



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I791552 B

(45)公告日：中華民國 112 (2023) 年 02 月 11 日

(21)申請案號：107123698

(22)申請日：中華民國 107 (2018) 年 07 月 09 日

(51)Int. Cl. : A61K31/496 (2006.01)

C07D401/04 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2017/07/10 美國 62/530,778

2017/11/30 美國 62/593,185

2018/05/23 美國 62/675,581

(71)申請人：美商西建公司 (美國) CELGENE CORPORATION (US)

美國

(72)發明人：亞歷山德 馬修 D ALEXANDER, MATTHEW D. (US)；艾特曼 杰拉爾德 D

三世 ARTMAN, GERALD D., III (US)；布雷 戈登 L BRAY, GORDON L.

(US)；卡邁克爾 詹姆斯 CARMICHAEL, JAMES (GB)；卡朗西歐 莎拉雅

CARRANCIO, SORAYA (ES)；克萊爾斯 布萊恩 E CATHERS, BRIAN E.

(US)；寇瑞亞 馬修 D CORREA, MATTHEW D. (US)；漢森 約書亞 HANSEN,

JOSHUA (US)；海芬斯 考特尼 G HAVENS, COURTNEY G. (US)；克歇爾

提姆斯 S KERCHER, TIMOTHY S. (US)；羅培茲 吉羅那 安東尼亞 LOPEZ-

GIRONA, ANTONIA (US)；呂曉鈴 LU, XIAOLING (CN)；曼 鴻 瓦 MAN, HON-

WAH (US)；納吉 馬克 A NAGY, MARK A. (US)；娜拉 拉瑪 K NARLA,

RAMA K. (US)；皮科蒂 喬瑟夫 R PICCOTTI, JOSEPH R. (US)；皮爾斯 丹

尼爾 W PIERCE, DANIEL W. (US)；特瓦瑞斯 格雷科 保拉 A TAVARES-

GRECO, PAULA A. (BR)；懷特菲爾德 布蘭頓 W WHITEFIELD, BRANDON W.

(US)；黃 寶梨 WONG, LILLY L. (US)；鄒 難非 ZOU, NANFEI (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

US 2011/0196150A1

審查人員：楊婷雅

申請專利範圍項數：36 項 圖式數：24 共 190 頁

(54)名稱

抗增生化合物及其使用方法

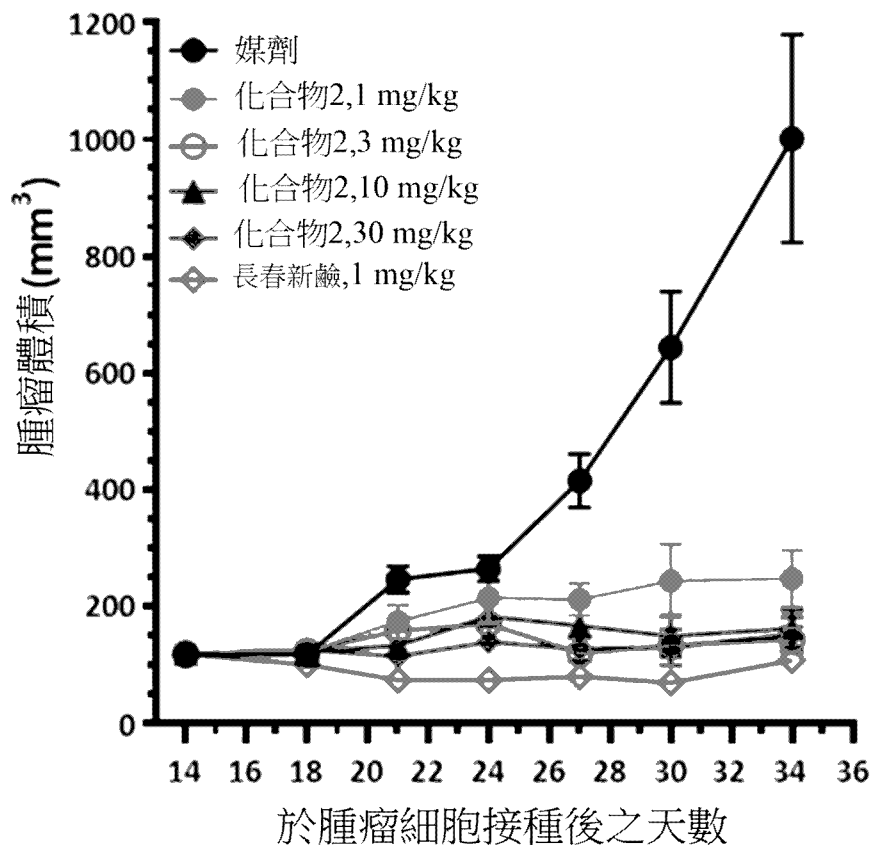
(57)摘要

本文提供 4-(4-(4-(((2-(2,6-二側氧基哌啶-3-基)-1-側氧基異吲哚啉-4-基)氧基)甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體或醫藥上可接受之鹽，及使用此等化合物治療、預防或處理多發性骨髓瘤之方法。亦提供包含該等化合物之醫藥組合物及使用該等組合物之方法。

Provided herein is 4-(4-(4-(((2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)-1-oxoisindolin-4-yl)oxy)methyl)benzyl)piperazin-1-yl)-3-fluorobenzonitrile, or an enantiomer, a mixture of enantiomers, a tautomer, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and methods for treating, preventing or managing multiple

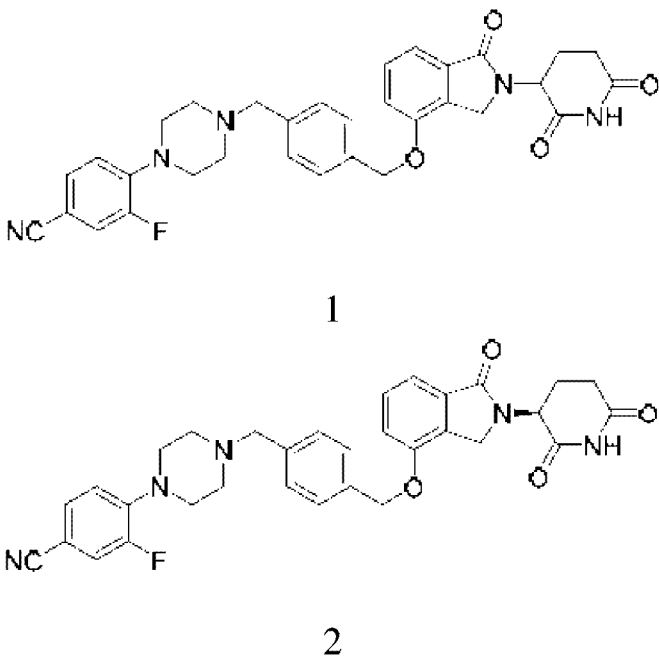
myeloma using such compounds. Also provided are pharmaceutical compositions comprising the compounds, and methods of use of the compositions.

指定代表圖：



【圖4】

特徵化學式：





I791552

【發明摘要】

【中文發明名稱】

抗增生化合物及其使用方法

【英文發明名稱】

ANTIPROLIFERATIVE COMPOUNDS AND METHODS OF USE
THEREOF

【中文】

本文提供4-(4-(4-(((2-(2,6-二側氧基哌啶-3-基)-1-側氧基異吲哚啉-4-基)氧基)甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體或醫藥上可接受之鹽，及使用此等化合物治療、預防或處理多發性骨髓瘤之方法。亦提供包含該等化合物之醫藥組合物及使用該等組合物之方法。

【英文】

Provided herein is 4-(4-(4-(((2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)-1-oxoisindolin-4-yl)oxy)methyl)benzyl)piperazin-1-yl)-3-fluorobenzonitrile, or an enantiomer, a mixture of enantiomers, a tautomer, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and methods for treating, preventing or managing multiple myeloma using such compounds. Also provided are pharmaceutical compositions comprising the compounds, and methods of use of the compositions.

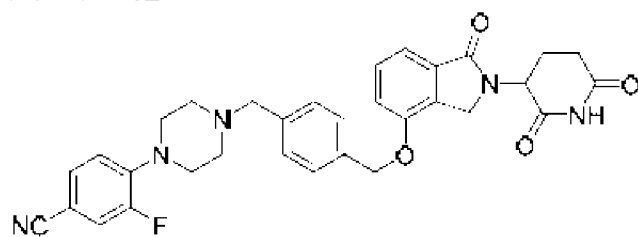
【指定代表圖】

圖4

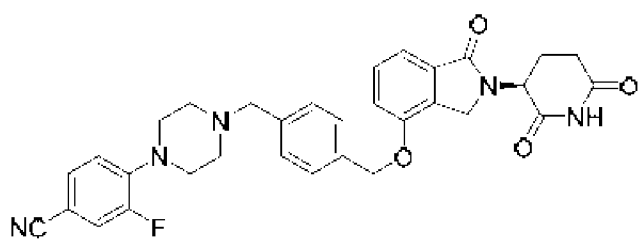
【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】



1



2

【發明說明書】

【中文發明名稱】

抗增生化合物及其使用方法

【英文發明名稱】

ANTIPROLIFERATIVE COMPOUNDS AND METHODS OF USE
THEREOF

【技術領域】

【0001】 本文中提供4-(4-(4-(((2-(2,6-二側氧基哌啶-3-基)-1-側氧基異吡啶-4-基)氧基)甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體或醫藥上可接受之鹽，及使用此等化合物治療、預防或處理多發性骨髓瘤之方法。亦提供包含該等化合物之醫藥組合物及使用該等組合物(包括組合治療)之方法。

【先前技術】

【0002】 多發性骨髓瘤(MM)為骨髓中之漿細胞癌。通常地，漿細胞產生抗體且於免疫功能中起著關鍵作用。然而，此等細胞之不受控制生長導致骨痛及骨折、貧血症、感染及其他併發症。多發性骨髓瘤為第二常見惡性血液病，雖然多發性骨髓瘤之確切原因尚未知。多發性骨髓瘤造成血液、尿液及器官中之蛋白質之高含量，該等蛋白質包括(但不限於) M-蛋白及其他免疫球蛋白(抗體)、白蛋白及 β -2-微球蛋白，例外係骨髓瘤細胞不分泌此等蛋白質(稱為非分泌性骨髓瘤)之一些患者(估計在1%至5%)。M-蛋白(簡稱單株蛋白，亦稱作病變蛋白)為藉由骨髓瘤漿細胞產生之特別異常蛋白且可見於幾乎所有患有多發性骨髓瘤之患者之血液或尿液中，除了患有非分泌性骨髓瘤或骨髓瘤細胞利用重鏈產生免疫球蛋白輕鏈

之患者外。

【0003】 骨骼症狀(包括骨痛)為多發性骨髓瘤之臨床上最顯著症狀。惡性漿細胞釋放破骨細胞刺激因子(包括IL-1、IL-6及TNF)，該等因子造成鈣自骨浸出，造成溶骨性病變；高血鈣症為另一症狀。破骨細胞刺激因子(亦稱作細胞活素)可防止骨髓瘤細胞凋亡或死亡。50%患者在診斷時患有可以放射方式檢測之骨髓瘤相關之骨骼病變。多發性骨髓瘤之其他常見臨床症狀包括多發性神經病、貧血症、高黏血症、感染及腎功能不全。

【0004】 目前多發性骨髓瘤療法可涉及手術、幹細胞移植、化療、免疫療法及/或放射治療中之一或多者以根除患者之多發性骨髓瘤細胞。所有目前治療方法給患者帶來顯著缺點。

【0005】 於過去十年中，新穎治療劑，特定言之免疫調節藥物(諸如來那度胺(lenalidomide)及泊馬度胺(pomalidomide))顯著增加多發性骨髓瘤患者之反應速率及延長其無進展生存期(PFS)及總生存期(OS)。然而，在骨髓(BM)形態學、利用免疫固定之蛋白質電泳及輕鏈定量之敏感度以下之殘留疾病之持久程度存在於患有多發性骨髓瘤之許多患者中，甚至於此等患者已達成完全反應(CR)後及最終將造成該疾病復發。骨髓瘤之微小殘留疾病(MRD)為無進展生存期(PFS)之獨立預測因子且係在作為改善有效治療之識別之替代試驗終點的考慮下，特定言之針對前線試驗，其現在需要5至10年隨訪以識別生存差異。因此，監測患有多發性骨髓瘤之患者之微小殘留疾病(MRD)提供預測PFS及OS之預後值並作出治療決策。於治療後，骨髓瘤之微小殘留疾病(MRD)之檢測可使用0.01%臨限值(10^{-4})，即，按總骨髓單核細胞之比例計，具有 10^{-4} 個細胞或更少多發性骨髓

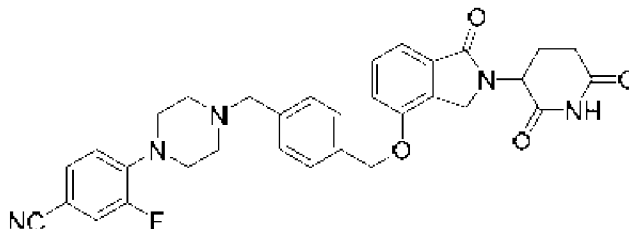
瘤細胞認為MRD陰性，及具有 10^{-4} 個細胞或更高為MRD陽性。 10^{-4} MRD臨限值最初係基於技術能力，但是定量MRD檢測現在可藉由流式細胞計在 10^{-5} 及藉由高通量定序在 10^{-6} (Rawstron等人，*Blood* 2015; 125(12): 1932-1935)。量測MRD之方法包括VDJ之DNA定序、聚合酶鏈式反應(PCR) (包括對偶基因特異性PCR，ASO PCR)及多參數流式細胞計(MPF)。MRD之檢定(例如，基於純系型譜量測)亦述於頒與Faham等人之美國專利案第8,628,927號中，其以引用的方式併入本文中。

【0006】 對治療、預防及處理多發性骨髓瘤(包括針對多發性骨髓瘤係新診斷或標準治療難治之患者)，同時減少或避免與習知療法相關聯之毒性及/或副作用之安全且有效化合物及方法存在明顯需要。

【0007】 本申請案之第2部分中之任何參考文獻之引用或識別不應解釋為承認該參考文獻係本申請案之先前技術。

【發明內容】

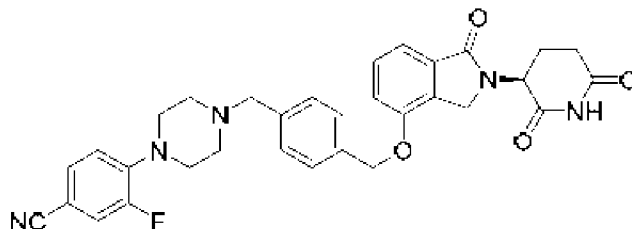
【0008】 本文中提供治療多發性骨髓瘤的化合物、含有該等化合物之醫藥組合物及其使用方法。於一實施例中，於本文中所提供之組合物及方法中使用之化合物為4-(4-(4-(((2-(2,6-二側氧基哌啶-3-基)-1-側氧基異吲哚啉-4-基)氧基)甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈(化合物1)：



1

或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。

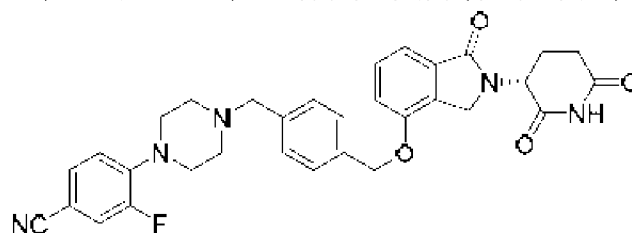
【0009】 於一實施例中，於本文中所提供之組合物及方法中使用之化合物為(S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-二側氧基哌啶-3-基)-1-側氧基異吲哚啉-4-基)氧基)甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈(化合物2)：



2

或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。

【0010】 於另一實施例中，於本文中所提供之組合物及方法中使用之化合物為(R)-4-(4-(4-(((2-(2,6-二側氧基哌啶-3-基)-1-側氧基異吲哚啉-4-基)氧基)甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈(化合物3)：



3

或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。

【0011】 亦提供用於藉由適宜途徑及方法投與調配之醫藥組合物，該等組合物含有有效濃度之本文中所提供化合物(例如，化合物1、化合物2或化合物3)或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽，及視情況地包含至少一種醫藥載劑。

【0012】 於一實施例中，醫藥組合物遞送有效治療多發性骨髓瘤之量。於一實施例中，醫藥組合物遞送有效預防多發性骨髓瘤之量。於一實施例中，醫藥組合物遞送有效改善多發性骨髓瘤之量。

【0013】 本文中亦提供組合療法，該等組合療法使用本文中所提供

化合物或組合物或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽與療法(例如，具有抗多發性骨髓瘤或其症狀之活性之另一種醫藥劑)組合。於該等方法範圍內之療法之實例包括(但不限於)手術、化療、放射療法、生物療法、幹細胞移植、細胞療法及其組合。

【0014】 本文中所提供化合物或組合物或其醫藥上可接受之衍生物可與上述療法中之一或多者同時投與、在上述療法中之一或多者之投與之前或之後投與。亦提供含有本文中所提供化合物及上述療法中之一或多者之醫藥組合物。

【0015】 於一實施例中，對展示所治療之多發性骨髓瘤之症狀之個體投與有效量的化合物或含有治療上有效濃度之化合物之組合物。該等量有效改善或消除多發性骨髓瘤之一或多種症狀。於實務治療方法中，對有需要之多發性骨髓瘤患者投與有效量之化合物或含有治療上有效濃度之化合物之組合物。

【0016】 另外提供醫藥包裝或套組，其包含填充有醫藥組合物之成分中之一或多者之一或多個容器。視情況地與此容器相關聯者可為以由調控醫藥產品或生物產品之製造、使用或銷售之政府機構規定之形式的通知，該通知反映由製造、使用或銷售之機構批准用於人類投與。該包裝或套組可標示關於投與模式、藥物投與順序(例如，分開、依序或同時)等之資訊。

【0017】 本文中所述標的之此等及其他態樣在參考下列實施方式時將變得明顯。

【圖式簡單說明】

【0018】 圖1. (A)細胞凋亡誘導之變化，如藉由來那度胺抗藥性H929-1051細胞中之卡斯蛋白酶3倍誘導(aka凋亡指數)隨時間之曲線下面積所量測。橫坐標： $\log$ nM (化合物)，縱坐標：細胞凋亡指數。最佳擬合線為以GraphPad Prism計算之3參數邏輯方程。(B)使用H929-1051細胞中之化合物1及化合物A之濃度-反應曲線之曲線下面積來比較化合物於6小時暴露及然後稀釋導致化合物濃度約20倍降低之後誘導細胞凋亡之能力。

【0019】 圖2.比較泊馬度胺-地塞米松(dexamethasone)組合治療與單藥劑化合物2 (A)及利用化合物2-地塞米松組合治療(B)於來那度胺抗藥性MM細胞H929-1051中之抗增生活性。於120小時治療後使用ATP測定檢定(CellTiter-Glo)評估增生。藉由減去背景並歸一化至DMSO對照(100%之對照)計算對照之百分比。各資料點表示重複之至少三個獨立實驗之平均值。

【0020】 圖3.使用ATP測定檢定(CellTiter-Glo)評估(A)對未經刺激之PBMC之抗增生作用及(B)利用化合物2處理72小時之THLE-2。藉由減去背景並歸一化至DMSO對照(100%之對照)計算對照之百分比。

【0021】 圖4.化合物2於來那度胺抗藥性H929-1051異種移植模型中連續給藥之抗腫瘤活性。對雌性SCID小鼠接種 10×10^6 個H929-1051腫瘤細胞至。在治療開始時將小鼠隨機分成治療組($n = 10$ 隻/組)。在第14天，當腫瘤係約 120 mm^3 時，測試物治療開始。

【0022】 圖5：化合物2於藉由染色體易位分類之多發性骨髓瘤細胞株中之抗增生活性。圖表示濃度-反應生長曲線之曲線下面積(AUC)，該等曲線針對含有於MM中發現之常見易位之15種MM細胞株藉由流式細胞

計量測活細胞數。報告之AUC值對應於劑量反應曲線下面積，其中0值對應於在所有劑量下增生/活力之完全降低及10000之值對應於增生/活力不降低。細胞株首先藉由發現之染色體易位分類及其次藉由已知易位是否係高風險分類。

【0023】 圖6: 化合物2及泊馬度胺於來那度胺抗藥性及泊馬度胺抗藥性多發性骨髓瘤細胞株中之抗增生活性。 IC_{50} = 導致細胞生長相較於對照50%抑制之化合物2及泊馬度胺之濃度。使用CellTitre-Glo檢定於表11中所示之親本(DF15、NCI-H929及OPM2)、來那度胺抗藥性(NCI-H929-1051)或泊馬度胺抗藥性(NCI-H929-P01、OPM2-P01、OPM2-P1、OPM2-P10及DF15R) MM細胞株中測定顯示化合物2及泊馬度胺抗增生 IC_{50} 值(條)之比較之圖。

【0024】 圖7：骨髓亞群之閘控策略。

【0025】 圖8：活體外嗜中性白血球祖細胞分化之最後階段——短暫每日化合物2暴露長達三天之影響。在1、2或3個連續日各者將源自健康供體骨髓之 $CD34^+$ 細胞暴露於1、10及100 nM之濃度之化合物2中。僅活細胞包含於分析中。資料為供體1及2之結果之平均值且表示各自定義為 $CD34^-/CD33^+/CD11b^+$ 及 $CD34^-/CD33^-/CD11b^+$ 之階段III及階段IV細胞於暴露6小時後之百分比之實例。

【0026】 圖9：嗜中性白血球祖細胞於3個連續日暴露於化合物2中6小時後之後期成熟。在第10天開始之3個連續日各者將源自健康供體骨髓之 $CD34^+$ 細胞暴露於1、10或100 nM濃度之化合物2中持續6小時。資料表示來自供體1號及2號之定義為 $CD34^-/CD33^+/CD11b^+$ 之階段III細胞之平均百分比及定義為 $CD34^-/CD33^-/CD11b^+$ 之階段IV細胞之平均百分比。誤差

條表示標準偏差。

【0027】 圖10：嗜中性白血球祖細胞於5個連續日暴露於化合物2中6小時後之後期成熟。在第10天開始之5個連續日各者將源自健康供體骨髓之CD34⁺細胞暴露於1、10或100 nM濃度之化合物2中持續6小時。資料表示來自供體1號及2號之定義為CD34⁻/CD33⁺/CD11b⁺之階段III細胞之平均百分比及定義為CD34⁻/CD33⁻/CD11b⁺之階段IV細胞之平均百分比。誤差條表示標準偏差。

【0028】 圖11：單藥劑地塞米松之治療方案圖。

【0029】 圖12：在骨髓分化期間於一次暴露於不同濃度之單獨或組合之地塞米松或化合物2中後之成熟嗜中性白血球的百分比。在第13天將源自健康供體骨髓之CD34⁺細胞暴露於1、10或100 nM濃度之單獨化合物2 (持續6小時)及地塞米松(持續30小時) (頂列)或組合(底列)中。於各底圖中，化合物2之濃度變化且地塞米松之濃度在1 nM (左)、10 nM (中)或100 nM (右)下保持恆定。針對組合，將培養物同時暴露於兩種藥劑中持續6小時。然後將細胞洗滌並用地塞米松再培育24小時。然後將細胞洗滌且不用化合物2或地塞米松再培育持續研究之剩餘時間。資料表示來自供體3、4及5之定義為CD34⁻/CD33⁺/CD11b⁺之階段IV細胞的百分比。紅線表示DMSO對照中之階段IV細胞之含量的50%。

【0030】 圖13：利用單獨地塞米松或與化合物2、來那度胺及泊馬度胺組合治療對來那度胺抗藥性多發性骨髓瘤細胞株之細胞凋亡之影響。y-軸顯示自DMSO之卡斯蛋白酶-3倍數變化及x-軸為地塞米松之對數濃度。

【0031】 圖14：化合物2直接激活人類外周血單核細胞(PBMC)以以

濃度依賴性方式裂解K562紅骨髓細胞(erythromyelocytic)白血病細胞。(左)與已用化合物2、來那度胺、泊馬度胺或DMSO預培育之人類PBMC共培養之K562細胞之代表性螢光激活細胞分選圖。(右)PI-膜聯蛋白(Annexin) V- K562細胞之百分比之原始資料，其顯示共培養物中之存活K562細胞之濃度依賴性減少。資料呈現為平均值與表示平均值之標準誤差之誤差條。

【0032】 圖15：藉由化合物2直接激活免疫細胞以裂解來那度胺敏感性及來那度胺抗藥性多發性骨髓瘤細胞株。將外周血單核供體細胞(PBMC) (效應細胞)用指示測試物或化合物2預處理2小時，然後在經抗CD3抗體塗覆之板上培養72小時。在與未經處理之CFSE標記之多發性骨髓瘤細胞株共培養之前，將PBMC洗滌並放置於無化合物存在之培養基中及然後與多發性骨髓瘤細胞株(靶細胞)共培養24小時。免疫細胞介導之多發性骨髓瘤細胞殺死之增加於與(A) NCI-H929細胞或(B) H929-1051細胞共培養(靶:效應子比率為1:5)之經化合物2-處理之PBMC中係明顯的。

【0033】 圖16：當將多發性骨髓瘤細胞在共培養之前用來那度胺、泊馬度胺或化合物2預處理時，經化合物引發之免疫細胞顯示增強之腫瘤細胞殺死。將外周血單核細胞用來那度胺、泊馬度胺或化合物2預培育2小時，然後在經抗CD3抗體塗覆之板上培養72小時。同時，將4種多發性骨髓瘤(MM)細胞株於含有測試物之培養基中培養。於72小時後，將細胞一起共培養24小時(靶:效應子[T:E]比率為1:5)。於測試之所有細胞類型(A) NCI-H929，(B) H929-1051，(C) OPM2及(D) OPM2 P10細胞株中免疫細胞介導之MM殺死之增加於共培養物(各列右圖)中相較於MM單一培養物(各列左圖)係明顯的。該等化合物對PBMC活力具有很小影響(於各列中間

圖中所示)。

【0034】 **圖17**：化合物2上調MM細胞株中之CD38表現。於用化合物2或泊馬度胺預處理72小時之MM細胞中評估CD38之細胞表面表現。顯示OPM-2及OPM-2.P10細胞株之劑量反應效果。

【0035】 **圖18**：化合物2增加達他單抗(daratumumab)介導之MM細胞之ADCC。將七種MM細胞株用亞致死濃度之化合物2或泊馬度胺處理72小時，然後以10:1之效應子:靶[E:T]比率與NK細胞共培養用於ADCC檢定。圖說明針對7種MM細胞株獲得之代表性資料。利用來自兩個不同供體之NK細胞進行檢定兩次。DMSO對照為未經處理之腫瘤細胞之基線NK細胞活性；同型及Dara分別為在同型對照及達他單抗之存在下未經處理之腫瘤細胞之NK細胞活性；同型+化合物及Dara +化合物分別為在同型對照及達他單抗之存在下經處理之腫瘤細胞之NK細胞活性。

【0036】 **圖19**：化合物2增強達他單抗介導之MM細胞之ADCP。用2:1之效應子:靶比例[E:T]進行吞噬作用檢定。使六種MM細胞株+/-化合物2或泊馬度胺預處理經受達他單抗介導之ADCP。A) OPM2細胞株之ADCP之代表圖像。巨噬細胞係以紅色及OPM2細胞係以綠色。B)藉由流式細胞計之吞噬作用之定量。DMSO對照為未經處理之腫瘤細胞之基線NK細胞活性；同型及Dara分別為在同型對照及達他單抗之存在下未經處理之腫瘤細胞之NK細胞活性；同型+化合物及Dara +化合物分別為在同型對照及達他單抗之存在下經處理之腫瘤細胞之NK細胞活性。

【0037】 **圖20**：化合物2與蛋白酶體抑制劑之組合導致MM細胞模型中增加之細胞凋亡。將MM細胞株用硼替佐米(bortezomib)或DMSO之脈衝處理1小時，接著清除。將該等經預處理之細胞用不同濃度之化合物2培

育72小時，接著用7-AAD及膜聯蛋白-V溶液對樣本染色及藉由流式細胞計分析。A)化合物2單獨或利用硼替佐米預處理之活細胞之百分比。B) OPM2-P10細胞在各種處理條件下之散點圖。

【0038】 圖21：於MM細胞中之化合物2與硼替佐米或卡非佐米(carfilzomib)之組合。將四種MM細胞株用硼替佐米或DMSO之脈衝處理1小時，接著清除。將該等經預處理之細胞用不同濃度之化合物2培育72小時，接著用7-AAD及膜聯蛋白-V溶液對樣本染色及藉由流式細胞計分析。A)化合物2單獨或利用硼替佐米預處理之抗增生效果。B)化合物2單獨或利用卡非佐米預處理之抗增生效果。DRC =劑量反應曲線

【0039】 圖22.顯示用化合物2與組蛋白去乙酰化酶抑制劑、化療劑、Bcl-2抑制劑、Mcl-1抑制劑、BET抑制劑或LSD-1抑制劑組合處理MM細胞。針對化合物2與跨MM細胞株組之13種小分子抑制劑組合之處理進行協同作用計算。藍色盒說明當與化合物2組合時，協同孔之百分比。*表示表面反應與零模型之差異之顯著性。

【0040】 圖23：於來那度胺抗藥性H929-1051異種移植模型中利用作為單藥劑及組合之化合物2 (0.1 mg/kg，qd)及地塞米松(0.5 mg/kg，qd)處理之效應。

【0041】 圖24：化合物2單獨及與硼替佐米組合於來那度胺抗藥性NCI-H929 (H929-1051)多發性骨髓瘤/漿細胞瘤異種移植模型中之抗腫瘤活性。用X軸上之箭頭指示給藥天數。

【實施方式】

【0042】 本申請案主張2017年7月10日申請之美國臨時申請案序號62/530,778、2017年11月30日申請之美國臨時申請案序號62/593,185及

2018年5月23日申請之美國臨時申請案序號62/675,581之權利，其全文以引用的方式全部併入本文中。

A · 定義

【0043】 除非另有指定，否則本文中所用所有技術及科學術語具有與一般技術者通常瞭解之含義相同的含義。所有專利、申請案、公開申請案及其他公開案之全文以引用的方式併入。在針對本文中術語存在複數個定義之情況下，除非另有指明，否則以此部分中之彼等為準。

【0044】 「IC₅₀」係指達成最大反應(諸如受體結合、受體活性、細胞生長或增生)之50%抑制之特定測試化合物的量、濃度或劑量，如經由本文中所述活體外或基於細胞之檢定中之任一者所量測。

【0045】 醫藥上可接受之鹽包括(但不限於)胺鹽(諸如(但不限於)*N,N'*-二苄基乙二胺、氯普魯卡因(chloroprocaine)、膽鹼、氨、二乙醇胺及其他羥基烷基胺、乙二胺、*N*-甲基葡糖胺、普魯卡因(procaine)、*N*-苄基苯乙胺、1-對-氯苄基-2-吡咯啉-1'-基甲基-苯并咪唑、二乙胺及其他烷基胺、哌嗪及參(羥甲基)胺基甲烷)；鹼金屬鹽(諸如(但不限於)鋰、鉀及鈉)；鹼土金屬鹽(諸如(但不限於)鋇、鈣及鎂)；過渡金屬鹽(諸如(但不限於)鋅)；及其他金屬鹽，諸如(但不限於)磷酸氫二鈉及磷酸二鈉；及亦包括(但不限於)無機酸之鹽，諸如(但不限於)鹽酸鹽及硫酸鹽；及有機酸之鹽，諸如(但不限於)乙酸鹽、乳酸鹽、蘋果酸鹽、酒石酸鹽、檸檬酸鹽、抗壞血酸鹽、琥珀酸鹽、丁酸鹽、戊酸鹽、富馬酸鹽及有機磺酸鹽。

【0046】 除非另有明確指明，否則在化合物可假定替代互變異構、區域異構及/或立體異構形式之情況下，所有替代異構體意欲涵蓋於所主張標的之範圍內。例如，在化合物可具有兩種互變異構形式之一者之情

況下，意欲兩種互變異構體涵蓋於本文中。

【0047】 因此，本文中所提供化合物可係對映異構純或為立體異構或非對映異構混合物。如本文中所用及除非另有指定，否則術語「立體異構純」意指包含化合物之一種立體異構體且實質上無該化合物之其他立體異構體之組合物。例如，具有一個對掌性中心之化合物之立體異構純組合物將實質上無該化合物之相對對映異構體。具有兩個對掌性中心之化合物之立體異構純組合物將實質上無該化合物之其他非對映異構體。典型立體異構純化合物包含大於約80重量%之化合物之一種立體異構體及小於約20重量%之化合物之其他立體異構體，更佳地大於約90重量%之化合物之一種立體異構體及小於約10重量%之化合物之其他立體異構體，甚至更佳地大於約95重量%之化合物之一種立體異構體及小於約5重量%之化合物之其他立體異構體，及最佳地大於約97重量%之化合物之一種立體異構體及小於約3重量%之化合物之其他立體異構體。如本文中所用，立體異構純化合物包含大於約80重量%之化合物之一種立體異構體，更佳地大於約90重量%之化合物之一種立體異構體，甚至更佳地大於約95重量%之化合物之一種立體異構體，及最佳地大於約97重量%之化合物之一種立體異構體。如本文中所用及除非另有指定，否則術語「立體異構濃化」意指包含以下之組合物：大於約60重量%之化合物之一種立體異構體，較佳地大於約70重量%，更佳地大於約80重量%之化合物之一種立體異構體。如本文中所用及除非另有指定，否則術語「對映異構純」意指具有一個對掌性中心之化合物之立體異構純組合物。類似地，術語「立體異構濃化」意指具有一個對掌性中心之化合物之立體異構濃化組合物。如本文中所用，立體異構或非對映異構混合物意指包含化合物之一個以上立體異構體之組合

物。化合物之典型立體異構混合物包含約50重量%之化合物之一種立體異構體及約50重量%之化合物之其他立體異構體，或包含大於約50重量%之化合物之一種立體異構體及小於約50重量%之化合物之其他立體異構體，或包含大於約45重量%之化合物之一種立體異構體及小於約55重量%之化合物之其他立體異構體，或包含大於約40重量%之化合物之一種立體異構體及小於約60重量%之化合物之其他立體異構體，或包含大於約35重量%之化合物之一種立體異構體及小於約65重量%之化合物之其他立體異構體。

【0048】 應瞭解，本文中所提供化合物可含有對掌性中心。此等對掌性中心可為(*R*)或(*S*)構型或可為其混合物。應瞭解，本文中所提供化合物之對掌性中心可經歷活體內差向異構作用。因而，熟習此項技術者將知曉針對經歷活體內差向異構作用之化合物，化合物以其(*R*)形式之投與等效於以其(*S*)形式之投與。

【0049】 光學活性(+)及(-)、(*R*)-及(*S*)-或(*D*)-及(*L*)-異構體可使用對掌性合成子或對掌性試劑製備或使用習知技術(諸如對掌性固定相層析法)解析。

【0050】 如本文中所用，「同位素體」為同位素濃化化合物。術語「同位素濃化」係指具有除了原子之天然同位素組成以外之同位素組成之原子。「同位素濃化」亦可係指含有至少一個原子之化合物，該至少一個原子具有除了該原子之天然同位素組成以外之同位素組成。術語「同位素組成」係指給定原子存在之各同位素之量。放射標記及同位素濃化化合物可用作治療劑(例如，多發性骨髓瘤治療劑)、研究試劑(例如，結合檢定試劑)及診斷試劑(例如，活體內成像劑)。如本文中所述之化合物之所有

同位素變化(無論是否具有放射性)意欲涵蓋於本文中所提供實施例之範圍內。於一些實施例中，提供化合物之同位素體，例如，化合物1、化合物2或化合物3之同位素體為氘、碳-13或氮-15濃化化合物。於一些實施例中，本文中所提供之同位素體為氘濃化化合物。於一些實施例中，本文中所提供之同位素體為氘濃化化合物，其中氘濃化發生在對掌性中心。

【0051】 於本文描述中，若在化學名稱與化學結構之間存在任何差異，則以結構為準。

【0052】 如本文中所用，「多發性骨髓瘤」係指特徵為惡性漿細胞之血液病且包括下列病症：意義未定之單株丙種球蛋白病(MGUS)；低風險、中等風險及高風險多發性骨髓瘤；新診斷之多發性骨髓瘤(包括低風險、中等風險及高風險新診斷之多發性骨髓瘤)；有移植資格及無移植資格之多發性骨髓瘤；鬱結性(惰性)多發性骨髓瘤(包括低風險、中等風險及高風險鬱結性多發性骨髓瘤)；活性多發性骨髓瘤；孤立性漿細胞瘤；髓外漿細胞瘤；漿細胞白血病；中樞神經系統多發性骨髓瘤；輕鏈骨髓瘤；非分泌性骨髓瘤；免疫球蛋白D骨髓瘤；及免疫球蛋白E骨髓瘤；及特徵為諸如以下之基因異常之多發性骨髓瘤：細胞週期蛋白D易位(例如，t(11;14)(q13;q32)、t(6;14)(p21;32)、t(12;14)(p13;q32)或t(6;20))、MMSET易位(例如，t(4;14)(p16;q32))、MAF易位(例如，t(14;16)(q32;q32)、t(20;22)、t(16;22)(q11;q13)或t(14;20)(q32;q11))或其他染色體因素(例如，17p13或染色體13之缺失；del(17/17p)，非超二倍體及增益(1q))。

【0053】 如本文中所用及除非另有指定，否則術語「治療(treat/treating/treatment)」係指減輕或降低與所治療疾病或病狀(例如，

多發性骨髓瘤)相關聯之症狀之嚴重度。

【0054】術語「預防」包括特定疾病或病症(例如，多發性骨髓瘤)之症狀之抑制。於一些實施例中，具有多發性骨髓瘤家族史之患者為預防方案之候選。一般而言，術語「預防」係指在症狀發作之前(特定言之)對有多發性骨髓瘤之風險之患者投與藥物。

【0055】如本文中所用及除非另有指定，否則術語「處理」涵蓋預防患有特定疾病或病症(諸如多發性骨髓瘤)之患者之特定疾病或病症(諸如多發性骨髓瘤)之復發、延長患有該疾病或病症之患者保持緩解之時間、降低患者之死亡率及/或維持嚴重度之降低或與所處理疾病或病狀相關聯之症狀之避免。

【0056】如本文中所用，「個體」或「患者」為動物，通常為哺乳動物，包括人類，諸如人類患者。

【0057】術語「復發」係指於治療後已具有多發性骨髓瘤之緩解之患者具有骨髓瘤細胞之回歸及/或骨髓中減少之正常細胞的情況。

【0058】術語「難治(refractory)或抗藥性(resistant)」係指患者甚至於強化治療後具有殘留骨髓瘤細胞及/或骨髓中減少之正常細胞之情況。

【0059】如本文中所用，「誘導療法」係指針對疾病給定之第一治療或利用誘導疾病(諸如癌症)之完全緩解之意圖給定的第一治療。當自身使用時，誘導療法被接受為最佳可用治療。若檢測出殘留癌症，則患者經另一種療法(稱作再誘導)治療。若患者於誘導療法後完全緩解，則提供額外鞏固及/或維持療法以延長緩解或潛在治癒該患者。

【0060】如本文中所用，「鞏固療法」係指針對於第一次達成緩解

後之疾病給定之治療。例如，癌症之鞏固療法為於癌症於最初療法後消失後給定之治療。鞏固療法可包括放射療法、幹細胞移植或利用癌症藥物療法之治療。鞏固療法亦稱作強化療法及緩解後療法。

【0061】 如本文中所用，「維持療法」係指針對於達成緩解或最佳反應後之疾病給定之治療以防止或延遲復發。維持療法可包括化療、激素療法或靶向療法。

【0062】 如本文中所用，「緩解」為癌症(例如，多發性骨髓瘤)之徵兆及症狀之減少或消失。於部分緩解中，癌症之一些(但並非所有)徵兆及症狀消失。於完全緩解中，癌症之所有徵兆及症狀消失，雖然癌症仍可於體內。

【0063】 如本文中所用，「移植」係指利用幹細胞救援之高劑量療法。造血(血液)或骨髓幹細胞不用作治療但是於高劑量療法(例如，高劑量化療及/或放射)後救援患者。移植包括「自體」幹細胞移植(ASCT)，其係指使用所收穫且用作替換細胞之患者之自身幹細胞。於一些實施例中，移植亦包括雙次移植或多次移植。

【0064】 如本文中所用及除非另有指明，否則術語化合物之「治療上有效量」及「有效量」係指足夠提供疾病(例如，多發性骨髓瘤)之治療、預防及/或處理之治療效益或延遲或最小化與所治療疾病或病症相關聯之一或多個症狀的量。術語「治療上有效量」及「有效量」可涵蓋改善整體治療、減少或避免疾病或病症之症狀或原因或增強另一種治療劑之療效之量。

【0065】 術語「共同投與」及「與.....組合」包括一或多種治療劑(例如，本文中所提供化合物及另一種抗多發性骨髓瘤劑、抗癌劑或支持

護理劑)之同時、合併或依序(無特定時間限制)投與。於一實施例中，該等物劑同時存在於細胞中或患者之體內或同時發揮其生物或治療效應。於一實施例中，該等治療劑係呈相同組合物或單位劑型。於另一實施例中，該等治療劑係呈分開組合物或單位劑型。

【0066】 術語「支持型護理劑」係指治療、預防或處理來自用化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體或對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽治療之副作用的任何物質。

【0067】 術語「生物療法」係指投與生物療法(諸如臍帶血、幹細胞、生長因子等)。

【0068】 於癌症(諸如多發性骨髓瘤)之上下文中，抑制可藉由以下評估：疾病進展之抑制、腫瘤生長之抑制、原發性腫瘤之減少、腫瘤相關症狀減輕、腫瘤分泌因子之抑制、原發性或繼發性腫瘤之延遲出現、原發性或繼發性腫瘤之緩慢發展、原發性或繼發性腫瘤之減少發生、疾病之次生效應之減慢或減少之嚴重度、停滯之腫瘤生長及腫瘤消退、增加之至進展之時間(TTP)、增加之無進展生存期(PFS)、增加之總生存期(OS)等。如本文中所用，OS意指自治療開始直至因任何原因之死亡之時間。如本文中所用，TTP意指自治療開始直至腫瘤進展之時間；TTP不包括死亡。於一實施例中，PFS意指自治療開始直至腫瘤進展或死亡之時間。於一實施例中，PFS意指自化合物之首次劑量至疾病進展或因任何原因之死亡之第一次發生的時間。於一實施例中，PFS率將使用Kaplan-Meier評估計算。無事件生存期(EFS)意指自治療開始直至任何治療失敗(包括疾病進展、因為任何原因治療停止或死亡)之時間。於一實施例中，總反應率(ORR)意指達成反應之患者之百分比。於一實施例中，ORR意指達成完全

