的阳离子的盐,比如但不限于碱金属盐或碱土金属盐,特别是钙盐、镁盐、钠盐或钾盐。合适的有机碱包括,但不限于 N,N-二苄基乙二胺、氯普鲁卡因、胆碱、二乙醇胺、乙二胺、葡甲胺(N-甲基葡糖胺)、赖氨酸和普鲁卡因(procaine)。

[0187] 如本文使用的,且除非另有说明,术语“溶剂化物”指本文提供的化合物或其盐,其进一步包括化学计量的或非化学计量的量的非共价分子间作用力结合的溶剂。当溶剂为水时,溶剂化物为水合物。

[0188] 如本文使用的,且除非另有说明,术语“立体异构体纯”指包含化合物的一种立体异构体,且基本上不含该化合物的其它立体异构体的组合物。具有一个手性中心的化合物的立体异构体纯组合物将基本上不含该化合物的相对对映异构体。具有两个手性中心的化合物的立体异构体纯组合物将基本上不含该化合物的其它非对映异构体。典型的立体异构体纯的化合物包含大于约 80% 重量的化合物的一种立体异构体和少于约 20% 重量的该化合物的其它立体异构体、更优选地大于约 90% 重量的化合物的一种立体异构体和少于约 10% 重量的该化合物的其它立体异构体、甚至更优选地大于约 95% 重量的化合物的一种立体异构体和少于约 5% 重量的该化合物的其它立体异构体、和最优选地大于约 97% 重量的化合物的一种立体异构体和少于约 3% 重量的该化合物的其它立体异构体。如本文使用的,且除非另有说明,术语“立体异构体富集的”指包含大于约 60% 重量的化合物的一种立体异构体、优选地大于约 70% 重量、更优选地大于约 80% 重量的化合物的一种立体异构体。如本文使用的,且除非另有说明,术语“对映异构体纯”指具有一个手性中心的化合物的立体异构体纯的组合物。类似地,术语“对映异构体富集的”指具有一个手性中心的化合物的立体异构体富集的组合物。

[0189] 应当注意到,如果描述的结构和结构提供的名称之间存在矛盾,则以描述的结构为准。另外,如果结构或结构一部分的立体化学没有以例如粗体或虚线表示,则将该结构或结构部分解释为涵盖其所有立体异构体。

[0190] 除非另有说明,本文提供的实施方案的实施将使用分子生物学、微生物学和免疫学的常规方法,所有这些方法都在本领域普通技术人员的技术范围内。这样的技术在文献中充分说明。用于会诊的特别合适的文本的实例包括下述: Sambrook 等人 (1989) Molecular Cloning; A Laboratory Manual (2d ed.); D. N. Glover, ed. (1985) DNA Cloning, 第 I 卷 和 第 II 卷; M. J. Gait, ed. (1984) Oligonucleotide Synthesis; B. D. Hames & S. J. Higgins, eds. (1984) Nucleic Acid Hybridization; B. D. Hames & S. J. Higgins, eds. (1984) Transcription and Translation; R. I. Freshney, ed. (1986) Animal Cell Culture; Immobilized Cells and Enzymes (IRL Press, 1986); Immunochemical Methods in Cell and Molecular Biology (Academic Press, London); Scopes (1987) Protein Purification: Principles and Practice (2d ed.; Springer Verlag, N. Y.); and D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds. (1986) Handbook of Experimental Immunology, 第

I-IV 卷。

[0191] 5.2 生物标记

[0192] 本文提供关于使用 mRNAs 或蛋白质作为生物标记来确定癌症疗法的有效性。mRNA 或蛋白质的水平可用于确定具体试剂是否可能成功地治疗特定类型的癌症,例如非霍奇金淋巴瘤。

[0193] 生物标记(biological marker/biomarker)为其检测表明特定生物学状态(例如癌症存在)的物质。在某些实施方案中,可以分别测定生物标记,或者可以同时测定几个生物标记。

[0194] 在某些实施方案中,“生物标记”指示可能与疾病危险或进展相关、或与疾病对给定治疗的敏感性相关的 mRNA 表达水平的变化。在某些实施方案中,生物标记为核酸,比如 mRNA 或 cDNA。

[0195] 在另外的实施方案中,“生物标记”指示可能与治疗的敏感性相关或与疾病进展相关的多肽或蛋白质表达水平的变化。在某些实施方案中,生物标记可以为多肽或蛋白质,或其片段。特定蛋白质的相对水平可以通过本领域已知的方法测定。例如,可以使用基于抗体的方法,比如免疫印迹、酶联免疫吸附测定(ELISA)或其它方法。

[0196] 5.3 第二活性剂

[0197] 在本文提供的方法和组合物中,3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮可以与其它药理学活性化合物(“第二活性剂”)组合。据信某些组合在治疗特定类型的癌症中协同起作用。第二活性剂可以是高分子(例如蛋白质)或小分子(例如合成无机分子、有机金属分子或有机分子)。

[0198] 高分子活性剂的实例包括,但不限于造血生长因子、细胞因子及单克隆抗体和多克隆抗体。典型的高分子活性剂为生物分子,比如天然存在或人工制备的蛋白质。特别地用于本发明的蛋白质包括在体外或体内刺激造血前体细胞和免疫活性造血细胞的存活和/或增殖的蛋白质。其它蛋白质在体外或体内刺激固定红血球系祖细胞(committed erythroid progenitors)的分裂和分化。具体的蛋白质包括,但不限于:白细胞介素,比如 IL-2(包括重组 IL-2(“rIL2”)和金丝雀痘 IL-2)、IL-10、IL-12 和 IL-18;干扰素,比如干扰素 α -2a、干扰素 α -2b、干扰素 α -n1、干扰素 α -n3、干扰素 β -1a 和干扰素 γ -1b; GM-CSF 和 GM-CSF; 和 EPO。

[0199] 可用于本文提供的方法和组合物的具体蛋白质包括,但不限于:非格司亭,其在美国以商品名 **Neupogen®** (Amgen, Thousand Oaks, CA) 销售;沙莫司亭,其在美国以商品名 **Leukine®** (Immunex, Seattle, WA) 销售;和重组 EPO,其在美国以商品名 **Epogen®** (Amgen, Thousand Oaks, CA) 销售。

[0200] 重组和突变形式的 GM-CSF 可以如在美国专利号 5,391,485;5,393,870;和 5,229,496 中描述的制备,将所有这些专利都引入本文作为参考。重组和突变形式的 G-CSF 可以如在美国专利号 4,810,643;4,999,291;5,528,823 和 5,580,755 中描述的制备,将这些专利全部引入本文作为参考。

[0201] 可以与 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮组合的抗体包括单克隆抗体和多克隆抗体。抗体的实例包括,但不限于曲妥单抗(**Herceptin®**)、利妥昔单抗(**Rituxan®**)、贝伐单抗(**Avastin™**)、帕妥珠单抗(pertuzumab, **Omnitarg™**)、托

西莫单抗(Bexxar[®])、依决洛单抗(Panorex[®])和 G250。本发明的化合物也可以与抗-TNF- α 抗体组合或组合使用。

[0202] 大分子活性剂可以抗癌疫苗形式施用。例如,分泌细胞因子比如 IL-2、G-CSF 和 GM-CSF 或促使前述细胞因子分泌的疫苗可用于本文提供的方法、药物组合物和试剂盒中。参见,例如 Emens, L. A., 等人, Curr. Opinion Mol. Ther. 3(1):77-84(2001)。

[0203] 小分子第二活性剂也可以与本文提供的 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮组合使用。小分子第二活性剂的实例包括,但不限于抗癌剂、抗生素、免疫抑制剂和类固醇。

[0204] 抗癌剂的实例包括,但不限于:阿西维辛;阿柔比星;盐酸阿考达唑;阿克罗宁;阿多来新;阿地白介素;六甲蜜胺;安波霉素;乙酸阿美蒽醌;安吡啶;阿那曲唑;安曲霉素;门冬酰胺酶;曲林菌素;阿扎胞苷;阿扎替派;阿佐霉素;巴马司他;苯佐替派;比卡鲁胺;盐酸比生群;二甲磺酸双奈法德;比折来新;硫酸博来霉素;布喹那钠;溴匹立明;白消安;放线菌素 C;卡普唑酮;卡醋酸;卡贝替姆;卡铂;卡氮芥;盐酸卡柔比星;卡折来新;西地芬戈;塞来考昔(COX-2 抑制剂);苯丁酸氮芥;西罗霉素;顺铂;克拉屈滨;甲磺酸克立那托;环磷酰胺;阿糖胞苷;达卡巴嗪;更生霉素;盐酸柔红霉素;地西他滨;右奥马铂;地扎胍宁;甲磺酸地扎胍宁;地吡啶;多西他赛;多柔比星;盐酸多柔比星;屈洛昔芬;柠檬酸屈洛昔芬;丙酸屈他雄酮;达佐霉素;依达曲沙;盐酸依氟鸟氨酸;依沙芦星;恩洛铂;恩普氨酯;依匹哌啶;盐酸表柔比星;厄布洛唑;盐酸依索比星;雌莫司汀;雌莫司汀磷酸钠;依他硝唑;依托泊苷;磷酸依托泊苷;埃托宁(etoprine);盐酸法倔唑;法扎拉滨;芬维 A 胺;氟尿苷;磷酸氟达拉滨;氟尿嘧啶;氟西他滨;磷嗪酮;福司曲星钠;吉西他滨;盐酸吉西他滨;羟基脲;盐酸伊达比星;异环磷酰胺;伊莫福新;异丙铂;依立替康;盐酸依立替康;乙酸兰瑞肽;来曲唑;醋酸亮丙瑞林;盐酸盐利阿唑;洛美曲索钠;洛莫司汀;盐酸洛索蒽醌;马索罗酚;美登素;盐酸氮芥;乙酸甲地孕酮;醋酸美仑孕酮;美法仑;美诺立尔;巯基嘌呤;甲氨蝶呤;甲氨蝶呤钠;氯苯氨啶;美妥替哌;米丁度胺;米托卡西(mitocarcin);米托罗米(mitocromin);米托洁林;米托马星;丝裂霉素;米托司培;米托坦;盐酸米托蒽醌;麦考酚酸;诺考达唑;诺加霉素;奥马铂;奥昔舒仑;紫杉醇;培门冬酶;培利霉素;喷他霉素;硫酸盐培洛霉素;培磷酰胺;哌泊溴烷;哌泊舒凡;盐酸吡罗蒽醌;普卡霉素;普洛美坦;卟菲尔钠;泊非霉素;泼尼莫司汀;盐酸甲基下胼;嘌呤霉素;盐酸嘌呤霉素;吡唑呋喃菌素;利波腺苷;沙芬戈;盐酸沙芬戈;司莫司汀;辛曲秦;磷乙酰天冬氨酸钠;司帕霉素;盐酸锗螺胺;螺莫司汀;螺铂;链黑菌素;链佐星;磺氯苯脲;他利霉素;替可加兰钠;泰索帝;替加氟;盐酸替洛蒽醌;替莫泊芬;替尼泊苷;替罗昔隆;睾内酯;硫咪嘌呤;硫鸟嘌呤;塞替派;噻唑呋林;替拉扎明;柠檬酸托瑞米芬;乙酸曲托龙;磷酸曲西立滨;三甲曲沙;葡糖醛酸三甲曲沙;曲普瑞林;盐酸妥布氯唑;尿嘧啶氮芥;乌瑞替派;伐普肽;维替泊芬;硫酸长春碱;硫酸长春新碱;长春地辛;硫酸长春地辛;硫酸长春匹定;硫酸长春甘酯;硫酸长春罗辛;酒石酸长春瑞滨;硫酸长春罗定;硫酸长春利定;伏氯唑;折尼铂;净司他丁;和盐酸佐柔比星。

[0205] 其它的抗癌药物包括,但不限于:20-表-1,25-二羟基维生素 D3;5-乙炔尿嘧啶;阿比特龙;阿柔比星;酰基富烯(acylfulvene);阿地培诺(adecypenol);阿多来新;阿地白介素;ALL-TK 拮抗剂;六甲蜜胺;氨莫司汀;amidox;氨磷汀;氨基乙酰丙酸;氨柔比

