



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111265531 B

(45) 授权公告日 2023. 11. 10

(21) 申请号 202010072071.8

(22) 申请日 2014.10.24

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 111265531 A

(43) 申请公布日 2020.06.12

(30) 优先权数据
61/895,981 2013.10.25 US
61/910,945 2013.12.02 US
61/973,176 2014.03.31 US
61/973,173 2014.03.31 US

(62) 分案原申请数据
201480068676.2 2014.10.24

(73) 专利权人 药品循环有限责任公司
地址 美国伊利诺伊州

(72) 发明人 约翰·C·伯德
詹森·A·杜博夫斯基
纳塔拉詹·穆图萨米
艾米·乔·约翰逊
大卫·米克洛斯

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262
专利代理师 高瑜 郑霞

(51) Int.Cl.
A61K 31/519 (2006.01)
A61K 31/496 (2006.01)
A61K 31/4184 (2006.01)
A61K 31/4162 (2006.01)
A61K 31/497 (2006.01)
A61K 31/416 (2006.01)
A61K 31/4985 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 102887900 A, 2013.01.23
US 2008076921 A1, 2008.03.27

审查员 陈笑宇

权利要求书1页 说明书62页 附图15页

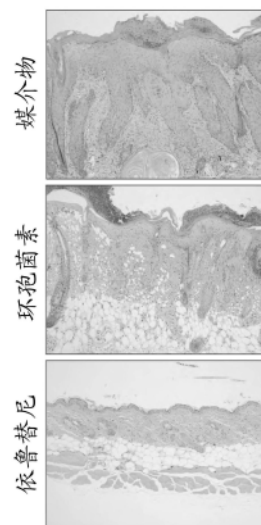
(54) 发明名称

治疗和预防移植物抗宿主病的方法

(57) 摘要

本申请涉及治疗和预防移植物抗宿主病的方法。本文描述了使用ACK抑制剂治疗和预防移植物抗宿主病的方法。该方法包括向需要其的个体施用ACK抑制剂诸如依鲁替尼 (ibrutinib) 用于治疗 and 预防移植物抗宿主病。

皮肤



1. 依鲁替尼在制备用于在患有全身疗法难治的慢性移植物抗宿主病 (GVHD) 的成年人类患者中治疗难治的慢性GVHD的药物中的用途, 其中当所述药物被施用至所述成年人类患者时, 依鲁替尼以420mg每天一次的量口服施用, 其中所述成年人类患者达到完全响应 (CR), 其中所述CR是可归因于慢性GVHD的症状的完全消退。

2. 如权利要求1所述的用途, 其中所述成年患者已经接受过造血细胞移植。

3. 如权利要求1所述的用途, 其中所述难治的慢性GVHD是耐甾族化合物的GVHD。

4. 依鲁替尼在制备用于在患有全身疗法难治的慢性移植物抗宿主病 (GVHD) 的成年患者中实现慢性GVHD的症状的完全消退的药物中的用途, 其中当所述药物被施用至具有全身疗法难治的慢性GVHD的所述成年患者时, 依鲁替尼以420mg的依鲁替尼每天一次的量口服施用, 从而实现所述成年患者中的难治的慢性GVHD的症状的完全消退, 并且其中当所述成年患者不再需要用于所述慢性GVHD的疗法时停止所述依鲁替尼的施用。

5. 如权利要求4所述的用途, 其中所述成年患者在停止所述依鲁替尼的施用之前达到完全供体嵌合。

治疗和预防移植物抗宿主病的方法

[0001] 本申请是申请日为2014年10月24日,申请号为201480068676.2,发明名称为“治疗和预防移植物抗宿主病的方法”的申请的分案申请。

[0002] 交叉引用

[0003] 本申请要求2013年10月25日提交的美国临时申请号61/895,981、2013年12月2日提交的美国临时申请号61/910,945、2014年3月31日提交的美国临时申请号61/973,173和2014年3月31日提交的美国临时申请号61/973,176的优先权权益,其各自通过引用并入本文。

技术领域

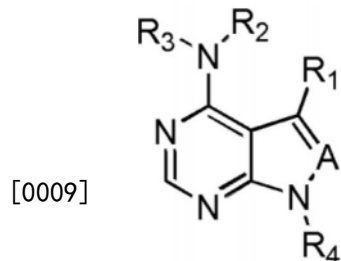
[0004] 本发明涉及但不限于治疗和预防移植物抗宿主病的方法。

[0005] 发明背景

[0006] 慢性移植物抗宿主病(cGVHD)是同种异体干细胞移植(SCT)后最常见的长期并发症,影响生存超过最初100天的患者中的30-70%。cGVHD及其相关免疫缺陷已经被认为是同种异体SCT幸存者中非复发死亡率(NRM)的主要原因。患有cGVHD的SCT幸存者发展严重的或威胁生命的健康状况的可能性是健康同胞的4.7倍,并且患有活跃cGVHD的患者比没有cGVHD历史的同种异体-SCT幸存者更有可能报告不利的整体健康、心理健康、功能损害、活动限制以及疼痛。任何器官系统都可受到影响,并且长期暴露于治疗状况所需的皮质类固醇和钙调磷酸酶抑制剂经常引起进一步的发病。

[0007] 发明概述

[0008] 在一些实施方案中,本文公开了在需要细胞移植的患者中预防移植物抗宿主病(GVHD)的发生或降低GVHD发生的严重性的方法,包括施用治疗有效量的ACK抑制剂(例如,ITK或BTK抑制剂)。在一些实施方案中,本文公开了在需要细胞移植的患者中降低GVHD发生的严重性的方法,包括施用治疗有效量的ACK抑制剂(例如,ITK或BTK抑制剂)。在一些实施方案中,ACK抑制剂是式(A)的化合物。在一些实施方案中,本文公开了在需要细胞移植的患者中预防移植物抗宿主病(GVHD)的发生或降低GVHD发生的严重性的方法,包括施用治疗有效量的式(A)的化合物,其具有结构:



式(A);

[0010] 其中:

[0011] A是N;

[0012] R_1 是苯基-O-苯基或苯基-S-苯基;

[0013] R_2 和 R_3 独立地为H;

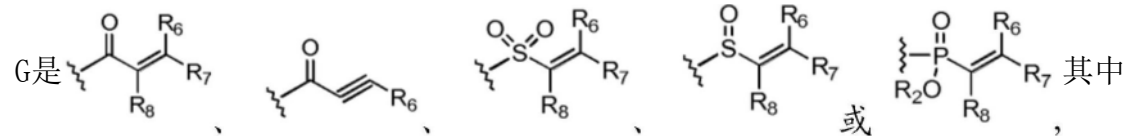
[0014] R_4 是 L_3 -X- L_4 -G,其中,

[0015] L_3 是任选的,并且当存在时是键、任选地被取代的或未被取代的烃基、任选地被取代的或未被取代的环烃基、任选地被取代的或未被取代的烯基、任选地被取代的或未被取代的炔基;

[0016] X是任选的,并且当存在时是键、-O-、-C(=O)-、-S-、-S(=O)-、-S(=O)₂-、-NH-、-NR₉-、-NHC(O)-、-C(O)NH-、-NR₉C(O)-、-C(O)NR₉-、-S(=O)₂NH-、-NHS(=O)₂-、-S(=O)₂NR₉-、-NR₉S(=O)₂-、-OC(O)NH-、-NHC(O)O-、-OC(O)NR₉-、-NR₉C(O)O-、-CH=NO-、-ON=CH-、-NR₁₀C(O)NR₁₀-、杂芳基-、芳基-、-NR₁₀C(=NR₁₁)NR₁₀-、-NR₁₀C(=NR₁₁)-、-C(=NR₁₁)NR₁₀-、-OC(=NR₁₁)-或-C(=NR₁₁)O-;

[0017] L_4 是任选的,并且当存在时是键、被取代的或未被取代的烃基、被取代的或未被取代的环烃基、被取代的或未被取代的烯基、被取代的或未被取代的炔基、被取代的或未被取代的芳基、被取代的或未被取代的杂芳基、被取代的或未被取代的杂环;

[0018] 或 L_3 、X和 L_4 一起形成包含氮的杂环;

[0019] G是  其中

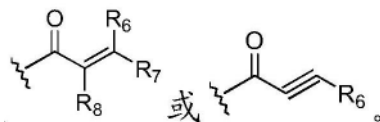
[0020] R_6 、 R_7 和 R_8 独立地选自H、卤素、CN、OH、被取代的或未被取代的烃基或被取代的或未被取代的杂烃基或被取代的或未被取代的环烃基、被取代的或未被取代的杂环烃基、被取代的或未被取代的芳基、被取代的或未被取代的杂芳基;

[0021] 每个 R_9 独立地选自H、被取代的或未被取代的低级烃基,以及被取代的或未被取代的低级环烃基;

[0022] 每个 R_{10} 独立地为H、被取代的或未被取代的低级烃基,或被取代的或未被取代的低级环烃基;或者

[0023] 两个 R_{10} 基团可以一起形成5-、6-、7-或8-元杂环;或者

[0024] R_{10} 和 R_{11} 可以一起形成5-、6-、7-或8-元杂环;或者每个 R_{11} 独立地选自H或被取代的或未被取代的烃基;或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中, L_3 、X和 L_4 一起形成包含氮的杂环。在一些实施方案中,包含氮的杂环是哌啶基团。在一些实施方案中,G是



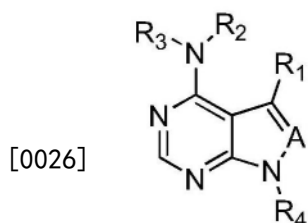
在一些实施方案中,式(A)的化合物是1-[(3R)-3-[4-氨基-3-

(4-苯氧基苯基)吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基]哌啶-1-基]丙-2-烯-1-酮。在一些实施方案中,患者患有癌症。在一些实施方案中,患者患有血液性恶性肿瘤。在一些实施方案中,患者患有复发的或难治的血液性恶性肿瘤。在一些实施方案中,患者患有B-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中,患者患有T-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中,患者患有白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是非霍奇金淋巴瘤。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是慢性淋巴细胞白血病(CLL)。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的B-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的非霍奇金淋

巴瘤。在一些实施方案中，B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的CLL。在一些实施方案中，患者患有高风险CLL。在一些实施方案中，患者具有17p染色体缺失。在一些实施方案中，患者具有10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更高的CLL，如通过骨髓活组织检查确定的。在一些实施方案中，患者已经接受过一种或更多种在先的抗癌剂。在一些实施方案中，抗癌剂选自阿仑珠单抗 (alemtuzumab)、苯达莫司汀 (bendamustine)、硼替佐米 (bortezomib)、CAL-101、苯丁酸氮芥 (chlorambucil)、环磷酰胺 (cyclophosphamide)、地塞米松 (dexamethasone)、多西紫杉醇 (docetaxel)、阿霉素 (doxorubicin)、内皮抑素 (endostatin)、依维莫司 (everolimus)、依托泊苷 (etoposide)、氟达拉滨 (fludarabine)、fostamatinib、羟基道诺红菌素 (hydroxydaunorubicin)、替伊莫单抗 (ibritumomab)、异环磷酰胺 (ifosfamide)、来那度胺 (lenalidomide)、美沙拉嗪 (mesalazine)、奥法木单抗 (ofatumumab)、紫杉醇 (paclitaxel)、喷司他汀 (pentostatin)、泼尼松 (prednisone)、利妥昔单抗 (rituximab)、temsirolimus、酞胺哌啶酮 (thalidomide)、托西莫单抗 (tositumomab)、长春新碱 (vincristine) 或其组合。在一些实施方案中，抗癌剂是利妥昔单抗。在一些实施方案中，抗癌剂是阿仑珠单抗。在一些实施方案中，抗癌剂是氟达拉滨、环磷酰胺和利妥昔单抗 (FCR)。在一些实施方案中，抗癌剂是奥沙利铂 (oxaliplatin)、氟达拉滨、阿糖胞苷 (cytarabine)、利妥昔单抗 (OFAR)。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 的量预防或降低GVHD同时保持对降低或清除患者血液中的癌细胞的数目有效的移植物抗白血病 (GVL) 反应。在一些实施方案中，细胞移植是造血细胞移植。在一些实施方案中，GVHD是急性GVHD。在一些实施方案中，GVHD是慢性GVHD。在一些实施方案中，GVHD是硬皮病的GVHD (sclerodermatous GVHD)、耐甾族化合物的GVHD (steroid resistant GVHD)、耐环孢菌素GVHD (cyclosporin-resistant GVHD)、难治的GVHD、口腔GVHD、慢性口腔GVHD、网状口腔GVHD (reticular oral GVHD)、侵蚀性GVHD或溃疡性口腔GVHD。在一些实施方案中，GVHD是硬皮病的GVHD。在一些实施方案中，GVHD是耐甾族化合物的GVHD。在一些实施方案中，GVHD是耐环孢菌素GVHD。在一些实施方案中，GVHD是难治的GVHD。在一些实施方案中，GVHD是口腔GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是网状口腔GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是侵蚀性口腔GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是溃疡性口腔GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是口腔腔体 (oral cavity) 的GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是口咽区域的GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是咽部区域的GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是食管区域的GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是急性口腔GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是慢性口腔GVHD。在一些实施方案中，患者表现出一个或更多个GVHD的症状。在一些实施方案中，患者已经接受过或将要接受同种异体骨髓或造血干细胞移植。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 的施用与同种异体骨髓或造血干细胞移植并行地进行。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植之前进行。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植之后进行。在一些实施方案中，患者是接受HLA-错配造血干细胞的候选人。在一些实施方案中，患者是接受无亲缘关系的供体的造血干细胞、脐静脉造血干细胞或外周血干细胞的候选人。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 经口服施用。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 以约0.1mg/kg/天至约100mg/kg/天之间的剂量施用。在一些实施方案

中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)以约40mg/天、约140mg/天、约280mg/天、约420mg/天、约560mg/天或约840mg/天的剂量施用。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)与其他预防剂组合施用。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)从同种异体骨髓或造血干细胞移植后第1天至约第120天施用。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)从同种异体骨髓或造血干细胞移植后第1天至约第1000天施用。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)与一种或更多种另外的治疗剂组合施用。在一些实施方案中,所述另外的治疗剂是皮质类固醇。在一些实施方案中,治疗剂是环孢菌素(CSA)、霉酚酸吗乙酯(MMF)或其组合。在一些实施方案中,患者已经接受过或将要接受供体淋巴细胞输注(DLI)。在一些实施方案中,向患者施用一次或更多次DLI。在一些实施方案中,向患者施用两次或更多次DLI。在一些实施方案中,DLI包含CD3+淋巴细胞。在一些实施方案中,在同种异体骨髓或造血干细胞移植后向患者施用一次或更多次供体淋巴细胞输注(DLI)。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)的施用与同种异体骨髓或造血干细胞移植后的DLI并行地进行。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植后的DLI之前进行。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植后的DLI之后进行。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)是依鲁替尼(ibrutinib)。

[0025] 在一些实施方案中,本文公开了治疗患者以减轻骨髓介导的疾病的方法,包括向患者施用同种异体造血干细胞和/或同种异体T-细胞,以及治疗有效量的ACK抑制剂(例如,ITK或BTK抑制剂)。在一些实施方案中,本文公开了治疗患者以减轻骨髓介导的疾病,以及减轻随之而来发生的移植物抗宿主病(GVHD)的方法,包括向患者施用同种异体造血干细胞和/或同种异体T-细胞,以及治疗有效量的式(A)的化合物:



式(A);

[0027] 其中:

[0028] A是N;

[0029] R₁是苯基-O-苯基或苯基-S-苯基;

[0030] R₂和R₃独立地为H;

[0031] R₄是L₃-X-L₄-G,其中,

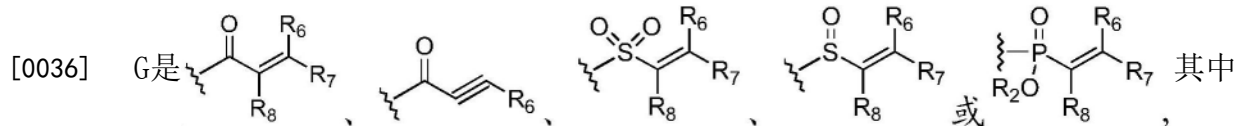
[0032] L₃是任选的,并且当存在时是键、任选地被取代的或未被取代的烷基、任选地被取代的或未被取代的环烷基、任选地被取代的或未被取代的烯基、任选地被取代的或未被取代的炔基;

[0033] X是任选的,并且当存在时是键、-O-、-C(=O)-、-S-、-S(=O)-、-S(=O)₂-、-NH-、-NR₉-、-NHC(O)-、-C(O)NH-、-NR₉C(O)-、-C(O)NR₉-、-S(=O)₂NH-、-NHS(=O)₂-、-S(=O)

$_2\text{NR}_9^-$ 、 $-\text{NR}_9\text{S}(=\text{O})_2^-$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{NH}-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}_9-$ 、 $-\text{NR}_9\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{CH}=\text{NO}-$ 、 $-\text{ON}=\text{CH}-$ 、 $-\text{NR}_{10}\text{C}(\text{O})\text{NR}_{10}-$ 、杂芳基-、芳基-、 $-\text{NR}_{10}\text{C}(=\text{NR}_{11})\text{NR}_{10}-$ 、 $-\text{NR}_{10}\text{C}(=\text{NR}_{11})-$ 、 $-\text{C}(=\text{NR}_{11})\text{NR}_{10}-$ 、 $-\text{OC}(=\text{NR}_{11})-$ 或 $-\text{C}(=\text{NR}_{11})\text{O}-$;

[0034] L_4 是任选的,并且当存在时是键、被取代的或未被取代的烷基、被取代的或未被取代的环烷基、被取代的或未被取代的烯基、被取代的或未被取代的炔基、被取代的或未被取代的芳基、被取代的或未被取代的杂芳基、被取代的或未被取代的杂环;

[0035] 或 L_3 、 X 和 L_4 一起形成包含氮的杂环;



[0037] R_6 、 R_7 和 R_8 独立地选自H、卤素、CN、OH、被取代的或未被取代的烷基或被取代的或未被取代的杂烷基或被取代的或未被取代的环烷基、被取代的或未被取代的杂环烷基、被取代的或未被取代的芳基、被取代的或未被取代的杂芳基;

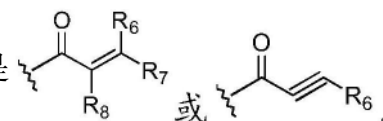
[0038] 每个 R_9 独立地选自H、被取代的或未被取代的低级烷基,以及被取代的或未被取代的低级环烷基;

[0039] 每个 R_{10} 独立地为H、被取代的或未被取代的低级烷基,或被取代的或未被取代的低级环烷基;或者

[0040] 两个 R_{10} 基团可以一起形成5-、6-、7-或8-元杂环;或者

[0041] R_{10} 和 R_{11} 可以一起形成5-、6-、7-或8-元杂环;或者

[0042] 每个 R_{11} 独立地选自H或被取代的或未被取代的烷基;或其药学上可接受的盐,在同种异体造血干细胞和/或同种异体T-细胞之前、与之并行地或之后施用。在一些实施方案中, L_3 、 X 和 L_4 一起形成包含氮的杂环。在一些实施方案中,包含氮的杂环是哌啶基团。在一些

实施方案中,G是  在一些实施方案中,式(A)的化合物是1-

[(3R) -3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基]哌啶-1-基]丙-2-烯-1-酮。在一些实施方案中,患者患有癌症。在一些实施方案中,患者患有血液性恶性肿瘤。在一些实施方案中,患者患有复发的或难治的血液性恶性肿瘤。在一些实施方案中,患者患有白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。在一些实施方案中,患者患有B-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是非霍奇金淋巴瘤。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是慢性淋巴细胞白血病(CLL)。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的B-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的非霍奇金淋巴瘤。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的CLL。在一些实施方案中,患者患有高风险CLL。在一些实施方案中,患者具有17p染色体缺失。在一些实施方案中,患者具有10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更高的CLL,如通过骨髓活组织检查确定的。在一些实施方案中,患者已经接受过一种或更多种在先的抗癌剂。在一些实施方案中,抗癌剂选自阿仑珠单抗、苯达莫司汀、硼替佐米、CAL-101、苯丁酸氮芥、环磷酰胺、地塞米松、多西紫杉醇、阿霉素、内皮抑素、依维莫司、依托泊苷、氟达拉滨、fostamatinib、羟基道诺红菌素、替伊莫单抗、异环磷酰胺、来那度胺、美沙拉嗪、奥法木单抗、紫杉醇、喷司他汀、泼尼松、利妥昔单抗、

temsirolimus、酰胺哌啶酮、托西莫单抗、长春新碱或其组合。在一些实施方案中，抗癌剂是利妥昔单抗。在一些实施方案中，抗癌剂是阿仑珠单抗。在一些实施方案中，抗癌剂是氟达拉滨、环磷酰胺和利妥昔单抗 (FCR)。在一些实施方案中，抗癌剂是奥沙利铂、氟达拉滨、阿糖胞苷、利妥昔单抗 (OFAR)。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 的量预防或降低GVHD同时保持对降低或清除所述患者血液中的癌细胞的数量有效的移植物抗白血病 (GVL) 反应。在一些实施方案中，细胞移植是造血细胞移植。在一些实施方案中，GVHD是急性GVHD。在一些实施方案中，GVHD是慢性GVHD。在一些实施方案中，GVHD是硬皮病的GVHD。在一些实施方案中，GVHD是耐甾族化合物的GVHD。在一些实施方案中，GVHD是耐环孢菌素GVHD。在一些实施方案中，GVHD是难治的GVHD。在一些实施方案中，GVHD是口腔GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是网状口腔GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是侵蚀性口腔GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是溃疡性口腔GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是口腔腔体的GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是口咽区域的GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是咽部区域的GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是食管区域的GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是急性口腔GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是慢性口腔GVHD。在一些实施方案中，患者表现出GVHD的一个或更多个症状。在一些实施方案中，患者已经接受过或将要接受同种异体骨髓或造血干细胞移植。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 的施用与同种异体骨髓或造血干细胞移植并行地进行。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植之前进行。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植之后进行。在一些实施方案中，患者是接受HLA-错配造血干细胞的候选人。在一些实施方案中，患者是接受无亲缘关系的供体的造血干细胞、脐静脉造血干细胞或外周血干细胞的候选人。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 以约0.1mg/kg/天至约100mg/kg/天之间的剂量施用。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 以约40mg/天、约140mg/天、约280mg/天、约420mg/天、约560mg/天或约840mg/天的剂量施用。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 经口服施用。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 与另外的治疗剂组合施用。在一些实施方案中，另外的治疗剂是皮质类固醇。在一些实施方案中，另外的治疗剂是环孢菌素 (CSA)、霉酚酸吗乙酯 (MMF) 或其组合。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 从同种异体骨髓或造血干细胞移植后第1天至约第120天施用。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 从同种异体骨髓或造血干细胞移植后第1天至约第1000天施用。在一些实施方案中，患者已经接受过或将要接受供体淋巴细胞输注 (DLI)。在一些实施方案中，患者已经接受过或将要接受两次或更多次供体淋巴细胞输注 (DLI)。在一些实施方案中，向患者施用一次或更多次供体淋巴细胞输注 (DLI)。在一些实施方案中，DLI包含CD3+淋巴细胞。在一些实施方案中，在同种异体骨髓或造血干细胞移植后向患者施用一次或更多次供体淋巴细胞输注 (DLI)。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 的施用与同种异体骨髓或造血干细胞移植后的DLI并行地进行。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植后的DLI之前进行。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植后的DLI之后进行。在一些实施方案中，ACK抑

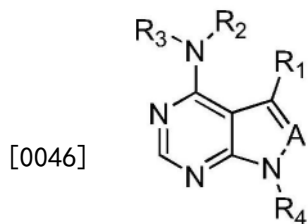
制剂化合物(例如,式(A)的化合物)是依鲁替尼。

[0043] 在一些实施方案中,本文公开了在需要细胞移植的患者中降低GVHD发生的严重性的方法,包括施用治疗有效量的依鲁替尼(1-[(3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-1-基]哌啶-1-基]丙-2-烯-1-酮)。在一些实施方案中,患者患有癌症。在一些实施方案中,患者患有血液性恶性肿瘤。在一些实施方案中,患者患有复发的或难治的血液性恶性肿瘤。在一些实施方案中,患者患有B-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中,患者患有T-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中,患者患有白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是非霍奇金淋巴瘤。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是慢性淋巴细胞白血病(CLL)。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的B-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的非霍奇金淋巴瘤。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的CLL。在一些实施方案中,患者患有高风险CLL。在一些实施方案中,患者具有17p染色体缺失。在一些实施方案中,患者具有10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更高的CLL,如通过骨髓活组织检查确定的。在一些实施方案中,患者已经接受过一种或更多种在先的抗癌剂。在一些实施方案中,抗癌剂选自阿仑珠单抗、苯达莫司汀、硼替佐米、CAL-101、苯丁酸氮芥、环磷酰胺、地塞米松、多西紫杉醇、阿霉素、内皮抑素、依维莫司、依托泊苷、氟达拉滨、fostamatinib、羟基道诺红菌素、替伊莫单抗、异环磷酰胺、来那度胺、美沙拉嗪、奥法木单抗、紫杉醇、喷司他汀、泼尼松、利妥昔单抗、temsirolimus、酰胺哌啶酮、托西莫单抗、长春新碱或其组合。在一些实施方案中,抗癌剂是利妥昔单抗。在一些实施方案中,抗癌剂是阿仑珠单抗。在一些实施方案中,抗癌剂是氟达拉滨、环磷酰胺和利妥昔单抗(FCR)。在一些实施方案中,抗癌剂是奥沙利铂、氟达拉滨、阿糖胞苷、利妥昔单抗(OFAR)。在一些实施方案中,依鲁替尼的量预防或降低GVHD同时保持对降低或清除所述患者血液中的癌细胞的数量有效的移植物抗白血病(GVL)反应。在一些实施方案中,细胞移植是造血细胞移植。在一些实施方案中,GVHD是急性GVHD。在一些实施方案中,GVHD是慢性GVHD。在一些实施方案中,GVHD是硬皮病的GVHD。在一些实施方案中,GVHD是耐甾族化合物的GVHD。在一些实施方案中,GVHD是耐环孢菌素GVHD。在某些实施方案中,GVHD是难治的GVHD。在某些实施方案中,GVHD是口腔GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是网状口腔GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是侵蚀性口腔GVHD。在某些实施方案中,口腔GVHD是溃疡性口腔GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是口腔腔体的GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是口咽区域的GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是咽部区域的GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是食管区域的GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是急性口腔GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是慢性口腔GVHD。在一些实施方案中,患者表现出GVHD的一个或更多个症状。在一些实施方案中,患者已经接受过或将要接受同种异体骨髓或造血干细胞移植。在一些实施方案中,依鲁替尼的施用与同种异体骨髓或造血干细胞移植并行地进行。在一些实施方案中,依鲁替尼的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植之前进行。在一些实施方案中,依鲁替尼的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植之后进行。在一些实施方案中,患者是接受HLA-错配造血干细胞的候选人。在一些实施方案中,患者是接受无亲缘关系的供体的造血干细胞、脐静脉造血干细胞或外周血干细胞的候选人。在一些实施方案中,依鲁替尼经口服施用。在一些实施方案中,依鲁替尼以约0.1mg/kg/天至约100mg/kg/天之间的剂量施用。在一些实施方案中,依鲁替尼以约40mg/天、约140mg/

天、约280mg/天、约420mg/天、约560mg/天或约840mg/天的剂量施用。在一些实施方案中，依鲁替尼与其他预防剂组合施用。在一些实施方案中，依鲁替尼从同种异体骨髓或造血干细胞移植后第1天至约第120天施用。在一些实施方案中，依鲁替尼从同种异体骨髓或造血干细胞移植后第1天至约第1000天施用。在一些实施方案中，依鲁替尼与一种或更多种另外的治疗剂组合施用。在一些实施方案中，另外的治疗剂是皮质类固醇。在一些实施方案中，治疗剂是环孢菌素(CSA)、霉酚酸吗乙酯(MMF)或其组合。在一些实施方案中，患者已经接受过或将要接受供体淋巴细胞输注(DLI)。在一些实施方案中，向患者施用一次或更多次DLI。在一些实施方案中，向患者施用两次或更多次DLI。在一些实施方案中，DLI包含CD3+淋巴细胞。在一些实施方案中，在同种异体骨髓或造血干细胞移植后向患者施用一次或更多次供体淋巴细胞输注(DLI)。在一些实施方案中，依鲁替尼的施用与同种异体骨髓或造血干细胞移植后的DLI并行地进行。在一些实施方案中，依鲁替尼的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植后的DLI之前进行。在一些实施方案中，依鲁替尼的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植后的DLI之后进行。

[0044] 本申请提供了以下内容：

[0045] 项目1.式(A)的化合物用于在需要细胞移植的患者中预防移植物抗宿主病(GVHD)的发生或降低GVHD发生的严重性的用途，其中式(A)具有结构：



式(A)；

[0047] 其中：

[0048] A是N；

[0049] R₁是苯基-O-苯基或苯基-S-苯基；

[0050] R₂和R₃独立地为H；

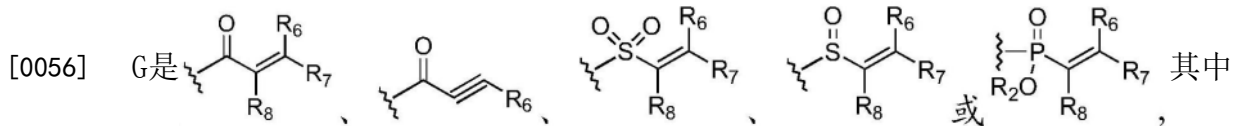
[0051] R₄是L₃-X-L₄-G，其中，

[0052] L₃是任选的，并且当存在时是键、任选地被取代的或未被取代的烷基、任选地被取代的或未被取代的环烷基、任选地被取代的或未被取代的烯基、任选地被取代的或未被取代的炔基；

[0053] X是任选的，并且当存在时是键、-O-、-C(=O)-、-S-、-S(=O)-、-S(=O)₂-、-NH-、-NR₉-、-NHC(O)-、-C(O)NH-、-NR₉C(O)-、-C(O)NR₉-、-S(=O)₂NH-、-NHS(=O)₂-、-S(=O)₂NR₉-、-NR₉S(=O)₂-、-OC(O)NH-、-NHC(O)O-、-OC(O)NR₉-、-NR₉C(O)O-、-CH=NO-、-ON=CH-、-NR₁₀C(O)NR₁₀-、杂芳基-、芳基-、-NR₁₀C(=NR₁₁)NR₁₀-、-NR₁₀C(=NR₁₁)-、-C(=NR₁₁)NR₁₀-、-OC(=NR₁₁)-或-C(=NR₁₁)O-；

[0054] L₄是任选的，并且当存在时是键、被取代的或未被取代的烷基、被取代的或未被取代的环烷基、被取代的或未被取代的烯基、被取代的或未被取代的炔基、被取代的或未被取代的芳基、被取代的或未被取代的杂芳基、被取代的或未被取代的杂环；

[0055] 或 L_3 、X和 L_4 一起形成包含氮的杂环；



[0057] R_6 、 R_7 和 R_8 独立地选自H、卤素、CN、OH、被取代的或未被取代的烷基或被取代的或未被取代的杂烷基或被取代的或未被取代的环烷基、被取代的或未被取代的杂环烷基、被取代的或未被取代的芳基、被取代的或未被取代的杂芳基；

[0058] 每个 R_9 独立地选自H、被取代的或未被取代的低级烷基，以及被取代的或未被取代的低级环烷基；

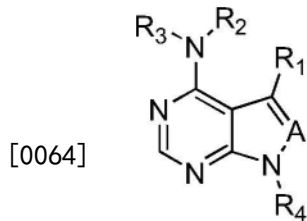
[0059] 每个 R_{10} 独立地为H、被取代的或未被取代的低级烷基，或被取代的或未被取代的低级环烷基；或者

[0060] 两个 R_{10} 基团可以一起形成5-、6-、7-或8-元杂环；或者

[0061] R_{10} 和 R_{11} 可以一起形成5-、6-、7-或8-元杂环；或者

[0062] 每个 R_{11} 独立地选自H或被取代的或未被取代的烷基；或其药学上可接受的盐。

[0063] 项目2.式(A)的化合物与同种异体造血干细胞和/或同种异体T-细胞用于治疗患者以减轻骨髓介导的疾病，以及减轻随之发生的移植物抗宿主病(GVHD)的用途，其中式(A)的化合物具有结构：



式(A)；

[0065] 其中：

[0066] A是N；

[0067] R_1 是苯基-O-苯基或苯基-S-苯基；

[0068] R_2 和 R_3 独立地为H；

[0069] R_4 是 L_3 -X- L_4 -G，其中，

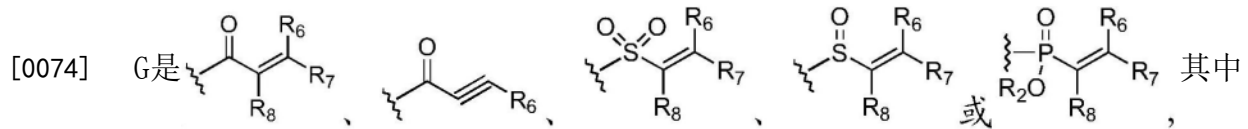
[0070] L_3 是任选的，并且当存在时是键、任选地被取代的或未被取代的烷基、任选地被取代的或未被取代的环烷基、任选地被取代的或未被取代的烯基、任选地被取代的或未被取代的炔基；

[0071] X是任选的，并且当存在时是键、-O-、-C(=O)-、-S-、-S(=O)-、-S(=O)₂-、-NH-、-NR₉-、-NHC(O)-、-C(O)NH-、-NR₉C(O)-、-C(O)NR₉-、-S(=O)₂NH-、-NHS(=O)₂-、-S(=O)₂NR₉-、-NR₉S(=O)₂-、-OC(O)NH-、-NHC(O)O-、-OC(O)NR₉-、-NR₉C(O)O-、-CH=NO-、-ON=CH-、-NR₁₀C(O)NR₁₀-、杂芳基-、芳基-、-NR₁₀C(=NR₁₁)NR₁₀-、-NR₁₀C(=NR₁₁)-、-C(=NR₁₁)NR₁₀-、-OC(=NR₁₁)-或-C(=NR₁₁)O-；

[0072] L_4 是任选的，并且当存在时是键、被取代的或未被取代的烷基、被取代的或未被取代的环烷基、被取代的或未被取代的烯基、被取代的或未被取代的炔基、被取代的或未被取代

代的芳基、被取代的或未被取代的杂芳基、被取代的或未被取代的杂环；

[0073] 或 L_3 、X和 L_4 一起形成包含氮的杂环；



[0075] R_6 、 R_7 和 R_8 独立地选自H、卤素、CN、OH、被取代的或未被取代的烃基或被取代的或未被取代的杂烃基或被取代的或未被取代的环烃基、被取代的或未被取代的杂环烃基、被取代的或未被取代的芳基、被取代的或未被取代的杂芳基；