及部分反應之患者之百分比之和。於一實施例中，**ORR**意指根據IMWG統一反應標準最佳反應≥部分反應(**PR**)之患者之百分比。於一實施例中，反應持續時間(**DoR**)為自達成反應直至復發或疾病進展之時間。於一實施例中，**DoR**為自達成反應≥部分反應(**PR**)直至復發或疾病進展之時間。於一實施例中，**DoR**為自反應之第一次記錄在案直至進展性疾病或死亡之第一次記錄在案之時間。於一實施例中，**DoR**為自反應≥部分反應(**PR**)之第一次記錄在案直至進展性疾病或死亡之第一次記錄在案之時間。於一實施例中，至反應之時間(**TTR**) 意指自化合物之首次劑量至反應之第一次記錄在案之時間。於一實施例中，**TTR**意指自化合物之首次劑量至反應≥部分反應(**PR**)之第一次記錄在案之時間。極端而言，完全抑制本文中係稱作預防或化學預防。於此上下文中，術語「預防」包括預防臨床上明顯癌症完全發作或預防臨床前明顯階段之癌症之發作。亦意欲涵蓋於此定義者為預防轉化成惡性細胞或阻止或逆轉惡化前細胞至惡性細胞之進展。此包括有發展癌症之風險之彼等之預防性治療。

【0069】 於某些實施例中，多發性骨髓瘤之治療可藉由多發性骨髓瘤之國際統一反應標準(International Uniform Response Criteria for Multiple Myeloma, IURC) (參見Durie BGM、Harousseau J-L、Miguel JS等人，International uniform response criteria for multiple myeloma. Leukemia, 2006; (10) 10: 1-7)，使用以下所示之反應及終點定義進行評估：

反應亞類	反應標準 ^a
sCR	如下所定義之CR加上 正常FLC比率及 藉由免疫組織化學或免疫螢光 ^c 之骨髓 ^b 中之純系細胞之缺失

反應亞類	反應標準 ^a
CR	血清及尿液之陰性免疫固定及任何軟組織漿細胞瘤之消失及骨髓中之漿細胞<5% ^b
VGPR	血清及尿液M-蛋白藉由免疫固定但是非電泳可檢測或血清M-蛋白之90%或更大減少加上尿液M-蛋白含量<100 mg/24小時
PR	血清M-蛋白減少≥50%及24小時尿液M-蛋白減少≥90%或至<200 mg/24小時 若血清及尿液M-蛋白係不可量測 ^d ，則要求在參與與不參與之FLC含量之間之差異減少≥50%代替M-蛋白標準 若血清及尿液M-蛋白係不可量測，且血清游離光檢定亦係不可量測，則要求漿細胞之減少≥50%代替M-蛋白，提供之基線骨髓漿細胞百分比係≥30% 除了以上所列標準外，若在基線下存在，則亦要求軟組織漿細胞瘤之尺寸之減少≥50%
SD (不建議用作反應之指標；疾病之穩定性係藉由提供至進展之時間評估來最佳描述)	不滿足CR、VGPR、PR或進展性疾病之標準

縮略語：CR，完全反應；FLC，游離輕鏈；PR，部分反應；SD，穩定疾病；sCR，嚴格完全反應；VGPR，極佳部分反應。

^a所有反應類別要求在任何新療法建立之前之任何時間作出連續兩次評估；若進行射線照相研究，則所有類別亦要求無進展性或新骨病變之已知證據。射線照相研究不需要滿足此等反應要求。

^b不需要利用重複骨髓活組織檢查確認。

^c純系細胞之存在/缺失係基於κ/λ比率。藉由免疫組織化學及/或免疫螢光之異常κ/λ比率要求最少100個漿細胞用於分析。反映異常純系存在之異常比率為κ/λ>4:1或<1:2。

^d藉由下列量測中之至少一者定義之可量測疾病：骨髓漿細胞≥30%；血清M-蛋白≥1 g/dl (≥10 gm/l)[10 g/l]；尿液M-蛋白≥200 mg/24小時；血清FLC檢定：參與之FLC含量≥10 mg/dl (≥100 mg/l)；提供之血清FLC

比率係異常。

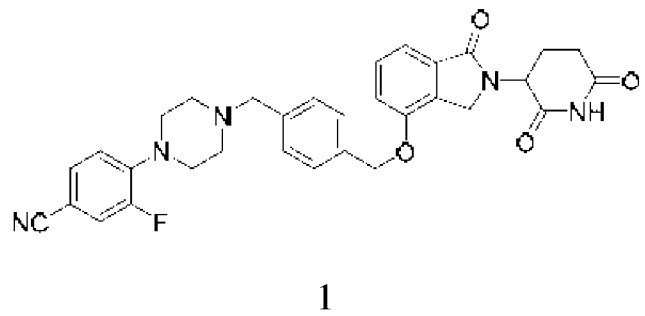
【0070】 如本文中所用，ECOG 狀態係指東部合作腫瘤學組 (Eastern Cooperative Oncology Group，ECOG)表現狀態(Oken M等人，Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol* 1982;5(6):649-655)，如下所示：

得分	描述
0	完全活性，能繼續所有病前表現而無限制
1	受限於消耗體力活動但是走動的且能進行輕的或久坐性工作(例如，輕量家務、辦公室工作)。
2	走動的且能完全自顧但是不能進行任何工作活動。超過50%之清醒時間下床走動。
3	僅能有限自顧，超過50%之清醒時間侷限於床或椅子。
4	完全失能。不能繼續任何自顧。完全侷限於床或椅子
5	死亡

【0071】 如本文中所用，除非另有指定，否則術語「約」係指不超過由該術語修飾之值之10%以上或以下的值。例如，術語「約10 mg/m²」意指9 mg/m²至11 mg/m²之範圍。

C.化合物

【0072】 本文中提供稱作「化合物1」之化合物4-(4-(4-(((2-(2,6-二側氧基哌啶-3-基)-1-側氧基異吡啶啉-4-基)氧基)甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈：

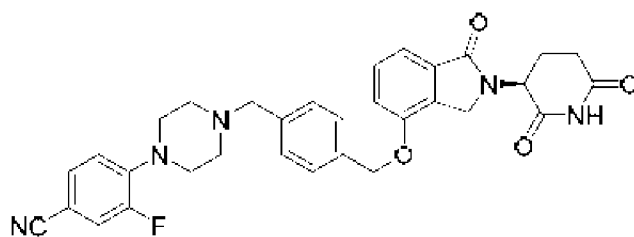


或其對映異構體或對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或

醫藥上可接受之鹽。

【0073】 於某些實施例中，於本文中所提供組合物及方法中使用之化合物為化合物1或其對映異構體或對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。

【0074】 本文中亦提供稱作「化合物2」之化合物(S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-二側氧基哌啶-3-基)-1-側氧基異吲哚啉-4-基)氧基)甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈：

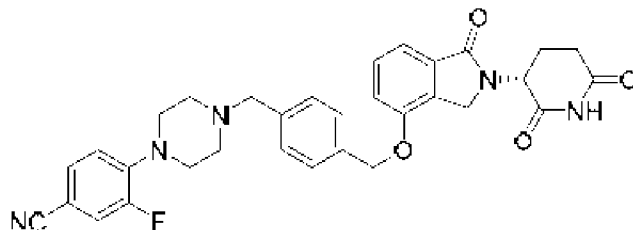


2

或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。

【0075】 於某些實施例中，於本文中所提供組合物及方法中使用之化合物為化合物2或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。

【0076】 本文中亦提供稱作「化合物3」之化合物(R)-4-(4-(4-(((2-(2,6-二側氧基哌啶-3-基)-1-側氧基異吲哚啉-4-基)氧基)甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈：



3

或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。

【0077】 於某些實施例中，於本文中所提供組合物及方法中使用之化合物為化合物3或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。

【0078】本文中提供化合物1。本文中提供化合物1之互變異構體。本文中提供化合物1之對映異構體。本文中提供化合物1之對映異構體之混合物。本文中提供化合物1之醫藥上可接受之鹽。

【0079】本文中提供化合物2。本文中提供化合物2之互變異構體。本文中提供化合物2之醫藥上可接受之鹽。

【0080】本文中提供化合物3。本文中提供化合物3之互變異構體。本文中提供化合物3之醫藥上可接受之鹽。

【0081】本文中亦提供本文中所提供化合物之同位素濃化類似物。先前已利用一些類別之藥物證實醫藥品之同位素濃化(例如，氘化或氚濃化)以提高藥物動力學(「PK」)、藥效動力學(「PD」)及毒性特性。參見，例如，Lijinsky等人，*Food Cosmet. Toxicol.*, 20: 393 (1982)；Lijinsky等人，*J. Nat. Cancer Inst.*, 69: 1127 (1982)；Mangold等人，*Mutation Res.* 308: 33 (1994)；Gordon等人，*Drug Metab. Dispos.*, 15: 589 (1987)；Zello等人，*Metabolism*, 43: 487 (1994)；Gately等人，*J. Nucl. Med.*, 27: 388 (1986)；Wade D, *Chem. Biol. Interact.* 117: 191 (1999)。不受限於任何特定理論，可使用化合物之同位素濃化(例如)以(1)減少或消除非所需代謝物，(2)增加母體藥物之半衰期，(3)減少達成所需效果所需之給藥次數，(4)減少達成所需效果必要之劑量之量，(5)增加活性代謝物之形成(若任何形成)，及/或(6)減少特定組織中之有害代謝物之產生及/或創造更有效藥物及/或更安全藥物用於組合物療法，無論該組合療法是否有意。用原子之同位素替代該原子經常導致化學反應之反應速率之改變。此現象稱作動態同位素效應(「KIE」)。例如，若C-H鍵在化學反應之速率決定步驟(即，具有最高過渡態能量之步驟)期間斷裂，則氘對

氫之置換將造成反應速率下降及過程減慢。此現象稱作氘動態同位素效應(「DKIE」)。(參見，例如，Foster等人，*Adv. Drug Res.*，第14卷，第1至36頁(1985)；Kushner等人，*Can. J. Physiol. Pharmacol.*，第77卷，第79至88頁(1999))。DKIE之幅度可以給定反應之速率之間之比率表示，其中C-H鍵斷裂且相同反應中氘置換氫。DKIE可自約1 (無同位素效應)至極大數字(諸如50或更多，其意指當氘置換氫時，反應可慢50倍或更多)之範圍。不受特定理論限制，高DKIE值可部分由於稱作穿隧之現象，其為不確定性原理之結果。穿隧歸因於氫原子之小質量，及因為涉及質子之過渡態有時可在無所需形成活化能下形成發生。因為氘具有比氫更高的質量，其統計上具有經歷此現象之低得多的可能性。

【0082】 氚(「T」)為研究、聚變反應堆、中子發生器及放射性藥物中使用之氫之放射性同位素。氚為核中具有2個中子之氫原子且具有接近3之原子量。其以極低濃度天然存在於環境中，最常見為T₂O。氚緩慢衰變(半衰期= 12.3年)且發射不能穿透人類皮膚外層之低能量β粒子。內部暴露為與此同位素相關之主要危險，但是其一定係大量攝入而造成重大健康風險。與氘相比，在其到達危險程度之前必須消耗更少量之氚。氚(「T」)對氫之置換導致又一較氘更強的鍵且產生數字上更大同位素效應。

【0083】 類似地，同位素對其他元素(包括但不限於針對碳之¹³C或¹⁴C，針對硫之³³S、³⁴S或³⁶S，針對氮之¹⁵N及針對氧之¹⁷O或¹⁸O)之置換將提供類似動態同位素效應。

【0084】 出於自其循環系統消除外來物質(諸如治療劑)之目的，動物體表現各種酵素。此等酵素之實例包括細胞色素P450酶(「CYP」)、酯酶、蛋白酶、還原酶、脫氫酶及單胺氧化酶以與此等外來物質反應並將此

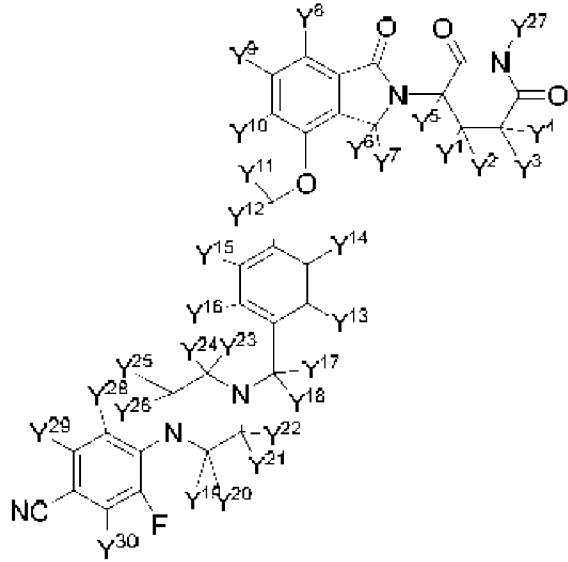
等外來物質轉化成更極性中間體或代謝物用於腎排泄。醫藥化合物之一些最常見代謝反應涉及將碳-氫(C-H)鍵氧化成碳-氧(C-O)或碳-碳(C-C) π 鍵。所得代謝物在生理條件下可係穩定或不穩定，且可相對於母體化合物具有實質上不同藥物動力學、藥效動力學及急性且長期毒性特性。針對許多藥物，此等氧化係快速的。因此，此等藥物經常需要多重或高的每日劑量之投與。

【0085】 在本文中所提供化合物之某些位置處之同位素濃化可產生可檢測之KIE，與具有天然同位素組成之類似化合物相比，該KIE影響本文中所提供化合物之藥物動力學、藥理學及/或毒理學特性。於一實施例中，氘濃化係在代謝期間在C-H鍵斷裂之位點上進行。

【0086】 於一實施例中，本文中提供化合物1之同位素體或其對映異構體或對映異構體之混合物、互變異構體或醫藥上可接受之鹽。於一些實施例中，化合物1之同位素體為經氘濃化之化合物1或其對映異構體或對映異構體之混合物、互變異構體或醫藥上可接受之鹽。於一些實施例中，化合物1之同位素體為經氘濃化之化合物1或其對映異構體或對映異構體之混合物、互變異構體或醫藥上可接受之鹽，其中該氘濃化發生在對掌性中心。於另一實施例中，本文中提供化合物2之同位素體或其互變異構體或醫藥上可接受之鹽。於一些實施例中，化合物2之同位素體為經氘濃化之化合物2或其互變異構體或醫藥上可接受之鹽。於一些實施例中，化合物2之同位素體為經氘濃化之化合物2或其互變異構體或醫藥上可接受之鹽，其中該氘濃化發生在對掌性中心。

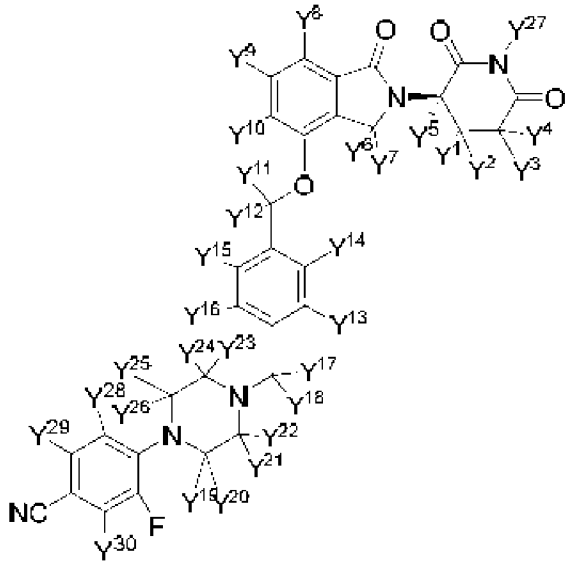
【0087】 於某些實施例中，本文中提供4-(4-(4-(((2-(2,6-二側氧基哌啶-3-基)-1-側氧基異吡啶-4-基)氧基)甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲

腓或其對映異構體或對映異構體之混合物、互變異構體或醫藥上可接受之鹽，其中4-(4-(4-(((2-(2,6-二側氧基吡啶-3-基)-1-側氧基異吲哚啉-4-基)氧基)甲基)苄基)吡嗪-1-基)-3-氟苯甲腓分子之一或多個原子位置經同位素濃化，例如經氘濃化。本文中某些實施例提供下式之化合物：

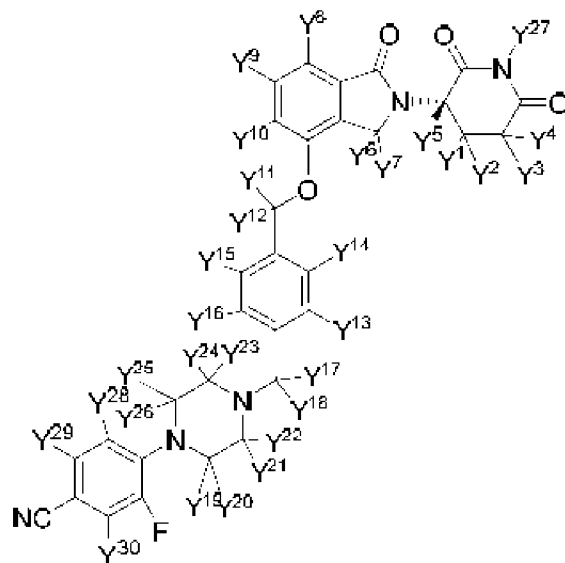


其中一或多個Y原子(即， Y^1 、 Y^2 、 Y^3 、 Y^4 、 Y^5 、 Y^6 、 Y^7 、 Y^8 、 Y^9 、 Y^{10} 、 Y^{11} 、 Y^{12} 、 Y^{13} 、 Y^{14} 、 Y^{15} 、 Y^{16} 、 Y^{17} 、 Y^{18} 、 Y^{19} 、 Y^{20} 、 Y^{21} 、 Y^{22} 、 Y^{23} 、 Y^{24} 、 Y^{25} 、 Y^{26} 、 Y^{27} 、 Y^{28} 、 Y^{29} 及 Y^{30})為經氘同位素濃化之氫，且任何剩餘Y原子為未經濃化之氫原子。

【0088】 於一實施例中，化合物具有下式：



【0089】 於一實施例中，化合物具有下式：



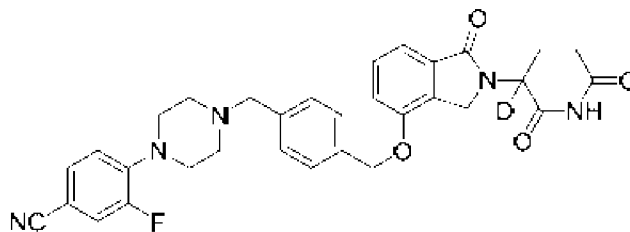
【0090】 於某些實施例中，所指示Y原子中之一者、兩者、三者、四者、五者、六者、七者、八者、九者、十者、十一者、十二者、十三者、十四者、十五者、十六者、十七者、十八者、十九者、二十者、二十一者、二十二者、二十三者、二十四者、二十五者、二十六者、二十七者、二十八者、二十九者或所有經氬同位素濃化，且任何剩餘Y原子為未經濃化之氫。於一實施例中，所指示Y原子中之一者經氬同位素濃化，且任何剩餘Y原子為未經濃化之氫。於一實施例中，Y⁵經氬濃化。

【0091】 於某些實施例中，化合物之戊二醯亞胺部分上之一或多個Y原子(Y¹、Y²、Y³、Y⁴、Y⁵及Y²⁷)經氬濃化。於某些實施例中化合物之異吲哚啉酮部分上之一或多個Y原子(Y⁶、Y⁷、Y⁸、Y⁹及Y¹⁰)經氬濃化。於某些實施例中，化合物之苯基烷基部分上之一或多個Y原子(Y¹¹、Y¹²、Y¹³、Y¹⁴、Y¹⁵、Y¹⁶、Y¹⁷及Y¹⁸)經氬濃化。於某些實施例中，化合物之哌嗪部分上之一或多個Y原子(Y¹⁹、Y²⁰、Y²¹、Y²²、Y²³、Y²⁴、Y²⁵及Y²⁶)經氬濃化。於某些實施例中，化合物之遠苯環部分上之一或多個Y原子(Y²⁸、Y²⁹及Y³⁰)經氬濃化。本文中所提供化合物可為如本文中所揭示

之氬濃化之任何組合。換言之，經氬濃化之戊二醯亞胺部分、經氬濃化之異吡啶啉部分、經氬濃化之苯基烷基部分、經氬濃化之哌嗪部分及經氬濃化之遠苯環部分之任何組合涵蓋於本文中。

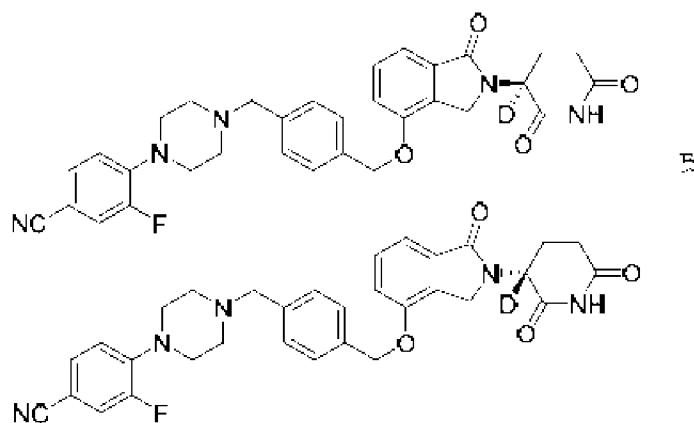
【0092】 於一實施例中， Y^1 及 Y^2 經氬濃化，且任何剩餘Y原子為未經濃化之氬。於一實施例中， Y^3 及 Y^4 經氬濃化，且任何剩餘Y原子為未經濃化之氬。於一實施例中， Y^5 經氬濃化，且任何剩餘Y原子為未經濃化之氬。於一實施例中， Y^1 至 Y^5 經氬濃化，且任何剩餘Y原子為未經濃化之氬。於一實施例中， Y^3 至 Y^5 經氬濃化，且任何剩餘Y原子為未經濃化之氬。於一實施例中， Y^6 及 Y^7 經氬濃化，且任何剩餘Y原子為未經濃化之氬。於一實施例中， Y^8 至 Y^{10} 經氬濃化，且任何剩餘Y原子為未經濃化之氬。於一實施例中， Y^{11} 及 Y^{12} 經氬濃化，且任何剩餘Y原子為未經濃化之氬。於一實施例中， Y^{13} 至 Y^{16} 經氬濃化，且任何剩餘Y原子為未經濃化之氬。於一實施例中， Y^{17} 及 Y^{18} 經氬濃化，且任何剩餘Y原子為未經濃化之氬。於一實施例中， Y^{11} 至 Y^{18} 經氬濃化，且任何剩餘Y原子為未經濃化之氬。於一實施例中， Y^{19} 至 Y^{26} 經氬濃化，且任何剩餘Y原子為未經濃化之氬。於一實施例中， Y^{27} 經氬濃化，且任何剩餘Y原子為未經濃化之氬。於一實施例中， Y^{28} 至 Y^{30} 經氬濃化，且任何剩餘Y原子為未經濃化之氬。

【0093】 於一實施例中，化合物1之同位素體為化合物1-D：

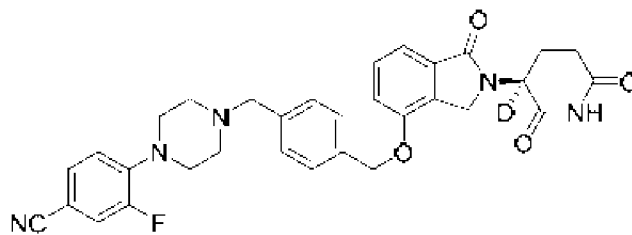


(1-D)。

【0094】 於另一實施例中，化合物1之同位素體為以下之混合物：

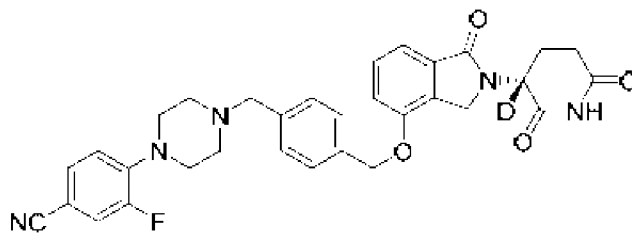


【0095】 於另一實施例中，化合物2之同位素體為化合物2-D



(2-D)。

【0096】 於另一實施例中，化合物3之同位素體為化合物3-D



(3-D)。

【0097】 於某些實施例中，經氘濃化之位置中之任一者獨立地具有以下氘豐度：至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少97%或約100%。於一實施例中，Y⁵經氘濃化且具有以下氘豐度：至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少97%或約100%。

【0098】 於一實施例中，化合物1-D中之D（在對掌性中心處）具有以下氘豐度：至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少97%或約100%。於一實施例中，D具

有至少90%之氬豐度。

【0099】 於一實施例中，化合物2-D中之D (在對掌性中心處)具有以下氬豐度：至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少97%或約100%。於一實施例中，D具有至少90%之氬豐度。

【0100】 於一實施例中，化合物3-D中之D (在對掌性中心處)具有以下氬豐度：至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少97%或約100%。於一實施例中，D具有至少90%之氬豐度。

【0101】 於某些實施例中，本文中所提供之經氬濃化之化合物具有以下之對映體過量：至少5%、至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少97%、至少98%或至少99%。立體異構體純度之額外實例包括以下之對映體過量：至少10、11、12、13、14、15、16、17 18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%。

【0102】 於一實施例中，化合物2-D具有以下之對映體過量：至少5%、至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少97%、至少98%或至少

99%。於一實施例中，化合物2-D具有至少90%之對映體過量。

【0103】 於一實施例中，化合物3-D具有以下之對映體過量：至少5%、至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少97%、至少98%或至少99%。於一實施例中，化合物3-D具有至少90%之對映體過量。

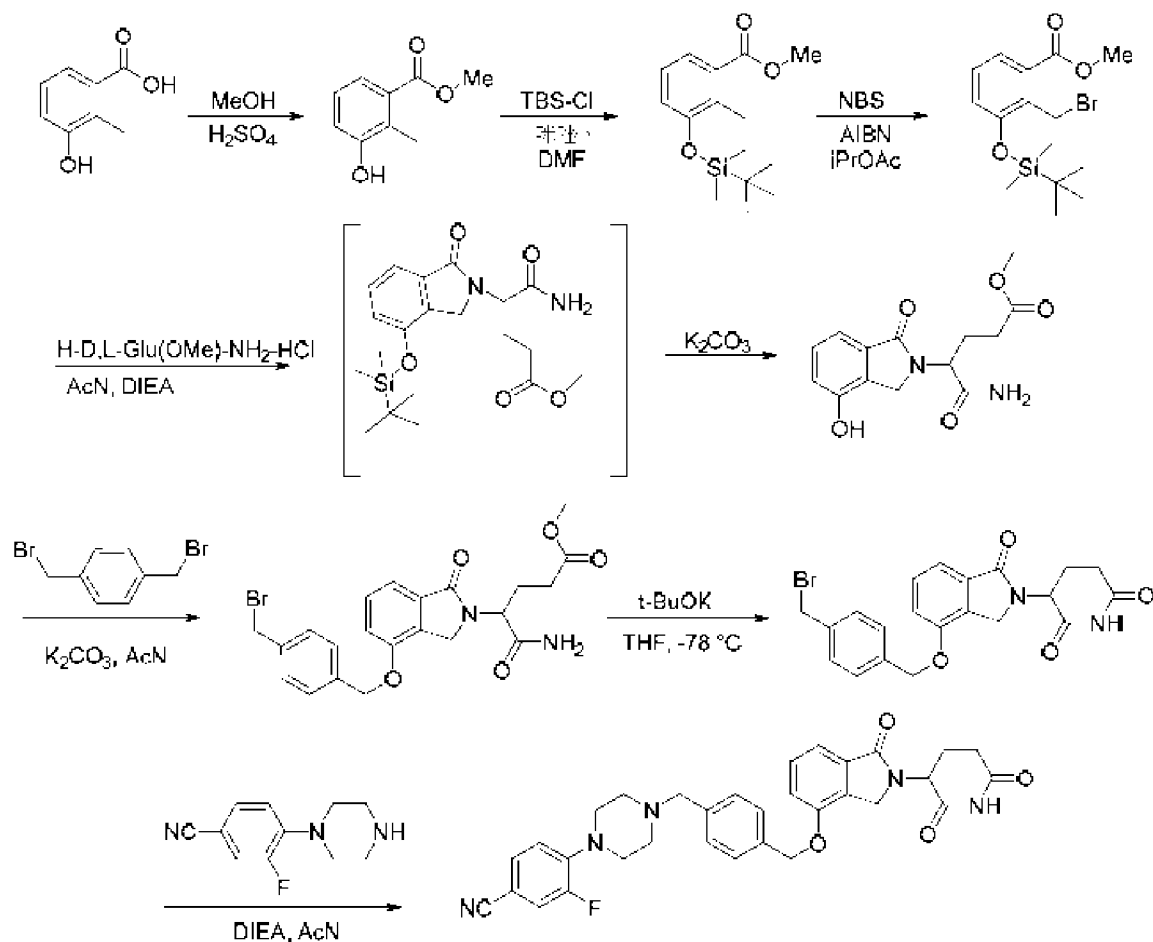
【0104】 可根據本文中所提供之合成反應圖及實例，但是使用相應經氙濃化之起始物質製備本文中所提供之經氙濃化之化合物。亦可根據熟習製備經氙濃化之異吲哚啉酮及戊二醯亞胺化合物之技術者已知之普通化學製備本文中所提供之經氙濃化之化合物，該技術包括(但不限於)述於WO 2014/039421及WO 2014/116573中之彼等，其各者之全文以引用的方式併入本文中。

D · 製備化合物1、化合物2及化合物3

【0105】 本文中所提供化合物可藉由熟習此項技術者已知方法及按照類似於本文中實例部分所述之彼等及其常規修改之下列程序製備。以下於針對化合物1、化合物2及化合物3之反應圖1及針對化合物2之反應圖2中說明製備化合物之示例性反應圖。

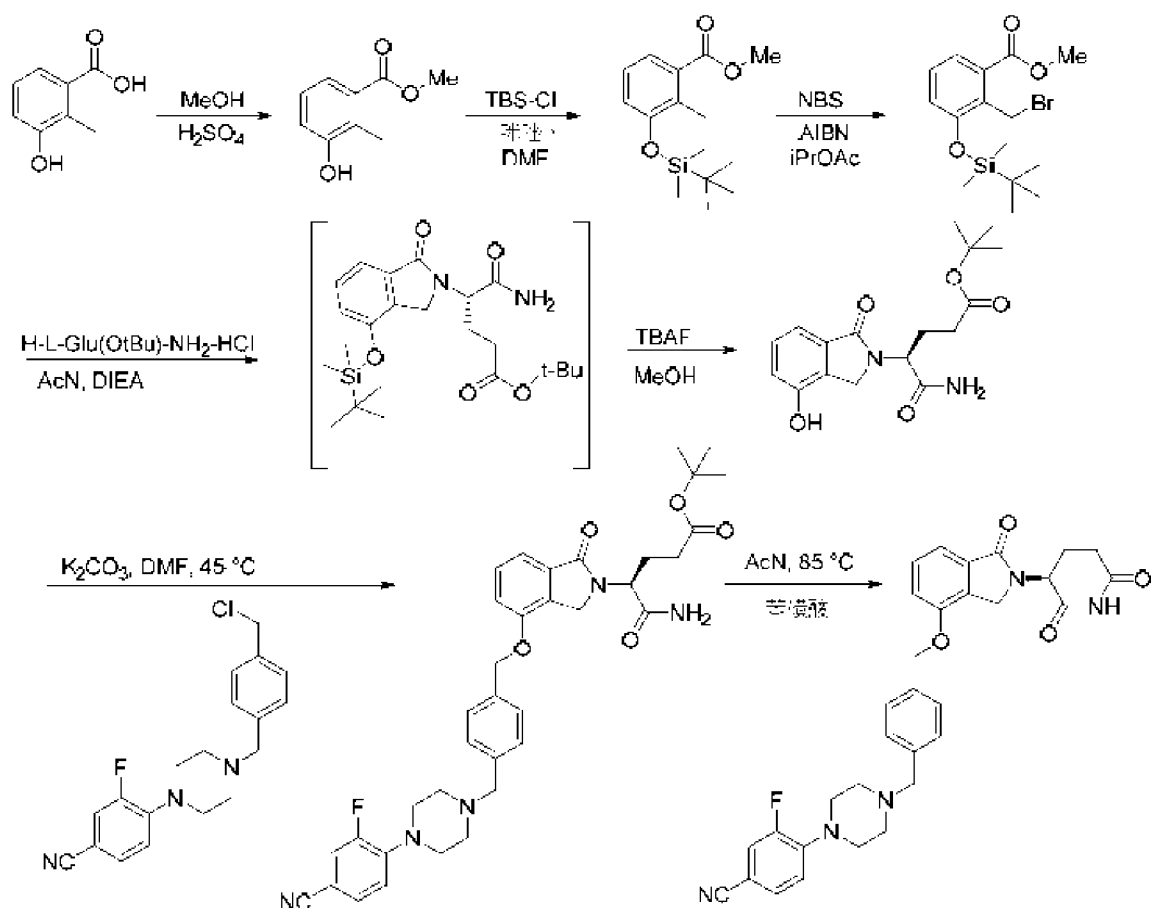
【0106】 如反應圖1中所示，保護3-羥基-2-甲基苯甲酸(藉由(例如)甲酯及第三丁基(二甲基)甲矽烷基醚形成)，接著溴化(例如，使用N-溴琥珀醯亞胺及偶氮二異丁腈)。在鹼(諸如DIEA)存在下，與4,5-二胺基-5-側氧基-戊酸甲酯(亦稱作H-D，L-Glu(OMe)-NH₂)反應，導致衍生之異吲哚啉形成，接著使用鹼(諸如碳酸鉀)將TBS脫去保護基。在鹼(諸如碳酸鉀)存在下，衍生之吲哚啉與1,4-雙(溴甲基)苯反應，接著在第三丁醇鉀之存在下，戊二醯亞胺形成。最後，與3-氟-4-(哌嗪-1-基)苯甲腈反應產生目

標化合物1。對掌性分離產生化合物2及化合物3。



反應圖1

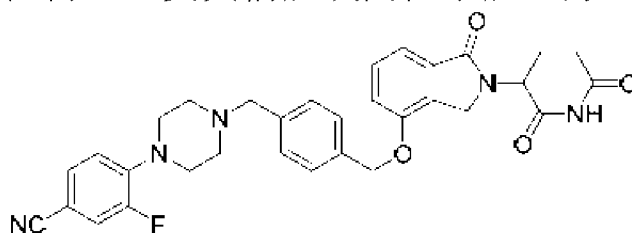
【0107】 或者如反應圖2中所例示，在鹼(諸如DIEA)存在下，2-(溴甲基)-3-[第三丁基(二甲基)甲矽烷基]氧基-苯甲酸甲酯中間體與對掌性(4S)-4,5-二胺基-5-側氧基-戊酸第三丁酯(亦稱作H-L-Glu(OtBu)-NH₂；與H-D-Glu(OtBu)-NH₂反應產生相反對映異構體)反應，導致衍生之異吲哚啉形成，接著使用四丁基氟化銨將TBS脫去保護基。在鹼(諸如碳酸鉀)存在下，衍生之異吲哚啉與4-(4-(4-(氯甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈或其鹽反應，接著脫去保護基及戊二醯亞胺形成，產生目標化合物2。



反應圖2

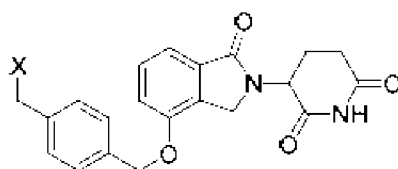
【0108】 熟習此項技術者將知道如何修改說明性反應圖及實例中闡述之程序以獲得所需產物。

【0109】 於一態樣中，本文中提供製備化合物1、或其對映異構體或對映異構體之混合物、互變異構體或同位素體之方法，



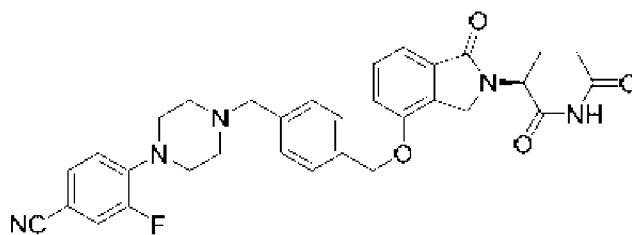
1，

該等方法包括於有機溶劑中，在鹼存在下，在適於得到化合物1之條件下，使化合物1a或其對映異構體或對映異構體之混合物、互變異構體或同位素體與3-氟-4-(哌嗪-1-基)苯甲腈接觸，

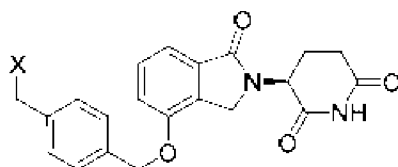
**1a**，

其中X為離去基團。

【0110】 於一實施例中，該方法為製備化合物1之對映異構體(例如，化合物2)之方法，

**2**，

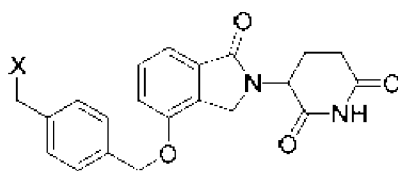
該方法包括於有機溶劑中，在鹼存在下，在適於得到化合物2之條件下，使化合物1a之對映異構體(例如，化合物2a)與3-氟-4-(哌嗪-1-基)苯甲腈接觸，

**2a**

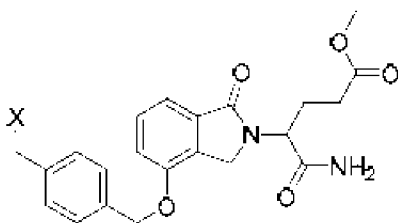
其中X為離去基團。

【0111】 於一實施例中，X為鹵素，例如，Br或Cl。於另一實施例中，X為甲磺酸酯(亦稱作-OMs)。於一實施例中，該溶劑為乙腈、THF或DMSO。於另一實施例中，該鹼為DIEA或TEA。於一些實施例中，在升高的溫度下(例如，在約35℃至約50℃下)進行接觸。

【0112】 於一些實施例中，該等方法另外包括製備化合物1a、或其對映異構體或對映異構體之混合物、互變異構體或同位素體，

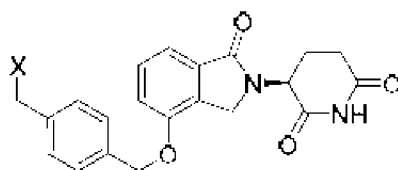
**1a** ,

該等方法包括於有機溶劑中，在適於得到化合物**1a**之條件下，使化合物**1b**或其對映異構體或對映異構體之混合物、互變異構體或同位素體

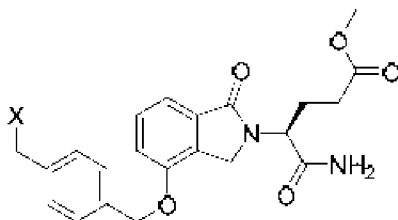
**1b** ,

與第三丁醇鉀接觸。

【0113】 於一實施例中，該方法為製備化合物**1a**之對映異構體(例如，化合物**2a**)之方法，

**2a** ,

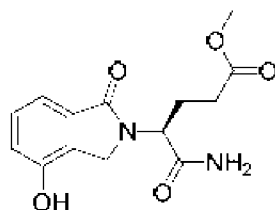
該方法包括於有機溶劑中，在適於得到化合物**2a**之條件下，使化合物**1b**之對映異構體(例如，化合物**2b**)

**2b**

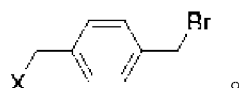
與第三丁醇鉀接觸。

【0114】 於一實施例中，X為Br。於一實施例中，該溶劑為THF。

於一些實施例中，在降低的溫度下(例如，在約-70℃至約-80℃下)進行接

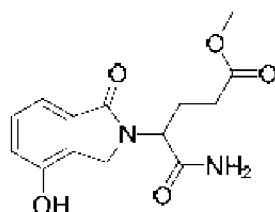
**2c**

與以下化合物接觸：

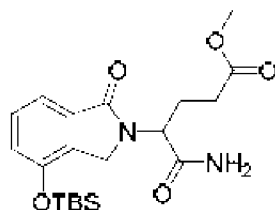


【0117】 於一實施例中，X為Br。於一實施例中，該溶劑為乙腈。於一些實施例中，該鹼為碳酸鉀。於一些實施例中，在升高的溫度下(例如，在約50℃至約70℃下)進行接觸。

【0118】 於一些實施例中，該等方法另外包括製備化合物1c、或其對映異構體或對映異構體之混合物、互變異構體或同位素體，

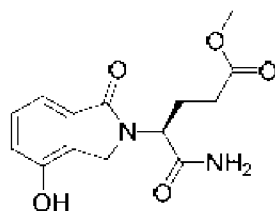
**1c**，

該等方法包括於溶劑中，在適於得到化合物1c之條件下，使化合物1d或其對映異構體或對映異構體之混合物、互變異構體或同位素體

**1d**，

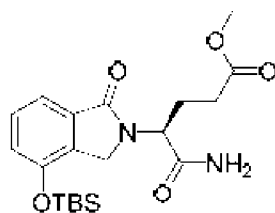
與鹼接觸。

【0119】 於一實施例中，該方法為製備化合物1c之對映異構體(例如，化合物2c)之方法，



2c ,

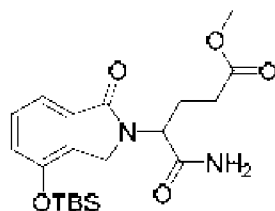
該方法包括於溶劑中，在適於得到化合物**2c**之條件下，使化合物**1d**之對映異構體(例如，化合物**2d**)



2d

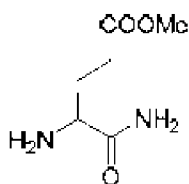
與鹼接觸。於一實施例中，該溶劑為水。於一些實施例中，該鹼為碳酸鉀。

【0120】 於一些實施例中，該等方法另外包括製備化合物**1d**、或其對映異構體或對映異構體之混合物、互變異構體或同位素體，



1d ,

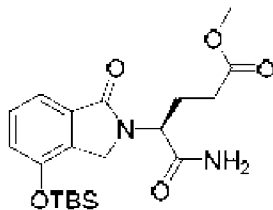
該等方法包括於溶劑中，在鹼存在下，在適於得到化合物**1d**之條件下，使化合物**1e**或其對映異構體或對映異構體之混合物、互變異構體或同位素體



1e ,

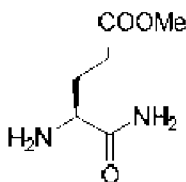
與2-(溴甲基)-3-[第三丁基(二甲基)甲矽烷基]氧基-苯甲酸甲酯接觸。

【0121】 於一實施例中，該方法為製備化合物1d之對映異構體(例如，化合物2d)之方法，



2d，

該方法包括於溶劑中，在鹼存在下，在適於得到化合物2d之條件下，使化合物1e之對映異構體(例如，化合物2e)