星;安吡啶;阿那格雷;阿那曲唑;穿心莲内酯;血管生成抑制剂;拮抗剂 D;拮抗剂 G;安雷利克斯;抗背部化形态发生蛋白-1(anti-dorsalizing morphogenetic protein-1);前列腺癌抗雄激素;抗雌激素;抗瘤酮(antineoplaston);反义寡核苷酸;阿非迪霉素甘氨酸酯;细胞凋亡基因调节剂;细胞凋亡调节剂;无嘌呤核酸;ara-CDP-DL-PTBA;精氨酸脱氨酶;asulacrine;阿他美坦;阿莫司汀;阿新司坦汀 1(axinastatin 1);阿新司坦汀 2;阿新司坦汀 3;阿扎司琼;阿扎毒素;重氮酪氨酸;浆果赤霉素 III 衍生物;balanol;巴马司他;BCR/ABL 拮抗剂;苯并二氢卟吩;苯甲酰基星孢素(benzoylstauroporine); β 内酰胺衍生物; β -阿立新(beta-alethine); β 克林霉素 B;桦木酸;bFGF 抑制剂;比卡鲁胺;比生群;双氮丙啶基精胺(bisaziridinylspermine);双奈法德;bistratene A;比折来新;布度钛(breflate);溴匹立明;布多替钛;丁硫氨酸亚砷胺(buthionine sulfoximine);卡泊三醇;钙感光蛋白 C(calphostin C);喜树碱衍生物;卡培他滨;甲酰胺-氨基-三唑;羟基酰氨基三唑;CaRest M3;CARN 700;软骨源性抑制剂;卡折来新;酪蛋白激酶抑制剂(ICOS);溴粟精胺;杀菌肽 B;西曲瑞克;chlorlins;氯喹噁啉磺酰胺;西卡前列素;顺-卟啉;克拉屈滨;克罗米芬类似物;克霉唑;碰撞霉素 A;碰撞霉素 B;考布他汀 A4;考布他汀类似物;conagenin;crambescidin 816;克立那托;念珠藻环肽(cryptophycin) 8;念珠藻环肽 A 衍生物;curacin A;环戊萘醌;cycloplatan;环孢素 A;cypemycin;阿糖胞苷 ocfosfate;细胞溶解因子;细胞抑制素(cytostatin);达昔单抗;地西他滨;阿糖胞苷酯脱氢海鞘环肽 B;地洛瑞林;地塞米松;dexifosfamide;右雷佐生;右维拉帕米;地吡醌;海鞘环肽 B(didemnin B);didox;二乙基去甲丁胺;二氢-5-氮杂胞苷;二氢紫杉醇,9;二噁霉素(dioxamycin);二苯基螺莫司汀;多西他赛;二十二醇;多拉司琼;去氧氟尿苷;多柔比星;屈洛昔芬;屈大麻酚;duocarmycin SA;依布硒(ebselen);依考莫司汀;依地福新;依决洛单抗;依氟鸟氨酸;榄香烯;乙嘧替氟;表柔比星;爱普列特;雌莫司汀类似物;雌激素激动剂;雌激素拮抗剂;依他硝唑;磷酸依托泊苷;依西美坦;法倔唑;法扎拉滨;芬维 A 胺;非格司亭;非那司提;flavopiridol;氟卓斯汀;fluasterone;氟达拉滨;盐酸 fluorodaunorubicin;福酚美克;福美坦;福司曲星;福莫司汀;莫特沙芬钆(gadolinium texaphyrin);硝酸镓;加洛他滨;加尼瑞克;明胶酶抑制剂;吉西他滨;谷胱甘肽抑制剂;hepsulfam;heregulin;六甲撑二乙酰胺;金丝桃素;伊班膦酸;伊达比星;艾多昔芬;伊决孟酮;伊莫福新;伊洛马司他;伊马替尼(例如Gleevec[®]);咪喹莫特;免疫刺激肽;胰岛素样生长因子-1 受体抑制剂;干扰素激动剂;干扰素;白细胞介素;碘苄胍;碘阿霉素;甘薯苦醇,4;伊罗普拉;伊索拉定;isobengazole;isohomohalicondrin B;伊他司琼;jasplakinolide;kahalalide F;三乙酸层状素 N(lamellarin-N);兰瑞肽;leinamycin;来格司亭;硫酸蘑菇多糖;leptolstatin;来曲唑;白血病抑制因子;白细胞 α 干扰素;醋酸亮丙瑞林+雌激素+黄体酮;亮丙瑞林;左旋咪唑;利阿唑;直链多胺类似物;亲脂性二糖肽;亲脂性铂化合物;亲脂铂化合物;澳棕三甲胺 7(lissoclinamide7);洛铂;蚯蚓磷脂;洛美曲索;氯尼达明;洛索萘醌;洛索立宾;勒托替康;得克萨菲啉;lysofylline;溶解肽;美坦辛;mannostatin A;马立马司他;马索罗酚;maspin;基质溶解因子抑制剂;基质金属蛋白酶抑制剂;美诺立尔;merbarone;美替瑞林;甲硫胺酸酶;甲氧氯普胺;MIF 抑制剂;米非司酮;米替福新;米立司亭;丙脒脞;二溴卫矛醇;丝裂霉素类似物;米托萘胺;mitotoxin 成纤维细胞生长因子-皂草素;米托萘醌;莫法罗汀;莫

拉司亭;Erbitux;人绒毛膜促性腺激素;单磷酸类脂 A+ 分枝杆菌细胞壁 sk;莫哌达醇;芥菜抗癌剂;mycaperoxide B;分枝杆菌细胞壁提取物;myriaporone;N-乙酰基地那林(N-acetyldinaline);N-取代的苯甲酰胺;那法瑞林;nagrestip;纳洛酮+喷他佐辛;napavin;naphterpin;那托司亭;奈达铂;奈莫柔比星(nemorubicin);奈立膦酸;尼鲁米特;nisamycin;一氧化氮调节剂;硝基氧抗氧剂;nitrullyn;oblimersen(Genasense?);06-苯甲基鸟嘌呤;奥曲肽;okicenone;寡核苷酸;奥那司酮;昂丹司琼;昂丹司琼;oracin;口服细胞因子诱导物;奥马铂;奥沙特隆;奥沙利铂;oxaunomycin;紫杉醇;紫杉醇类似物;紫杉醇衍生物;palauamine;棕榈酰基根霉素(palmitoylrhizoxin);帕米膦酸;人参三醇;帕诺米芬;parabactin;帕折普汀;培门冬酶;培得星;多硫酸戊聚糖钠;喷司他丁;pentrozole;全氟溴烷;培磷酰胺;紫苏子醇;phenazinomycin;苯乙酸酯;磷酸酶抑制剂;picibanil;盐酸毛果芸香碱;吡柔比星;吡曲克辛;placetin A;placetin B;纤溶酶原激活物抑制剂;铂复合物;铂化合物;铂-三胺复合物;吡菲尔钠;泊非霉素;泼尼松;丙基双吡啶酮;前列腺素 J2;蛋白酶体抑制剂;基于蛋白质 A 的免疫调节剂;蛋白激酶 C 抑制剂;蛋白激酶 C 抑制剂, microalgal;蛋白质酪氨酸磷酸酶抑制剂;嘌呤核苷磷酸化酶抑制剂;紫红素;吡啶啉吡啶;吡哆醛化血红蛋白聚氧乙烯共轭物;raf 拮抗剂;雷替曲塞;雷莫司琼;ras 法呢基蛋白质转移酶抑制剂;ras 抑制剂;ras-GAP 抑制剂;脱甲基瑞替普汀;依替膦酸铈 Re 186;根霉素;核酶;RII 视黄酰胺;rohitukine;罗莫肽;罗喹美克;rubiginone B1;ruboxyl;沙芬戈;saintopin;SarCNU;sarcophytolA;沙莫司亭;Sdi 1 模拟物;司莫司汀;衰老源抑制剂 1;有义寡核苷酸;信号转导抑制剂;西佐喃;索布佐生;硼卡钠;苯基乙酸钠;solverol;生长调节素结合蛋白;索纳明;膦门冬酸;spicamycin D;螺莫司汀;splenopentin;spongistatin 1;角鲨胺;stipiamide;基质降解酶抑制剂;索非罗新(sulfinosine);超活性血管活性肠肽拮抗剂;suradista;苏拉明;苦马豆碱;他莫司汀;他莫昔芬甲碘化物;牛磺莫司汀;他佐罗汀;替可加兰钠;替加氟;tellurapyrylium;端粒酶抑制剂;替莫泊芬;替尼泊苷;四氯十氧化物;tetrazomine;thaliblastine;thiocoraline;血小板生成素;血小板生成素模拟物;胸腺法新;胸腺生成素受体激动剂;胸腺曲南;促甲状腺激素;乙基锡初紫红素;替拉扎明;二氯环戊二烯钛;topsentin;托瑞米芬;翻译抑制剂;维甲酸;三乙酰尿苷;曲西立滨;三甲曲沙;曲普瑞林;托烷司琼;妥罗雄脲;酪氨酸激酶抑制剂;酪氨酸磷酸化抑制剂;UBC 抑制剂;乌苯美司;尿殖管窦-衍生的生长抑制因子;尿激酶受体拮抗剂;伐普肽;variolin B;维拉雷琐;藜芦明;verdins;维替泊芬;长春瑞滨;vinxaltine;vitaxin;伏氯唑;扎诺特隆;折尼铂;亚苄维 C;和净司他丁苯马聚合物。

[0206] 特定的第二活性剂包括,但不限于苯丁酸氮芥、氟达拉滨、地塞米松(Decadron[®])、氢化可的松、甲泼尼龙、西洛酰胺、多柔比星(Doxil[®])、福斯高林、利妥昔单抗、环孢素 A、顺铂、长春新碱、PDE7 抑制剂比如 BRL-50481 和 IR-202、双重 PDE4/7 抑制剂比如 IR-284、西洛他唑、美立苯旦、米力农、维司力农(vesnarinone)、依诺昔酮和匹莫苯、Syk 抑制剂比如福他替尼二钠(R406/R788)、R343、R-112 和 Excellair[®] (ZaBeCorPharmaceuticals, Bala Cynwyd, PA)。

[0207] 5.4 治疗方法

[0208] 本文提供治疗或控制淋巴瘤,特别是非霍奇金淋巴瘤的方法。在某些实施方案中,

本文提供使用预后因子治疗或控制包括但不限于弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 (DLBCL) 的非霍奇金淋巴瘤 (NHL)) 的方法。

[0209] 本文还提供治疗之前已进行癌症治疗但对标准疗法无应答以及之前还没有治疗的患者。本发明还涵盖不考虑患者的年龄来治疗患者的方法,但是某些疾病或病症在特定年龄组更常见。本发明进一步涵盖治疗已经历外科手术来尝试治疗所述疾病或病症的患者以及还没有进行外科手术的患者的方法。因为患有癌症的患者具有不同种类的表现和不同临床结果,因此给予患者的治疗可以根据他/她的预后而变化。有经验的临床医师能够在无过度实验的情况下容易地确定可有效地用于治疗患有癌症患者的第二试剂、外科手术类型和非基于药物的标准疗法的类型。

[0210] 在一个实施方案中,用于本文描述病症的 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮的推荐日剂量范围为约 1mg 至约 50/天,优选地以每日一次单次剂量或以一整天分剂量给予。特定每日剂量包括 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49 或 50mg/天。

[0211] 在一个特定实施方案中,3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮的推荐起始剂量可以是 10mg 或 25mg/天。剂量可以逐步升高至 15、20、25、30、35、40、45 和 50mg/天。在一个特定实施方案中,所述化合物可以以约 25mg/天的量施用至患有 NHL(例如 DLBCL)的患者。在一个特定实施方案中,所述化合物可以以约 10mg/天的量施用至患有 NHL(例如 DLBCL)的患者。

[0212] 5.5 与第二活性剂的组合疗法

[0213] 本发明的特定方法包括施用 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮或其可药用盐或溶剂化物(例如水合物),与一种或多种第二活性剂组合,和/或与放射疗法、输血或外科手术组合。本文公开第二活性剂的实例。

[0214] 可以通过或顺序由相同或不同的施用途向患者施用 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮和第二活性剂。施用于特定活性剂的特定施用途的适合性将取决于活性剂本身(例如,其是否可以口服施用而不会在进入血流之前分解)和要治疗的癌症。3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮的一种优选的施用途是口服。本发明的第二活性剂或成分的优选的施用途是本领域普通技术人员已知的。参见,例如 Physicians' Desk Reference, 1755-1760(第 56 版, 2002)。

[0215] 在本发明的一个实施方案中,第二活性剂是以约 1 至约 1000mg、约 5 至约 500mg、约 10 至约 350mg 或约 50 至约 200mg 的量经口服、静脉内或皮下且每日一次或两次施用的。第二活性剂的特定量将取决于使用的特定试剂、待治疗或控制癌症的类型、癌症的严重程度和阶段及 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮和向患者同时施用的任何任选的活性剂的量。

[0216] 在一个实施方案中,在移植自体性周围血液祖细胞之前、期间或之后,将 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮施用至患有 NHL(例如 DLBCL)的患者。

[0217] 在另一个实施方案中,在移植干细胞之后,将 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异

吡啶-2-基)-哌啶-2,6-二酮施用至患有 NHL (例如 DLBCL) 的患者。

[0218] 5.6 循环疗法

[0219] 在某些实施方案中,本发明的治疗剂循环地施用至患有 NHL (例如 DLBCL) 的患者。循环疗法包括施用一段时间的活性剂、然后停用一段时间,并重复该连续的施用。循环疗法可减少发展对一种或多种疗法的抗性,避免或减轻其中一种疗法的副作用,和/或改善治疗的功效。

[0220] 因此,在本发明的一个特定实施方案中,在具有约一周或两周的停用期的四至六周周期中,每日以单剂量或分剂量施用 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吡啶-2-基)-哌啶-2,6-二酮。本发明进一步允许增加施用循环的频率、次数和时长。因此,本发明的另一个特定实施方案涵盖比单独施用时的典型周期的更长周期施用 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吡啶-2-基)-哌啶-2,6-二酮。在本发明的仍然另一个特定实施方案中,施用 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吡啶-2-基)-哌啶-2,6-二酮更长的循环数,其将在还没有施用第二活性成分的患者中引起剂量限制性毒性。

[0221] 在一个实施方案中,本发明的 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吡啶-2-基)-哌啶-2,6-二酮是以约 5 至约 50mg/d 的剂量每天且连续三周或四周施用至患有 NHL (例如 DLBCL) 的患者,接着中断一周或两周。在一个实施方案中,3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吡啶-2-基)-哌啶-2,6-二酮以约 5、10、15、20、25、30、50mg/d 的量施用至患有 NHL (例如 DLBCL) 的患者。3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吡啶-2-基)-哌啶-2,6-二酮优选地以 5mg/d 的初剂量至 50mg/d 的最大剂量施用至患有 NHL (例如 DLBCL) 的患者,只要该疗法耐受。在一个特别的实施方案中,在四周至六周的循环中,该化合物以约 10 或 25mg/天的量,优选地以约 25mg/天的量施用至患有 NHL (例如 DLBCL) 的患者三至四周,接着停用一周或两周。