[0076] 每个 R_9 独立地选自H、被取代的或未被取代的低级烃基，以及被取代的或未被取代的低级环烃基；

[0077] 每个 R_{10} 独立地为H、被取代的或未被取代的低级烃基，或被取代的或未被取代的低级环烃基；或者

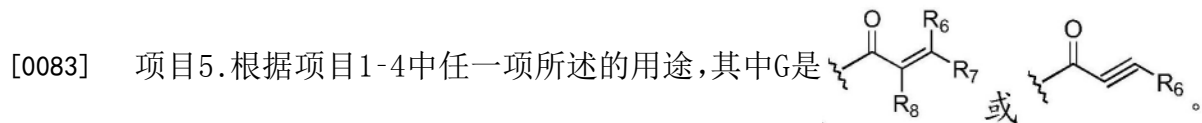
[0078] 两个 R_{10} 基团可以一起形成5-、6-、7-或8-元杂环；或者

[0079] R_{10} 和 R_{11} 可以一起形成5-、6-、7-或8-元杂环；或者

[0080] 每个 R_{11} 独立地选自H或被取代的或未被取代的烃基；或其药学上可接受的盐，并且在所述同种异体造血干细胞和/或同种异体T-细胞的施用之前、与之并行地或之后施用。

[0081] 项目3. 根据项目1-2中任一项所述的用途，其中 L_3 、X和 L_4 一起形成包含氮的杂环。

[0082] 项目4. 根据项目3所述的用途，其中所述包含氮的杂环是哌啶基团。



[0084] 项目6. 根据项目1-5中所述的用途，其中式(A)的化合物是1-[(3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-1-基]哌啶-1-基]丙-2-烯-1-酮(依鲁替尼)。

[0085] 项目7. 根据项目1-6中任一项所述的用途，其中所述GVHD是硬皮病的GVHD。

[0086] 项目8. 根据项目1-6中任一项所述的用途，其中所述GVHD是耐笛族化合物的GVHD。

[0087] 项目9. 根据项目1-6中任一项所述的用途，其中所述GVHD是硬皮病的GVHD、耐笛族化合物的GVHD、耐环孢菌素的GVHD、难治的GVHD、口腔GVHD、慢性口腔GVHD、网状口腔GVHD、侵蚀性GVHD或溃疡性口腔GVHD。

[0088] 项目10. 根据项目1-9中任一项所述的用途，其中所述患者具有复发的或难治的CLL。

[0089] 项目11. 根据项目1-10中任一项所述的用途，其中式(A)的化合物的量预防或降低GVHD同时保持对降低或清除所述患者血液中的癌细胞的数量有效的移植物抗白血病(GVL)反应。

[0090] 项目12. 根据项目1-11中任一项所述的用途，其中所述细胞移植是造血细胞移植。

[0091] 项目13. 根据项目1-12中任一项所述的用途，其中式(A)的化合物以约0.1mg/kg/天至约100mg/kg/天之间的剂量施用。

[0092] 项目14. 根据项目1-12中任一项所述的用途，其中式(A)的化合物的量为约40mg/天、约140mg/天、约280mg/天、约420mg/天、约560mg/天或约840mg/天。

[0093] 项目15. 根据项目1-14中任一项所述的用途，其中式(A)的化合物经口服施用。

[0094] 项目16.根据项目1-15中任一项所述的用途,其中式(A)的化合物与一种或更多种另外的治疗剂组合施用。

[0095] 项目17.根据项目16所述的用途,其中所述另外的治疗剂是皮质类固醇、环孢菌素(CSA)、霉酚酸吗乙酯(MMF)或其组合。

[0096] 通过引用并入

[0097] 本说明书中提到的所有出版物、专利和专利申请通过引用并入本文,其程度如同每个单独出版物、专利或专利申请被具体和单独地指明通过引用并入的相同程度。

[0098] 附图简述

[0099] 本发明的新颖的特征在所附权利要求书中详细陈述。本发明的特征和优势的更好的理解将通过参考陈述其中利用本发明的原理的说明性实施方案的以下详细说明和附图来获得,在附图中:

[0100] 图1A-1E示例了依鲁替尼缓解了同种异体移植后的cGVHD症状学。850cGy致死照射后,用LP/J骨髓移植C57BL/6小鼠。移植后25天,小鼠被随机地分配到依鲁替尼、媒介物或环孢菌素组。图1A示出了示出了在移植后36天的cGVHD的外部信号,包括脱发、硬皮病和纤维化病变的图。依鲁替尼治疗组显示出几乎没有cGVHD进展的外部信号,如与媒介物或环孢菌素组相比的。图1B示出了使用调整自Cooke等人的生理评分系统对cGVHD小鼠组的分析,该生理评分系统纳入了重量、姿势(posture)、毛发状况(coat condition)、皮肤状况和运动性。评分在移植后36天进行。图1C示出了LP/J→C57BL/6cGVHD评分。每个类别:独立地为毛发状况、皮肤状况、重量、姿势、运动性和生命力评分并求和以获得总体cGVHD状况评分。由一致的、中立的、不知晓治疗群组的观察者进行评分。图1D提供了HSCT后39天的cGVHD小鼠组的图像。图1E提供了硬皮病的皮肤病变的H&E染色的皮肤制备物的图像,该图像示出了真皮纤维化、表皮增生、血清细胞结痂(serocellular crusting)、侵蚀和淋巴组织细胞浸润的水平,与cGVHD一致。

[0101] 图2A-2B示例了Treg不被依鲁替尼抑制。图2A提供了用依鲁替尼(25mg/kg/天)或媒介物治疗9周的C57BL/6小鼠中的FoxP3+CD4+细胞的图。通过对外周血进行流式细胞术分析FoxP3+CD4+细胞的百分数。学生T-检验表明两组之间没有显著差异。图2B提供了不同响应细胞:抑制剂比的CD8⁺T细胞分裂指数的图。经纯化的CD4+CD25^{hi}CD127^{dim}CD49d-FoxP3+Treg用1 μ M依鲁替尼或媒介物预处理,并且以预定比例与CFSE-标记的自体同源的CD8⁺响应细胞混合。加入抗-CD3/CD28/CD2刺激珠,并且在6天后用CFSE稀释计算的分裂指数评价刺激。阴性对照孔不包含刺激珠。 $n=7$;误差棒:s.e.m.

[0102] 图3A-3B示例了Th2免疫被依鲁替尼抑制。图3A提供了用依鲁替尼预处理并且用抗-CD3/抗-CD28刺激获得的IL4(空心棒 $n=6$)和IFN γ (实心棒 $n=9$)CD4+细胞的归一化的细胞内染色分析的图。误差棒=s.e.m.图3B提供了在连续7个月通过饮水施用依鲁替尼(25mg/kg/天)($n=12$)或媒介物($n=13$)后,8月龄C57BL/6E μ TCL1小鼠的血浆IgG1(Th2)和IgG2c(Th1)亚同种型分析。

[0103] 图4示例了Th17免疫被依鲁替尼抑制。使用CXCR3-CD4+CCL6⁺分离从新鲜分离的健康供体PBMC中用磁力富集Th17细胞。富集后,将细胞用依鲁替尼或媒介物处理30分钟,然后洗脱药物。用抗-CD3和抗-CD28和GOLGISTOP蛋白质转运抑制剂刺激细胞12小时。产IL17细胞被定量为总活CD4⁺T-细胞的百分数,并且最终百分数归一化到DMSO组。 $n=3$;误差棒:

s.e.m.

[0104] 图5A-5B示例了依鲁替尼抑制了cGVHD自身免疫症状学和进展。图5A提供了的cGVHD外部指标的每周盲分析的图,cGVHD外部指标包括重量、姿势、生存力、运动性、皮毛和皮肤。所有cGVHD评分用治疗开始时的个体评分校正(第25天)。图5B提供了cGVHD无进展存活率的Kaplan Meier图。进展被定义为在第25天cGVHD评分中>2分的增加。*= $p < 0.01$ 误差棒=s.e.m.

[0105] 图6A-6D示例了cGVHD的T-细胞依赖模型中,依鲁替尼疗法抵抗内脏的自身免疫性浸润。图6A示出了来自在HSCT后125天处死的小鼠的H&E、B220或CD3染色的肺和肾组织的代表性的20X图像。照片由经过训练的、对动物群组不知情的兽医病理学家拍摄。图6B示出了获自cGVHD群组的H&E染色的肺组织的盲法病理学分析。对于每个动物,以0-4量表对淋巴组织细胞浸润分级。图6C示出了获自cGVHD群组的H&E染色的肝组织的盲法病理学分析。对于每个动物,以0-4量表对门脉肝炎(portal hepatitis)和脉管炎(vasculitis)分级。图6D示出了独立试验中cGVHD无进展存活率的Kaplan Meier图,该独立试验目的在于确定来自连续依鲁替尼疗法的持续的益处。在实验期间,在第60天在依鲁替尼群组中的动物停止依鲁替尼。** $P < 0.001$ 。

[0106] 图7A-7B示例了依鲁替尼限制来自患有活跃cGVHD的患者的T-细胞和B-细胞的活化。从患有活跃cGVHD的患者分离初级CD4+T-细胞,用1 μ M依鲁替尼(或DMSO)预处理,并使用抗-CD3刺激6小时。图7A示出了描绘每位患者的CD69+CD4+T-细胞百分数的图表。“*”指 $p < 0.05$ 。图7B示出了分离自患cGVHD的患者的B-细胞中BTK、ERK和PLC γ 2的免疫印迹分析的图像,所述B-细胞用依鲁替尼(或DMSO)预处理并且用抗-IgM刺激45分钟。数据代表3名单独的患者的3个试验。

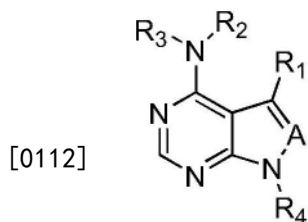
[0107] 图8示例了患难治的CLL伴随口咽慢性GVHD的同种异体HCT移植后患者的依鲁替尼(PCI-32765)治疗的临床研究。示出了在同种异体HCT移植后随着时间的CLL轻微后遗症(minimum residual disease,MRD)和血液CD3+T细胞供体嵌合。指出了供体淋巴细胞输注(DLI)和依鲁替尼治疗的开始(见实施例5的示例性治疗方案)。

[0108] 图9示出了在与OVA转基因小鼠杂交的AML鼠模型中,同种异体移植和用依鲁替尼、环孢菌素或媒介物(如图中所示)治疗后,由于复发和急性GVHD死亡的图。

[0109] 图10A-10E示出了描绘以下的图:2名接受依鲁替尼治疗>1年的患者的绝对淋巴细胞计数(ALC)的变化百分数,SPN=斯坦福患者编号(图10A);4名依鲁替尼开始后的患者的LN尺寸的降低百分数,如通过LN直径的积的和(SPD)报告的(图10B);为患者SPN3975示出的CLL MRD(报告为WBC的百分数)和血液供体CD3 T细胞水平(图10C);患者SPN 3975的B细胞(不包括CLL克隆)占总PBMC的百分数,如通过IgH HTS测量的(图10D);同种异体HCT后不同时间点(D=天)患者SPN 3975的总IgH分子和独特的IgH克隆计数(图10E)。

[0110] 发明详述

[0111] 在一些实施方案中,本文公开了在需要细胞移植的患者中预防移植物抗宿主病(GVHD)的发生或降低GVHD发生的严重性的方法,包括施用ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂化合物)。在一些实施方案中,本文公开了在需要细胞移植的患者中预防移植物抗宿主病(GVHD)的发生或降低GVHD发生的严重性的方法,包括施用治疗有效量的式(A)的化合物,其具有结构:



式(A);

[0113] 其中:

[0114] A是N;

[0115] R₁是苯基-0-苯基或苯基-S-苯基;

[0116] R₂和R₃独立地为H;

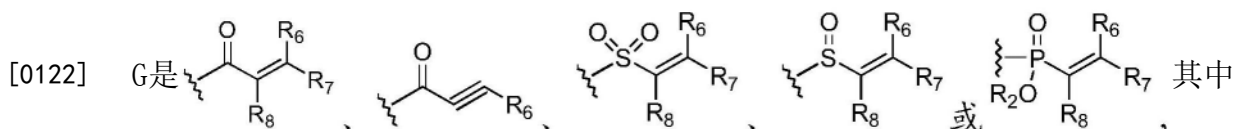
[0117] R₄是L₃-X-L₄-G,其中,

[0118] L₃是任选的,并且当存在时是键、任选地被取代的或未被取代的烃基、任选地被取代的或未被取代的环烃基、任选地被取代的或未被取代的烯基、任选地被取代的或未被取代的炔基;

[0119] X是任选的,并且当存在时是键、-O-、-C(=O)-、-S-、-S(=O)-、-S(=O)₂-、-NH-、-NR₉-、-NHC(O)-、-C(O)NH-、-NR₉C(O)-、-C(O)NR₉-、-S(=O)₂NH-、-NHS(=O)₂-、-S(=O)₂NR₉-、-NR₉S(=O)₂-、-OC(O)NH-、-NHC(O)O-、-OC(O)NR₉-、-NR₉C(O)O-、-CH=NO-、-ON=CH-、-NR₁₀C(O)NR₁₀-、杂芳基-、芳基-、-NR₁₀C(=NR₁₁)NR₁₀-、-NR₁₀C(=NR₁₁)-、-C(=NR₁₁)NR₁₀-、-OC(=NR₁₁)-或-C(=NR₁₁)O-;

[0120] L₄是任选的,并且当存在时是键、被取代的或未被取代的烃基、被取代的或未被取代的环烃基、被取代的或未被取代的烯基、被取代的或未被取代的炔基、被取代的或未被取代的芳基、被取代的或未被取代的杂芳基、被取代的或未被取代的杂环;

[0121] 或L₃、X和L₄一起形成包含氮的杂环;



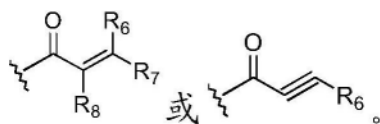
[0123] R₆、R₇和R₈独立地选自H、卤素、CN、OH、被取代的或未被取代的烃基或被取代的或未被取代的杂烃基或被取代的或未被取代的环烃基、被取代的或未被取代的杂环烃基、被取代的或未被取代的芳基、被取代的或未被取代的杂芳基;

[0124] 每个R₉独立地选自H、被取代的或未被取代的低级烃基,以及被取代的或未被取代的低级环烃基;

[0125] 每个R₁₀独立地为H、被取代的或未被取代的低级烃基,或被取代的或未被取代的低级环烃基;或者

[0126] 两个R₁₀基团可以一起形成5-、6-、7-或8-元杂环;或者

[0127] R₁₀和R₁₁可以一起形成5-、6-、7-或8-元杂环;或者每个R₁₁独立地选自H或被取代的或未被取代的烃基;或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,L₃、X和L₄一起形成包含氮的杂环。在一些实施方案中,包含氮的杂环是哌啶基团。在一些实施方案中,G是

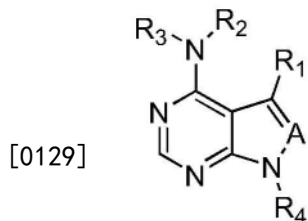


在一些实施方案中,式(A)的化合物是1-[(3R)-3-[4-氨基-3-

(4-苯氧基苯基)吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基]哌啶-1-基]丙-2-烯-1-酮。在一些实施方案中,患者患有癌症。在一些实施方案中,患者患有血液性恶性肿瘤。在一些实施方案中,患者患有B-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中,患者患有T-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中,患者患有白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。在一些实施方案中,患者患有B-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是非霍奇金淋巴瘤。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是慢性淋巴细胞白血病(CLL)。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的B-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的非霍奇金淋巴瘤。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的CLL。在一些实施方案中,患者患有高风险CLL。在一些实施方案中,患者具有17p染色体缺失。在一些实施方案中,患者具有10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更高的CLL,如通过骨髓活组织检查确定的。在一些实施方案中,患者已经接受过一种或更多种在先的抗癌剂。在一些实施方案中,抗癌剂选自阿仑珠单抗、苯达莫司汀、硼替佐米、CAL-101、苯丁酸氮芥、环磷酰胺、地塞米松、多西紫杉醇、阿霉素、内皮抑素、依维莫司、依托泊苷、氟达拉滨、fostamatinib、羟基道诺红菌素、替伊莫单抗、异环磷酰胺、来那度胺、美沙拉嗪、奥法木单抗、紫杉醇、喷司他汀、泼尼松、利妥昔单抗、temsirolimus、酰胺哌啶酮、托西莫单抗、长春新碱或其组合。在一些实施方案中,抗癌剂是利妥昔单抗。在一些实施方案中,抗癌剂是阿仑珠单抗。在一些实施方案中,抗癌剂是氟达拉滨、环磷酰胺和利妥昔单抗(FCR)。在一些实施方案中,抗癌剂是奥沙利铂、氟达拉滨、阿糖胞苷、利妥昔单抗(OFAR)。在一些实施方案中,式(A)的化合物的量预防或降低GVHD同时保持对降低或清除所述患者血液中的癌细胞的数量有效的移植物抗白血病(GVL)反应。在一些实施方案中,细胞移植是造血细胞移植。在一些实施方案中,GVHD是急性GVHD。在一些实施方案中,GVHD是慢性GVHD。在一些实施方案中,GVHD是硬皮病的GVHD。在一些实施方案中,GVHD是耐甾族化合物的GVHD。在一些实施方案中,GVHD是耐环孢菌素GVHD。在某些实施方案中,GVHD是难治的GVHD。在某些实施方案中,GVHD是口腔GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是网状口腔GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是侵蚀性口腔GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是溃疡性口腔GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是口腔腔体的GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是口咽区域的GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是咽部区域的GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是食管区域的GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是急性口腔GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是慢性口腔GVHD。在一些实施方案中,患者表现出GVHD的一个或更多个症状。在一些实施方案中,患者已经接受过或将要接受同种异体骨髓或造血干细胞移植。在一些实施方案中,式(A)的化合物的施用与同种异体骨髓或造血干细胞移植并行地进行。在一些实施方案中,式(A)的化合物的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植之前进行。在一些实施方案中,式(A)的化合物的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植之后进行。在一些实施方案中,患者是接受HLA-错配造血干细胞的候选人。在一些实施方案中,患者是接受无亲缘关系的供体的造血干细胞、脐静脉造血干细胞或外周血干细胞的候选人。在一些实施方案中,式(A)的化合物以约0.1mg/kg/天至约100mg/kg/天之间的剂量施用。在一些实施方案中,式(A)的化合物以约40mg/天、约140mg/天、约280mg/天、约

420mg/天、约560mg/天或约840mg/天的剂量施用。在一些实施方案中，式(A)的化合物与另外的治疗剂组合施用。在一些实施方案中，所述另外的治疗剂是皮质类固醇。在一些实施方案中，另外的治疗剂是环孢菌素(CSA)、霉酚酸吗乙酯(MMF)或其组合。在一些实施方案中，式(A)的化合物经口服施用。在一些实施方案中，式(A)的化合物从同种异体骨髓或造血干细胞移植后第1天至约第120天施用。在一些实施方案中，式(A)的化合物从同种异体骨髓或造血干细胞移植后第1天至约第1000天施用。在一些实施方案中，向患者施用一次或更多次供体淋巴细胞输注(DLI)。在一些实施方案中，DLI包含CD3+淋巴细胞。在一些实施方案中，在同种异体骨髓或造血干细胞移植后向患者施用一次或更多次供体淋巴细胞输注(DLI)。在一些实施方案中，式(A)的化合物的施用与同种异体骨髓或造血干细胞移植后的DLI并行地进行。在一些实施方案中，式(A)的化合物的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植后的DLI之前进行。在一些实施方案中，式(A)的化合物的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植后的DLI之后进行。在一些实施方案中，式(A)的化合物是依鲁替尼。

[0128] 在一些实施方案中，本文公开了治疗患者以减轻骨髓介导的疾病，以及减轻随之而来发展的移植物抗宿主病(GVHD)的方法，包括向患者施用同种异体造血干细胞和/或同种异体T-细胞，其中治疗有效量的式(A)的化合物：



式(A)；

[0130] 其中：

[0131] A是N；

[0132] R₁是苯基-O-苯基或苯基-S-苯基；

[0133] R₂和R₃独立地为H；

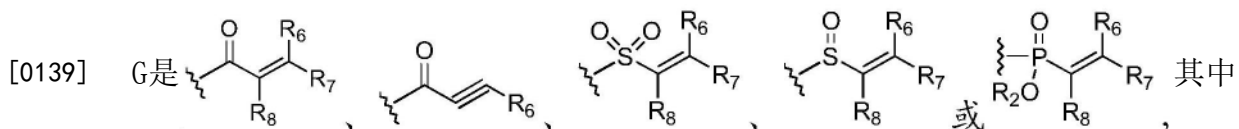
[0134] R₄是L₃-X-L₄-G，其中，

[0135] L₃是任选的，并且当存在时是键、任选地被取代的或未被取代的烷基、任选地被取代的或未被取代的环烷基、任选地被取代的或未被取代的烯基、任选地被取代的或未被取代的炔基；

[0136] X是任选的，并且当存在时是键、-O-、-C(=O)-、-S-、-S(=O)-、-S(=O)₂-、-NH-、-NR₉-、-NHC(O)-、-C(O)NH-、-NR₉C(O)-、-C(O)NR₉-、-S(=O)₂NH-、-NHS(=O)₂-、-S(=O)₂NR₉-、-NR₉S(=O)₂-、-OC(O)NH-、-NHC(O)O-、-OC(O)NR₉-、-NR₉C(O)O-、-CH=NO-、-ON=CH-、-NR₁₀C(O)NR₁₀-、杂芳基-、芳基-、-NR₁₀C(=NR₁₁)NR₁₀-、-NR₁₀C(=NR₁₁)-、-C(=NR₁₁)NR₁₀-、-OC(=NR₁₁)-或-C(=NR₁₁)O-；

[0137] L₄是任选的，并且当存在时是键、被取代的或未被取代的烷基、被取代的或未被取代的环烷基、被取代的或未被取代的烯基、被取代的或未被取代的炔基、被取代的或未被取代的芳基、被取代的或未被取代的杂芳基、被取代的或未被取代的杂环；

[0138] 或L₃、X和L₄一起形成包含氮的杂环；



[0140] R_6 、 R_7 和 R_8 独立地选自H、卤素、CN、OH、被取代的或未被取代的烷基或被取代的或未被取代的杂烷基或被取代的或未被取代的环烷基、被取代的或未被取代的杂环烷基、被取代的或未被取代的芳基、被取代的或未被取代的杂芳基；

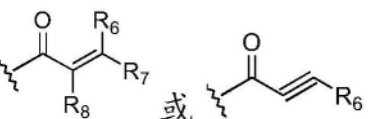
[0141] 每个 R_9 独立地选自H、被取代的或未被取代的低级烷基，以及被取代的或未被取代的低级环烷基；

[0142] 每个 R_{10} 独立地为H、被取代的或未被取代的低级烷基，或被取代的或未被取代的低级环烷基；或者

[0143] 两个 R_{10} 基团可以一起形成5-、6-、7-或8-元杂环；或者

[0144] R_{10} 和 R_{11} 可以一起形成5-、6-、7-或8-元杂环；或者

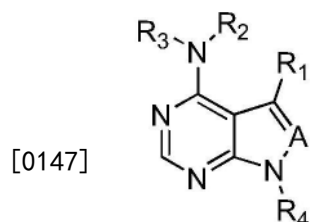
[0145] 每个 R_{11} 独立地选自H或被取代的或未被取代的烷基；或其药学上可接受的盐，在同种异体造血干细胞和/或同种异体T-细胞的施用之前、与之并行地或之后施用。在一些实施方案中， L_3 、X和 L_4 一起形成包含氮的杂环。在一些实施方案中，包含氮的杂环是哌啶基团。在

一些实施方案中，G是  在一些实施方案中，式(A)的化合物是1-

[(3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基]哌啶-1-基]丙-2-烯-1-酮。在一些实施方案中，患者患有癌症。在一些实施方案中，患者患有血液性恶性肿瘤。在一些实施方案中，患者患有B-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中，患者患有T-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中，患者患有白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。在一些实施方案中，患者患有B-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中，B-细胞恶性肿瘤是非霍奇金淋巴瘤。在一些实施方案中，B-细胞恶性肿瘤是慢性淋巴细胞白血病(CLL)。在一些实施方案中，B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的B-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中，B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的非霍奇金淋巴瘤。在一些实施方案中，B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的CLL。在一些实施方案中，患者患有高风险CLL。在一些实施方案中，患者具有17p染色体缺失。在一些实施方案中，患者具有10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更高的CLL，如通过骨髓活组织检查确定的。在一些实施方案中，患者已经接受过一种或更多种在前的抗癌剂。在一些实施方案中，抗癌剂选自阿仑珠单抗、苯达莫司汀、硼替佐米、CAL-101、苯丁酸氮芥、环磷酰胺、地塞米松、多西紫杉醇、阿霉素、内皮抑素、依维莫司、依托泊苷、氟达拉滨、fostamatinib、羟基道诺红菌素、替伊莫单抗、异环磷酰胺、来那度胺、美沙拉嗪、奥法木单抗、紫杉醇、喷司他汀、泼尼松、利妥昔单抗、temsirolimus、酰胺哌啶酮、托西莫单抗、长春新碱或其组合。在一些实施方案中，抗癌剂是利妥昔单抗。在一些实施方案中，抗癌剂是阿仑珠单抗。在一些实施方案中，抗癌剂是氟达拉滨、环磷酰胺和利妥昔单抗(FCR)。在一些实施方案中，抗癌剂是奥沙利铂、氟达拉滨、阿糖胞苷、利妥昔单抗(OFAR)。在一些实施方案中，式(A)的化合物的量预防或降低GVHD同时保持对降低或清除所述患者血液中的癌细胞的数量有效的移植物抗白血病(GVL)反应。在一些实施方案中，细胞移植是造血细胞移植。在一些实施方案中，GVHD是急性GVHD。在一些实施方案中，GVHD是慢性GVHD。在一些实施方

案中, GVHD是硬皮病的GVHD。在一些实施方案中, GVHD是耐甾族化合物的GVHD。在一些实施方案中, GVHD是耐环孢菌素GVHD。在某些实施方案中, GVHD是难治的GVHD。在某些实施方案中, GVHD是口腔GVHD。在一些实施方案中, 口腔GVHD是网状口腔GVHD。在一些实施方案中, 口腔GVHD是侵蚀性口腔GVHD。在一些实施方案中, 口腔GVHD是溃疡性口腔GVHD。在一些实施方案中, 口腔GVHD是口腔腔体的GVHD。在一些实施方案中, 口腔GVHD是口咽区域的GVHD。在一些实施方案中, 口腔GVHD是咽部区域的GVHD。在一些实施方案中, 口腔GVHD是食管区域的GVHD。在一些实施方案中, 口腔GVHD是急性口腔GVHD。在一些实施方案中, 口腔GVHD是慢性口腔GVHD。在一些实施方案中, 患者表现出GVHD的一个或更多个症状。在一些实施方案中, 患者已经接受过或将要接受同种异体骨髓或造血干细胞移植。在一些实施方案中, 式(A)的化合物的施用与同种异体骨髓或造血干细胞移植并行地进行。在一些实施方案中, 式(A)的化合物的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植之前进行。在一些实施方案中, 式(A)的化合物的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植之后进行。在一些实施方案中, 患者是接受HLA-错配造血干细胞的候选人。在一些实施方案中, 患者是接受无亲缘关系的供体的造血干细胞、脐静脉造血干细胞或外周血干细胞的候选人。在一些实施方案中, 式(A)的化合物以约0.1mg/kg/天至约100mg/kg/天之间的剂量施用。在一些实施方案中, 式(A)的化合物以约40mg/天、约140mg/天、约280mg/天、约420mg/天、约560mg/天或约840mg/天的剂量施用。在一些实施方案中, 式(A)的化合物与另外的治疗剂组合施用。在一些实施方案中, 所述另外的治疗剂是皮质类固醇。在一些实施方案中, 治疗剂是环孢菌素(CSA)、霉酚酸吗乙酯(MMF)或其组合。在一些实施方案中, 式(A)的化合物经口服施用。在一些实施方案中, 式(A)的化合物从同种异体骨髓或造血干细胞移植后第1天至约第120天施用。在一些实施方案中, 式(A)的化合物从同种异体骨髓或造血干细胞移植后第1天至约第1000天施用。在一些实施方案中, 向患者施用一次或更多次供体淋巴细胞输注(DLI)。在一些实施方案中, DLI包含CD3⁺淋巴细胞。在一些实施方案中, 在同种异体骨髓或造血干细胞移植后向患者施用一次或更多次供体淋巴细胞输注(DLI)。在一些实施方案中, 式(A)的化合物的施用与同种异体骨髓或造血干细胞移植后的DLI并行地进行。在一些实施方案中, 式(A)的化合物的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植后的DLI之前进行。在一些实施方案中, 式(A)的化合物的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植后的DLI之后进行。在一些实施方案中, 式(A)的化合物是依鲁替尼。

[0146] 在一些实施方案中, 提供了式(A)的化合物用于在需要细胞移植的患者中预防移植抗宿主病(GVHD)的发生或降低GVHD发生的严重性的用途, 其中式(A)具有结构:



式(A);

[0148] 其中:

[0149] A是N;

[0150] R_1 是苯基-O-苯基或苯基-S-苯基;

[0151] R_2 和 R_3 独立地为H;

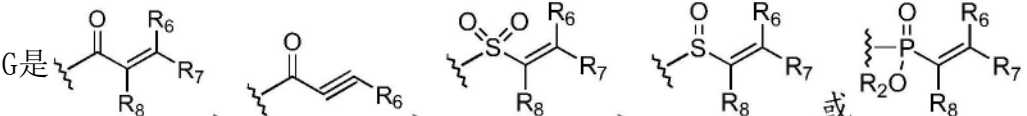
[0152] R_4 是 L_3 -X- L_4 -G,其中,

[0153] L_3 是任选的,并且当存在时是键、任选地被取代的或未被取代的烃基、任选地被取代的或未被取代的环烃基、任选地被取代的或未被取代的烯基、任选地被取代的或未被取代的炔基;

[0154] X是任选的,并且当存在时是键、-O-、-C(=O)-、-S-、-S(=O)-、-S(=O)₂-、-NH-、-NR₉-、-NHC(O)-、-C(O)NH-、-NR₉C(O)-、-C(O)NR₉-、-S(=O)₂NH-、-NHS(=O)₂-、-S(=O)₂NR₉-、-NR₉S(=O)₂-、-OC(O)NH-、-NHC(O)O-、-OC(O)NR₉-、-NR₉C(O)O-、-CH=NO-、-ON=CH-、-NR₁₀C(O)NR₁₀-、杂芳基-、芳基-、-NR₁₀C(=NR₁₁)NR₁₀-、-NR₁₀C(=NR₁₁)-、-C(=NR₁₁)NR₁₀-、-OC(=NR₁₁)-或-C(=NR₁₁)O-;

[0155] L_4 是任选的,并且当存在时是键、被取代的或未被取代的烃基、被取代的或未被取代的环烃基、被取代的或未被取代的烯基、被取代的或未被取代的炔基、被取代的或未被取代的芳基、被取代的或未被取代的杂芳基、被取代的或未被取代的杂环;

[0156] 或 L_3 、X和 L_4 一起形成包含氮的杂环;

[0157] G是  , 其中

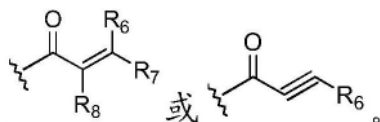
[0158] R_6 、 R_7 和 R_8 独立地选自H、卤素、CN、OH、被取代的或未被取代的烃基或被取代的或未被取代的杂烃基或被取代的或未被取代的环烃基、被取代的或未被取代的杂环烃基、被取代的或未被取代的芳基、被取代的或未被取代的杂芳基;

[0159] 每个 R_9 独立地选自H、被取代的或未被取代的低级烃基,以及被取代的或未被取代的低级环烃基;

[0160] 每个 R_{10} 独立地为H、被取代的或未被取代的低级烃基,或被取代的或未被取代的低级环烃基;或者

[0161] 两个 R_{10} 基团可以一起形成5-、6-、7-或8-元杂环;或者

[0162] R_{10} 和 R_{11} 可以一起形成5-、6-、7-或8-元杂环;或者每个 R_{11} 独立地选自H或被取代的或未被取代的烃基;或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中, L_3 、X和 L_4 一起形成包含氮的杂环。在一些实施方案中,包含氮的杂环是哌啶基团。在一些实施方案中,G是



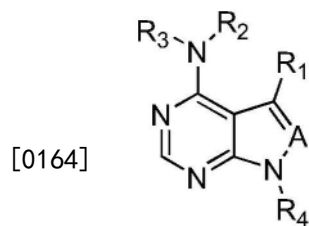
在一些实施方案中,式(A)的化合物是1-[(3R)-3-[4-氨基-3-

(4-苯氧基苯基)吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基]哌啶-1-基]丙-2-烯-1-酮。在一些实施方案中,患者患有癌症。在一些实施方案中,患者患有血液性恶性肿瘤。在一些实施方案中,患者患有复发的或难治的血液性恶性肿瘤。在一些实施方案中,患者患有B-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中,患者患有T-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中,患者患有白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是非霍奇金淋巴瘤。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是慢性淋巴细胞白血病(CLL)。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的B-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的非霍奇金淋

巴瘤。在一些实施方案中，B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的CLL。在一些实施方案中，患者患有高风险CLL。在一些实施方案中，患者具有17p染色体缺失。在一些实施方案中，患者具有10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更高的CLL，如通过骨髓活组织检查确定的。在一些实施方案中，患者已经接受过一种或更多种在前的抗癌剂。在一些实施方案中，抗癌剂选自阿仑珠单抗、苯达莫司汀、硼替佐米、CAL-101、苯丁酸氮芥、环磷酰胺、地塞米松、多西紫杉醇、阿霉素、内皮抑素、依维莫司、依托泊苷、氟达拉滨、fostamatinib、羟基道诺红菌素、替伊莫单抗、异环磷酰胺、来那度胺、美沙拉嗪、奥法木单抗、紫杉醇、喷司他汀、泼尼松、利妥昔单抗、temsirolimus、酰胺哌啶酮、托西莫单抗、长春新碱或其组合。在一些实施方案中，抗癌剂是利妥昔单抗。在一些实施方案中，抗癌剂是阿仑珠单抗。在一些实施方案中，抗癌剂是氟达拉滨、环磷酰胺和利妥昔单抗 (FCR)。在一些实施方案中，抗癌剂是奥沙利铂、氟达拉滨、阿糖胞苷、利妥昔单抗 (OFAR)。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 的量预防或降低GVHD同时保持对降低或清除所述患者血液中的癌细胞的数量的有效的移植物抗白血病 (GVL) 反应。在一些实施方案中，细胞移植是造血细胞移植。在一些实施方案中，GVHD是急性GVHD。在一些实施方案中，GVHD是慢性GVHD。在一些实施方案中，GVHD是硬皮病的GVHD。在一些实施方案中，GVHD是耐甾族化合物的GVHD。在一些实施方案中，GVHD是耐环孢菌素GVHD。在一些实施方案中，GVHD是难治的GVHD。在一些实施方案中，GVHD是口腔GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是网状口腔GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是侵蚀性口腔GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是溃疡性口腔GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是口腔腔体的GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是咽喉区域的GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是咽部区域的GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是食管区域的GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是急性口腔GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是慢性口腔GVHD。在一些实施方案中，患者表现出GVHD的一个或更多个症状。在一些实施方案中，患者已经接受过或将要接受同种异体骨髓或造血干细胞移植。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 的施用与同种异体骨髓或造血干细胞移植并行地进行。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植之前进行。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植之后进行。在一些实施方案中，患者是接受HLA-错配造血干细胞的候选人。在一些实施方案中，患者是接受无亲缘关系的供体的造血干细胞、脐静脉造血干细胞或外周血干细胞的候选人。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 经口服施用。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 以约0.1mg/kg/天至约100mg/kg/天之间的剂量施用。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 以约40mg/天、约140mg/天、约280mg/天、约420mg/天、约560mg/天或约840mg/天的剂量施用。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 与其他治疗剂组合施用。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 从同种异体骨髓或造血干细胞移植后第1天至约第120天施用。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 从同种异体骨髓或造血干细胞移植后第1天至约第1000天施用。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物 (例如，式 (A) 的化合物) 与一种或更多种另外的治疗剂组合施用。在一些实施方案中，所述另外的治疗剂是皮质类固醇。在一些实施方案中，治疗剂是环孢菌素 (CSA)、霉酚酸吗乙酯 (MMF) 或其组合。在一些实施方案中，患者已经接受过或