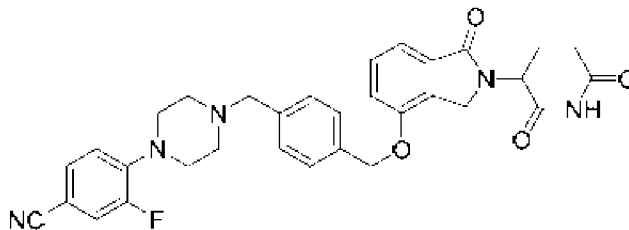


2e

與2-(溴甲基)-3-[第三丁基(二甲基)甲矽烷基]氧基-苯甲酸甲酯接觸。

【0122】 於一實施例中，該溶劑為乙腈。於一些實施例中，該鹼為DIEA。於一些其他實施例中，在升高的溫度下(例如，在約50℃至約70℃下)進行接觸。

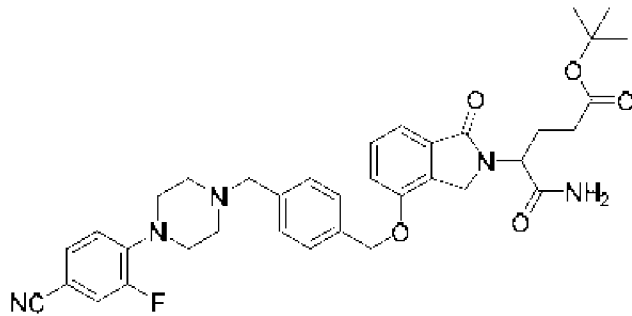
【0123】 於另一態樣中，本文中提供製備化合物1、或其對映異構體或對映異構體之混合物、互變異構體或同位素體之方法，



1，

該等方法包括於有機溶劑中，在適於得到化合物1之條件下，使化合

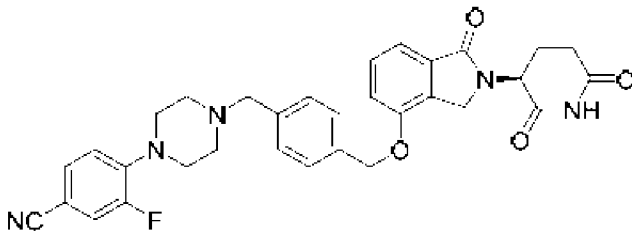
物1f或其對映異構體或對映異構體之混合物、互變異構體或同位素體



1f，

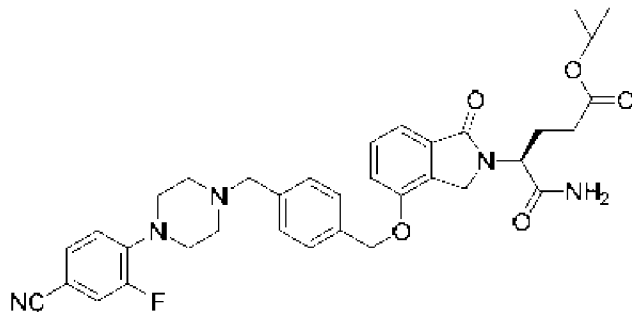
與酸接觸。

【0124】 於一實施例中，該方法為製備化合物1之對映異構體(例如，化合物2)之方法，



2，

該方法包括於有機溶劑中，在適於得到化合物2之條件下，使化合物1f之對映異構體(例如，化合物2f)



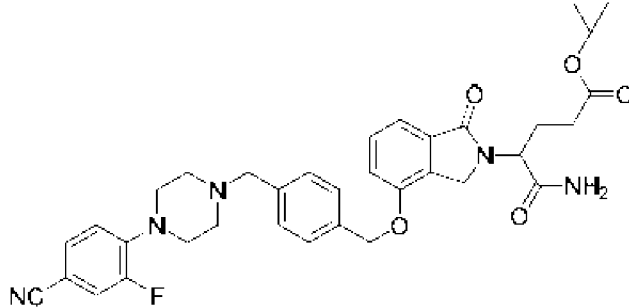
2f

與酸接觸。

【0125】 於一實施例中，該溶劑為乙腈。於另一實施例中，該酸為苯磺酸。於一些實施例中，在升高的溫度下(例如，在約75℃至約95℃下)

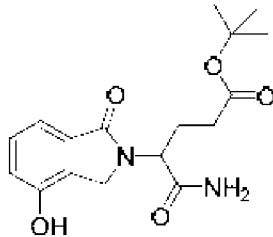
進行接觸。

【0126】 於一些實施例中，該等方法另外包括製備化合物1f、或其對映異構體或對映異構體之混合物、互變異構體或同位素體，



1f，

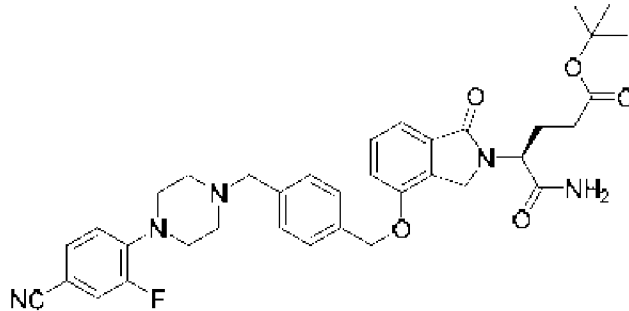
該等方法包括於溶劑中，在鹼存在下，在適於得到化合物1f之條件下，使化合物1g或其對映異構體或對映異構體之混合物、互變異構體或同位素體



1g，

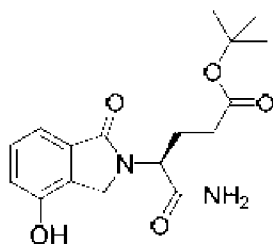
與4-(4-(4-(氯甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈或其鹽接觸。

【0127】 於一實施例中，該方法為製備化合物1f之對映異構體(例如，化合物2f)之方法，



2f，

該方法包括於溶劑中，在鹼存在下，在適於得到化合物2f之條件下，使化合物1g之對映異構體(例如，化合物2g)



2g

與4-(4-(4-(氯甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈或其鹽接觸。

【0128】 於一實施例中，該溶劑為DMF。於一實施例中，該溶劑為DMSO。於另一實施例中，該鹼為碳酸鉀。於一些實施例中，在升高的溫度下(例如，在約35°C至約55°C下)進行接觸。

【0129】 於一些實施例中，製備化合物1f之方法還包括純化方法，該純化方法包括(i)於第一溶劑中使化合物1f (游離鹼)與酸接觸；(ii)過濾以得到化合物1f之酸式鹽；及(iii)於第二溶劑中將化合物1f之酸式鹽用鹼洗滌以得到化合物1f (游離鹼)。於一實施例中，該酸為酒石酸(例如，L-酒石酸)。於一實施例中，該第一溶劑為甲醇。於一實施例中，化合物1f之酸式鹽為化合物1f之酒石酸鹽(例如，L-酒石酸鹽)。於一實施例中，該第二溶劑為2-甲基四氫呋喃。於一實施例中，該鹼為碳酸鉀。

【0130】 於一些實施例中，製備化合物1f之對映異構體(例如，化合物2f)之方法還包括純化方法，該純化方法包括(i)於第一溶劑中使化合物2f (游離鹼)與酸接觸；(ii)過濾以得到化合物2f之酸式鹽；及(iii)於第二溶劑中將化合物2f之酸式鹽用鹼洗滌以得到化合物2f (游離鹼)。於一實施例中，該酸為酒石酸(例如，L-酒石酸)。於一實施例中，該第一溶劑為甲醇。於一實施例中，化合物2f之酸式鹽為化合物2f之酒石酸鹽(例如，L-

酒石酸鹽)。於一實施例中，該第二溶劑為2-甲基四氫呋喃。於一實施例中，該鹼為碳酸鉀。

【0131】 於一些實施例中，該等方法還包括製備4-(4-(4-(氯甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈或其鹽，該等方法包括於溶劑中，在還原劑之存在下，在適於得到4-(4-(4-(氯甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈之條件下，使4-(氯甲基)苯甲醛與3-氟-4-(哌嗪-1-基)苯甲腈接觸。

【0132】 於一實施例中，該還原劑為三乙醯氧基硼氫化鈉($\text{NaBH}(\text{OAc})_3$)。於一實施例中，該溶劑為甲苯。於一實施例中，在酸存在下進行接觸。於一實施例中，該酸為乙酸。

【0133】 於一實施例中，於本文中所提供方法中製備及使用之4-(4-(4-(氯甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈或其鹽為4-(4-(4-(氯甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈之HCl鹽。於一實施例中，藉由於異丙醇中使4-(4-(4-(氯甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈游離鹼與鹽酸接觸製備HCl鹽。

E·治療及預防之方法

【0134】 出人意料地已發現化合物1、化合物2及化合物3為極強效抗骨髓瘤化合物，該等化合物具有明顯特徵，諸如改善之安全特性，包括多發性骨髓瘤細胞相較於正常細胞之選擇性細胞殺死、脫靶受體之降低之活性及減少之CYP酵素抑制(降低不良藥物相互作用之潛力)。

【0135】 於一實施例中，本文中提供一種治療多發性骨髓瘤之方法，該方法包括對患者投與化合物1或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。於一實施例中，本文中提供於治療多發性骨髓瘤之方法中使用之化合物1或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽，其中該方

法包括對患者投與該化合物。

【0136】 於一實施例中，本文中提供一種治療多發性骨髓瘤之方法，該方法包括對患者投與化合物2或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。於一實施例中，本文中提供於治療多發性骨髓瘤之方法中使用之化合物2或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽，其中該方法包括對患者投與該化合物。

【0137】 於一實施例中，本文中提供一種治療多發性骨髓瘤之方法，該方法包括對患者投與化合物3或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。於一實施例中，本文中提供於治療多發性骨髓瘤之方法中使用之化合物3或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽，其中該方法包括對患者投與該化合物。

【0138】 於一實施例中，本文中提供一種預防多發性骨髓瘤之方法，該方法包括對患者投與本文中所提供之化合物(例如，化合物1、化合物2或化合物3)或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。於一實施例中，本文中提供於預防多發性骨髓瘤之方法中使用之本文中所提供之化合物(例如，化合物1、化合物2或化合物3)或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽，其中該方法包括對患者投與該化合物。

【0139】 於另一實施例中，本文中提供一種處理多發性骨髓瘤之方法，該方法包括對患者投與本文中所提供之化合物(例如，化合物1、化合物2或化合物3)或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。於一實施例中，本文中提供於處理多發性骨髓瘤之方法中使用之本文中所提供之化合物(例如，化合物1、化合物2或

化合物3)或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽，其中該方法包括對患者投與該化合物。

【0140】 於一實施例中，本文中亦提供誘導患者之利用多發性骨髓瘤之國際統一反應標準(IURC) (參見Durie BGM、Harousseau J-L、Miguel JS 等人，International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*, 2006; (10) 10: 1-7)評估之治療反應的方法，該等方法包括對患有多發性骨髓瘤之患者投與有效量之本文中所述化合物(例如，化合物1、化合物2或化合物3)或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。於另一實施例中，本文中提供達成患者之如藉由多發性骨髓瘤之國際統一反應標準(IURC)所測定之嚴格完全反應、完全反應或極佳部分反應的方法，該等方法包括對患有多發性骨髓瘤之患者投與有效量之本文中所述化合物(例如，化合物1、化合物2或化合物3)或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。於另一實施例中，本文中提供達成患者之總生存期、無進展生存期、無事件生存期、至進展之時間或無疾病生存期增加之方法，該等方法包括對患有多發性骨髓瘤之患者投與有效量之本文中所述化合物(例如，化合物1、化合物2或化合物3)或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。於另一實施例中，本文中提供達成患者之總生存期增加之方法，該等方法包括對患有多發性骨髓瘤之患者投與有效量之本文中所述化合物(例如，化合物1、化合物2或化合物3)或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。於另一實施例中，本文中提供達成患者之無進展生存期增加之方法，該等方法包括對患有多發性骨髓瘤

之患者投與有效量之本文中所述化合物(例如，化合物1、化合物2或化合物3)或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。於另一實施例中，本文中提供達成患者之無事件生存期增加之方法，該等方法包括對患有多發性骨髓瘤之患者投與有效量之本文中所述化合物(例如，化合物1、化合物2或化合物3)或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。於另一實施例中，本文中提供達成患者之至進展之時間增加之方法，該等方法包括對患有多發性骨髓瘤之患者投與有效量之本文中所述化合物(例如，化合物1、化合物2或化合物3)或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。於另一實施例中，本文中提供達成患者之無疾病生存期增加之方法，該等方法包括對患有多發性骨髓瘤之患者投與有效量之本文中所述化合物(例如，化合物1、化合物2或化合物3)或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。

【0141】 本文中亦提供治療先前治療多發性骨髓瘤但是對標準療法無反應之患者以及先前未經治療之彼等之方法。另外涵蓋治療已接受手術試圖治療多發性骨髓瘤之患者以及尚未接受手術之彼等之方法。本文中亦提供治療先前接受移植療法之患者以及尚未接受移植療法之彼等之方法。

【0142】 本文中所提供方法包括治療復發、難治或抗藥性之多發性骨髓瘤。本文中所提供方法包括預防復發、難治或抗藥性之多發性骨髓瘤。本文中所提供方法包括處理復發、難治或抗藥性之多發性骨髓瘤。於一些此等實施例中，骨髓瘤係一次、二次、三次、四次或五次復發之多發性骨髓瘤。於一實施例中，本文中所提供方法減少、維持或消除微小殘留疾病(MRD)。於一實施例中，本文中所提供方法涵蓋藉由投與治療上有效量之本文中所述化合物治療、預防或處理各種類型之多發性骨髓瘤，諸如

意義未定之單株丙種球蛋白病(MGUS)、低風險、中等風險及高風險多發性骨髓瘤、新診斷之多發性骨髓瘤(包括低風險、中等風險及高風險新診斷之多發性骨髓瘤)、有移植資格及無移植資格之多發性骨髓瘤、鬱結性(惰性)多發性骨髓瘤(包括低風險、中等風險及高風險鬱結性多發性骨髓瘤)、活性多發性骨髓瘤、孤立性漿細胞瘤、髓外漿細胞瘤、漿細胞白血病、中樞神經系統多發性骨髓瘤、輕鏈骨髓瘤、非分泌性骨髓瘤、免疫球蛋白D骨髓瘤及免疫球蛋白E骨髓瘤。於另一實施例中，本文中所提供方法涵蓋藉由投與治療上有效量之本文中所述化合物治療、預防或處理特徵為諸如以下之基因異常之多發性骨髓瘤：細胞週期蛋白D易位(例如， $t(11;14)(q13;q32)$ 、 $t(6;14)(p21;32)$ 、 $t(12;14)(p13;q32)$ 或 $t(6;20)$)、MMSET易位(例如， $t(4;14)(p16;q32)$)、MAF易位(例如， $t(14;16)(q32;q32)$ 、 $t(20;22)$ 、 $t(16;22)(q11;q13)$ 或 $t(14;20)(q32;q11)$)或其他染色體因素(例如，17p13或染色體13之缺失； $del(17/17p)$ ，非超二倍體及增益(1q))。

【0143】於一實施例中，該等方法包括投與治療上有效量之化合物1或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。於另一實施例中，該等方法包括投與治療上有效量之化合物2或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。於另一實施例中，該等方法包括投與治療上有效量之化合物3或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。

【0144】於一些實施例中，該等方法包括投與治療上有效量之化合物1或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽作為誘導療法。於另一實施例中，該等方法包括投與治療上有效量之化合物2或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽作為誘導療法。於另一實施例中，該等方法包括投與治療上有效量之化合物3

或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽作為誘導療法。於一些實施例中，該等方法包括投與治療上有效量之化合物1或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽作為鞏固療法。於另一實施例中，該等方法包括投與治療上有效量之化合物2或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽作為鞏固療法。於另一實施例中，該等方法包括投與治療上有效量之化合物3或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽作為鞏固療法。於一些實施例中，該等方法包括投與治療上有效量之化合物1或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽作為維持療法。於另一實施例中，該等方法包括投與治療上有效量之化合物2或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽作為維持療法。於另一實施例中，該等方法包括投與治療上有效量之化合物3或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽作為維持療法。

【0145】 於本文中所述方法之一個特定實施例中，該多發性骨髓瘤為漿細胞白血病。

【0146】 於本文中所述方法之一個實施例中，該多發性骨髓瘤為高風險多發性骨髓瘤。於一些此等實施例中，該高風險多發性骨髓瘤係復發或難治的。於一實施例中，該高風險多發性骨髓瘤為於第一次治療之12個月內復發之多發性骨髓瘤。於又一實施例中，該高風險多發性骨髓瘤為特徵為基因異常(例如，del(17/17p)及t(14;16)(q32;q32)中之一或多者)之多發性骨髓瘤。於一些此等實施例中，該高風險多發性骨髓瘤係復發或一種、兩種或三種先前治療難治的。

【0147】 於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為p53突變。於一實

施例中，該p53突變為Q331突變。於一實施例中，該p53突變為R273H突變。於一實施例中，該p53突變為K132突變。於一實施例中，該p53突變為K132N突變。於一實施例中，該p53突變為R337突變。於一實施例中，該p53突變為R337L突變。於一實施例中，該p53突變為W146突變。於一實施例中，該p53突變為S261突變。於一實施例中，該p53突變為S261T突變。於一實施例中，該p53突變為E286突變。於一實施例中，該p53突變為E286K突變。於一實施例中，該p53突變為R175突變。於一實施例中，該p53突變為R175H突變。於一實施例中，該p53突變為E258突變。於一實施例中，該p53突變為E258K突變。於一實施例中，該p53突變為A161突變。於一實施例中，該p53突變為A161T突變。

【0148】 於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為p53之純合子缺失。於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為野生型p53之純合子缺失。

【0149】 於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為野生型p53。

【0150】 於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為一或多個致癌驅動因子之激活。於一實施例中，該一或多個致癌驅動因子係選自由C-MAF、MAFB、FGFR3、MMset、細胞週期蛋白D1及細胞週期蛋白D組成之群。於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為C-MAF之激活。於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為MAFB之激活。於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為FGFR3及MMset之激活。於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為C-MAF、FGFR3及MMset之激活。於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為細胞週期蛋白D1之激活。於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為MAFB及細胞週期蛋白D1之激活。於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為細胞週期蛋白D之激活。

【0151】 於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為一或多個染色體易位。於一實施例中，該染色體易位為t(14;16)。於一實施例中，該染色體易位為t(14;20)。於一實施例中，該染色體易位為t(4;14)。於一實施例中，該等染色體易位為t(4;14)及t(14;16)。於一實施例中，該染色體易位為t(11;14)。於一實施例中，該染色體易位為t(6;20)。於一實施例中，該染色體易位為t(20;22)。於一實施例中，該等染色體易位為t(6;20)及t(20;22)。於一實施例中，該染色體易位為t(16;22)。於一實施例中，該等染色體易位為t(14;16)及t(16;22)。於一實施例中，該等染色體易位為t(14;20)及t(11;14)。

【0152】 於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為Q331 p53突變、C-MAF之激活及t(14;16)處之染色體易位。於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為p53之純合子缺失、C-MAF之激活及t(14;16)處之染色體易位。於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為K132N p53突變、MAFB之激活及t(14;20)處之染色體易位。於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為野生型p53、FGFR3及Mmset之激活及t(4;14)處之染色體易位。於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為野生型p53、C-MAF之激活及t(14;16)處之染色體易位。於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為p53之純合子缺失、FGFR3、Mmset及C-MAF之激活及t(4;14)及t(14;16)處之染色體易位。於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為p53之純合子缺失、細胞週期蛋白D1之激活及t(11;14)處之染色體易位。於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為R337L p53突變、細胞週期蛋白D1之激活及t(11;14)處之染色體易位。於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為W146 p53突變、FGFR3及Mmset之激活及t(4;14)處之染色體易位。於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為

S261T p53突變、MAFB之激活及t(6;20)及t(20;22)處之染色體易位。於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為E286K p53突變、FGFR3及Mmset之激活及t(4;14)處之染色體易位。於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為R175H p53突變、FGFR3及Mmset之激活及t(4;14)處之染色體易位。於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為E258K p53突變、C-MAF之激活及t(14;16)及t(16;22)處之染色體易位。於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為野生型p53、MAFB及細胞週期蛋白D1之激活及t(14;20)及t(11;14)處之染色體易位。於一實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為A161T p53突變、細胞週期蛋白D之激活及t(11;14)處之染色體易位。

【0153】 於本文中所述方法之一些實施例中，該多發性骨髓瘤為有移植資格之新診斷之多發性骨髓瘤。於另一實施例中，該多發性骨髓瘤為無移植資格之新診斷之多發性骨髓瘤。

【0154】 於其他實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為最初治療後之早期進展(例如，少於12個月)。於其他實施例中，該多發性骨髓瘤特徵為自體幹細胞移植後之早期進展(例如，少於12個月)。於另一實施例中，該多發性骨髓瘤係來那度胺難治的。於另一實施例中，該多發性骨髓瘤係泊馬度胺難治的。於一些此等實施例中，預計該多發性骨髓瘤係泊馬度胺難治的(例如，藉由分子表徵)。於另一實施例中，該多發性骨髓瘤係復發或3種或更多種治療難治的及暴露於蛋白酶體抑制劑(例如，硼替佐米、卡非佐米、伊沙佐米(ixazomib)、奧普佐米(oprozomib)或馬里佐米(marizomib))及免疫調節劑化合物(例如，沙利度胺(thalidomide)、來那度胺、泊馬度胺、伊貝度胺(iberdomide)或阿伏度胺(avadomide))或蛋白酶體抑制劑及免疫調節劑化合物雙重難治的。於其他實施例中，該多發性骨

髓瘤係復發或3種或更多種先前療法(包括(例如) CD38單株抗體(CD38 mAb, 例如, 達雷木單抗(daratumumab)或伊沙昔單抗(isatuximab))、蛋白酶體抑制劑(例如, 硼替佐米、卡非佐米、伊沙佐米或馬里佐米)及免疫調節劑化合物(例如, 沙利度胺、來那度胺、泊馬度胺、伊貝度胺或阿伏度胺))難治的或蛋白酶體抑制劑或免疫調節劑化合物及CD38 mAb雙重難治的。於其他實施例中, 該多發性骨髓瘤係三重難治的, 例如, 該多發性骨髓瘤係蛋白酶體抑制劑(例如, 硼替佐米、卡非佐米、伊沙佐米、奧普佐米或馬里佐米)、免疫調節劑化合物(例如, 沙利度胺、來那度胺、泊馬度胺、伊貝度胺或阿伏度胺)及如本文中所述之一種其他活性劑難治的。

【0155】 於一些此等實施例中, 該等方法包括投與治療上有效量之化合物1或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽作為誘導療法。於另一實施例中, 該等方法包括投與治療上有效量之化合物2或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽作為誘導療法。於另一實施例中, 該等方法包括投與治療上有效量之化合物3或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽作為誘導療法。

【0156】 於某些實施例中, 本文中提供治療、預防及/或處理多發性骨髓瘤(包括具有受損腎功能之患者之復發/難治之多發性骨髓瘤或其症狀)之方法, 該等方法包括對具有受損腎功能之患有復發/難治之多發性骨髓瘤之患者投與治療上有效量的化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。

【0157】 於某些實施例中, 本文中提供治療、預防及/或處理多發性骨髓瘤(包括虛弱患者之復發或難治之多發性骨髓瘤或其症狀)之方法, 該等方法包括對患有多發性骨髓瘤之虛弱患者投與治療上有效量之化合物

1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。於一些此等實施例中，該虛弱患者特徵為誘導療法無資格或不耐地塞米松治療。於一些此等實施例中，該虛弱患者為老年人，例如，大於65歲。

【0158】 於某些實施例中，本文中提供治療、預防或處理多發性骨髓瘤之方法，該等方法包括對患者投與治療上有效量之化合物1或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽，其中該多發性骨髓瘤為第四線復發/難治之多發性骨髓瘤。於某些實施例中，本文中提供治療、預防或處理多發性骨髓瘤之方法，該等方法包括對患者投與治療上有效量之化合物2或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽，其中該多發性骨髓瘤為第四線復發/難治之多發性骨髓瘤。於某些實施例中，本文中提供治療、預防或處理多發性骨髓瘤之方法，該等方法包括對患者投與治療上有效量之化合物3或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽，其中該多發性骨髓瘤為第四線復發/難治之多發性骨髓瘤。

【0159】 於某些實施例中，本文中提供治療、預防或處理多發性骨髓瘤之方法，該等方法包括對患者投與治療上有效量之化合物1或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽作為誘導療法，其中該多發性骨髓瘤為新診斷之有移植資格之多發性骨髓瘤。於某些實施例中，本文中提供治療、預防或處理多發性骨髓瘤之方法，該等方法包括對患者投與治療上有效量之化合物2或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽作為誘導療法，其中該多發性骨髓瘤為新診斷之有移植資格之多發性骨髓瘤。於某些實施例中，本文中提供治療、預防或處理多發性骨髓瘤之方法，該等方法包括對患者投與治療上有效量之化合物3或其互變異構體、同位素體

或醫藥上可接受之鹽作為誘導療法，其中該多發性骨髓瘤為新診斷之有移植資格之多發性骨髓瘤。

【0160】於某些實施例中，本文中提供治療、預防或處理多發性骨髓瘤之方法，該等方法包括對患者投與治療上有效量之化合物1或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽作為於其他療法或移植後之維持療法，其中該多發性骨髓瘤為在其他療法或移植之前新診斷之有移植資格之多發性骨髓瘤。於某些實施例中，本文中提供治療、預防或處理多發性骨髓瘤之方法，該等方法包括對患者投與治療上有效量之化合物2或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽作為於其他療法或移植後之維持療法，其中該多發性骨髓瘤為在其他療法或移植之前新診斷之有移植資格之多發性骨髓瘤。於某些實施例中，本文中提供治療、預防或處理多發性骨髓瘤之方法，該等方法包括對患者投與治療上有效量之化合物3或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽作為於其他療法或移植後之維持療法，其中該多發性骨髓瘤為在其他療法或移植之前新診斷之有移植資格之多發性骨髓瘤。

【0161】於某些實施例中，本文中提供治療、預防或處理多發性骨髓瘤之方法，該等方法包括對患者投與治療上有效量之化合物1或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽作為於其他療法或移植後之維持療法。於一些實施例中，該多發性骨髓瘤為在其他療法及/或移植之前新診斷之有移植資格之多發性骨髓瘤。於一些實施例中，在移植之前之其他療法為利用化療或化合物1、化合物2或化合物3之治療。於某些實施例中，本文中提供治療、預防或處理多發性骨髓瘤之方法，該等方法包括對患者投與治療上有效量之化合物2或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受

之鹽作為於其他療法或移植後之維持療法。於一些實施例中，該多發性骨髓瘤為在其他療法及/或移植之前新診斷之有移植資格之多發性骨髓瘤。於一些實施例中，在移植之前之其他療法為利用化療或化合物1、化合物2或化合物3之治療。於某些實施例中，本文中提供治療、預防或處理多發性骨髓瘤之方法，該等方法包括對患者投與治療上有效量之化合物3或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽作為於其他療法或移植後之維持療法。於一些實施例中，該多發性骨髓瘤為在其他療法及/或移植之前新診斷之有移植資格之多發性骨髓瘤。於一些實施例中，在移植之前之其他療法為利用化療或化合物1、化合物2或化合物3之治療。

【0162】 於某些實施例中，本文中提供治療、預防或處理多發性骨髓瘤之方法，該等方法包括對患者投與治療上有效量之化合物1或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽，其中該多發性骨髓瘤為復發或一種、兩種或三種先前治療難治之高風險多發性骨髓瘤。於某些實施例中，本文中提供治療、預防或處理多發性骨髓瘤之方法，該等方法包括對患者投與治療上有效量之化合物2或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽，其中該多發性骨髓瘤為復發或一種、兩種或三種先前治療難治之高風險多發性骨髓瘤。於某些實施例中，本文中提供治療、預防或處理多發性骨髓瘤之方法，該等方法包括對患者投與治療上有效量之化合物3或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽，其中該多發性骨髓瘤為復發或一種、兩種或三種先前治療難治之高風險多發性骨髓瘤。

【0163】 於某些實施例中，本文中提供治療、預防或處理多發性骨髓瘤之方法，該等方法包括對患者投與治療上有效量之化合物1或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽，其中該多發性骨髓瘤為新診斷之

有移植資格之多發性骨髓瘤。於某些實施例中，本文中提供治療、預防或處理多發性骨髓瘤之方法，該等方法包括對患者投與治療上有效量之化合物2或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽，其中該多發性骨髓瘤為新診斷之有移植資格之多發性骨髓瘤。於某些實施例中，本文中提供治療、預防或處理多發性骨髓瘤之方法，該等方法包括對患者投與治療上有效量之化合物3或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽，其中該多發性骨髓瘤為新診斷之有移植資格之多發性骨髓瘤。

【0164】 於某些實施例中，化合物之治療上或預防上有效量係約0.01至約25 mg/天、約0.01至約10 mg/天、約0.01至約5 mg/天、約0.01至約2 mg/天、約0.01至約1 mg/天、約0.01至約0.5 mg/天、約0.01至約0.25 mg/天、約0.1至約25 mg/天、約0.1至約10 mg/天、約0.1至約5 mg/天、約0.1至約2 mg/天、約0.1至約1 mg/天、約0.1至約0.5 mg/天、約0.1至約0.25 mg/天、約0.5至約25 mg/天、約0.5至約10 mg/天、約0.5至約5 mg/天、約0.5至約2 mg/天、約0.5至約1 mg/天、約1至約25 mg/天、約1至約10 mg/天、約1至約5 mg/天、約1至約2.5 mg/天或約1至約2 mg/天。於一實施例中，化合物1、化合物2或化合物3之治療上或預防上有效量係約0.1 mg/天至約0.4 mg/天。

【0165】 於某些實施例中，治療上或預防上有效量係約0.1、約0.2、約0.3、約0.4、約0.5、約0.6、約0.7、約0.8、約0.9、約1、約2、約3、約4、約5、約6、約7、約8、約9、約10、約15、約20或約25 mg/天。於一些此等實施例中，治療上或預防上有效量係約0.1、約0.2、約0.3、約0.4、約0.5、約0.6或約0.7 mg/天。

【0166】 於一實施例中，用於本文中所述病狀之化合物1、化合物2

或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽之建議每日劑量範圍位於約0.1 mg至約25 mg/天(較佳地以單一每日一次劑量或一整天分次劑量提供)之範圍內。於其他實施例中，劑量範圍自約0.1至約10 mg/天。特定劑量/天包括0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25 mg/天。更特定劑量/天包括0.1、0.2、0.3、0.4或0.5 mg/天。

【0167】於一特定實施例中，建議起始劑量可為0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1、2、3、4、5、10、15、20或25 mg/天。於另一實施例中，建議起始劑量可為0.1、0.2、0.3、0.4或0.5 mg/天。可將劑量擴大至1、2、3、4或5 mg/天。

【0168】於某些實施例中，治療上或預防上有效量係約0.001至約5 mg/kg/天、約0.001至約4 mg/kg/天、約0.001至約3 mg/kg/天、約0.001至約2 mg/kg/天、約0.001至約1 mg/kg/天、約0.001至約0.05 mg/kg/天、約0.001至約0.04 mg/kg/天、約0.001至約0.03 mg/kg/天、約0.001至約0.02 mg/kg/天、約0.001至約0.01 mg/kg/天或約0.001至約0.005 mg/kg/天。

【0169】投與之劑量亦可以除了mg/kg/天之單位表示。例如，非經腸投與之劑量可表示為mg/m²/天。一般技術者將容易知道如何將劑量自mg/kg/天轉換成mg/m²/天(個體之身高或體重或二者給定)(參見，www.fda.gov/cder/cancer/animalframe.htm)。例如，65 kg人類之1 mg/kg/天之劑量係約等於38 mg/m²/天。

【0170】於某些實施例中，待利用本文中所提供方法中之一者治療之患者在投與本文中所提供之化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構

體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽之前尚未經多發性骨髓瘤療法治療。於某些實施例中，待利用本文中所提供方法中之一者治療之患者在投與本文中所提供之化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽之前已經多發性骨髓瘤療法治療。於某些實施例中，待利用本文中所提供方法中之一者治療之患者具有對抗多發性骨髓瘤療法之發展之藥物抗性。於一些此等實施例中，該患者具有對一種、兩種或三種抗多發性骨髓瘤療法之發展之抗性，其中該等療法係選自CD38單株抗體(CD38 mAb，例如，達雷木單抗或伊沙昔單抗)、蛋白酶體抑制劑(例如，硼替佐米、卡非佐米、伊沙佐米或馬里佐米)及免疫調節劑化合物(例如，沙利度胺、來那度胺、泊馬度胺、伊貝度胺或阿伏度胺)。

【0171】 本文中所提供方法涵蓋治療患者而不管患者之年齡。於一些實施例中，個體係18歲或更大。於其他實施例中，個體係大於18、25、35、40、45、50、55、60、65或70歲。於其他實施例中，個體係小於65歲。於其他實施例中，個體係大於65歲。於一實施例中，個體為老年多發性骨髓瘤個體，諸如大於65歲之個體。於一實施例中，個體為老年多發性骨髓瘤個體，諸如大於75歲之個體。

【0172】 取決於所治療之疾病之狀態及個體之病狀，本文中所提供之化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽可經口、非經腸(例如，肌肉內、腹膜內、靜脈內、CIV、腦池內注射或輸注、皮下注射或植入)、吸入、鼻、陰道、直腸、舌下或投與之局部(例如，經皮或局部)途徑投與。本文中所提供之化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構

體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽可單獨或以適宜劑量單位與醫藥上可接受之賦形劑、載劑、佐劑及媒劑一起調配適用於各投與途徑。

【0173】 於一實施例中，本文中所提供之化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽係經口投與。於另一實施例中，本文中所提供之化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽係非經腸投與。於又一實施例中，本文中所提供之化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽係經靜脈內投與。

【0174】 本文中所提供之化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽可呈單一劑量(諸如，例如，單丸注射或口服錠劑或丸劑)或隨時間(諸如，例如，隨時間連續輸注或隨時間分丸劑量)遞送。若必要，則可重複投與如本文中所述化合物，(例如)直至患者經歷穩定疾病或消退，或直至患者經歷疾病進展或不可接受的毒性。穩定疾病或其缺乏係藉由此項技術中已知方法(諸如患者症狀之評估、身體檢查、使用X射線、CAT、PET或MRI掃描成像之腫瘤之視覺化及其他通常可接受之評估方式)測定。

【0175】 本文中所提供之化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽可每日一次(QD或qd)或分成多個每日劑量(諸如每日兩次(BID或bid)、每日三次(TID或tid)及每日四次(QID或qid))投與。此外，投與可係連續(即，連續幾天每日或每天)、間歇(例如，週期(即，包括休息幾天、幾週

或幾個月無藥物))。如本文中所用，術語「每日」意欲意指每天一次或一次以上投與治療化合物(諸如本文中所提供之化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽)(例如)持續一段時間。術語「連續」意欲意指每日投與治療化合物(諸如本文中所提供之化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽)持續至少7天至52週之不間斷週期。如本文中所用，術語「間歇」或「間歇地」意欲意指在規則或不規則間隔停止及開始。例如，本文中所提供之化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽之間歇投與為投與一至六天/週、按週期投與(例如，每日投與持續二至八個連續週，然後不投與長達一週之休息期)或每隔一天投與。如本文中所用，術語「週期」意欲意指每日或連續但是具有休息期投與治療化合物(諸如本文中所提供之化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽)。於一些此等實施例中，投與為一天一次持續二至六天，然後不投與持續五至七天之休息期。

【0176】 於一些實施例中，投與頻率係於約每日劑量至約每月劑量之範圍內。於某些實施例中，投與為一天一次、一天兩次、一天三次、一天四次、每隔一天一次、一週兩次、每週一次、每兩週一次、每三週一次或每四週一次。於一實施例中，每天一次投與本文中所提供之化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。於另一實施例中，每天兩次投與本文中所提供之化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合

物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。於又一實施例中，每天三次投與本文中所提供之化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。於另一實施例中，每天四次投與本文中所提供之化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。

【0177】 於一實施例中，按治療週期投與治療上有效量之化合物1、化合物2或化合物3，該治療週期包含長達20天之投與期接著休息期。於一實施例中，按治療週期投與治療上有效量之化合物1、化合物2或化合物3，該治療週期包含長達15天之投與期接著休息期。於一實施例中，按治療週期投與治療上有效量之化合物1、化合物2或化合物3，該治療週期包含該治療週期包含長達10天之投與期接著休息期。於一實施例中，按治療週期投與治療上有效量之化合物1、化合物2或化合物3，該治療週期包含該治療週期包含長達7天之投與期接著休息期。於一實施例中，按治療週期投與治療上有效量之化合物1、化合物2或化合物3，該治療週期包含該治療週期包含長達5天之投與期接著休息期。於一實施例中，按治療週期投與治療上有效量之化合物1、化合物2或化合物3，該治療週期包含該治療週期包含長達4天之投與期接著休息期。於一實施例中，按治療週期投與治療上有效量之化合物1、化合物2或化合物3，該治療週期包含該治療週期包含長達3天之投與期接著休息期。

【0178】 於一實施例中，該治療週期包含長達14天之投與期接著休息期。於一實施例中，該治療週期包含長達10天之投與期接著休息期。於一實施例中，該治療週期包含長達7天之投與期接著休息期。於一實施例

中，該治療週期包含長達5天之投與期接著休息期。於一實施例中，該治療週期包含長達4天之投與期接著休息期。於一實施例中，該治療週期包含長達3天之投與期接著休息期。

【0179】 於一實施例中，該休息期為約2天上至約11天。於一實施例中，該休息期為約2天上至約10天。於一實施例中，該休息期為約2天。於一實施例中，該休息期為約3天。於一實施例中，該休息期為約4天。於一實施例中，該休息期為約5天。於一實施例中，該休息期為約6天。於另一實施例中，該休息期為約7天。於另一實施例中，該休息期為約8天。於另一實施例中，該休息期為約9天。於另一實施例中，該休息期為約10天。於另一實施例中，該休息期為約11天。

【0180】 於一實施例中，該治療週期包含長達15天之投與期接著約2天上至約10天之休息期。於一實施例中，該治療週期包含長達10天之投與期接著約2天上至約10天之休息期。於一實施例中，該治療週期包含長達7天之投與期接著約2天上至約10天之休息期。於一實施例中，該治療週期包含長達5天之投與期接著約2天上至約10天之休息期。於一實施例中，該治療週期包含長達3天之投與期接著約10天上至約15天之休息期。於一實施例中，該治療週期包含長達3天之投與期接著約3天上至約15天之休息期。

【0181】 於一實施例中，該治療週期包含長達15天之投與期接著7天之休息期。於一實施例中，該治療週期包含長達10天之投與期接著5天之休息期。於一實施例中，該治療週期包含長達10天之投與期接著4天之休息期。於一實施例中，該治療週期包含長達10天之投與期接著3天之休息期。於一實施例中，該治療週期包含長達10天之投與期接著2天之休息期。

期。於一實施例中，該治療週期包含長達7天之投與期接著7天之休息期。於一實施例中，該治療週期包含長達5天之投與期接著5天之休息期。於一實施例中，該治療週期包含長達3天之投與期接著11天之休息期。於另一實施例中，該治療週期包含長達5天之投與期接著9天之休息期。於另一實施例中，該治療週期包含長達5天之投與期接著2天之休息期。於另一實施例中，該治療週期包含長達3天之投與期接著4天之休息期。

【0182】 於一實施例中，該治療週期包含在28天週期之第1至5天投與治療上有效量之化合物1、化合物2或化合物3。於另一實施例中，該治療週期包含在28天週期之第1至10天投與治療上有效量之化合物1、化合物2或化合物3。於一實施例中，該治療週期包含在28天週期之第1至21天投與治療上有效量之化合物1、化合物2或化合物3。於另一實施例中，該治療週期包含在7天週期之第1至5天投與治療上有效量之化合物1、化合物2或化合物3。於另一實施例中，該治療週期包含在7天週期之第1至7天投與治療上有效量之化合物1、化合物2或化合物3。於一實施例中，該治療週期包含在28天週期之第1至10天及第15至24天投與治療上有效量之化合物1、化合物2或化合物3 (本文中稱作20/28給藥週期)。於一實施例中，該治療週期包含在28天週期之第1至3天及第15至18天投與治療上有效量之化合物1、化合物2或化合物3。於一實施例中，該治療週期包含在28天週期之第1至7天及第15至21天投與治療上有效量之化合物1、化合物2或化合物3(本文中稱作14/28給藥週期)。於一實施例中，該治療週期包含在28天週期之第1至5天及第15至19天投與治療上有效量之化合物1、化合物2或化合物3(本文中稱作10/28給藥週期)。於一實施例中，該治療週期包含在28天週期之第1至3天及第15至17天投與治療上有效量之化合物1、化

合物2或化合物3(本文中稱作6/28給藥週期)。

【0183】 於一實施例中，該治療週期包含在21天週期之第1至14天投與治療上有效量之化合物1、化合物2或化合物3。於另一實施例中，該治療週期包含在21天週期之第1至4及8至11天投與治療上有效量之化合物1、化合物2或化合物3。於一實施例中，該治療週期包含在21天週期之第1至5及8至12天投與治療上有效量之化合物1、化合物2或化合物3。於另一實施例中，該治療週期包含在21天週期之第1至5及11至15天投與治療上有效量之化合物1、化合物2或化合物3。於另一實施例中，該治療週期包含在21天週期之第1至5、8至12及15至19天投與治療上有效量之化合物1、化合物2或化合物3。於另一實施例中，該治療週期包含在21天週期之第1至4、8至11及15至18天投與治療上有效量之化合物1、化合物2或化合物3。於另一實施例中，該治療週期包含在21天週期之第1至4、8至10及15至17天投與治療上有效量之化合物1、化合物2或化合物3。於另一實施例中，該治療週期包含在21天週期之第1至3及8至11天投與治療上有效量之化合物1、化合物2或化合物3。於另一實施例中，該治療週期包含在21天週期之第1至3及11至13天投與治療上有效量之化合物1、化合物2或化合物3。

【0184】 可重複本文中所述任何治療週期至少2、3、4、5、6、7、8或更多個循環。於某些情況下，如本文中所述之治療週期包括1至約24個循環、約2至約16個循環或約2至約4個循環。於某些情況下，如本文中所述之治療週期包括1至約4個循環。於某些實施例中，週期1至4全為28天週期。於一些實施例中，投與治療上有效量之化合物1、化合物2或化合物3持續28天之1至13個循環(例如，約1年)。於某些情況下，週期療法不