[0222] 在本发明的一个实施方案中,在四至六周的循环期间,将 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吡啶-2-基)-哌啶-2,6-二酮和第二活性成分施用至患有 NHL (例如 DLBCL) 的患者。在本发明的另一个实施方案中,将 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吡啶-2-基)-哌啶-2,6-二酮口服施用至患有 NHL (例如 DLBCL) 的患者,并通过静脉内输注施用第二活性成分,每个循环约 90 分钟。

[0223] 在一个特定实施方案中,一个循环包括每日施用患有 NHL (例如 DLBCL) 的患者约 25mg/天的 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吡啶-2-基)-哌啶-2,6-二酮和约 50 至约 200mg/m²/天的第二活性成分,共施用 3 至 4 周,接着停用一周或两周。在另一个特定实施方案中,每个循环包括向患有 NHL (例如 DLBCL) 的患者施用约 5 至约 50mg/天的 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吡啶-2-基)-哌啶-2,6-二酮和约 50 至约 200mg/m²/天的第二活性成分,共施用三至周周,接着停用一周或两周。通常,向患者施用组合治疗期间的循环次数为约 1 至约 24 个循环,更通常为约 2 至约 16 个循环,甚至更通常为约四至约八个循环。

[0224] 在一个实施方案中,在 28 天的循环中,将 3-(4-氨基-氧基-1,3-二氢异吡啶-2-基)-哌啶-2,6-二酮以约 10mg、15mg、20mg、25mg 或 30mg/天的量施用至患有各种类型淋巴瘤 (例如 NHL 或 DLBCL) 的患者,共施用 21 天,接着停用 7 天,该患者的疾病 (肿瘤) 负荷值小于 50cm²,绝对淋巴细胞计数大于 $0.6 \times 10^9/L$,或者自最后利妥昔单抗治疗以来

不小于 230 天。

[0225] 在一个实施方案中,在 28 天的循环中,将 3-(4-氨基-氧基-1,3-二氢异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮以约 25mg/天的量施用患有难控制的或复发性侵袭性 NHL(例如 DLBCL)且具有有利预后因子值的患者 21 天,接着停用 7 天。

[0226] 5.7 药物组合物

[0227] 药物组合物可用于制备独立的单一单位剂型。本文提供的药物组合物和剂型包括化合物、或其可药用盐、溶剂化物、水合物、立体异构体、包合物或前药。本文提供的药物组合物和剂型可以进一步包括一种或多种赋形剂。

[0228] 本文提供的药物组合物和剂型也可以包括一种或多种另外的活性成分。因此,本文提供的药物组合物和剂型包括本文公开的活性成分(例如 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮和第二活性剂)。任选的第二或另外的活性成分的实例为本文公开的。

[0229] 本发明的单一单位剂型适于口服、粘膜(例如鼻腔、舌下、阴道口腔或直肠)、非肠道(例如皮下、静脉内、推注、肌内或动脉内)、局部(例如滴眼剂或其它眼科制剂)、透皮或经皮施用至患者。剂型的实例包括,但不限于:片剂;囊片剂;胶囊,比如弹性软明胶胶囊;扁囊剂;糖锭剂;锭剂;分散剂;栓剂;粉剂;气雾剂(例如鼻腔喷雾剂或吸入剂);凝胶剂;适于口服或粘膜施用至患者的液体剂型,包括混悬剂(例如水性或非水液体混悬剂、水包油型乳剂或油包水液体乳剂)、溶液剂和酏剂;适于非肠道施用至患者的液体剂型;适于局部施用的滴眼剂或其它眼科制剂;和可以重构以提供适于非肠道施用至患者的液体剂型的无菌固体(例如晶体或非晶形固体)。

[0230] 本文提供的组合物、形状和类型通常将根据其用途而变化,例如,用于疾病急性治疗的剂型可以包含用量大于用于相同疾病的慢性治疗的剂型的一种或多种其所包含的活性成分。类似地,非肠道剂型可以包含用量小于常用于治疗相同疾病的口服剂型的一种或多种其所包含的活性成分。与本发明所提供的特定剂型中彼此不同的这些和其它方式将对本领域那些技术人员而言是容易显而易见的。参见,例如 Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing, Easton PA(1990)。

[0231] 典型的药物组合物和剂型包括一种或多种赋形剂。合适的赋形剂是药学领域技术人员已知的,本文提供了合适赋形剂的非限制性实例。特定的赋形剂是否适于掺入药物组合物或剂型中取决于本领域众所周知的多种因素,包括,但不限于将该剂型施用至患者的方式。例如,口服剂型比如片剂可以包含不适用于肠胃外剂量形式中的赋形剂。具体赋形剂的适合性也可以取决于剂型中的具体活性成分。例如,可以通过某些赋形剂比如乳糖,或者当暴露于水时,促进某些活性成分的分解。包括伯胺或仲胺的活性成分特别易于发生这样的加速分解。因此,本文提供包含少量(如果有的话)乳糖或其它单糖或二糖的药物组合物和剂型。如本文使用的术语“无乳糖”指乳糖的存在量(如果有的话)实质上不足以增加活性成分的降解速率。

[0232] 本文提供的无乳糖组合物可以包括本领域众所周知的且列在例如美国药典(U. S. Pharmacopeia(USP)) 25-NF20(2002)中的赋形剂。一般而言,无乳糖组合物包括可药用相容且可药用量的活性成分、粘合剂/填料、和润滑剂。在一个实施方案中,无乳糖剂型包括活性成分、微晶纤维素、预胶化淀粉和硬脂酸镁。

[0233] 因为水可能会促进某些化合物降解, 本文还提供包含活性成分的无水药物组合物和剂型。例如, 加入水 (例如 5%) 是药物领域中广泛接受的作为一种模拟长期储存的方式, 以确定制剂随时间的特征比如贮存期限或稳定性。参见, 例如 Jens T. Carstensen, *Drug Stability: Principles & Practice*, 2d. Ed., Marcel Dekker, NY, NY, 1995, 第 379-80 页。实际上, 水和热加速某些化合物分解。因此, 水对剂型的作用可能非常显著, 因为在剂型的制备、加工、包装、贮存、装运和使用期间, 通常会遇到水气和 / 或湿气。

[0234] 可以使用无水或水分含量低的成分并在低水分或低湿度条件下制备本发明的无水药物组合物和剂型。如果预期在制备、包装和 / 或贮存期间实质性地接触水气和 / 或湿气, 则包括乳糖和包含伯胺或仲胺的至少一种活性成分的药物组合物和剂型优选是无水的。

[0235] 无水药物组合物应当以保持其无水性质的方式制备和贮存。因此, 优选地使用已知防止暴露于水的材料包装无水组合物, 使得其可以包括在合适的配方试剂盒中。合适的包装的实例包括, 但不限于密封箔、塑料、单位剂量容器 (例如小药瓶)、泡罩包装和窄条包装。

[0236] 本发明还提供包含一种或多种可降低活性成分分解速率的化合物的药物组合物和剂型。这样的化合物在本文中称为“稳定剂”, 其包括, 但不限于抗氧剂比如抗坏血酸、pH 缓冲剂或盐缓冲剂。

[0237] 如同赋形剂的用量和种类, 剂型中活性成分的用量和种类可根据多种因素而改变, 所述因素比如, 但不限于向患者施用的途径。然而, 本发明的典型剂型包括约 0.10 至约 150mg 的量的化合物或其可药用盐、溶剂化物、水合物、立体异构体、包合物或前药。典型的剂型包括约 5、7.5、10、12.5、15、17.5、20、25 或 50mg 的量的化合物或其可药用盐、溶剂化物、水合物、立体异构体、包合物或前药。在一个特定实施方案中, 优选的剂型包括约 5、10、20、25 或 50mg 的量的 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮。在一个特定实施方案中, 优选的剂型包括约 5、10 或 25mg 的量的 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮。典型的剂型包含含量为约 1 至约 1000mg、约 5 至约 500mg、约 10 至约 350mg 或约 50 至约 200mg 的第二活性成分。当然, 抗癌药物的特定量将取决于使用的特定试剂、待治疗或控制的癌症类型和 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮及同时施用至患者的任何任选的其它活性剂的量。

[0238] 5.8 口服剂型

[0239] 适于口服施用的本发明的药物组合物可以制成独立剂型, 比如, 但不限于片剂 (例如咀嚼片)、囊片剂、胶囊和液体剂 (例如调味糖浆剂)。这样的剂型包含预定量的活性成分, 且可以用本领域那些技术人员熟知的制药方法来制备。通常参见 Remington's *Pharmaceutical Sciences*, 18th ed., Mack Publishing, Easton PA (1990)。

[0240] 典型的口服剂型是根据常规药物混配技术, 通过将活性成分与至少一种赋形剂密切混合来制备的。赋形剂可以采取多种形式, 取决于施用所期望的制剂形式。例如, 适用于口服液体或气雾剂剂型的赋形剂包括, 但不限于水、二醇、油、醇、调味剂、防腐剂和着色剂。适用于固体口服剂型 (例如散剂、片剂、胶囊和囊片剂) 的赋形剂的实例包括, 但不限于淀粉、糖、微晶纤维素、稀释剂、制粒剂、润滑剂、粘合剂和崩解剂。

[0241] 由于其易于施用, 片剂和胶囊代表最有利的口服剂量单位剂型, 在此情况下, 使用

固体赋形剂。如果需要,片剂可以采用标准的水性或非水性技术包衣。这样的剂型可以通过任何药学方法制备。一般而言,药物组合物和剂型是将活性成分与液体载体、细碎的固体载体或两者均匀且紧密混合,然后如有必要使产物形成期望的形式来制备。

[0242] 例如,可以通过压制或模制来制备片剂。压制片可以通过如下方法制备:在合适的机器中压制自由流动形式(比如粉末或颗粒)的活性成分,将其任选地与赋形剂混合。模压片可以通过在合适的机器中模制用惰性液体稀释剂润湿的粉末化合物的混合物来制得。

[0243] 可以用于本文提供的口服剂型的赋形剂的实例包括,但不限于粘合剂、填充剂、崩解剂和润滑剂。适用于药物组合物和剂型的粘合剂包括,但不限于玉米淀粉、马铃薯淀粉或其它淀粉、明胶、天然胶和合成胶比如阿拉伯胶、海藻酸钠、海藻酸、其它藻酸盐、粉末西黄蓍胶、瓜尔胶、纤维素及其衍生物(例如乙基纤维素、醋酸纤维素、羧甲基纤维素钙、羧甲基纤维素钠)、聚乙烯吡咯烷酮、甲基纤维素、预胶化淀粉、羟丙基甲基纤维素(例如 Nos. 2208、2906、2910)、微晶纤维素及其混合物。

[0244] 合适形式的微晶纤维素包括,但不限于作为 AVICEL-PH-101、AVICEL-PH-103、AVICEL-RC-581、AVICEL-PH-105 销售的物质(从 FMCCorporation, American Viscose Division, Avicel Sales, Marcus Hook, PA 可获得),及其混合物。一种特定的粘合剂是作为 AVICEL RC-581 销售的微晶纤维素和羧甲基纤维素钠的混合物。合适的无水或低水分赋形剂或添加剂包括 AVICEL-PH-103™ 和 Starch 1500LM。

[0245] 适用于本发明公开的药物组合物和剂型的填充剂的实例包括,但不限于滑石、碳酸钙(例如颗粒或粉末)、微晶纤维素、粉末纤维素、葡聚糖结合剂、高岭土、甘露醇、硅酸、山梨醇、淀粉、预胶化淀粉及其混合物。本发明的药物组合物中的粘合剂或填充剂通常以药物组合物或剂型的约 50 至约 99 重量%存在。

[0246] 崩解剂用于组合物以提供当暴露于水相环境中时崩解的片剂。包含太多崩解剂的片剂可能在贮存时崩解,而包含太少崩解剂的片剂可能不能以期望的速率或在所期望条件下崩解。因此,应当使用足够量的崩解剂形成固体口服剂型,该量不能太多,也不能太少,以便有害地改变活性成分的释放。使用的崩解剂的量基于制剂类型而变化,并且由本领域普通技术人员容易地辨别。典型的药物组合物包括约 0.5 至约 15 重量%的崩解剂,优选约 1 至约 5 重量%的崩解剂。

[0247] 可以用于药物组合物和剂型的崩解剂包括,但不限于琼脂、海藻酸、碳酸钙、微晶纤维素、交联羧甲基纤维素钠、交联维酮、聚克立林钾、淀粉羟乙酸钠、马铃薯淀粉或木薯淀粉、其它淀粉、预胶化淀粉、其它淀粉、粘土、其它海藻素、其它纤维素、树胶及其混合物。

[0248] 可用于药物组合物和剂型的润滑剂包括,但不限于硬脂酸钙、硬脂酸镁、矿物油、轻质矿物油、甘油、山梨醇、甘露醇、聚乙二醇、其它二醇、硬脂酸、十二烷基硫酸钠、滑石、氢化植物油(例如花生油、棉籽油、葵花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油)、硬脂酸锌、油酸乙酯、月桂酸乙酯、琼脂及其混合物。另外的润滑剂包括,例如 syloid 硅胶(AEROSIL200, 由 W. R. Grace Co. of Baltimore, MD 制备)、合成二氧化硅的凝聚型气雾剂(由 Degussa Co. of Plano, TX 销售)、CAB-O-SIL(由 Cabot Co. of Boston, MA 销售的热解二氧化硅产品),及其混合物。如果确实使用,润滑剂的用量通常为其加入其中的药物组合物或剂型的小于约 1 重量%。

[0249] 在一个实施方案中,本发明的固体口服剂型包括 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二