将要接受供体淋巴细胞输注(DLI)。在一些实施方案中,向患者施用一次或更多次DLI。在一些实施方案中,向患者施用两次或更多次DLI。在一些实施方案中,DLI包含CD3+淋巴细胞。在一些实施方案中,在同种异体骨髓或造血干细胞移植后向患者施用一次或更多次供体淋巴细胞输注(DLI)。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)的施用与同种异体骨髓或造血干细胞移植后的DLI并行地进行。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植后的DLI之前进行。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植后的DLI之后进行。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)是依鲁替尼。

[0163] 在一些实施方案中,提供了式(A)的化合物与同种异体的造血干细胞和/或同种异体的T-细胞用于治疗患者以减轻骨髓介导的疾病,以及减轻随之发生的移植物抗宿主病(GVHD)的用途,其中式(A)的化合物具有结构:



式(A);

[0165] 其中:

[0166] A是N;

[0167] R₁是苯基-O-苯基或苯基-S-苯基;

[0168] R₂和R₃独立地为H;

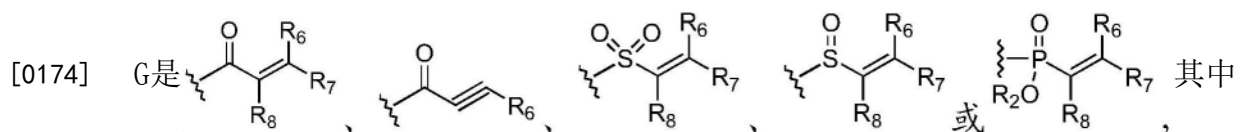
[0169] R₄是L₃-X-L₄-G,其中,

[0170] L₃是任选的,并且当存在时是键、任选地被取代的或未被取代的烷基、任选地被取代的或未被取代的环烷基、任选地被取代的或未被取代的烯基、任选地被取代的或未被取代的炔基;

[0171] X是任选的,并且当存在时是键、-O-、-C(=O)-、-S-、-S(=O)-、-S(=O)₂-、-NH-、-NR₉-、-NHC(O)-、-C(O)NH-、-NR₉C(O)-、-C(O)NR₉-、-S(=O)₂NH-、-NHS(=O)₂-、-S(=O)₂NR₉-、-NR₉S(=O)₂-、-OC(O)NH-、-NHC(O)O-、-OC(O)NR₉-、-NR₉C(O)O-、-CH=NO-、-ON=CH-、-NR₁₀C(O)NR₁₀-、杂芳基-、芳基-、-NR₁₀C(=NR₁₁)NR₁₀-、-NR₁₀C(=NR₁₁)-、-C(=NR₁₁)NR₁₀-、-OC(=NR₁₁)-或-C(=NR₁₁)O-;

[0172] L₄是任选的,并且当存在时是键、被取代的或未被取代的烷基、被取代的或未被取代的环烷基、被取代的或未被取代的烯基、被取代的或未被取代的炔基、被取代的或未被取代的芳基、被取代的或未被取代的杂芳基、被取代的或未被取代的杂环;

[0173] 或L₃、X和L₄一起形成包含氮的杂环;



[0175] R_6 、 R_7 和 R_8 独立地选自H、卤素、CN、OH、被取代的或未被取代的烃基或被取代的或未被取代的杂烃基或被取代的或未被取代的环烃基、被取代的或未被取代的杂环烃基、被取代的或未被取代的芳基、被取代的或未被取代的杂芳基；

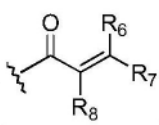
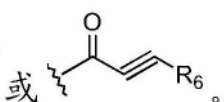
[0176] 每个 R_9 独立地选自H、被取代的或未被取代的低级烃基，以及被取代的或未被取代的低级环烃基；

[0177] 每个 R_{10} 独立地为H、被取代的或未被取代的低级烃基，或被取代的或未被取代的低级环烃基；或者

[0178] 两个 R_{10} 基团可以一起形成5-、6-、7-或8-元杂环；或者

[0179] R_{10} 和 R_{11} 可以一起形成5-、6-、7-或8-元杂环；或者

[0180] 每个 R_{11} 独立地选自H或被取代的或未被取代的烃基；或其药学上可接受的盐，并且在所述同种异体的造血干细胞和/或同种异体的T-细胞的施用之前、与之并行地或之后施用。在一些实施方案中， L_3 、X和 L_4 一起形成包含氮的杂环。在一些实施方案中，包含氮的杂环

是哌啶基团。在一些实施方案中，G是  或  在一些实施方案中，式(A)

的化合物是1-[(3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基]哌啶-1-基]丙-2-烯-1-酮。在一些实施方案中，患者患有癌症。在一些实施方案中，患者患有血液性恶性肿瘤。在一些实施方案中，患者患有复发的或难治的血液性恶性肿瘤。在一些实施方案中，患者患有B-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中，患者患有T-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中，患者患有白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。在一些实施方案中，B-细胞恶性肿瘤是非霍奇金淋巴瘤。在一些实施方案中，B-细胞恶性肿瘤是慢性淋巴细胞白血病(CLL)。在一些实施方案中，B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的B-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中，B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的非霍奇金淋巴瘤。在一些实施方案中，B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的CLL。在一些实施方案中，患者患有高风险CLL。在一些实施方案中，患者具有17p染色体缺失。在一些实施方案中，患者具有10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更高的CLL，如通过骨髓活组织检查确定的。在一些实施方案中，患者已经接受过一种或更多种在先的抗癌剂。在一些实施方案中，抗癌剂选自阿仑珠单抗、苯达莫司汀、硼替佐米、CAL-101、苯丁酸氮芥、环磷酰胺、地塞米松、多西紫杉醇、阿霉素、内皮抑素、依维莫司、依托泊苷、氟达拉滨、fostamatinib、羟基道诺红菌素、替伊莫单抗、异环磷酰胺、来那度胺、美沙拉嗪、奥法木单抗、紫杉醇、喷司他汀、泼尼松、利妥昔单抗、temsirolimus、酰胺哌啶酮、托西莫单抗、长春新碱或其组合。在一些实施方案中，抗癌剂是利妥昔单抗。在一些实施方案中，抗癌剂是阿仑珠单抗。在一些实施方案中，抗癌剂是氟达拉滨、环磷酰胺和利妥昔单抗(FCR)。在一些实施方案中，抗癌剂是奥沙利铂、氟达拉滨、阿糖胞苷、利妥昔单抗(OFAR)。在一些实施方案中，ACK抑制剂化合物(例如，式(A)的化合物)的量预防或降低GVHD同时保持对降低或清除所述患者血液中的癌细胞的数量有效的移植物抗白血病(GVL)反应。在一些实施方案中，细胞移植是造血细胞移植。在一些实施方案中，GVHD是急性GVHD。在一些实施方案中，GVHD是慢性GVHD。在一些实施方案中，GVHD是耐甾族化合物的GVHD。在一些实施方案中，GVHD是耐环孢菌素GVHD。在一些实施方案中，GVHD是难治的GVHD。在一些实施方案中，GVHD是口腔GVHD。在一些实施方案中，口腔GVHD是网状口腔GVHD。在一些实施方

案中,口腔GVHD是侵蚀性口腔GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是溃疡性口腔GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是口腔腔体的GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是口咽区域的GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是咽部区域的GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是食管区域的GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是急性口腔GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是慢性口腔GVHD。在一些实施方案中,患者表现出GVHD的一个或更多个症状。在一些实施方案中,患者已经接受过或将要接受同种异体骨髓或造血干细胞移植。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)的施用与同种异体骨髓或造血干细胞移植并行地进行。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植之前进行。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植之后进行。在一些实施方案中,患者是接受HLA-错配造血干细胞的候选人。在一些实施方案中,患者是接受无亲缘关系的供体的造血干细胞、脐静脉造血干细胞或外周血干细胞的候选人。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)经口服施用。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)以约0.1mg/kg/天至约100mg/kg/天之间的剂量施用。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)以约40mg/天、约140mg/天、约280mg/天、约420mg/天、约560mg/天或约840mg/天的剂量施用。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)与其他预防剂组合施用。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)从同种异体骨髓或造血干细胞移植后第1天至约第120天施用。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)从同种异体骨髓或造血干细胞移植后第1天至约第1000天施用。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)与一种或更多种另外的治疗剂组合施用。在一些实施方案中,所述另外的治疗剂是皮质类固醇。在一些实施方案中,治疗剂是环孢菌素(CSA)、霉酚酸吗乙酯(MMF)或其组合。在一些实施方案中,患者已经接受过或将要接受供体淋巴细胞输注(DLI)。在一些实施方案中,向患者施用一次或更多次DLI。在一些实施方案中,向患者施用两次或更多次DLI。在一些实施方案中,DLI包含CD3⁺淋巴细胞。在一些实施方案中,在同种异体骨髓或造血干细胞移植后向患者施用一次或更多次供体淋巴细胞输注(DLI)。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)的施用与同种异体骨髓或造血干细胞移植后的DLI并行地进行。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植后的DLI之前进行。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)的施用在同种异体骨髓或造血干细胞移植后的DLI之后进行。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,式(A)的化合物)是依鲁替尼。

[0181] 某些术语

[0182] 应该理解,以上一般描述和以下具体描述仅仅是示例性和说明性的,并且不限制要求保护的任何主题。在本申请中,除非另有明确说明,单数的使用包括复数。必须注意,如在说明书和所附的权利要求中使用的,单数形式“一个(a)”、“一个(an)”和“该(the)”包括复数指代对象,除非上下文另有清楚的指示。在本申请中,除非另有说明,“或”的使用指“和/或”。此外,术语“包括(including)”以及其他形式诸如“包括(include)”、“包括(includes)”和“包括(included)”的使用,是非限制性的。

[0183] 如本文使用的,“ACK”和“可接近半胱氨酸激酶(Accessible Cysteine Kinase)”

是同义词。它们指具有可接近的半胱氨酸残基的激酶。ACK包括但不限于BTK、ITK、Bmx/ETK、TEC、EFGR、HER4、HER4、LCK、BLK、C-src、FGR、Fyn、HCK、Lyn、YES、ABL、Brk、CSK、FER、JAK3、SYK。在一些实施方案中,ACK是TEC家族激酶。在一些实施方案中,ACK是HER4。在一些实施方案中,ACK是BTK。在一些实施方案中,ACK是ITK。

[0184] 如本文使用的,“改善”指可以归因于化合物或组合物的施用或与之相关的HER2-扩增的乳腺癌的任何严重性的减轻、发作的延迟、生长的减慢、转移的减慢或持续时间的减少,无论是永久的或暂时的、持久的或短暂的。

[0185] 术语“Bruton's酪氨酸激酶(Bruton's tyrosine kinase)”,如本文使用的,指来自智人(*Homo sapiens*)的Bruton's酪氨酸激酶,如例如美国专利号6,326,469中公开的(GenBank登录号NP_000052)。

[0186] 术语“Bruton's酪氨酸激酶同源物”,如本文使用的,指Bruton's酪氨酸激酶的直系同源物(ortholog),例如,来自小鼠(GenBank登录号AAB47246)、狗(GenBank登录号XP_549139.)、大鼠(GenBank登录号NP_001007799)、鸡(GenBank登录号NP_989564)、或斑马鱼(GenBank登录号XP_698117)的直系同源物,或对Bruton's酪氨酸激酶的一种或更多种底物(例如,具有氨基酸序列“AVLESEEEELYSSARQ”SEQ ID NO:1的肽底物)表现出激酶活性的上述任何的融合蛋白。

[0187] 术语“HER4”,也被称为ERBB4,也被称为“V-erb-a成红细胞白血病病毒性癌基因同源物4”指(a)编码为表皮生长因子受体亚家族成员的受体酪氨酸激酶的核酸序列,或(b)其蛋白质。对于包括人HER4基因的核酸序列,参见GenBank登录号NM_001042599。对于包括人HER4蛋白质的氨基酸序列,参见GenBank登录号NP_001036064。

[0188] 术语“同源半胱氨酸”,如本文使用的,指在与Bruton's酪氨酸激酶的半胱氨酸481同源的序列位置中发现的半胱氨酸残基,如本文定义的。例如,半胱氨酸482是Bruton's酪氨酸激酶的大鼠直系同源物的同源半胱氨酸;半胱氨酸479是鸡直系同源物的同源半胱氨酸;并且半胱氨酸481是斑马鱼直系同源物中的同源半胱氨酸。在另一个实例中,TXK,一个与Bruton's酪氨酸激酶相关的Tec激酶家族成员,的同源半胱氨酸是Cys 350。

[0189] 术语“不可逆的BTK抑制剂”,如本文使用的,指可以与BTK的氨基酸残基形成共价键的BTK抑制剂。在一个实施方案中,BTK的不可逆的抑制剂可以与BTK的Cys残基形成共价键;在特定实施方案中,不可逆的抑制剂可以与BTK的Cys 481残基(或其同源物)或另一个酪氨酸激酶的同源相应位置的半胱氨酸残基形成共价键,如图7A-7B中所示。

[0190] 如本文使用的,术语“pERK”指由可商购的磷酸特异性抗体(例如Cell Signaling Technologies#4377)检测的在Thr202/Tyr204磷酸化的ERK1和ERK2。

[0191] 术语“个体”、“患者”和“受试者”互换使用。这些术语指为治疗或观察的客体的哺乳动物(例如,人)。术语不应被理解为需要医学从业人员(例如,医生、医生助理、护士、护理人员(orderly)或临终关怀工作者)的监督。

[0192] 术语“治疗(treat)”、“治疗(treating)”或“治疗(treatment)”,如本文使用的,包括GVHD的严重性的减轻、GVHD的发作的推迟、引起GVHD的退行、减轻由GVHD引起的状况或停止GVHD引起的症状。术语治疗(treat)”、“治疗(treating)”或“治疗(treatment)”包括但不限于预防性的和/或治疗性的治疗。

[0193] 如本文使用的,口腔GVHD指GVHD在口腔腔体、口咽、咽部或食管区域的局部表现。

[0194] 移植物抗宿主病

[0195] 本文公开了在需要细胞移植的患者中预防移植物抗宿主病 (GVHD) 的发生或降低 GVHD 发生的严重性的方法, 包括向患者施用包含治疗有效量的 ACK 抑制剂化合物 (例如, ITK 或 BTK 抑制剂, 诸如依鲁替尼) 的组合物。在一些实施方案中, 患者需要造血细胞移植。在一些实施方案中, 患者需要外周血干细胞移植。在一些实施方案中, 患者需要骨髓移植。在一些实施方案中, ACK 抑制剂化合物在细胞移植的施用之前施用。在一些实施方案中, ACK 抑制剂化合物在细胞移植的施用之后施用。在一些实施方案中, ACK 抑制剂化合物与细胞移植的施用并行地施用。在一些实施方案中, 患者表现出 GVHD 的一个或更多个症状。在一些实施方案中, 患者表现出急性 GVHD 的一个或更多个症状。在一些实施方案中, 患者表现出慢性 GVHD 的一个或更多个症状。示例性的 GVHD 的症状包括但不限于, 皮疹或皮肤上发红的区域、突起的皮肤、起泡、皮肤变厚或紧绷、皮肤和/或眼睛变黄、异常的血液测试结果、恶心、呕吐、腹泻、腹胀、腹部痉挛、眼睛增加的干燥或刺激、视力变化、口干、口中的白斑、疼痛或对辛辣食物敏感、呼吸短促、吞咽困难、吞咽疼痛、体重减轻、疲劳、肌肉无力、肌肉疼痛、小便频率增加、小便灼烧或尿血、阴道干燥或紧绷或阴茎功能障碍。

[0196] 在一些实施方案中, 患者表现出口腔 GVHD 的一个或更多个症状。在一些实施方案中, 患者表现出急性口腔 GVHD 的一个或更多个症状。在一些实施方案中, 患者表现出慢性口腔 GVHD 的一个或更多个症状。示例性的口腔 GVHD 的症状包括但不限于, 口腔组织炎症、口干、有斑点的或全面的黏膜红斑、口腔黏膜和嘴唇上白色条纹或小脓疱、黏膜糜烂-脱落-溃疡、疼痛或对辛辣食物敏感、吞咽困难、吞咽疼痛、咽-食管狭窄、口干症、扁平苔藓、食团控制差 (poor bolus control,)、咽保留、过多的黏液分泌、口腔组织炎症和溃疡。在一些实施方案中, 患者患有难治的 GVHD。在一些实施方案中, 口腔 GVHD 是网状口腔 GVHD。在一些实施方案中, 口腔 GVHD 是侵蚀性口腔 GVHD。在一些实施方案中, 口腔 GVHD 是溃疡性口腔 GVHD。

[0197] 在一些实施方案中, 患者患有耐甾族化合物的 GVHD。在一些实施方案中, 耐甾族化合物的 GVHD 是急性 GVHD。在一些实施方案中, 耐甾族化合物的 GVHD 是慢性 GVHD。在一些实施方案中, 患者患有耐环孢菌素的 GVHD。

[0198] 本文公开了在需要干细胞移植的患者中预防移植物抗宿主病 (GVHD) 的发生或降低 GVHD 发生的严重性的方法, 包括向患者施用包含治疗有效量的 ACK 抑制剂化合物 (例如, ITK 或 BTK 抑制剂, 诸如, 例如依鲁替尼) 的组合物。在一些实施方案中, 患者需要造血干细胞移植。在一些实施方案中, 患者需要外周血干细胞移植。在一些实施方案中, 患者需要骨髓移植。在一些实施方案中, ACK 抑制剂化合物在干细胞移植施用之前施用。在一些实施方案中, ACK 抑制剂化合物在干细胞移植施用之后施用。在一些实施方案中, ACK 抑制剂化合物与干细胞移植施用并行地施用。在一些实施方案中, ACK 抑制剂化合物在同种异体造血干细胞和/或同种异体 T-细胞施用之前、之后或与之并行地施用。

[0199] 本文还描述了治疗患者以减轻骨髓介导的疾病, 以及减轻随之发生的移植物抗宿主病 (GVHD) 的方法, 包括向患者施用同种异体造血干细胞和/或同种异体 T-细胞, 其中治疗有效量的 ACK 抑制剂化合物 (例如, ITK 或 BTK 抑制剂, 诸如依鲁替尼) 在同种异体造血干细胞和/或同种异体 T-细胞施用之前、之后或与之并行地施用。

[0200] 增殖性血液紊乱 (disorder), 诸如白血病、淋巴瘤和骨髓瘤的治疗通常包括一种或更多种形式的化学疗法和/或放射疗法。这些治疗破坏恶性细胞, 但也破坏健康的血细

胞。同种异体造血细胞移植是对于许多血液性恶性肿瘤,包括,例如B-细胞和T-细胞恶性肿瘤的治疗的有效疗法。在同种异体造血细胞移植中,使用来自无亲缘关系或有亲缘关系(但不是同卵双胞胎)供体的骨髓(或者,在一些情况下,外周血)代替癌症患者中被破坏的健康血细胞。骨髓(或外周血)包含干细胞,其是血液中发现的所有分化的细胞类型(例如,红细胞、巨噬细胞、血小板和淋巴细胞)的前体。已知同种异体造血细胞移植同时具有恢复作用和治疗作用。恢复作用由干细胞恢复(repopulate)血液的细胞组成的能力引起。同种异体细胞移植的治疗性质主要从移植物抗白血病(GVL)作用产生。被移植的来自供体的造血细胞(具体地,T淋巴细胞)攻击癌细胞,增强了其他治疗方式的抑制作用。本质上,GVL作用包括由源自移植的血细胞对癌细胞的攻击,使移植后恶性肿瘤恢复的可能性降低。控制GVL作用防止GVL作用升级成GVHD。也已知抗肿瘤的类似作用(移植物抗肿瘤)。

[0201] 同种异体血细胞移植通常对患者有毒。此毒性在于难以将GVL或GVT作用从移植物抗宿主病(GVHD)分离,移植物抗宿主病是同种异体BMT的一种通常致死的并发症。

[0202] GVHD是同种异体造血细胞移植(HCT)的主要并发症。GVHD是由供体移植物中识别组织相容性和宿主的其他组织抗原的T细胞引发的炎性疾病,并且GVHD由多种效应细胞和炎性细胞因子介导。GVHD以急性和慢性两种形式表现。最常见的有症状的器官是皮肤、肝脏和胃肠道,包括口腔腔体和口咽区域。GVHD可以影响其他器官诸如肺。GVHD的治疗通常仅50-75%成功率;其余患者通常不能幸存。此免疫介导的状况的风险和严重性与宿主和造血细胞的供体之间的错配程度直接相关。例如,GVHD在最高达30%的人白细胞抗原(HLA)-匹配的同胞骨髓的受体中发生,在最高达60%的HLA-匹配的无亲缘关系供体骨髓的受体中发生,并且以更高的百分数在HLA-错配骨髓的受体中发生。患有轻微肠GVHD的患者表现出厌食、恶心、呕吐、腹痛和腹泻,而患有严重GVHD的患者由于这些症状而失能。如果不治疗,肠GVHD的症状持续存在并且通常加重;自发缓解是罕见的。在最严重的形式中,GVHD引起肠黏膜的大多数上皮细胞的坏死和脱落,一种常常致死的情况。急性GVHD的症状通常在移植后100天内表现。慢性GVHD的症状通常更晚地表现,最高达同种异体HCT后三年,并且通常之前有急性GVHD历史。

[0203] 在急性GVHD(aGVHD)和慢性GVHD(cGVHD)中都见到GVHD的口腔表现。对于患有aGVHD的患者,口腔受累的范围在33%和75%之间,并且对于患有cGVHD的患者,最高达约80%。唾液腺的受累可以引起口腔黏膜的干燥,并且口腔疼痛可以是第一个表现的症状。GVHD中的口腔病变的外观可以是苔藓样的或狼疮样的。aGVHD的口腔发现包括疼痛的脱皮、红斑和溃疡性黏膜病变。在cGVHD中,它们是苔藓样的以及相关的斑和溃疡;另外,它们可以与以口干症(xerostomia)和进展的唾液腺萎缩为特征的干燥综合征(sicca syndrome)相关。口腔并发症包括由于黏膜变化的疼痛、改变的或减弱的味觉,并且可以对言语、吞咽和口腔假体(当存在时)使用具有潜在的影响。也可以出现口腔感染,特别是由于念珠菌(*Candida*)物种,以及牙齿脱矿和龋齿。cGVHD的口腔表现可以通过不适和经口进食的受损显著地影响患者的生活质量,导致营养不良和升高的发病率。

[0204] 口腔cGVHD的常规处理由全身的免疫抑制疗法结合恰当的口腔清洁和局部类固醇的谨慎使用组成。但是,对于患有口腔cGVHD的患者而言,最重要的临床发现是全身的免疫抑制剂的使用可以产生宿主的免疫抑制以及伴随的全身并发症。此外,一些患者经历相当大的并且甚至用全身免疫抑制剂的最大剂量也难治的口腔并发症。

[0205] 口腔GVHD的一线疗法本质上主要是全身性的,由环孢菌素和甾族化合物组成。用于cGVHD的最常见的补救治疗(salvage treatment)是酰胺哌啶酮、他克莫司、霉酚酸吗乙酯、通过Campath-1进行的T细胞清除和光疗。口腔GVHD通常是常规治疗难治的,并且因此需要补充的局部治疗。一些剂目前用于局部治疗,诸如舒缓性洗剂、局部免疫抑制剂、酰胺哌啶酮、视黄醇类以及用于口腔GVHD的光疗。

[0206] 本文描述了在需要细胞移植的患者中预防移植物抗宿主病(GVHD)的发生或降低GVHD发生的严重性的方法,包括向患者施用包含治疗有效量的ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的组合物。在一些实施方案中,患者需要造血细胞移植。本文还描述了治疗患者以减轻骨髓介导的疾病,以及减轻随之发生的移植物抗宿主病(GVHD)的方法,包括向患者施用同种异体造血干细胞和/或同种异体T-细胞,其中治疗有效量的ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如依鲁替尼)在同种异体造血干细胞和/或同种异体T-细胞的施用之前、与之并行地或之后施用。在一些实施方案中,患者患有癌症。在一些实施方案中,患者患有血液性恶性肿瘤。在一些实施方案中,患者患有B-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中,患者患有T-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中,患者患有白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是非霍奇金淋巴瘤。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是慢性淋巴细胞白血病(CLL)。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的B-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的非霍奇金淋巴瘤。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的CLL。在一些实施方案中,患者患有高风险CLL。在一些实施方案中,患者具有17p染色体缺失。在一些实施方案中,患者具有10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更高的CLL,如通过骨髓活组织检查确定的。在一些实施方案中,患者已经接受过一种或更多种在先的抗癌剂。在一些实施方案中,抗癌剂选自阿仑珠单抗、苯达莫司汀、硼替佐米、CAL-101、苯丁酸氮芥、环磷酰胺、地塞米松、多西紫杉醇、阿霉素、内皮抑素、依维莫司、依托泊苷、氟达拉滨、fostamatinib、羟基道诺红菌素、替伊莫单抗、异环磷酰胺、来那度胺、美沙拉嗪、奥法木单抗、紫杉醇、喷司他汀、泼尼松、利妥昔单抗、temsirolimus、酰胺哌啶酮、托西莫单抗、长春新碱或其组合。在一些实施方案中,抗癌剂是利妥昔单抗。在一些实施方案中,抗癌剂是阿仑珠单抗。在一些实施方案中,抗癌剂是氟达拉滨、环磷酰胺和利妥昔单抗(FCR)。在一些实施方案中,抗癌剂是奥沙利铂、氟达拉滨、阿糖胞苷、利妥昔单抗(OFAR)。在一些实施方案中,本文公开的化合物预防或降低GVHD同时保持对降低或清除所述患者血液中的癌细胞的数量有效的移植物抗白血病(GVL)反应。在一些实施方案中,GVHD是急性GVHD。在一些实施方案中,GVHD是慢性GVHD。在某些实施方案中,GVHD是口腔GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是口腔腔体的GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是口咽区域的GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是咽部区域的GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是食管区域的GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是急性口腔GVHD。在一些实施方案中,口腔GVHD是慢性口腔GVHD。在一些实施方案中,患者已经接受过或将要接受同种异体骨髓或造血干细胞移植。在一些实施方案中,本文公开的ACK抑制剂化合物与同种异体骨髓或造血干细胞移植并行地施用。在一些实施方案中,本文公开的ACK抑制剂在同种异体骨髓或造血干细胞移植之前施用。在一些实施方案中,本文公开的ACK抑制剂在同种异体骨髓或造血干细胞移植之后施用。在一些实施方案中,患者是接受HLA-错配造血干细胞的候选人。在一些实施方案中,患者是接受无

亲缘关系的供体的造血干细胞、脐静脉造血干细胞或外周血干细胞的候选人。在一些实施方案中,本文公开的ACK抑制剂化合物在患者表现出口腔GVHD的一个或更多个症状之后施用,其中患者接受同种异体骨髓或造血干细胞移植。

[0207] 在一些实施方案中,向患者施用供体淋巴细胞输注(DLI)。供体淋巴细胞输注是其中在移植后输注来自原始干细胞供体的CD3+淋巴细胞,以增强抗肿瘤免疫应答或保证供体干细胞保持植入的血细胞输注。这些捐献的白细胞包含可以识别并破坏癌细胞的免疫系统的细胞。在一些实施方案中,疗法通过移植物抗肿瘤作用(GVT)诱导患者的癌症的缓解。在一些实施方案中,供体T-细胞可以攻击并控制残余的癌细胞的生长,提供GVT作用。在一些实施方案中,向患者施用一次或更多次供体淋巴细胞输注(DLI)。在一些实施方案中,DLI包含CD3+淋巴细胞。在一些实施方案中,在同种异体骨髓或造血干细胞移植后向患者施用一次或更多次供体淋巴细胞输注(DLI)。在一些实施方案中,式(A)的化合物与同种异体骨髓或造血干细胞移植后的DLI并行地施用。在一些实施方案中,式(A)的化合物在同种异体骨髓或造血干细胞移植后的DLI之前施用。在一些实施方案中,式(A)的化合物在同种异体骨髓或造血干细胞移植后的DLI之后施用。在一些实施方案中,式(A)的化合物是依鲁替尼。

[0208] 在一些实施方案中,患者患有非霍奇金淋巴瘤。在一些实施方案中,患者患有霍奇金淋巴瘤。在一些实施方案中,患者患有B-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是慢性淋巴细胞白血病(CLL)、小淋巴细胞淋巴瘤(SLL)、弥漫性大B-细胞淋巴瘤(DLBCL)、滤泡性淋巴瘤(FL)、活化B-细胞弥漫性大B-细胞淋巴瘤(ABC-DLBCL)、生发中心弥漫性大B-细胞淋巴瘤(GCB-DLBCL)、原发纵膈B-细胞淋巴瘤(PMBL)、Burkitt's淋巴瘤、成免疫细胞性大细胞淋巴瘤、前B-成淋巴细胞淋巴瘤(precursorB-lymphoblastic lymphoma)、套细胞淋巴瘤(MCL)、B细胞前淋巴细胞白血病、淋巴浆细胞淋巴瘤、**Waldenström**巨球蛋白血症、脾脏边缘区淋巴瘤、浆细胞骨髓瘤、浆细胞瘤、结外边缘区B细胞淋巴瘤、结边缘区B细胞淋巴瘤、纵膈(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或淋巴瘤样肉芽肿病。在一些实施方案中,患者患有T-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中,T-细胞恶性肿瘤是未以其他方式明确的外周T-细胞淋巴瘤(PTCL-NOS)、间变性大细胞淋巴瘤、血管免疫母细胞淋巴瘤、皮肤T-细胞淋巴瘤、成人T-细胞白血病/淋巴瘤(ATLL)、胚芽NK-细胞淋巴瘤、肠病型T-细胞淋巴瘤、肝脾 γ - δ T-细胞淋巴瘤、成淋巴细胞淋巴瘤、鼻NK/T-细胞淋巴瘤或治疗相关的T-细胞淋巴瘤。在一些实施方案中,受试者患有多发性骨髓瘤。

[0209] 在一些实施方案中,患者患有复发的或难治的血液癌。在一些实施方案中,复发的或难治的血液癌是白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。在一些实施方案中,复发的或难治的血液癌是非霍奇金淋巴瘤。在一些实施方案中,复发的或难治的血液癌是霍奇金淋巴瘤。在一些实施方案中,复发的或难治的血液癌是B-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中,B-细胞恶性肿瘤是慢性淋巴细胞白血病(CLL)、小淋巴细胞细胞瘤(SLL)、弥漫性大B-细胞淋巴瘤(DLBCL)、滤泡性淋巴瘤(FL)、活化B-细胞弥漫性大B-细胞淋巴瘤(ABC-DLBCL)、生发中心弥漫性大B-细胞淋巴瘤(GCB-DLBCL)、原发纵膈B-细胞淋巴瘤(PMBL)、Burkitt's淋巴瘤、成免疫细胞性大细胞淋巴瘤、前B-成淋巴细胞淋巴瘤、套细胞淋巴瘤(MCL)、B细胞前淋巴细胞白血病、淋巴浆细胞淋巴瘤、**Waldenström**巨球蛋白血症、脾脏边缘区淋巴瘤、浆细胞骨髓瘤、浆细胞瘤、结外边缘区B细胞淋巴瘤、结边缘区B细胞淋巴瘤、纵膈(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或淋巴瘤样肉芽肿病。在一些实施方案中，复发的或难治的血液癌是T-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中，T-细胞恶性肿瘤是未以其他方式明确的外周T-细胞淋巴瘤 (PTCL-NOS)、间变性大细胞淋巴瘤、血管免疫母细胞淋巴瘤、皮肤-T细胞淋巴瘤、成人T-细胞白血病/淋巴瘤 (ATLL)、胚芽NK-细胞淋巴瘤、肠病型T-细胞淋巴瘤、肝脾 γ - δ T-细胞淋巴瘤、成淋巴细胞淋巴瘤、鼻NK/T-细胞淋巴瘤或治疗相关的T-细胞淋巴瘤。在一些实施方案中，受试者患有复发的或难治的多发性骨髓瘤。在一些实施方案中，患者患有B-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中，B-细胞恶性肿瘤是非霍奇金淋巴瘤。在一些实施方案中，B-细胞恶性肿瘤是慢性淋巴细胞白血病 (CLL)。在一些实施方案中，B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的B-细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中，B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的非霍奇金淋巴瘤。在一些实施方案中，B-细胞恶性肿瘤是复发的或难治的CLL。

[0210] 在一些实施方案中，患者表现出血液癌的一个或更多个症状。在一些实施方案中，患者表现出B-细胞恶性肿瘤的一个或更多个症状。在一些实施方案中，患者表现出白血病、淋巴瘤或骨髓瘤的一个或更多个症状。在一些实施方案中，受试者表现出一个或更多个症状，诸如但不限于，B-细胞功能异常、B-细胞大小或形状异常、B-细胞计数异常、疲劳、发烧、盗汗、频繁的感染、淋巴结增大、苍白、贫血、容易出血或淤伤、食欲不振、体重减轻、骨或关节疼痛、头疼和瘀斑。

[0211] 在一些实施方案中，受试者具有癌症复发的高风险。在一些实施方案中，受试者是哺乳动物，诸如但不限于人、非人灵长类、小鼠、大鼠、兔、山羊、狗、猫或牛。在一些实施方案中，哺乳动物是人。在一些实施方案中，癌症复发的高风险是基于生物标志物的表达或存在确定的。在一些实施方案中，生物标志物包括PMSB1 P11AG/C杂合子、CD68、细胞因子信号1的抑制物 (SOCS1)、仅LIM结构域2 (LIM domain only 2, LM02)、CD137或其组合。

[0212] 联合疗法

[0213] 本文描述了在需要细胞移植的患者中预防移植物抗宿主病 (GVHD) 的发生或降低GVHD发生的严重性的方法，包括向个体共同施用包含治疗有效量的ACK抑制剂化合物 (例如，ITK或BTK抑制剂，诸如，例如依鲁替尼) 的组合物和另外的治疗剂。本文还描述了治疗患者以减轻骨髓介导的疾病，以及减轻随之发生的移植物抗宿主病 (GVHD) 的方法，包括在同种异体造血干细胞和/或同种异体T-细胞之前、之后或与之并行地向个体共同施用包含治疗有效量的ACK抑制剂化合物 (例如，ITK或BTK抑制剂，诸如依鲁替尼) 的组合物和另外的治疗剂。在一些实施方案中，向个体施用额外的疗法，诸如但不限于，体外光分离置换法 (extracorporeal photopheresis) 或间充质干细胞或供体淋巴细胞的输注。