限於循環次數，且繼續該療法直至疾病進展。於某些情況下，週期可包括改變本文中所述投與期及/或休息期之持續時間。

【0185】於一實施例中，該治療週期包含以下列劑量量投與化合物1、化合物2或化合物3：約0.1 mg/天、0.2 mg/天、0.3 mg/天、0.4 mg/天、0.5 mg/天、0.6 mg/天、0.7 mg/天、0.8 mg/天、0.9 mg/天、1.0 mg/天、5.0 mg/天或10 mg/天，每天一次投與。於一實施例中，該治療週期包含以下列劑量量投與化合物1、化合物2或化合物3：約0.1 mg/天、0.2 mg/天、0.3 mg/天、0.4 mg/天、0.5 mg/天、0.6 mg/天、0.7 mg/天或0.8 mg/天，每天一次投與。於一些此等實施例中，該治療週期包含在28天週期之第1至10天以約0.1 mg、0.2 mg、0.3 mg、0.4 mg或0.5 mg之劑量量每天一次投與化合物1、化合物2或化合物3。於一些此等實施例中，該治療週期包含在28天週期之第1至10及15至24天以約0.1 mg、0.2 mg、0.3 mg、0.4 mg或0.5 mg之劑量量每天一次投與化合物1、化合物2或化合物3。於一些此等實施例中，該治療週期包含在28天週期之第1至10及15至24天以約0.1 mg之劑量量每天一次投與化合物1、化合物2或化合物3。於其他實施例中，該治療週期包含在28天週期之第1至3天以約0.1 mg、0.2 mg、0.3 mg、0.4 mg或0.5 mg之劑量量每天兩次投與化合物1、化合物2或化合物3。於其他實施例中，該治療週期包含在28天週期之第1至3及15至19天以約0.1 mg、0.2 mg、0.3 mg、0.4 mg或0.5 mg之劑量量每天兩次投與化合物1、化合物2或化合物3。於其他實施例中，該治療週期包含在28天週期之第1至3及15至17天以約0.1 mg、0.2 mg、0.3 mg、0.4 mg或0.5 mg之劑量量每天兩次投與化合物1、化合物2或化合物3。於其他實施例中，該治療週期包含在28天週期之第1至3及15至17天以約0.2 mg之劑

量每天兩次投與化合物1、化合物2或化合物3。於此一實施例中，例如，於週期1中，在28天週期之第1至3天(早晚)、第14天(僅晚上)、第15及16天(早晚)及第17天(僅早上)投與化合物。

F·利用第二活性劑之組合療法

【0186】 本文中所提供之化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽亦可與習知療法組合或聯合習知療法(例如，在習知療法之前、期間或之後)使用，該習知療法包括(但不限於)手術、生物療法(包括免疫療法，例如，利用檢查點抑制劑)、放射療法、化療、幹細胞移植、細胞療法或其他目前用於治療、預防或處理多發性骨髓瘤之基於藥物之療法。本文中所提供化合物與習知療法之組合使用可提供於某些患者中出乎意料有效之獨特治療方案。不受理論限制，據信當與習知療法同時給定時，化合物1、化合物2或化合物3可提供累加或協同效應。

【0187】 如本文中其他地方所討論，本文中涵蓋減少、治療及/或預防與習知療法相關之不良或非所需反應之方法，該習知療法包括(但不限於)手術、化療、放射療法、生物療法及免疫療法。可在與習知療法相關之不良反應發生之前、期間或之後對患者投與本文中所提供之化合物(例如，化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽)及其他活性成分。

【0188】 本文中所提供之化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽亦可與其他治療劑組合或與其他治療劑組合使用，該等治療劑可用於治療及/或預防本文中所述之多發性骨髓瘤。

【0189】 於一實施例中，本文中提供一種治療、預防或處理多發性骨髓瘤之方法，該方法包括對患者投與化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽與一或多種第二活性劑組合，及視情況與放射療法、輸血或手術組合。

【0190】 如本文中所用，術語「組合」包括使用一種以上療法（例如，一或多種預防及/或治療劑）。然而，使用術語「組合」不限制對患有疾病或病症之患者投與療法（例如，預防及/或治療劑）之次序。可在對個體投與第二療法（例如，預防及/或治療劑）之前（例如，5分鐘、15分鐘、30分鐘、45分鐘、1小時、2小時、4小時、6小時、12小時、24小時、48小時、72小時、96小時、1週、2週、3週、4週、5週、6週、8週或12週之前）、同時或隨後（例如，5分鐘、15分鐘、30分鐘、45分鐘、1小時、2小時、4小時、6小時、12小時、24小時、48小時、72小時、96小時、1週、2週、3週、4週、5週、6週、8週或12週之後）投與第一療法（例如，預防或治療劑，諸如本文中所提供之化合物，例如，化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽）。三聯療法亦涵蓋於本文中，正如四聯療法。於一實施例中，該第二療法為地塞米松。

【0191】 化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽及一或多種第二活性劑對患者之投與可藉由相同或不同投與途徑同時或依序發生。對特定活性劑採用之投與之特定途徑之適宜性將取決於活性劑本身（例如，無論其是否可經口投與而在進入血流之前不分解）。

【0192】 化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽之投與途徑獨立於第二療法之投與途徑。於一實施例中，化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽係經口投與。於另一實施例中，化合物1、化合物2或化合物3係經靜脈內投與。因此，根據此等實施例，化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽係經口或經靜脈內投與，且第二療法可經以下投與：經口、非經腸、經腹膜內、經靜脈內、經動脈內、經皮、經舌下、經肌肉內、經直腸、經頰、經鼻、經脂質體、經由吸入、經陰道、經眼內、經由導管或支架之局部遞送、經皮下、經脂肪內、經關節內、經鞘內或呈緩釋劑型。於一實施例中，化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽及第二療法係藉由相同投與模式(經口或藉由IV)投與。於另一實施例中，化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽係藉由一種投與模式(例如，藉由IV)投與，然而第二藥劑(抗多發性骨髓瘤劑)係藉由另一種投與模式(例如，經口)投與。

【0193】 於一實施例中，第二活性劑係經靜脈內或皮下且以約1至約1000 mg、約5至約500 mg、約10至約350 mg或約50至約200 mg之量每日一次或兩次投與。第二活性劑之特定量將取決於使用之特定藥劑、所治療或處理之多發性骨髓瘤之類型、疾病之嚴重度及階段及本文中所提供之化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽及同時對患者投與之任何可選額

外活性劑之量。

【0194】 一或多種第二活性成分或藥劑可與化合物1、化合物2或化合物3一起用於本文中所提供之方法及組合物中。第二活性劑可為大分子(例如，蛋白質)、小分子(例如，合成無機、有機金屬或有機分子)或細胞療法(例如，CAR細胞)。

【0195】 可於本文中所述方法及組合物中使用之第二活性劑之實例包括下列中之一或多者：美法侖(melphalan)、長春新鹼(vincristine)、環磷醯胺(cyclophosphamide)、依託泊苷(etoposide)、多柔比星(doxorubicin)、苯達莫司汀(bendamustine)、奧濱珠單抗(obinutuzumab)、蛋白酶體抑制劑(例如，硼替佐米、卡非佐米、伊沙佐米、奧普佐米或馬里佐米)、組蛋白去乙酰化酶抑制劑(例如，帕比司他(panobinostat)、ACY241)、BET抑制劑(例如，GSK525762A、OTX015、BMS-986158、TEN-010、CPI-0610、INCB54329、BAY1238097、FT-1101、ABBV-075、BI 894999、GS-5829、GSK1210151A (I-BET-151)、CPI-203、RVX-208、XD46、MS436、PFI-1、RVX2135、ZEN3365、XD14、ARV-771、MZ-1、PLX5117、4-[2-(環丙基甲氧基)-5-(甲磺醯基)苯基]-2-甲基異喹啉-1(2H)-酮、EP11313及EP11336)、BCL2抑制劑(例如，維奈托克(venetoclax)或納維托克(navitoclax))、MCL-1抑制劑(例如，AZD5991、AMG176、MIK665、S64315或S63845)、LSD-1抑制劑(例如，ORY-1001、ORY-2001、INCB-59872、IMG-7289、TAK-418、GSK-2879552、4-[2-(4-胺基-哌啶-1-基)-5-(3-氟-4-甲氧基-苯基)-1-甲基-6-側氧基-1,6-二氫嘧啶-4-基]-2-氟-苯甲腈或其鹽)、皮質類固醇(例如，潑尼松(prednisone))、地塞米松、抗體(例如，CS1抗體，諸如埃洛妥珠單抗

(elotuzumab)；CD38抗體，諸如達雷木單抗或伊沙昔單抗；或BCMA抗體或抗體共軛物，諸如GSK2857916或BI 836909)、檢測點抑制劑(如本文中所述)或CAR細胞(如本文中所述)。

【0196】 於一實施例中，於本文中所述方法及組合物中與化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽一起使用之第二活性劑為地塞米松。

【0197】 於一些實施例中，在21天週期之第1及8天以4 mg劑量投與地塞米松。於一些其他實施例中，在21天週期之第1、4、8及11天以4 mg劑量投與地塞米松。於一些實施例中，在28天週期之第1、8及15天以4 mg劑量投與地塞米松。於一些其他實施例中，在28天週期之第1、4、8、11、15及18天以4 mg劑量投與地塞米松。於一些實施例中，在28天週期之第1、8、15及22天以4 mg劑量投與地塞米松。於一此實施例中，在週期1之第1、10、15及22天以4 mg劑量投與地塞米松。於一些實施例中，在28天週期之第1、3、15及17天以4 mg劑量投與地塞米松。於一此實施例中，在週期1之第1、3、14及17天以4 mg劑量投與地塞米松。

【0198】 於一些其他實施例中，在21天週期之第1及8天以8 mg劑量投與地塞米松。於一些其他實施例中，在21天週期之第1、4、8及11天以8 mg劑量投與地塞米松。於一些實施例中，在28天週期之第1、8及15天以8 mg劑量投與地塞米松。於一些其他實施例中，在28天週期之第1、4、8、11、15及18天以8 mg劑量投與地塞米松。於一些實施例中，在28天週期之第1、8、15及22天以8 mg劑量投與地塞米松。於一此實施例中，在週期1之第1、10、15及22天以8 mg劑量投與地塞米松。於一些實施例中，在28天週期之第1、3、15及17天以8 mg劑量投與地塞米松。於

一此實施例中，在週期1之第1、3、14及17天以8 mg劑量投與地塞米松。

【0199】 於一些實施例中，在21天週期之第1及8天以10 mg劑量投與地塞米松。於一些其他實施例中，在21天週期之第1、4、8及11天以10 mg劑量投與地塞米松。於一些實施例中，在28天週期之第1、8及15天以10 mg劑量投與地塞米松。於一些其他實施例中，在28天週期之第1、4、8、11、15及18天以10 mg劑量投與地塞米松。於一些實施例中，在28天週期之第1、8、15及22天以10 mg劑量投與地塞米松。於一此實施例中，在週期1之第1、10、15及22天以10 mg劑量投與地塞米松。於一些實施例中，在28天週期之第1、3、15及17天以10 mg劑量投與地塞米松。於一此實施例中，在週期1之第1、3、14及17天以10 mg劑量投與地塞米松。

【0200】 於一些實施例中，在21天週期之第1及8天以20 mg劑量投與地塞米松。於一些其他實施例中，在21天週期之第1、4、8及11天以20 mg劑量投與地塞米松。於一些實施例中，在28天週期之第1、8及15天以20 mg劑量投與地塞米松。於一些其他實施例中，在28天週期之第1、4、8、11、15及18天以20 mg劑量投與地塞米松。於一些實施例中，在28天週期之第1、8、15及22天以20 mg劑量投與地塞米松。於一此實施例中，在週期1之第1、10、15及22天以20 mg劑量投與地塞米松。於一些實施例中，在28天週期之第1、3、15及17天以20 mg劑量投與地塞米松。於一此實施例中，在週期1之第1、3、14及17天以20 mg劑量投與地塞米松。

【0201】 於一些實施例中，在21天週期之第1及8天以40 mg劑量投與地塞米松。於一些其他實施例中，在21天週期之第1、4、8及11天以40 mg劑量投與地塞米松。於一些實施例中，在28天週期之第1、8及15天以40 mg劑量投與地塞米松。於一此實施例中，在週期1之第1、10、15及22

天以40 mg劑量投與地塞米松。於一些其他實施例中，在28天週期之第1、4、8、11、15及18天以40 mg劑量投與地塞米松。於其他此等實施例中，在28天週期之第1、8、15及22天以40 mg劑量投與地塞米松。於其他此等實施例中，在28天週期之第1、3、15及17天以40 mg劑量投與地塞米松。於一此實施例中，在週期1之第1、3、14及17天以40 mg劑量投與地塞米松。

【0202】 於另一實施例中，於本文中所述方法及組合物中與化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽一起使用之第二活性劑為硼替佐米。於又一實施例中，於本文中所述方法及組合物中與化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽一起使用之第二活性劑為達雷木單抗。於一些此等實施例中，該等方法另外包括投與地塞米松。於一些實施例中，該等方法包括投與化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽與如本文中所述之蛋白酶體抑制劑、如本文中所述之CD38抑制劑及如本文中所述之皮質類固醇。

【0203】 於另一實施例中，於本文中所述方法及組合物中與化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽一起使用之第二活性劑為帕比司他。於一些此等實施例中，該等方法另外包括投與地塞米松。

【0204】 於另一實施例中，於本文中所述方法及組合物中與化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽一起使用之第二活性劑為ACY241。於

一些此等實施例中，該等方法另外包括投與地塞米松。

【0205】於另一實施例中，於本文中所述方法及組合物中與化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽一起使用之第二活性劑為長春新鹼。於一些此等實施例中，該等方法另外包括投與地塞米松。

【0206】於另一實施例中，於本文中所述方法及組合物中與化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽一起使用之第二活性劑為環磷醯胺。於一些此等實施例中，該等方法另外包括投與地塞米松。

【0207】於另一實施例中，於本文中所述方法及組合物中與化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽一起使用之第二活性劑為伊托泊苷。於一些此等實施例中，該等方法另外包括投與地塞米松。

【0208】於另一實施例中，於本文中所述方法及組合物中與化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽一起使用之第二活性劑為多柔比星。於一些此等實施例中，該等方法另外包括投與地塞米松。

【0209】於另一實施例中，於本文中所述方法及組合物中與化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽一起使用之第二活性劑為維奈托克。於一些此等實施例中，該等方法另外包括投與地塞米松。

【0210】於另一實施例中，於本文中所述方法及組合物中與化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構

體、同位素體或醫藥上可接受之鹽一起使用之第二活性劑為AMG176。於一些此等實施例中，該等方法另外包括投與地塞米松。

【0211】 於另一實施例中，於本文中所述方法及組合物中與化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽一起使用之第二活性劑為MIK665。於一些此等實施例中，該等方法另外包括投與地塞米松。

【0212】 於另一實施例中，於本文中所述方法及組合物中與化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽一起使用之第二活性劑為GSK525762A。於一些此等實施例中，該等方法另外包括投與地塞米松。

【0213】 於另一實施例中，於本文中所述方法及組合物中與化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽一起使用之第二活性劑為OTX015。於一些此等實施例中，該等方法另外包括投與地塞米松。

【0214】 於另一實施例中，於本文中所述方法及組合物中與化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽一起使用之第二活性劑為4-[2-(環丙基甲氧基)-5-(甲磺醯基)苯基]-2-甲基異喹啉-1(2H)-酮。於一些此等實施例中，該等方法另外包括投與地塞米松。

【0215】 於另一實施例中，於本文中所述方法及組合物中與化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽一起使用之第二活性劑為4-[2-(4-胺基-哌啶-1-基)-5-(3-氟-4-甲氧基-苯基)-1-甲基-6-側氧基-1,6-二氫嘧啶-4-基]-

2-氟-苯甲腈或其鹽(例如，苯磺酸鹽)。於一些此等實施例中，該等方法另外包括投與地塞米松。

【0216】 於某些實施例中，化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽與檢查點抑制劑組合投與。於一實施例中，一種檢查點抑制劑與本文中所提供方法有關之化合物1或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽組合使用。於另一實施例中，兩種檢查點抑制劑與本文中所提供方法有關之化合物1或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽組合使用。於又一實施例中，三種或更多種檢查點抑制劑與本文中所提供方法有關之化合物1、化合物2或化合物3或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽組合使用。

【0217】 如本文中所用，術語「免疫檢查點抑制劑」或「檢查點抑制劑」係指全部或部分減少、抑制、干涉或調節一或多種檢查點蛋白質之分子。不受特定理論限制，檢查點蛋白質調節T-細胞活化或功能。已知許多檢查點蛋白質，諸如CTLA-4及其配體CD80及CD86；PD-1與其配體PD-L1及PD-L2 (Pardoll, *Nature Reviews Cancer*, 2012, 12, 252-264)。此等蛋白質似乎對T-細胞反應之共刺激或抑制相互作用負責。免疫檢查點蛋白質似乎調節並維持自體耐受性及生理免疫反應之持續時間及幅度。免疫檢查點抑制劑包括抗體或源自抗體。

【0218】 於一實施例中，該檢查點抑制劑為CTLA-4抑制劑。於一實施例中，該CTLA-4抑制劑為抗CTLA-4抗體。抗CTLA-4抗體之實例包括(但不限於)美國專利案第5,811,097號、第5,811,097號、第5,855,887號、第6,051,227號、第6,207,157號、第6,682,736號、第6,984,720號及

第7,605,238號中所述之彼等，其全文全部併入本文中。於一實施例中，該抗CTLA-4抗體為曲美木單抗(tremelimumab) (亦稱作替西木單抗(ticilimumab)或CP-675,206)。於另一實施例匯總，該抗CTLA-4抗體為易普利單抗(ipilimumab) (亦稱作MDX-010或MDX-101)。易普利單抗為與CTLA-4結合之全人類單株IgG抗體。易普利單抗係以商標名稱Yervoy™銷售。

【0219】 於一實施例中，該檢查點抑制劑為PD-1/PD-L1抑制劑。PD-1/PD-L1抑制劑之實例包括(但不限於)美國專利案第7,488,802號、第7,943,743號、第8,008,449號、第8,168,757號、第8,217,149號及PCT專利申請公開案WO2003042402號、WO2008156712號、WO2010089411號、WO2010036959號、WO2011066342號、WO2011159877號、WO2011082400號及WO2011161699號中所述之彼等，其全文全部併入本文中。

【0220】 於一實施例中，該檢查點抑制劑為PD-1抑制劑。於一實施例中，該PD-1抑制劑為抗PD-1抗體。於一實施例中，該抗PD-1抗體為BGB-A317、納武單抗(nivolumab) (亦稱作ONO-4538、BMS-936558或MDX1106)或派姆單抗(pembrolizumab) (亦稱作MK-3475、SCH 900475或蘭布利單抗(lambrolizumab))。於一實施例中，該抗PD-1抗體為納武單抗。納武單抗為人類IgG4抗PD-1單株抗體及以商標名稱Opdivo™銷售。於另一實施例中，該抗PD-1抗體為派姆單抗。派姆單抗人源化單株IgG4抗體及以商標名稱Keytruda™銷售。於又一實施例中，該抗PD-1抗體為CT-011 (人源化抗體)。單獨投與CT-011未能顯示治療復發之急性骨髓性白血病(AML)之反應。於又一實施例中，該抗PD-1抗體為AMP-224 (融

合蛋白)。於另一實施例中，該PD-1抗體為BGB-A317。BGB-A317為單株抗體，其中結合Fc γ 受體I之能力經特異性工程改造移除，且其具有與PD-1以高親和力及優越靶特異性之獨特結合特徵。

【0221】於一實施例中，該檢查點抑制劑為PD-L1抑制劑。於一實施例中，該PD-L1抑制劑為抗PD-L1抗體。於一實施例中，該抗PD-L1抗體為MEDI4736 (杜伐單抗(durvalumab))。於另一實施例中，該抗PD-L1抗體為BMS-936559 (亦稱作MDX-1105-01)。於又一實施例中，該PD-L1抑制劑為阿特珠單抗 (atezolizumab) (亦稱作 MPDL3280A 及 Tecentriq®)。

【0222】於一實施例中，該檢查點抑制劑為PD-L2抑制劑。於一實施例中，該PD-L2抑制劑為抗PD-L2抗體。於一實施例中，該抗PD-L2抗體為rHIgM12B7A。

【0223】於一實施例中，該檢查點抑制劑為淋巴細胞活化基因-3 (LAG-3)抑制劑。於一實施例中，該LAG-3抑制劑為IMP321 (可溶性Ig融合蛋白) (Brignone等人，*J. Immunol.*, 2007, 179, 4202-4211)。於另一實施例中，該LAG-3抑制劑為BMS-986016。

【0224】於一實施例中，該檢查點抑制劑為B7抑制劑。於一實施例中，該B7抑制劑為B7-H3抑制劑或B7-H4抑制劑。於一實施例中，該B7-H3抑制劑為MGA271(抗B7-H3抗體) (Loo等人，*Clin. Cancer Res.*, 2012, 3834)。

【0225】於一實施例中，該檢查點抑制劑為TIM3 (T-細胞免疫球蛋白域及黏蛋白域3)抑制劑(Fourcade等人，*J. Exp. Med.*, 2010, 207, 2175-86；Sakuishi等人，*J. Exp. Med.*, 2010, 207, 2187-94)。

【0226】 於一實施例中，該檢查點抑制劑為OX40 (CD134)促效劑。於一實施例中，該檢查點抑制劑為抗OX40抗體。於一實施例中，該抗OX40抗體為抗OX-40。於另一實施例中，該抗OX40抗體為MEDI6469。

【0227】 於一實施例中，該檢查點抑制劑為GITR促效劑。於一實施例中，該檢查點抑制劑為抗GITR抗體。於一實施例中，該抗GITR抗體為TRX518。

【0228】 於一實施例中，該檢查點抑制劑為CD137促效劑。於一實施例中，該檢查點抑制劑為抗CD137抗體。於一實施例中，該抗CD137抗體為烏洛單抗(urelumab)。於另一實施例中，該抗CD137抗體為PF-05082566。

【0229】 於一實施例中，該檢查點抑制劑為CD40促效劑。於一實施例中，該檢查點抑制劑為抗CD40抗體。於一實施例中，該抗CD40抗體為CF-870,893。

【0230】 於一實施例中，該檢查點抑制劑為重組人類介白素-15 (rhIL-15)。

【0231】 於一實施例中，該檢查點抑制劑為IDO抑制劑。於一實施例中，該IDO抑制劑為INCB024360。於另一實施例中，該IDO抑制劑為吲哚昔莫(indoximod)。

【0232】 於某些實施例中，本文中所提供之組合療法包括本文所述檢查點抑制劑中之兩者或多者(包括相同或不同類別之檢查點抑制劑)。此外，在適宜情況下，本文所述組合療法可與如本文中所述之一或多種第二活性劑組合使用用於治療本文中所述及此項技術中所瞭解之疾病。

【0233】 於某些實施例中，化合物1、化合物2或化合物3可與在其表面(例如，經改性之免疫細胞)表現一或多個嵌合抗原受體(CAR)之一或多個免疫細胞組合使用。一般地，CAR包含來自第一蛋白(例如，抗原結合蛋白)之胞外域、跨膜域及細胞內信號傳導域。於某些實施例中，一旦胞外域與靶蛋白(諸如腫瘤相關抗原(TAA)或腫瘤特異性抗原(TSA))結合，信號就經由細胞內信號傳導域產生，該細胞內信號傳導域激活免疫細胞(例如)以靶向並殺死表現靶蛋白之細胞。

【0234】 胞外域：CAR之胞外域與所關注抗原結合。於某些實施例中，CAR之胞外域包含與該抗原結合之受體或受體之一部分。於某些實施例中，該胞外域包含或為抗體或其抗原結合部分。於特定實施例中，該胞外域包含或為單鏈Fv (scFv)域。該單鏈Fv域可包含(例如)藉由可撓性連接子與 V_H 連接之 V_L ，其中該 V_L 及 V_H 係來自結合該抗原之抗體。

【0235】 於某些實施例中，藉由本文中所述多肽之胞外域識別之抗原為腫瘤相關抗原(TAA)或腫瘤特異性抗原(TSA)。於各種特定實施例中，該腫瘤相關抗原或腫瘤特異性抗原為(不限於) Her2、前列腺幹細胞抗原(PSCA)、 α -胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)、癌抗原-125 (CA-125)、CA19-9、鈣視網膜蛋白、MUC-1、B細胞成熟抗原(BCMA)、上皮膜蛋白(EMA)、上皮腫瘤抗原(ETA)、酪胺酸酶、黑色素瘤-24相關抗原(MAGE)、CD19、CD22、CD27、CD30、CD34、CD45、CD70、CD99、CD117、EGFRvIII (表皮生長因子變異體III)、間皮素、PAP (前列腺酸性磷酸酶)、普魯斯坦(prostein)、TARP (T細胞受體 γ 交替閱讀框架蛋白)、Trp-p8、STEAPI (前列腺1之六跨膜上皮抗原)、嗜鉻粒蛋白、細胞角蛋白、肌間線蛋白、膠質纖維酸性蛋白(GFAP)、毛囊病液體蛋白

(GCDFP-15)、HMB-45抗原、蛋白質melan-A (藉由T淋巴細胞識別之黑色素瘤抗原；MART-I)、myo-D1、肌肉特異性肌動蛋白(MSA)、神經絲、神經元特異性烯醇酶(NSE)、胎盤鹼性磷酸酶、突觸素、甲狀腺球蛋白、甲狀腺轉錄因子-1、丙酮酸鹽激酶同工酶M2型之二聚體形式(腫瘤M2-PK)、異常ras蛋白或異常p53蛋白。於某些其他實施例中，藉由CAR之胞外域識別之TAA或TSA為整合素 $\alpha v \beta 3$ (CD61)、泌乳激素或Ral-B。

【0236】 於某些實施例中，藉由CAR之胞外域識別之TAA或TSA為癌症/睪丸(CT)抗原，例如，BAGE、CAGE、CTAGE、FATE、GAGE、HCA661、HOM-TES-85、MAGEA、MAGEB、MAGEC、NA88、NY-ES0-1、NY-SAR-35、OY-TES-1、SPANXBI、SPA17、SSX、SYCPI或TPTE。

【0237】 於某些其他實施例中，藉由CAR之胞外域識別之TAA或TSA為碳水化合物或神經節苷脂，例如，fuc-GMI、GM2 (癌胚抗原-免疫原-1；OFA-I-1)、GD2 (OFA-I-2)、GM3、GD3等。

【0238】 於某些其他實施例中，藉由CAR之胞外域識別之TAA或TSA為 α -輔肌動蛋白-4、Bage-1、BCR-ABL、Bcr-Abl融合蛋白、 β -連環蛋白、CA 125、CA 15-3 (CA 27.29\BCAA)、CA 195、CA 242、CA-50、CAM43、Casp-8、cdc27、cdk4、cdkn2a、CEA、coa-1、dek-can融合蛋白、EBNA、EF2、埃-巴二氏(Epstein Barr)病毒抗原、ETV6-AML1融合蛋白、HLA-A2、HLA-A11、hsp70-2、KIAA0205、Mart2、Mum-1、2及3、neo-PAP、肌球蛋白I類、OS-9、pml-RAR α 融合蛋白、PTPRK、K-ras、N-ras、磷酸丙糖異構酶、Gage 3、4、5、6、7、GnTV、Herv-K-mel、Lage-1、NA-88、NY-Eso-1/Lage-2、SP17、SSX-

2、TRP2-Int2、gp100 (Pmel17)、酪胺酸酶、TRP-1、TRP-2、MAGE-1、MAGE-3、RAGE、GAGE-1、GAGE-2、p15(58)、RAGE、SCP-1、Hom/Mel-40、PRAME、p53、HRas、HER-2/neu、E2A-PRL、H4-RET、IGH-IGK、MYL-RAR、人乳頭狀瘤病毒(HPV)抗原E6及E7、TSP-180、MAGE-4、MAGE-5、MAGE-6、p185erbB2、p180erbB-3、c-met、nm-23H1、PSA、TAG-72-4、CA 19-9、CA 72-4、CAM 17.1、NuMa、K-ras、13-連環蛋白、Mum-1、p16、TAGE、PSMA、CT7、端粒酶、43-9F、5T4、791Tgp72、13HCG、BCA225、BTAA、CD68\KP1、C0-029、FGF-5、G250、Ga733 (EpCAM)、HTgp-175、M344、MA-50、MG7-Ag、MOV18、NB\70K、NY-C0-1、RCAS1、SDCCAG16、TA-90、TAAL6、TAG72、TLP或TPS。

【0239】於各種特定實施例中，該腫瘤相關抗原或腫瘤特異性抗原為AML-相關腫瘤抗原，如S. Anguille等人，*Leukemia* (2012), 26, 2186-2196中所述。

【0240】其他腫瘤相關聯及腫瘤特異性抗原係為此項技術者已知。

【0241】與TSA及TAA結合之可用於構築嵌合抗原受體之受體、抗體及scFvs係此項技術中已知，如為編碼其之核苷酸序列。

【0242】於某些特定實施例中，藉由嵌合抗原受體之胞外域識別之抗原為一般不認為TSA或TAA但是卻與腫瘤細胞相關或由腫瘤造成損傷之抗原。於某些實施例中，例如，抗原為(例如)生長因子、細胞活素或介白素，例如，與血管生成或血小管生成相關之生長因子、細胞活素或介白素。此等生長因子、細胞活素或介白素可包括(例如)血管內皮生長因子(VEGF)、鹼性纖維母細胞生長因子(bFGF)、血小板源性生長因子

(PDGF)、肝細胞生長因子(HGF)、類胰島素生長因子(IGF)或介白素-8 (IL-8)。腫瘤亦可創造腫瘤局部缺氧環境。因此，於其他特定實施例中，抗原為缺氧相關因子，例如，HIF-1 α 、HIF-1 β 、HIF-2 α 、HIF-2 β 、HIF-3 α 或HIF-3 β 。腫瘤亦可造成正常組織之局部損傷，造成稱作損傷相關分子模式分子(DAMP；亦稱作警報素)之分子之釋放。於某些其他特定實施例中，因此，抗原為DAMP，例如，熱休克蛋白、染色質相關蛋白高遷移率族1 (HMGB 1)、S100A8 (MRP8，鈣粒蛋白A)、S100A9 (MRP14，鈣粒蛋白B)、血清類澱粉A (SAA)或可為去氧核糖核酸、三磷酸腺苷、尿酸或硫酸肝素。

【0243】 跨膜域：於某些實施例中，CAR之胞外域藉由連接子、間隔物或鉸鏈多肽序列(例如，來自CD28之序列或來自CTLA4之序列)與多肽之跨膜域連接。跨膜域可獲自或源自任何跨膜蛋白之跨膜域，且可包括此等跨膜域之全部或一部分。於特定實施例中，跨膜域可獲自或源自(例如) CD8、CD16、細胞活素受體及介白素受體或生長因子受體或類似者。

【0244】 細胞內信號傳導域：於某些實施例中，CAR之細胞內域為或包括在T細胞表面表現且觸發該等T細胞之激活及/或增生之細胞內域或蛋白質基序。此域或基序能傳輸初級抗原結合信號，該信號必要用於激活T淋巴細胞對抗原與CAR之胞外域部分之結合作出反應。通常，此域或基序包括或為ITAM (免疫受體酪胺酸基激活基序)。適用於CAR之含ITAM之多肽包含(例如) ζ CD3鏈(CD3 ζ)或其含ITAM部分。於一特定實施例中，細胞內域為CD3 ζ 細胞內信號傳導域。於其他特定實施例中，細胞內域係來自淋巴細胞受體鏈、TCR/CD3複合體蛋白、Fc受體亞單元或IL-2

受體亞單元。於某些實施例中，CAR另外包含一或多個共刺激域或基序(例如)作為多肽之細胞內域之部分。該一或多個共刺激域或基序可為或包含下列中之一或多者：共刺激CD27多肽序列、共刺激CD28多肽序列、共刺激OX40 (CD134)多肽序列、共刺激4-1BB (CD137)多肽序列或共刺激可誘導T-細胞共刺激(ICOS)多肽序列或其他共刺激域或基序或其任何組合。

【0245】 CAR亦可包含T細胞存活基序。該T細胞存活基序可為促進T淋巴細胞於抗原刺激後之存活之任何多肽序列或基序。於某些實施例中，該T細胞存活基序為或源自CD3、CD28、IL-7受體(IL-7R)之細胞內信號傳導域、IL-12受體之細胞內信號傳導域、IL-15受體之細胞內信號傳導域、IL-21受體之細胞內信號傳導域或轉化生長因子 β (TGF β)受體之細胞內信號傳導域。

【0246】 表現CAR之經改性之免疫細胞可為(例如) T淋巴細胞(T細胞，例如，CD4+ T細胞或CD8+ T細胞)、細胞毒性淋巴細胞(CTL)或自然殺手(NK)細胞。於本文中所提供之組合物及方法中使用之T淋巴細胞可為初始T淋巴細胞或受MHC限制之T淋巴細胞。於某些實施例中，該等T淋巴細胞為腫瘤浸潤淋巴細胞(TIL)。於某些實施例中，該等T淋巴細胞已自腫瘤活組織檢查分離或已自腫瘤活組織檢查分離之T淋巴細胞擴增。於某些其他實施例中，該等T細胞已自外周血、臍帶血或淋巴分離之T淋巴細胞分離或擴增。用於產生表現CAR之經改性之免疫細胞之免疫細胞可使用此項技術所接受之常規方法(例如，血液收集，接著機采及視情況抗體介導之細胞分離或分選)分離。

【0247】 較佳地，經改性之免疫細胞對投與經改性之免疫細胞之個

體係自體的。於某些其他實施例中，經改性之免疫細胞對投與經改性之免疫細胞之個體係異基因的。在使用異基因T淋巴細胞或NK細胞製備經改性之T淋巴細胞之情況下，較佳地選擇將降低個體之移植物抗宿主疾病(GVHD)之可能性之T淋巴細胞或NK細胞。例如，於某些實施例中，選擇病毒特異性T淋巴細胞製備經改性之T淋巴細胞；將期望此等淋巴細胞具有極大降低之與任何接受者抗原結合及因此藉由任何接受者抗原激活之天生能力。於某些實施例中，接受者介導之同種異基因T淋巴細胞之排斥可藉由對宿主共同投與一或多種免疫抑制劑(例如，環孢黴素(cyclosporine)、他克莫司(tacrolimus)、西羅莫司(sirolimus)、環磷醯胺或類似者)減少。

【0248】 T淋巴細胞(例如，未經改性之T淋巴細胞或表現CD3及CD28或包括包含CD3 ζ 信號傳導域及CD28共刺激域之多肽之T淋巴細胞)可使用CD3及CD28之抗體(例如，附著於珠上之抗體)擴增；參見，例如，美國專利案第5,948,893號、第6,534,055號、第6,352,694號、第6,692,964號、第6,887,466號及第6,905,681號。

【0249】 經改性之免疫細胞(例如，經改性之T淋巴細胞)可視情況包含當需要時，能殺死實質上所有經改性之免疫細胞之「自殺基因」或「安全開關」。例如，於某些實施例中，經改性之T淋巴細胞可包含HSV胸苷激酶基因(HSV-TK)，其造成經改性之T淋巴細胞在與更昔洛韋(gancyclovir)接觸後之死亡。於另一實施例中，經改性之T淋巴細胞包含允許使用特異性小分子藥物二聚之可誘導之卡斯蛋白酶，例如，可誘導之卡斯蛋白酶9 (icaspase 9)，例如，卡斯蛋白酶9與人類FK506結合蛋白之間之融合蛋白。參見，Straathof等人，*Blood* 105(11):4247-4254

(2005)。

【0250】於某些實施例中，如本文中所提供之化合物1、化合物2或化合物3與嵌合抗原受體(CAR) T細胞組合對患有各種類型或階段之多發性骨髓瘤之患者投與。於某些實施例中，組合中之CAR T細胞靶向B細胞成熟抗原(BCMA)，及於更特定實施例中，該CAR T細胞為bb2121或bb21217。於一些實施例中，該CAR T細胞為JCARH125。

G.醫藥組合物

【0251】本文中所提供之醫藥組合物含有治療上有效量之本文中所提供之化合物中之一或多者及視情況醫藥上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。

【0252】該等化合物可經調配成適宜醫藥製劑，諸如用於口服投與之溶液、懸浮液、錠劑、可分散錠劑、丸劑、膠囊、粉末、持續釋放調配物或酏劑或用於眼或非經腸投與之無菌溶液或懸浮液以及透皮貼片製劑及乾粉末吸入劑。通常使用此項技術中熟知技術及程序將上述化合物調配成醫藥組合物(參見，例如，Ansel Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms，第七版1999)。

【0253】於該等組合物中，將有效濃度之一或多種化合物或醫藥上可接受之鹽與適宜醫藥載劑或媒劑混合。於某些實施例中，組合物中之化合物之濃度有效用於遞送當投與時治療、預防或改善多發性骨髓瘤之症狀及/或進展中之一或多者之量。

【0254】通常，調配組合物用於單一劑量投與。為調配組合物，將重量分數之化合物溶解、懸浮、分散或以其他方式以有效濃度與選定媒劑混合使得減輕或改善所治療之病狀。適用於本文中所提供之化合物之投與

之醫藥載劑或媒劑包括為熟習此項技術者已知之任何此等載劑。

【0255】 此外，化合物可作為組合物中之單獨醫藥活性成分調配或可與其他活性成分組合。脂質體懸浮液(包括靶向組織之脂質體，諸如靶向腫瘤之脂質體)亦可適用作醫藥上可接受之載劑。可根據熟習此項技術者已知方法製備此等。例如，可如此項技術中所知製備脂質體調配物。簡言之，脂質體(諸如多層囊泡(MLV's))可藉由在燒瓶內部乾燥卵磷脂醯膽鹼及腦磷脂醯絲胺酸(7:3莫耳比)形成。添加含於缺乏二價陽離子之磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)中之本文中所提供之化合物的溶液並搖晃燒瓶直至脂質膜分散。將所得囊泡洗滌以移除未經包裹之化合物，藉由離心粒化，及然後再懸浮於PBS中。

【0256】 活性化合物以足夠發揮對所治療患者之治療上有效作用而無非所需副作用之量包含於醫藥上可接受之載劑中。治療上有效濃度可藉由測試本文中所述活體外及活體內系統中之化合物及然後由此推斷用於人類之劑量經驗地確定。

【0257】 醫藥組合物中之活性化合物之濃度將取決於活性化合物之吸收、組織分佈、失活、代謝及排泄速率、化合物之物理化學特性、劑量方案及投與量以及熟習此項技術者已知之其他因素。例如，遞送之量係足以改善癌症(包括實體腫瘤及血源性腫瘤)症狀中之一或多者。

【0258】 用於非經腸、皮內、皮下或局部應用之溶液或懸浮液可包括下列組分中之任一者：無菌稀釋液，諸如注射用水、鹽水溶液、固定油、聚乙二醇、甘油、丙二醇、二甲基乙醯胺或其他合成溶劑；抗微生物劑，諸如苧醇及對羥基苯甲酸甲酯；抗氧化劑，諸如抗壞血酸及亞硫酸氫鈉；螯合劑，諸如乙二胺四乙酸(EDTA)；緩衝劑，諸如乙酸鹽、檸檬酸

鹽劑磷酸鹽；及用於調整張力之物劑，諸如氯化鈉或葡萄糖。非經腸製劑可封閉於安瓿、筆、一次性注射器或由玻璃、塑膠或其他適宜材料製備之單或多劑量小瓶中。

【0259】 於化合物展示溶解度不足之情況下，可使用增溶化合物之方法。此等方法為熟習此項技術者已知，且包括(但不限於)使用助溶劑(諸如二甲亞砜(DMSO))、使用表面活性劑(諸如TWEEN®)或溶解於水性碳酸氫鈉中。

【0260】 混合或添加化合物後，所得混合物可為溶液、懸浮液、乳液或類似者。所得混合物之形式取決於許多因素，包括期望之投與模式及化合物於選定載劑或媒劑中之溶解度。有效濃度係足以改善所治療之疾病、病症或病狀之症狀且可經驗確定。

【0261】 醫藥組合物係呈下列單位劑型提供用於對人類及動物投與：諸如含有適宜量之化合物或其醫藥上可接受之鹽之錠劑、膠囊、丸劑、粉劑、顆粒劑、無菌非經腸溶液或懸浮液及口服溶液或懸浮液及水包油乳液。醫藥上治療上活性化合物及其鹽係呈單位劑型或多劑型調配及投與。如本文中所用之單位劑型係指適用於人類及動物個體且個別地如此項技術中已知包裝之物理離散單元。各單位劑量含有足以產生所需療效之預定量之治療上活性化合物聯合所需醫藥載劑、媒劑或稀釋劑。單位劑型之實例包括安瓿及注射器及個別經包裝之錠劑或膠囊。單位元劑型可以其部分或倍數投與。多劑型為包裝於單一容器中之複數個相同單位劑型以呈分開單位劑型投與。多劑型之實例包括小瓶、錠劑或膠囊瓶或品脫或加侖瓶。因此，多劑型為包裝中不分開之多個單位劑量。

【0262】 可製備含有0.005%至100%範圍(剩餘由無毒載劑組成)之

活性成分之劑型或組合物。針對口服投與，醫藥上可接受之無毒組合物係藉由併入諸如以下之正常採用之賦形劑中之任一者形成：例如，醫藥級甘露醇、乳糖、澱粉、硬脂酸鎂、滑石、纖維素衍生物、交聯羧甲基纖維素鈉、葡萄糖、蔗糖、碳酸鎂或糖精鈉。此等組合物包括溶液、懸浮液、錠劑、膠囊、粉末及持續釋放調配物(諸如(但不限於)移植物及微膠囊遞送系統)及可生物降解生物相容性聚合物(諸如膠原蛋白、乙烯乙酸乙烯酯、聚酐、聚乙醇酸、聚原酸酯、聚乳酸等)。製備此等組合物之方法為熟習此項技術者已知。

【0263】 可利用載劑製備活性化合物或其醫藥上可接受之鹽，該等載劑保護化合物避免自身體快速消除，諸如時間釋放調配物或塗層。

【0264】 組合物可包含其他活性化合物以獲得性質之所需組合。如本文中所述，本文中所提供之化合物或其醫藥上可接受之鹽亦可與於治療上文所述疾病或醫學病狀中之一或多者(諸如與氧化應激有關之疾病)中有價值之一般技術中已知的另一種藥理劑一起有利投與用於治療或預防目的。應瞭解此組合療法構成本文中所提供之組合物及治療方法之另一態樣。

H·評估化合物之活性及性質

【0265】 標準生理、藥理及生物化學程序可用於測試化合物以識別具有所需性質之彼等，該等性質包括抗多發性骨髓瘤增生活性及適當安全特性。此等檢定包括(例如)生物化學檢定，諸如結合檢定、放射性併入檢定以及各種基於細胞之檢定。

【0266】 異吡啶酮衍生物及其治療用途已述於(例如)美國專利案第8,518,972號中。出人意料地，化合物1、化合物2及化合物3展示意想不

到且有益性質，如實例部分中所示。此等有益性質包括顯著增加之抗多發性骨髓瘤效力、增加之細胞凋亡程度及與地塞米松更強效且有效組合反應及出人意料改善之安全特性，如由 $\alpha 1$ 腎上腺素能及D2多巴胺受體(活體外以及活體內)之降低之功能活性、改善之細胞殺死選擇性(如由減少之非骨髓瘤細胞殺死所示)及降低之CYP3A4抑制所示。

【0267】 應瞭解上述詳細描述及隨附實例僅係說明性，且不應認為限制本標的之範圍。對所揭示實施例之各種改變及修改對熟習此項技術者將顯而易見。可作出此等改變及修改(包括(不限於)與本文中所提供之化學結構、取代基、衍生物、中間體、合成、調配物及/或使用方法有關之彼等)而不背離其精神及範圍。本文中參考之美國專利案及公開案以引用的方式併入。