氢-异吡啶-2-基)-哌啶-2,6-二酮、无水乳糖、微晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、硬脂酸、胶态无水二氧化硅和明胶。

[0250] 5.9 延迟释放剂型

[0251] 活性成分可以通过本领域普通技术人员熟知的控释方式或递送装置来施用。实例包括,但不限于在如下美国专利号中描述的那些:3,845,770;3,916,899;3,536,809;3,598,123;和4,008,719,5,674,533,5,059,595,5,591,767,5,120,548,5,073,543,5,639,476,5,354,556,和5,733,566,将每篇都引入本文作为参考。这样的剂型可用于提供缓慢或控制释放活性成分,其使用例如羟丙基甲基纤维素、其它聚合基质、凝胶、渗透膜、渗透系统、多层包衣、微粒、脂质体、微球或其组合来提供不同比例的期望释放特征。可以容易地选择本领域普通技术人员已知的合适的控制释放制剂,包括本文描述的那些,供本文提供的活性成分使用。因此,本文提供适于口服施用的单一单位剂型,比如但不限于适合于控制释放的片剂、胶囊、胶囊锭(gelcaps)和囊片剂。

[0252] 所有的控制释放药物产品都具有一个共同目标,即改善药物疗法以超过它们的非控制对应物所获得的。理论上,在医学治疗中使用最佳设计的控制释放制剂的特征在于采用最少量药物物质在最短时间内治愈或控制病症。控制释放制剂的优点包括延长药物活性、减少施用频率、和提高患者顺应性。另外,可以使用控制释放制剂来影响起始作用时间或其它特征,比如药物的血液水平,且因此可以影响副作用(例如不良作用)的出现。

[0253] 大多数控制释放制剂设计成以初始释放立即产生期望治疗效果的一定量的药物(活性成分),且逐渐并连续释放其它量的药物以经延长的时间保持该治疗或预防作用的水平。为了在体内保持该恒定药物水平,药物必须以将替代被代谢且从体内排泄的药物量的速率从剂型释放。活性成分的控制释放可受多种条件刺激,包括,但不限于pH、温度、酶、水或其它生理条件或化合物。

[0254] 5.10 非肠道剂型

[0255] 非肠道剂型可以通过多种途径施用至患者,包括,但不限于皮下、静脉内(包括推注)、肌内和动脉内。因为非肠道施用通常绕开患者对污染物的天然防御,非肠道剂型优选地为无菌的或能够在施用至患者之前进行灭菌。非肠道剂型的实例包括,但不限于准备注射用溶液、准备溶解或悬浮于注射用可药用载体中的干燥产品、准备注射用悬浮液、和乳剂。

[0256] 可用于提供非肠道剂型的合适的载体是本领域技术人员熟知的。实例包括,但不限于:注射用水USP;含水载体,比如但不限于氯化钠注射液、林格氏注射液,葡萄糖注射液、右旋糖和氯化钠注射液、和乳酸林格氏注射液;水可混溶性载体,比如但不限于乙醇、聚乙二醇和聚丙二醇;以及非水载体,比如但不限于玉米油、棉籽油、花生油、芝麻油、油酸乙酯、肉豆蔻酸异丙酯和苯甲酸苄酯。

[0257] 增强本文公开的一种或多种活性成分的溶解度的化合物也可以并入本文提供的非肠道剂型中。例如,环糊精及其衍生物可用于增强化合物及其衍生物的溶解性。参见,例如美国专利号5,134,127,将其引入本文作为参考。

[0258] 5.11 局部和粘膜剂型

[0259] 本文提供的局部和粘膜剂型包括,但不限于喷雾剂、气雾剂、溶液、乳剂、悬浮液、滴眼剂或其它眼科制剂,或本领域技术人员已知的其它形式。参见,例如

Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th and 18th eds., Mack Publishing, Easton PA (1980 & 1990); 和 Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 4th ed., Lea & Febiger, Philadelphia (1985)。可将适于治疗口腔内粘膜组织的剂型配制成嗽口水或口服凝胶剂。

[0260] 可用于提供局部和粘膜剂型的合适的赋形剂(例如载体和稀释剂)及其它物质是药物领域的那些技术人员熟知的,并且取决于施用该给定药物组合物或剂型的具体组织。就此而言,典型的赋形剂包括,但不限于水、丙酮、乙醇、乙二醇、丙二醇、丁烷-1,3-二醇、肉豆蔻酸异丙酯、棕榈酸异丙酯、矿物油、及其混合物,以形成无毒且可药用的溶液、乳剂或凝胶剂。如果期望,也可以向药物组合物和剂型中加入增湿剂或保湿剂。这样的另外成分的实例是本领域熟知的。参见,例如 Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th 和 18th eds., Mack Publishing, Easton PA (1980 & 1990)。

[0261] 也可以调节药物组合物或剂型的 pH 以改善一种或多种活性成分的递送。类似地,可以调节溶剂载体的极性、其离子强度或张力以改善递送。也可以将化合物比如硬脂酸酯加入到药物组合物或剂型中,以有利地改变一种或多种活性成分的亲水性或亲油性,从而改善递送。在这点上,硬脂酸酯可以充当制剂的脂质载体、充当乳化剂或表面活性剂、以及充当递送增强剂或渗透增强剂。还可以使用活性成分的不同盐、水合物或溶剂化物来进一步调节得到的组合物的性质。

[0262] 5.12 试剂盒

[0263] 在本文提供的某些实施方案中,活性成分优选地不会同时或由相同的施用途施用于患者。因此,本文提供试剂盒,当医师使用时,可以简化向患者施用合适量的活性成分。

[0264] 在一个实施方案中,本文提供的试剂盒包括 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮的剂型、或其可药用盐、溶剂化物或水合物。试剂盒可以进一步包括另外的活性剂,包括但不限于本文公开的那些。

[0265] 本文提供的试剂盒可以进一步包括用于施用所述活性成分的装置。这样的装置的实例包括,但不限于注射器、滴袋、贴片和吸入器。

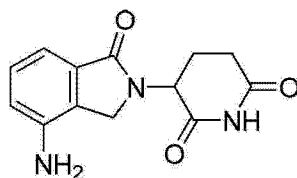
[0266] 试剂盒可以进一步包括用于移植的细胞或血液,以及可用于施用一种或多种活性成分的可药用载体。例如,如果活性成分以必须重构以供非肠道施用的固体形式提供,则试剂盒可以包括合适的载体的密封容器,活性成分可以在其中溶解以形成适于非肠道施用的无颗粒无菌溶液。可药用载体的实例包括,但不限于:注射用水 USP;含水载体,比如但不限于氯化钠注射液、林格氏注射液,葡萄糖注射液、右旋糖和氯化钠注射液、和乳酸林格氏注射液;水可混溶性载体,比如但不限于乙醇、聚乙二醇和聚丙二醇;以及非水载体,比如但不限于玉米油、棉籽油、花生油、芝麻油、油酸乙酯、肉豆蔻酸异丙酯和苯甲酸苄酯。

[0267] 6. 实施例

[0268] 通过下述非限制性实例来阐述本发明的某些实施方案。

[0269] 6.1 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮的制备

[0270]



[0271] 6.1.1 2-溴乙基-3-硝基苯甲酸甲酯

[0272] 在位于 2cm 外的 100W 灯泡照射烧瓶的同时,在温和的回流下,将 2-甲基-3-硝基苯甲酸甲酯 (14.0g, 71.7mmol) 和 N-溴代琥珀酰亚胺 (15.3g, 86.1mmol) 在四氯化碳 (200mL) 中的搅拌混合物加热 15 小时。将该混合物过滤,并用二氯甲烷 (50mL) 洗涤固体。将滤液用水 (2×100mL)、盐水 (100mL) 洗涤,并干燥。在真空下除去溶剂,并通过快速色谱 (己烷/乙酸乙酯, 8/2) 纯化残余物,得到 19g (96%) 呈黄色固体的产物: mp 70.0–71.5 °C; ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.12–8.09 (dd, J=1.3 和 7.8Hz, 1H), 7.97–7.94 (dd, J=1.3 and 8.2Hz, 1H), 7.54 (t, J=8.0Hz, 1H), 5.15 (s, 2H), 4.00 (s, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 165.85, 150.58, 134.68, 132.38, 129.08, 127.80, 53.06, 22.69; HPLC, WaterNove-Pak/C18, 3.9x150mm, 4 微米, 1mL/min, 240nm, 40/60CH₃CN/0.1%H₃PO₄ (aq) 7.27min (98.92%); C₉H₈NO₄Br 的理论值: C, 39.44; H, 2.94; N, 5.11; Br, 29.15。实测值: C, 39.46; H, 3.00; N, 5.00; Br, 29.11。

[0273] 6.1.2 叔丁基 N-(1-氧基-4-硝基异二氢吡啶-2-基)-L-谷氨酰胺

[0274] 将三乙胺 (2.9g, 28.6mmol) 滴加到 2-溴乙基-3-硝基苯甲酸甲酯 (3.5g, 13.0mmol) 和 L-谷氨酰胺叔丁基酯盐酸盐 (3.1g, 13.0mmol) 在四氢呋喃 (90mL) 中的搅拌混合物中。将该混合物加热回流 24 小时。向冷却的混合物中加入二氯甲烷 (150mL), 并用水 (2×40mL)、盐水 (40mL) 洗涤该混合物, 并干燥。在真空下除去溶剂, 并通过快速色谱 (在二氯甲烷中的 3%CH₃OH) 纯化残余物, 得到 2.84g (60%) 的粗产物, 其直接用于下一步反应中: ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.40 (d, J=8.1Hz, 1H), 8.15 (d, J=7.5Hz, 1H), 7.71 (t, J=7.8Hz, 1H), 5.83 (s, 1H), 5.61 (s, 1H), 5.12 (d, J=19.4Hz, 1H), 5.04–4.98 (m, 1H), 4.92 (d, J=19.4Hz, 1H), 2.49–2.22 (m, 4H), 1.46 (s, 9H); HPLC, Waters Nova-Pak C18, 3.9x150mm, 4 微米, 1mL/min, 240nm, 25/75 CH₃CN/0.1%H₃PO₄ (aq) 6.75min (99.94%)。

[0275] 6.1.3 N-(1-氧基-4-硝基异二氢吡啶-2-基)-L-谷氨酰胺

[0276] 将氯化氢气体通入叔丁基 N-叔丁基 N-(1-氧基-4-硝基-异二氢吡啶-2-基)-L-谷氨酰胺 (3.6g, 9.9mmol) 在二氯甲烷 (60mL) 中的 5°C 搅拌溶液中 1 小时。然后, 在室温下, 将该混合物再搅拌一小时。加入乙醚 (40mL), 并且将得到的混合物搅拌 30 分钟。将浆液过滤, 用乙醚洗涤, 干燥, 得到 3.3g 的产物: ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8.45 (d, J=8.1Hz, 1H), 8.15 (d, J=7.5Hz, 1H), 7.83 (t, J=7.9Hz, 1H), 7.24 (s, 1H), 6.76 (s, 1H), 4.93 (s, 2H), 4.84–4.78 (dd, J=4.8 and 10.4Hz, 1H), 2.34–2.10 (m, 4H); ¹³C NMR (DMSO-d₆) δ 173.03, 171.88, 165.96, 143.35, 137.49, 134.77, 130.10, 129.61, 126.95, 53.65, 48.13, 31.50, 24.69; C₁₃H₁₃N₃O₆ 的理论值: C, 50.82; H, 4.26; N, 13.68。实测值: C, 50.53; H, 4.37; N, 13.22。

[0277] 6.1.4 (S)-3-(1-氧基-4-硝基异二氢吡啶-2-基)哌啶-2,6-二酮

[0278] 用异丙醇/干冰浴, 将 N-(1-氧基-4-硝基异二氢吡啶-2-基)-L-谷氨酰胺 (3.2g, 10.5mmol) 在无水二氯甲烷 (150mL) 中的搅拌悬浮混合物冷却至 -40°C。将亚硫酸酐 (0.82mL, 11.3mmol) 滴加至该冷却的混合物中, 接着加入吡啶 (0.9g, 11.3mmol)。在

30 分钟之后,加入三乙胺 (1.2g, 11.5mmol, 并在 -30 至 -40℃下搅拌该混合物 3 小时。将该混合物倾倒入冰水 (200mL) 中,并用二氯甲烷 (40mL) 萃取水层。用水 (2×60mL)、盐水 (60mL) 洗涤二氯甲烷溶液,并干燥。在真空下除去溶剂,并用乙酸乙酯 (20mL) 浆液化该固体残余物,得到 2.2g (75%) 呈白色固体的产物:mp 285° C; ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 1.04 (s, 1H), 8.49–8.45 (dd, J=0.8 and 8.2Hz, 1H), 8.21–8.17 (dd, J=7.3Hz, 1H), 7.84 (t, J=7.6Hz, 1H), 5.23–5.15 (dd, J=4.9 and 13.0Hz, 1H), 4.96 (dd, J=19.3 and 32.4Hz, 2H), 3.00–2.85 (m, 1H), 2.64–2.49 (m, 2H), 2.08–1.98 (m, 1H); ¹³C NMR (DMSO-d₆) δ 172.79, 170.69, 165.93, 143.33, 137.40, 134.68, 130.15, 129.60, 127.02, 51.82, 48.43, 31.16, 22.23; HPLC, Waters Nove-Pak/C18, 3.9x150mm, 4 微米, 1mL/min, 240nm, 20/80 CH₃CN/0.1% H₃PO₄ (aq) 3.67min (100%); C₁₃H₁₁N₃O₅ 的理论值: C, 53.98; H, 3.83; N, 14.53。实测值: C, 53.92; H, 3.70; N, 14.10。