[0214] 在一些实施方案中，另外的治疗剂是抗-GVHD治疗剂。在一些实施方案中，抗-GVHD治疗剂是免疫抑制药。在一些实施方案中，免疫抑制药包括环孢菌素、他克莫司 (tacrolimus)、甲氨喋呤 (methotrexate)、霉酚酸吗乙酯、皮质类固醇、硫唑嘌呤 (azathioprine) 或抗胸腺细胞球蛋白 (ATG)。在一些实施方案中，免疫抑制药是单克隆抗体 (例如，抗-CD3、抗-CD5和抗-IL-2抗体)。在一些实施方案中，免疫抑制药是霉酚酸吗乙酯、阿仑珠单抗、抗胸腺细胞球蛋白 (ATG)、西罗莫司 (Sirolimus)、他克莫司、酰胺哌啶酮、达利珠单抗 (Daclizumab)、英夫利昔单抗 (Infliximab) 或氯苯吩嗪 (Clofazimine) 用于治疗慢性GVHD。在一些实施方案中，另外的治疗剂是地尼白介素 (denileukin diftitox)、去纤苷 (defibrotide)、布地奈德 (budesonide)、二丙酸氯地米松 (beclomethasone)

dipropionate)或喷司他汀。

[0215] 在一些实施方案中,另外的治疗剂是IL-6受体抑制剂。在一些实施方案中,另外的治疗剂是IL-6受体抗体。

[0216] 在一些实施方案中,另外的治疗剂是TLR5激动剂。

[0217] 在一些实施方案中,患者经历额外的疗法,诸如,体外光分离置换法(extracorporeal photopheresis)或间充质干细胞或供体淋巴细胞的输注。

[0218] 在一些实施方案中,另外的治疗剂是局部活性的皮质类固醇(TAC)。在一些实施方案中,TAC是二丙酸氯地米松(beclomethasone dipropionate)、alciometasone dipropionate、布地奈德、22S布地奈德、22R布地奈德、氯地米松-17-单丙酸酯、倍他米松(betamethasone)、丙酸氯氟美松(clobetasol propionate)、地塞米松(dexamethasone)、双醋二氟松(diflorasone diacetate)、氟尼缩松(flunisolide)、氟轻松(fluciclonide)、氟羟可舒(flurandrenolide)、丙酸氟替卡松(fluticasone propionate)、卤倍他索丙酸酯(halobetasol propionate)、halcinocide、糠酸莫米他松(mometasone furoate)、曲安耐德(triamcinalone acetonide)或其组合。

[0219] 在一些实施方案中,另外的治疗剂是抗真菌剂。在一些实施方案中,另外的治疗剂是制霉菌素(nystatin)、克霉唑(clotrimazole)、两性霉素(amphotericin)、氟康唑、伊曲康唑或其组合。

[0220] 在一些实施方案中,另外的治疗剂是促唾液分泌剂。在一些实施方案中,另外的治疗剂是西维美林(cevimeline)、毛果芸香碱(pilocarpine)、氨甲酰甲胆碱或其组合。

[0221] 在一些实施方案中,另外的治疗剂是局部麻醉剂。在一些实施方案中,另外的治疗剂是利多卡因(lidocaine)、达克罗宁(dyclonine)、苯海拉明(diphenhydramine)、多塞平(doxepin)或其组合。

[0222] 在本文描述的方法中,可以使用本领域已知的化学疗法、生物疗法、免疫抑制和放射疗法的任何适宜技术。例如,化疗剂可以是表现出对受试者的癌细胞或肿瘤细胞的溶瘤作用(oncolytic effect)的任何剂。例如,化疗剂可以不限于是,蒽环霉素(anthracycline)、烷化剂、烃基磺酸盐/酯(alkyl sulfonate)、氮丙啶(aziridine)、乙烯亚胺(ethylenimine)、methylnelamine、氮芥(nitrogen mustard)、亚硝基脲(nitrosourea)、抗生素、抗代谢物、叶酸类似物、嘌呤类似物、嘧啶类似物、酶、鬼臼毒素(podophyllotoxin)、包含铂的剂或细胞因子。优选地,化疗剂是已知对为癌性或肿瘤的特异性细胞类型有效的剂。在一些实施方案中,化疗剂在血液性恶性肿瘤的治疗中有效,诸如塞替派(thiotepa)、基于顺铂的化合物和环磷酰胺。细胞因子包括干扰素、G-CSF、促红细胞生成素(erythropoietin)、GM-CSF、白介素(interleukin)、甲状旁腺激素和类似物。生物疗法包括阿仑珠单抗、利妥昔单抗、贝伐单抗(bevacizumab)、血管阻断剂、来那度胺和类似物。辐射增敏剂包括烟酰胺和类似物。

[0223] 在一些实施方案中,ACK抑制剂与化疗剂或生物剂组合施用,所述化疗剂或生物剂选自抗体、B细胞受体通路抑制剂、T细胞受体抑制剂、PI3K抑制剂、IAP抑制剂、mTOR抑制剂、放射免疫治疗剂、DNA损伤剂、组蛋白脱乙酰酶抑制剂、蛋白激酶抑制剂、hedgehog抑制剂、Hsp90抑制剂、端粒酶抑制剂、Jak1/2抑制剂、蛋白酶抑制剂、IRAK抑制剂、PKC抑制剂、PARP抑制剂、CYP3A4抑制剂、AKT抑制剂、Erk抑制剂、蛋白酶体抑制剂、烷化剂、抗代谢物、植物生

物碱、类萜(terpenoid)、细胞毒素、拓扑异构酶抑制剂或其组合。在一些实施方案中,B细胞受体通路抑制剂是CD79A抑制剂、CD79B抑制剂、CD19抑制剂、Lyn抑制剂、Syk抑制剂、PI3K抑制剂、Blnk抑制剂、PLC γ 抑制剂、PKC β 抑制剂、CD22抑制剂、Bcl-2抑制剂、IRAK 1/4抑制剂、JAK抑制剂(例如,卢佐替尼(ruxolitinib)、baricitinib、CYT387、lestauritinib、pacritinib、TG101348、SAR302503、托法替尼(tofacitinib)(Xeljanz)、依那西普(etanercept)(Enbrel)、GLPG0634、R256)、微管抑制剂、Topo II抑制剂、抗-TWEAK抗体、抗-IL17双特异性抗体、CK2抑制剂、间变性淋巴瘤激酶(ALK)和c-Met抑制剂、脱甲基酶抑制剂诸如脱甲基酶、HDM、LSDI和KDM、脂肪酸合酶抑制剂诸如螺环哌啶衍生物、糖皮质激素受体拮抗剂、融合抗-CD 19-细胞毒性剂缀合物、抗代谢物、p70S6K抑制剂、免疫调节物、AKT/PKB抑制剂、半胱天冬酶-3酶原(procaspase-3)激活剂PAC-1、BRAF抑制剂、乳酸脱氢酶A(LDH-A)抑制剂、CCR2抑制剂、CXCR4抑制剂、趋化因子受体拮抗剂、DNA双链断裂修复抑制剂、NOR202、GA-101、TLR2抑制剂或其组合。在一些实施方案中,T细胞受体抑制剂是Muromonab-CD3。在一些实施方案中,化疗剂选自利妥昔单抗(rituxan)、卡非佐米(carfilzomib)、氟达拉滨、环磷酰胺、长春新碱、强的松龙、苯丁酸氮芥、异环磷酰胺、阿霉素、美沙拉嗪、酰胺哌啶酮、revlimid、来那度胺、temsirolimus、依维莫司(everolimus)、fostamatinib、紫杉醇、多西紫杉醇、奥法木单抗(ofatumumab)、地塞米松、苯达莫司汀、泼尼松(prednisone)、CAL-101、替伊莫单抗(ibritumomab)、托西莫单抗(tositumomab)、硼替佐米、喷司他汀、内皮抑素(endostatin)、利托那韦(ritonavir)、酮康唑(ketoconazole)、抗-VEGF抗体、赫赛汀(herceptin)、西妥昔单抗(cetuximab)、顺铂、卡铂(carboplatin)、多西紫杉醇、埃罗替尼(erlotinib)、etoposide、5-氟尿嘧啶、吉西他滨(gemcitabine)、异环磷酰胺、甲磺酸伊马替尼(imatinib mesylate)(Gleevec)、吉非替尼(gefitinib)、埃罗替尼、丙卡巴肼(procarbazine)、泼尼松、伊立替康(irinotecan)、甲酰四氢叶酸(leucovorin)、双氯乙基甲胺(mechlorethamine)、甲氨喋呤、奥沙利铂、紫杉醇、索拉非尼(sorafenib)、舒尼替尼(sunitinib)、拓扑替康(topotecan)、长春新碱(vinblastine)、GA-1101、达沙替尼(dasatinib)、Sipuleucel-T、双硫仑(disulfiram)、表没食子儿茶素-3-没食子酸盐/酯(epigallocatechin-3-gallate)、salinosporamide A、ONX0912、CEP-18770、MLN9708、R-406、lenalinomide、螺环哌啶衍生物、喹啉啉氨甲酰氮杂环丁烷化合物、塞替派、DWA2114R、NK121、IS 3 295、254-S、烃基磺酸盐/酯诸如白消安(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)和哌泊舒凡(piposulfan);氮杂环丙烷类诸如苯佐替派(benzodepa)、卡波醌(carboquone)、美乌替派(meturedopa)和乌瑞替派(uredepa);乙烯亚胺、甲基蜜胺诸如六甲蜜胺(altretamine)、三乙烯蜜胺(triethylenemelamine)、三乙烯磷酰胺(triethylenephosphoramidate)、三乙烯硫代磷酰胺(triethylenethiophosphoramidate)和三甲基蜜胺(trimethylmelamine);萘氮芥(chlornaphazine);雌莫司汀(estramustine);异环磷酰胺;双氯乙基甲胺;氧化物盐酸盐(oxide hydrochloride);新生霉素(novobiocin);胆固醇对苯乙酸氮芥(phenesterine);泼尼莫斯汀(prednimustine);氯乙环磷酰胺(trofosfamide);尿嘧啶氮芥(uracil mustard);亚硝基脲类诸如卡莫司汀(carmustine)、氯脲菌素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine)、雷莫司汀(ranimustine);抗生素诸如阿克拉霉素类(aclacinomycin)、放线菌素(actinomycin)、氨苄霉素(anthracycline)、重氮丝氨酸(azaserine)、博来霉素类

(bleomycins)、放线菌素C(cactinomycin)、calicheamicin、卡柔比星(carubicin)、洋红霉素(carminomycin)、嗜癌菌素(carzinophilin)、色霉素类(chromomycins)、放线菌素D(dactinomycin)、道诺红菌素、地托比星(detorubicin)、6-重氨基-5-氧代-L-正亮氨酸、阿霉素、表阿霉素(epirubicin)、依索比星(esorubicin)、去甲氧正定霉素(idarubicin)、麻西罗霉素(marcellomycin)、丝裂霉素类(mitomycins)、霉酚酸(mycophenolic acid)、诺加霉素(nogalamycin)、橄榄霉素类(olivomycins)、派来霉素(peplomycin)、泊非霉素(porfiromycin)、嘌呤霉素(puromycin)、三铁阿霉素(quelamycin)、罗多比星(rodorubicin)、链黑菌素(streptonigrin)、链氮霉素(streptozocin)、杀结核菌素(tubercidin)、乌苯美司(ubenimex)、净司他丁(zinostatin)、佐柔比星(zorubicin); 抗代谢物诸如甲氨喋呤和5-氟尿嘧啶(5-FU); 叶酸类似物诸如二甲叶酸(denopterin)、甲氨喋呤、蝶酰三谷氨酸(pteropterin)、三甲喋呤(trimetrexate); 嘌呤类似物诸如氟达拉滨、6-巯基嘌呤、硫咪嘌呤(thiamiprine)、硫鸟嘌呤; 嘧啶类似物诸如安西他宾(ancitabine)、氮杂胞苷(azacitidine)、6-氮尿苷(6-azauridine)、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷、双脱氧尿苷(dideoxyuridine)、氟尿嘧啶脱氧核苷(doxifluridine)、依诺他宾(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine); 雄性激素诸如二甲睾酮(calusterone)、丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、环硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、睾丸内酯(testolactone); 抗肾上腺素剂, 诸如氨鲁米特(aminoglutethimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane); 叶酸补充剂诸如亚叶酸(folinic acid); 醋葡醛内酯(aceglatone); 丙醛氧基磷酰胺糖苷(aldophosphamide glycoside); 氨基- γ -戊酮酸(aminolevulinic acid); 胺苯吡啶(amsacrine); bestrabucil; 比生群(bisantrene); 依达曲沙(edatrexate); 地磷酰胺(defosfamide); 秋水仙酰胺(demecolcine); 地吡醌(diaziquone); 依氟鸟氨酸(eflornithine); 依利醋铵(elliptinium acetate); 乙环氧啉(etoglucid); 硝酸镓(gallium nitrate); 羟基脲(hydroxyurea); 香菇多糖(lentinan); 氯尼达明(lonidamine); 米托胍脲(mitoguazone); 米托蒽醌(mitoxantrone); 莫哌达醇(mopidamol); 二胺硝吡啶(nitracrine); 喷司他汀; 蛋氨酸芥(phenamet); 吡柔比星(pirarubicin); 鬼臼酸(podophyllinic acid); 2-乙基肼(2-ethylhydrazide); 丙卡巴肼; 多糖-K; 丙亚胺(razoxane); 西索菲兰(sizofiran); 螺旋锗(spirogermanium); 细交链孢菌酮酸(tenuazonic acid); 三亚胺醌(triaziquone); 2,2',2''-三氯三乙胺; 尿烷(urethan); 长春地辛(vindesine); 氮烯咪胺(dacarbazine); 甘露醇氮芥(mannomustine); 二溴甘露醇(mitobronitol); 二溴卫矛醇(mitolactol); 哌泊溴烷(pipobroman); gacytosine; 阿糖胞苷(cytosine arabinoside); 紫杉醇类, 例如, 紫杉醇和多西紫杉醇; 6-硫鸟嘌呤(6-thioguanine); 巯基嘌呤; 甲氨喋呤; 铂类似物; 铂; 依托泊苷(VP-16); 异环磷酰胺; 丝裂霉素C; 米托蒽醌(mitoxantrone); 长春新碱; 长春瑞滨(vinorelbine); 长春瑞滨(Navelbine); 米托蒽醌(Novantrone); 替尼泊苷(teniposide); 柔红霉素(daunomycin); 氨基喋呤(aminopterin); 卡培他滨(Xeloda); 伊班膦酸(ibandronate); CPT11; 拓扑异构酶抑制剂RFS 2000; 二氟甲基鸟氨酸(difluoromethylornithine)(DMFO); 视黄酸; esperamycin; 卡培他滨(capecitabine); 及其药学上可接受的盐、酸或衍生物; 抗激素剂诸如抗-雌激素剂包括例如它莫西芬、雷洛昔芬(raloxifene)、抑制芳香化酶的4(5)-咪唑类、4-羟基它莫西芬、曲沃昔芬(trioxifene)、keoxifene、LY117018、奥那司酮(onapristone)

和托瑞米芬 (toremifene) (Fareston); 抗雄激素剂诸如氟他胺 (flutamide)、尼鲁米特 (nilutamide)、比卡鲁胺 (bicalutamide)、亮丙立德 (leuprolide) 和戈舍瑞林 (goserelin); ACK抑制剂诸如AVL-263 (Avila Therapeutics/Celgene Corporation)、AVL-292 (Avila Therapeutics/Celgene Corporation)、AVL-291 (Avila Therapeutics/Celgene Corporation)、BMS-488516 (Bristol-Myers Squibb)、BMS-509744 (Bristol-Myers Squibb)、CGI-1746 (CGI Pharma/Gilead Sciences)、CTA-056、GDC-0834 (Genentech)、HY-11066 (以及CTK4I7891、HMS3265G21、HMS3265G22、HMS3265H21、HMS3265H22、439574-61-5、AG-F-54930)、ON0-4059 (Ono Pharmaceutical Co., Ltd.)、ON0-WG37 (Ono Pharmaceutical Co., Ltd.)、PLS-123 (Peking University)、RN486 (Hoffmann-La Roche)、HM71224 (Hanmi Pharmaceutical Company Limited) 或其组合。

[0224] 当另外的剂与ACK抑制剂共同施用, 另外的剂和ACK抑制剂不必在相同药物组合中施用, 并且任选地, 由于不同的物理和化学特性, 通过不同途径施用。例如, 根据已建立的方案进行第一次施用, 并且随后, 基于观察到的作用, 调整剂量、施用方式和施用次数。

[0225] 仅以示例的方式, 如果个体在接受ACK抑制剂时经历的副作用是恶心, 那么与ACK抑制剂组合施用抗-催吐剂是适当的。

[0226] 或者, 仅以示例的方式, 本文描述的ACK抑制剂的治疗作用通过使用佐剂增强 (即, 佐剂本身几乎不具有治疗益处, 但与其他治疗剂结合, 对患者的总体治疗益处增强)。或者, 仅以示例的方式, 通过使用本文描述的ACK抑制剂和也具有治疗益处的其他治疗剂 (其也包括治疗方案) 增强个体经历的益处。在任何情况中, 不考虑被治疗的疾病、紊乱, 患者经历的整体益处, 在一些实施方案中是两个治疗剂的简单加和, 或者, 在其他实施方案中, 患者经历协同益处。

[0227] 使用的化合物的特定选择取决于主治医师的诊断及其对患者的状况和适当的治疗方案的判断。取决于紊乱的性质、患者的状况以及使用的化合物的实际选择, 任选地并行地 (例如, 同时、基本上同时或在相同治疗方案内) 或依序施用化合物。在治疗方案期间对每种治疗剂的施用顺序和重复施用的次数的确定是基于对被治疗的疾病和患者的状况的评估。

[0228] 在一些实施方案中, 当药物在治疗组合中使用, 治疗有效剂量变化。文献中描述了用于通过实验确定用于联合治疗方案中的药物和其他药剂的治疗有效剂量的方法。例如, 节律给药 (metronomic dosing), 即提供更频繁的、更低剂量以降低毒副作用, 的使用已经在文献中详细描述。联合治疗还包括在不同时间开始和结束的周期治疗以辅助患者的临床管理。

[0229] 对于本文描述的联合疗法, 共同施用的化合物的剂量当然将根据采用的辅药 (co-drug) 的类型、采用的具体药物、被治疗的疾病以及诸如此类而变化。此外, 当与另外的治疗剂共同施用, 本文描述的ACK抑制剂与另外的治疗剂或同时施用, 或依序施用。如果依序施用, 则主治医师将对与生物活性剂组合的蛋白质的适当施用顺序作出决定。

[0230] 如果另外的治疗剂和ACK抑制剂同时施用, 则任选地以单个统一形式或以多种形式 (仅通过示例, 或作为单一丸剂或作为两种单独的丸剂) 来提供多种治疗剂。在一些实施方案中, 以多剂量给予治疗剂中的一种, 或二者都以多剂量给予。如果不同时, 则在多次剂量之间的时限从约多于0周到少于约4周。此外, 组合方法、组合物和制剂不限于使用仅两种

药剂;还设想使用多种治疗组合。

[0231] 应该理解,治疗、预防或改善寻求缓解的状况的剂量方案可以根据多种因素来调整。这些因素包括受试者患有的紊乱以及受试者的年龄、重量、性别、饮食和医疗状况。因此,实际使用的剂量方案可以大范围的变化,并且从而偏离本文所列出的剂量方案。

[0232] 在一些实施方案中,以组合剂型或以意图大体上同时施用的单独的剂型来施用构成本文公开的联合疗法的药剂。在一些实施方案中,构成联合疗法的药剂依序施用,其中任一治疗化合物通过要求两步施用的方案来施用。在一些实施方案中,两步施用方案要求依序施用活性剂或间隔施用单独的活性剂。根据于每种药剂的性质,诸如药剂的效力、溶解度、生物利用度、血浆半衰期和动力学分布,多次施用步骤之间的时间段从几分钟到数小时不同。在一些实施方案中,靶分子浓度的昼夜节律变化决定最佳的给药间隔。

[0233] 在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物和另外的治疗剂以统一剂型施用。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物和另外的治疗剂以单独剂型施用。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物和另外的治疗剂同时或依序施用。

[0234] 施用

[0235] 本文描述了在需要细胞移植的患者中预防移植物抗宿主病(GVHD)的发生或降低GVHD发生的严重性的方法,包括向患者施用包含治疗有效量的ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的组合物。

[0236] 本文还描述了在需要细胞移植的患者中降低GVHD发生的严重性的方法,包括向患者施用包含治疗有效量的ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的组合物。

[0237] 本文还描述了治疗患者以减轻骨髓介导的疾病,以及减轻随之发生的移植物抗宿主病(GVHD)的方法,包括向患者施用同种异体造血干细胞和/或同种异体T-细胞,其中治疗有效量的ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)在同种异体造血干细胞和/或同种异体T-细胞的施用之前或与之并行地施用。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物是(R)-1-(3-(4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基)哌啶-1-基)丙-2-烯-1-酮(即PCI-32765/依鲁替尼)。

[0238] ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)在GVHD的发生之前、期间或之后施用。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)用作预防剂并且连续地向有发生GVHD倾向的受试者(例如,同种异体移植的接受者)施用。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)在GVHD的发生期间或发生之后尽快向个体施用。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的施用在症状发作的最初48小时内、在症状发作的最初6小时内或在症状发作的3小时内开始。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的初始施用(initial administration)通过任何可行的途径进行,诸如,例如,静脉注射、弹丸注射、5分钟至约5小时的输注、丸剂、胶囊剂、片剂、经皮贴片、含服递送和类似物,或其组合。ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)应当在检测到或怀疑紊乱的发生后尽可能快地施用,并且持续疾病治疗必需的时间长度,诸如,例如,从约1个月至约3个月。治疗的长度可对于每个受试者变化,并且长度可以使用已知的标准确定。在一些实施方案中,施用ACK抑制剂化合物(例如,ITK

或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)持续至少2周、约1个月至约5年之间,或从约1个月至约3年。

[0239] 治疗有效量将取决于紊乱的严重性和进程、先前的疗法、患者的健康状态、重量和对药物的反应以及治疗医生的判断。预防有效量取决于患者的健康状态、重量、疾病的严重性和进程、先前的疗法、对药物的反应以及治疗医生的判断。

[0240] 在一些实施方案中,向患者定期地(on a regular basis)施用ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼),例如,每天3次、每天2次、每天1次、每2天1次或每3天一次。在其他实施方案中,向患者间歇地(on an intermittent basis)施用ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼),例如,每天2次之后每天1次之后每天3次;或每周的前2天;或一周的第一、第二和第三天。在一些实施方案中,间歇给药与定期给药一样有效。在另外的或代替的实施方案中,仅当患者表现特定症状,例如,出现疼痛,或出现发烧、或出现炎症,或出现皮肤紊乱时施用ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)。每个化合物的给药时间表可以依赖于其他化合物的剂量时间表或不依赖其他化合物的给药时间表。

[0241] 在其中患者的状况没有改善情况下,根据医生的判断,可以长期,即,在延长的时间段内,包括贯穿患者整个生命期间施用化合物,以改善或以其他方式控制或限制患者的紊乱的症状。

[0242] 在其中患者的状态得到改善的情况下,根据医生的判断,可以连续地给予化合物;或者,施用的药物剂量可临时减少或临时暂停某一长度的时间(即“休药期”)。休药期的长度可在2天和1年之间变化,仅通过示例,包括2天、3天、4天、5天、6天、7天、10天、12天、15天、20天、28天、35天、50天、70天、100天、120天、150天、180天、200天、250天、280天、300天、320天、350天或365天。在休药期期间的剂量减少可为从10%-100%,仅通过示例,包括10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%。

[0243] 一旦患者的状况有所改善,则根据需要施用维持方案。之后,作为症状的函数,ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的施用剂量或频率可以降低至保持个体的改善的状况的水平。但是,在症状的任何复发后,个体可以要求长期的间歇性治疗。

[0244] ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的量将根据以下因素变化,诸如特定化合物、紊乱及其严重性、需要治疗的受试者或宿主的特征(例如,重量),并且根据围绕病例的特定环境确定,包括,例如被施用的特定剂、施用途径、治疗的受试者或宿主。但是,通常,用于成人治疗的剂量通常在0.02-5000mg/天,或从约1-1500mg/天的范围内。期望的剂量可以以单次剂量或同时(或在短时间段内)或以适当的间隔,例如按每天两次、三次、四次或更多次亚剂量施用的分次剂量来呈现。

[0245] 在一些实施方案中,ACK抑制剂(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的治疗量从100mg/天至最高达,并且包括2000mg/天。在一些实施方案中,ACK抑制剂(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的量从140mg/天至最高达,并且包括840mg/天。在一些实施方案中,ACK抑制剂(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的量从420mg/天至最高达,并且包括840mg/天。在一些实施方案中,ACK抑制剂(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依

鲁替尼)的量为约40mg/天。在一些实施方案中,ACK抑制剂(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的量为约140mg/天。在一些实施方案中,ACK抑制剂(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的量为约280mg/天。在一些实施方案中,ACK抑制剂(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的量为约420mg/天。在一些实施方案中,ACK抑制剂(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的量为约560mg/天。在一些实施方案中,ACK抑制剂(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的量为约700mg/天。在一些实施方案中,ACK抑制剂(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的量为约840mg/天。在一些实施方案中,ACK抑制剂(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的量为约980mg/天。在一些实施方案中,ACK抑制剂(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的量为约1120mg/天。在一些实施方案中,ACK抑制剂(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的量为约1260mg/天。在一些实施方案中,ACK抑制剂(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的量为约1400mg/天。在一些实施方案中,式(A)的化合物以约0.1mg/kg/天至约100mg/kg/天之间的剂量施用。

[0246] 在一些实施方案中,ACK抑制剂(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的剂量随着时间增加。在一些实施方案中,ACK抑制剂(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的剂量在预定的时间段内,例如,从在或约1.25mg/kg/天增加到在或约12.5mg/kg/天。在一些实施方案中,预定的时间段是超过1个月、超过2个月、超过3个月、超过4个月、超过5个月、超过6个月、超过7个月、超过8个月、超过9个月、超过10个月、超过11个月、超过12个月、超过18个月、超过24个月或更长。

[0247] ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)可以被配制成适合精确剂量的单次施用的单位剂型。在单位剂型中,将制剂分成包含适当量的一种或两种化合物的单位剂量。单位剂量可以是包含分散的量的制剂的包装的形式。非限制性的实例是包装的片剂或胶囊剂,以及小瓶或安瓿瓶中的粉剂。水悬浮液组合物可以包装于单剂量的不可再关闭的容器中。或者,可以使用多剂量、可再关闭的容器,在此情况下通常在组合物中包括防腐剂。仅以示例的方式,用于胃肠外注射的制剂可以以单位剂型呈现,其包括但不限于安瓿瓶,或具有添加的防腐剂的多剂量容器。

[0248] 应理解,医学专业人员将根据大量因素确定剂量方案。这些因素包括受试者的GVHD的严重性以及受试者的年龄、重量、性别、饮食和医疗状况。

[0249] 化合物

[0250] 本文描述了在需要细胞移植的患者中预防移植物抗宿主病(GVHD)的发生或降低GVHD发生的严重性的方法,包括向患者施用包含治疗有效量的ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的组合物。

[0251] 本文还描述了治疗患者以减轻骨髓介导的疾病,以及减轻随之发生的移植物抗宿主病(GVHD)的方法,包括向患者施用同种异体造血干细胞和/或同种异体T-细胞,其中治疗有效量的ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)在同种异体造血干细胞和/或同种异体T-细胞的施用之前或与之并行地施用。

[0252] 在对适用于本文描述的方法的不可逆的BTK化合物的以下说明中,所提到的标准化学术语的定义可以在参考著作中找到(如果本文没有另外定义),包括Carey and Sundberg“Advanced Organic Chemistry 4th Ed.”Vols.A(2000)和B(2001),Plenum Press,纽约。除非另有说明,使用本领域的常规技术内的质谱法、NMR、HPLC、蛋白质化学、生

物化学、重组DNA技术和药理学的常规方法。此外,BTK(例如,人BTK)的核酸和氨基酸序列是本领域已知的,如,例如美国专利号6,326,469中公开的。除非提供具体的定义,与本文描述的分析化学、合成有机化学以及药物化学和药剂化学(medicinal and pharmaceutical chemistry)相关使用的命名和实验室操作和技术是本领域已知的那些。标准技术可以用于化学合成、化学分析、药物制备、制剂和递送和患者的治疗。

[0253] 本文描述的BTK抑制剂化合物对BTK和在与BTK的半胱氨酸481的氨基酸序列位置同源的酪氨酸激酶的氨基酸序列位置中具有半胱氨酸残基的激酶具有选择性。通常,在本文描述的方法中使用的BTK的不可逆的抑制剂化合物在体外测定中鉴定或表征,所述体外测定例如,无细胞生化测定或细胞功能测定。这样的测定可以用于确定不可逆的BTK抑制剂化合物的体外 IC_{50} 。

[0254] 例如,无细胞的激酶测定可以用于在将激酶与缺乏或存在候选不可逆的BTK抑制剂化合物的一系列浓度下孵育后确定BTK活性。如果事实上候选化合物是不可逆的抑制剂,则通过用不含抑制剂的介质洗涤将不能恢复BTK激酶活性。参见,例如J.B. Smaill等人(1999), *J. Med. Chem.* 42(10):1803-1815。此外,BTK和候选不可逆的BTK抑制剂之间的共价复合物形成是可以通过本领域已知的多个方法(例如,质谱法)容易地确定的有用的BTK的不可逆抑制的指示剂。例如,一些不可逆的BTK-抑制剂化合物可以与BTK的Cys 481形成共价键(例如,通过迈克尔反应(Michael reaction))。

[0255] BTK抑制的细胞功能测定包括测量响应于在缺乏或存在候选不可逆的BTK抑制剂化合物的一系列浓度下在细胞系(例如,在Ramos细胞中的BCR活化)中刺激BTK-介导的通路的一个或更多个细胞终点。对于确定对BCR活化的响应有用的终点包括,例如BTK的自磷酸化、BTK靶蛋白(例如,PLC- γ)的磷酸化和细胞质的钙流。

[0256] 对许多无细胞生化测定(例如,激酶测定)和细胞功能测定(例如,钙流)的高通量测定是本领域普通技术人员公知的。此外,高通量筛选系统是可商购的(参见,例如Zymark Corp.,Hopkinton,MA;Air Technical Industries,Mentor,OH;Beckman Instruments, Inc.Fullerton,CA;Precision Systems, Inc.,Natick,MA等)。这些系统一般使包括适合测定的所有样品和试剂的移取、液体分配、计时的孵育和在检测器中的微量培养板的最终读数的整个程序自动化。因而,自动化的系统允许不需要过多的努力鉴定和表征大量不可逆的BTK化合物。

[0257] 在一些实施方案中,BTK抑制剂选自自由小有机分子、大分子、肽或非肽组成的组。

[0258] 在一些实施方案中,本文提供的BTK抑制剂是可逆的或不可逆的抑制剂。在某些实施方案中,BTK抑制剂是不可逆的抑制剂。

[0259] 在一些实施方案中,不可逆的BTK抑制剂与Bruton's酪氨酸激酶、Bruton's酪氨酸激酶同源物或BTK酪氨酸激酶半胱氨酸同源物的半胱氨酸侧链形成共价键。

[0260] 不可逆的BTK抑制剂化合物可以用于制造用于治疗任何以上状况(例如,自身免疫疾病、炎性疾病、变态反应紊乱(allergy disorder)、B-细胞增殖紊乱或栓塞性紊乱)的药物。

[0261] 在一些实施方案中,用于本文描述的方法的不可逆的BTK抑制剂化合物以如下体外 IC_{50} 抑制BTK或BTK同源物激酶活性:低于 $10\mu\text{M}$ (例如,低于 $1\mu\text{M}$ 、低于 $0.5\mu\text{M}$ 、低于 $0.4\mu\text{M}$ 、低于 $0.3\mu\text{M}$ 、低于 0.1 、低于 $0.08\mu\text{M}$ 、低于 $0.06\mu\text{M}$ 、低于 $0.05\mu\text{M}$ 、低于 $0.04\mu\text{M}$ 、低于 $0.03\mu\text{M}$ 、低于

0.02 μ M、低于0.01、低于0.008 μ M、低于0.006 μ M、低于0.005 μ M、低于0.004 μ M、低于0.003 μ M、低于0.002 μ M、低于0.001、低于0.00099 μ M、低于0.00098 μ M、低于0.00097 μ M、低于0.00096 μ M、低于0.00095 μ M、低于0.00094 μ M、低于0.00093 μ M、低于0.00092或低于0.00090 μ M)。

[0262] 在一些实施方案中,不可逆的BTK抑制剂化合物选自依鲁替尼(PCI-32765)、PCI-45292、PCI-45466、AVL-101、AVL-291、AVL-292或ONO-WG-37。在一些实施方案中,不可逆的BTK抑制剂化合物是依鲁替尼。

[0263] 在一个实施方案中,不可逆的BTK抑制剂化合物选择性地并且不可逆地抑制其靶酪氨酸激酶的活化形式(例如,酪氨酸激酶的磷酸化的形式)。例如,活化的BTK在酪氨酸551反式磷酸化。因此,在这些实施方案中,不可逆的BTK抑制剂仅在靶激酶被信号事件活化时抑制细胞中的靶激酶。

[0264] 在其他实施方案中,在本文描述的方法中使用的BTK抑制剂具有式(A)的任何结构。本文还描述了这样的化合物的药学上可接受的盐、药学上可接受的溶剂化物、药学活性代谢物和药学上可接受的前药。提供了包括至少一种这样的化合物或这样的化合物的药学上可接受的盐、药学上可接受的溶剂化物、药学活性代谢物或药学上可接受的前药的药物组合物。

[0265] 标准化学术语的定义在参考著作中找到,包括Carey and Sundberg“Advanced Organic Chemistry 4th Ed.” Vols.A(2000)和B(2001), Plenum Press, 纽约。除非另有说明,使用本领域的技术内的质谱法、NMR、HPLC、蛋白质化学、生物化学、重组DNA技术和药理学的常规方法。除非提供具体的定义,与本文描述的分析化学、合成有机化学和药物化学和药剂学相关使用的命名法以及实验室操作和技术是本领域已知的那些。标准技术被任选地用于化学合成、化学分析、药物制备、制剂和递送以及患者的治疗。标准技术被任选地用于重组DNA、寡核苷酸合成以及组织培养和转化(例如,电穿孔、脂质体转染)。使用记载的方法或如本文描述的进行反应和纯化技术。

[0266] 应该理解,本文描述的方法和组合物不限制于特定方法、方案、细胞系、构建体和试剂。还要理解,本文使用的术语只是为了描述特定实施方案的目的,而不意图限制本文描述的方法和组合物的范围,本文描述的方法和组合物的范围将仅由所附的权利要求限制。

[0267] 除非另有说明,对复杂部分(即部分的多条链)使用的术语等价地从左向右或从右向左阅读。例如,基团亚烷基环亚烷基指亚烷基基团后跟环亚烷基基团,或指环亚烷基基团后跟亚烷基基团。