6.實例

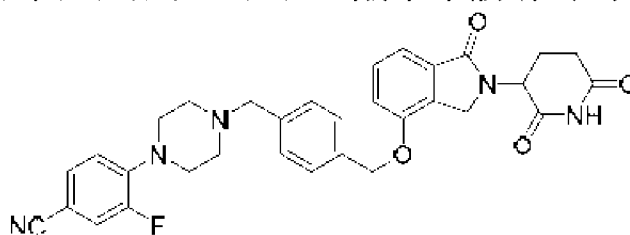
【0268】 藉由下列非限制性實例說明本發明之某些實施例。

縮略語：

AcN/ACN	乙腈
AIBN	偶氮二異丁腈
Boc	第三丁氧羰基
Boc ₂ O	二碳酸二第三丁酯
tBuOK	第三丁醇鉀
DIEA	二異丙基乙胺
DMF	N,N'-二甲基甲醯胺
DMSO	二甲亞砜
EtOAc	乙酸乙酯

IPA	異丙醇或2-丙醇
MeOH	甲醇
MM	多發性骨髓瘤
NBS	N-溴琥珀醯亞胺
NMR	核磁共振
PBMC	人類外周血單核細胞
i-PrOAc	乙酸異丙酯
TBS	第三丁基二甲基甲矽烷基
TBSCl	第三丁基二甲基甲矽烷基氯
THF	四氫呋喃
TLC	薄層層析法
TMSCl	三甲基甲矽烷基氯

實例1：合成4-(4-(4-(((2-(2,6-二側氧基哌啶-3-基)-1-側氧基異吡啶啉-4-基)氧基)甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈(化合物1)。



【0269】 2-胺基-5-甲氧基-5-側氧基戊酸。在氮氣下，向含於無水甲醇(2.5 L)中之2-胺基戊二酸(250 g，1.70 mol)之懸浮液中歷時30分鐘添加三甲基甲矽烷基氯(277 g，2.55 mol)。將所得澄清溶液在室溫(20℃)下攪拌30分鐘。¹H NMR顯示起始物質完全消耗。將反應混合物用於下一步驟而無需進一步處理。¹H NMR：400 MHz CD₃OD δ：4.17-4.15 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 2.70-2.60 (m, 2H), 2.33-2.25 (m, 2H)。

【0270】 **2-((第三丁氧羰基)胺基)-5-甲氧基-5-側氧基戊酸**。向以上溶液中添加三乙胺(275 g, 2.72 mol)及二碳酸二第三丁酯(447.35 g, 2.05 mol)。將反應混合物在25℃下攪拌2小時。將溶液濃縮至乾，然後添加水(2.5 L)以將殘餘物溶解。將所得水溶液用乙酸乙酯(200 mL)洗滌，然後藉由HCl (1N)酸化至pH = 3並用乙酸乙酯(1 L × 3)萃取。將合併之有機層用鹽水(800 mL)洗滌，經硫酸鈉乾燥，過濾及濃縮，以得到呈白色固體之2-(第三丁氧羰基胺基)-5-甲氧基-5-側氧基-戊酸(250 g 56%產率，兩個步驟)。¹H NMR : 400 MHz CD₃OD δ : 4.18-4.11 (m, 1H), 3.69 (s, 3H), 2.48-2.43 (m, 2H), 2.21-2.15 (m, 1H), 1.95-1.91 (m, 1H), 1.46 (s, 9H)。

【0271】 **5-胺基-4-(第三丁氧羰基胺基)-5-側氧基-戊酸甲酯**。向含於1,4-二噁烷(1.5 L)中之2-(第三丁氧羰基胺基)-5-甲氧基-5-側氧基-戊酸(200 g, 765 mmol)之溶液中添加二碳酸二第三丁酯(267 g, 1.22 mol)及吡啶(121 g, 1.53 mol)。將反應混合物在25℃下攪拌30分鐘後，向混合物中添加碳酸銨(182 g, 2.30 mol)並在25℃下再攪拌16小時。藉由旋轉蒸發移除有機溶劑，將殘餘物藉由HCl (6M)酸化至pH = 3及然後用乙酸乙酯(800 mL × 3)萃取。將合併之有機相用鹽水(800 mL)洗滌，經硫酸鈉乾燥及過濾。在減壓下移除揮發性有機物，以得到呈白色固體之5-胺基-4-(第三丁氧羰基胺基)-5-側氧基-戊酸甲酯(180 g, 90 %產率)。¹H NMR : 400 MHz CDCl₃ δ : 6.51 (s, 1H), 5.94 (s, 1H), 5.43 (s, 1H), 4.21 (s, 1H), 3.63 (s, 3H), 2.59-2.40 (m, 2H), 2.15-2.11 (m, 1H), 1.94-1.90 (m, 1H), 1.42 (s, 9H)。

【0272】 **4,5-二胺基-5-側氧基-戊酸甲酯鹽酸鹽**。將5-胺基-4-(第三丁氧羰基胺基)-5-側氧基-戊酸甲酯(180 g, 692 mmol)與HCl/乙酸乙酯

(300 mL, 4 M)之混合物在25℃下攪拌12小時。藉由真空過濾收集沉澱之固體並用乙酸乙酯(500 mL)洗滌,以得到呈白色固體之4,5-二胺基-5-側氧基-戊酸甲酯鹽酸鹽(130 g, 95 %產率)。¹H NMR: 400 MHz CD₃OD δ: 4.00-3.96 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 2.59-2.52 (m, 2H), 2.22-2.13 (m, 2H)。

【0273】 **3-羥基-2-甲基-苯甲酸甲酯**。平行運行四個批次(各200 g)。向含於甲醇(4.0 L)中之3-羥基-2-甲基-苯甲酸(200 g, 1.31 mol)之溶液中添加濃硫酸(47.7 g, 486 mmol)。將反應混合物在60℃下攪拌17小時並濃縮至800 mL。將所得混合物冷卻至20℃並歷時30分鐘緩慢倒入水(400 mL)中。在20℃下歷時3小時添加水(1200 mL)及將所得混合物在20℃下攪拌1小時。藉由真空過濾收集沉澱之固體(合併四個批次)及用水/甲醇(1000 mL, 9:1)洗滌三次或直至濾液具有pH > 3。在真空下,在45℃下,將固體乾燥以得到呈灰色固體之3-羥基-2-甲基-苯甲酸甲酯(700 g, 80.4%產率)。¹H NMR: 400 MHz DMSO-*d*₆ δ: 9.70 (s, 1H), 7.18 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.09 (t, *J* = 7.6Hz, 1H), 7.00 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 2.29 (s, 3H)。

【0274】 **3-[第三丁基(二甲基)甲矽烷基]氧基-2-甲基-苯甲酸甲酯**。平行運行兩個批次(各240 g)。在5℃下,向含於DMF (1.40 L)中之3-羥基-2-甲基-苯甲酸甲酯(240 g, 1.44 mol)之溶液中添加咪唑(246 g, 3.61 mol)及第三丁基二甲基甲矽烷基氯(238 g, 1.58 mol)。於添加後,將混合物升溫至20℃並攪拌6小時。添加乙酸異丙酯(1700 mL),及然後緩慢添加水(2000 mL)同時保持溫度在30℃以下。將所得混合物攪拌及分離有機相。將合併之有機相(合併兩個批次)用水(1700 mL x 3)洗滌並濃縮至約1500 mL (KF<0.05%)。將產物作為乙酸異丙酯溶液儲存,將其用於下一

步驟而無需進一步純化。

【0275】 2-(溴甲基)-3-[第三丁基(二甲基)甲矽烷基]氧基-苯甲酸甲酯。平行運行兩個批次(各約375 g)。向3-[第三丁基(二甲基)甲矽烷基]氧基-2-甲基-苯甲酸甲酯(約375 g, 1.34 mol)之乙酸異丙酯溶液中添加N-溴琥珀醯亞胺(274 g, 1.54 mol)及偶氮二異丁腈(4.40 g, 26.8 mmol)。將反應混合物歷時至少1小時加熱至70℃並在70℃下攪拌4小時。將反應混合物冷卻至20℃並保持在20℃持續至少1小時。藉由過濾移除兩個批次固體(琥珀醯亞胺)並用乙酸異丙酯(700 mL)洗滌。將濾液用含於水(6000 mL)中之亞硫酸鈉(700 g)之溶液洗滌, 接著用水(1500 mL)洗滌。在真空下, 在45℃下, 將有機層蒸餾至乾, 以得到呈深橙色油之2-(溴甲基)-3-[第三丁基(二甲基)甲矽烷基]氧基-苯甲酸甲酯(920 g, 95.5%產率)。¹H NMR: 400 MHz DMSO-*d*₆ δ: 7.45 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.36 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.13 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 4.95 (s, 2H), 1.02 (s, 9H), 0.29 (s, 6H)。

【0276】 5-胺基-4-[4-[第三丁基(二甲基)甲矽烷基]氧基-1-側氧基-異吲哚啉-2-基]-5-側氧基-戊酸甲酯。向攪拌過之含於乙腈(2.50 L)中之4,5-二胺基-5-側氧基-戊酸甲酯鹽酸鹽(74.5 g, 379 mmol)之溶液中添加2-(溴甲基)-3-[第三丁基(二甲基)甲矽烷基]氧基-苯甲酸甲酯(125 g, 348 mmol)。通過添加漏斗歷時10分鐘向懸浮液中添加二異丙基乙胺(89.9 g, 696 mmol)及然後將混合物在60℃下攪拌16小時。將反應混合物用乙酸乙酯(1.0 L)稀釋, 依次用HCl (1N, 1.0 L)、碳酸氫鈉(飽和1.0 L)及鹽水(1.0 L)洗滌。將有機層濃縮以得到呈淺黃色固體之粗製5-胺基-4-[4-[第三丁基(二甲基)甲矽烷基]氧基-1-側氧基-異吲哚啉-2-基]-5-側氧基-戊酸甲

酯(108 g，粗製物)。LCMS： m/z 407.3 $[M+1]^+$ 。

【0277】 **5-胺基-4-(4-羥基-1-側氧基-異吡啶啉-2-基)-5-側氧基-戊酸甲酯**。向攪拌過之冷含於N,N-二甲基甲醯胺(350 mL)中之5-胺基-4-[4-[第三丁基(二甲基)甲矽烷基]氧基-1-側氧基-異吡啶啉-2-基]-5-側氧基-戊酸甲酯(108 g，266 mmol)之溶液中歷時5分鐘分部分添加含於水(40 mL)中之碳酸鉀(14.7 g，106 mmol)。將所得反應混合物在15℃下攪拌15小時。將反應混合物於冰浴中冷卻及在0至5℃下緩慢添加HCl (12M，15 mL)。將乙腈(200 mL)添加至混合物中及沉澱形成。將懸浮液在室溫下攪拌10分鐘並過濾。將濾餅用乙酸乙酯(200 mL x 5)洗滌以得到產物(55 g)。將濾液在高真空下濃縮以得到粗製產物(100 g)，將其溶解於二氯甲烷(1.0 L)中並允許在15℃下靜置16小時。白色固體形成，將該白色固體過濾以得到5 g產物。合併固體以得到呈白色固體之5-胺基-4-(4-羥基-1-側氧基-異吡啶啉-2-基)-5-側氧基-戊酸甲酯(60 g，77 %產率)。 ^1H NMR：400 MHz DMSO- d_6 δ ：7.58 (s, 1H), 7.31 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.19-7.14 (m, 2H), 7.01 (d, J = 7.6Hz, 1H), 4.75-4.71 (m, 1H), 4.50 (d, J = 17.6Hz, 1H), 4.32 (d, J = 17.6Hz, 1H), 3.51 (s, 3H), 2.29-2.18 (m, 3H), 2.09-1.99 (m, 1H)。

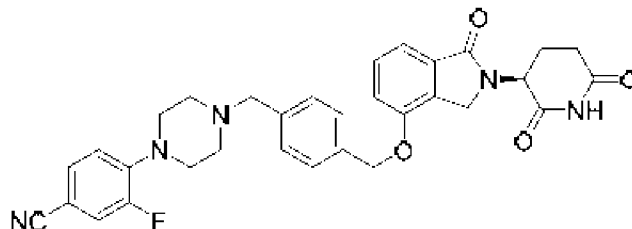
【0278】 **5-胺基-4-[4-[[4-(溴甲基)苯基]甲氧基]-1-側氧基-異吡啶啉-2-基]-5-側氧基-戊酸甲酯**。平行運行兩個反應(25 g，85.5 mmol)。將含於乙腈(1 L)中之1,4-雙(溴甲基)苯(67.7g，257 mmol)、碳酸鉀(11.8 g，85.5 mmol)及5-胺基-4-(4-羥基-1-側氧基-異吡啶啉-2-基)-5-側氧基-戊酸甲酯(25 g，85.5 mmol)之混合物在60℃下攪拌16小時。合併兩個批次及將混合物冷卻至15℃並過濾。將濾液濃縮及將殘餘物藉由矽膠管柱層析法

(藉由50%石油醚/乙酸乙酯至100%乙酸乙酯溶離)純化，以得到呈白色固體之5-胺基-4-[4-[[4-(溴甲基)苯基]甲氧基]-1-側氧基-異吡啶啉-2-基]-5-側氧基-戊酸甲酯(52 g，63%產率)。¹H NMR：400 MHz DMSO-*d*₆ δ：7.59 (s, 1H), 7.50-7.44 (m, 5H), 7.32-7.28 (m, 2H), 7.19 (s, 1H), 5.26 (s, 2H), 4.79-4.71 (m, 3H), 4.55 (d, *J* = 17.6Hz, 1H), 4.43 (d, *J* = 17.6Hz, 1H), 3.52 (s, 3H), 2.30-2.19 (m, 3H), 2.10-2.08 (m, 1H)。

【0279】 3-[4-[[4-(溴甲基)苯基]甲氧基]-1-側氧基-異吡啶啉-2-基]吡啶-2,6-二酮。平行運行兩個反應(28.5 g，60.0 mmol)。將5-胺基-4-[4-[[4-(溴甲基)苯基]甲氧基]-1-側氧基-異吡啶啉-2-基]-5-側氧基-戊酸甲酯(28.5 g，60.0 mmol)溶解於四氫呋喃(720 mL)中及將溶液於乾冰/丙酮浴中冷卻至-70℃。在攪拌的同時，將第三丁醇鉀(7.4 g，66.0 mmol)以一份式添加至澄清溶液中。反應混合物變成淺黃色及在-70℃下繼續再攪拌2小時。將冷卻之HCl溶液(1N，260 mL)快速轉移至反應混合物中，同時維持溫度在-70℃。混合物立即變成乳白色及移除乾冰/丙酮浴。將混合物濃縮以移除大部分四氫呋喃。在濃縮反應混合物時，白色固體沉澱。將白色漿液用水(500 mL)稀釋及然後過濾。將濾餅用水(500 mL)洗滌及於真空烘箱中在40℃下乾燥12小時，然後用乙酸乙酯(500 mL)洗滌。合併批次以得到呈淺黃色固體之3-[4-[[4-(溴甲基)苯基]甲氧基]-1-側氧基-異吡啶啉-2-基]吡啶-2,6-二酮(49.85 g，93 %)。¹H NMR：400 MHz DMSO-*d*₆ δ：10.95 (s, 1H), 7.51-7.41 (m., 5H), 7.35-7.28 (m, 2H), 5.23 (s, 2H), 5.12-5.07 (m, 1H), 4.70 (s, 2H), 4.41 (d, *J* = 17.6Hz, 1H), 4.25 (d, *J* = 17.6Hz, 1H), 2.90-2.84 (m, 1H), 2.58-2.53 (m, 1H), 2.44-2.41 (m, 1H), 1.98-1.95 (m, 1H)。

【0280】 4-(4-(4-(((2-(2,6-二側氧基哌啶-3-基)-1-側氧基異吡啶啉-4-基)氧基)甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈。將3-(4-((4-(溴甲基)苄基)氧基)-1-側氧基異吡啶啉-2-基)哌啶-2,6-二酮(5.0 g, 11.28 mmol)置於含有3-氟-4-(哌嗪-1-基)苯甲腈(2.315 g, 11.28 mmol)、二異丙基乙胺(5.91 ml, 33.8 mmol)及乙腈(100 ml)之燒瓶中。將反應混合物在40℃下攪拌18小時。在減壓下移除揮發性有機物及藉由標準方法純化，得到4-(4-(4-(((2-(2,6-二側氧基哌啶-3-基)-1-側氧基異吡啶啉-4-基)氧基)甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10.97 (s, 1H), 7.68 (dd, J=1.96, 13.45 Hz, 1H), 7.56 (dd, J=1.77, 8.38 Hz, 1H), 7.43-7.52 (m, 3H), 7.30-7.38 (m, 4H), 7.11 (t, J=8.80 Hz, 1H), 5.24 (s, 2H), 5.11 (dd, J=5.14, 13.33 Hz, 1H), 4.37-4.46 (m, 1H), 4.22-4.30 (m, 1H), 3.54 (s, 2H), 3.12-3.23 (m, 4H), 2.84-2.98 (m, 1H), 2.52-2.62 (m, 5H), 2.36-2.48 (m, 1H), 1.92-2.04 (m, 1H)。MS (ESI) *m/z* 568.2 [M+1]⁺。C₃₂H₃₀FN₅O₄之分析計算值：C, 67.71; H, 5.33; N, 12.34。實測值：C, 67.50; H, 5.44; N 12.34。

實例2：合成(S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-二側氧基哌啶-3-基)-1-側氧基異吡啶啉-4-基)氧基)甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈(化合物2)



【0281】 (4S)-5-胺基-4-(苄氧羰基胺基)-5-側氧基-戊酸第三丁酯。向含於1,4-二噁烷(1.50 L)中之(2S)-2-(苄氧羰基胺基)-5-第三丁氧基-5-側氧基-戊酸(150 g, 445 mmol)之溶液中添加二碳酸二第三丁酯(155 g,

711 mmol)、吡啶(70.3 g, 889 mmol)及碳酸氫銨(105 g, 1.33 mol)。將反應混合物在18℃下攪拌16小時及然後濃縮。將殘餘物溶解於乙酸乙酯(5.0 L)及水(5.0 L)中, 將有機層分離並用HCl (3.0 mL, 1N)、飽和碳酸氫鈉(3.0 L)、鹽水(3.0 L)洗滌, 經無水硫酸鈉乾燥, 過濾及濃縮以得到呈白色固體之粗製(4S)-5-胺基-4-(苄氧羰基胺基)-5-側氧基-戊酸第三丁酯(450 g, 粗製物), 將其用於下一步驟而無需進一步純化。¹H NMR 400 MHz DMSO-*d*₆ δ: 7.35-7.30 (m, 5H), 7.02 (s, 1H), 5.01 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 3.93-3.90 (m, 1H), 2.20 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 1.88-1.84 (m, 1H), 1.72-1.69 (m, 1H), 1.35 (s, 9H)。

【0282】 (4S)-4,5-二胺基-5-側氧基-戊酸第三丁酯。在氬氣下, 向含於甲醇(1.0 L)中之(4S)-5-胺基-4-(苄氧羰基胺基)-5-側氧基-戊酸第三丁酯(112 g, 333 mmol)之溶液中添加10%碳載鈀(15 g)。將懸浮液在真空下脫氣及用氬氣沖洗若干次。在氬氣(40 psi)下, 在30℃下, 將混合物攪拌16小時。將反應混合物過濾及將濾液濃縮以得到呈無色油之粗製(4S)-4,5-二胺基-5-側氧基-戊酸第三丁酯。¹H NMR 400 MHz DMSO-*d*₆ δ: 7.30 (s, 1H), 6.95 (s, 1H), 3.10-3.07 (m, 1H), 2.27-2.23 (m, 2H), 1.69-1.78 (m, 1H), 1.59-1.55 (m, 1H), 1.38 (s, 9H)。

【0283】 3-羥基-2-甲基-苯甲酸甲酯。平行運行四個批次(各200 g)。向含於甲醇(4.0 L)中之3-羥基-2-甲基-苯甲酸(200 g, 1.31 mol)之溶液中添加濃硫酸(47.7 g, 486 mmol)。將反應混合物在60℃下攪拌17小時。將反應混合物濃縮至800 mL。將所得混合物冷卻至20℃及歷時30分鐘緩慢倒入水(400 mL)中。在20℃下歷時3小時添加水(1200 mL)及將所得混合物在20℃下攪拌1小時。藉由真空過濾收集沉澱之固體(合併四個批

次)及用水/甲醇(1000 mL, 9:1)洗滌三次或直至濾液具有 $\text{pH} > 3$ 。在真空下, 在 45°C 下, 將固體乾燥以得到呈灰色固體之3-羥基-2-甲基-苯甲酸甲酯(700 g, 80.4%產率)。 ^1H NMR: 400 MHz $\text{DMSO}-d_6$ δ : 9.70 (s, 1H), 7.18 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H), 7.09 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.00 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 2.29 (s, 3H)。

【0284】 3-[第三丁基(二甲基)甲矽烷基]氧基-2-甲基-苯甲酸甲酯。

平行運行兩個批次(各240 g)。在 5°C 下, 向含於N,N-二甲基甲醯胺(1.40 L)中之3-羥基-2-甲基-苯甲酸甲酯(240 g, 1.44 mol)之溶液中添加咪唑(246 g, 3.61 mol)及第三丁基二甲基甲矽烷基氯(238 g, 1.58 mol)。於添加後, 將混合物升溫至 20°C 並攪拌6小時。添加乙酸異丙酯(1700 mL), 及然後緩慢添加水(2000 mL)同時保持溫度在 30°C 以下。將所得混合物攪拌接著分離有機相。將合併之有機物(合併兩個批次)用水(1700 mL x 3)洗滌並濃縮至約1500 mL ($\text{KF} < 0.05\%$)。將產物作為乙酸異丙酯溶液儲存, 將其用於下一步驟而無需進一步純化。

【0285】 2-(溴甲基)-3-[第三丁基(二甲基)甲矽烷基]氧基-苯甲酸甲酯。平行運行兩個批次(各約375 g)。向3-[第三丁基(二甲基)甲矽烷基]氧基-2-甲基-苯甲酸甲酯(約375 g, 1.34 mol)之乙酸異丙酯溶液中添加N-溴琥珀醯亞胺(274 g, 1.54 mol)及偶氮二異丁腈(4.40 g, 26.8 mmol)。將反應混合物歷時至少1小時加熱至 70°C 並在 70°C 下攪拌4小時。將反應混合物冷卻至 20°C 並保持在 20°C 持續至少1小時。藉由過濾移除兩個批次固體(琥珀醯亞胺)並用乙酸異丙酯(700 mL)洗滌。將濾液用含於水(6000 mL)中之亞硫酸鈉(700 g)之溶液洗滌, 接著用水(1500 mL)洗滌。在真空下, 在 45°C 下, 將有機層蒸餾至乾, 以得到呈深橙色油之2-(溴甲基)-3-

[第三丁基(二甲基)甲矽烷基]氧基-苯甲酸甲酯(920 g, 95.5%產率)。¹H NMR: 400 MHz DMSO-*d*₆ δ: 7.45 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.36 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.13 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 4.95 (s, 2H), 1.02 (s, 9H), 0.29 (s, 6H)。

【0286】 (4S)-5-胺基-4-[4-[第三丁基(二甲基)甲矽烷基]氧基-1-側氧基-異吡啶啉-2-基]-5-側氧基-戊酸第三丁酯。向含於乙腈(4.0 L)中之(4S)-4,5-二胺基-5-側氧基-戊酸第三丁酯(130 g, 643 mmol)之溶液中添加2-(溴甲基)-3-[第三丁基(二甲基)甲矽烷基]氧基-苯甲酸甲酯(210 g, 584 mmol)及二異丙基乙胺(113 g, 877 mmol)。將反應混合物在50℃下攪拌16小時。將反應混合物濃縮以移除大部分乙腈，將殘餘物溶解於甲基第三丁基醚(2.0 L)及水(1.5 L)中，將有機層用飽和磷酸二氫鉀(1.0 L x 2)、鹽水(1.0 L)洗滌，經無水硫酸鈉乾燥，過濾及濃縮以得到粗製(4S)-5-胺基-4-[4-[第三丁基(二甲基)甲矽烷基]氧基-1-側氧基-異吡啶啉-2-基]-5-側氧基-戊酸第三丁酯(524 g)，將其用於下一步驟而無需進一步純化。

【0287】 (4S)-5-胺基-4-(4-羥基-1-側氧基-異吡啶啉-2-基)-5-側氧基-戊酸第三丁酯。向含於甲醇(2.0 L)中之(4S)-5-胺基-4-[4-[第三丁基(二甲基)甲矽烷基]氧基-1-側氧基-異吡啶啉-2-基]-5-側氧基-戊酸第三丁酯(275 g, 613 mmol)之溶液中添加四丁基氟化銨三水合物(38.7 g, 123 mmol)。將混合物在18℃下攪拌16小時。將反應混合物濃縮以移除大部分甲醇，將殘餘物溶解於二氯甲烷/水(3 L/2 L)中，將有機層分離並用鹽水(1.0 L)洗滌，經無水硫酸鈉乾燥，過濾及濃縮以得到粗製產物，將其藉由矽膠管柱純化以得到產物(260 g)。將產物添加至乙腈(750 mL)中及將混合物在60℃下攪拌2小時，冷卻至18℃及再攪拌2小時。將固體過濾及將濾餅乾

燥以得到呈灰色固體之(4S)-5-胺基-4-(4-羥基-1-側氧基-異吡啶啉-2-基)-5-側氧基-戊酸第三丁酯(248 g, 60.5%產率)。¹H NMR 400 MHz DMSO-*d*₆ δ: 10.00 (s, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.29 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.14 (d, *J* = 4.8 Hz, 2H), 4.72-4.68 (m, 1H), 4.49-4.28 (m, 2H), 2.17-1.97 (m, 4H), 1.31 (s, 9H)。

【0288】 4-(4-(4-(氯甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈。將1,4-雙(氯甲基)苯(51.2 g, 292 mmol)置於含有乙腈(195 mL)及N,N-二甲基甲醯胺(195 mL)之燒瓶中。將反應混合物在環境溫度下攪拌直至所有固體溶解。然後添加二異丙胺(51.1 mL, 292 mmol)與3-氟-4-(哌嗪-1-基)苯甲腈(20 g, 97 mmol)。將反應加熱至60°C持續1小時。在減壓下移除乙腈。將剩餘混合物分配在乙酸乙酯(1.0 L)、水(700 mL)與鹽水(300 mL)之間。分離有機層及將水層用乙酸乙酯萃取兩次。合併揮發性有機物及在減壓下移除。將固體溶解於最少二氯甲烷中及在矽膠管柱(0至100%乙酸乙酯/己烷, 歷經3 L)上純化。合併含有所需產物之溶離份及將揮發性有機物在減壓下移除。將殘餘物溶解於最少二氯甲烷中及在矽膠管柱(10%等濃度乙酸乙酯/己烷, 歷經800 mL, 接著20至80%乙酸乙酯/己烷, 歷經4 L)上第二次純化。合併含有所需產物之溶離份及將揮發性有機物在減壓下移除以得到呈灰白色固體之4-(4-(4-(氯甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈(22.7 g, 66.0 mmol, 67.7 %產率)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.33 - 7.39 (m, 5 H) 7.29 (d, *J*=1.96 Hz, 1 H) 7.25 (d, *J*=1.96 Hz, 1 H) 6.91 (t, *J*=8.56 Hz, 1 H) 4.60 (s, 2 H) 3.58 (s, 2 H) 3.19 - 3.27 (m, 4 H) 2.58 - 2.66 (m, 4 H)。MS (ESI) *m/z* 344.2 [M+1]⁺。

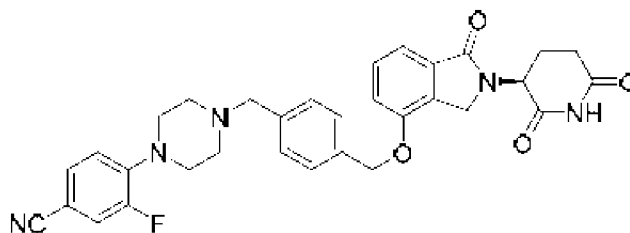
【0289】 (S)-5-胺基-4-(4-((4-((4-(4-氟基-2-氟苯基)哌嗪-1-基)甲

基)苄基)氧基)-1-側氧基異吡啶啉-2-基)-5-側氧基戊酸第三丁酯。將(S)-5-胺基-4-(4-羥基-1-側氧基異吡啶啉-2-基)-5-側氧基戊酸第三丁酯(22.05 g, 65.9 mmol)置於含有4-(4-(4-(氯甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈(22.67 g, 65.9 mmol)、碳酸鉀(18.23 g, 132 mmol)及N,N-二甲基甲醯胺(330 mL)之燒瓶中。將反應混合物加熱至45℃持續16小時。將反應用乙酸乙酯(50 mL)稀釋並過濾。將濾液分配在乙酸乙酯(900 mL)及水(600 mL)及鹽水(200 mL)。單離有機層並用水(600 mL)洗滌。將有機層經硫酸鈉乾燥，及在減壓下移除揮發物。將殘餘物用20%乙酸乙酯/己烷處理及在減壓下移除揮發物以得到呈灰白色固體之(S)-5-胺基-4-(4-((4-((4-(4-氰基-2-氟苯基)哌嗪-1-基)甲基)苄基)氧基)-1-側氧基異吡啶啉-2-基)-5-側氧基戊酸第三丁酯(44.02 g, 68.6 mmol, 104 %產率)。產量稍微超過定量，因為一些DMF殘留。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.43 - 7.49 (m, 2 H) 7.40 (s, 4 H) 7.36 (dd, *J*=8.38, 1.28 Hz, 1 H) 7.29 (d, *J*=1.96 Hz, 1 H) 7.26 (d, *J*=1.83 Hz, 1 H) 7.11 (dd, *J*=7.64, 1.16 Hz, 1 H) 6.92 (t, *J*=8.50 Hz, 1 H) 6.23 (br s, 1 H) 5.24 - 5.32 (m, 1 H) 5.15 (s, 2 H) 4.86 - 4.94 (m, 1 H) 4.38 - 4.55 (m, 2 H) 3.61 (s, 2 H) 3.18 - 3.32 (m, 4 H) 2.58 - 2.70 (m, 4 H) 2.09 - 2.47 (m, 4 H) 1.43 (s, 8 H)。MS (ESI) *m/z* 642.4 [M+1]⁺。

【0290】 (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-二側氧基哌啶-3-基)-1-側氧基異吡啶啉-4-基)氧基)甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈。將(S)-5-胺基-4-(4-((4-((4-(4-氰基-2-氟苯基)哌嗪-1-基)甲基)苄基)氧基)-1-側氧基異吡啶啉-2-基)-5-側氧基戊酸第三丁酯(12.1 g, 18.86 mmol)置於含有乙腈(189 mL)及苯磺酸(3.96 g, 24.51 mmol)之小瓶中。將反應混合物置於真空下及用

氮氣沖洗。再次重複此過程及然後在氮氣氛圍下將混合物加熱至85℃過夜。將溫的反應混合物直接倒入2個含有二氯甲烷(1000 mL)及乙酸乙酯(300 mL)之分液漏斗中。向此混合物中添加碳酸氫鈉飽和溶液(900 mL)、水(100 mL)及鹽水(450 mL)。單離有機層及用二氯甲烷(800 mL)及乙酸乙酯(200 mL)萃取水層。將合併之有機層經無水硫酸鎂乾燥及濃縮。藉由標準方法純化，得到標題化合物。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 10.96 (s, 1 H) 7.68 (dd, *J*=13.45, 1.83 Hz, 1 H) 7.56 (dd, *J*=8.44, 1.83 Hz, 1 H) 7.43 - 7.52 (m, 3 H) 7.29 - 7.39 (m, 4 H) 7.11 (t, *J*=8.80 Hz, 1 H) 5.24 (s, 2 H) 5.11 (dd, *J*=13.20, 5.14 Hz, 1 H) 4.22 - 4.46 (m, 2 H) 3.54 (s, 2 H) 3.12 - 3.22 (m, 4 H) 2.85 - 2.97 (m, 1 H) 2.53 - 2.62 (m, 2 H) 2.38 - 2.48 (m, 2 H) 1.93 - 2.03 (m, 1 H)。MS (ESI) *m/z* 568.2 [M+1]⁺。

實例3：合成(S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-二側氧基哌啶-3-基)-1-側氧基異吲哚啉-4-基)氧基)甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈(化合物2)



【0291】 4-(4-(4-(氯甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈鹽酸鹽。在25℃下，向含於甲苯(1400 mL)中之3-氟-4-(哌嗪-1-基)苯甲腈(100 g)之溶液中加入乙酸(28 mL)及將反應混合物保持30分鐘。在25℃下，加入4-(氯甲基)苯甲醛(79 g)及將混合物保持2小時。在25℃下，每30分鐘加入三乙醯氧基硼氫化鈉(各52 g)三次。將混合物在25℃下攪拌約10小時。歷時1小時加入水(600 mL)，同時維持批次溫度在30℃以下。將大部分下層分

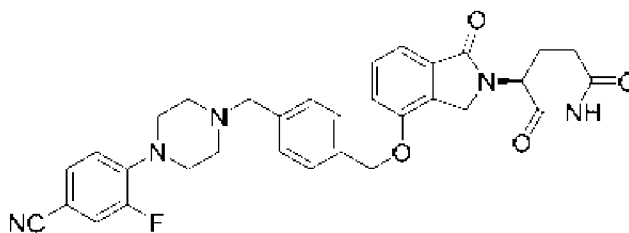
離。將混合物過濾及將下層分離。將有機層用水(200 mL)洗滌。向有機層中加入IPA (75 mL)、5至6N HCl之IPA溶液(8 ml)，然後加入含於甲苯(20 ml)中之4-(4-(4-(氯甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈鹽酸鹽晶種(2 g)之漿液。在25℃下，歷時2小時向混合物中加入含5至6 N HCl之IPA (115 ml)。將混合物保持約10小時，然後過濾以得到粗製固體。將固體用甲苯(400 mL)洗滌，及於真空烘箱中乾燥以得到呈淺黃色固體之4-(4-(4-(氯甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈鹽酸鹽(152 g，82%產率)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 11.82 (s, 1H), 7.50-7.79 (m, 6H), 7.18-7.24 (m, 1H), 4.80 (s, 2H), 4.38-4.39 (m, 2H), 3.44-3.70 (m, 2H), 3.14-3.44 (m, 6H)。

【0292】 (S)-5-胺基-4-(4-((4-((4-(4-氟基-2-氟苯基)哌嗪-1-基)甲基)苄基)氧基)-1-側氧基異吡啶啉-2-基)-5-側氧基戊酸第三丁酯酒石酸鹽。在35℃下，向含於DMF (600 mL)中之4-(4-(4-(氯甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈鹽酸鹽(100 g)及(S)-5-胺基-4-(4-羥基-1-側氧基異吡啶啉-2-基)-5-側氧基戊酸第三丁酯(97 g)之混合物中加入碳酸鉀(K₂CO₃) (75 g)及將反應混合物保持24小時。向混合物中加入三乙胺(11 mL)及將混合物在45℃下攪拌約2小時。向混合物中加入EtOAc (1 L)及碳酸鉀水溶液(5%，500 mL)。將有機層用氯化鈉水溶液(5%，500 mL)洗滌。向混合物中加入Ecosorb C948 E-pak (30 g)及將混合物保持2小時。將混合物過濾。在45℃下，向混合物中加入含於甲醇(850 mL)中之L-酒石酸(47 g)之溶液及將混合物保持2小時。將混合物冷卻至25℃。將固體過濾以得到(S)-5-胺基-4-(4-((4-((4-(4-氟基-2-氟苯基)哌嗪-1-基)甲基)苄基)氧基)-1-側氧基異吡啶啉-2-基)-5-側氧基戊酸第三丁酯之酒石酸鹽。(145 g，70%

產率)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1.31 (s, 9H), 1.87 - 2.27 (m, 4H), 2.55 (br s, 4H), 3.18 (br s, 4H), 4.29 (s, 2H), 4.36 - 4.62 (m, 2H), 4.71 (dd, *J* = 4.2, 10.0 Hz, 1H), 5.22 (s, 2H), 7.10 (t, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.18 (s, 1H), 7.29 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.33 - 7.40 (m, 2H), 7.40 - 7.51 (m, 3H), 7.51 - 7.63 (m, 2H)。

【0293】 (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-二側氧基哌啶-3-基)-1-側氧基異吡啶啉-4-基)氧基)甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈。將含於2-甲基四氫呋喃(1 L)中之(S)-5-胺基-4-(4-(((4-((4-(4-氰基-2-氟苯基)哌嗪-1-基)甲基)苄基)氧基)-1-側氧基異吡啶啉-2-基)-5-側氧基戊酸第三丁酯之酒石酸鹽(100 g)之溶液用碳酸鉀水溶液(10%，85 mL)洗滌。將下層分離。將溶劑2-甲基四氫呋喃換成乙腈，以得到溶液。在70℃下，歷時2小時向該溶液中添加含於乙腈(200 mL)中之苯磺酸(60 g)。藉由標準方法純化，得到標題化合物。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 10.96 (s, 1 H) 7.68 (dd, *J*=13.45, 1.83 Hz, 1 H) 7.56 (dd, *J*=8.44, 1.83 Hz, 1 H) 7.43 - 7.52 (m, 3 H) 7.29 - 7.39 (m, 4 H) 7.11 (t, *J*=8.80 Hz, 1 H) 5.24 (s, 2 H) 5.11 (dd, *J*=13.20, 5.14 Hz, 1 H) 4.22 - 4.46 (m, 2 H) 3.54 (s, 2 H) 3.12 - 3.22 (m, 4 H) 2.85 - 2.97 (m, 1 H) 2.53 - 2.62 (m, 2 H) 2.38 - 2.48 (m, 2 H) 1.93 - 2.03 (m, 1 H)。MS (ESI) *m/z* 568.2 [M+1]⁺。

實例4：合成(S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-二側氧基哌啶-3-基)-1-側氧基異吡啶啉-4-基)氧基)甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈(化合物2)



【0294】 **4-(4-(4-(氯甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈鹽酸鹽**。在25℃下，向含於甲苯(1400 mL)中之3-氟-4-(哌嗪-1-基)苯甲腈(100 g)之溶液中加入乙酸(28 mL)及將混合物保持30分鐘。在25℃下，加入4-(氯甲基)苯甲醛(79 g)及將混合物保持2小時。在25℃下，每30分鐘加入三乙醯氧基硼氫化鈉(各52 g)三次。將混合物在25℃下攪拌約10小時。歷時1小時加入水(600 mL)，同時維持批次溫度在30℃以下。將大部分下層分離。將混合物過濾及將下層分離。將有機層用水(200 mL)洗滌。向有機層中加入IPA (75 mL)、5至6 N HCl之IPA溶液(8 mL)，然後含於甲苯(20 mL)中之4-(4-(4-(氯甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈鹽酸鹽晶種(2 g)之漿液。在25℃下，歷時2小時向混合物中加入5至6N HCl之IPA溶液(115 mL)。將混合物保持約10小時，然後過濾以得到粗製固體。將固體用甲苯(400 mL)洗滌，及於真空烘箱中乾燥，以得到呈白色固體之4-(4-(4-(氯甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈鹽酸鹽(152 g，82%產率)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 11.82 (s, 1H), 7.50-7.79 (m, 6H), 7.18-7.24 (m, 1H), 4.80 (s, 2H), 4.38-4.39 (m, 2H), 3.44-3.70 (m, 2H), 3.14-3.44 (m, 6H)。

【0295】 **(S)-5-胺基-4-(4-((4-((4-(4-氟基-2-氟苯基)哌嗪-1-基)甲基)苄基)氧基)-1-側氧基異吡啶啉-2-基)-5-側氧基戊酸第三丁酯**。在35℃下，向含於二甲亞砜(DMSO) (700 mL)中之4-(4-(4-(氯甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈鹽酸鹽(100 g)及(S)-5-胺基-4-(4-羥基-1-側氧基異吡啶啉-2-基)-5-側氧基戊酸第三丁酯(88 g)之混合物中加入碳酸鉀(K₂CO₃) (73 g)及將混合物保持24小時。向混合物中加入EtOAc (1.2 L)及水(1.1 L)。將有機層用氯化鈉水溶液(5%，1 L)洗滌。向混合物中加入正庚烷(200

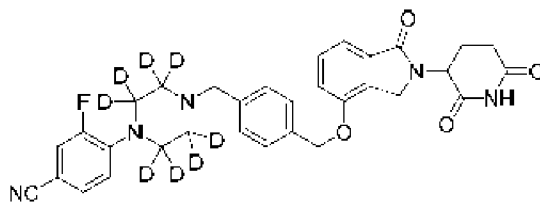
mL)。將混合物用乙酸水溶液(3%，1 L)、水(1 L)、K₃PO₄水溶液(20%，10 L)及水(10 L)洗滌。將溶劑蒸餾至約1.2 L。將混合物用正庚烷結晶，以得到(S)-5-胺基-4-(4-((4-((4-(4-氰基-2-氟苯基)哌嗪-1-基)甲基)苄基)氧基)-1-側氧基異吡啶啉-2-基)-5-側氧基戊酸第三丁酯(143 g，85%產率)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.43 - 7.49 (m, 2 H) 7.40 (s, 4 H) 7.36 (dd, *J*=8.38, 1.28 Hz, 1 H) 7.29 (d, *J*=1.96 Hz, 1 H) 7.26 (d, *J*=1.83 Hz, 1 H) 7.11 (dd, *J*=7.64, 1.16 Hz, 1 H) 6.92 (t, *J*=8.50 Hz, 1 H) 6.23 (br s, 1 H) 5.24 - 5.32 (m, 1 H) 5.15 (s, 2 H) 4.86 - 4.94 (m, 1 H) 4.38 - 4.55 (m, 2 H) 3.61 (s, 2 H) 3.18 - 3.32 (m, 4 H) 2.58 - 2.70 (m, 4 H) 2.09 - 2.47 (m, 4 H) 1.43 (s, 8 H)。

【0296】 (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-二側氧基哌啶-3-基)-1-側氧基異吡啶啉-4-基)氧基)甲基)苄基)哌嗪-1-基)-3-氟苯甲腈。將含於乙腈(1 L)中之(S)-5-胺基-4-(4-((4-((4-(4-氰基-2-氟苯基)哌嗪-1-基)甲基)苄基)氧基)-1-側氧基異吡啶啉-2-基)-5-側氧基戊酸第三丁酯(100 g)之溶液保持在70℃。在70℃下，歷時2小時向該溶液中添加含於乙腈(200 mL)中之苯磺酸(74 g)。藉由標準方法純化，得到標題化合物。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 10.96 (s, 1 H) 7.68 (dd, *J*=13.45, 1.83 Hz, 1 H) 7.56 (dd, *J*=8.44, 1.83 Hz, 1 H) 7.43 - 7.52 (m, 3 H) 7.29 - 7.39 (m, 4 H) 7.11 (t, *J*=8.80 Hz, 1 H) 5.24 (s, 2 H) 5.11 (dd, *J*=13.20, 5.14 Hz, 1 H) 4.22 - 4.46 (m, 2 H) 3.54 (s, 2 H) 3.12 - 3.22 (m, 4 H) 2.85 - 2.97 (m, 1 H) 2.53 - 2.62 (m, 2 H) 2.38 - 2.48 (m, 2 H) 1.93 - 2.03 (m, 1 H)。MS (ESI) *m/z* 568.2 [M+1]⁺。