[0279] 6.1.5 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮

[0280] 在 Parr-Shaker 装置中,在 50psi 氢下,将 (S)-3-(1-氧基-4-硝基异二氢吲哚-2-基)哌啶-2,6-二酮 (1.0g, 3.5mmol) 和 10%Pd/C (0.3g) 在甲醇 (600mL) 中的混合物氢化 5 小时。经 Celite 过滤该混合物,并真空浓缩滤液。将固体在热乙酸乙酯中浆液化 30 分钟,过滤并干燥,得到 0.46g (51%) 呈白色固体的产物:mp 235.5–239° C; ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 11.01 (s, 1H), 7.19 (t, J=7.6Hz, 1H), 6.90 (d, J=7.3Hz, 1H), 6.78 (d, J=7.8Hz, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.12 (dd, J=5.1 and 13.1Hz, 1H), 4.17 (dd, J=17.0 and 28.8Hz, 2H), 2.92–2.85 (m, 1H), 2.64–2.49 (m, 1H), 2.34–2.27 (m, 1H), 2.06–1.99 (m, 1H); ¹³C NMR (DMSO-d₆) δ 172.85, 171.19, 168.84, 143.58, 132.22, 128.79, 125.56, 116.37, 110.39, 51.48, 45.49, 31.20, 22.74; HPLC, Waters Nova-Pak/C18, 3.9x150mm, 4 微米, 1mL/min, 240nm, 10/90 CH₃CN/0.1% H₃PO₄ (aq) 0.96min (100%); 手性分析, Daicel Chiral Pak AD, 40/60 己烷/IPA, 6.60min (99.42%); C₁₃H₁₃N₃O₃ 的理论值: C, 60.23; H, 5.05; N, 16.21。实测值: C, 59.96; H, 4.98; N, 15.84。

[0281] 3-(4-氨基-1-氧基-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-哌啶-2,6-二酮也可以通过本领域已知的方法制备,例如在 Drugs of the Future, 2003, 28 (5): 425–431 中提供的方法,将其全部引入作为参考。

[0282] 6.2 来那度胺对体外 DLBCL 细胞增殖的影响

[0283] 测定各种细胞遗传学特征的 DLBCL 细胞系的组对来那度胺抗增殖活性的敏感性。参见图 1。在 37℃下,用来那度胺处理细胞 5 天;使用 ³H-胸苷结合法测定细胞增殖。显示 3 个独立实验的结果 (平均值 ± SD)。始于 0.1–1 μM 的来那度胺显著地 (p<0.05) 抑制一些 DLBCL 细胞系的增殖,特别是 ABC- 亚型细胞,比如 Riva、U2932、TMD8 和 OCI-Ly10 细胞。ABC- 亚型细胞似乎比其它亚型细胞 (包括 GCB-DLBCL 和 PMBL 细胞) 对抗增殖作用更敏感。

[0284] 6.3 DLBCL 细胞中基准致癌基因表达水平的实时定量逆转录酶-聚合酶链反应分析

[0285] 对 DLBCL 细胞系的组进行基因表达分析。参见图 2A–2D。用自动化 QiaCube™ 系统 (Qiagen Inc., Valencia, CA) 中的 RNeasy® Mini 试剂盒,从对数生长期生长的 DLBCL 细胞纯化总 RNA。根据标准方法,利用逆转录作用试剂盒和对感兴趣的基因特异性的 Taqman® PCR 探针 (Applied Biosystems Incorporate, Foster City, CA) 进行采用 25–100ng 的总 RNA 的实时定量逆转录酶-聚合酶链反应 (RT-PCR)。使用标准曲线计算产物量,并归一化

为甘油醛-3-磷酸脱氢酶。将两个独立实验的结果显示在图 2 中（平均值 $\pm$ SD）。

[0286] 结果证实，来那度胺-敏感性 Riva、U2932 和 OCI-Ly3 细胞显示一些典型的 ABC- 亚型 DLBCL 特征，比如 SPIB (ABC 亚型细胞存活所需要的造血-特异性 Ets 家族转录因子) 的过表达、组成型 IRF4/MUM1 的表达高于 GCB 亚型细胞、三体性 3 上调的组成型 FOXP1 的表达较高和组成型 Blimp1 (也称为 PRDM1) 的表达较高。这些结果表明来那度胺在 ABC- 亚型的 DLBCL 患者中可以具有较大的功效潜能。因此，对 ABC-DLBCL 细胞的这些标记物的基因表达分析可以能够预测 DLBCL 对来那度胺的敏感性。

[0287] 6.4 在 DLBCL 中来那度胺治疗之前和期间的 NF- κ B 活性

[0288] 在 DLBCL 细胞系的组中，利用活性基序转录因子测定，使用来自对数生长期生长的细胞的核提取物检查 NF κ B 活性。显示三个独立实验的结果（平均值 $\pm$ SD）。参见图 3。结果表明，来那度胺-敏感性 ABC-DLBCL 细胞 (Riva、U2932 和 OCI-Ly10) 显示的活性比非-ABC 类型的 DLBCL 细胞（比如 DB、OCI-Ly19、SUDHL4 和 WSU-DLCL2）高得多。

[0289] 通过皮尔森 2-尾相关分析法 (Pearson 2-tailed correlation analysis method) 确定 $1 \mu\text{M}$ (临床可达浓度) 来那度胺对 DLBCL 细胞的抗增殖作用和基准 NF κ B p50 活性之间的相关性。在这些 DLBCL 细胞系中来那度胺的抗增殖活性和 NF κ B (特别是 p50 亚基) 的基准活性水平之间观察到显著 ($p < 0.001$) 相关性。参见图 4。

[0290] 6.5 来那度胺对 DLBCL 细胞中 NF κ B 活性的抑制作用

[0291] 用来那度胺或 IKK1/2 双重抑制剂 (用作阳性抑制剂对照) 处理 DLBCL 细胞 2 天。采用活性基序转录因子测定，使用来自处理后细胞的核提取物检查 NF κ B 活性。将 3-4 个独立实验的结果显示在图 5 (平均值 $\pm$ SD) 中。 $1 \mu\text{M}$ (临床可达浓度) 的来那度胺显著地抑制 NF κ B p65 ($p < 0.001$) 和 p50 ($p < 0.05$) 的活性。据发现，来那度胺抑制 ABC 亚型的某些 DLBCL 系 (比如 U2932 细胞) 中的 NF κ B 活性。

[0292] 上述结果表明，对 NF κ B 信号转导的作用可能涉及来那度胺抗 ABC-DLBCL 细胞的抗增殖活性，并且基准 NF κ B 活性可以为淋巴瘤肿瘤对来那度胺治疗的反应的预测性生物标记。

[0293] 表 1 列出的数据证实来那度胺显著地抑制某些 ABC 细胞系 (例如 U2392、RIVA、TMD8 和 OCI-Ly10) 的 NF κ B 活性及增殖，而不显著地抑制 OCI-Ly3 或 PBML (KARPS-1160p) 的 NF κ B 活性及增殖。

[0294] 表 1

[0295]

治疗	P65 抑制(%)	P 值	P50 抑制(%)	P 值
U2392	平均值±SD		平均值 ±SD	
DMSO	0.3 ± 3.7		0.2 ± 1.4	
1 μM 来那度胺	40.0 ± 3.7	< 0.001	32.5 ± 14.3	< 0.05
10 μM 来那度胺	47.9 ± 6.2	< 0.001	34.4 ± 9.0	< 0.05
RIVA	平均值±SD		平均值 ±SD	
DMSO	3.7 ± 26.1		0.5 ± 1.7	
1 μM 来那度胺	19.3 ± 15.6	> 0.05	11.1 ± 11.7	> 0.05
10 μM 来那度胺	41.7 ± 26.8	< 0.001	28.6 ± 21.0	< 0.001
TMD8	平均值±SD		平均值±SD	
DMSO	0.7 ± 3.9		0.2 ± 3.3	
1 μM 来那度胺	14.1 ± 9.0	> 0.05	14.4 ± 16.4	> 0.05
10 μM 来那度胺	49.7 ± 32.8	< 0.05	48.5 ± 40.2	< 0.01
OCI-Ly10	平均值±SD		平均值±SD	
DMSO	-0.4 ± 2.8		0.7 ± 2.0	
1 μM 来那度胺	27.6 ± 20.7	< 0.001	22.7 ± 18.8	< 0.05
10 μM 来那度胺	22.0 ± 12.2	< 0.01	22.6 ± 14.1	< 0.05
OCI-Ly3	平均值±SD		平均值±SD	
DMSO	0.3 ± 3.2		-0.9 ± 2.8	
1 μM 来那度胺	-17.4 ± 13.4	> 0.05	-10.3 ± 19.7	> 0.05
10 μM 来那度胺	-15.8 ± 15.0	> 0.05	-9.5 ± 19.1	> 0.05
KARPS-1160p	平均值±SD		平均值±SD	
DMSO	5.7 ± 0.14		18.9 ± 0.71	
1 μM 来那度胺	5.9 ± 0.49	> 0.05	14.5 ± 0.95	> 0.05
10 μM 来那度胺	5.4 ± 0.35	> 0.05	16.4 ± 0.28	> 0.05

[0296] 表 2 显示 DLBCL 细胞亚型中来那度胺功效的可能预测因子。

[0297] 表 2

[0298]

来那度胺	与 1 mM 来那度胺的抗增殖活性的相关性	统计学	
Oncomine™ ABC 评分	相关	P < .01	r ² = 0.51
Oncomine™ NFκB 评分	相关	P < .05	r ² = 0.38
NFκB 亚基 p50 的基准活性	相关	P < .001	r ² = 0.77
NFκB 亚基 p65 的基准活性	相关	P < .05	r ² = 0.49
基准 IRF4 的基因表达	相关	P < .05	r ² = 0.50
基准 SPIB 的基因表达	不相关	P > .05	r ² = 0.14
基准细胞周期蛋白 D1 的基因表达	不相关	P > .05	r ² = 0.027
基准细胞周期蛋白 D3 的基因表达	不相关	P > .05	r ² = 0.17
基准 A20 的基因表达	不相关	P > .05	r ² = 0.088
基准 CARD11 的基因表达	相关	P < .05	r ² = 0.40

[0299] 6. 60CI-Ly10 细胞亚型的体内小鼠异种移植物模型

[0300] 在体内小鼠异种移植物模型中,研究来那度胺针对 OCI0Ly10 细胞亚型的功效。给 6 至 12 周龄的雌性 CB. 17SCID 小鼠侧腹皮下注射约 0. 2ml/ 小鼠的在 100%Matrigel 中的 1×10^7 个肿瘤细胞。一旦肿瘤达到平均尺寸 100 至 150mg,开始用来那度胺治疗。以 5/2 测定体重,接着每两周测量一次,直到研究结束。每两周用测定规测量肿瘤。研究终点为肿瘤生长延迟 (TGD)。计算 TGD 百分数 (%TGD)。分别地监测动物。研究终点为约 1000m3 的肿瘤体积或 60 天,取先到者。可跟踪治疗应答者更长时间。治疗计划显示在如下表 3 中。

[0301] 肿瘤收集:在无 RNase 环境中收集肿瘤(分成 3 份)。经过快速冷冻 (snapfreeze) 呈粉末保存 1 份,用于将来的蛋白质分析,运送条件为 -80℃。稍后,将第 2 份保存在 RNA 中,快速冷冻,运送条件为 -80℃。将第 3 份保存在福尔马林中 24 小时,然后保存在 70% 乙醇中,在室温下运送至 PAI 用于石蜡包埋。

[0302] 表 3

[0303]

组	数量	试剂	Mg/kg	途径	时程
1	10	载体 1 ---		口服	qd×28
2	10	来那度胺	3	口服	qd×28
3	10	来那度胺	10	口服	qd×28
4	10	来那度胺	30	口服	qd×28
5	10	长春新碱	1	静脉内	q4d×28

[0304] 根据上述内容,应当理解,尽管为了说明的目的本文已经描述了特定实施方案,但是在不背离本文提供的内容的精神和范围下,可以进行各种修饰。在此,将上述提及的所有参考文献的全部内容引入作为参考。