[0268] 基团后随附的后缀“ene”(前缀“亚”)表示该基团是二价自由基。仅以示例的方式,亚甲基是甲基基团的二价自由基,即,它是-CH₂-基团;并且亚乙基是乙基基团的二价自由基,即-CH₂CH₂-。

[0269] “烷基(alkyl)”基团指的是脂肪族烷基。烷基部分包括“饱和的烷基”基团,其意指它不包含任何烯或炔部分。烷基部分还包括“不饱和的烷基”部分,其意指它包含至少一个烯或炔部分。“烯”部分指具有至少一个碳-碳双键的基团,并且“炔”部分指具有至少一个碳-碳三键的基团。烷基部分,无论是饱和还是不饱和的,包括支链、直链或环状部分。根据结构,烷基基团包括单价自由基或二价自由基(即,亚烷基基团),并且如果是“低级烷基”,则具有1至6个碳原子。

[0270] 如本文使用的,C₁-C_x包括C₁-C₂、C₁-C₃……C₁-C_x。

[0271] “烷基”部分任选地具有1至10个碳原子(每当它出现在本文中,数字范围诸如“1至10”指所给范围内的每个整数;例如,“1至10个碳原子”指烷基选自具有1个碳原子、2个碳原子、3个碳原子等至最高达并且包括10个碳原子的部分,尽管本定义还包括没有指定数字范围的术语“烷基”的出现)。本文描述的化合物的烷基可以被指定为“C₁-C₄烷基”或类似指代。仅以示例的方式,“C₁-C₄烷基”表明在烷基链中存在1至4个碳原子,即,烷基链选自甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基和叔丁基。因此C₁-C₄烷基包括C₁-C₂烷基和C₁-C₃烷基。烷基基团任选地被取代或未被取代。典型的烷基基团包括但绝不限于,甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、戊基、己基、次乙基(ethenyl)、次丙基、次丁基、环丙基、环丁基、环戊基、环己基以及类似物。

[0272] 术语“烯基”指其中烷基基团的前两个原子形成不是芳族基团的部分的双键的烷基类型。即,烯基基团以原子-C(R)=C(R)-R开始,其中R指烯基的其余部分,其是相同的或不同的。烯基部分是任选的支链、直链或环状的(在这种情况下,其也被称为“环烯基”基团)。根据结构,烯基基团包括单价自由基或二价自由基(即,亚烯基基团)。烯基基团任选地被取代。烯基基团的非限制性实例包括-CH=CH₂、-C(CH₃)=CH₂、-CH=CHCH₃、-C(CH₃)=CHCH₃。亚烯基基团包括但绝不限于-CH=CH-、-C(CH₃)=CH-、-CH=CHCH₂-、-CH=CHCH₂CH₂-和-C(CH₃)=CHCH₂-。烯基基团任选地具有2至10个碳原子,并且如果是“低级烯基”,则具有2至6个碳原子。

[0273] 术语“炔基”指其中烷基基团的前两个原子形成三键的烷基类型。即,炔基基团以原子-C≡C-R开始,其中R指炔基的其余部分,其是相同的或不同的。炔基部分的“R”部分可以是支链的、直链的或环状的。根据结构,炔基基团包括单价自由基或二价自由基(即,亚炔基)。炔基基团任选地被取代。炔基基团的非限制性实例包括但绝不限于-C≡CH、-C≡CCH₃、-C≡CCH₂CH₃、-C≡C-和-C≡CCH₂-。炔基基团任选地具有2至10个碳,并且如果是“低级炔基”,则具有2至6个碳原子。

[0274] “烷氧基(alkoxy)”基团指(烷基)O-基团,其中烷基是如本文定义的。

[0275] “羟基烷基”指被至少一个羟基基团取代的如本文定义的烷基自由基。羟基烷基的非限制性实例包括但绝不限于羟基甲基、2-羟基乙基、2-羟基丙基、3-羟基丙基、1-(羟基甲基)-2-甲基丙基、2-羟基丁基、3-羟基丁基、4-羟基丁基、2,3-二羟基丙基、1-(羟基甲基)-2-羟基乙基、2,3-二羟基丁基、3,4-二羟基丁基和2-(羟基甲基)-3-羟基丙基。

[0276] “烷氧基烷基”指被至少一个如本文定义的烷氧基取代的如本文定义的烷基自由基。

[0277] 术语“烷基胺”指-N(烷基)_xH_y基团,其中x和y选自x=1、y=1和x=2、y=0。当x=2时,烷基与烷基被附接的N原子一起任选地形成环状环系。

[0278] “烷基氨基烷基”指被如本文定义的烷基胺取代的如本文定义的烷基自由基。

[0279] “羟基烷基氨基烷基”指被如本文定义的烷基胺和羟基烷基取代的如本文定义的烷基自由基。

[0280] “烷氧基羟基氨基烷基”指被如本文定义的烷基胺和被如本文定义的羟基烷基取代的如本文定义的烷基自由基。

[0281] “酰胺”是具有式-C(O)NHR或-NHC(O)R的化学部分,其中R选自烷基、环烷基、芳基、杂芳基(通过环碳键接)和脂族杂环基(通过环碳键接)。在一些实施方案中,酰胺部分形成

氨基酸或肽分子与本文描述的化合物之间的连接,从而形成前药。本文描述的化合物上的任何胺或羧基侧链,可以被酰胺化。产生这样的酰胺的方法和具体基团在来源诸如Greene and Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd Ed., John Wiley&Sons, New York, NY, 1999中找到,其通过被此公开内容引用而并入本文。

[0282] 术语“酯”指的是具有式-COOR化学部分,其中R选自烷基、环烷基、芳基、杂芳基(通过环碳键接)和脂族杂环基(通过环碳键接)。本文描述的化合物上的任何羟基或羧基侧链,可以被酯化。产生这样的酯的方法和具体基团在来源诸如Greene and Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd Ed., John Wiley&Sons, New York, NY, 1999中找到,其通过被此公开内容引用而并入本文。

[0283] 如本文使用的,术语“环”指任何共价闭合的结构。环包括,例如,碳环(例如,芳基和环烷基)、杂环(例如,杂芳基和非芳族杂环)、芳族(例如,芳基和杂芳基)和非芳族(例如环烷基和非芳族杂环)。环可以任选地被取代。环可以是单环的或多环的。

[0284] 如本文使用的,术语“环系”指一个或多个环。

[0285] 术语“元环(membered ring)”可以包括任何环状结构。术语“元(membered)”意指组成环的骨架原子的数目。因此,例如,环己基、吡啶、吡喃和噻喃是6-元环,并且环戊基、吡咯、呋喃和噻吩是5-元环。

[0286] 术语“稠合的”指其中两个或更多个环共享一个或更多个键的结构。

[0287] 术语“碳环的”或“碳环”指其中形成环的每个原子都是碳原子的环。碳环包括芳基和环烷基。因此,该术语区分碳环和杂环(“杂环的”),在“杂环”中环骨架包含至少一个不同于碳的原子(即杂原子)。杂环包括杂芳基和杂环烷基。碳环和杂环可以任选地被取代。

[0288] 术语“芳族的”指具有包含 $4n+2$ 个 π 电子的离域 π -电子体系的平面环,其中 n 是整数。芳族环可以由5个、6个、7个、8个、9个或多于9个原子形成。芳族可以任选地被取代。术语“芳族”既包括碳环芳基(例如,苯基)也包括杂环芳基(或“杂芳基”或“杂芳族”)基团(例如,吡啶)。该术语包括单环的或稠环的多环(即,共享相邻碳原子对的环)的基团。

[0289] 如本文使用的,术语“芳基”指其中形成环的每个原子都是碳原子的芳族环。芳基环可以由5个、6个、7个、8个、9个或多于9个碳原子形成。芳基基团可以任选地被取代。芳基基团的实例包括但不限于苯基、萘基、菲基、蒽基、茚基和茛基。根据结构,芳基基团可以是单价自由基或二价自由基(即,亚芳基基团)。

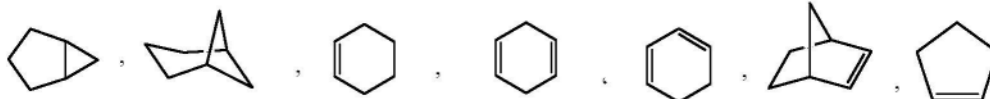
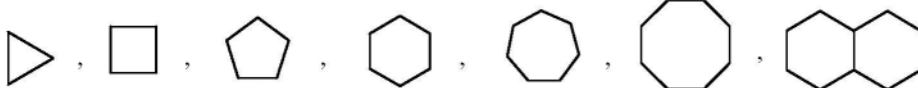
[0290] “芳氧基”基团指(芳基)O-基团,其中芳基是如本文定义的。

[0291] 本文使用的术语“羰基”指包含选自自由-C(O)-、-S(O)-、-S(O)₂-和-C(S)-组成的组的部分的基团,包括但不限于包含至少一个酮基,和/或至少一个醛基,和/或至少一个酯,和/或至少一个羧酸,和或至少一个硫酯基团的基团。这样的羰基包括酮、醛、羧酸、酯和硫酯。在一些实施方案中,这样的基团是直链、直链或环状分子的一部分。

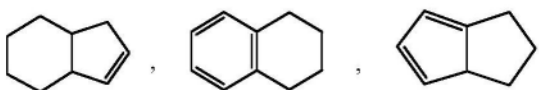
[0292] 术语“环烷基”指仅包含碳和氢的单环或多环自由基,并且任选地是饱和的、部分不饱和的或完全不饱和的。环烷基基团包括具有从3个至10个环原子的基团。环烷基具体的说明性实例包括以下部分:



[0293]



[0294]



以及类似物。根据结构,环烷基基团是单

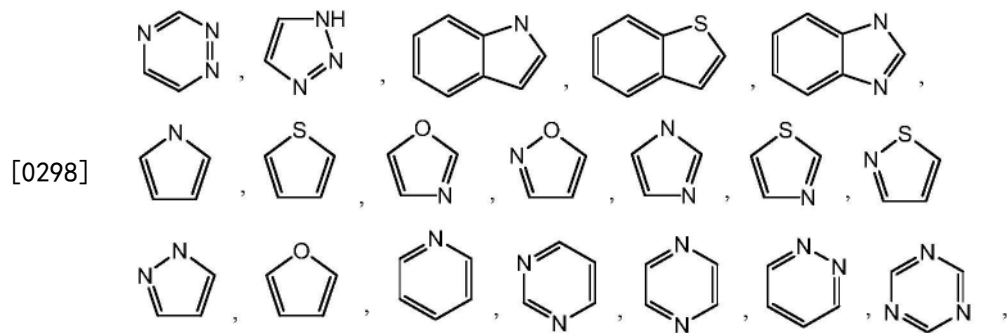
价自由基或二价自由基(即,亚环烷基),并且如果是“低级环烷基”,则具有3至8个碳原子。

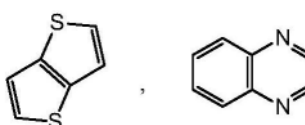
[0295] “环烷基基团”指被环烷基取代的如本文定义的烷基自由基。非限制性的环烷基基团包括环丙基甲基、环丁基甲基、环戊基甲基、环己基甲基和类似物。

[0296] 术语“杂环”指包含各自选自O、S和N的1至4个杂原子的杂芳族和脂族杂环基团,其中每个杂环基团在其环系中具有4个至10个原子,并且条件是所述基团的环不包含两个相邻的O或S原子。本文中,无论何时指明杂环中的碳原子数目(例如 C_1-C_6 杂环),环中必须存在至少一个其他原子(杂原子)。诸如“ C_1-C_6 杂环”的名称仅指环中碳原子的数目并且不指环中原子的总数目。应理解杂环可以在环中具有另外的杂原子。诸如“4-6元杂环”的名称指包含于环的原子的总数目(即,4、5或6元环,其中至少一个原子是碳原子,至少一个原子是杂原子并且其余的2至4个原子是碳原子或杂原子)。在具有2个或更多个杂原子的杂环中,那2个或更多个杂原子可以是相同的或彼此不同。杂环可以任选地被取代。可以在杂原子上或通过碳原子与杂环结合。非芳族杂环基团包括在其环系中仅具有4个原子的基团,但芳族杂环基团必须在其环系中具有至少5个原子。杂环基包括苯并稠合的环系。4元杂环基团的实例是氮杂环丁烷基(衍生自氮杂环丁烷)。5元杂环基团的实例是噻唑基。6元杂环基团的实例是吡啶基,并且10元杂环基团的实例是喹啉基。非芳族杂环基团的实例是吡咯烷基、四氢呋喃基、二氢呋喃基、四氢噻吩基、四氢吡喃基、二氢吡喃基、四氢噻喃基、哌啶子基(piperidino)、吗啉基、硫代吗啉基、噻噁烷基、哌嗪基、氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基(oxetanyl)、硫杂环丁烷基(thietanyl)、高哌啶基、氧杂环庚烷基(oxepanyl)、硫杂环庚烷基(thiepanyl)、氧杂氮杂草基(oxazepinyl)、二氮杂草基、硫氮杂草基、1,2,3,6-四氢吡啶基、2-吡咯啉基、3-吡咯啉基、吲哚啉基、2H-吡喃基、4H-吡喃基、二氧六环基、1,3-二氧戊环基、吡唑啉基、二噻烷基、二硫戊环基、二氢吡喃基、二氢噻吩基、二氢呋喃基、吡唑烷基、咪唑啉基、咪唑烷基、3-氮杂双环[3.1.0]己烷基、3-氮杂双环[4.1.0]庚烷基、3H-吲哚基和喹啉基(quinoliziny)。芳族杂环基的实例是吡啶基、咪唑基、嘧啶基、吡唑基、三唑基、吡嗪基、四唑基、呋喃基、噻吩基、异噻唑基、噻唑基、噁唑基、异噻唑基、吡咯基、喹啉基、异喹啉基、吲哚基、苯并咪唑基、苯并呋喃基、噌啉基、吲唑基、吲哚啉基(indoliziny)、酞嗪基(phthalaziny)、哒嗪基、三嗪基、异吲哚基、蝶啶基、嘌呤基、噁二唑基、噻二唑基、呋咱基(furazany)、苯并呋咱基、苯并噻吩基、苯并噻唑基、苯并噁唑基、喹唑啉基、喹喔啉基、萘啶基和呋喃并吡啶基。上述基团,如从以上列出的基团衍生的,任选地在可能时是C-连接的

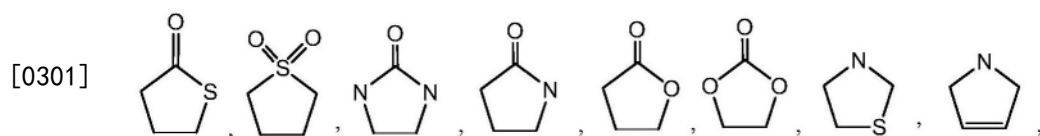
或N-连接的。例如,衍生自吡咯的基团包括吡咯-1-基(N-连接的)或吡咯-3-基(C-连接的)。此外,衍生自咪唑的基团包括咪唑-1-基或咪唑-3-基(都是N-连接的)或咪唑-2-基、咪唑-4-基或咪唑-5-基(全部是C-连接的)。杂环基团包括苯并稠合环系和被一个或两个氧代(=O)部分取代的环系诸如吡咯烷-2-酮。根据结构,杂环基团可以是单价自由基或二价自由基(即,亚杂环基团)。

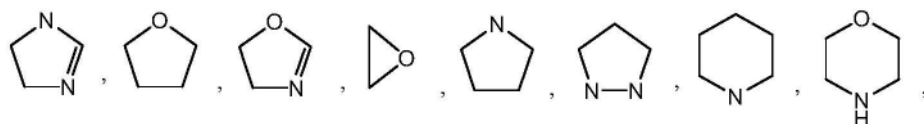
[0297] 术语“杂芳基”或者可选地“杂芳族”指包括选自氮、氧和硫的一个或多个环杂原子的芳族基团。包含N的“杂芳族”或“杂芳基”部分指其中环的骨架原子中的至少一个是氮原子的芳族基团。杂芳基的说明性实例包括以下部分:



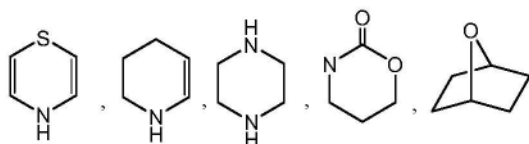
[0299]  以及类似物。根据结构,杂芳基可以是单价自由基或二价自由基(即,亚杂芳基基团)。

[0300] 如本文使用的,术语“非芳族杂环”、“杂环烷基”或“脂族杂环”指其中一个或多个形成环的原子是杂原子的非芳族环。“非芳族杂环”或“杂环烷基”基团指包括至少一个选自氮、氧和硫的杂原子的环烷基。在一些实施方案中,自由基与芳基或杂芳基稠合。杂环烷基环可以由3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或多于9个原子形成。杂环烷基环可以任选地被取代。在某些实施方案中,非芳族的杂环包含一个或多个羰基或硫代羰基基团,诸如,例如,包含氧和包含硫的基团。杂环烷基的实例包括但不限于,内酰胺类、内酯类、环亚胺类、环状硫代亚胺、环氨基甲酸酯类、四氢噻喃、4H-吡喃、四氢吡喃、哌啶、1,3-二氧芑、1,3-二噁烷、1,4-二氧芑、1,4-二噁烷、哌嗪、1,3-氧硫杂环己烷、1,4-氧硫杂环己二烯、1,4-氧硫杂环己烷、四氢-1,4-噻嗪、2H-1,2-噁嗪、马来酰亚胺、琥珀酰亚胺、巴比妥酸、硫代巴比妥酸、二氧代哌嗪、乙内酰脲(hydantoin)、二氢尿嘧啶、吗啉、三噁烷、六氢-1,3,5-三嗪、四氢噻吩、四氢呋喃、吡咯啉、四氢吡咯、吡咯烷酮、吡咯烷二酮(pyrrolidione)、吡啶啉、吡啶烷、咪唑啉、咪唑烷、1,3-间二氧杂环戊烯、1,3-二氧戊环、1,3-二硫杂环戊二烯、1,3-二硫戊环、异噁唑啉、异噁唑烷、噁唑啉、噁唑烷、恶唑烷酮、噻唑啉、噻唑烷和1,3-氧硫杂环戊烷。杂环烷基基团(也被称为非芳族杂环)的说明性实例包括:

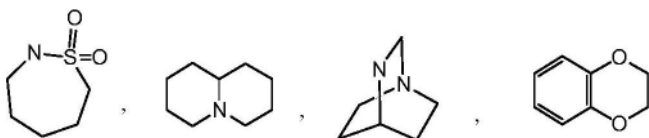




[0302]



[0303]



以及类似物。术语“脂族杂环”还

包括碳水化合物的所有环形式,包括但不限于单糖、二糖和寡糖。根据结构,杂环烷基基团可以是单价自由基或二价自由基(即,亚杂环烷基基团)。

[0304] 术语“卤代”或者“卤素(halogen)”或“卤素(halide)”指氟代、氯代、溴代和碘代。

[0305] 术语“卤代烃基”指其中至少一个氢被卤素原子代替的烃基结构。在其中两个或更多个氢原子被卤素原子代替的某些实施方案中,卤素原子全部彼此相同。在其中两个或更多个氢原子被卤素原子代替的其他实施方案中,卤素原子并不全部彼此相同。

[0306] 术语“氟代烃基”指其中至少一个氢被氟原子代替的烃基基团。氟代烃基的实例包括但不限于 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CF}_3$ 、 $-\text{CF}_2\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CF}_3$ 和类似物。

[0307] 如本文使用的,术语“杂烃基”指其中一个或多个骨架链原子是杂原子,例如氧、氮、硫、硅、磷或其组合的任选地被取代的烃基自由基。杂原子被置于杂烃基基团的任何内部位置,或处在杂烃基基团连接分子的其余部分的位置处。实例包括但不限于 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{N}-\text{OCH}_3$ 和 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$ 。此外,在一些实施方案中,最高达两个杂原子是连续的,举例来说,诸如 $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{OCH}_3$ 和 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ 。

[0308] 术语“杂原子”指碳或氢以外的原子。杂原子通常独立地选自氧、硫、氮、硅和磷,但不限于这些原子。在其中存在两个或更多个杂原子的实施方案中,所述两个或更多个杂原子可以彼此全部相同,或所述两个或更多个杂原子的一些或全部可以各自与其他不同。

[0309] 术语“键”或“单键”指两个原子或,当通过键连接的原子被认为是更大的亚结构的一部分时两个部分之间的化学键。

[0310] 术语“部分”指分子的特定片段或官能团。化学部分经常被认为是嵌入分子内或悬垂于分子的公认的化学实体。

[0311] “硫代烃氧基”或“烃硫基(alkylthio)”基团指 $-\text{S}-$ 烃基基团。

[0312] “SH”基团也被称为硫醇基或巯基基团。

[0313] 术语“任选地被取代的”或“被取代的”指所指定的基团可以被一个或多个另外的基团取代,所述另外的基团分别并且独立选自烃基、环烃基、芳基、杂芳基、脂族杂环、羧基、烃氧基、芳氧基、烃基硫基、芳基硫基、烃基亚砷、芳基亚砷、烃基砷、芳基砷、氰基、卤代、酰基、硝基、卤代烃基、氟代烃基、氨基,包括单-和二-取代的氨基基团以及其被保护的衍生物。例如,任选的取代基可以是 L_5R_5 ,其中每个 L_5 独立地选自键、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}(=$

O)-、-S(=O)₂-、-NH-、-NHC(O)-、-C(O)NH-、S(=O)₂NH-、-NHS(=O)₂-、-OC(O)NH-、-NHC(O)O-、-(被取代的或未被取代的C₁-C₆烷基)或-(被取代的或未被取代的C₂-C₆烯基);并且每个R_s独立地选自H、(被取代的或未被取代的C₁-C₄烷基)、(被取代的或未被取代的C₃-C₆环烷基)、杂芳基或杂烷基。形成以上取代基的保护性衍生物的保护基包括在来源诸如Greene and Wuts,上文中找到的那些。

[0314] ACK抑制剂化合物

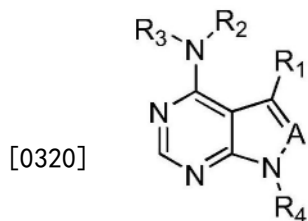
[0315] 本文描述了在需要细胞移植的患者中预防移植物抗宿主病(GVHD)的发生或降低GVHD发生的严重性的方法,包括向患者施用包含治疗有效量的ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的组合物。

[0316] 本文还描述了治疗患者以减轻骨髓介导的疾病,以及减轻随之发生的移植物抗宿主病(GVHD)的方法,包括向患者施用同种异体造血干细胞和/或同种异体T-细胞,其中治疗有效量的ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)在同种异体造血干细胞和/或同种异体T-细胞的施用之前或与之并行地施用。

[0317] 本文描述的ACK抑制剂化合物是对具有能够与抑制剂化合物上的迈克尔受体部分(Michael acceptor moiety)形成共价键的可接近的半胱氨酸的激酶选择性的。在一些实施方案中,当不可逆的抑制剂的结合位点部分与激酶结合时,半胱氨酸残基是可接近的或成为可接近的。即,不可逆的抑制剂的结合位点部分与ACK的活化位点结合,并且不可逆的抑制剂的迈克尔受体部分能够接近ACK的半胱氨酸残基(在一个实施方案中,结合步骤导致ACK的构象变化,从而暴露半胱氨酸)或以其他方式暴露于ACK的半胱氨酸残基;结果是,在半胱氨酸残基的“S”和不可逆的抑制剂的迈克尔受体之间形成共价键。因此,不可逆抑制剂的结合位点部分保持结合,或以其他方式阻断ACK的活化位点。

[0318] 在一些实施方案中,ACK是BTK、BTK的同源物或在与BTK中半胱氨酸481的氨基酸序列位置同源的氨基酸序列位置中具有半胱氨酸残基的酪氨酸激酶。在一些实施方案中,ACK是ITK。在一些实施方案中,ACK是HER4。本文描述的抑制剂化合物包括迈克尔受体部分、结合位点部分和连接结合位点部分和迈克尔受体部分的接头(并且在一些实施方案中,接头的结构提供一种构象,或以其他方式对准迈克尔受体部分,以改善不可逆抑制剂对特定ACK的选择性)。在一些实施方案中,ACK抑制剂抑制ITK和BTK。

[0319] 在一些实施方案中,ACK抑制剂是式(A)的化合物:



式(A)

[0321] 其中

[0322] A独立地选自N或CR₅;

[0323] R₁是H、L₂- (被取代的或未被取代的烷基)、L₂- (被取代的或未被取代的环烷基)、L₂- (被取代的或未被取代的烯基)、L₂- (被取代的或未被取代的环烯基)、L₂- (被取代的或未

被取代的杂环)、 L_2 - (被取代的或未被取代的杂芳基) 或 L_2 - (被取代的或未被取代的芳基), 其中 L_2 是键、O、S、-S(=O)、-S(=O)₂、C(=O)、- (被取代的或未被取代的C₁-C₆烷基) 或 - (被取代的或未被取代的C₂-C₆烯基);

[0324] R_2 和 R_3 独立地选自H、低级烷基和被取代的低级烷基;

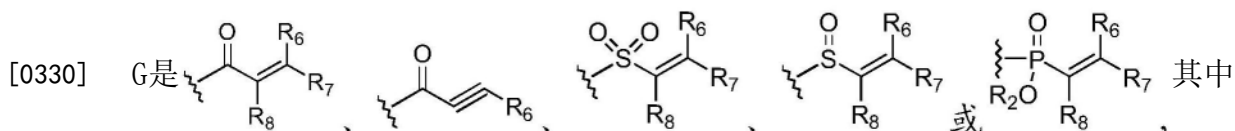
[0325] R_4 是 L_3 -X- L_4 -G, 其中,

[0326] L_3 是任选的, 并且当存在时是键、任选地被取代的或未被取代的烷基、任选地被取代的或未被取代的环烷基、任选地被取代的或未被取代的烯基、任选地被取代的或未被取代的炔基;

[0327] X是任选的, 并且当存在时是键、-O-、-C(=O)-、-S-、-S(=O)-、-S(=O)₂-、-NH-、-NR₉-、-NHC(O)-、-C(O)NH-、-NR₉C(O)-、-C(O)NR₉-、-S(=O)₂NH-、-NHS(=O)₂-、-S(=O)₂NR₉-、-NR₉S(=O)₂-、-OC(O)NH-、-NHC(O)O-、-OC(O)NR₉-、-NR₉C(O)O-、-CH=NO-、-ON=CH-、-NR₁₀C(O)NR₁₀-、杂芳基-、芳基-、-NR₁₀C(=NR₁₁)NR₁₀-、-NR₁₀C(=NR₁₁)-、-C(=NR₁₁)NR₁₀-、-OC(=NR₁₁)-或-C(=NR₁₁)O-;

[0328] L_4 是任选的, 并且当存在时是键、被取代的或未被取代的烷基、被取代的或未被取代的环烷基、被取代的或未被取代的烯基、被取代的或未被取代的炔基、被取代的或未被取代的芳基、被取代的或未被取代的杂芳基、被取代的或未被取代的杂环;

[0329] 或 L_3 、X和 L_4 一起形成包含氮的杂环;



[0331] R_6 、 R_7 和 R_8 独立地选自H、低级烷基或被取代的低级烷基、低级杂烷基或被取代的低级杂烷基、被取代的或未被取代的低级环烷基和被取代的或未被取代的低级杂环烷基;

[0332] R_5 是H、卤素、- L_6 - (被取代的或未被取代的C₁-C₃烷基)、- L_6 - (被取代的或未被取代的C₂-C₄烯基)、- L_6 - (被取代的或未被取代的杂芳基) 或 - L_6 - (被取代的或未被取代的芳基), 其中 L_6 是键、O、S、-S(=O)、S(=O)₂、NH、C(O)、-NHC(O)O、-OC(O)NH、-NHC(O)或-C(O)NH;

[0333] 每个 R_9 独立地选自H、被取代的或未被取代的低级烷基, 以及被取代的或未被取代的低级环烷基;

[0334] 每个 R_{10} 独立地为H、被取代的或未被取代的低级烷基, 或被取代的或未被取代的低级环烷基; 或者

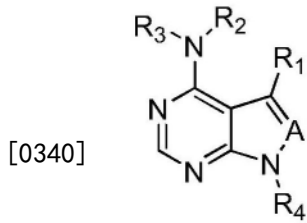
[0335] 两个 R_{10} 基团可以一起形成5-、6-、7-或8-元杂环; 或者

[0336] R_{10} 和 R_{11} 可以一起形成5-、6-、7-或8-元杂环; 或者

[0337] 每个 R_{11} 独立地选自H或烷基; 及其药学活性代谢物、药学上可接受的溶剂化物、药学上可接受的盐或药学上可接受的前药。

[0338] 在一些实施方案中, 式(A)的化合物是BTK抑制剂。在一些实施方案中, 式(A)的化合物是ITK抑制剂。在一些实施方案中, 式(A)的化合物抑制ITK和BTK。

[0339] 在一些实施方案中, 式(A)的化合物具有结构:



式(A);

[0341] 其中:

[0342] A是N;

[0343] R_2 和 R_3 各自为H;

[0344] R_1 是苯基-O-苯基或苯基-S-苯基;并且

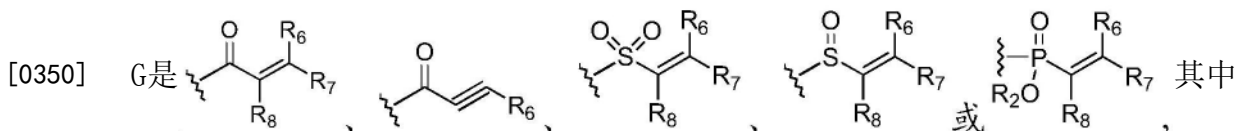
[0345] R_4 是 L_3 -X- L_4 -G,其中,

[0346] L_3 是任选的,并且当存在时是键、任选地被取代的或未被取代的烃基、任选地被取代的或未被取代的环烷基、任选地被取代的或未被取代的烯基、任选地被取代的或未被取代的炔基;

[0347] X是任选的,并且当存在时是键、-O-、-C(=O)-、-S-、-S(=O)-、-S(=O)₂-、-NH-、-NR₉-、-NHC(O)-、-C(O)NH-、-NR₉C(O)-、-C(O)NR₉-、-S(=O)₂NH-、-NHS(=O)₂-、-S(=O)₂NR₉-、-NR₉S(=O)₂-、-OC(O)NH-、-NHC(O)O-、-OC(O)NR₉-、-NR₉C(O)O-、-CH=NO-、-ON=CH-、-NR₁₀C(O)NR₁₀-、杂芳基-、芳基-、-NR₁₀C(=NR₁₁)NR₁₀-、-NR₁₀C(=NR₁₁)-、-C(=NR₁₁)NR₁₀-、-OC(=NR₁₁)-或-C(=NR₁₁)O-;

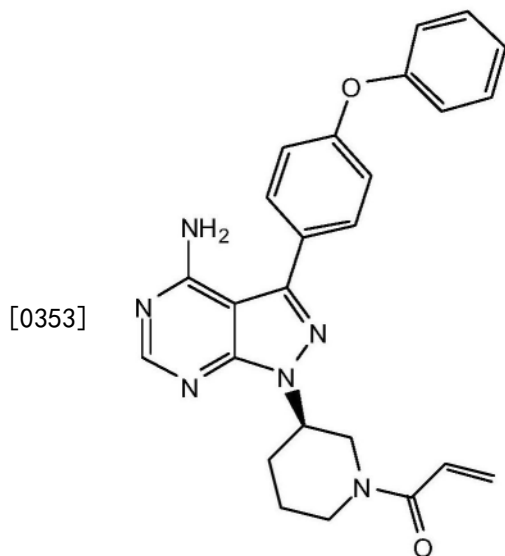
[0348] L_4 是任选的,并且当存在时是键、被取代的或未被取代的烃基、被取代的或未被取代的环烷基、被取代的或未被取代的烯基、被取代的或未被取代的炔基、被取代的或未被取代的芳基、被取代的或未被取代的杂芳基、被取代的或未被取代的杂环基;

[0349] 或 L_3 、X和 L_4 一起形成包含氮的杂环;



[0351] R_6 、 R_7 和 R_8 独立地选自H、低级烷基或被取代的低级烷基、低级杂烷基或被取代的低级杂烷基、被取代的或未被取代的低级环烷基和被取代的或未被取代的低级杂环烷基。

[0352] 在一些实施方案中,ACK抑制剂是(R)-1-(3-(4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基)哌啶-1-基)丙-2-烯-1-酮(即PCI-32765/依鲁替尼)