實例5：4-(4-(4-(((2-(2,6-二側氧基哌啶-3-基)-1-側氧基異吡啶啉-4-

基)氧基)甲基)苄基)哌嗪-1-基-2,2,3,3,5,5,6,6-d⁸)-3-氟苯甲腈



【0297】 **3-氟-4-(哌嗪-1-基-2,2,3,3,5,5,6,6-d⁸)苯甲腈**。將含於無水DMA (6 mL) 中之3,4-二氟苯甲腈(278 mg, 2.00 mmol)及哌嗪-2,2,3,3,5,5,6,6-d⁸ (942 mg, 10.0 mmol)之溶液在110℃下攪拌16小時。將混合物冷卻至環境溫度及在混合下緩慢添加至H₂O (60 mL)。將混合物用EtOAc (3X)萃取及合併有機部分，用飽和NaCl (3X)洗滌，經MgSO₄乾燥，過濾及濃縮。將殘餘無色漿液在真空下乾燥，以得到呈白色固體之粗製產物(599 mg)。將固體溶解於EtOAc中及將溶液用H₂O (3X)、飽和NaCl水溶液(3X)洗滌及經MgSO₄乾燥。將經乾燥溶液過濾，濃縮及將殘餘物在真空中乾燥，以得到呈白色固體之標題化合物(447 mg, 105%)。LCMS (ESI) *m/z* 214.2 [M+H]⁺。

【0298】 **4-(4-(4-(((2-(2,6-二側氧基哌啶-3-基)-1-側氧基異吡啶啉-4-基)氧基)甲基)苄基)哌嗪-1-基-2,2,3,3,5,5,6,6-d⁸)-3-氟苯甲腈**。向含於無水DMF (5.0 mL)中之3-[4-[[4-(溴甲基)苄基]甲氧基]-1-側氧基-異吡啶啉-2-基]哌啶-2,6-二酮(736 mg, 1.66 mmol)及3-氟-4-(哌嗪-1-基-2,2,3,3,5,5,6,6-d⁸)苯甲腈(425 mg, 1.99 mmol)之溶液中添加DIEA (0.870 mL, 4.99 mmol)及將混合物在環境溫度下攪拌4小時。將混合物過濾(0.45 μm尼龍膜)及將溶液藉由標準方法純化，以得到標題產物(532 mg, 56%)。LCMS (ESI) *m/z* 576.4 [M+H]⁺。

實例6：對多發性骨髓瘤之抗增生及促細胞凋亡作用

【0299】 細胞培養材料：人類多發性骨髓瘤細胞株係購自供應商且

在37℃與5% CO₂下於如表1中所指示之培養基中培養。來那度胺抗藥性及泊馬度胺抗藥性細胞株係藉由如先前通常所述之方法(Lopez-Girona等人，*Leukemia* 2012; 26(11): 2335)獲得。將所有細胞株保持於對數期，且細胞密度及活力係藉由錐蟲藍排除法使用Vi-cell XR細胞活力分析儀(Beckman Coulter, Brea, CA)監測。

表1：測試之多發性骨髓瘤細胞株

MM細胞株	供應商/來源	目錄編號	培養條件
NCI-H929	ATCC (Manassas, VA)	CRL-9068	RPMI-1640， 10 % FBS
NCI-H929-1051	內部開發，使為來那度胺抗藥性	NA	RPMI-1640， 10 % FBS
OPM2	DSMZ (Braunschweig, Germany)	ACC-50	RPMI-1640， 10 % FBS
OPM2-P10	內部開發，使為10 µM泊馬度胺抗藥性	NA	RPMI-1640， 10 % FBS

【0300】 製備測試物之溶液：將化合物平板接種於黑色384孔板(Corning Inc.)中至假設最大體積50 µL之0.1%之最終DMSO體積。藉由聲音分配使用EDC ATS-100平臺一式兩份印刷在10 µM下開始具有1:3稀釋之10點劑量反應。或者，使用在10 µM下開始具有1:10稀釋或在100 µM下開始具有1:3稀釋之10點劑量反應。

【0301】 細胞增生檢定：根據製造商之說明，於使用CTG(Promega)培育120小時後評估化合物對血液學細胞株(表1)之增生/活力之效應。藉由Multidrop Combi試劑分配器(Thermo Scientific, Waltham, MA)於50 µL總體積中在0.1 x 10⁶個細胞/mL之濃度下將血液學細胞株分配於化合物平板中。在120小時時，將25 µL/孔之CTG藉由Multidrop Combi試劑分配器分配及於30分鐘後使用Envision平臺以相對發光單位量測藉由活細胞釋放之三磷酸腺苷(ATP)。

【0302】 細胞凋亡檢定：於選定MM細胞株中在指示時間點及化合

物濃度下評估化合物誘導凋亡之能力。作為細胞凋亡之標誌物，於MM細胞中使用活細胞成像量測卡斯蛋白酶-3活性之程度。為使懸浮細胞成像，將96孔板用纖維連接蛋白塗覆，因此細胞可附著且平躺在板底部。在化合物添加之前一天晚上使用 Multidrop Combi 試劑分配器 (Thermo Scientific, Waltham, MA)將細胞添加至96孔板中。使用Hewlett-Packard D300數位分配器(Tecan, Männedorf, Switzerland)將化合物點塗在96孔板之適宜孔中之細胞頂部。利用化合物處理MM細胞株及在6小時時改變培養基以模擬活體內化合物轉換，其導致化合物濃度之約20倍稀釋。細胞在NucView 488卡斯蛋白酶-3酵素受質(Biotium)之存在下生長且於安置於標準培育器中之Incucyte ZOOM活細胞分析系統(Essen Bioscience, Ann Arbor, MI)中培育。各孔中之卡斯蛋白酶-3酵素受質之裂解及細胞匯合度經由每4至6小時在Incucyte ZOOM系統上10x成像檢測持續5天。在相同板上重複運行各孔/條件且各條件為在各時間點捕獲之4個10x圖像之平均。

【0303】 結果。化合物1及化合物2證實對MM細胞株之抗增生活性。用於此研究選定之MM細胞株為對來那度胺及/或泊馬度胺(臨床中使用之治療骨髓瘤患者之兩種藥劑)敏感且抗藥性之株(表1)。使用CellTiter-Glo[®]檢定評估增生。將利用化合物培育之培養物之結果歸一化至各細胞株之對照培養物之結果。針對各細胞株使用ActivityBase軟體測定藉由化合物抑制細胞生長之IC₅₀。化合物1及化合物2有效抑制四個細胞株中之細胞增生，如藉由於120小時後存在於培養基中之ATP程度之定量評估所測定。化合物1及化合物2之抗增生IC₅₀值範圍在0.07 nM與19 nM之間(表2)。化合物1及化合物2顯示極強效多發性骨髓瘤抗增生活性，甚至對來那

度胺抗藥性及/或泊馬度胺抗藥性細胞株。

表2：於液體培養之MM細胞株中藉由化合物1及化合物2抑制細胞生長

化合物編號	NCI-H929 120h IC ₅₀	NCI-H929.1051 120h IC ₅₀	OPM-2 120h IC ₅₀	OPM-2.P10 120h IC ₅₀
1	<0.5 nM	2.5 nM	<0.5 nM	19 nM
2	0.07 nM	1.0 nM	0.07 nM	4.3 nM

【0304】 化合物1誘導之多發性骨髓瘤細胞株之凋亡。研究化合物對MM細胞株之凋亡之影響。為測定化合物誘導凋亡之能力及動力學表徵此過程之開始，於來那度胺抗藥性H929-1051細胞(圖1)中隨時間量測卡斯蛋白酶-3誘導。利用1 nM、10 nM、100 nM及1000 nM濃度之化合物培育H929-1051細胞且隨時間評估細胞凋亡。結果顯示針對H929-1051細胞，所有濃度之化合物1在約48小時開始誘導細胞凋亡及在培育之約72小時達到近最大誘導。接下來，針對各濃度計算曲線下面積(AUC)及用於生成各化合物之濃度-反應曲線。此提供化合物1誘導H929-1051凋亡之能力之定量證據。出人意料地，化合物1之凋亡誘導顯著高於針對先前報告之化合物3-(4-(((4-((4-(2,4-二氟苯基)哌嗪-1-基)甲基)苄基)氧基)-1-側氧基異吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮(美國專利案第8,518,972號中之實例5.285) (化合物A)觀察到之凋亡誘導。如圖1B中所示，化合物1之凋亡誘導(如藉由總AUC所量測)相較於化合物A之凋亡誘導幾乎增加30% (126%)。

【0305】 與地塞米松組合。通過一組MM細胞株評估泊馬度胺與化合物2單獨或與地塞米松組合之活性。圖2為來那度胺抗藥性H929-1051細胞株之劑量反應曲線之代表性集合，其證實單藥劑化合物2較泊馬度胺-地塞米松組合10倍更有效及幾乎同樣有效(圖2，圖A)。出人意料地，當化合物2與地塞米松組合時，其不僅產生更強效反應，而且功效亦急劇提高(圖

2，圖B)；達成幾乎完全細胞殺死。表3概述H929-1051細胞株中進行之單藥劑與地塞米松組合研究之效力(IC₅₀)。列出單藥劑泊馬度胺或化合物2及1、0.1或0.01 μM地塞米松(Dex)之組合於來那度胺抗藥性細胞(H929-1051)中之IC₅₀。各IC₅₀為來自至少3個獨立實驗之平均值。在第5天使用Cell Titer-Glo監測增生。一致地，化合物2與地塞米松組合較泊馬度胺與地塞米松組合急劇更具活性，且在地塞米松濃度低10至100倍下達成此增加之活性。此資料一起指示藉由允許使用更低劑量之地塞米松同時維持功效及協同作用，化合物2與地塞米松之組合治療之增加之安全性的潛力。

表3：比較化合物2及泊馬度胺作為單藥劑或與地塞米松組合於來那度胺抗藥性H929-1051細胞株中之抗增生IC₅₀值

	單藥劑IC ₅₀ μM	1 μM地塞米松組合IC ₅₀	0.1 μM地塞米松組合IC ₅₀	0.01 μM地塞米松組合IC ₅₀
泊馬度胺	>10 μM	0.01884 μM	0.11824 μM	3.837 μM
化合物2	0.00098 μM	0.000018 μM	0.0000429 μM	0.00041 μM

【0306】 如藉由對正常細胞之抗增生選擇性所評估之活體外安全性評估。為證實化合物2一般無細胞毒性，進行對源自永生化(但是非致瘤性)人類肝細胞之細胞株THLE-2 (Pfeifer等人，*Proc Natl Acad Sci USA*. 1993; 90(11):5123-7)及對原發性健康人類PBMC (圖3)之對抗篩選。與以上所示MM細胞株相比，化合物2具有對THLE-2細胞(IC₅₀ > 10 μM)或對未經刺激之原發性人類PBMC (IC₅₀ > 10 μM)之小的抗增生作用。

【0307】 化合物2於來那度胺抗藥性多發性骨髓瘤異種移植模型中之抗腫瘤活性。研究之目的為測試化合物2於H929-1051異種移植模型中之單藥劑抗腫瘤活性，其中以1、3、10及30 mg/kg每日一次給藥(QD)。在所有劑量程度觀察到顯著(p < 0.0001)抗腫瘤活性，其中各自在1、3、10及30 mg/kg下腫瘤體積減少75%、86%、84%及85% (圖4)。

【0308】 **結論：**此資料一起顯示，化合物1及化合物2顯示極強效抗多發性骨髓瘤活性及出人意料地顯示相較於先前報告之化合物化合物A及泊馬度胺顯著增加之細胞凋亡程度。此外，化合物2與地塞米松組合不僅產生更強效反應，而且功效亦急劇提高。此外，顯示相較於正常細胞多發性骨髓瘤之選擇性細胞殺死。

實例7：化合物1/化合物2之脫靶效應及含義。

【0309】 **α 1腎上腺素能及多巴胺D2受體。**方法：藉由Eurofins Cerep根據其方法進行 α 1腎上腺素能及多巴胺D2受體之結合及功能檢定。

【0310】 **α 1腎上腺素能受體。在10 μ M下之結合。**結合檢定評估測試物對大鼠大腦皮層中之非選擇性 α 1腎上腺素能受體之親和力。在室溫下，在10 μ M測試物之不存在或存在下，將大腦皮層之膜勻漿用0.25 nM [3 H]哌唑嗪一式兩份培育60分鐘。於培育期後，將樣本通過玻璃纖維過濾器過濾，將濾液乾燥及然後使用閃爍計數器對放射性計數。結果以對照放射性配體結合之平均抑制百分比表示。

【0311】 **結合IC₅₀。**為測定非選擇性 α 1腎上腺素能受體之結合IC₅₀，將變化濃度之測試物用0.25 nM [3 H]哌唑嗪一式兩份培育。在0.01至30 μ M下測試化合物A。在0.0003至10 μ M下測試化合物B（化合物A之S-對映異構體）。在0.03至100 μ M下檢定化合物1及化合物2（化合物1之S-對映異構體）。如上所述量測放射性。將IC₅₀定義為造成對照特異性結合之一半最大抑制之濃度。

【0312】 **拮抗劑活性。**使用人類受體轉染之中國倉鼠卵巢(Chinese hamster ovary, CHO)細胞量測測試化合物對 α_{1A} 及 α_{1B} 腎上腺素能受體之拮抗作用。藉由量測 α_{1A} 受體檢定中之化合物對促效劑(腎上腺素)誘導之

鈣動員之作用或 α_{1B} 受體檢定中之cAMP含量測定拮抗劑活性。於此等實驗中，在室溫下，利用測試物及 α_{1A} 受體檢定中之3 nM之腎上腺素或 α_{1B} 受體檢定中之3000 nM之腎上腺素一式兩份培育CHO細胞。於 α_{1A} 受體檢定中在0.01至30 μ M下測試化合物A。於 α_{1A} 及 α_{1B} 受體檢定中在0.0003至30 μ M下測試化合物B。於 α_{1A} 受體檢定中在0.03至30 μ M下及於 α_{1B} 受體檢定中在0.03至100 μ M下檢定化合物1及化合物2。於 α_{1A} 受體檢定中，使用螢光探針(Fluo4 Direct)螢光量測細胞溶質鈣含量。藉由均勻時間解析螢光(HTRF)量測 α_{1B} 腎上腺素能受體檢定中之細胞內cAMP含量。將拮抗作用 IC_{50} 定義為造成對照促效劑反應之一半最大抑制之濃度。

【0313】多巴胺D2受體。在10 μ M下之結合。結合檢定評估測試物對轉染人類胚腎(HEK)-293細胞中之多巴胺D2受體之親和力。為測定D_{2S}受體檢定中之結合，將測試物用0.3 nM [³H]甲基螺哌隆(spiperone)或1 nM [³H] 7-羥基-2-N,N-二丙基胺基四氫萘(7-OH-DPAT)培育。^{[3}H]甲基螺哌隆亦於D_{2L}結合檢定中用作對照配體。在室溫下，在10 μ M測試物不存在或存在下，將細胞膜勻漿用配體一式兩份培育60分鐘。於培育期後，將樣本通過玻璃纖維過濾器過濾，將濾液乾燥及然後使用閃爍計數器對放射性計數。結果以對照放射性配體結合之平均抑制百分比表示。

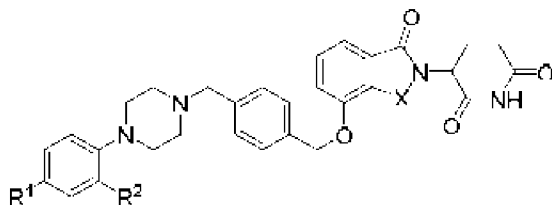
【0314】結合 IC_{50} 。為測定D2受體檢定中之結合 IC_{50} ，如上所述但是利用變化濃度之測試物測試HEK-293。於D_{2S}放射性配體結合檢定中在0.01至30 μ M下測試化合物A。於D_{2S}及D_{2L}結合檢定二者中在0.0003至10 μ M下測試化合物B。於D_{2S}及D_{2L}檢定二者中在0.03至100 μ M下檢定化合物1，同時於D_{2S}檢定中在0.03至100 μ M下及於D_{2L}檢定中在0.01至100 μ M下測試化合物2。將 IC_{50} 定義為造成對照特異性結合之一半最大抑制之

濃度。

【0315】 **促效劑活性**。使用人類受體轉染之HEK-293細胞評估測試化合物對多巴胺D_{2s}受體之促效作用。藉由量測化合物對阻抗調節之作用測定促效活性。於此等實驗中，在28℃下，將HEK-293細胞用測試物一式兩份培育。在0.01至30 μM下測試化合物A。在0.0003至10 μM下測試化合物B，同時在0.01至10 μM下檢定化合物1及化合物2。使用多巴胺(3 μM)作為促效劑對照。於添加配體後，使用細胞介電光譜監測阻抗量度10分鐘。將EC₅₀定義為造成相較於對照促效劑(多巴胺)反應之一半最大反應之濃度。

【0316】 **結果**。針對化合物1、化合物2、化合物A、化合物B及美國專利案第8,518,972號中所例示之許多化合物(表4)評估α1腎上腺素能及多巴胺D₂受體在10 μM下之結合。雖然先前揭示之化合物完全抑制兩種受體之配體之結合，但是出人意料地化合物1及化合物2顯示極大減弱之抑制配體結合之能力，各自顯示僅67/62% (α1腎上腺素能受體)及55/52% (多巴胺D_{2s})配體結合之抑制。因此進一步分析化合物1及化合物2相較於化合物A及化合物B對α1腎上腺素能及多巴胺D₂受體之分化效應。

表4. 化合物A、化合物B、化合物1及化合物2及先前報告之化合物對α1腎上腺素能及多巴胺D₂受體之效應



化合物 編號	R ¹	R ²	X	立體	腎上腺素能 $\alpha 1$	多巴胺D _{2s}
					抑制% (在10 μ M下)	抑制% (在10 μ M下)
1	CN	F	CH ₂	rac	67	55
2	CN	F	CH ₂	S	62	52
A	F	F	CH ₂	rac	102	99
B	F	F	CH ₂	S	98	99
實例5.229	H	H	CH ₂	rac	98.3	98.7
實例5.273	F	H	CH ₂	rac	100.3	94.7
實例5.289	F	H	CO	rac	97.9	92.4

【0317】 表5中概述化合物A、化合物B、化合物1及化合物2對 $\alpha 1$ 腎上腺素能受體之詳細效應。化合物A 102%抑制配體與 $\alpha 1$ 腎上腺素能受體之結合。化合物A與受體之結合IC₅₀為0.064 μ M。顯示化合物A為 α_{1A} 腎上腺素能受體之強拮抗劑， IC₅₀為0.014 μ M。類似地，化合物B在10 μ M下98至100%抑制配體與 $\alpha 1$ 腎上腺素能受體之結合且具有0.024 μ M之結合IC₅₀。利用化合物B觀察到 $\alpha 1$ 腎上腺素能受體之強的拮抗作用，具有各自對 α_{1A} 及 α_{1B} 受體0.0064及0.078 μ M之IC₅₀值。出人意料地，相反，顯示化合物1及化合物2均具有對 $\alpha 1$ 腎上腺素能受體之弱活性。針對 α_{1A} 及 α_{1B} 受體，化合物1之受體拮抗作用之IC₅₀值各自為0.98 μ M及6.9 μ M。針對化合物2觀察到可比較結果。

表5.化合物A、化合物B、化合物1及化合物2對α1腎上腺素能受體之效應

化合物	α1 (非選擇性) 抑制% (10 μM)	α1 (非選擇性) 結合IC ₅₀ (μM)	拮抗作用IC ₅₀ (μM)	
			α	α _{1B}
化合物A	102	0.064	0.014	ND
化合物B	98、100 ^a	0.024	0.0064	0.078
化合物1	67	3.9	0.98	6.9
化合物2	62	1.3 (估計)	0.58	2.4
^a 獨立實驗。 ND，未測定				

【0318】多巴胺D2受體。表6中概述化合物A、化合物B、化合物1及化合物2對多巴胺D2受體之作用。化合物A抑制配體與多巴胺D_{2S}受體之99%結合。化合物A與D_{2S}受體之結合IC₅₀為0.15 μM。顯示化合物A為多巴胺D_{2S}受體之部分促效劑，EC₅₀為0.016 μM。類似地，化合物B在10 μM下99%抑制D_{2S}受體且具有各自對D_{2L}及D_{2S}受體0.084及0.016至0.047 μM之結合IC₅₀。出人意料地，相反，顯示化合物1及化合物2均具有對多巴胺D2受體之弱活性，具有在10 μM下≤ 55%之抑制及≥ 2 μM之結合IC₅₀值。於三個獨立研究中化合物B對多巴胺D_{2S}受體之功能促效作用(EC₅₀)為>10、2.7及1.9 μM。雖然化合物B對D_{2S}受體之促效作用之程度小於針對化合物A觀察到者，但是存在朝向化合物B相較於化合物1及化合物2具有更大促效作用之趨勢。一併考慮在10 μM下之結合之抑制%、結合IC₅₀及促效作用IC₅₀資料證實化合物A及化合物B相較於化合物1及化合物2對多巴胺D2受體之更強活性。此觀察與具有化合物A但是無化合物1之大鼠(如下所討論)中之多巴胺D2促效作用之證據(即，減少之胃運動/排空)一致。

表6.化合物A、化合物B、化合物1及化合物2對多巴胺D2受體之效應

化合物	抑制% (10 µM)		結合IC ₅₀ (µM)		D _{2s} 促效作用 EC ₅₀ (µM)
	D _{2L}	D _{2S}	D _{2L}	D _{2S}	
化合物A	ND	99	ND	0.15	0.016
化合物B	103	99, 99 ^a	0.084	0.016, 0.021, 0.047 ^a	>10, 2.7, 1.9 ^a
化合物1	55	55	2.3	7.4	陰性
化合物2	ND	52	3 (估計)	2 (估計)	>10
^a 獨立實驗；ND，未測定					

【0319】 雄性大鼠之7天探索毒理學研究。方法。藉由口服灌胃(10 mL/kg)利用媒劑(含0.5% HPMC/0.25%吐溫-80之50 mM檸檬酸鹽，pH 2.6至2.8)或測試物(化合物A或化合物1)以100、300或1000 mg/kg/天對雄性CD-IGS大鼠(n=5/毒理學評估組；n=4/毒物動力學評估組)每日一次給藥持續7個連續日。在第1及7天收集用於毒物動力學之血液樣本。在給藥前、在第1至7天給藥後約1小時及在第8天屍檢之前觀察所有大鼠之毒性臨床症狀。在第1至7天給藥之前及在屍檢之前隨機記錄體重。在第8天(於最後劑量後之約24小時)收集用於血液及血清化學分析之樣本。在第8天將大鼠安樂死用於屍檢。解剖病理學評估由大體觀察、組織重量及選定組織之組織病理學檢查組成。

【0320】 結果。於每日口服投與化合物A持續7個連續日後，全身暴露(AUC_{0-t})以劑量依賴性方式自100至1000 mg/kg增加。第7天之暴露大於第1天約3至7倍。第7天之AUC在100、300及1000 mg/kg下各自為441、1230及1760 µM·hr。在≥ 300 mg/kg下觀察到毒性臨床症狀(駝背姿勢、豎毛及減少之活性)及減少之體重。在100 mg/kg下未看到體重增加。在≥ 100 mg/kg下大體觀察到異常胃內容物(乾進食物質)，無微觀相關性。此發現表明減少之胃運動/排空及與對多巴胺D₂受體之促效活性一致。測試物相關之微觀發現局限於最小多病竈心肌壞死及在所有劑量程度下大鼠心

臟中之混合細胞浸潤。雖然此心臟病變之確切原因仍待確定，但是該發現與多巴胺D₂受體之促效作用及/或 α 1腎上腺素能受體之拮抗作用一致。此等受體之改變可導致血管舒張，其導致減少之血流、血壓過低及反射性心動過速。心臟病變之位置(心尖、心室之心內膜表面)進一步支持缺血機制。針對化合物1，暴露(AUC_{0-t})亦以劑量依賴性方式自100至1000 mg/kg增加且第7天之暴露大於第1天約2至6倍。在第7天，在100、300及1000 mg/kg下之AUC各自為143、514及1220 μ M·hr。無測試物相關臨床觀察。在 ≥ 300 mg/kg下觀察到體重增加之最小減少。出人意料地，與化合物A相反，於利用化合物1給藥之大鼠中未觀察到對胃或心臟之作用，與藉由上述Eurofins Cerep觀察之對 α 1腎上腺素能及多巴胺D₂受體之降低之活性一致。

【0321】 活體外評估化合物2及化合物B作為人類細胞色素p450酶之抑制劑。目標為評估化合物B及化合物2充當混合型人類肝微粒體中之細胞色素P450 (CYP)活性之直接或時間依賴性抑制劑的潛力。於此研究中，研究九種人類細胞色素P450酶(稱作CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1及CYP3A4/5)之抑制(使用兩種受質)。

【0322】 方法。為檢查化合物充當CYP酶之直接抑制劑之潛力，在化合物B (0.03至30 μ M)或化合物2 (0.03至30 μ M)及NADPH (1 mM)之不存在或存在下，在約等於其表觀K_m之濃度下，將混合型人類肝微粒體用探針受質培育。此外，在上述相同濃度下評估化合物充當時間依賴性抑制劑之潛力。當評估時間依賴性抑制時，在添加探針受質之前，將化合物用人類肝微粒體及NADPH (1 mM)預培育30分鐘。除了適宜媒劑對照外，

包含CYP同功異型物之已知直接抑制劑及時間依賴性抑制劑作為陽性對照。於培育後，使用建立之LC/MS/MS方法定量探針受質代謝物之濃度。抑制之程度以對照活性之百分比表示。

【0323】 結果。化合物B。在用於檢查直接抑制之實驗條件下，化合物B（多達30 μM ）對CYP1A2、CYP2A6、CYP2C8、CYP2D6、CYP2E1及CYP3A4/5具有很少（ $\leq 30\%$ ）至無抑制作用（咪達唑侖（midazolam））。化合物B在30 μM 下各自抑制CYP2B6、CYP2C9及CYP2C19活性59、38及45%。化合物B利用2.92 μM 之 IC_{50} 值抑制CYP3A4/5（甾酮）。在用於測試時間依賴性抑制之條件下，於用或不用NADPH預培育30分鐘後，化合物B（多達30 μM ）顯示很少至無CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6及CYP2E1之時間依賴性抑制。化合物B以時間依賴性方式抑制CYP3A4/5。針對作為受質之咪達唑侖及甾酮，偏移之 IC_{50} 值（利用NADPH）各自為2.23及1.93 μM 。

【0324】 化合物2。在用於檢查直接抑制之實驗條件下，化合物2（多達30 μM ）對CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2D6、CYP2E1及CYP3A4/5具有很少（ $\leq 30\%$ ）至無抑制作用（咪達唑侖）。在30 μM 下，化合物2各自抑制CYP2C19及CYP3A4/5（甾酮）活性41及46%。在用於測試時間依賴性抑制之條件下，於用或不用NADPH預培育30分鐘後，化合物2（多達30 μM ）顯示很少至無CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1及CYP3A4/5之時間依賴性抑制（咪達唑侖）。化合物2（在30 μM 下）抑制CYP3A4/5（甾酮）活性59%（利用NADPH）及23%（不利用NADPH），其指

示化合物2為CYP3A4/5之弱的時間依賴性抑制劑。

【0325】 結論。總之，化合物B（多達30 μM ）對CYP1A2、CYP2A6、CYP2C8、CYP2D6、CYP2E1及CYP3A4/5具有很少($\leq 30\%$)至無直接抑制作用(咪達唑侖)。化合物B利用2.92 μM 之 IC_{50} 值抑制CYP3A4/5（辜酮）。化合物B在30 μM 下各自抑制CYP2B6、CYP2C9及CYP2C19活性59、38及45%。化合物B（多達30 μM ）非CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6及CYP2E1之時間依賴性抑制劑但是為CYP3A4/5之時間依賴性抑制劑。

【0326】出人意料地，相反，化合物2（多達30 μM ）對所測試之CYP酶中之任一者具有很少($\leq 30\%$)至無抑制作用且在30 μM 下，化合物2各自抑制CYP2C19及CYP3A4/5（辜酮）活性僅41及46%（即， $\text{IC}_{50} > 30 \mu\text{M}$ ）。化合物2（多達30 μM ）亦僅為CYP3A4/5之弱的時間依賴性抑制劑。對CYP2C19及CYP3A4/5之降低之抑制活性導致降低之代謝作用(包含其他藥物)及因此降低不良藥物相互作用之可能性。

【0327】 總結：強效抗多發性骨髓瘤活性同時保留正常細胞、顯著增加之細胞凋亡程度及與地塞米松更強效且有效組合反應之組合指示化合物1及化合物2將可用於治療多發性骨髓瘤。此外，出人意料地改善之活體外及活體內脫靶及CYP譜發現結果與使用更低劑量地塞米松之潛力之組合，指示化合物1及化合物2相對於先前報告之化合物應具有改善之安全特性。

步驟8：藉由致癌驅動因子、染色體易位及p53突變表徵之多發性骨髓瘤細胞株之化合物2誘導之凋亡

【0328】 方法。於利用化合物培育120小時後，利用96孔板流式細

胞計檢定評估化合物對具有常見致癌突變及染色體易位(包括於MM患者中發現之被認為高風險易位或突變之彼等)之代表性MM細胞株之增生及凋亡誘導之效應。利用擴大濃度之化合物2或泊馬度胺(範圍為0.015至100 nM)一式兩份處理20種MM細胞株(表7及8) (包括漿細胞白血病(PCL)細胞株L363、JJN-3、ARH-77及SKMM-2)。使用5 mM原液，使用Hewlett-Packard D300數位分配器將化合物預裝入96孔板之適宜孔中。使用Multidrop Combi試劑分配器將細胞添加至96孔板中。於處理5天後，使用流式細胞術分析測定活的、死亡或凋亡之細胞數目。於處理5天後，將細胞用膜聯蛋白V培育以染色暴露之磷脂醯絲胺酸(凋亡細胞表面標記物)及活體染料7-AAD，將其自具有完整細胞膜之細胞排除且藉由流式細胞計(Attune® , Thermo Fisher)分析。然後進行分析以測定活細胞(膜聯蛋白V及7-AAD雙陰性染色細胞)之數目並計算各條件之凋亡細胞(膜聯蛋白V陽性細胞)相對於經DMSO對照處理之細胞之百分比。將所有所述值歸一化至僅經DMSO處理之細胞。將所有增生及凋亡誘導曲線處理並使用XLFit (IDBS, Alameda, CA)及GraphPad Prism 7.03 (GraphPad軟體，La Jolla, CA)以對照之百分比作圖。於Microsoft Excel中將每個濃度之活細胞計數歸一化至DMSO對照(認為100%)以生成增生曲線。然後藉由進行log (抑制劑)相對於歸一化反應-可變斜率分析計算IC₅₀ (達成50%抑制之化合物濃度)值及藉由在GraphPad Prism 7.03上進行曲線下面積分析計算曲線下面積(AUC)。類似地，用於凋亡分析，針對所有劑量藉由組合「早期」(膜聯蛋白V陽性及7-AAD陰性)及「晚期」凋亡(膜聯蛋白V及7-AAD陽性)值二者及減去背景值(利用媒劑對照DMSO處理之細胞)計算藥物誘導之凋亡之百分比。藉由在GraphPad Prism 7.03上進行曲線下面積分析計

算凋亡曲線之AUC值。計算劑量反應曲線下面積(AUC)，因為其整合藥物之效力及功效以將凋亡表示為單一參數。表9中呈現於流式細胞計檢定中之化合物2及泊馬度胺之IC₅₀值。表10顯示劑量反應曲線下面積(AUC)，其使用流式細胞計檢定於MM細胞株組中比較化合物2及泊馬度胺之活性。

表7.多發性骨髓瘤細胞株

MM細胞株	供應商/來源	目錄編號	培養條件
ANBL-6	Jelinek, Ahmann等人, <i>Cancer Res</i> (1993) 53(21): 5320-5327	NA	RPMI-1640, 10 % FBS, IL-6
ARH-77	ATCC (Manassas, VA)	CRL-1621	RPMI-1640, 10 % FBS
CAG	Borset等人, <i>Blood</i> (2000) 96(7): 2528-2536	NA	RPMI-1640, 10 % FBS
DF15	Shaughnessy等人, US20070027175	NA	RPMI-1640, 10 % FBS
EJM	DSMZ (Braunschweig, Germany)	ACC-560	RPMI-1640, 10 % FBS
NCI-H929	ATCC (Manassas, VA)	CRL-9068	RPMI-1640, 10 % FBS
H929-1051	內部開發, 使得抗10 µM來那度胺		RPMI-1640, 10 % FBS
IM-9	ATCC (Manassas, VA)	CCL-159	RPMI-1640, 10 % FBS, IL-6
JJN-3	DSMZ (Braunschweig, Germany)	ACC-541	RPMI-1640, 10 % FBS
KMS-11	日本研究生物資源細胞庫保藏所 (Japanese Collection of Research Bioresources Cell Bank)(Osaka, Japan)	JRCB-1179	RPMI-1640, 10 % FBS
KMS-12-PE	DSMZ (Braunschweig, Germany)	ACC-606	RPMI-1640, 10 % FBS

MM細胞株	供應商/來源	目錄編號	培養條件
KMS-34	日本研究生物資源細胞庫保藏所 (Japanese Collection of Research Bioresources Cell Bank) (Osaka, Japan)	JRCB-1195	RPMI-1640 , 10 % FBS
L363	DSMZ (Braunschweig, Germany)	ACC-49	RPMI-1640 , 10 % FBS
LP-1	DSMZ (Braunschweig, Germany)	ACC-41	RPMI-1640 , 10 % FBS
MM.1S	ATCC (Manassas, VA)	CRL-2174	RPMI-1640 , 10 % FBS
OPM2	DSMZ (Braunschweig, Germany)	ACC-50	RPMI-1640 , 10 % FBS
OPM2-P10	內部開發，使為10 μM泊馬度胺抗 藥性		RPMI-1640 , 10 % FBS
RPMI-8226	ATCC (Manassas, VA)	CCL-155	RPMI-1640 , 10 % FBS
SKMM-2	DSMZ (Braunschweig, Germany)	ACC-430	RPMI-1640 , 10 % FBS
U266	ATCC (Manassas, VA)	TIB-196	RPMI-1640 , 10 % FBS

ATCC =美國模式組織保藏所(American Type Tissue Collection) ;
DSMZ = 德國微生物及細胞培養物保藏所 (German Collection of
Microorganisms and Cell Cultures) ; FBS = 胎牛血清 ; IL-6 = 介白素6 ;
JCRB =日本研究生物資源細胞庫保藏所(Japanese Collection of Research
Bioresources Cell Bank) ; MM =多發性骨髓瘤 ; N/A =不適用。

**表8：於多發性骨髓瘤細胞株組中發現之致癌驅動因子、染色體易位
及p53突變**

MM細胞株	p53狀態	致癌驅動因子	易位
ANBL-6	mut (Q331) ^a	C-MAF	t(14;16)
ARH-77	mut (R273H)	-	-
CAG	wt HD	C-MAF	t(14;16)
DF15	wt	-	-
EJM	mut (K132N)	MAFB	t(14;20)

MM細胞株	p53狀態	致癌驅動因子	易位
NCI-H929	wt	FGFR3及MMset	t(4;14)
H929-1051	wt	FGFR3及MMset	t(4;14)
IM-9	wt	-	-
JJN-3	wt	C-MAF	t(14;16)
KMS-11	wt, HD	FGFR3/MMSET, C-MAF	t(4;14),t(14;16)
KMS-12-PE	wt HD/mut (R337L) ^b	細胞週期蛋白D1	t(11;14)
KMS-34	mut (W146 ^a)	FGFR3及MMset	t(4;14)
L363	mut (S261T)	MAFB	t(6;20), t(20;22)
LP-1	mut (E286K)	FGFR3及MMset	t(4;14)
MM.1S	wt	C-MAF	t(14;16)
OPM2	mut (R175H)	FGFR3及MMset	t(4;14)
OPM2-P10	mut (R175H)	FGFR3及MMset	t(4;14)
RPMI-8226	mut (E258K)	C-MAF	t(14;16), t(16;22)
SKMM-2	wt	MAFB，細胞週期蛋白D1	t(14;20), t(11;14)
U266	mut (A161T)	細胞週期蛋白D	t(11;14)

HD =純合子缺失；mut =突變；wt =野生型；- =不適用。^a =無意義突變。^b = 文獻中矛盾報告，wt p53是否僅具有1複本或突變。

來源：Bergsagel等人，*Oncogene* (2001); 20:5611-5622；Berglind等人，*Cancer Biology Therapeutics* (2008);5:699-708；Keats, J. Common Genetics of Myeloma Cell Lines [Internet]. Jonathan Keats Laboratory. Translational Genomics Research Institute (TGen) - Integrated Cancer Genomics Division. 2012 - [2017年1月5日引用]。

【0329】結果。通過具有常見致癌突變及染色體易位之代表性MM細胞株組(表8) (包括於MM患者中發現被認為高風險易位或突變之彼等) 評估化合物2之抗增生活性(Johnson等人，*Int J Hematol.* (2011);94:321-333；Zhou等人，*Leukemia* (2009);23:1941-1956；Terpos等人，*Leuk*

Lymphoma (2006);47:803-814 ; Tonon, *Hematol Oncol Clin North Am.* (2007);21:985-1006) 。使用量測活細胞數目之流式細胞計獲得濃度反應曲線以證實化合物2相較於泊馬度胺之抗增生活性。表9中呈現化合物2之IC₅₀值。

表9：化合物2於多發性骨髓瘤細胞株中之抗增生活性

細胞株	抗增生活性 (流式細胞計) IC ₅₀ (nM)	
	化合物2	泊馬度胺
MM1-S	0.04	33.74
DF15	0.05	40.98
OPM2	0.05	69.68
ANBL-6	0.06	60.61
NCI-H929	0.05	63.10
KMS-12-PE	0.09	83.79
LP-1	0.14	175.77
JJN-3	0.10	365.84
CAG	0.12	1084.88
U266	0.19	380.67
EJM	0.43	2843.08
NCI-H929-1051	0.45	1949.67
KMS34	0.45	> 10000
KMS-11	1.41	5290.11
RPMI-8226	0.75	> 10000
OPM2-P10	1.81	> 10000
SK-MM-2	0.82	> 10000
L363	0.16	> 10000
ARH-77	>10000	> 10000
IM-9	5569.43	> 10000

【0330】 於處理120小時後使用流式細胞計評估化合物2之細胞凋亡誘導效應並與泊馬度胺處理相比較。藉由歸一化至DMSO對照(對照之

100%)計算對照之百分比以生成劑量反應曲線及計算彼等曲線下面積 (AUC)。報告之AUC值對應於劑量反應曲線下面積，其中10000之值對應於所有劑量下之凋亡之完全誘導及0之值對應於無凋亡之誘導。各資料點表示2個獨立實驗，其中各實驗具有至少兩個樣本。(表10)。

表10：化合物2誘導之多發性骨髓瘤細胞株之細胞凋亡

細胞株	AUC	
	化合物2	泊馬度胺
CAG	5804	1561
DF15	6002	3707
NCI-H929	6089	2115
SKMM-2	3204	1033
OPM2	5620	3298
MM1.S	5701	3525
RPMI-8226	3245	1369
ANBL-6	4751	2580
H929-1051	3968	423
EJM	2591	900
KMS-12-PE	2017	1069
KMS-11	1270	234.4
JJN-3 (DSMZ)	1125	199.1
KMS-34	1614	429.7
IM-9	323.9	25.4
U266	927.8	373
OPM2-P10	1768	108.7
ARH-77	709	28.16
LP-1	630.7	174
L363	347	293

【0331】 結論。化合物2在大多數MM細胞株中具有廣泛活性且藉由於具有中度泊馬度胺敏感性之細胞株中及於泊馬度胺抗藥性之細胞株中顯示強的活性而區分於泊馬度胺。化合物2在具有變化p53狀態、致癌驅動

因子或染色體易位之此範圍MM細胞株中具有廣泛活性。例如，OPM2、LP-1、EJM、U266及RPMI-8226細胞具有突變p53且對化合物2敏感。此外，NCI-H929、KMS-11、KMS 34、OPM2及LP-1細胞株全含有t(4;14)「高風險」MM染色體易位且對化合物2敏感。SK-MM-2及EJM細胞亦對化合物2敏感且含有另一種「高風險」MM染色體易位t(14;20) (圖5)。化合物2於短暫限定暴露後誘導凋亡之能力可允許使用強化間歇方案達成疾病控制。此等方案亦可藉由降低化合物2誘導血細胞減少之潛力改善治療指數，該等血細胞減少係在目前MM化合物之更連續給藥時觀察到。

實例9：化合物2於已獲得來那度胺或泊馬度胺抗藥性之多發性骨髓瘤細胞株中具有活性

【0332】 於已獲得來那度胺或泊馬度胺抗藥性之細胞中測試化合物2活性，由於連續暴露於任一化合物中且於此過程中已獲得下調之沙利布倫蛋白(cereblon)含量(表11)。將細胞處理5天及然後使用ATP測定檢定(CellTiter-Glo)評估。藉由減去背景並歸一化至DMSO對照(對照之100%)計算對照之百分比。藉由西方墨點法(Western Blot)測定已獲得來那度胺或泊馬度胺抗藥性之細胞株中之沙利布倫蛋白之相對百分比且利用指定為100%之親本細胞株之量呈現。

【0333】 結果。圖6顯示比較化合物2與泊馬度胺活性之濃度反應曲線之IC₅₀以量測親本株(DF15、NCI-H929及OPM2)、來那度胺抗藥性細胞株(NCI-H929-1051)或五種泊馬度胺抗藥性細胞株(NCI-H929-P01、OPM2-P01、OPM2-P1、OPM2-P10及DF15R)之增生。

表11：用於開發多發性骨髓性瘤細胞株之藥物抗性且獲得沙利布倫
蛋白表現改變之化合物及化合物濃度

細胞株	抗藥性	沙利布倫蛋白 (%) (歸一化至親本株)
DF15	N/A	100
DF15R	100 µM Pom	14*
NCI-H929	N/A	100
NCI-H929-1051	10 µM Len	50
NCI-H929-P01	100 nM Pom	35
OPM2	N/A	100
OPM2-P01	100 nM Pom	61
OPM2-P1	1 µM Pom	33
OPM2-P10	10 µM Pom	31

N/A =不適用；Pom =泊馬度胺；*背景含量，非實際CRBN，其不存在於此細胞株中。

【0334】 結論：化合物2之最顯著作用為於MM細胞株中之廣泛且強效抗增生活性，但是在非致瘤細胞上則不然。化合物2於含有高風險易位(諸如t(4;14)、t(14;16)及其他)之MM細胞株中具有強效抗增生活性。相較於來那度胺及泊馬度胺，化合物2在殺死大多數MM細胞株上顯著更強效。此外，化合物2誘導細胞凋亡，如藉由於已獲得來那度胺及泊馬度胺抗藥性之MM細胞株中誘導卡斯蛋白酶-3活性所量測。