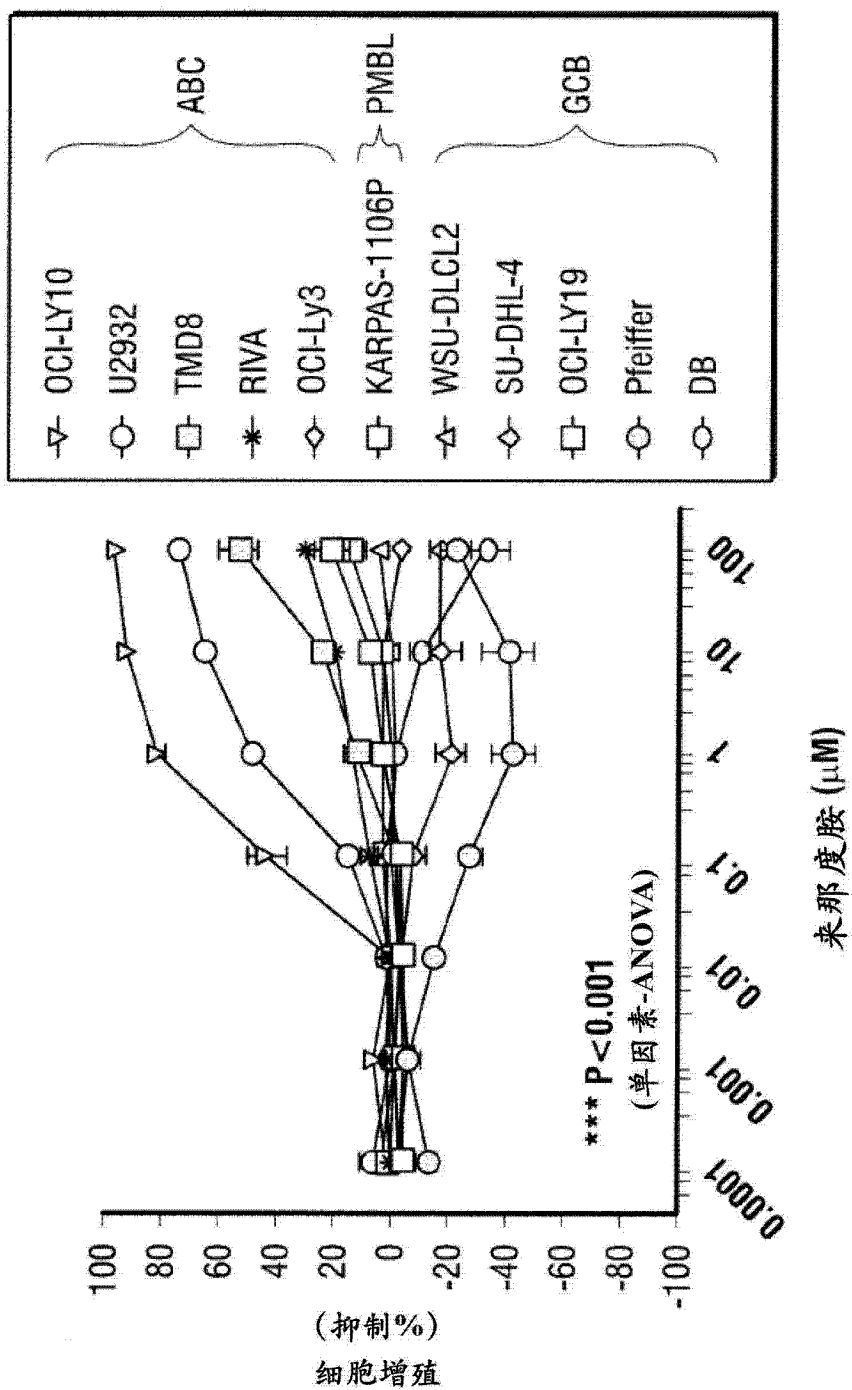


图 1

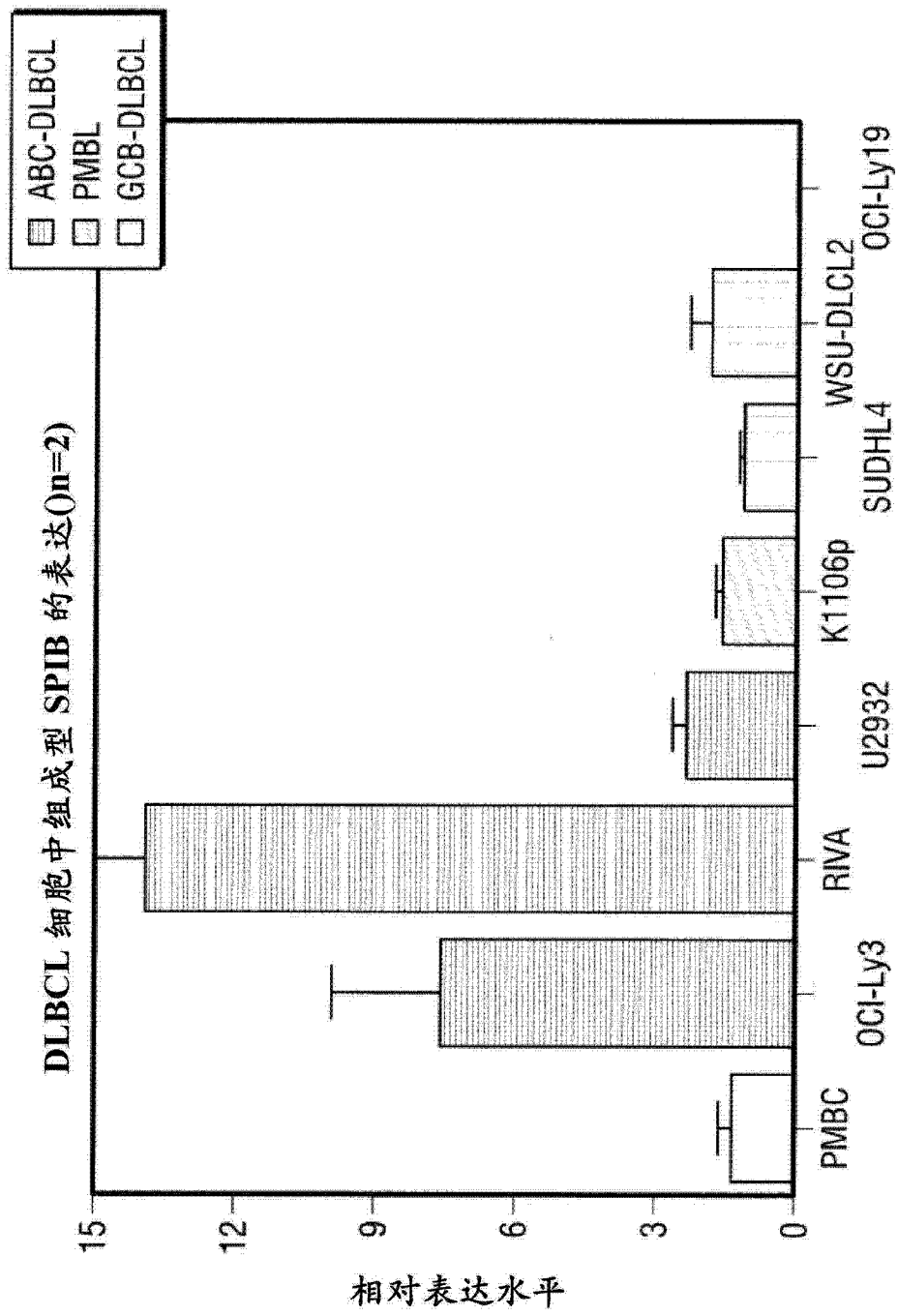


图 2A

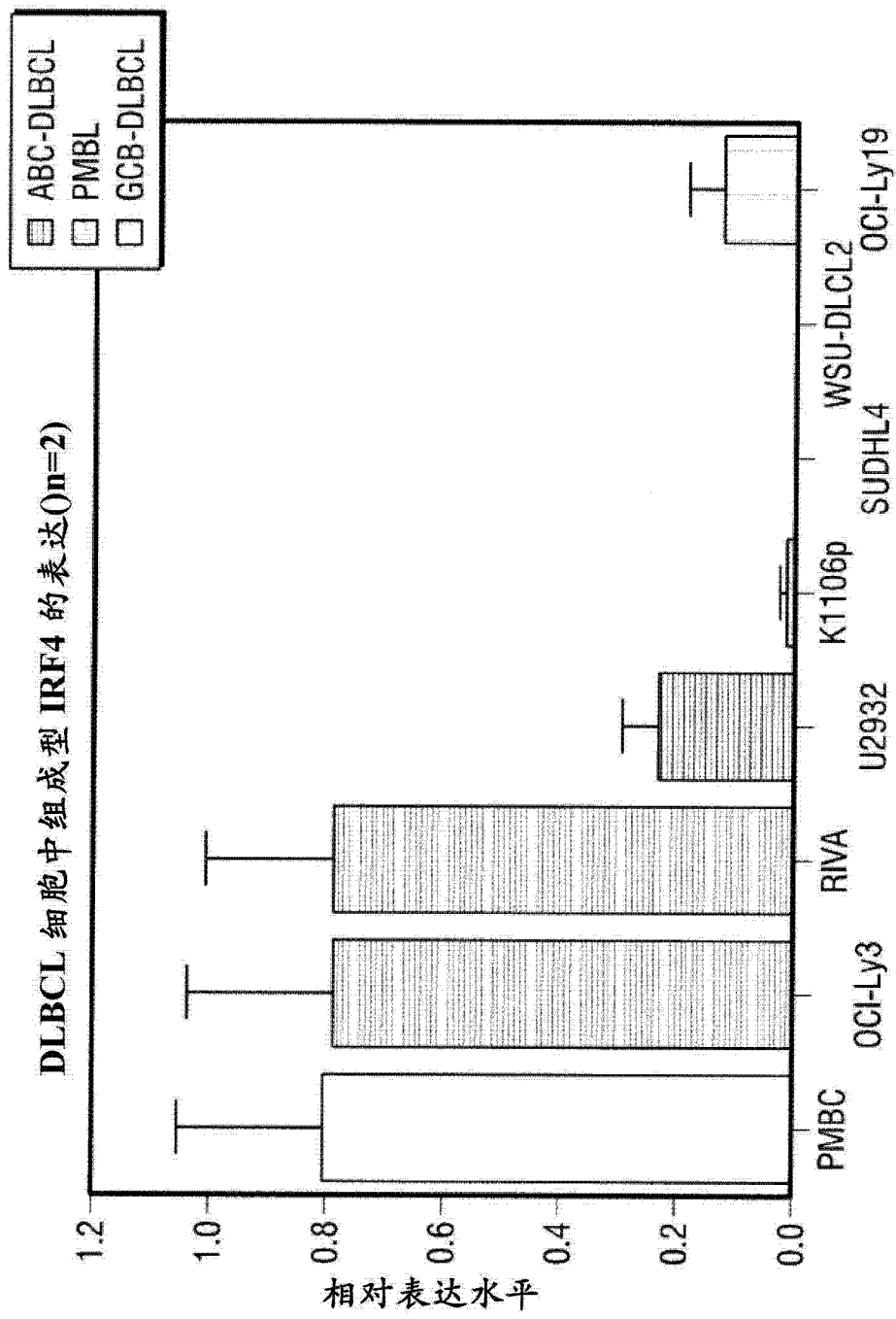


图 2B

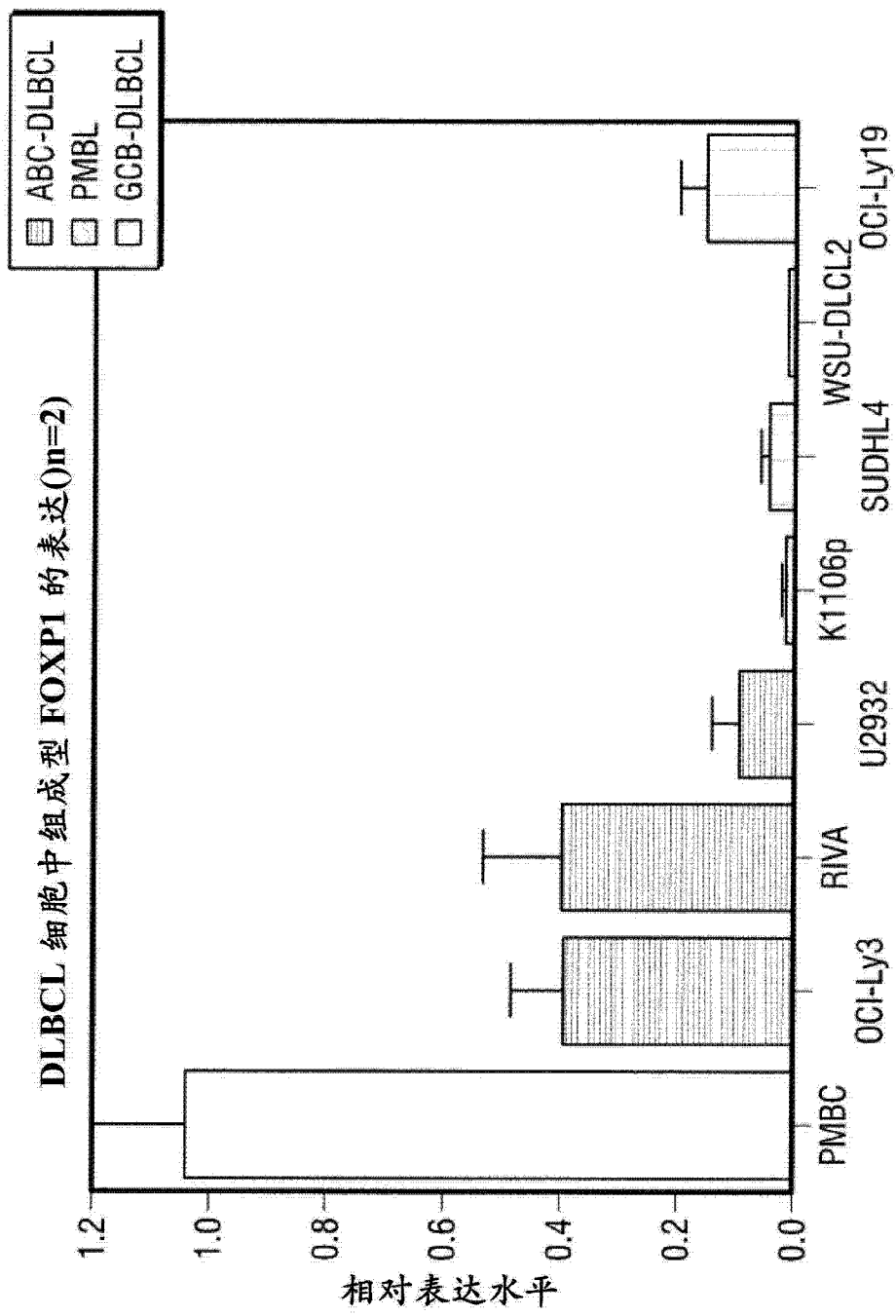


图 2C