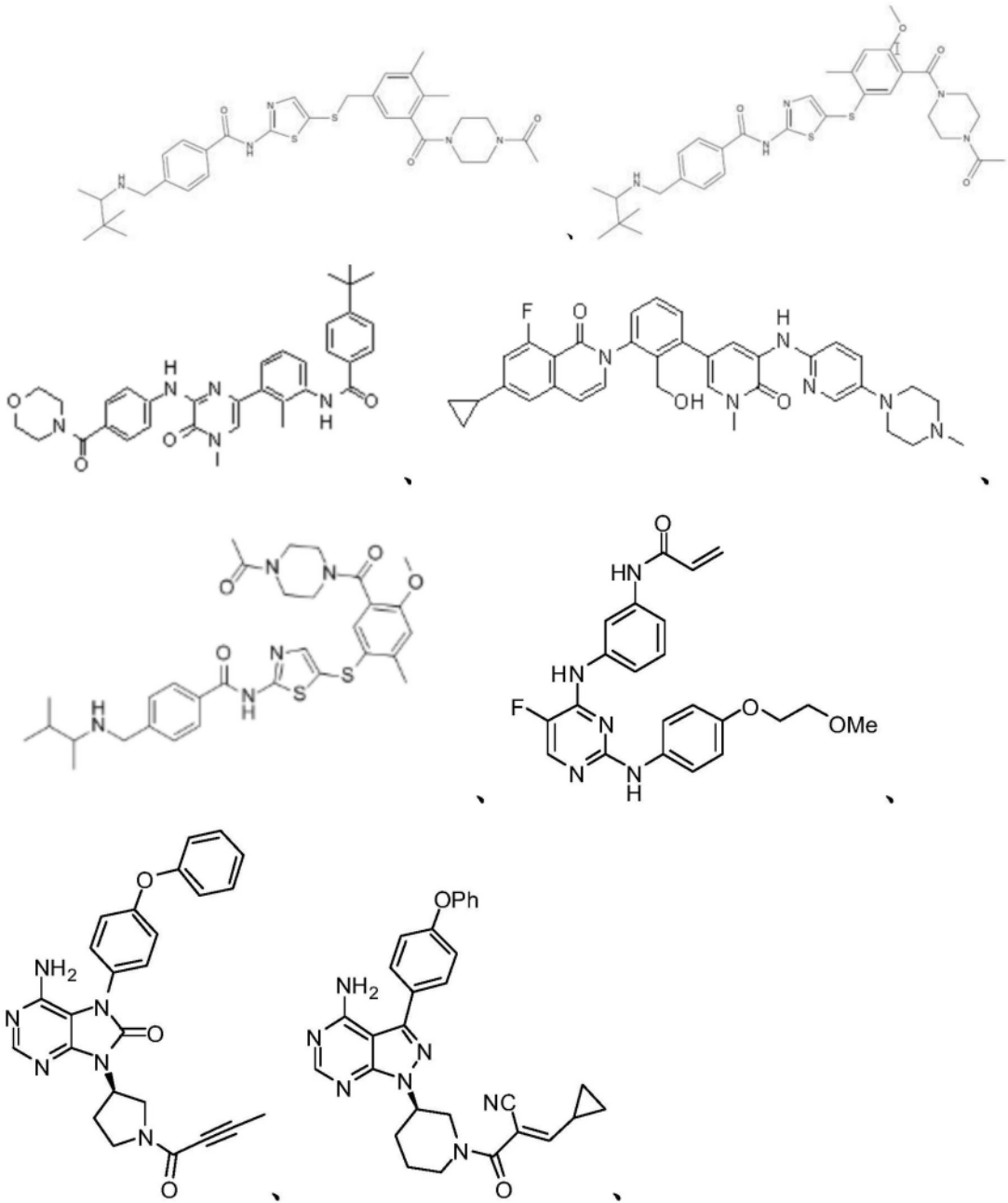
依鲁替尼。

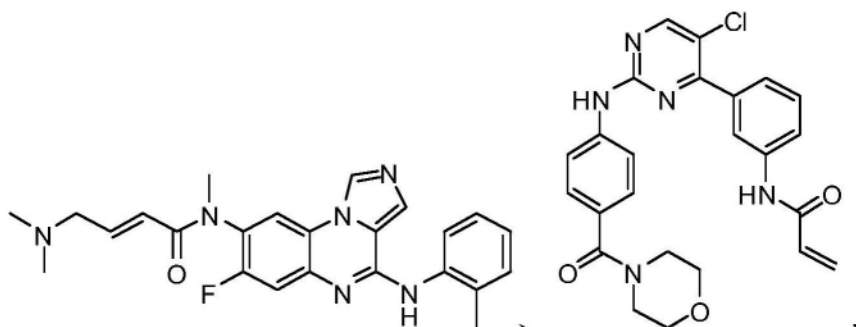
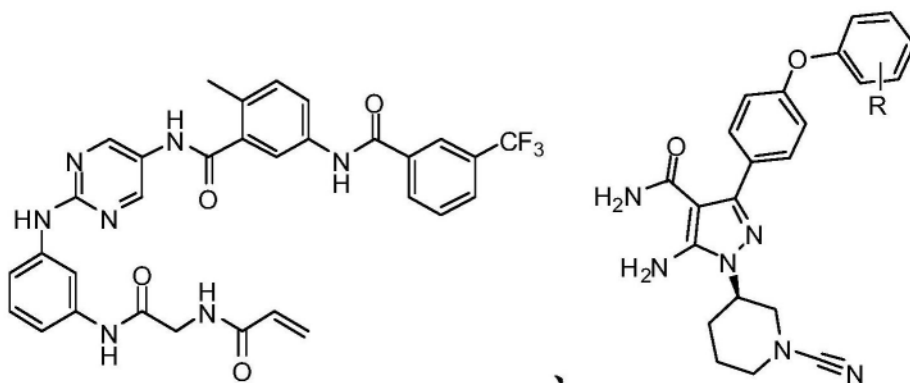
[0354] 在一些实施方案中,ACK抑制剂是AVL-263(Avila Therapeutics/Celgene Corporation)、AVL-292(Avila Therapeutics/Celgene Corporation)、AVL-291(Avila Therapeutics/Celgene Corporation)、BMS-488516(Bristol-Myers Squibb)、BMS-509744(Bristol-Myers Squibb)、CGI-1746(CGI Pharma/Gilead Sciences)、CTA-056、GDC-0834(Genentech)、HY-11066(以及CTK4I7891、HMS3265G21、HMS3265G22、HMS3265H21、HMS3265H22、439574-61-5、AG-F-54930)、ONO-4059(Ono Pharmaceutical Co.,Ltd.)、ONO-WG37(Ono Pharmaceutical Co.,Ltd.)、PLS-123(Peking University)、RN486(Hoffmann-La Roche)或HM71224(Hanmi Pharmaceutical Company Limited)。

[0355] 在一些实施方案中,ACK抑制剂是4-(叔丁基)-N-(2-甲基-3-(4-甲基-6-((4-(吗啉-4-羰基)苯基)氨基)-5-氧代-4,5-二氢吡嗪-2-基)苯基)苯甲酰胺(CGI-1746);7-苄基-1-(3-(哌啶-1-基)丙基)-2-(4-(哌啶-4-基)苯基)-1H-咪唑并[4,5-g]喹噁啉-6(5H)-酮(CTA-056);(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-甲酰胺(GDC-0834);6-环丙基-8-氟-2-(2-羟基甲基-3-{1-甲基-5-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基)-哌啶-2-基氨基]-6-氧代-1,6-二氢-吡啶-3-基}-苯基)-2H-异喹啉-1-酮(RN-486);N-[5-[5-(4-乙酰基哌嗪-1-羰基)-4-甲氧基-2-甲基苯基]硫烷基-1,3-噻唑-2-基]-4-[(3,3-二甲基丁烷-2-基氨基)甲基]苯甲酰胺(BMS-509744,HY-11092);或N-(5-((5-(4-乙酰基哌嗪-1-羰基)-4-甲氧基-2-甲基苯基)硫代)噻唑-2-基)-4-(((3-甲基丁烷-2-基)氨基)甲基)苯甲酰胺(HY11066)。

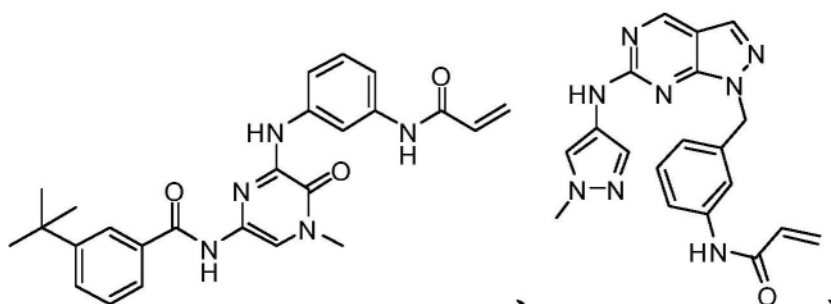
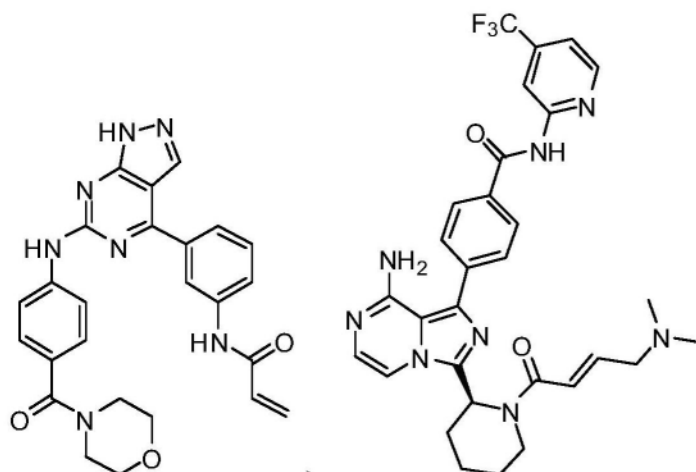
[0356] 在一些实施方案中,ACK抑制剂是:

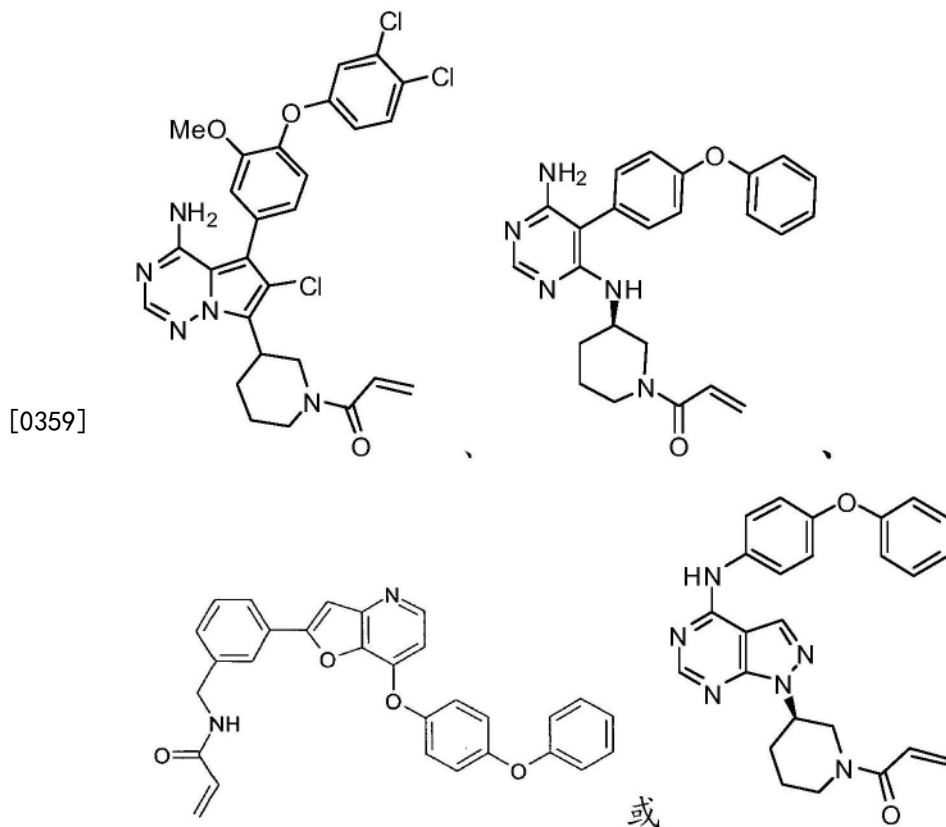
[0357]





[0358]

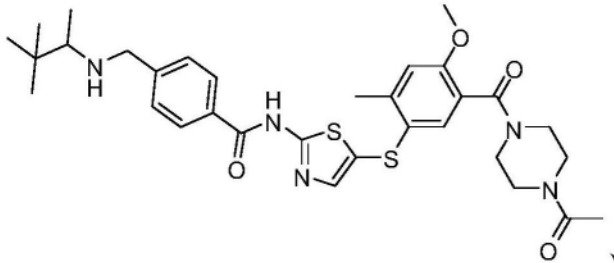




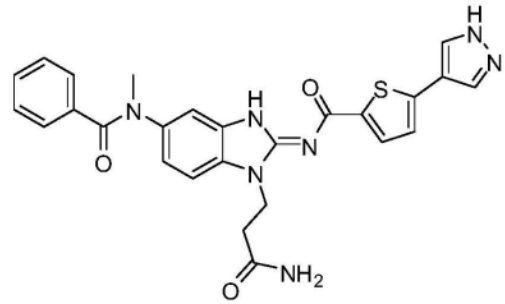
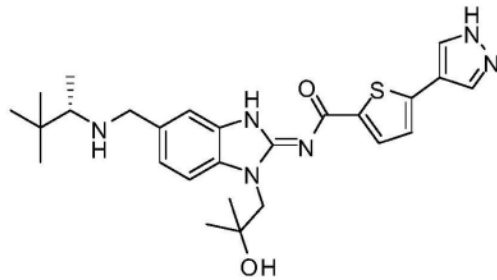
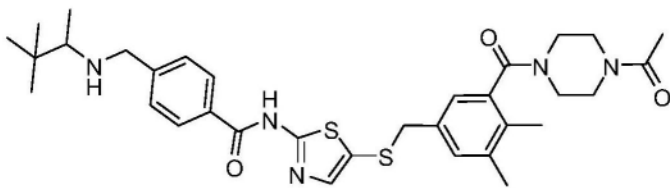
[0360] 在一些实施方案中,ACK抑制剂是ITK抑制剂。在一些实施方案中,ITK抑制剂是W02002/0500071中描述的ITK抑制剂化合物,所述文献通过引用全文纳入。在一些实施方案中,ITK抑制剂是W02005/070420中描述的ITK抑制剂化合物,所述文献通过引用全文纳入。在一些实施方案中,ITK抑制剂是W02005/079791中描述的ITK抑制剂化合物,所述文献通过引用全文纳入。在一些实施方案中,ITK抑制剂是W02007/076228中描述的ITK抑制剂化合物,所述文献通过引用全文纳入。在一些实施方案中,ITK抑制剂是W02007/058832中描述的ITK抑制剂化合物,所述文献通过引用全文纳入。在一些实施方案中,ITK抑制剂是W02004/016610中描述的ITK抑制剂化合物,所述文献通过引用全文纳入。在一些实施方案中,ITK抑制剂是W02004/016611中描述的ITK抑制剂化合物,所述文献通过引用全文纳入。在一些实施方案中,ITK抑制剂是W02004/016600中描述的ITK抑制剂化合物,所述文献通过引用全文纳入。在一些实施方案中,ITK抑制剂是W02004/016615中描述的ITK抑制剂化合物,所述文献通过引用全文纳入。在一些实施方案中,ITK抑制剂是W02005/026175中描述的ITK抑制剂化合物,所述文献通过引用全文纳入。在一些实施方案中,ITK抑制剂是W02006/065946中描述的ITK抑制剂化合物,所述文献通过引用全文纳入。在一些实施方案中,ITK抑制剂是W02007/027594中描述的ITK抑制剂化合物,所述文献通过引用全文纳入。在一些实施方案中,ITK抑制剂是W02007/017455中描述的ITK抑制剂化合物,所述文献通过引用全文纳入。在一些实施方案中,ITK抑制剂是W02008/025820中描述的ITK抑制剂化合物,所述文献通过引用全文纳入。在一些实施方案中,ITK抑制剂是W02008/025821中描述的ITK抑制剂化合物,所述文献通过引用全文纳入。在一些实施方案中,ITK抑制剂是W02008/025822中描述的ITK抑制剂化合物,所述文献通过引用全文纳入。在一些实施方案中,ITK抑制剂是W02011/017219中描述的ITK抑制剂化合物,所述文献通过引用全文纳入。在一些实施方案中,ITK抑

制剂是W02011/090760中描述的ITK抑制剂化合物,所述文献通过引用全文纳入。在一些实施方案中,ITK抑制剂是W02009/158571中描述的ITK抑制剂化合物,所述文献通过引用全文纳入。在一些实施方案中,ITK抑制剂是W02009/051822中描述的ITK抑制剂化合物,所述文献通过引用全文纳入。在一些实施方案中,ITK抑制剂是US 13/177657中描述的ITK抑制剂化合物,所述文献通过引用全文纳入。

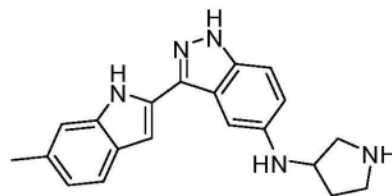
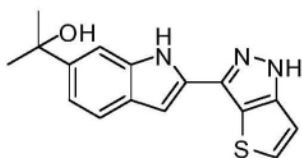
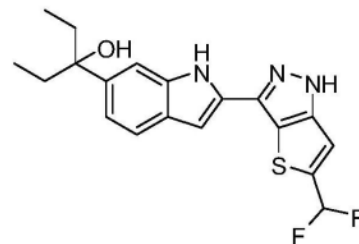
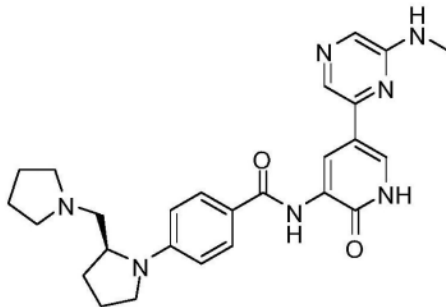
[0361] 在一些实施方案中,ITK抑制剂具有选自由以下组成的组的结构:



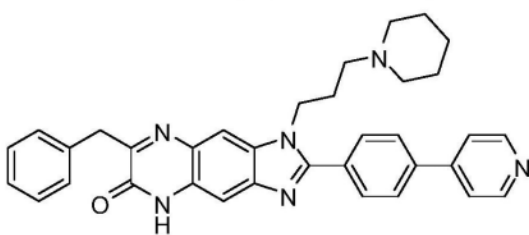
[0362]



[0363]



和



[0364] 药物组合物/制剂

[0365] 在某些实施方案中,本文公开了包含治疗有效量的ACK抑制剂化合物和药学上可接受的赋形剂的组合物。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)是式(A)的化合物。在一些实施方案中,ACK抑制剂化合物是(R)-1-(3-(4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基)哌啶-1-基)丙-2-烯-1-酮(即PCI-32765/依鲁替尼)。

[0366] ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的药物组合物以常规方法使用一种或更多种生理学上可接受的载体配制,所述生理学上可接受的载体包括有利于将活性化合物加工成可以药学使用的制剂的赋形剂和助剂。适当的制剂取决于选择的施用途径。本文描述的药物组合物的总结在,例如,Remington:The Science and Practice of Pharmacy,Nineteenth Ed(Easton,Pa.:Mack Publishing Company,1995);Hoover, John E.,Remington's Pharmaceutical Sciences,Mack Publishing Co.,Easton, Pennsylvania 1975;Lieberman,H.A.and Lachman,L.,Eds.,Pharmaceutical Dosage Forms,Marcel Decker,New York,N.Y.,1980;和Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,Seventh Ed.(Lippincott Williams&Wilkins1999)中找到。

[0367] 如本文使用的,药物组合物指ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)与其他化学组分诸如载体、稳定剂、稀释剂、分散剂、悬浮剂、增稠剂和/或赋形剂的混合物。

[0368] 药物组合物任选地以常规方式制造,诸如,仅以示例的方式,借助于常规的混合、溶解、粒化、糖衣丸制造、粉碎、乳化、包封、包埋或压制工艺。

[0369] 本文描述的药物制剂通过任何合适的施用途径施用,包括但不限于,口服、胃肠外(例如,静脉内、皮下、肌肉内)、鼻内、含服(buccal)、局部的、直肠内或经皮施用途径。

[0370] 本文描述的药物组合物被配制成任何合适的剂型,包括但不限于,用于由待治疗的个体口服摄食的水性口服分散剂、液体、凝胶、糖浆、酏剂、浆剂、悬浮液和类似物,固体口服剂型、气雾剂、控释制剂、速融制剂、泡腾制剂、冻干制剂、片剂、粉剂、丸剂、糖锭剂、胶囊剂、延迟释放制剂、延长释放制剂、脉冲式释放制剂、多微粒制剂以及混合的速释和控释制剂。在一些实施方案中,组合物被配制成胶囊剂。在一些实施方案中,组合物被配制成溶液剂(例如,用于IV施用)。

[0371] 本文描述的药物固体剂型任选地包括本文描述的化合物和一种或更多种药学上可接受的添加剂,诸如相容的载体、粘合剂、填充剂、悬浮剂、调味剂、甜味剂、崩解剂、分散剂、表面活性剂、润滑剂、着色剂、稀释剂、增溶剂、润湿剂、增塑剂、稳定剂、渗透促进剂、湿润剂、消泡剂、抗氧化剂、防腐剂或其一种或更多种组合。

[0372] 在一些实施方案中,使用标准包衣程序,比如在Remington's Pharmaceutical Sciences,20th Edition(2000)中描述的那些,提供包围组合物的薄膜包衣。在一些实施方案中,组合物被配制成颗粒剂(例如用于通过胶囊剂施用)并且一些或全部颗粒是经包衣的。在一些实施方案中,组合物被配制成颗粒剂(例如用于通过胶囊剂施用)并且一些或全部颗粒是微囊化的。在一些实施方案中,组合物被配制成颗粒剂(例如用于通过胶囊剂施用)并且一些或全部颗粒是未微囊化的并且是未包衣的。

[0373] 在一些实施方案中,药物组合物被配制为使得每个单位剂型中ACK抑制剂(例如,

ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的量为约140mg/单位。

[0374] 试剂盒/制品

[0375] 本文描述了用于在需要细胞移植的患者中预防移植物抗宿主病(GVHD)的发生或降低GVHD发生的严重性的试剂盒,该试剂盒包括治疗有效量的ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)。

[0376] 本文还描述了用于治疗患者以减轻骨髓介导的疾病,以及减轻随之发生的移植物抗宿主病(GVHD)的试剂盒,该试剂盒包括治疗有效量的ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼),其中治疗有效量的ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)在同种异体造血干细胞和/或同种异体T-细胞之前或与之并行地施用。

[0377] 为了在本文描述的治疗应用中使用,本文还描述了试剂盒和制品。在一些实施方案中,这样的试剂盒包括载体、包装,或被分成隔室以接收一个或更多个容器诸如小瓶、管和类似物的容器,每个容器包括待被用于本文描述的方法的单独的要素中的一个。合适的容器包括,例如,瓶(bottle)、小瓶(vial)、注射器和试管。容器可由多种材料形成,诸如玻璃或塑料。

[0378] 本文提供的制品包含包装材料。药物包装材料的实例包括但不限于,泡罩包装、瓶、试管、吸入器、泵、袋、小瓶、容器、注射器、瓶和适用于选择的制剂和施用和治疗的预期方式的任何包装材料。由于存在受益于BTK的抑制作用或其中BTK是对症状或病因的中介体或贡献者的任何紊乱的多种治疗,预期本文提供的化合物和组合物的制剂的广泛组合。

[0379] 容器任选地具有无菌的进入孔(例如,容器是具有可被皮下注射针穿透的塞子的静脉溶液袋(intravenous solution bag)或小瓶)。这样的试剂盒任选地包括化合物和鉴定说明书或标签或与它在本文描述的方法中的使用相关的指导。

[0380] 试剂盒一般将包括一个或更多个另外的容器,每一个具有由商业和用户立场对于使用本文描述的化合物所期望的各种材料(诸如,试剂,任选地处于浓缩形式,和/或设备)中的一种或更多种。这样的材料的非限制性实例包括但不限于,缓冲液、稀释剂、过滤器、针、注射器、载体、包装、容器、列出了含量和/或使用说明的小瓶和/或试管标签,以及具有使用说明的包装插页。一般还将包括一组说明。

[0381] 在一些实施方案中,标签在容器上或与容器相连。当形成标签的字母、数字或其它字符粘贴、模压或蚀刻在容器本身上时,标签可以在容器上;当标签在同时容纳了容器的储存器或载体内存在时,标签可以与容器相连,例如,作为包装插页。标签可以用于表明内容物将被用于特定的治疗应用。标签还可以表明使用内容物的指导,诸如,在本文描述的方法中的使用。

[0382] 在某些实施方案中,包含ACK抑制剂化合物(例如,ITK或BTK抑制剂,诸如例如依鲁替尼)的药物组合物存在于包含一个或更多个单位剂型的包装或分配器设备中。例如,包装可以包含金属或塑料箱,诸如,泡罩包装。包装或分配器设备可以伴随有施用说明。包装或分配器也可以伴随有与容器相连的、以由管理药物的制造、使用或销售的政府机构规定的形式的注意事项,该注意事项反映该药物形式被所述机构批准用于人类或兽医学施用。例如,这样的注意事项可以是由美国食品和药品管理局对于处方药物批准的标签,或批准的产品插页。含有配制在相容的药学载体中的本文提供的化合物的组合物也可以被制备、置于合适的容器中,并被标记用于所指定的状况的治疗。

实施例

[0383] 实施例1:免疫重建和cGVHD的发展

[0384] 使用广泛的免疫重建流式细胞的“免疫组”测定评价同种异体SCT后第30天和100天的淋巴细胞重建对继发的cGVHD的影响,该测定允许监测细胞活化标志物、记忆T细胞状态、Treg子集、NK细胞子集和Th1对Th2细胞子集的变化。与随着时间不发展cGVHD的患者相比,发展cGVHD的患者具有较大的CD4+T细胞增长和较小的CD8+T细胞增长,表明CD4+T细胞的选择性扩张。此外,注意到NK细胞的显著下降和活化的B细胞的百分数的同时增加。CD4+细胞的增加与炎性表型相关,并且Th2-偏斜的(Th2-skewed)促炎性应答可以归因于B细胞活化。Th2-偏斜的表型的出现得到在患cGVHD的患者中增加的CD4+/CD193+细胞的出现支持,因为CCR3在TH2细胞上选择性地表达。

[0385] 实施例2:cGVHD鼠模型中的依鲁替尼

[0386] 使用已建立的体内同种异体骨髓移植(BMT)模型系统以在临床前试验依鲁替尼作为用于cGVHD的疗法。LP/J→C57BL/6模型是硬皮病的cGVHD的鼠模型,硬皮病的cGVHD出现以毛发脱落、发红、剥落、结痂、驼背的姿势和粗糙的皮肤为特征的真皮病变。在此鼠模型中,外表症状在造血干细胞移植(HSCT)后第20天和第25天之间变得明显,并且在第37天和第47天之间达到峰值。

[0387] C57BL/6小鼠接受致死的X-射线照射(850cGy),然后是源自MHC-匹配的LP/J小鼠的同种异体-BMT。在移植物中包括少量成熟脾细胞以引起cGVHD的出现。研究证明了,大约1/3的小鼠存活至移植后第25天,并且在那时开始出现cGVHD的典型的外部特征,包括硬皮症、毛发脱落、驼背的姿势、重量损失和真皮纤维化。因此,选择BMT后25天作为治疗时间点。

[0388] 依鲁替尼减轻同种异体移植后的cGVHD症状学

[0389] 850cGy致死照射后,用LP/J骨髓移植C57BL/6小鼠。将移植后25天的小鼠随机地分配到媒介物、环孢菌素或依鲁替尼群组,并且通过饮水或腹膜内注射施用药物。使用调整自Cooke等人的生理评分系统在移植后第36天或第39天进行评分,该生理评分系统纳入了重量、姿势、毛发状况、皮肤状况和运动性。

[0390] 这些研究证实了对依鲁替尼的戏剧性的治疗响应,与媒介物或环孢菌素治疗组相比,其允许完全解决cGVHD引起的硬皮症、脱发症、重量损失和瘫痪(图1A、1D)。使用之前建立的用于评估患cGVHD的小鼠的毛发损失、硬皮症、重量损失、姿势和运动性的评分模型定量地评估治疗响应的质量(图1B)。在评分模型中,评分的范围从0(健康小鼠)至19(由于cGVHD死亡的小鼠),18代表患cGVHD的存活的小鼠的最高评分(图1C)。cGVHD进展被定义为总体cGVHD评分从治疗基线的>2分的变化。硬皮病的皮肤病变的组织学制备物揭示了真皮纤维化、表皮增生、血清细胞结痂(serocellular crusting)、侵蚀和淋巴组织细胞浸润,与外部检查一致(图1E)。在接受治疗的依鲁替尼的小鼠中观察到正常的真皮组织学。

[0391] 依鲁替尼以14天显著地延长了cGVHD进展的中位时间,并且与接受媒介物的小鼠的12%(18只中的2只)和接受环孢菌素10mg/kg/天的小鼠的10%(11只中的1只)相比,依鲁替尼治疗的小鼠的33%(18只中的6只)保持无进展($p<0.02$) (图5A-5B)。观察到依鲁替尼组中100%存活率,相比之下,环孢菌素和媒介物组分别为82%和88%的存活率。小鼠体重的每周评价揭示了组之间几乎没有变化,只是依鲁替尼治疗的小鼠比平均值略大。

[0392] 依鲁替尼不抑制Treg

[0393] 在同种异体BMT接受者中,Treg(调节性T细胞)通过活跃地抑制外周中的自身反应性T-细胞控制cGVHD;不幸的是,大多数目前的疗法干扰Treg发育或机能。为研究依鲁替尼对Treg的作用,用依鲁替尼(25mg/kg/天)或媒介物处理C57BL/6小鼠9周,并且通过对外周血的流式细胞术分析FoxP3+CD4+细胞百分数。此外,用1 μ M依鲁替尼或媒介物预处理经纯化的CD4+CD25hiCD127dim CD49d-FoxP3+Treg,并且以不同的应答细胞:抑制剂比例1:0、1:1、2:1、4:1、8:1和16:1与CFSE-标记的自体同源的CD8+应答细胞混合。加入抗-CD3/CD28/CD2刺激珠,并且在6天后用计算的CFSE稀释分裂指数评价刺激。并且在6天后用CFSE(羧基荧光素琥珀酰亚胺酯)稀释计算的分裂指数评价刺激。阴性对照孔不含有刺激珠。

[0394] 体内数据表明,在9周的连续依鲁替尼疗法后,依鲁替尼不减少总体Treg数目(图2A)。体外数据表明,如通过体外T-细胞抑制测定所测定的,在依鲁替尼治疗后保持人Treg的抑制功能。数据示出了,依鲁替尼具有抑制抗宿主免疫同时保持Treg功能的能力,这对于移植物抗肿瘤作用是重要的。

[0395] Th2免疫被依鲁替尼抑制

[0396] 在依鲁替尼处理的、TCR-刺激的CD4+T-细胞中进行IFN γ 和IL4的细胞内染色。刺激后,在CD4+T-细胞的产生IL4的Th2群体中发现显著的降低,而产生IFN γ 的Th1细胞基本上不受影响(图3A)。这些数据证实,在依鲁替尼剂量范围从0.1 μ M至1 μ M、在经纯化的T-细胞培养物中实现了两个细胞群体的显著差异。此剂量范围与在小鼠和人试验二者中的依鲁替尼的药代动力学研究期间在体内观察到的血清浓度一致。为了评价依鲁替尼诱导的Th1细胞因子偏斜的长期影响,在一组8月龄的C57BL/6E μ TCL1小鼠中进行IgG亚同种型分析。用依鲁替尼(25mg/kg/天)或媒介物连续处理这些小鼠7个月。结果揭示了Th1/Th2比例的明显倒转($p=0.002$),如通过IgG1(Th2)和IgG2c(Th1)的相对水平测量的,证实了体内依鲁替尼相关的Th1偏斜(图3B)。

[0397] Th17免疫被依鲁替尼抑制

[0398] 在cGVHD中,存在共同的联系,其中同种异体反应性Th2和Th17 T-细胞驱动促纤维化通路(pro-fibrotic pathway)和B-细胞自身抗体的产生,作为有缺陷的胸腺调节的结果。考虑到Th17细胞的作用,研究依鲁替尼对此具体T-细胞亚型的作用。使用CXCR3-CD4+CCL6+分离从新分离的健康供体PBMC磁分离健康供体Th17细胞,并且用媒介物或1 μ M依鲁替尼预处理30分钟后TCR刺激12小时。分泌IL17的CD4+T-细胞的百分数用细胞内细胞因子染色进行定量并归一到媒介物治疗(图4)。数据表明,依鲁替尼限制了TCR-诱导的Th17细胞的活化。

[0399] 依鲁替尼治疗上控制cGVHD诱导的器官损伤

[0400] 除了可外部测量的cGVHD指标,发现LP/J \rightarrow C57BL/6模型出现在组织学评价时明显的肺部和肾脏cGVHD。H&E染色切片的评价揭示,依鲁替尼疗法全身地限制贯穿肺实质的和在肾间质中的cGVHD-诱导的围绕细支气管和小毛细血管的淋巴细胞、浆细胞和组织细胞的聚集体。免疫组织化学揭示在媒介物和环孢菌素两个组中除CD3+T-细胞肾浸润以外的B220+B-细胞和CD3+T-细胞肺浸润,但没有在依鲁替尼治疗组观察到(图6A)。由受过训练的兽医病理学家进行的编码病理学分析证实,在此模型中,依鲁替尼改善了内部全身性cGVHD(图6B和6C)。

[0401] 进行另外的长期治疗试验(图6D)。再一次地,与媒介物对照相比,依鲁替尼显著限

制了cGVHD进展($P=0.0019$)。还发现,在第60天停止疗法允许在1只小鼠(6只中的1只)中cGVHD的临床突破;但是,这并不是统计上显著的。通过外部cGVHD评分观察到类似的趋势。在第75天的肺和肾组织中的内部cGVHD病理学的分析表明,连续的长期依鲁替尼对于控制cGVHD更有效;尤其是,肺和肾的内部病理学在仅BM接受者中没有减少,表明尽管T细胞从移植物的清除与在人同种异体-HSCT接受者中观察到的类似,此模型中存在特定的cGVHD内部病理学。在HSCT前第-2天开始并且在第25天结束的预防性的依鲁替尼治疗没有得到cGVHD进展的显著改善,表明依鲁替尼在T和B细胞响应更完全发展时最有效。

[0402] 实施例3:在来自患cGVHD的患者的细胞中的CD4 T-细胞和B-细胞活化的依鲁替尼抑制

[0403] 来自cGVHD患者的细胞中的CD4+T-细胞活化被依鲁替尼抑制

[0404] 从患活跃cGVHD的患者分离初级CD4+T-细胞,用 $1\mu\text{M}$ 依鲁替尼(或DMSO)预处理,并且用抗-CD3刺激6小时。对每个患者的活化的T-细胞的百分数的定量显示,与DMSO相比,用依鲁替尼预处理的细胞中CD69+CD4+T-细胞的数量明显降低(图7A)。

[0405] 来自cGVHD患者的细胞中的B-细胞活化被依鲁替尼抑制

[0406] 用 $1\mu\text{M}$ 依鲁替尼预处理分离自患cGVHD的患者的B-细胞,并且用抗-IgM刺激45分钟。使用pERK1/2、pBTK和pPLC γ 2的磷酸特异性抗体的B-细胞受体通路活化分析揭示依鲁替尼在抑制B-细胞受体通路中有效(图7B)。这些数据证明,在活跃cGVHD的背景下,依鲁替尼减少了人B和T细胞的免疫受体活化。

[0407] 实施例4:依鲁替尼在CLL和淋巴瘤中的临床研究

[0408] 在依鲁替尼的初始I期研究中治疗56名患者,包括患CLL的16名。评价7个群组:以28天开、7天关的时间表治疗患者的5个群组,以及以每天 $8.3\text{mg}/\text{kg}$ 或每日一次560mg的固定剂量连续给药时间表治疗患者的2个群组。患者已经接受过中位数为3的之前的方案,并且中位年龄为65岁,最年长的患者为82岁。没有达到最大耐受剂量,并且仅观察到2个剂量限制的毒性:具有药物过敏史的患者中的3级过敏性超敏反应;以及由于短暂的2级嗜中性白血球减少症的超过7天的剂量中断。使用竞争性结合测定来评价,在接受 $2.5\text{mg}/\text{kg}/\text{天}$ 的所有患者中,服药后4小时达到 $\geq 95\%$ BTK占据。因此,选择每日给予420mg和840mg的剂量用于进一步研究。在可评价肿瘤响应的50名患者中,60%达到了客观反应(CR或PR)。在所有组织学中观察到反应,包括患CLL/SLL的16名患者中的11名。反应的患CLL的全部患者在第一个周期期间具有淋巴结病的快速降低,伴随绝对淋巴细胞计数的增加,并且除一名患者以外都具有ALC的最终降低,达到PR的IWCLL标准。反应是持续的,中位无进展存活期为13.6个月。

[0409] 基于I期研究中所见的CLL患者中的令人印象深刻的反应,在患有CLL的患者中进行Ib/II期研究。在以每天420mg或每天840mg的固定剂量评价依鲁替尼的5个群组中登记患者。群组评价未接受过治疗(treatment-naive)的患者或年龄为65岁或高于65岁的患者、在2个或更多个之前的治疗线(prior lines of treatment),包括嘌呤-核苷酸类似物后复发的或难治的患者、或高风险的、在接受化学免疫疗法的2年内复发的患者或存在de117p的患者。登记了116名患者:31名未接受过治疗的患者,61名在复发/难治群组的患者和24名高风险患者。总体中位随访时间为16.6个月,复发的/难治的和高风险群组二者的中位先前疗法为4次。注意到的最常见的不良事件是腹泻、疲劳、上呼吸道感染、皮疹、恶心和关节痛,且大