實例10：化合物2對髓系祖細胞至成人嗜中性白血球之成熟之離體作用

【0335】 方法：使用來自健康供體(HD)之骨髓(BM) CD34⁺細胞之離體培養物研究嗜中性白血球特異性離體成熟。藉由添加幹細胞因子(SCF)、fms相關酪胺酸激酶3配體(Flt3-L)及顆粒球群落刺激因子(G-CSF)

至培養基中誘導嗜中性白血球祖細胞之活體外分化。藉由流式細胞計以下列5個亞群中之細胞之百分比評估細胞分化：造血幹細胞(HSC, CD34⁺/CD33⁻/CD11b⁻)及階段I (CD34⁺/CD33⁺/CD11b⁻)、階段II (CD34⁻/CD33⁺/CD11b⁻)、階段III (CD34⁻/CD33⁺/CD11b⁺)及階段IV (CD34⁻/CD33⁻/CD11b⁺) (自不成熟至成熟)，如圖7中所示。評估化合物2對嗜中性白血球祖細胞之成熟之作用及評估不同給藥方案以獲得依賴於此等事件之方案之洞察力。

【0336】 結果。化合物2之短暫每日暴露。使用流式細胞計在預定時間點評估1、10及100 nM化合物2之不同暴露時間(2、4及6小時)持續長達3個連續日對嗜中性白血球祖細胞之成熟之影響。結果顯示嗜中性白血球祖細胞之晚期成熟藉由化合物2阻斷，其中於暴露一或多天後在更高濃度下成熟細胞數目顯著減少。成熟停滯似乎主要發生在階段III嗜中性白血球祖細胞發展，如藉由具有階段III細胞表面免疫表現型之細胞之積累及具有階段IV細胞表面免疫表現型(成熟嗜中性白血球)之細胞群之減少所證明。如圖8中所示，於6小時培育之實例中，此成熟效應係濃度依賴性且隨著暴露天數增加，但是不隨著個別暴露之持續時間(2、4或6小時)改變。重要地，暴露於化合物2之嗜中性白血球祖細胞及成熟嗜中性白血球之活力不受影響，如藉由不存在對死細胞中積累之膜聯蛋白V或7-胺基放線菌素(actinomycin) D陽性之細胞之比例之任何可探測的增加所證明。

【0337】 亦在系統中評估成熟嗜中性白血球暴露於化合物2後之恢復。成熟嗜中性白血球含量恢復至本研究所利用檢定系統中未處理對照組含量之至少50%，與沒有誘發臨床上顯著嗜中性白血球減少症或從嗜中性白血球減少症中恢復有相關性。的確，於無化合物2一週之時間段後，階

段IV細胞之比例自其最低點恢復至少50% (圖8, 下圖), 具有朝向在更低濃度下更快速且完全恢復之趨勢。

【0338】 結論：該等結果指示利用化合物治療之MM患者之嗜中性白血球減少症之成功處理有可能使用適宜給藥方案。

【0339】 更長每日化合物2暴露。為進一步表徵不同方案對嗜中性白血球祖細胞成熟及隨後恢復之抑制之潛在影響, 於暴露於1、10或100 nM化合物2 (每天6或24小時) 3或5個連續日後藉由流式細胞計評估上述階段之髓系祖細胞成熟各者對成人嗜中性白血球之相對比例之變化。在第10天開始之3或5個連續日將源自健康供體之CD34⁺ BM細胞暴露於化合物2中每天6小時(供體編號1及2)或24小時(供體編號3及4)。於最終暴露完成後, 在化合物2不存在下, 將細胞洗滌並再培育直至第22天。6及24小時暴露於化合物2中持續3或5個連續日二者導致嗜中性白血球之階段III群之建立與階段IV群之相應減少, 其與階段III至階段IV成熟之阻斷一致。如圖9及圖10中所示, 於6小時暴露各自持續3及5天之實例中, 自成熟停滯恢復之速度係濃度依賴性且受每日暴露之次數影響, 其在更高濃度之化合物2下及於暴露5天相對於3天後更拖延, 但是每日暴露之持續時間(6小時相對於24小時)之變化對恢復之表觀速度具有很小影響。

【0340】 於暴露於化合物2中持續3個連續日後, 於8至10天之藥物假期(drug holiday)後於所有測試條件下觀察到正常成熟之50%或更大恢復(圖10, 右圖)。相反, 於暴露於化合物2中持續5個連續日後, 於8至10天之藥物假期後僅對於1 nM及10 nM濃度觀察到正常成熟之50%或更大恢復。隨著最高濃度之化合物2 (100 nM), 可需要更長無藥期用於嗜中性白血球祖細胞之成熟恢復。然而, 儘管此成熟之不完全恢復, 但是在測試條

件(包括連續(24小時)暴露長達5天)中之任一者下未觀察到活力損失。此觀察與骨髓瘤細胞之凋亡之誘導相反，該誘導藉由連續暴露於化合物2中持續長於6小時最佳化。

【0341】 於5天方案之最後暴露後之6至8天期間，僅於暴露於10-nM濃度之化合物2中後觀察到階段IV (成熟嗜中性白血球)恢復之初始階段，然而於此時間段內於暴露於100 nM化合物2中歷時5天之培養物中未觀察到恢復。此等資料表明暴露於更高濃度之化合物2中歷時增加數目之連續日預示嗜中性白血球祖細胞(及嗜中性白血球減少症)之更拖延之成熟停滯及恢復速度係獨立於每日暴露之持續時間(6小時相對於24小時)。

【0342】 **結論：**一併考慮，資料表明患者之嗜中性白血球減少症之誘導及恢復可不受化合物2相較於每日一次給藥之更強化給藥(每天多個劑量)之不利影響。

實例11：地塞米松作為單藥劑及與化合物2組合對嗜中性白血球祖細胞之活體外成熟之效應

【0343】 **方法：**為瞭解地塞米松對嗜中性白血球減少症之影響，使用來自健康供體之活體外培養物BM CD34⁺細胞評估由作為單藥劑之地塞米松及與化合物2組合介導之嗜中性白血球減少症事件。為定義此模型中之地塞米松單藥療法之作用，將1、10或100 nM地塞米松暴露維持30小時，比較7種不同給藥方案(圖11)。用於組合研究，在培養之第13天開始將單一暴露化合物2 (1、10或100 nM)及地塞米松各自維持6及30小時。

【0344】 **結果。**結果顯示在任何測試方案下嗜中性白血球祖細胞之成熟不受暴露於單藥劑地塞米松之影響，然而晚期嗜中性白血球祖細胞之成熟由化合物2阻斷(圖12)，其中在所有測試濃度下於一次暴露後成熟細

胞之數目減少。當化合物2與地塞米松組合時，亦觀察到此成熟停滯。成熟阻斷係依賴於化合物2之濃度，但是不藉由改變地塞米松之濃度而改變。不成熟及成熟嗜中性白血球之活力不受地塞米松或化合物2 (單獨或組合)之影響。於藥物沖洗後，於一周藥物假期後於所有測試條件下觀察到正常成熟之完全恢復。

【0345】 結論。此等資料指示由化合物2造成之嗜中性白血球減少症可藉由修改給藥方案服從處理，但是預測藉由同時地塞米松治療既不減輕也不加重。

實例12：化合物2單獨及與地塞米松組合對來那度胺抗藥性多發性骨髓瘤之效應

【0346】 方法：評估地塞米松作為單藥劑或與化合物2、泊馬度胺或來那度胺組合誘導細胞凋亡之能力。於來那度胺抗藥性多發性骨髓瘤細胞(H929-1051)中使用Caspase-Glo量測凋亡之誘導。使用聲音分配器將地塞米松在20種濃度下分配。利用Hewlett-Packard D300數位分配器將測試物以單一濃度添加至地塞米松孔中。用於檢定之化合物之最終濃度為：地塞米松(0.8 μ M至0.00002 μ M)、來那度胺(1 μ M)、泊馬度胺(0.1 μ M)及化合物2 (0.001、0.01或0.1 μ M)。將細胞用Multidrop分配器分配至檢定板中及製備複製板用於檢定。在使用Caspase-Glo 3/7及CellTiter-Glo檢定處理化合物後72小時取細胞凋亡讀數。將Caspase-Glo 3/7發光歸一化至CellTiter-Glo發光以說明細胞數目之差異。如下計算所處理樣本之倍數變化：歸一化之所處理樣本之卡斯蛋白酶/歸一化之DMSO對照之平均值。

【0347】 結果：藉由卡斯蛋白酶-3誘導量測地塞米松單獨或與來那度胺、泊馬度胺或化合物2組合之細胞凋亡活性。化合物2與地塞米松協同

降低細胞活力及以濃度依賴性方式增強地塞米松之細胞凋亡能力。在化合物2之存在下，地塞米松活性之發作偏移1 log。

【0348】 結論：化合物2增強地塞米松之細胞凋亡活性，其指示當於臨床中與化合物2組合使用時，降低地塞米松之劑量之可能。

【0349】 如圖13中所示，於利用化合物2與地塞米松組合治療後觀察到急劇雙向協同作用。少至10nM地塞米松增強化合物2之細胞殺死能力及低至亞奈莫耳濃度之化合物2增強地塞米松之細胞凋亡作用。

實例13：化合物2增強來自健康人類供體之免疫細胞之抗腫瘤活性

【0350】 利用外周血單核細胞及K562細胞之共培養實驗。方法：人類外周血單核細胞(PBMC)製備：將自健康供體分離之PBMC於含有10% FBS之RPMI 1640培養基中以 1×10^6 個細胞/mL之密度培養。

【0351】 細胞培養：將K562細胞保持於對數期，及藉由錐蟲藍排除法使用Vi-CELL® XR細胞活力分析儀(Beckman Coulter, Brea, CA)監測細胞密度及活力。

【0352】 檢定程序：將新近分離之人類PBMC用重組IL-2在20單位/mL之濃度下培養72小時。然後將外周血單核細胞旋轉下來並於新鮮RPMI完全培養基中再懸浮至 2×10^6 個細胞/mL。然後將細胞用DMSO或化合物在指示濃度下處理並再培育72小時。然後在共培養之前將PBMC用新鮮RPMI完全培養基洗滌兩次。將K562細胞再懸浮至 1×10^6 /mL之細胞密度及根據製造商之說明用1 μ M CellTrace CFSE染色。然後將標記之K562細胞以 1×10^5 個細胞/孔接種於96孔圓底板中。然後將外周血單核細胞以1:15比率一式三份轉移至相同96孔板中及在37°C下培育4小時。根據製造商之說明使用膜聯蛋白V-螢光素異硫氰酸鹽(FITC)及碘化丙啶(PI)量測藉

由PBMC細胞之特定靶細胞裂解及在FACS Array掃描上運行樣本。未經標記之K562 細胞、CellTrace CFSE標記之K562細胞及膜聯蛋白V-FITC-及PI 標記之未經處理之K562 細胞包含於各檢定中作為對照。

【0353】 利用經化合物處理之人類外周血單核細胞及未經處理之骨髓瘤細胞株之共培養檢定。方法：細胞培養。將所有骨髓瘤細胞株保持於對數期，及藉由錐蟲藍排除法使用Vi-CELL XR細胞活力分析儀監測細胞密度及活力。

【0354】 PBMC處理檢定程序。將96孔板用抗CD3抗體(OKT3, 3 $\mu\text{g/mL}$)預塗覆及在實驗開始之前在4°C下培育過夜。在37°C下，將冷凍之PBMC供體於含有10% FBS之RPMI培養基中解凍2分鐘及在Vi-CELL® (Beckman Coulter)上量測細胞計數及活力。將外周血單核細胞洗滌並稀釋至 1×10^6 個細胞/mL及分配於總體積200 μL 之經化合物處理之板中。將細胞用化合物培育2小時，然後轉移至經抗CD3塗覆之板及在37°C下再培育72小時。於72小時後，將PBMC離心，及將細胞用RPMI培養基+ 10% FBS洗滌兩次。根據製造商之說明將未經處理之MM細胞株(H929及H929-1051)用CellTrace CFSE標記及以 0.1×10^6 個細胞/mL之總濃度再懸浮於總體積100 μL 之U形底96孔板中。將外周血單核細胞計數及以靶:效應子(T:E)比率1:5添加至MM細胞中。於24小時共培養後，根據製造商之說明使用膜聯蛋白V-AF647及7-AAD量測藉由PBMC之特定靶細胞裂解及在Attune NxT細胞計(Thermo Fisher)上運行樣本。

【0355】 PBMC及MM細胞處理檢定程序。將96孔板用抗CD3抗體(OKT3, 3 $\mu\text{g/mL}$)預塗覆及在實驗開始之前在4°C下培育過夜。在37°C下，將冷凍之PBMC供體細胞於含有10% FBS之RPMI培養基中解凍2分鐘

及在Vi-CELL分析儀上量測細胞計數及活力。將外周血單核細胞洗滌並稀釋至 1×10^6 個細胞/mL及分配於總體積200 μ L之經化合物處理之板中。將細胞用化合物培育2小時，然後轉移至經抗CD3塗覆之板及再培育72小時。同時，將MM細胞株(NCI-H929、H929-1051、OPM2、OPM2-P10)稀釋至 0.1×10^6 個細胞/mL之最終濃度及根據製造商之說明用CellTrace CFSE標記。然後將多發性骨髓瘤細胞株分配至總體積200 μ L之經化合物處理之板中及培育72小時。於72小時後，將PBMC及MM細胞計數及以最終T:E比率1:5轉移至U形底96孔板中。於24小時共培養後，根據製造商之說明使用膜聯蛋白V-AF647及7-AAD量測藉由PBMC細胞之特定靶細胞裂解及在Attune NxT細胞計上運行樣本。

【0356】 結果。使用共培養模型測定化合物2對取自健康供體之PBMC之抗腫瘤活性之直接影響。經IL-2激活之PBMC之化合物2處理以濃度依賴性方式誘導未經處理之K562細胞之殺死(圖14，右圖)。經化合物2處理之PBMC ($IC_{50} = 5.9 \text{ pM}$)較經泊馬度胺處理之PBMC (POM; $IC_{50} = 0.004 \text{ }\mu\text{M}$) 約600倍更有效且較經來那度胺處理之PBMC (LEN; $IC_{50} = 0.02 \text{ }\mu\text{M}$) 約2600倍更有效達成50%直接K562細胞殺死。雖然化合物2較來那度胺及泊馬度胺更有效，但是反應量級在該等化合物中係相似的(圖14，右圖)。

【0357】 為比較敏感細胞之反應，於顯示抗性表現型之細胞株中進一步檢查化合物2對利用化合物2培育之PBMC之抗MM細胞活性之影響。於不同共培養模型中，將PBMC供體細胞用化合物2、來那度胺或泊馬度胺預處理2小時，然後在經抗CD3抗體塗覆之板上培養72小時。利用化合物2處理之經抗CD3抗體激活之PBMC證實未經處理之來那度胺敏感(NCI-

H929；IC₅₀ = 0.005 μM)及來那度胺抗藥性(H929-1051；IC₅₀ = 0.0002 μM) MM細胞株之腫瘤細胞裂解之濃度依賴性增加至相似程度(圖15)。關於降低活MM細胞之百分比，化合物2較來那度胺及泊馬度胺更強效。與來那度胺敏感及來那度胺抗藥性共培養之腫瘤細胞相比看出PBMC之腫瘤細胞殺死之相似程度，其顯示PBMC經引發以獨立於其抗性表現型殺死腫瘤細胞。

【0358】 因為免疫細胞利用化合物2之預培育增強MM細胞之靶向及裂解，所以亦探索MM細胞利用化合物2之預培育對其免疫介導之殺死之易感性的影響(圖16，表12)。將四種MM細胞株及經抗CD3抗體激活之PBMC分別用化合物2、來那度胺及泊馬度胺預培育72小時。當將經抗CD3抗體激活之PBMC及MM株均用化合物、來那度胺或泊馬度胺預處理，接著共培養時，在殺死反應之效力及幅度上均增強對PBMC誘導之MM細胞裂解之影響。比較單一MM細胞培養物相對於免疫及腫瘤細胞共培養物之IC₅₀值，化合物2增強NCI-H929細胞之殺死約7000倍且其增強H929-1051細胞之殺死約6000倍。針對泊馬度胺抗藥性OPM2-P10細胞株，MM細胞之化合物2處理增強免疫介導之殺死約3000倍(表12)。

表12：單一培養物相對於共培養物中之多發性骨髓瘤細胞株之免疫介導之細胞殺死

多發性骨髓瘤細胞株	培養條件	免疫介導之細胞殺死		
		IC ₅₀ (μM)		
		來那度胺	泊馬度胺	化合物2
NCI-H929	單一	> 10	> 10	0.5810
	共培養	0.3173	0.0444	8.702e-005
H929-1051	單一	> 10	> 10	0.5753

多發性骨髓瘤細胞株	培養條件	免疫介導之細胞殺死		
		IC ₅₀ (μM)		
		來那度胺	泊馬度胺	化合物2
OPM2	共培養	0.8782	0.0713	0.0001
	單一	> 10	0.6273	0.0003
OPM2-P10	共培養	1.722	0.1685	9.361e-005
	單一	> 10	> 10	> 10
RPMI-8226	共培養	8.094	1.181	0.0031
	單一	> 10	> 10	0.0134
	共培養	0.1245	0.0676	8.387e-005
	單一	> 10	> 10	0.0134

IC₅₀ =導致50%細胞殺死之濃度。

【0359】 結論：經化合物2處理之PBMC誘導未經處理之K562及MM細胞株之腫瘤裂解至與利用來那度胺及泊馬度胺看到之相同程度，雖然具有更大效力。此外，若將PBMC及MM細胞株均用化合物2預處理，則腫瘤細胞殺死極大增強，其指示除了其有效細胞自主效應外，化合物2亦可增強MM細胞株之免疫原性。除了其免疫調節性質外，對MM細胞之有效細胞自主及免疫原效應之組合使化合物2為用於臨床之潛在候選者。

實例14:化合物2與達雷木單抗組合對多發性骨髓瘤之效應

【0360】 達雷木單抗(批准用於治療多發性骨髓瘤之抗CD38抗體)通過抗體依賴性細胞毒性(ADCC)、抗體依賴性細胞吞噬作用(ADCP)及互補依賴性細胞毒性(CDC)發揮其抗骨髓瘤活性。於MM細胞株中評估化合物2或泊馬度胺與達雷木單抗組合之作用。

【0361】 ADCC檢定：於活體外藉由流式細胞計於MM細胞株組中評估化合物2或泊馬度胺對達雷木單抗介導之ADCC之作用。在檢定開始

之前，將NK細胞於含有10 U/mL之重組人類IL-2之NK培養基中培養過夜。將NK細胞洗滌及以 3.75×10^6 個細胞/mL再懸浮於NK細胞培養基中。在於ADCC檢定中使用之前，將MM細胞用亞致死濃度之化合物2或泊馬度胺預處理72小時。將MM細胞洗滌及根據製造商之說明用Tag-it Violet™增生及細胞跟蹤染料(Cell Tracking Dye)標記，接著以 0.75×10^6 個細胞/mL之濃度再懸浮於NK培養基中。於96孔板中以效應子:腫瘤比率10:1一式三份進行ADCC檢定。將MM細胞(10 µL)與10 µL 2x濃度之達雷木單抗於孔中混合，接著添加20 µL NK細胞。將共培養物在37℃下培育3小時，接著在室溫下添加50 µL 7-AAD溶液持續15分鐘。在BD Celesta流式細胞計上進行分析。

【0362】 ADCP檢定：於MM細胞株組中測定化合物2或泊馬度胺對達雷木單抗介導之ADCP之效應。於含有50 ng/mL之M-CSF之100 µL體積之完全AIM-V培養基中將單核細胞以40,000個細胞/孔平板接種於96孔板中。在室溫下，允許將細胞安頓在板上15分鐘，然後放入37℃、5% CO₂培育器中9天以允許分化成巨噬細胞。每3至4天將培養基補充新鮮完全培養基。在ADCP檢定之早上，在37℃、5% CO₂下將巨噬細胞血清饑餓2至4小時，然後與MM細胞共培養。將MM細胞用亞致死濃度之化合物2或泊馬度胺預處理72小時。在檢定當天，將MM細胞用PBS洗滌及用CSFE標記15分鐘。利用等體積之20% FBS停止反應。將細胞用PBS洗滌兩次及以 1.6×10^6 個細胞/mL再懸浮於AIM-V培養基中。在室溫下，將50 µL MM細胞與50 µL 2 µg/mL達雷木單抗混合10分鐘，然後添加至血清饑餓之巨噬細胞中。將各條件一式三份檢定。檢定之最終體積為200 µL，其含有具有效應子:靶比率2:1之10%人類血清。將板以500 rpm旋轉1分鐘，

接著在37℃、5% CO₂下培育3小時。在培育結束時，將板用100 μL PBS洗滌及將剩餘細胞用抗CD14及抗CD138染色以各自識別巨噬細胞及MM細胞。將板洗滌及將孔填充100 μL PBS。利用添加50 μL 0.25%胰蛋白酶將巨噬細胞自孔之底端分離。利用添加50 μL完全AIM-V培養基將樣本中和。在流式細胞計上分析樣本。藉由CSFE/CD14雙陽性細胞除以CD14+細胞株之總數目乘以100測定吞噬作用百分比。

【0363】 結果：利用化合物2及泊馬度胺處理MM細胞導致CD38表現之劑量依賴性增加(圖17)。利用化合物2之CD38表現之程度相較於泊馬度胺更大且在更低濃度下發生。於ADCC檢定中利用達雷木單抗評估MM細胞+/-化合物2或泊馬度胺預處理。經化合物2處理之MM細胞證實利用達雷木單抗相較於未經處理之細胞更高程度之腫瘤裂解(圖18)。經化合物2處理之細胞亦相較於經泊馬度胺處理之細胞對達雷木單抗介導之ADCC更敏感。亦測試化合物2及泊馬度胺調節達雷木單抗介導之ADCP之能力。經化合物2處理之MM細胞相較於未經處理及經泊馬度胺處理之細胞對達雷木單抗介導之ADCP更敏感(圖19)。僅所測試之一種細胞株(ARH-77)未顯示利用化合物2或泊馬度胺之增強之ADCP但是證實利用化合物2之增強之ADCC。

【0364】 結論：化合物2上調MM細胞中之CD38表現，其導致相較於泊馬度胺或未經處理之細胞增加之達雷木單抗介導之ADCC及ADCP。此資料表明達雷木單抗與化合物之組合相較於與泊馬度胺之組合或達雷木單抗單獨可有效治療MM。

實例15：化合物2與蛋白酶體抑制劑組合對多發性骨髓瘤之效應

【0365】 在利用蛋白酶體抑制劑及測試化合物處理之前24小時，將

適宜數目之細胞於新鮮培養基中分裂成 $0.2 \times 10^6/\text{mL}$ 之濃度以允許指數生長。在處理當天，將化合物新近溶解於DMSO中。將蛋白酶體抑制劑硼替佐米或卡非佐米稀釋及以針對硼替佐米150 nM或300 nM及針對卡非佐米300 nM或550 nM之最終工作濃度添加至預升溫之培養基中。基於臨床C_{max}濃度以及各細胞株之先前研究測定蛋白酶體抑制劑濃度，該等研究測定抑制特定量之 $\beta 5$ 蛋白酶體活性所需之持續時間及PI之濃度。將細胞計數及將適宜數目放入含有蛋白酶體抑制劑之培養基中並完全混合。於37℃、5% CO₂下培育1小時後，將細胞用40 mL完全培養基洗滌兩次以移除蛋白酶體抑制劑。檢定各蛋白酶體處理之等分試樣以證實 $\beta 5$ 、 $\beta 2$ 及 $\beta 1$ 亞單元抑制之程度。將細胞再懸浮至 $0.1 \times 10^6/\text{mL}$ 及以100 μL /孔平板接種於含有化合物2或泊馬度胺之一式三份滴定之新鮮培養皿中。針對實驗剩餘部分，將平板接種之細胞在37℃、5% CO₂下培養長達72小時。每24小時，藉由基於細胞之蛋白酶體-Glo檢定監測蛋白酶體抑制。在72小時時，藉由流式細胞計量測增生及凋亡。將細胞用APC膜聯蛋白-V及7-AAD染色以列舉培養中剩餘活細胞之數目。

【0366】 結果。為模擬暴露於蛋白酶體抑制劑硼替佐米及卡非佐米之臨床藥物動力學(PK)及藥效動力學(PD)建立活體外細胞檢定。模型採用蛋白酶體抑制劑之短暫暴露，接著徹底清除化合物以利用臨床相關濃度之蛋白酶體抑制劑對細胞給藥，同時達成於活體內觀察到之快速清除。此外，可跨所有細胞株達成 $\beta 5$ 蛋白酶體抑制之可比較程度。使用此模型評估化合物2與硼替佐米或卡非佐米組合於多發性骨髓瘤及漿細胞白血病細胞株組(泊馬度胺抗藥性OPM2.P10、RPMI.8226及漿細胞白血病株L363及JJN-3)中之組合效果。

【0367】 硼替佐米及化合物2證實於所測試之兩種MM株(OPM2.P10及RPMI.8226)中以及於漿細胞白血病細胞株中之一者(JJN-3)中之組合效果。可不評估於L363細胞株中之組合效果，因為在此活體外檢定之條件下硼替佐米不具有對細胞活力之單藥劑活性(圖20及圖21A)。

【0368】 雖然在實驗之間卡非佐米處理於其歷時1小時處理之過程中達成之細胞殺死之百分比係可變，但是於所有4種細胞株中證實與化合物2之組合效果(圖21B)。

【0369】 **結論：**出人意料地，化合物2在臨床相關程度之蛋白酶體抑制下維持其細胞殺死能力。化合物2與硼替佐米或卡非佐米之組合證實對MM細胞之凋亡及抗增生活性之增加。

實例16：化合物2與組蛋白去乙酰化酶抑制劑、化療劑、Bcl-2抑制劑、Mcl-1抑制劑、BET抑制劑或LSD-1抑制劑組合之效果。

【0370】 於MM細胞株組中評估化合物2與具有各種機理之小分子抑制劑組合治療之效果。基於其臨床前及/或對MM之活性，選擇十三種小分子抑制劑用於與化合物2之組合研究。選擇細胞株H929-1051、KMS11、KMS-12PE、L363、OPM-P10及RPMI8226用於此研究以代表跨MM細胞株之不同遺傳聚類群。選擇用於組合治療之化合物濃度在單藥劑之IC₅₀之1 log以上及2 log以下之範圍。組合劑以1:3稀釋以6點劑量反應曲線(DRC)給藥，化合物2亦以1:3稀釋以10點DRC給藥。運行組合實驗兩次，每次在分開板上重複資料。使用聲音分配器將化合物預加入384孔板之適宜孔中。在37℃與5% CO₂下，使用含有1x盤尼西林-鏈黴素(Penicillin-Streptomycin)之指示細胞培養基將所有MM細胞株於培育器中培養。使用Multidrop Combi試劑分配器將細胞添加至含有化合物之384孔板中及允

許在 37 °C 與 5% CO₂ 下培育 3 天。於 3 天後，經由在發光檢測器 (PerkinElmer Envision) 上量測之 Cell Titer-Glo 評估細胞 ATP 含量之程度。

【0371】 使用最高單藥劑(HAS)方法以劑量反應曲線資料檢測協同作用。自反應表面觀點分析組合。將統計框架(Van Der Borgh, K.等人，BIGL: Biochemically Intuitive Generalized Loewe null model for prediction of the expected combined effect compatible with partial agonism and antagonism; *Scientific Reports*, 7 (1), 17935-1-17935-9 (2017))併入在HAS零模型之頂部利用以下兩個統計測試之分析中：1)完全反應表面不同於零模型，2)單孔不同於零模型。

【0372】 結果：於多發性骨髓瘤細胞株組中評估化合物2與小分子抑制劑組合之治療效果。篩選化合物2與14種化合物組合及跨6個細胞株之所有孔計算協同作用。於所測試6種細胞株中之5者中，地塞米松及依託泊苷顯示與化合物2組合之顯著協同作用(圖22)。化合物2與BET抑制劑(4-[2-(環丙基甲氧基)-5-(甲磺醯基)苯基]-2-甲基異喹啉-1(2H)-酮(化合物D)、比拉瑞塞(birabresib)及GSK525762A)之組合亦證實於MM細胞中之協同活性，三種抑制劑中具有不同程度之協同作用。化合物2與AMG176 (MCL-1抑制劑)之組合顯示於三種細胞株(KMS11、KMS12-PE、L363)中之協同活性，同時化合物2與ACY241及帕比司他(組蛋白去乙醯化酶抑制劑)之組合各自於L363/OPM2-P10及L363/H929-1051中係協同的。化合物2與4-[2-(4-胺基-吡啶-1-基)-5-(3-氟-4-甲氧基-苯基)-1-甲基-6-側氧基-1,6-二氫嘧啶-4-基]-2-氟-苯甲腈(化合物E)之組合物於L363及KMS12-PE細胞中係協同的。MIK665 (MCL-1抑制劑)為於所測試6種MM細胞株中

唯一不顯示顯著協同作用之化合物。

【0373】 結論：利用化合物2與14種小分子中之12者組合治療證實於所測試MM細胞株中之至少一或多者中之協同活性。與化合物中之六者組合顯示於所測試之至少3種MM細胞株中之協同作用(圖22)。此資料表明利用化合物與所測試小分子抑制劑組合治療代表MM之潛在治療範例(包括具有協同活性之一些)。

實例17：化合物2單獨及與地塞米松組合之活體內抗腫瘤活性

【0374】 方法：利用具有來那度胺抗藥性NCI-H929 (H929-1051)多發性骨髓瘤/漿細胞瘤腫瘤之雌性SCID小鼠進行異種移植物研究。將雌性SCID小鼠於右後腿以上之側腹區皮下接種H929-1051細胞。於動物接種後，在隨機化之前允許腫瘤生長至約100 mm³。在腫瘤細胞接種後之第13天，將具有範圍在79與157 mm³之間之H929-1051腫瘤之小鼠彙集在一起並隨機分成各種處理組。將化合物2於含2% HPMC之水中調配(呈懸浮液)。將地塞米松於含0.5% CMC/0.25% Tween 80之去離子水中調配。將化合物2 (0.1 mg/kg)及地塞米松(0.5 mg/kg)每日一次經口投與持續於腫瘤細胞接種後之第13天開始之研究之持續時間。於組合組中，動物同時接受化合物2 (0.1 mg/kg/天)及地塞米松(0.5 mg/kg/天)持續於腫瘤細胞接種後之第13天開始之研究之持續時間。使用測徑器每週兩次量測腫瘤及使用公式 $W^2 \times L / 2$ 計算腫瘤體積。使用單向或雙向方差分析(ANOVA)進行統計分析。使用分數乘積法進行協同作用計算。

【0375】 結果：利用單藥劑化合物2治療顯著($p < 0.01$)抑制(-34%) H929-1051多發性骨髓瘤腫瘤生長。利用地塞米松作為單藥劑治療邊緣抑制(-20%) H929-1051異種移植物腫瘤生長。利用0.1 mg/kg之化合物2與

0.5 mg/kg之地塞米松組合投與之治療產生腫瘤體積之顯著($p < 0.0001$)減少，當與媒劑對照比較時，顯示84%之腫瘤體積減少。於利用Bonferroni之測試後之雙向ANOVA中，此組合抗腫瘤活性顯著優於化合物2單獨(84%對34% TVR； $p < 0.0001$)或地塞米松單獨(84%對20% TVR， $p < 0.0001$)。使用分數乘積法，確定0.1 mg/kg之化合物2及0.5 mg/kg之地塞米松之組合抗腫瘤活性協同減少腫瘤體積。(圖23)

【0376】 結論：化合物2與地塞米松組合展示於NCI-H929多發性骨髓瘤/漿細胞瘤腫瘤模型中減少腫瘤體積之協同作用，指示化合物2與地塞米松之組合治療顯示於來那度胺抗藥性MM模型中之協同抗腫瘤活性。化合物2增強地塞米松之凋亡活性，其指示當於臨床中與化合物2組合使用時降低地塞米松之劑量之可能。

實例18：化合物2單獨及與硼替佐米組合之活體內抗腫瘤活性

【0377】 方法：利用具有來那度胺抗藥性NCI-H929 (H929-1051)多發性骨髓瘤/漿細胞瘤腫瘤之雌性SCID小鼠進行異種移植物研究。將雌性SCID小鼠於右後腿以上之側腹區皮下接種H929-1051細胞。於動物接種後，在隨機化之前允許腫瘤生長至約500 mm³。在腫瘤細胞接種後之第31天，將具有範圍在366與535 mm³之間之H929-1051腫瘤之小鼠彙集在一起並隨機分成各種處理組。將化合物2於含2% HPMC之水中調配(呈懸浮液)。將硼替佐米於含1% DMSO之鹽水中調配(呈溶液)。將化合物2 (1 mg/kg)每日一次經口投與持續於腫瘤細胞接種後之第31天開始之3個連續日。於腫瘤細胞接種後之第31天，硼替佐米(1 mg/kg)呈單一劑量經靜脈內投與。於組合組中，動物在第31至33天經口接受化合物2 (1 mg/kg/天)及硼替佐米呈單一劑量在第31天經靜脈內投與。在第31天，在化合物2之

第一劑量之前1小時投與硼替佐米。使用測徑器每週兩次量測腫瘤及使用公式 $W^2 \times L / 2$ 計算腫瘤體積。當腫瘤體積達到約2000 mm³之預定端點時將動物安樂死。使用單向或雙向方差分析(ANOVA)進行統計分析上至第50天。使用分數乘積法進行協同作用計算。

【0378】 結果：於腫瘤細胞接種後之第31至33天，每天一次投與單藥劑化合物2持續3個連續日(qdx3)之治療在第50天顯著($p < 0.0001$)抑制(-44%) H929-1051多發性骨髓瘤腫瘤生長。經化合物2 (1 mg/kg)治療之動物腫瘤隨時間生長及在第58天達到約2000 mm³。在第31天以單一劑量投與作為單藥劑之硼替佐米之治療在第50天顯著($p < 0.0001$)抑制(-60%) H929-1051異種移植物腫瘤生長。經硼替佐米(1 mg/kg)治療之動物腫瘤隨時間生長及在第66天達到約2000 mm³。1 mg/kg之化合物2 (qdx3)與1 mg/kg之硼替佐米(單一劑量)組合投與之治療產生腫瘤體積之顯著($p < 0.0001$)減少，當與媒劑對照比較時，在第50天顯示98%之腫瘤體積減少。於利用Bonferroni之測試後之雙向ANOVA中，此組合抗腫瘤活性顯著優於化合物2單獨(98%對44% TVR； $p < 0.0001$)或硼替佐米單獨(98%對60% TVR； $p < 0.0001$)。使用分數乘積法，確定1 mg/kg之化合物2及1 mg/kg之地塞米松之組合抗腫瘤活性協同減少腫瘤體積。出人意料地，在腫瘤細胞接種之第53天，經化合物2與硼替佐米之組合治療之9隻動物中之7者變得無腫瘤及保持無腫瘤。(圖24)

【0379】 結論：化合物2與硼替佐米組合展示於來那度胺抗藥性NCI-H929漿細胞瘤腫瘤模型中減少腫瘤體積之協同作用及出人意料地產生無腫瘤動物。

實例19：1期臨床研究-復發且難治之多發性骨髓瘤

【0380】 進行1期多通道、開放式研究以評估化合物2與地塞米松組合於患有復發且難治之多發性骨髓瘤(RRMM)之個體中之安全性、藥物動力學及初步功效。

【0381】 目標：該研究之主要目標為評估藥物動力學(PK)、安全性/耐受性及定義化合物2與地塞米松結合兩種化合物2給藥方案之最小量組合之最大耐受劑量(MTD)/建議之第2部分劑量(RP2D)。次要目標為評估化合物2與地塞米松組合之初步功效。

【0382】 研究設計：此為開放標記、多通道、國際、1期研究以評估化合物2與地塞米松組合於患有RRMM之個體中之安全性、PK/PD及初步功效。所有合格個體必須針對已知賦予RRMM之臨床效益之可得療法已失敗、不耐受或非原本為候選。

【0383】 以兩部分進行該研究：第1部分評估擴大劑量之化合物2與同時標準劑量地塞米松之PK/PD及安全性及測定根據兩個不同給藥方案之最小量投與之組合之MTD/RP2D。第2部分由用於兩種給藥方案之在RP2D下之化合物2之單臂擴展群加上地塞米松組成。除了安全性、PK及PD評估外，所有個體接受依照國際骨髓瘤工作組(International Myeloma Working Group, IMWG)統一反應標準之每月反應評估(Rajkumar等人，Consensus recommendations for the uniform reporting of clinical trials: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 1. *Blood*, 2011, 117(18):4691-5；Kumar等人，International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma, *Lancet Oncology*, 2016, 17:e328-46)及可繼續研究治療直至疾病進展、不耐受毒性或醫師或個體

決定中止研究治療。

【0384】 遵從國際協調委員會 (International Council on Harmonisation, ICH)對人類用醫藥註冊之技術要求/良好臨床實務(Good Clinical Practice/GCP)及適用之監管要求進行該研究。

【0385】 第1部分(劑量擴大)：患有RRMM之個體群接受擴大劑量之化合物2加上固定劑量之地塞米松(40 mg/劑量；於 ≥ 75 個體中20 mg/劑量)以評估其安全性、MTD/RP2D及PK/PD分佈。於第1部分中評估兩個不同給藥方案之最小量，第一方案由每28週期10個連續日每日一次(QD)給藥，接著4天無治療 x 2組成(稱作20/28方案)。第二方案由每週期每日兩次(BID)給藥持續3個連續日，接著11天無研究治療x 2組成(稱作6/28方案)。初始劑量群接受20/28方案之0.1 mg/天化合物2 QD及6/28方案之0.2 mg BID。藉由發起者視用於一或兩個方案之個體位置之可用性而定指定個體分配。不允許給藥方案之間之轉換。可在等待與20/28及6/28方案相關之初始安全性及PK/PD結果之結果期間根據協定修正之條款探索其他給藥方案(例如，每28天週期5天化合物2給藥接著9天無治療x 2或7天給藥接著7天無治療x 2)。

【0386】 針對所有給藥方案，出於MTD測定之目的，週期1第1至28天構成劑量限制性毒性(DLT)評估期。若個體於週期1中在20/28方案之20個劑量日中之至少16日及在6/28方案之6個劑量日中之至少5日接受規定劑量之化合物2或經歷DLT，則個體係DLT可評估。替換無DLT可評估之個體。

【0387】 於各方案中，三個或更多個體群以於連續群中以100%增量增加之劑量接受化合物2直至不可清楚且無疑歸因於外來原因之兩個2級

治療緊急不良事件之發生。之後，確保劑量增量不超過50%直至之第一DLT之發生。於任一給藥方案中之第一DLT之發生後利用使用邏輯回歸之貝葉斯(Bayesian)劑量擴大方法學，其中化合物2之指定劑量、每天給藥之次數(QD對BID)及針對各方案連續劑量日之數目(3對10)作為協變數。針對所有方案，化合物2加上地塞米松之組合之靶毒性率為20%。

【0388】 在DLT評估期期間，不允許個體內劑量擴大，然而，於週期2及以後，具有其指定劑量之化合物2之無疾病進展證據之個體可(在研究者之裁量下及利用研究之醫療監護儀會診)擴大至最高劑量程度，該劑量程度顯示藉由個體之至少一個群於指定給藥方案中足夠耐受。

【0389】 **第2部分(群組擴展):**完成第1部分後，於每給藥方案之20個個體中進行化合物2加上地塞米松之單臂擴展研究以在RP2D及方案下進一步評估其安全性、PD及功效。

【0390】 在測定化合物2加上地塞米松之RP2D時，亦可平行開始評估安全性/耐受性、PK及化合物2/地塞米松與所關注之其他抗骨髓瘤劑(例如，抗CD38)組合於具有不同先前治療史及/或預後特徵之一或多個個體群中之初始功效作為此協定之一部分。

【0391】 **研究群體：**可募集患有MM之 ≥ 18 歲之個體，該等個體係其最後治療線難治的，針對已知對患有復發且難治疾病之個體賦予臨床效益之可得療法已失敗或不耐受或非原本為候選，患有東部合作腫瘤學組表現狀態(ECOG PS) 0至2、可量測疾病及適當骨髓、腎及心臟功能。排除具有同種異基因移植、非MM或寡分泌MM、漿細胞白血病或原發性難治MM史(即，對先前治療方案無至少最小反應史)之個體。

【0392】 **納入標準：**於該研究中募集之個體必須滿足下列標準：

- 1.在簽署知情同意書(ICF)時個體係≥ 18歲。
- 2.在進行任何研究相關評估/程序之前，個體必須理解且自願簽署 ICF。
- 3.個體願意且可遵循研究隨訪方案及其他協定要求。
- 4.東部合作腫瘤學組(ECOG)表現狀態評分為0、1或2。
- 5.在募集時，個體必須具有MM之記錄在案之診斷及可量測疾病。將可量測疾病定義為：
 - a.藉由sPEP之M蛋白數量≥ 0.5 g/dL或
 - b.藉由uPEP之尿液收集≥ 200 mg/24 h或
 - c.無可檢測血清或尿液M-蛋白之個體中涉及輕鏈及異常κ/λ比率之血清FLC含量> 100 mg/L (毫克/升)或
 - d.針對患有免疫球蛋白A類(IgA)骨髓瘤之個體，其疾病僅可藉由定量免疫球蛋白量度可靠量測，血清IgA含量≥ 0.50 g/dL。
- 6.所有個體必須：
 - a.具有記錄在案之在其最後一次骨髓瘤療法之最後劑量時或自其最後一次骨髓瘤療法之最後劑量之60天之內之疾病進展，及
 - b.用可得療法治療失敗、對可得療法不耐受或非原本為可得療法之候選者，已知該等可得療法對患有RRMM之個體賦予臨床效益。

註釋：先前治療線必須包括(至少)個別投與(以任何順序)或一起投與之蛋白酶體抑制劑及沙利布倫蛋白調節劑。
- 7.個體必須具有下列實驗室值：
 - 無生長因子支持≥ 7天(針對培非格司亭(pegfilgrastim)≥ 14天)下絕對嗜中性白血球計數(ANC) ≥ $1.25 \times 10^9/L$ 。

- 血紅蛋白(Hgb) ≥ 8 g/dL。
- 無輸血 ≥ 7 天之血小板(plt) $\geq 75 \times 10^9/L$ (針對具有 $> 50\%$ 骨髓漿細胞之個體 $\geq 50 \times 10^9/L$)。
- 校正之血清鈣 ≤ 13.5 mg/dL (≤ 3.4 mmol/L)。
- 24小時肌酸酐清除(CrCl) ≥ 45 mL/min。
- AST/SGOT及ALT/SGPT ≤ 3.0 x正常值上限(ULN)。
- 血清膽紅素 ≤ 1.5 x ULN。
- 尿酸 ≤ 7.5 mg/dL (446 μ mol/L)。
- PT/INR < 1.5 x ULN及部分凝血活酶時間(PTT) < 1.5 x ULN，
(針對不接受治療性抗凝之個體)。