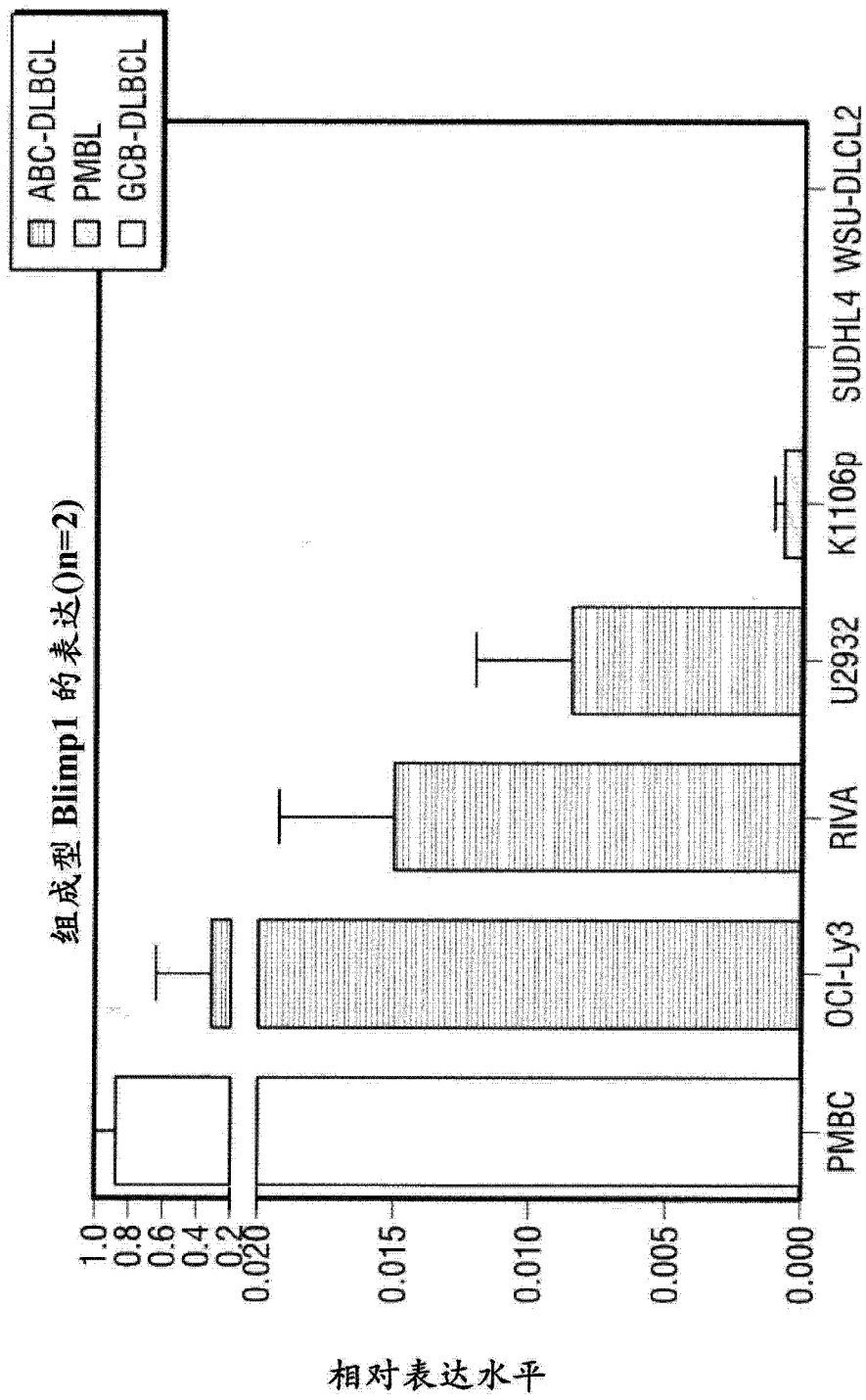


图 2D

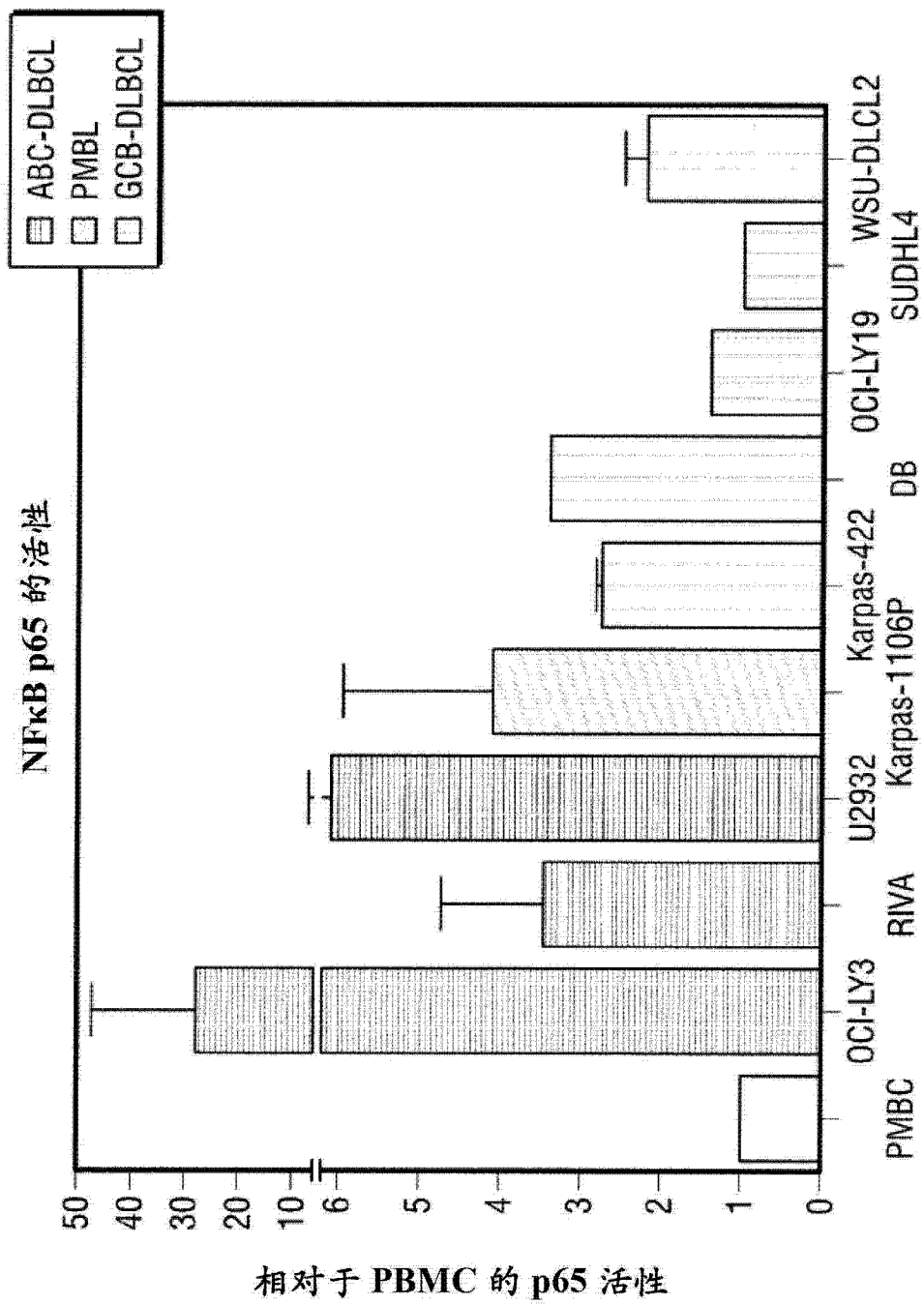


图 3A

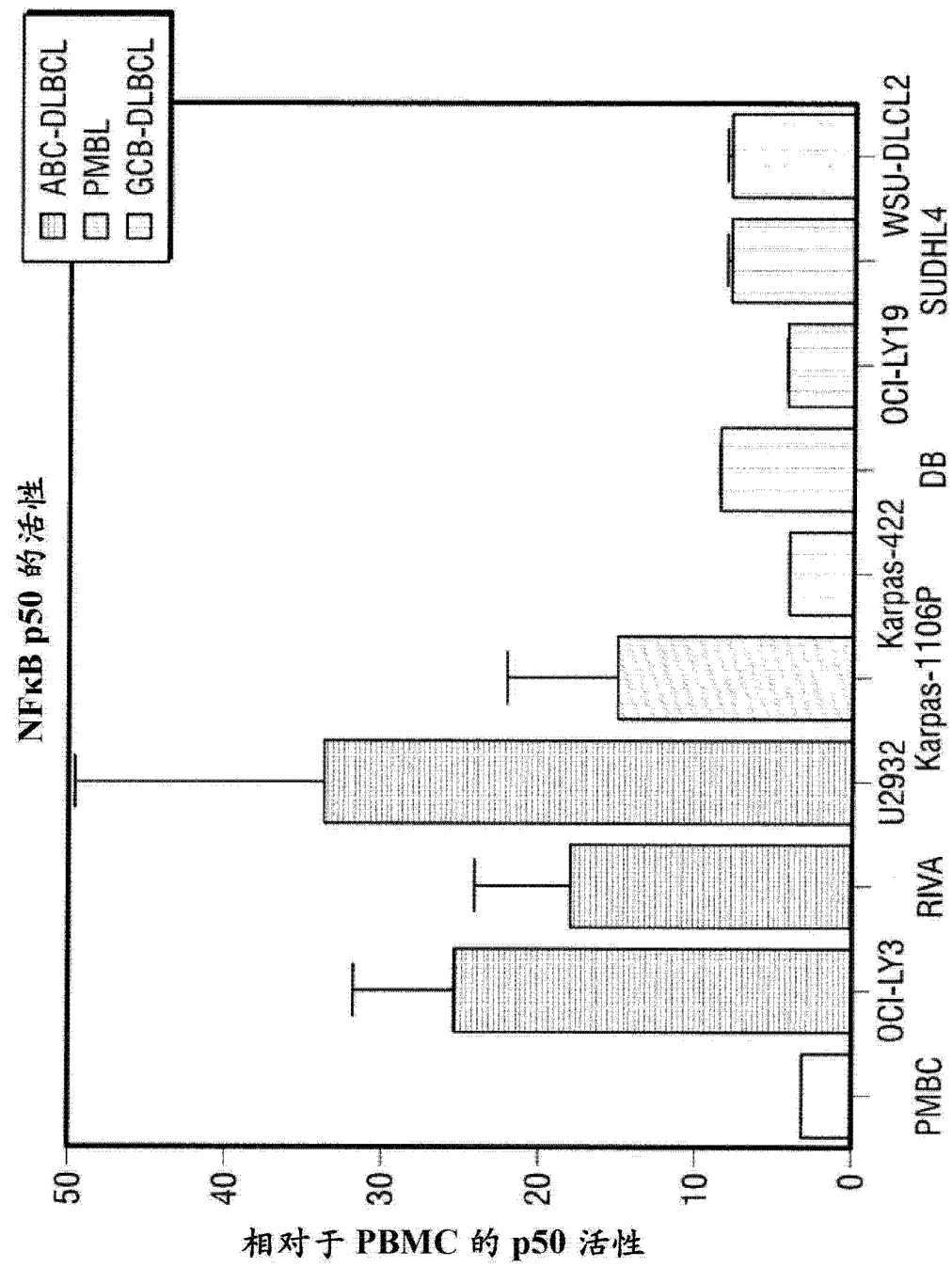


图 3B

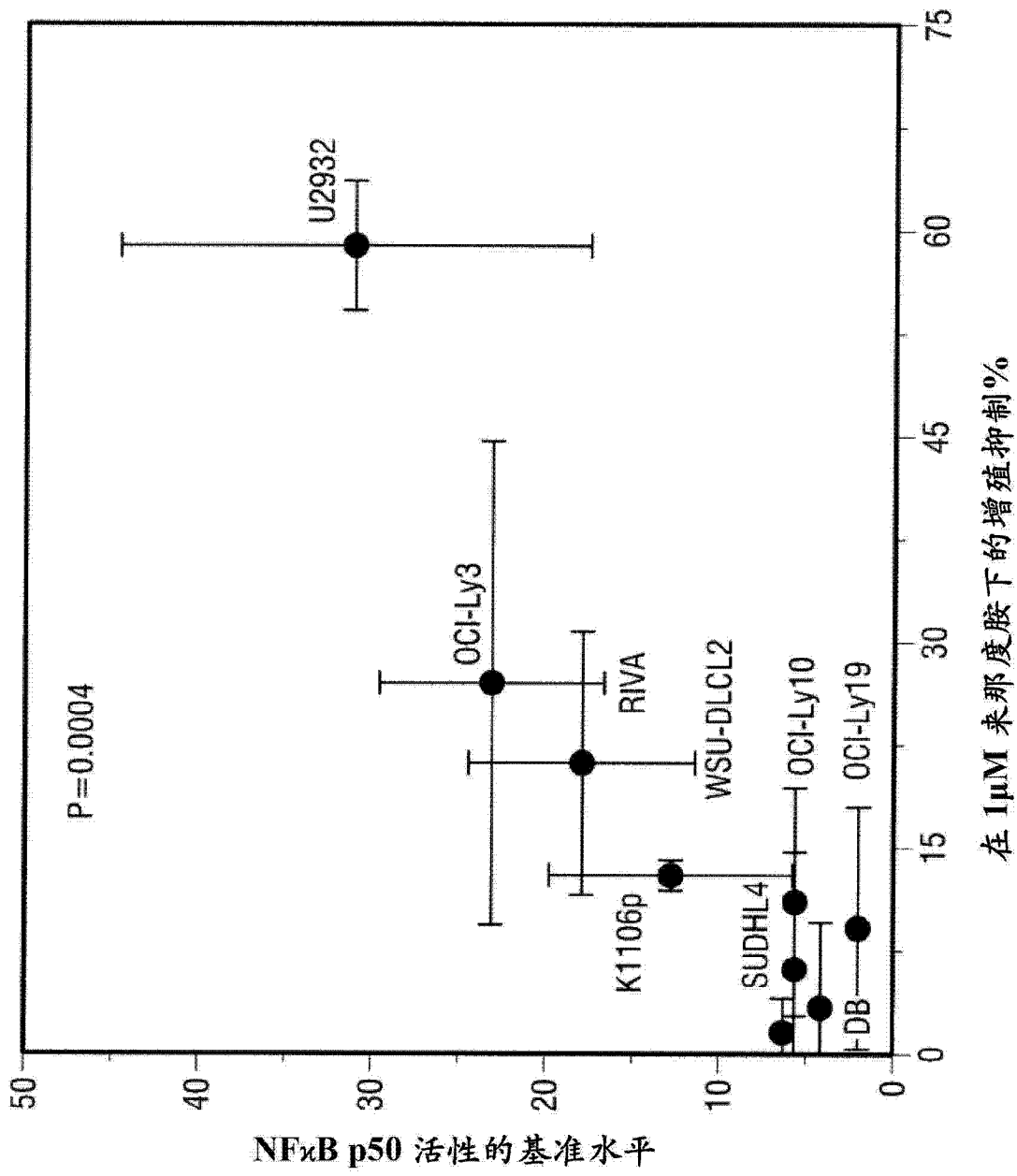


图 4