多数为2级或更低。重要的是,没有报道累积毒性的证据。观察到反应,独立于低风险因素,包括晚期的疾病阶段、增加的先前疗法的次数、更高的 β -2-微球蛋白或低风险的细胞遗传学,在复发的/难治的群组中的具有de117p的患者中ORR为67%。对于复发的/难治的和高风险群组中的85名患者,预测的22个月PFS为76%,而对于31名未接收过治疗的患者为96%。对这两组预测的22个月总体存活率分别为85%和96%。对于任何群组,当时还未达到中位无进展存活率和整体存活率。

[0410] 实施例5:依鲁替尼在患有耐甾族化合物或难治的慢性移植物抗宿主病(cGVHD)的临床研究

[0411] cGVHD及其相关免疫缺陷已经被认为是同种异体SCT幸存者中非复发死亡率(NRM)的主要原因。患有cGVHD的SCT幸存者发展严重的或威胁生命的健康状况的可能性是健康的同胞的4.7倍,并且患有活跃cGVHD的患者比没有cGVHD历史的同种异体-SCT幸存者更有可能报告不利的整体健康、心理健康、功能损害、活动限制以及疼痛。尽管利妥昔单抗,多种研究药物在甾族化合物难治的cGVHD的历史反应率约为30%,这是对降低对甾族化合物的依赖性并改善生活质量和存活率的有效干预有明确需求的患者群体。依鲁替尼通过BCR通路的抑制诱导B淋巴细胞的凋亡和拮抗通过细胞因子诸如BAFF介导的多重外部微环境存活信号,并且可以逆转Th2极化。因此,它迄今被显示在患有复发的或难治的B细胞淋巴瘤和CLL的患者的治疗中是安全的,最常见的毒性是腹泻、疲劳、上呼吸道感染和皮疹,且为级别2或更低。重要的是,没有注意到累积毒性,允许药物的长期使用。相比而言,已知用于治疗cGVHD的甾族化合物和钙调磷酸酶抑制剂的长期使用引起不良作用,导致很多在患cGVHD的患者中见到的发病率和死亡率。基于早期研究中依鲁替尼的耐受性及其作用机制,预期这可以是良好耐受的药剂并且具有抗cGVHD的临床功效。

[0412] 为了评价当用于cGVHD时依鲁替尼的安全性和效力的首要目标,预期依鲁替尼将在患有甾族化合物依赖/难治的cGVHD的患者中良好耐受,并且与30%的历史反应率相比,将改善在12周的反应。此外,预期依鲁替尼的使用将允许更快地逐渐减少甾族化合物,并且与历史对照相比,将有助于在1和2年改善生活质量。由于患者将暴露于更少的皮质类固醇,预期依鲁替尼将改善原发疾病的复发率,特别是在由于淋巴性恶性肿瘤接受移植的患者中,其中依鲁替尼在II期研究中具有已经记录的效力。由于依鲁替尼对ITK有作用,与已建立的对照(institutional control)相比,在此背景下使用依鲁替尼将朝向Th1表型偏斜,其将用流式细胞术通过免疫重建的系列评价来评价。此外,它抑制Th17细胞的活化,同时保留Treg的功能和数量,从而在治疗GVHD的同时保持移植物抗肿瘤作用。

[0413] 研究目标:

[0414] 1. 主要终点:

[0415] 为了确定当用于慢性GVHD时依鲁替尼的安全性(Ib期部分)

[0416] 为了评价使用依鲁替尼作为甾族化合物难治的或耐甾族化合物的慢性GVHD的治疗时,12周的反应率(CR+PR)(II期部分)

[0417] 2. 次要终点:

[0418] 为了评价依鲁替尼在12周、6个月、1年和2年对甾族化合物剂量的影响

[0419] 为了评价在6个月以及1年和2年的反应

[0420] 为了评价在1年和2年的总体存活率

- [0421] 为了评价在1年的复发率(原发疾病和cGVHD症状二者)
- [0422] 为了评价治疗期间3-5级感染的发生率
- [0423] 为了评价在1年和2年的生活质量
- [0424] 为了评价在1年和2年对免疫重建的作用
- [0425] 合格标准:
- [0426] 1.耐皮质类固醇的或皮质类固醇难治的典型或重叠的慢性GVHD(等价于至少0.5mg/kg/天或1mg/kg/每2天泼尼松,持续至少1个月的治疗)。
- [0427] 允许器官特异性的局部疗法
- [0428] 2.用于血液性恶性肿瘤的同种异体干细胞移植的历史
- [0429] 3.注册时年龄18-75岁
- [0430] 4.施用依鲁替尼的第一个剂量后7天内,患者必须具有如下的充分的器官功能和体能状态:
- [0431] 绝对中性粒细胞计数(ANC) $\geq 500/\mu\text{L}$
- [0432] 血小板 $\geq 30,000/\mu\text{L}$
- [0433] 总胆红素 ≤ 2.5 倍制度上正常上限(institutional upper limit of normal),除非由于Gilbert's病除非可归因于cGVHD
- [0434] AST(SGOT) ≤ 2.5 倍制度上正常上限,除非可归因于cGVHD
- [0435] 肌酐清除率 $\geq 40\text{mL}/\text{min}$
- [0436] 5.ECOG体能状态 ≤ 2
- [0437] 6.预期寿命 ≥ 12 周
- [0438] 7.愿意并且能够参加本研究方案中的所有要求的评价和程序
- [0439] 8.能够理解本研究的目的是和风险并且提供签字且有日期的知情同意书以及使用受保护的健康信息的授权书(根据国家和地区受试者隐私条例)
- [0440] 排除标准:
- [0441] 1.开始依鲁替尼后4周内的新的免疫抑制
- [0442] 2.“目前活跃的”恶性肿瘤,以下除外:除了移植的主要指征外受试者已经至少2年不再患,或不将存活期限限制在低于2年的充分治疗的基底细胞或鳞状细胞皮肤癌、原位宫颈癌,或其他癌症。
- [0443] 3.威胁生命的疾病、医学状况或器官系统功能失调,其根据研究者的意见,可能损害受试者的安全或将研究结果置于过度的风险
- [0444] 4.活跃且不受控制的细菌、真菌或病毒感染
- [0445] 5.在筛检的6个月内重大心血管疾病,诸如失控或症状性心律失常、充血性心力衰竭或缺乏明显致病因素(即,严重的自身免疫性溶血性贫血或脓毒病)的心肌梗死,或是如New York Heart Association功能性分类法所定义的任何3级或4级心脏疾病
- [0446] 6.人类免疫缺陷病毒(HIV)或活跃的丙型肝炎病毒(HCV)或乙型肝炎病毒(HBV)的已知病史或任何不受控的活跃的全身感染。
- [0447] 7.造血干细胞移植后同时进行的抗肿瘤疗法
- [0448] 8.哺乳的或怀孕的9.不同意在研究期间和研究药物的最后一个剂量后30天使用高度有效的避孕措施(例如,避孕套、埋植剂、注射剂、联合口服避孕药、一些宫内节育器

[IUD]、禁欲或不育的对象) (注意:仅用于有生育能力的男性和女性)

[0449] 研究设计:

[0450] 1. 概述

[0451] 这是对于患有耐甾族化合物的或难治的慢性移植物抗宿主病 (cGVHD) 的非随机的、开放标签的Ib/II期研究,等价于在用于血液性恶性肿瘤的同种异体干细胞移植后至少0.5mg/kg/天或1mg/kg/每2天泼尼松、持续至少1个月的治疗。如果患者正使用钙调磷酸酶抑制剂并且在研究开始时水平低于5ng/ml,钙调磷酸酶抑制剂将停止。注册之后,患者以每日420mg依鲁替尼开始,基于证明了此剂量被良好耐受并且90%的BTK活性位点在此剂量被占据的血液性恶性肿瘤的I和II期研究。为了便于记录和随访,一个周期被定义为28天。治疗是经口的,并且将以门诊施用。最早6名患者将进行剂量限制的毒性 (DLT) 评价阶段。DLT阶段为药物初始施用后的28天,并且这6名患者必须在招募继续之前完成DLT。DLT被如下定义:2级急性移植物抗宿主疾病(组织活体检查证明优选但不必要);4级血小板减少症,在无疾病进展的14天无治疗期后,其不改善至基线的80%或更优;4级发热性中性粒细胞减少症或感染;7天内无法消退的3级发热性中性粒细胞减少症或感染;以及不包括感染的4级非血液毒性;以及如果不由最佳替代疗法矫正的4级电解质失常。

[0452] 最初的甾族化合物的逐渐减少可以在依鲁替尼开始后4周开始,但在第三个周期(12周)末,甾族化合物剂量不可以低于起始剂量的50%。在每个周期开始时,患者将接受具有综合cGVHD评价的体检。在周期3末评价患者的反应,并且,如果不存在症状上的改善,那么将被认为是治疗失败并且患者将退出研究。此外,在周期3末的反应测试之前要求针对cGVHD的另外的治疗的患者将被认为治疗失败,并且这些患者将从研究中除去。如果在12周测试时患者处于CR或PR,他们将继续每日依鲁替尼同时甾族化合物逐渐减少。一旦甾族化合物逐渐停掉(tapered off),依鲁替尼可以终止。如果在1年评价点,患者产生允许降低甾族化合物剂量的临床益处,那么可以允许他们继续研究最多达24个月。将每月评价GVHD,并且每3个月评价相关研究,包括免疫重建、B细胞和T细胞活化、血清免疫球蛋白和血清BAFF水平。在12周、6个月、1年和2年评价包括Lee cGVHD症状量表、10-分cGVHD活性评价、FACT-BMT、SF36和人活动描述的症状负荷和生活质量研究。

[0453] 2. 依鲁替尼疗法

[0454] 在28天周期的每一天每天施用依鲁替尼。依鲁替尼的第一次施用将定义C1D1。施用420mg的固定剂量。在基线进行根据NIH一致标准35的综合慢性移植物抗宿主评价,以确定器官特异性和整体评分。在周期3末重复综合评价。此研究将使用Ib/II期研究设计进行,其中II期部分将作为Simon最优2阶段设计(Simon optimal 2stage design)进行。如果最初15名患者,包括在Ib期部分登记的6名)中不超过5名在12周评价时具有CR或PR的迹象,研究将由于无用而停止。根据治疗医师的决定,如果见到临床反应,泼尼松的最初减少可以在依鲁替尼开始后2周开始,截止12周评价阶段,泼尼松不可以逐渐减少低于原始剂量的50%,并且甾族化合物逐渐减少期间cGVHD症状的增加要求甾族化合物剂量增加至不超过原始剂量将不被认为是进展。但是,如果患者要求高于原始剂量的甾族化合物的剂量或在任何点增加针对cGVHD的新的治疗,这将被认为是进展的疾病的迹象并且将需要从研究中除去。由于预期患有cGVHD的患者的约66%无论疗法如何都将进展,如果多于75%的患者在周期3末的评价前进展,将触发停止规则。每日依鲁替尼将继续直到甾族化合物逐渐停掉。

将不强制具体的泼尼松逐渐减少时间安排。一旦甾族化合物停止,依鲁替尼将继续额外的4周,然后停止。患者可以继续使用依鲁替尼2年,并且能够停止依鲁替尼的患者将从治疗开始时起被随访2年作为次级终点。

[0455] 终点/统计学考虑:以2部分进行此项研究,Ib期部分和II期部分。最初,6名患者注册到本研究的Ib期部分。与最大耐受剂量(MTD)评价类似,如果这6名患者中最多1名在28天的观察期期间经历DLT,方案将被认为是充分耐受的,在此情况下研究将进入II期部分。使用Simon最优2-阶段II期设计以检验总体反应率将为30%的无效假设(null hypothesis)和整体反应率将为50%、单侧I型误差为0.1和80%的功效的对立假设,将需要32名患者。发明人每年进行的超过100个同种异体移植中,大约一半最终发生cGVHD。其中大约50%将患有对甾族化合物的初始治疗无反应的疾病,导致每年在俄亥俄州的约20个cGVHD的发生病例。预期本研究每月招募大约1名患者,如果在单个中心进行,产生近3年的招募期。北卡罗来纳大学(University of North Carolina)和芝加哥大学(University of Chicago)的移植量稍低,并且因此,加上这两个地点,预期能够在约24个月内完全招募。如果第一阶段中的15名患者中最多5名在12周评价点响应,则终止本研究。如果总体最多12名患者响应,此治疗将不被认为值得继续进行。通常,不考虑治疗,预期截止到治疗开始后6个月,大约66%的患者将患有进展的疾病。因此,如果在中期分析截止前,登记的75%或更多的患者在最初12周内出现需要治疗升级的恶化的cGVHD,则将触发终止规则(4名患者中的3名、8名患者中的6名和12名患者中的9名)。

[0456] 通过用于GVHD评级的NIH一致标准评价响应。

[0457] 完全反应(CR)将被定义为可归因于GVHD的症状的完全消退。

[0458] 部分反应(PR)将被定义为在1个受影响的器官中的客观反应的存在,没有其他地方的进展的迹象和不要求另外的全身疗法。

[0459] 随访的长度将为24个月,并且估计的招募期将为2年。

[0460] 以连续变量的中位数和范围以及类别变量的频率和百分数体现患者特征。实验室相关因素将在每个时间点使用描述统计学总结。对于相关研究,将使用非参数的威斯康星符号秩操作(non-parametric Wilcoxon signed-rank procedure)比较基线值。对于生活质量相关因素,0.5标准偏差变化将被认为是统计学上显著的。拟合Logistic回归模型以寻找有利于未来研究中的进一步探索的相关性。将为每位患者产生时间-过程点线图(Time-course plots)并且使用变量的重复测量分析探讨关系。将使用 κ 统计评价NIH响应和生活质量测量的临床上有意义的改善之间的一致性。

[0461] 实施例6:CLL/GVHD病例研究

[0462] 2002年11月,最初诊断患有高风险17p del CLL的52岁男性。2003年,用6个周期氟达拉滨、环孢菌素和利妥昔单抗(FCR)开始治疗,并达到了完全响应。1年之后,该患者复发,伴随右侧胸腔积液和胸膜后/肠系膜淋巴结。2006年12月,外周血荧光原位杂交(FISH)显示,23%的细胞为17p缺失的,并且CT扫描显示增加的腺病。2007年3月,他的骨髓的细胞数目增加并且伴随CLL弥漫性浸润(62%的CD45+细胞)。截止2007年4月,他再次开始FCR并且接受4个周期,为部分反应(骨髓显示44%的CD45+细胞的持久性疾病)。由于他的持久性疾病和p17缺失诊断,他接受了总计20剂量的Campath(阿仑珠单抗),并且随后在2007年10月的骨髓活组织检查表明无CLL并且PET/CT为阴性。

[0463] 2007年11月,患者接受非骨髓清除性同种异体造血干细胞移植,使用总淋巴放射和抗胸腺细胞球蛋白(TLI/ATG),伴随来自他的匹配的有亲缘关系的同胞供体(姊妹)的经GCSF动员的外周血干细胞的输注。他的口腔移植抗宿主疾病(GVHD)预防由环孢菌素(CSA)和霉酚酸吗乙酯(MMF)组成。基于Stanford研究方案(BMT 172)进行移植,该方案纳入了在移植后在第56、63、70和77天输注利妥昔单抗375mg/m²。

[0464] 患者的移植后过程由于感染并发症(多叶真菌性肺炎、甲型流感、水痘带状疱疹重新活化)复杂化,并且在2008年用9个剂量利妥昔单抗治疗移植后淋巴细胞增殖障碍(PTLD)。HCT后,该患者从未达到完全供体嵌合。截止2008年9月,HCT后约9个月,通过流式细胞术和表明从之前研究的一些腹膜后腺病扩大的CT扫描发现他有疾病进展。由于患者的混合的供体嵌合和疾病进展,患者接受总计5次供体淋巴细胞输注(DLI)。

[0465] 患者的第一次DLI在2008年9月以 1×10^7 供体CD3+细胞/kg受体体重的剂量进行。无GVHD或疾病反应。在2008年11月,他接受剂量为 3×10^7 供体CD3+细胞/kg受体体重的第二次DLI。发现在他的等位基因特异性寡核苷酸(ASO)定量结果从每mcg DNA 268,000克隆IgH序列降低到120。在2009年1月,还存在供体血液T细胞嵌合增加至90%,伴随相关的轻度口咽部慢性GVHD。2009年4月的骨髓活组织检查显示仅10%CLL。在2009年5月,他接受剂量为 5×10^7 供体CD3+细胞/kg受体体重的第三次DLI。患者还接受了1周期的利妥昔单抗(在此期间4个剂量)。他的第三次DLI后约18天,他出现伴随与供体T细胞嵌合急剧升高相关的红斑和溃疡的口腔GVHD,供体T细胞嵌合从DLI输注当天的71%增加到11天后的87%并且最高达25天后的97%。他没有要求用于GVHD的全身性甾族化合物疗法,但要求局部疗法并且它持续约1年。

[0466] 2009年夏天,患者的PET/CT扫描显示出伴随胸/腹中大体积疾病的疾病演进并且骨髓活组织检查具有40-50%CLL。对于此持续的疾病,随后以4周期的OFAR(奥沙利铂、氟达拉滨、阿糖胞苷、利妥昔单抗)的联合化学疗法治疗患者。在2009年12月,患者接受剂量为 5×10^7 供体CD3+细胞/kg受体体重的第四次DLI。OFAR后,当他的供体嵌合达到高于95%时爆发GVHD。但是,他的疾病持续,因此在2010年2月,他接受剂量为 1×10^6 供体CD3+细胞/kg受体体重的第五次DLI。他的口腔GVHD需要局部甾族化合物治疗。5月进行的他的骨髓活组织检查仍显示出50%CLL。

[0467] 截止2010年8月,患者的PET/CT显示快速演进的疾病以及广泛淋巴结病的复发,包括腹部团块最高达直径12厘米。2010年9月,患者通过Stanford血液学组在依鲁替尼(口服BTK抑制剂)的临床试验中登记,并且完成了超过3年的依鲁替尼疗法,并且获得了在骨髓和CT二者中的完全响应(见图8)。此外,他的口腔GVHD症状完全消退,并且他达到了持久的完全供体嵌合(见图8)。

[0468] 总的来说,此同种异体HCT后CLL患者患有用依鲁替尼疗法消退的伴随口咽慢性GVHD的难治的CLL。他的CLL使用B细胞IgH测序(CLONOSIGHT轻微后遗症检验(Sequentia, Inc.))无法检测,并且他达到了无慢性GVHD的完全供体移植。

[0469] 实施例7:与OVA转基因小鼠杂交的AML鼠模型中的研究

[0470] 使用与OVA转基因小鼠杂交的AML的FLT3^{ITD}MLL^{PTD}模型进行研究,这形成了表达免疫追踪蛋白OVA的可移植的白血病。当小鼠达到超过在外周循环中总CD45+细胞的20%的白血病负荷时,将它们随机指定到依鲁替尼、媒介物或环孢菌素治疗群组中。治疗开始后2天,

它们接受致死辐射和随后的来自次要-MHC错配的LP/J小鼠的骨髓细胞和脾细胞移植,以及可存活的AML白血病细胞。通过OVA-四聚体阳性CD8 T-细胞的分析和循环白血病细胞的出现监测抗肿瘤免疫力和复发。在迄今治疗的小鼠中,与环孢菌素组相比,在依鲁替尼组存在更少的复发的清晰的信号(图9)。

[0471] 实施例8:同种异体移植后复发的CLL的依鲁替尼治疗:持续的疾病应答和有潜力的供体免疫调节

[0472] 此实施例证明了依鲁替尼补救疗法在5名CLL患者中的效果,所述5名CLL患者在同种异体造血干细胞移植(同种异体-HCT)后复发。除了轻微后遗症(MRD)响应测量,还评价依鲁替尼疗法后的供体T细胞嵌合和供体B细胞免疫重建。同种异体-HCT后1-8.5年,患高风险CLL的5名患者复发。降低强度的移植后,4名患者一直未达到供体CD3 T细胞嵌合>95%。临床复发后1个月-2年开始每日依鲁替尼420mg。5名患者中的4名保持使用依鲁替尼,治疗周期的范围从3-17个月。通过使用CLONOSIGHT轻微后遗症检验(Sequentia, Inc.)的IgH高通量测序(HTS)测量CLL MRD,其具有检测1个CLL克隆/1百万白血球的灵敏度。通过CT扫描评价淋巴结(LN)尺寸并且以LN直径的积的和(SPD)报告。通过总IgH分子和独特的IgH克隆型的IgH HTS定量确定供体B细胞重建。在依鲁替尼治疗开始后,在全部5名患者中观察到淋巴细胞增多,与之前的报告一致。在接受>1年依鲁替尼治疗的2名患者中,淋巴细胞增多在治疗开始后3周和8周达到峰值,并且之后缓慢的下降,在1年内完全消退(图10A)。在治疗前患有病理性淋巴结病(pathologic lymphadenopathy)的全部4名患者经历急剧的LN降低(图10B;使用依鲁替尼3个月后, LN尺寸平均降低68%)。患者SPN 3975报道了最长的随访时间,该患者具有17p缺失并且接受依鲁替尼39个月。CLL MRD变得用CLONOSIGHT轻微后遗症检验无法检出时,终止治疗(图10C)。供体T细胞免疫调节的证据包括在1年后达到完全供体CD3嵌合和6个月后口腔和皮肤慢性移植物抗宿主病(GVHD)的消退。尽管此患者停止使用依鲁替尼>8个月,完全供体嵌合存在并且CLL MRD保持未检出(图10C)。依鲁替尼治疗前,供体B细胞(不包括患者的CLL克隆)占总PBMC的<0.2%,如通过IgH HTS确定的。依鲁替尼停止后,供体B细胞的百分数在6个月内增加至>1%的PBMC(图10D)。此外,恢复的B细胞具有多样的、低频的IgH克隆型。整体上,这些发现表现出快速的、持久的且多样的免疫重建,依鲁替尼终止后没有CLL复发。依鲁替尼对同种异体-HCT后的CLL复发提供有效的补救疗法。移植后CLL复发经常是淋巴结外的并且我们的经验表明,依鲁替尼在清除淋巴结和淋巴结外的疾病二者中有效。达到MRD阴性之后停止疗法的1名患者在依鲁替尼终止后8个月保持未检出疾病。依鲁替尼治疗证明了通过促进完全供体嵌合和慢性GVHD的消退的有前景的供体免疫调节。这些数据支持在同种异体-HCT后CLL复发的患者中使用依鲁替尼。

[0473] 实施例9:依鲁替尼在已经经历在前的同种异体干细胞移植的患有复发的/难治的(R/R)慢性淋巴细胞白血病(CLL)/小淋巴细胞淋巴瘤(SLL)的患者中的安全性和效力

[0474] 由于受损的造血储备(hematopoietic reserve)、感染和对移植物抗宿主病(GVHD)的关注,难以用化学疗法治疗在同种异体造血干细胞移植(同种异体HCT)后复发的患有CLL的患者。依鲁替尼在美国被批准用于已经接受了≥1次先前疗法的患CLL或MCL的患者,以及用于具有del17p的患CLL的患者。在预临床试验中,依鲁替尼逆转了已建立的慢性GVHD(cGVHD)。在此实施例中评价依鲁替尼在具有之前的同种异体HCT的患者的子组中的安全性和效力。收集在4个临床试验(PCYC-1102、PCYC-1109、PCYC-1112和PCYC-1117)中的1个

登记的具有之前的同种异体HSCT的R/R患者的数据。PCYC-1112和PCYC-1117仅登记HCT后>6个月并且无GVHD的患者。效力评价包括总体响应率(ORR; iwCLL标准)、响应持续时间(DOR)、无进展存活率(PFS)和总体存活率(OS)。安全性评价包括不良事件(AE),包括严重AE(SAE)。来自4个临床试验的16名患者具有之前的同种异体HCT(中位年龄:54.5岁;16名患者的ECOG表现状态0或1;10名患者具有del17p,3名患者具有del11q,12名患者具有≥4次先前疗法)。从最近的HCT以来的中位时间为27个月(范围:8-115)。基线中性粒细胞、贫血和血小板减少症分别被报道为31%、25%和38%。使用依鲁替尼的中位时间为18.1个月(范围0.4-38.8),12名患者被治疗>12个月。在数据截止时,11名患者继续治疗。终止的原因包括疾病进展(n=2)、AE(n=2)和同意退出(n=1)。研究者评价的响应包括2个完全响应、9个部分响应(PR)和3个伴随淋巴细胞增多的PR,最佳ORR为87.5%。在23个月的中位随访时未达到中位DOR、PFS和OS。24个月PFS和OS率分别为77%和75%。治疗-出现的≥3级的SAE在11名患者中观察到并且包括感染(n=6),以及发热性中性粒细胞减少症、房颤、结肠炎、肾周水肿、硬脑膜下血肿、术后出血、高钙血症、骨骼病变、晕厥、血尿、尿潴留和呼吸困难(每个n=1,一些事件由相同患者报告)。导致依鲁替尼终止的唯一AE是肺炎(n=2);二者都是致死事件。在24和28个月,由于疾病进展在研究中出现2例另外的死亡。依鲁替尼在具有之前同种异体HCT的患者中良好耐受,安全性谱与在总体R/R CLL群体中观察的类似。最佳ORR(87.5%)与在总体/更大群体中观察的结果一致。

[0475] 虽然本文已经显示和描述了本发明的优选实施方案,但对于本领域技术人员将明显的是,这类实施方案仅通过示例的方式提供。在不偏离本发明的情况下,本领域技术人员现在将想到许多变型、变化和替换。应当理解,在实践本发明时可以采用本文描述的本发明的实施方案的各种替代选择。意图是,以下权利要求界定本发明的范围,并且从而涵盖在这些权利要求范围内的方法和结构及其等同物。

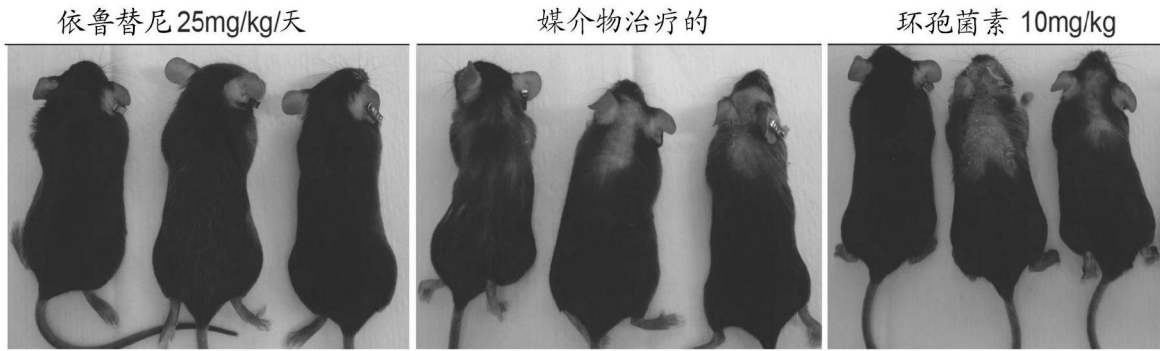


图1A

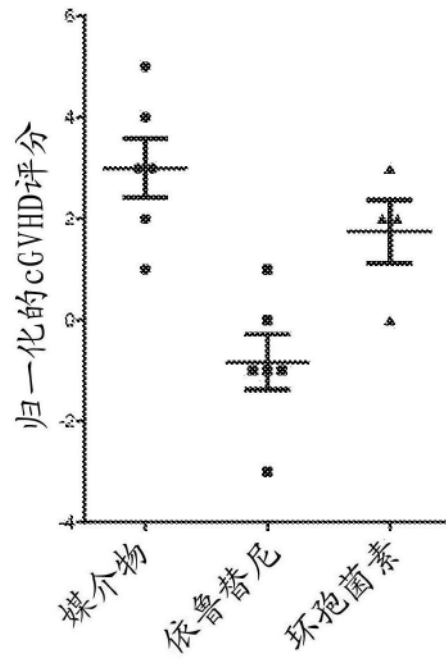


图1B

慢性移植物抗宿主病评分							
毛发		皮肤		重量		姿势	
评分	描述	评分	描述	评分	描述	评分	描述
0	无毛发损失	0	无破皮的病变	0	无重量损失或总体重量增加	0	无姿势缺陷
1	具有少量毛发损失的褶皱的毛发	1	发红或刺激的皮肤病变	1	重量损失 < 5%	1	轻微驼背的姿势
2	在 < 1cm ² 的单个区域的毛发损失	2	皮肤剥落/脱皮单个病变	2	重量损失 > 5% 但 < 10%	2	中等驼背的姿势
3	在 > 1cm ² 的单个区域的毛发损失	3	在单个区域粗糙或出血	3	重量损失 > 10% 但 < 15%	3	严重驼背的姿势
4	完全失去毛发或影响 > 1 个区域	4	在多个区域粗糙或出血	4	重量损失 > 15%		

姿势		运动性		生存力	
评分	描述	评分	描述	评分	描述
0	无姿势缺陷	0	完全运动性	0	存活
1	轻微驼背的姿势	1	步伐减慢	1	死亡
2	中等驼背的姿势	2	步伐减慢, 被触摸时拒绝移动		注意: 对每个单独的小鼠的每个类别打分。总评分是所有单独的评分的和。在死亡小鼠的事件中, 总评分应该=19。
3	严重驼背的姿势	3	被触摸时不移动		

图1C

移植后第39天

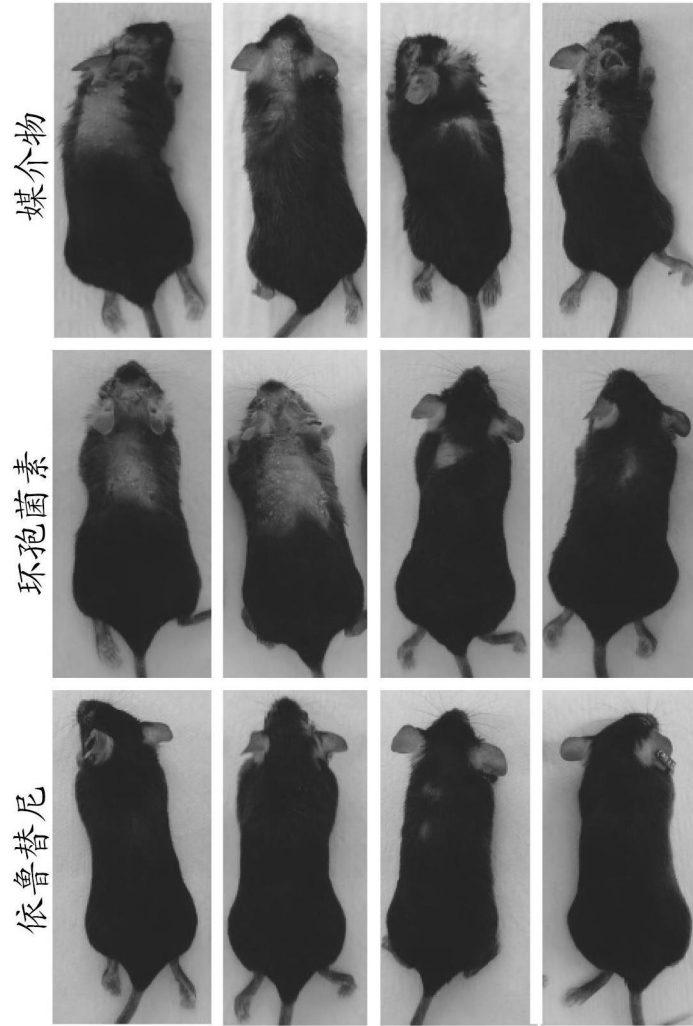
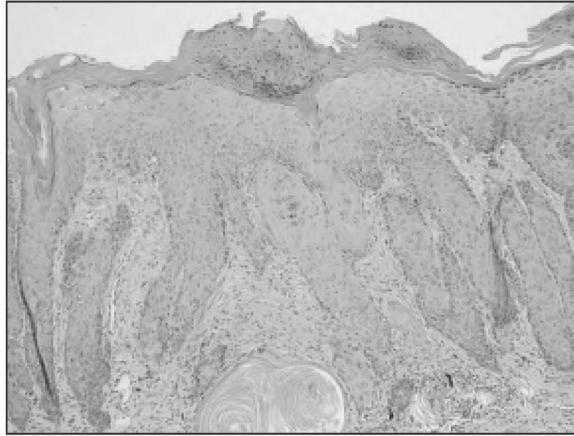