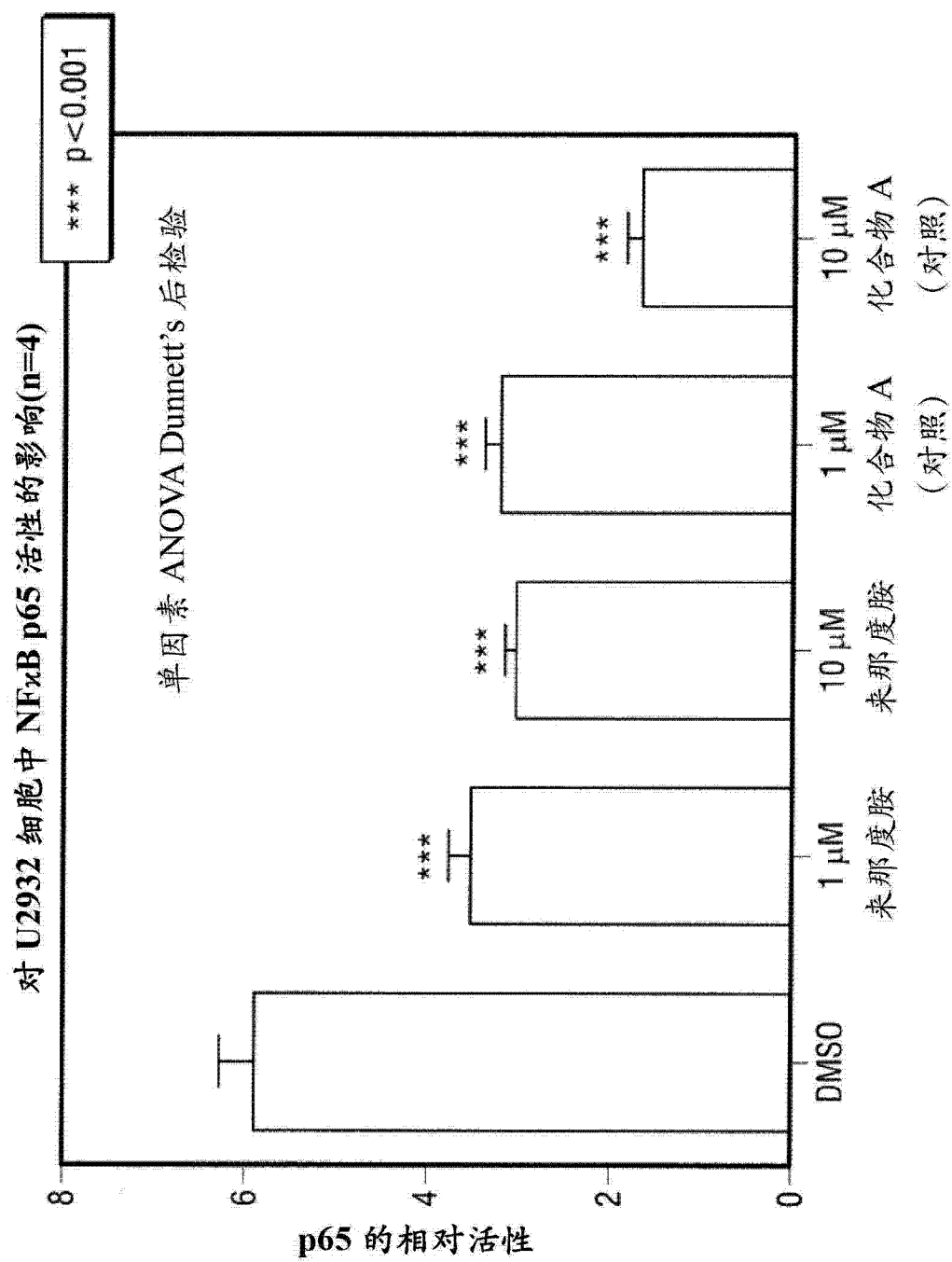


图 5A

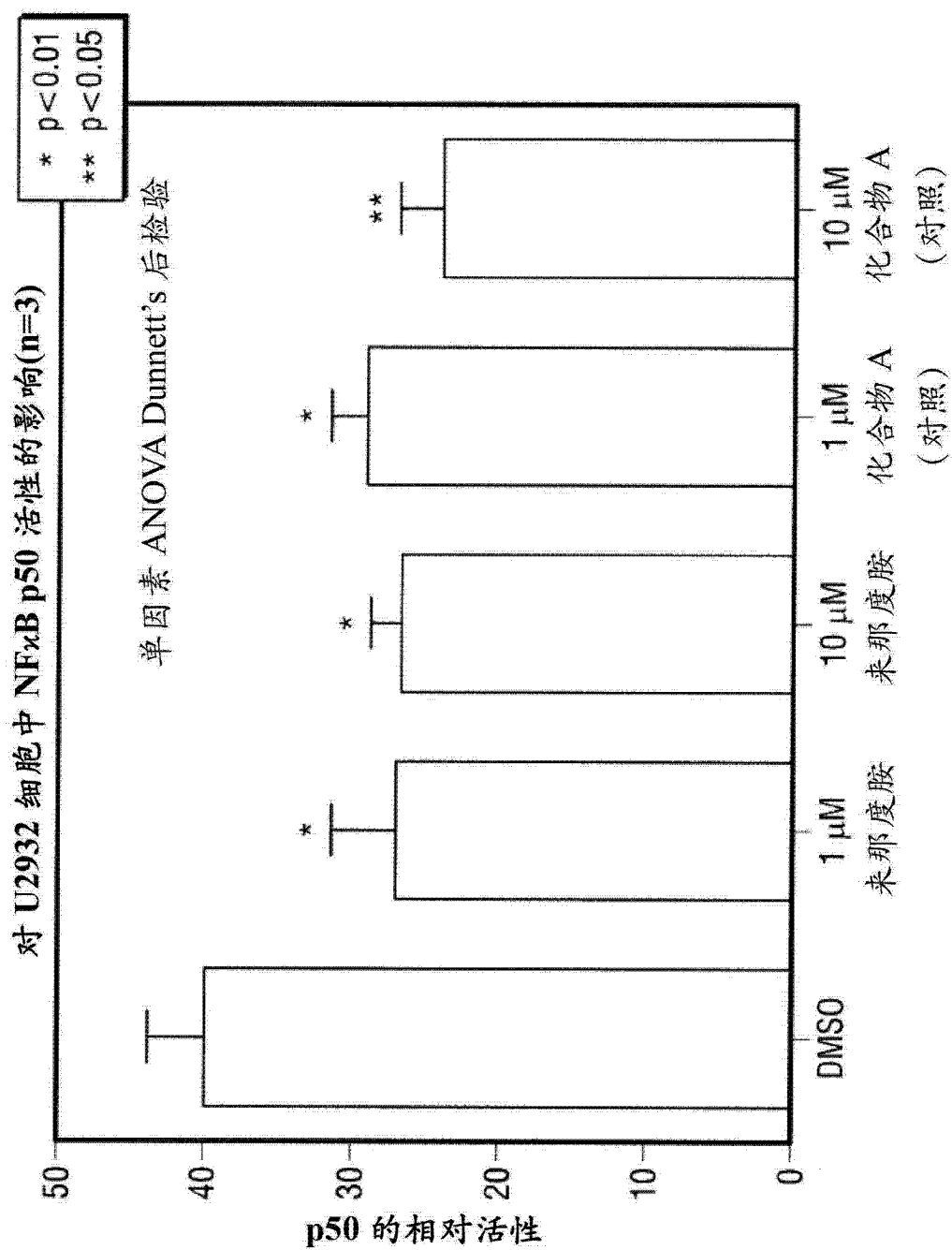


图 5B

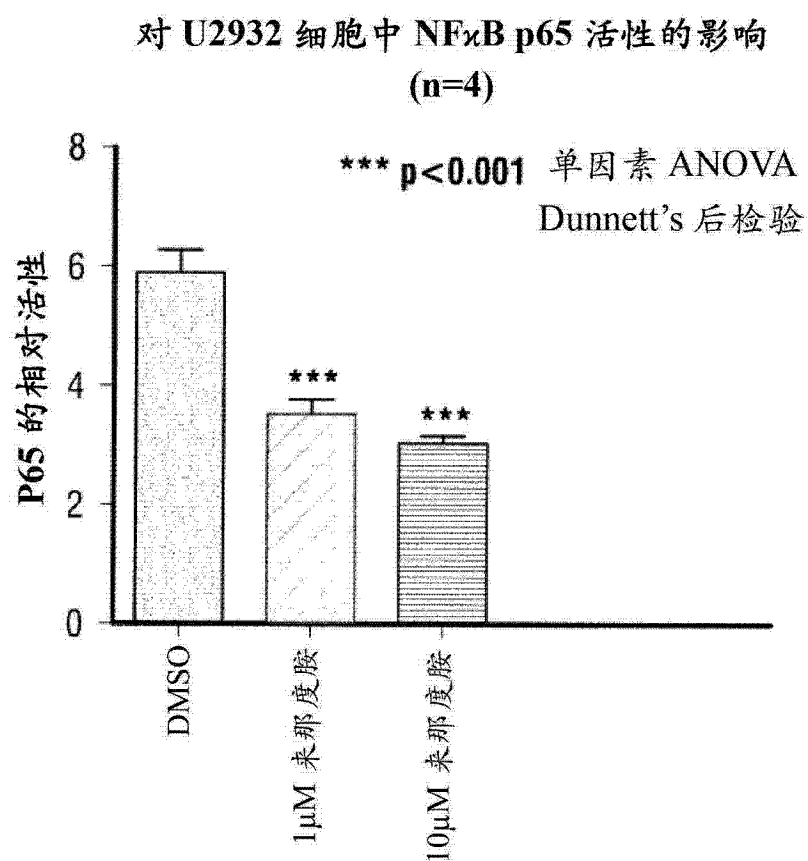


图 6A

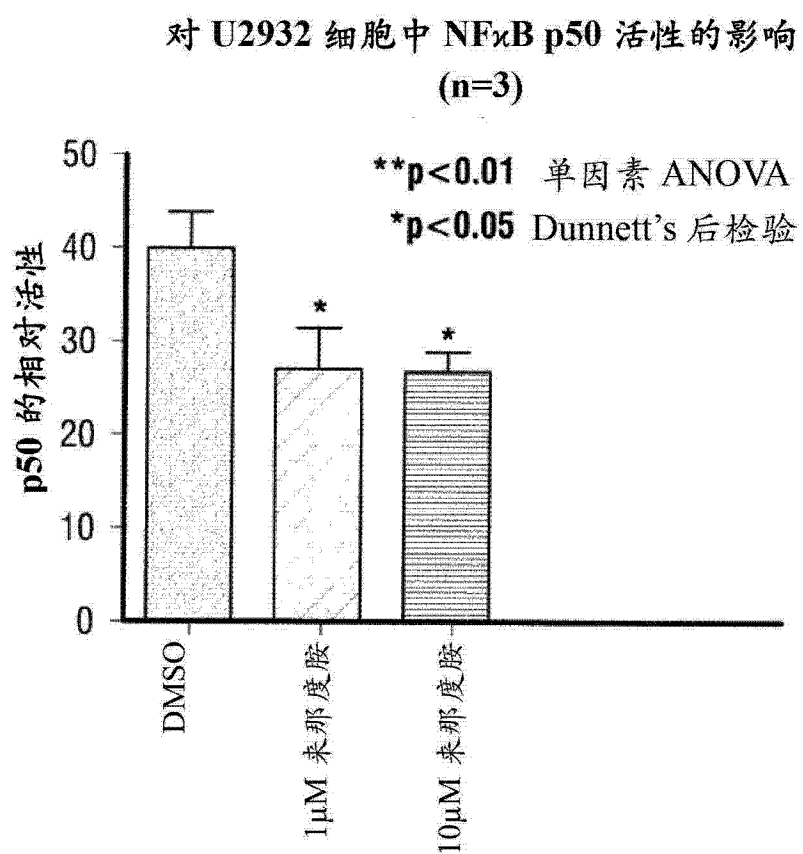


图 6B