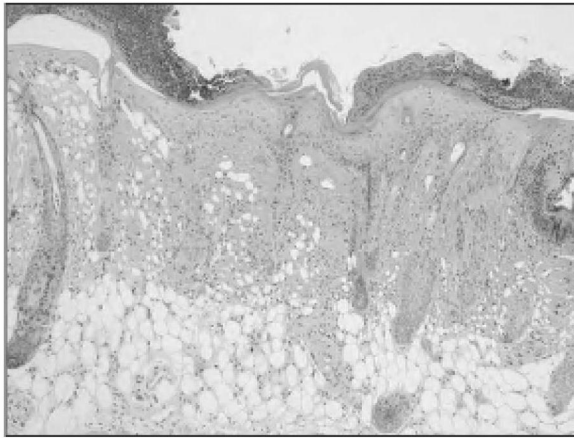
图1D

皮肤

媒介物



环孢菌素



依鲁替尼

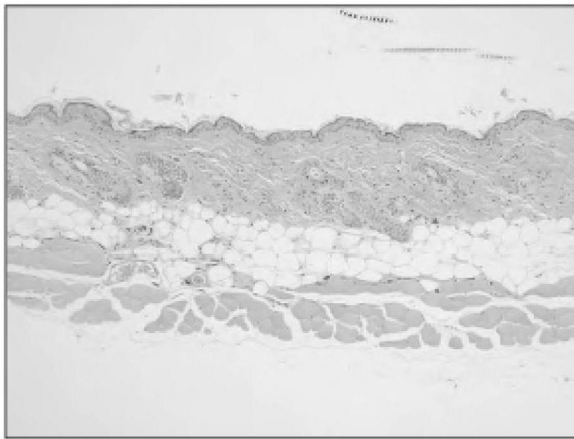


图1E

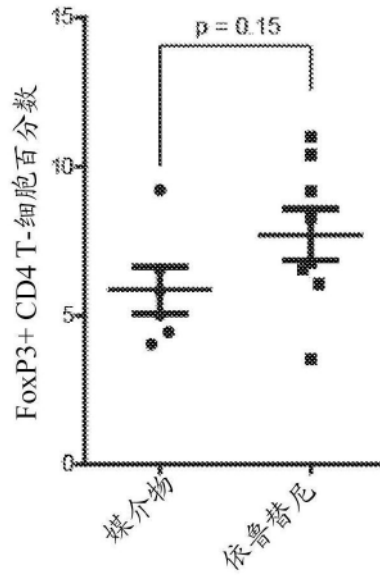


图2A

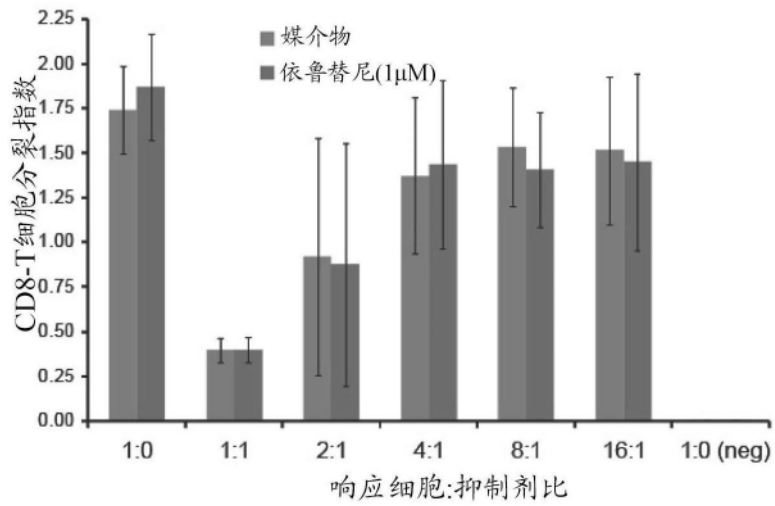


图2B

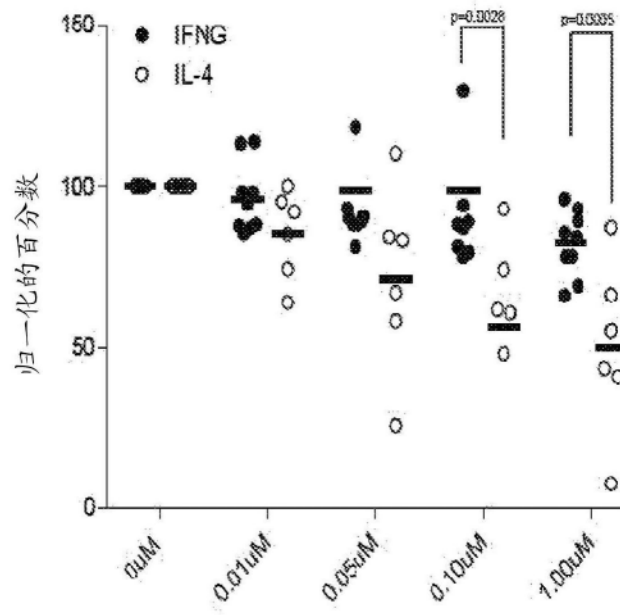


图3A

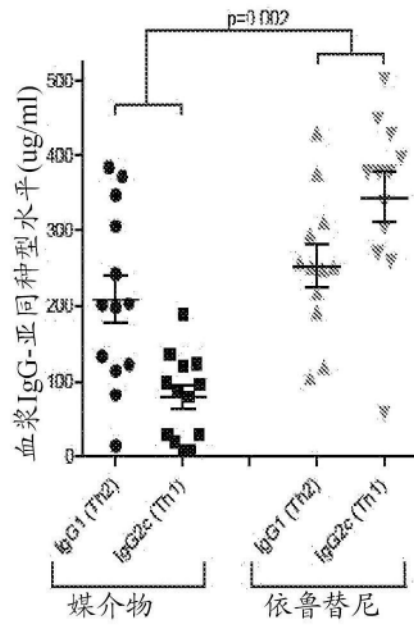


图3B

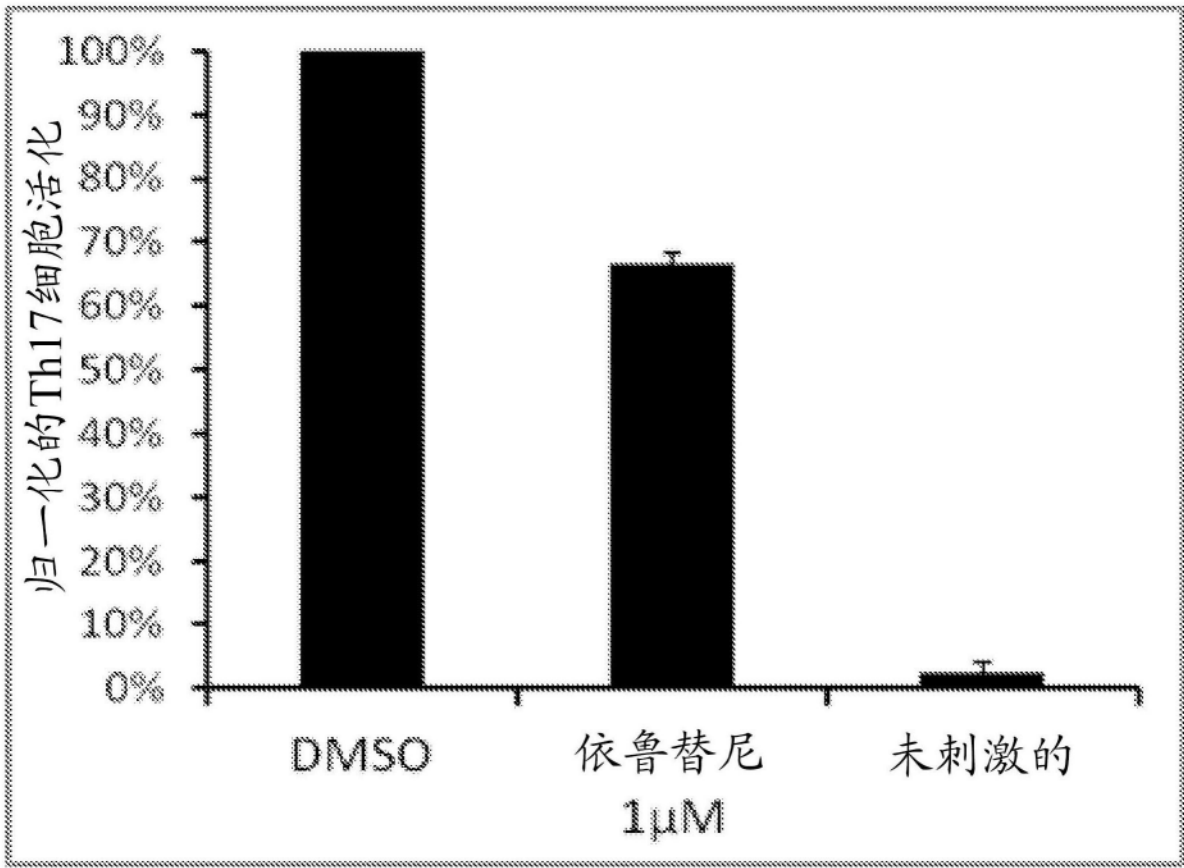


图4

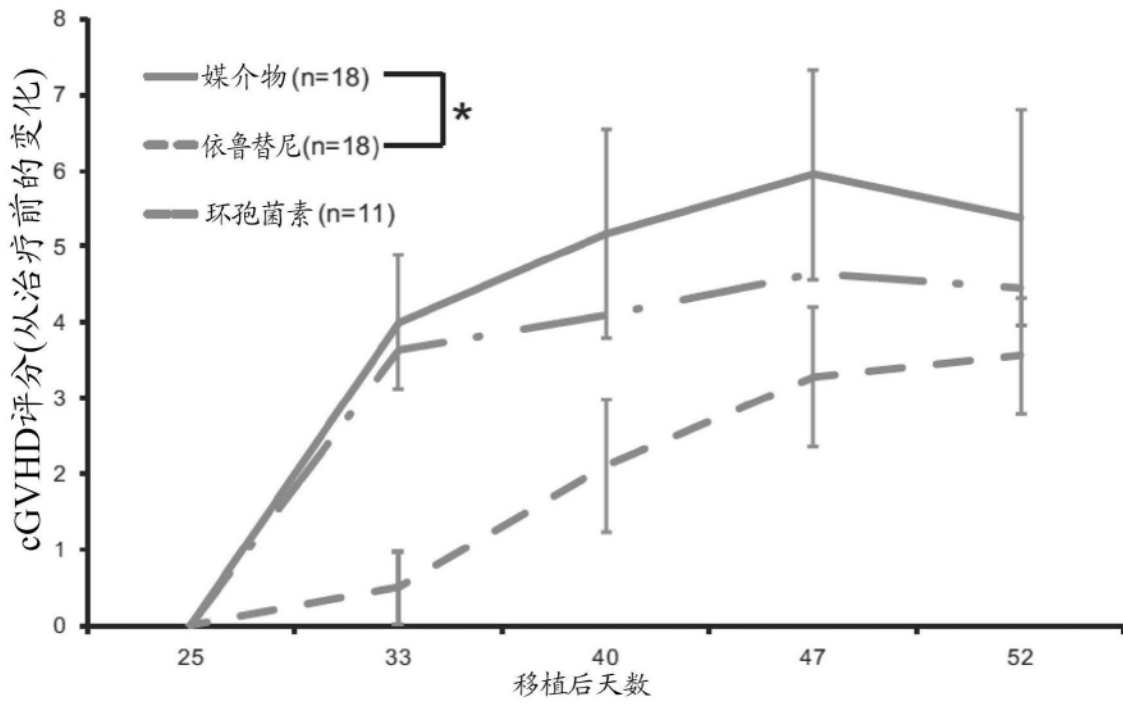


图5A

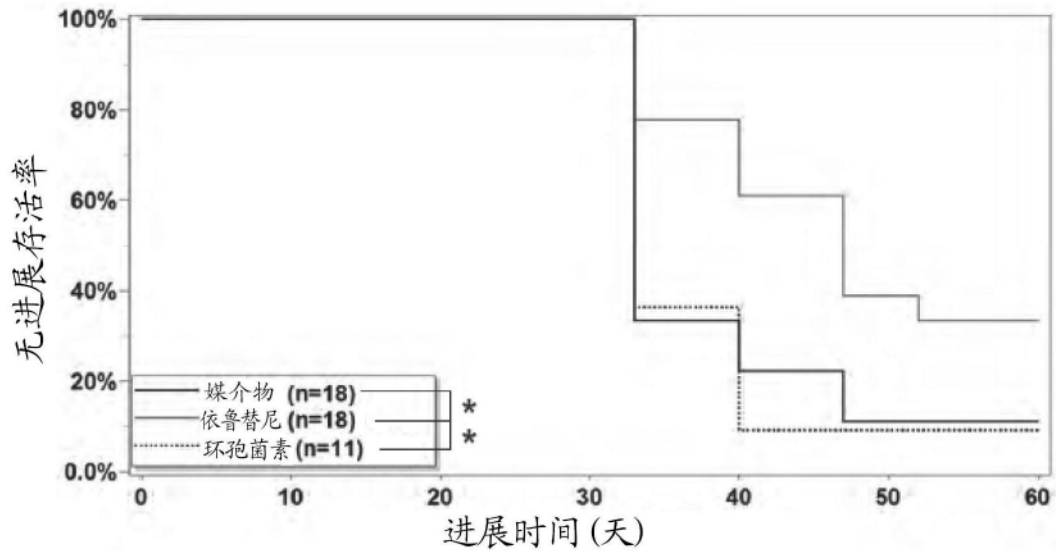


图5B

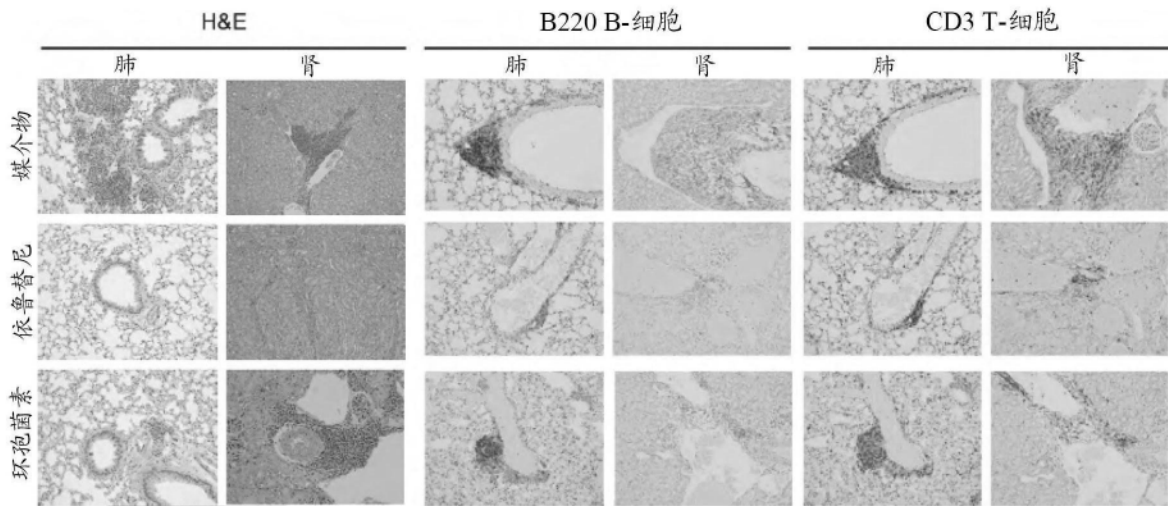


图6A

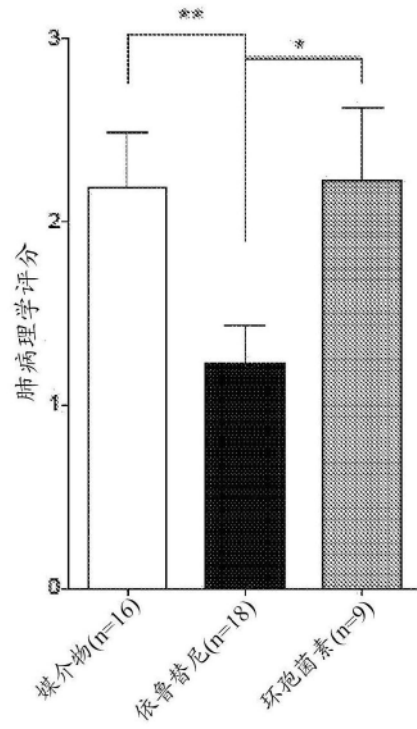


图6B

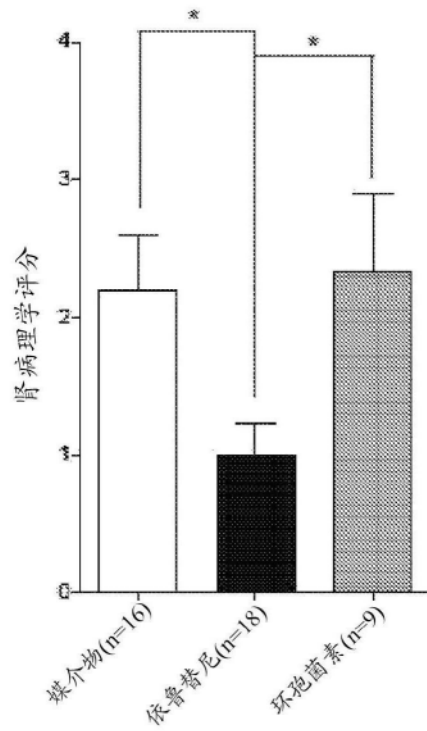


图6C

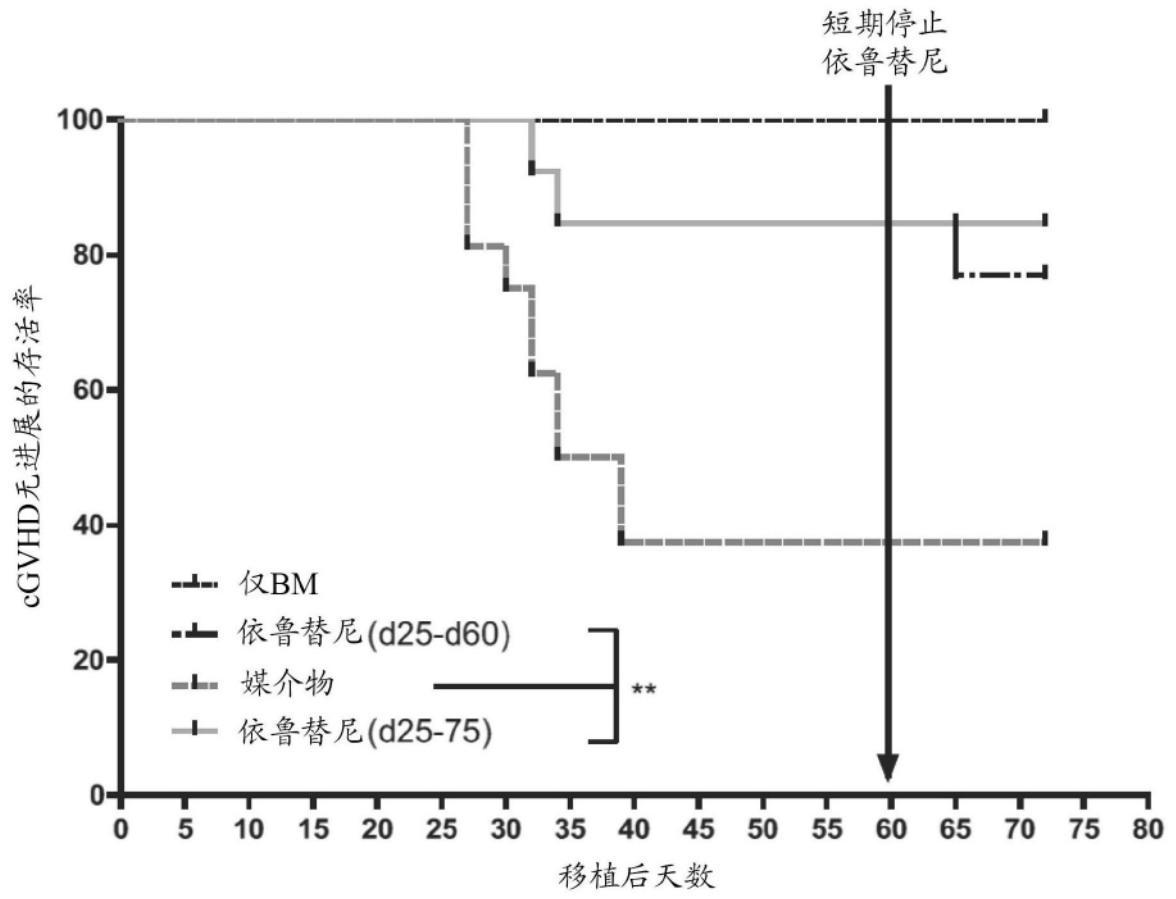


图6D

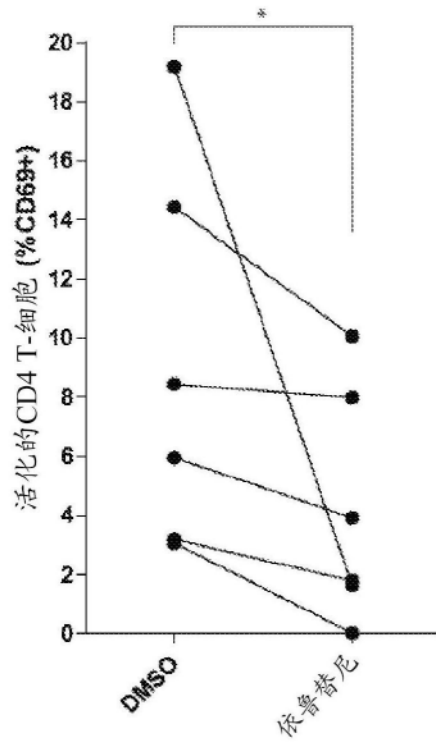


图7A

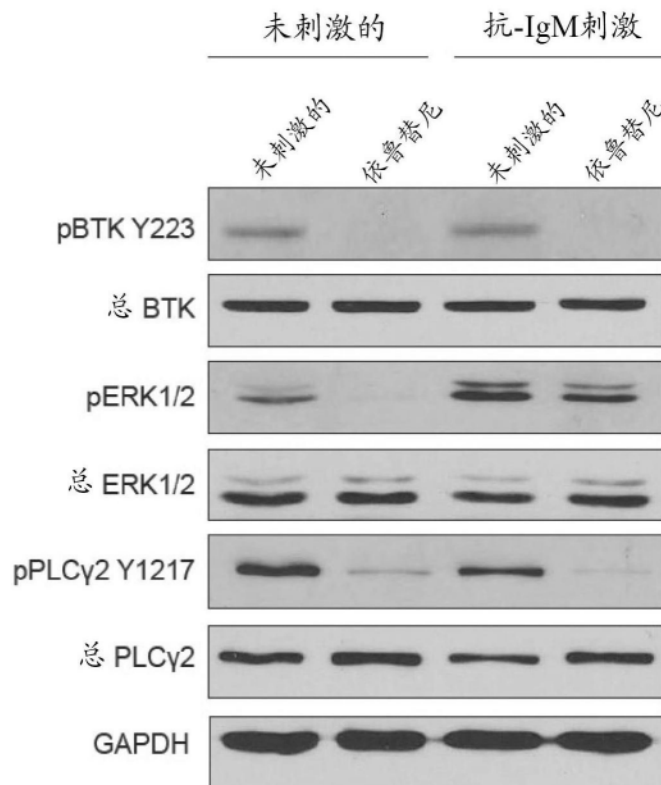


图7B

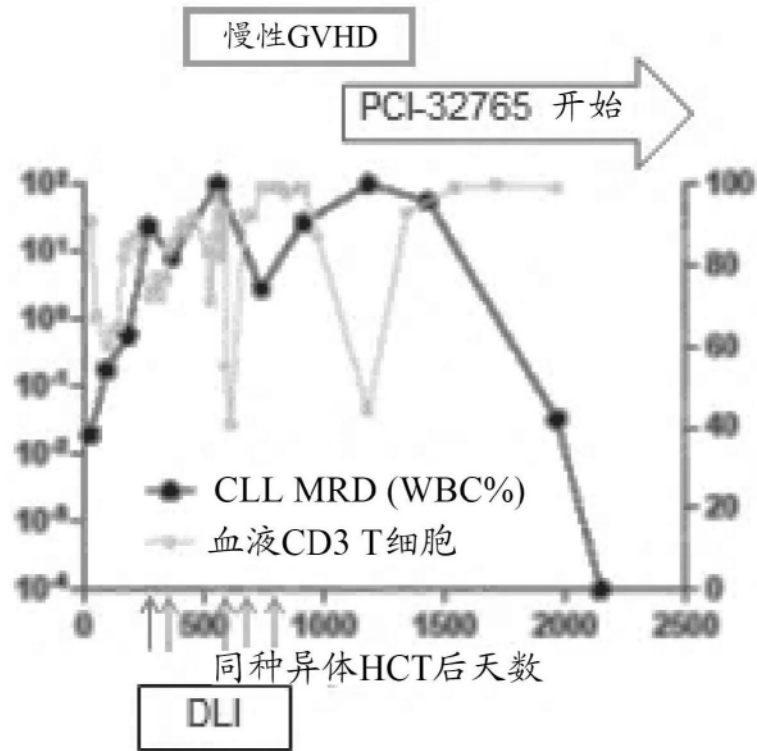


图8

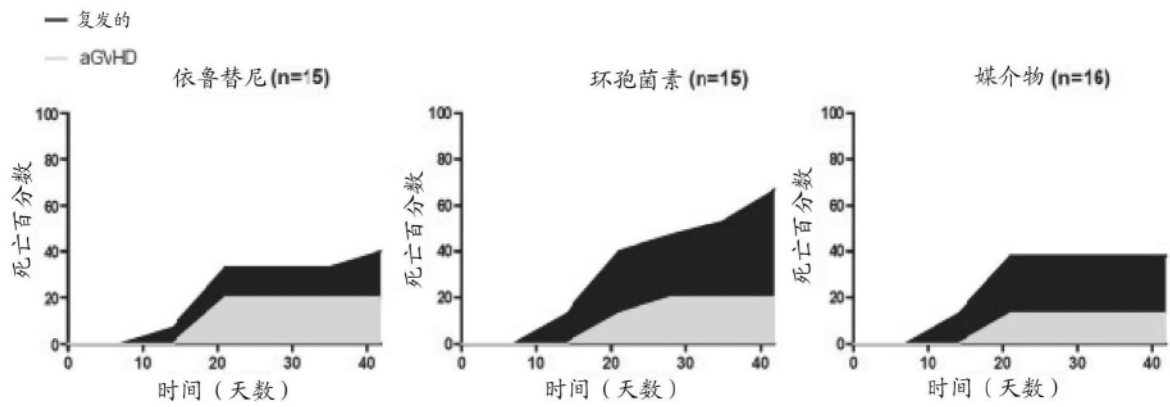


图9

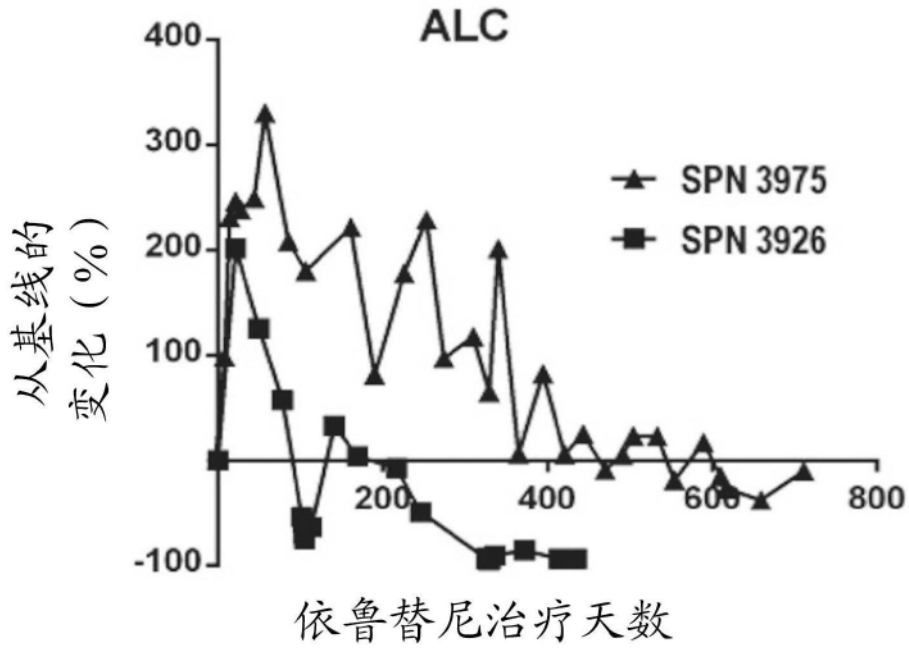


图10A

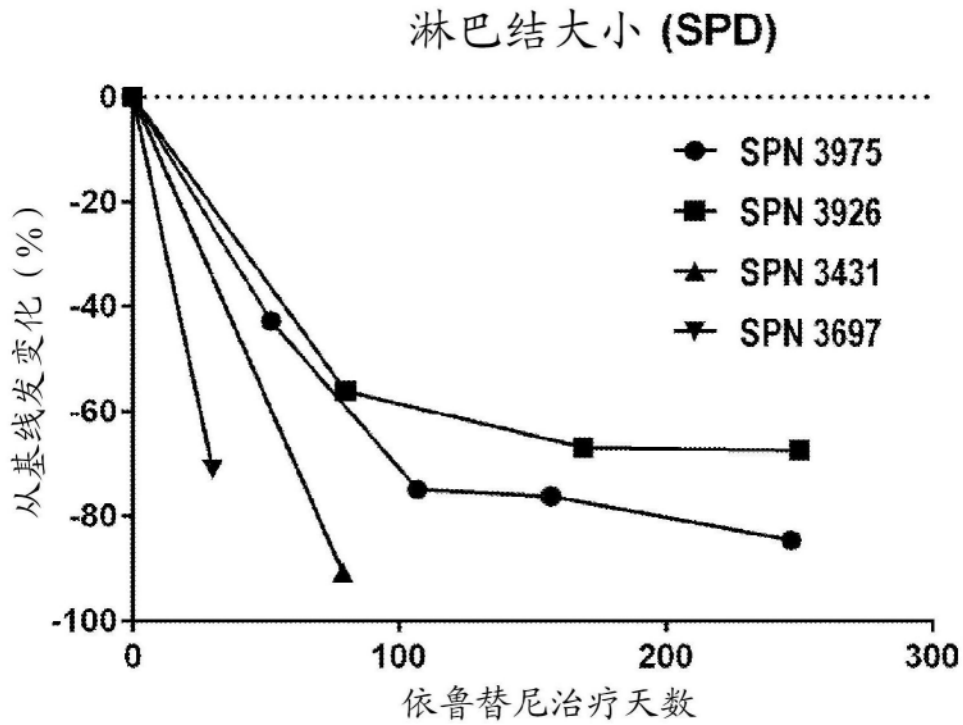


图10B

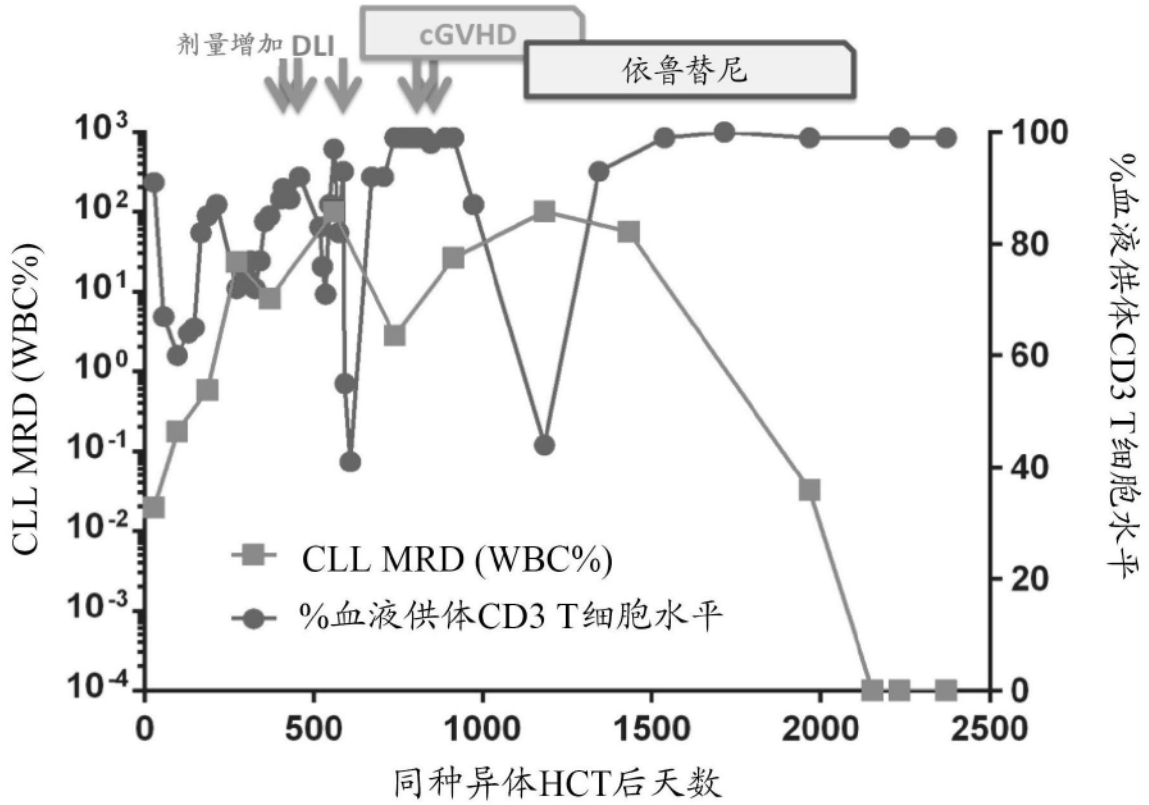


图10C

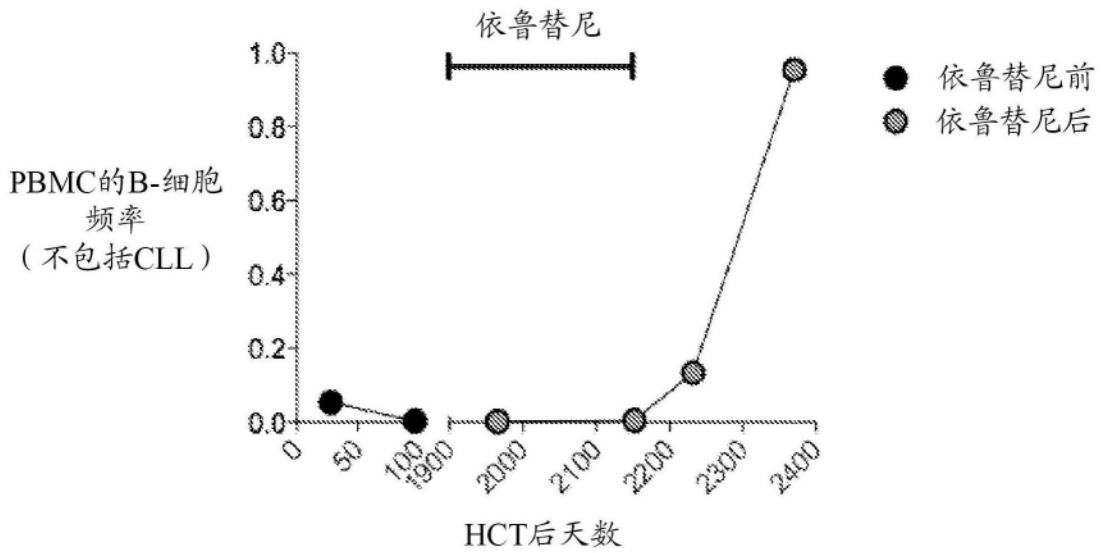


图10D

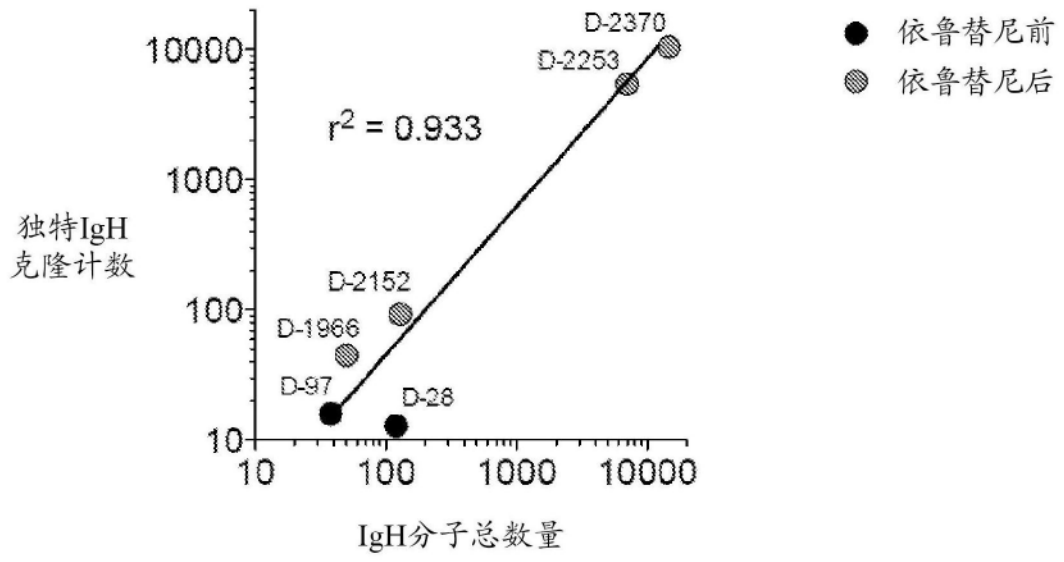


图10E