註釋：接受針對在登記前 >3 個月發生之血栓栓塞事件治療之個體係合格，只要其處於利用華法林(warfarin)、低分子量肝素或其他批准治療性抗凝方案抗凝之穩定協定。

8.有生育潛力之女性(FCBP)必須：

a.進行兩次陰性妊娠測試，如由研究者在開始研究治療之前所證實。她必須同意在研究過程期間及於中止化合物2後進行妊娠測試。即使個體實行真正禁欲*不與異性接觸，此仍適用。

b.在開始化合物2之前28天、在研究治療期間(包括在劑量中斷期間)及於研究治療中止後28天承諾真正禁欲*不與異性接觸(其必須按月複查及記錄來源)或同意使用且能遵從兩種可靠形式之不間斷避孕。

註釋：有生育潛力之女性(FCBP)為下列女性：1)在某一時刻已達成初潮，及2)尚未接受子宮切除術或雙側卵巢切除術，或3)非自然絕經後

(於癌症治療後之停經不排除生育潛力)持續至少24個連續月(即，在上述24個連續月之任何時間已有月經)。

9. 男性個體必須：

a. 實行真正禁欲* (其必須按月複查)或同意當參與該研究時(甚至在劑量中斷期間)，在與懷孕女性或有生育潛力之女性性接觸期間使用避孕套且於化合物2中止後持續至少3個月，即使他已接受成功輸精管切除術。

*當此符合個體之首選及日常生活方式時，真正禁欲係可接受。週期性禁欲(例如，日曆、排卵、症狀體溫、排卵後方法)及性交中斷(撤回)為避孕之不可接受方法。

10. 當使用化合物2時及於其中止後90天，男性必須同意克制捐獻精子。

11. 當使用化合物2時及於其中止後28天，所有個體必須同意克制獻血。

【0393】 排除標準：下列中之任一者之存在排除個體募集：

1. 個體患有將阻止個體參與該研究之顯著醫學病狀、實驗室異常或精神病。

2. 個體患有包括實驗室異常之存在之任何病狀，若他/她參與該研究，則該病狀使個體面臨不可接受風險。

3. 個體患有混淆解釋研究資料之能力之任何病狀。

4. 個體患有非多發性骨髓瘤或寡分泌多發性骨髓瘤。

5. 個體患有漿細胞白血病或活性軟腦膜骨髓瘤病。

6. 個體患有記錄在案之系統輕鏈澱粉樣變性或多發性神經病、器官巨

大症、內分泌病、單株丙種球蛋白病及皮膚變化(POEMS)症候群。

7.個體患有免疫球蛋白M類(IgM)骨髓瘤。

8.個體具有異基因骨髓移植史。

9.個體正在接受透析。

10.個體患有外周神經病 ≥ 2 級。

11.個體患有可顯著改變化合物2之吸收之胃腸疾病。

12.個體具有受損心臟功能或臨床顯著心臟病，包括下列中之任一者：

- 在篩選時，LVEF $< 45\%$ ，如藉由ECHO或MUGA所測定。
- 在篩選時，完全左束支、雙束阻滯或其他臨床顯著異常心電圖

(ECG)發現。

- 在篩選ECG時，延長之QT間隔，如藉由使用Fredericia's QT校正公式QTc間隔 >480 毫秒(ms)之重複證明所定義；Torsades de Pointe (例如，心力衰竭、低鉀血症或QT延長症候群之家族史)之歷史或當前風險因素；及延長QT/QTc間隔之藥劑之同時投與。

- 充血性心力衰竭(紐約心臟協會(New York Heart Association) III或IV級)。

- 在開始化合物2之前 ≤ 6 個月心肌梗死。

- 不穩定或不良控制之心絞痛，包括心絞痛Prinzmetal氏變異體。

13.強CYP3A調節劑之同時投與。

14.在開始化合物2之前 ≤ 5 個半衰期或4週(以較短者為準)，個體經先前全身性骨髓瘤治療(批准或研究)。

15.在開始化合物2之前 ≤ 2 週個體經大手術。**註釋：**個體必須自近期

手術之任何臨床顯著效果恢復。

16.個體為懷孕或哺乳女性或意欲在參與研究期間懷孕。

17.個體具有已知人類免疫缺陷病毒(HIV)感染。

18.個體具有已知活性慢性B型肝炎或C型肝炎病毒(HBV/HCV)感染。

19.個體具有需進行全身治療之併發第二癌症史。

20.個體具有除了MM外之先前惡性腫瘤史，除非個體無病 ≥ 3 年，除了下列利用治療意圖治療之非侵襲性惡性腫瘤外：

- 皮膚基底細胞癌或皮膚鱗狀細胞癌。
- 子宮頸或乳之原位癌。
- 1階段膀胱癌。
- 使用已利用治療意圖治療之惡性腫瘤OR前列腺癌之腫瘤/結節/轉移(TNM)分類之局限性前列腺癌(諸如腫瘤1a或1b (T1a或T1b))的附帶組織學發現。

21.個體具有對沙利度胺、來那度胺、泊馬度胺或地塞米松之過敏反應史。

22.個體具有對含於化合物2或地塞米松之調配物中之賦形劑已知或疑似之過敏性。

23.個體已於開始化合物2之14天內接受下列中之任一者：

- 血漿去除法。
- 除了用於MM相關骨病變之症狀減輕之局部療法以外之放射療法。

24.在化合物2之第一劑量之前之14天內個體已接受免疫抑制藥劑。

下列為此標準之例外：

- 鼻內、吸入、局部或局部皮質類固醇注射(例如，關節內注射)。
- 以不超過10 mg/天之潑尼松或當量之劑量之全身性皮質類固醇。
- 作為過敏反應之術前用藥之類固醇(例如，電腦斷層攝影(CT)掃描術前用藥)。

25.個體不能或不願接受要求靜脈血栓栓塞(VTE)預防之協定。

【0394】 研究長度：預期每個個體參與研究之持續時間平均為約6個月。預期全部募集耗時約21個月(針對第1部分18個月及針對第2部分3個月)完成。預期積極治療及治療後隨訪之完成再花費6至12個月。預期整個研究持續約33個月。

【0395】 將試驗終點(The End of Trial)定義為最後一個個體之最後一次訪問以完成治療後隨訪之日期，或收到來自最後一個個體之最後資料點之日期，需要該資料點用於一級、二級及/或探索性分析，如協定中預先規定，以較晚日期為準。

【0396】 研究治療：針對20/28方案募集之個體每日一次或針對6/28方案募集之個體每日兩次經口投與化合物2。針對20/28給藥方案募集之個體，於持續至少6小時之一夜禁食後在早上用至少240 mL水投與化合物2。於各早上劑量後之至少2小時，個體必須克制食物或其他藥劑攝入。針對6/28方案募集之個體按照如針對20/28方案各劑量日之第一劑量所概述之上述說明。於早上劑量後 12 ± 2 小時、在食物攝入後至少4小時及在食物攝入前2小時投與第二劑量。舉例而言，針對6/28給藥方案募集之個體可想像地可在早上7:00接受其化合物2之初始劑量，接著早上9:00早餐，中午午餐，早在下午5:00吃晚餐2小時後其化合物2之第二劑量(即，不早

於下午7:00)。注意僅在週期1，第1至3天(早晚)、第14天(僅晚上)、第15及16天(早晚)及第17天(僅早上)投與化合物2。

【0397】 針對兩種給藥方案，將地塞米松於禁食狀態下與化合物2投與或於化合物2後至少2小時與食物投與(除了二者必須同時給定之PK評估日外)。各自在20/28或6/28給藥方案之各週期之第1、8(僅週期1之第10天)、15及22天或第1、3、15 (僅週期1之第14天)及17天給定之地塞米松可於禁食狀態下與化合物2同時投與。或者(於具有地塞米松誘導之胃刺激史之個體中)，其可於化合物2後至少2小時與食物投與，除了二者應對所有個體同時投與之PK評估日外。針對所有個體，地塞米松之各劑量為針對< 75歲之個體40 mg及針對≥ 75歲之彼等20 mg。

【0398】 **關鍵功效評估概述：**主要功效變數為定義為個體百分比之最佳總反應率(ORR)，該等個體之最佳反應係≥ PR，如藉由IMWG統一反應標準所測定(Rajkumar等人，*Blood* 2011; 117(18):4691-5)。個體接受每月反應評估。藉由研究地點研究者基於以下測定骨髓瘤反應：於中央參考實驗室中評估之實驗室研究(血清蛋白電泳(sPEP)、尿蛋白電泳(uPEP)、免疫固定電泳(IFE)、血清游離輕鏈(sFLC)含量、定量免疫球蛋白A (IgA)、用於漿細胞定量之骨髓，視情況而定)或在當地評估之實驗室研究(即，校正之血清鈣、正電子發射斷層攝影/電腦掃描(PET/CT)或磁共振造影(MRI)用於漿細胞瘤評估及/或CT或骨骼調查用於骨病變評估)。其他功效變數包括至反應之時間(自化合物2之第一劑量至反應≥ PR之第一次記錄在案之時間)、反應持續時間(自反應(≥ PR)之第一次記錄在案至PD或死亡之第一次記錄在案之時間)及無進展生存期(自化合物2之第一劑量至任何原因之疾病進展或死亡之第一次發生之時間)。

【0399】 具有有效基線及至少一個基線後反應評估之所有安全個體包含於功效分析中。若因為除了疾病進展之原因中止治療，則請求個體根據指定評估方案繼續反應評估直至進展、撤回同意、死亡或開始新的全身性抗骨髓瘤療法，以最早者為準。

【0400】 **關鍵安全性評估概述：**此研究之安全性變數包括治療緊急不良事件(TEAE)及身體檢查/生命徵兆自基線之變化、選定之實驗室分析物及12-導聯心電圖(ECG)。其他安全性度量包括暴露於研究治療(化合物2及地塞米松二者)之程度、伴隨用藥之評估及針對有生育潛力之女性(FCBP)之妊娠測試。

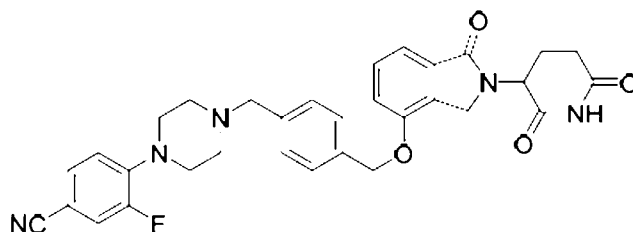
【0401】 **藥物動力學評估概述：**針對化合物2、其R-對映異構體(化合物3)及地塞米松進行PK分佈(初始劑量及穩定狀態)評估。視情況而定，可進行暴露反應分析以幫助識別化合物2 RP2D。

【0402】 上述實施例意欲僅係示例性，且熟習此項技術者將知曉或將能使用不超過常規實驗確定特定化合物、材料及程序之眾多等效物。認為所有此等等效物係於本發明之範圍內且涵蓋於隨附申請專利範圍中。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

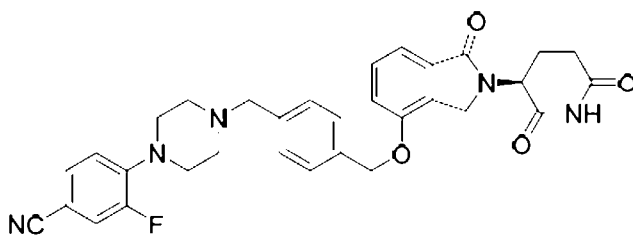
一種化合物或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽，其中該化合物為下式化合物1



1。

【請求項2】

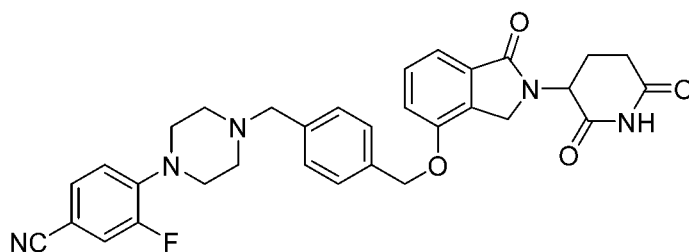
一種化合物或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽，其中該化合物為下式化合物2



2。

【請求項3】

如請求項1之化合物或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽，其係下式化合物1



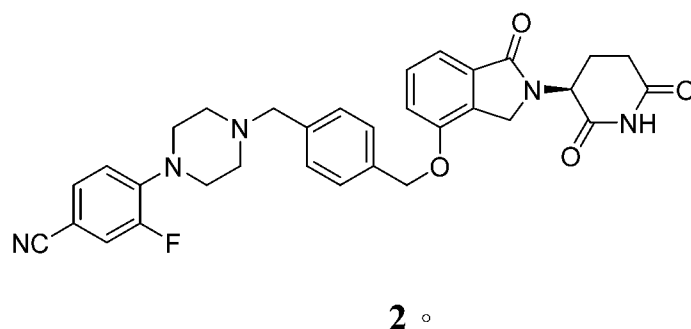
1。

【請求項4】

如請求項1之化合物或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽，其為化合物1之醫藥上可接受之鹽。

【請求項5】

如請求項2之化合物或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽，其為下式化合物2



【請求項6】

如請求項2之化合物或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽，其為化合物2之醫藥上可接受之鹽。

【請求項7】

一種醫藥組合物，其包含如請求項1、3及4中任一項之化合物或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽或如請求項2、5及6中任一項之化合物或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽。

【請求項8】

一種如請求項1、3及4中任一項之化合物或其對映異構體、對映異構體之混合物、互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽或如請求項2、5及6中任一項之化合物或其互變異構體、同位素體或醫藥上可接受之鹽之用途，其係用於製備治療多發性骨髓瘤之藥劑。

【請求項9】

如請求項8之用途，其中該多發性骨髓瘤係復發、難治或抗藥性。

【請求項10】

如請求項9之用途，其中該多發性骨髓瘤係來那度胺難治的或來那度胺抗藥性。

【請求項11】

如請求項9之用途，其中該多發性骨髓瘤係泊馬度胺難治的或泊馬度胺抗藥性。

【請求項12】

如請求項9之用途，其中該多發性骨髓瘤係對一種、兩種或三種抗多發性骨髓瘤療法難治的或抗藥性的。

【請求項13】

如請求項8之用途，其中該多發性骨髓瘤特徵為p53突變，p53之純合子缺失、一或多個致癌驅動因子之激活，或一或多個染色體易位。

【請求項14】

如請求項13之用途，其中該p53突變為Q331、R273H、K132N、R337L、W146、S261T、E286K、R175H、E258K或A161T突變；該一或多個致癌驅動因子係選自由C-MAF、MAFB、FGFR3、MMset、細胞週期蛋白D1及細胞週期蛋白D組成之群；及該染色體易位為t(14;16)、t(14;20)、t(4;14)、t(11;14)、t(6;20)、t(20;22)或t(16;22)。

【請求項15】

如請求項8之用途，其中該多發性骨髓瘤為新診斷之多發性骨髓瘤。

【請求項16】

如請求項15之用途，其中該多發性骨髓瘤係新診斷之、有移植資格之多發性骨髓瘤。

【請求項17】

如請求項8至16中任一項之用途，其中該藥劑係經製備作為誘導療法投與。

【請求項18】

如請求項8至16中任一項之用途，其中該藥劑係經製備作為鞏固療法投與。

【請求項19】

如請求項8至16中任一項之用途，其中該藥劑係經製備作為維持療法投與。

【請求項20】

如請求項8至16中任一項之用途，其中該藥劑係經製備用於以約0.1至約2 mg/天之量投與該化合物。

【請求項21】

如請求項20之用途，其中該藥劑係經製備用於以約1 mg/天之量投與該化合物。

【請求項22】

如請求項8至16中任一項之用途，其中該藥劑係經製備在28天週期之第1至10天及第15至24天投與。

【請求項23】

如請求項8至16中任一項之用途，其中該藥劑係經製備在28天週期之第1至3天及第15至18天投與。

【請求項24】

如請求項8至16中任一項之用途，其中該藥劑係經製備在28天週期之第1至7天及第15至21天投與。

【請求項25】

如請求項8至16中任一項之用途，其中該藥劑係經製備在21天週期之第1至14天投與。

【請求項26】

如請求項8至16中任一項之用途，其中該藥劑係經製備在28天週期之第1至21天投與。

【請求項27】

如請求項8至16中任一項之用途，其中該藥劑係經製備用於與第二活性劑組合投與。

【請求項28】

如請求項27之用途，其中該第二活性劑係地塞米松、達雷木單抗、蛋白酶體抑制劑、組蛋白去乙酰化酶抑制劑、化療劑、Bcl-2抑制劑、Mcl-1抑制劑、BET抑制劑或LSD-1抑制劑，或其組合。

【請求項29】

如請求項27之用途，其中該第二活性劑係ACY241、AMG176、比拉瑞塞(birabresib)、4-[2-(環丙基甲氧基)-5-(甲磺醯基)苯基]-2-甲基異喹啉-1(2H)-酮、4-[2-(4-胺基-哌啶-1-基)-5-(3-氟-4-甲氧基-苯基)-1-甲基-6-側氧基-1,6-二氫嘧啶-4-基]-2-氟-苯甲腈、環磷醯胺(cyclophosphamide)、地塞米松、多柔比星(doxorubicin)、依託泊苷(etoposide)、GSK525762A、MIK665、帕比司他(panobinostat)、維奈托

克(venetoclax)或長春新鹼(vincristine)。

【請求項30】

如請求項27之用途，其中該第二活性劑為地塞米松。

【請求項31】

如請求項27之用途，其中該第二活性劑為硼替佐米。

【請求項32】

如請求項27之用途，其中該第二活性劑為卡非佐米(carfilzomib)。

【請求項33】

如請求項27之用途，其中該第二活性劑為達雷木單抗(daratumumab)。

【請求項34】

如請求項27之用途，其中該第二活性劑為地塞米松(dexamethasone)及硼替佐米(bortezomib)之組合。

【請求項35】

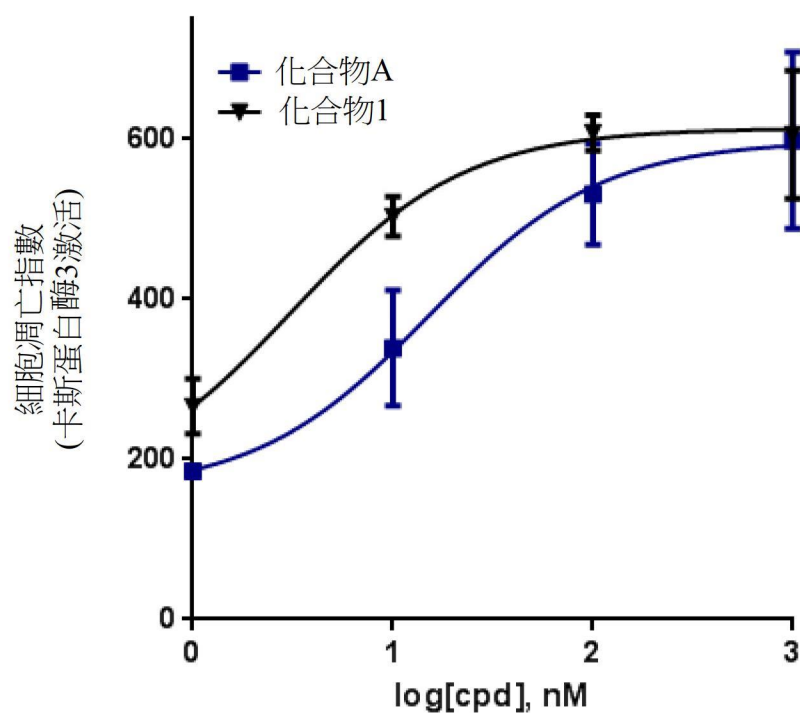
如請求項27之用途，其中該第二活性劑為地塞米松(dexamethasone)及達雷木單抗(daratumumab)之組合。

【請求項36】

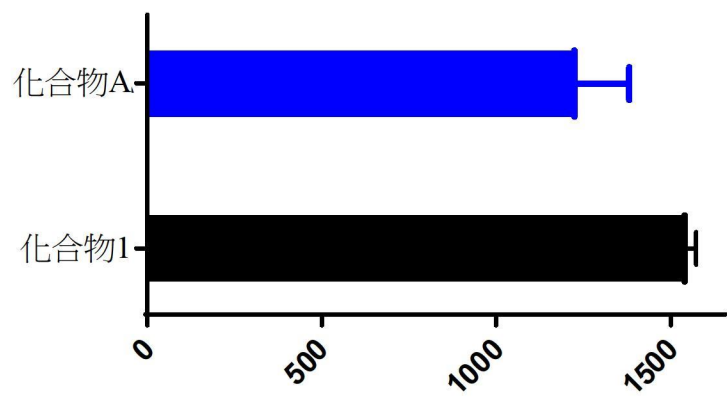
如請求項27之用途，其中該第二活性劑為地塞米松(dexamethasone)及卡非佐米(carfilzomib)之組合。

【發明圖式】

A.

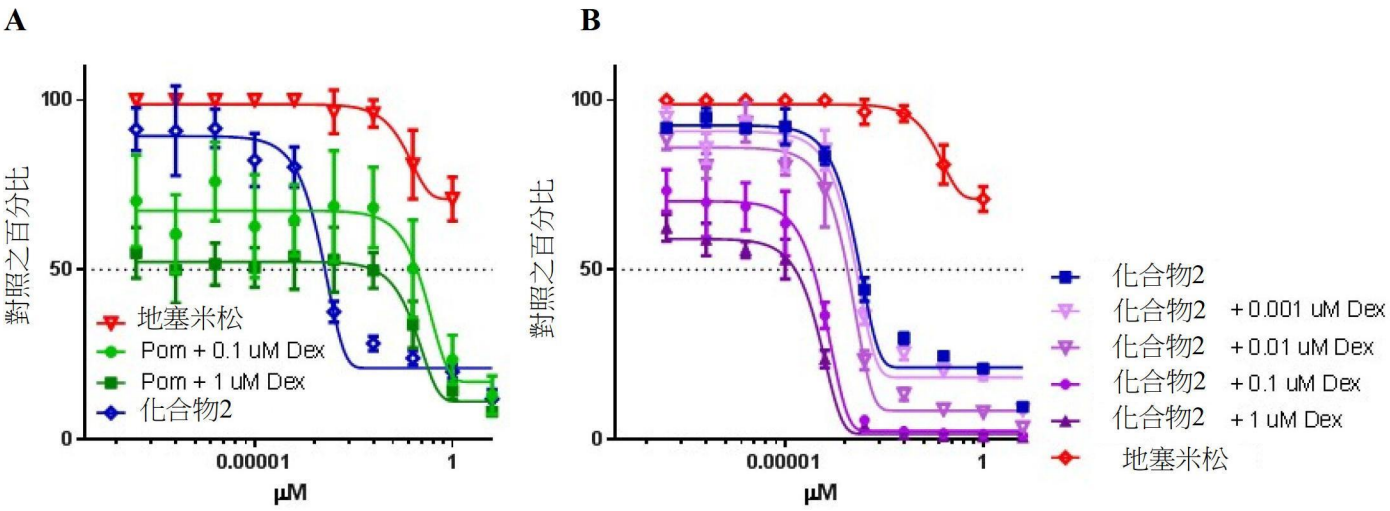


B.

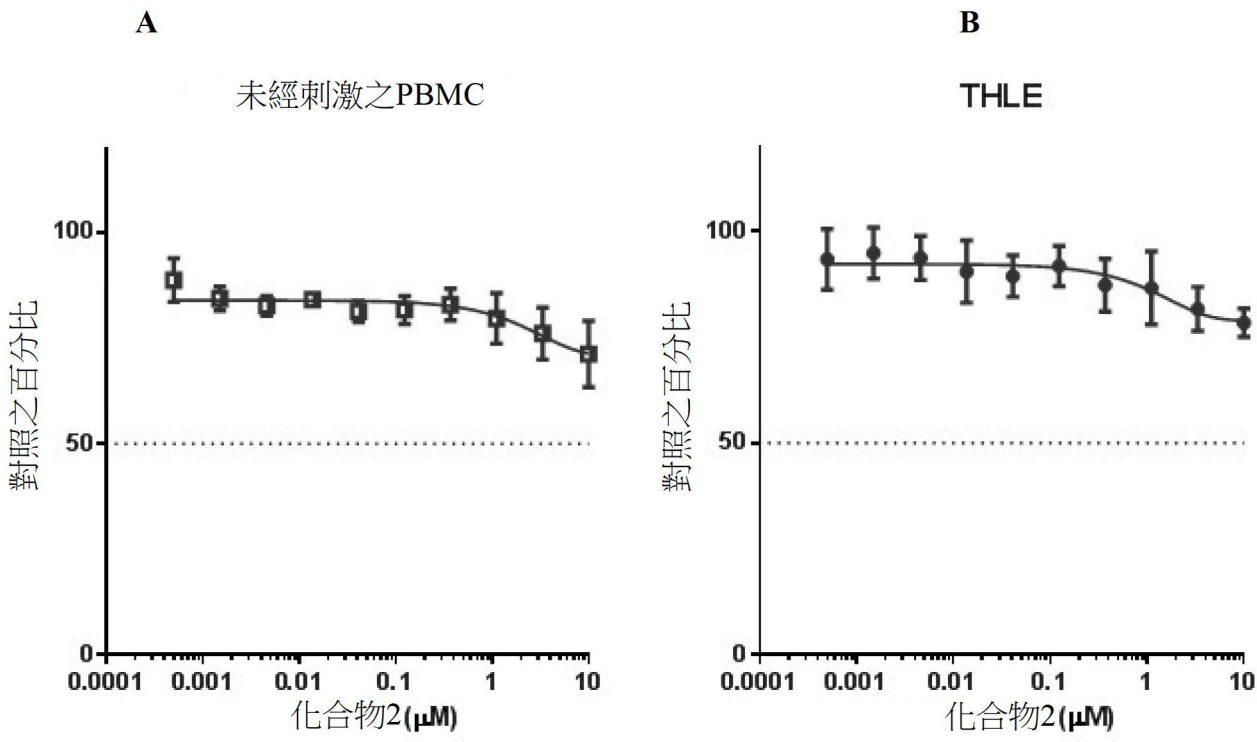


化合物編號	總AUC
化合物 A	1232
化合物 1	1547.5

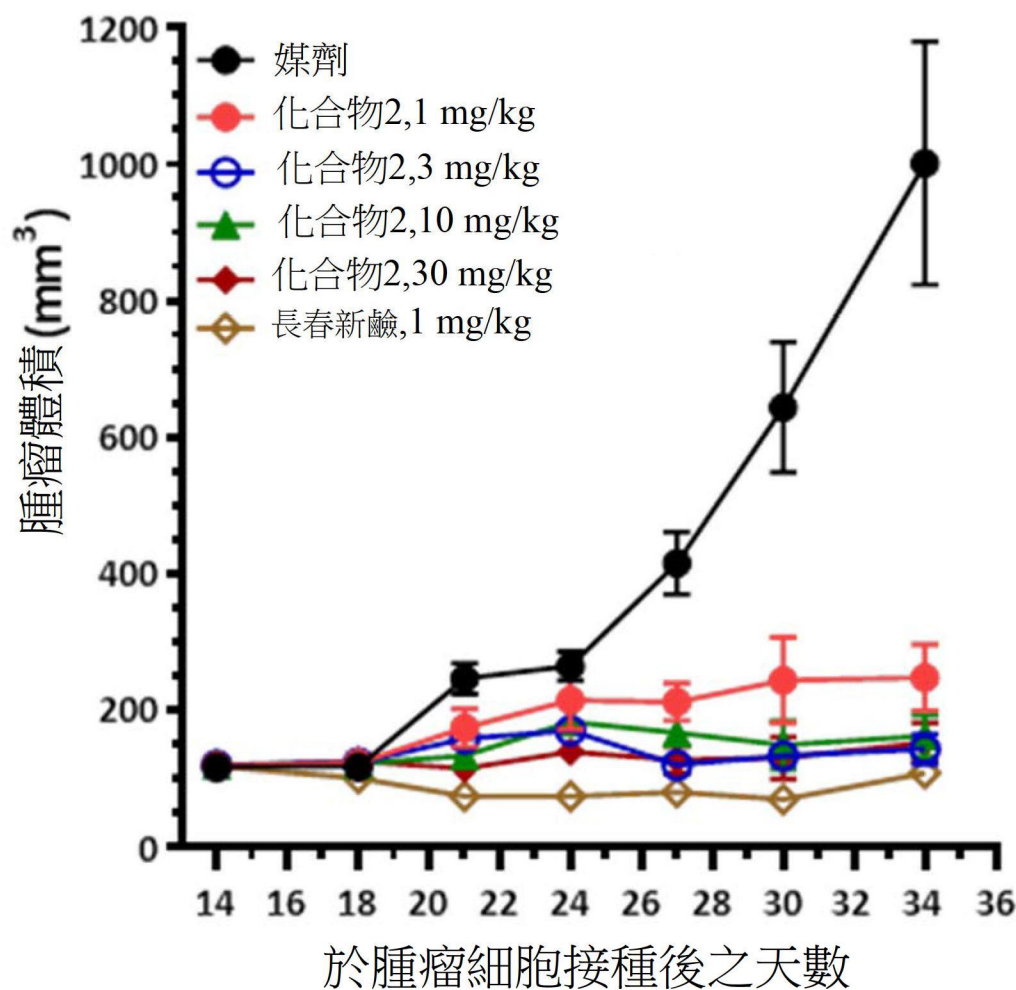
【圖1】



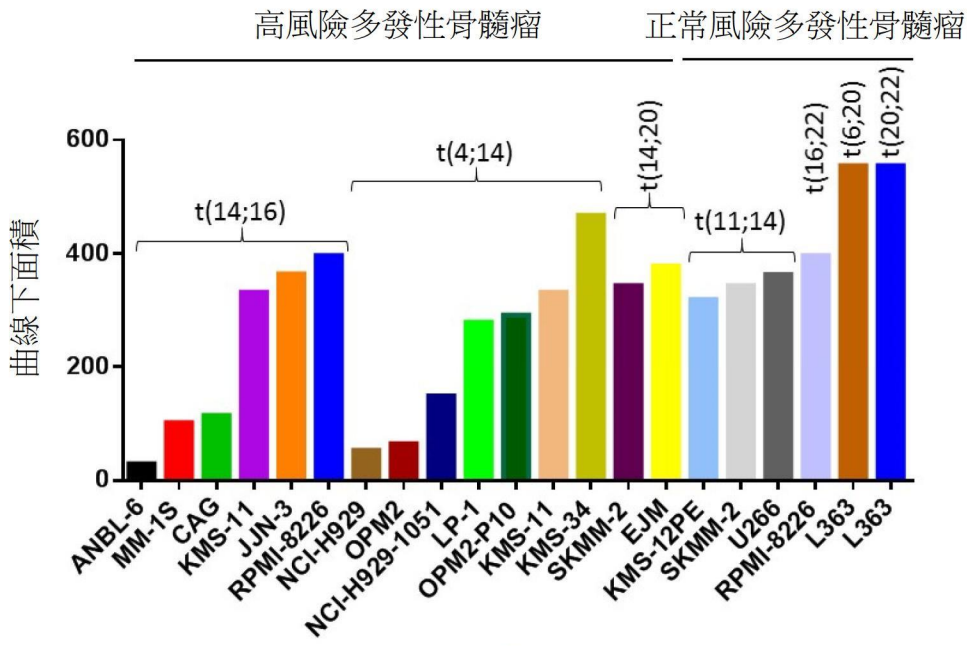
【圖2】



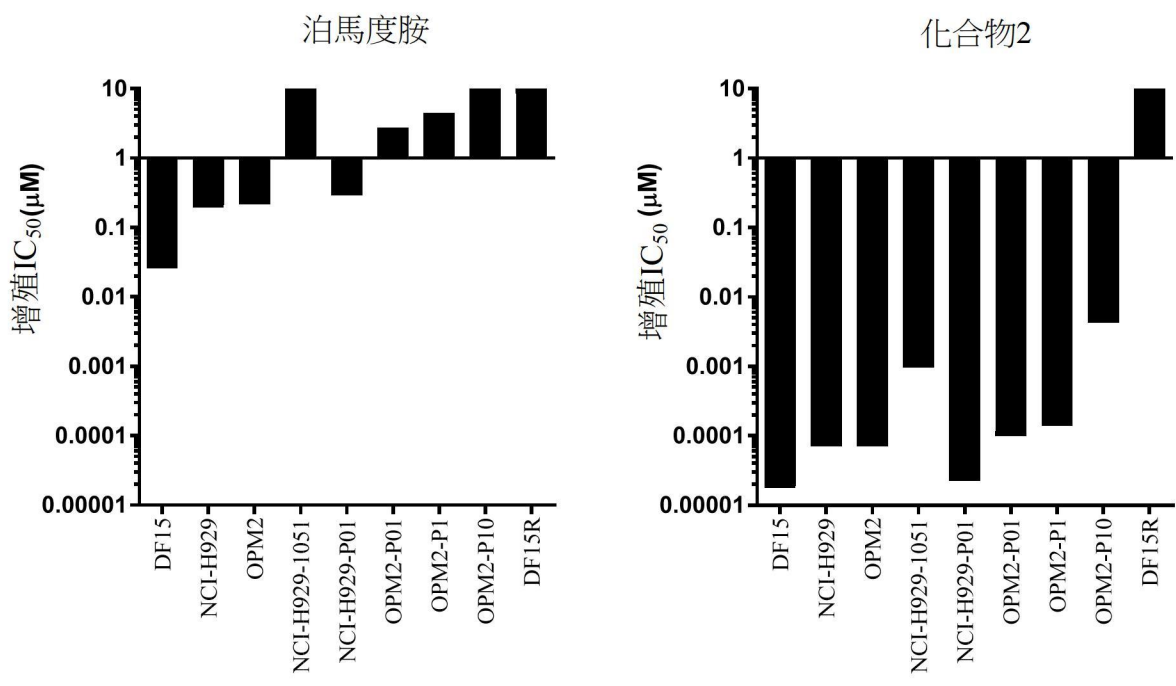
【圖3】



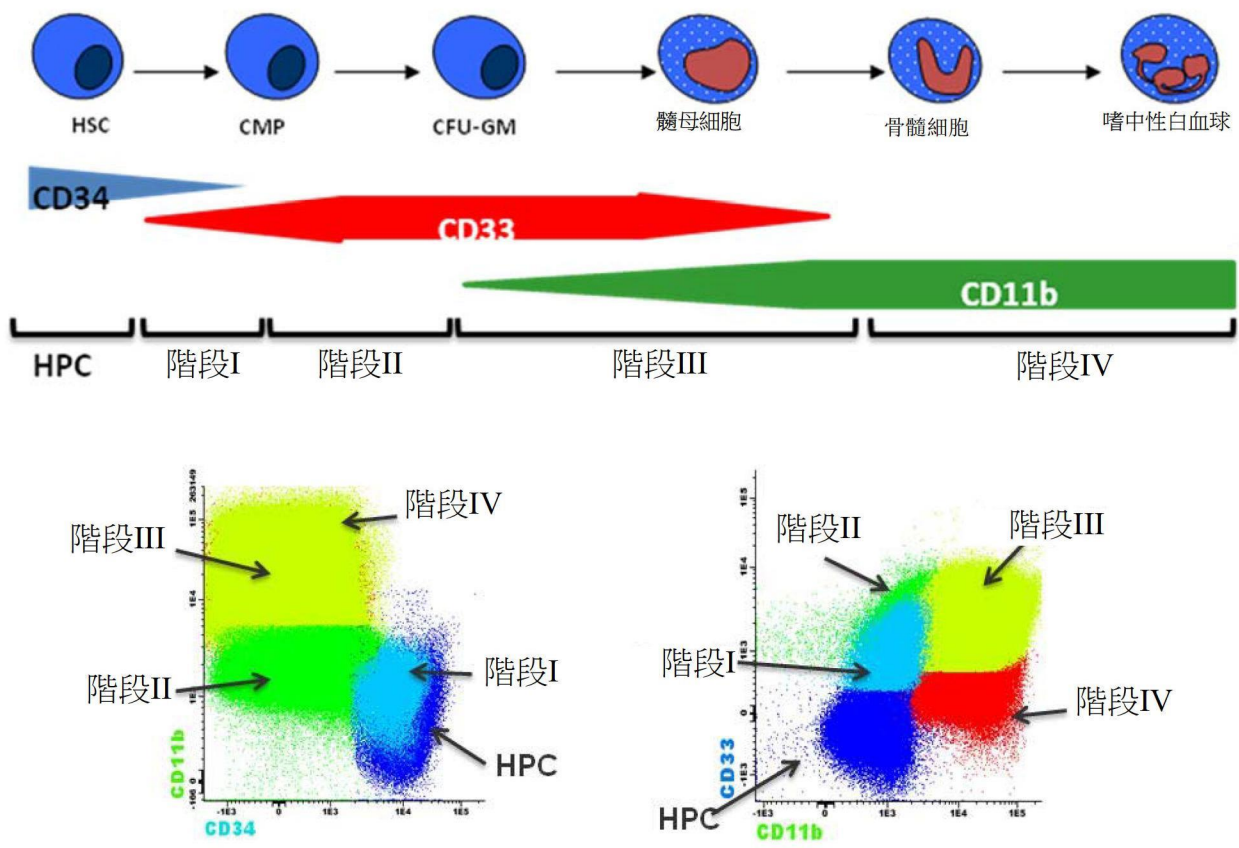
【圖4】



【圖5】

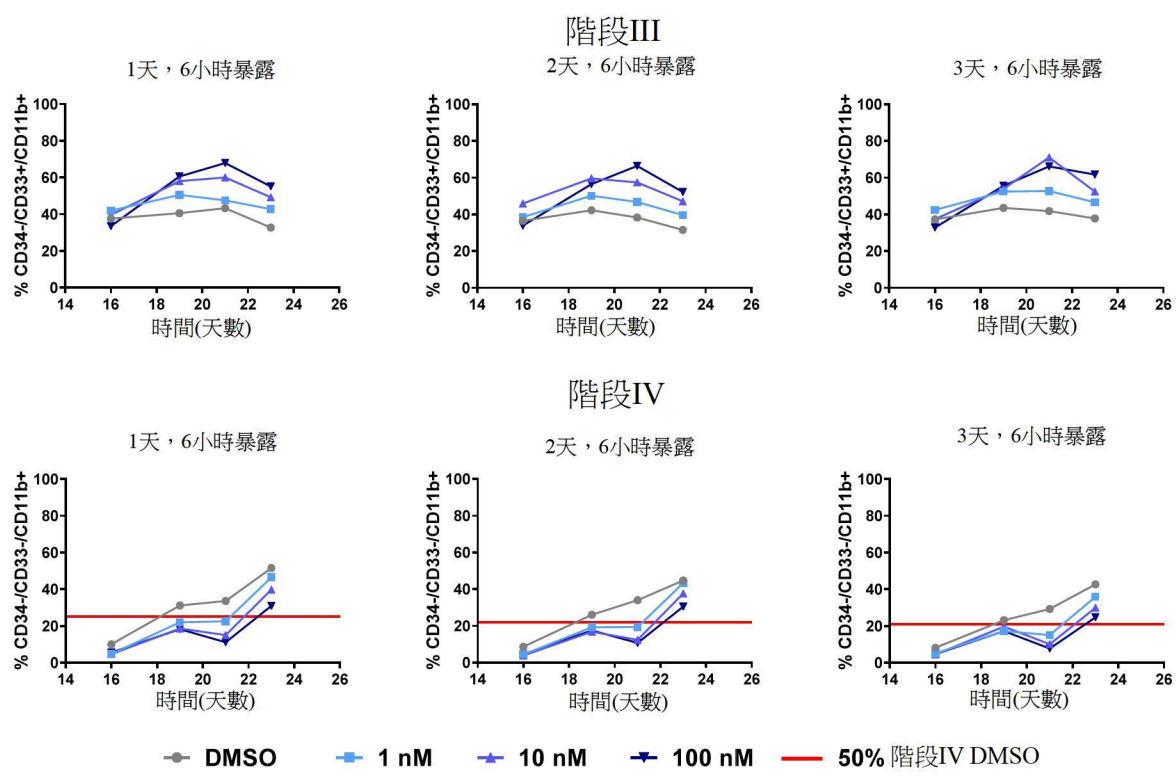


【圖6】

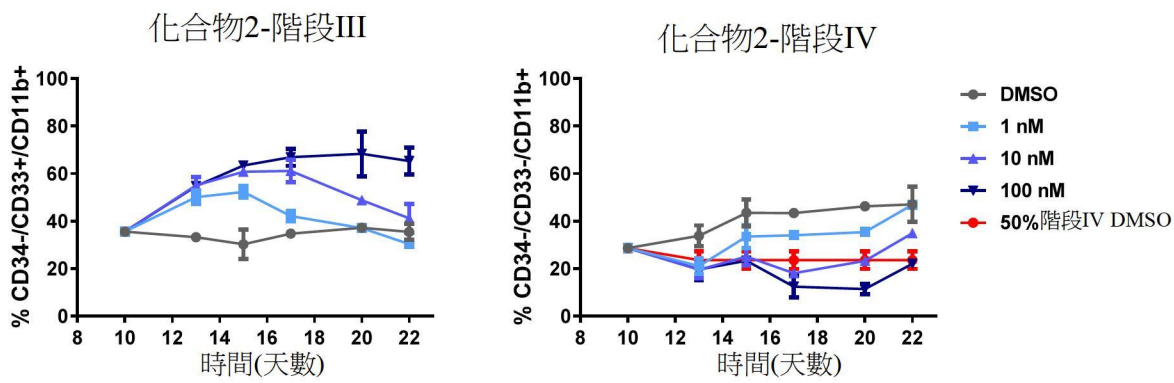


CFU-GM = 群落形成單位-顆粒球/單核細胞；CMP = 普通髓系祖細胞；HPC = 造血祖細胞；HSC = 造血幹細胞。

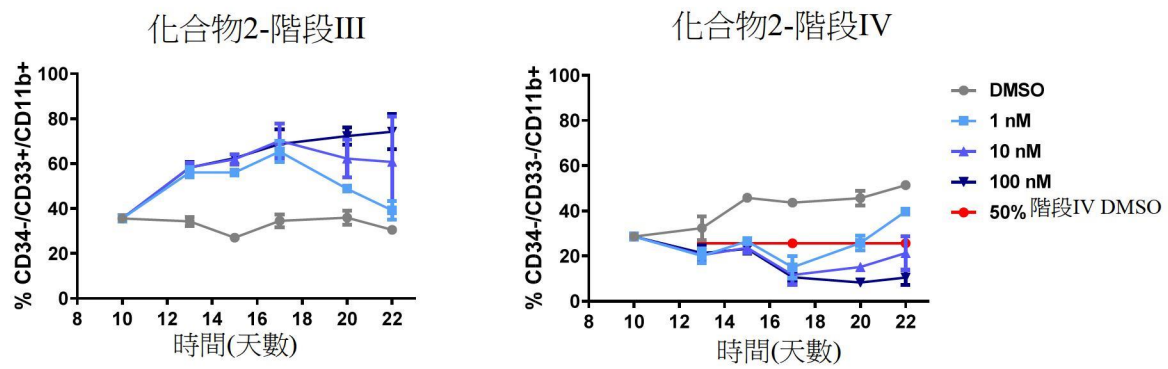
【圖7】



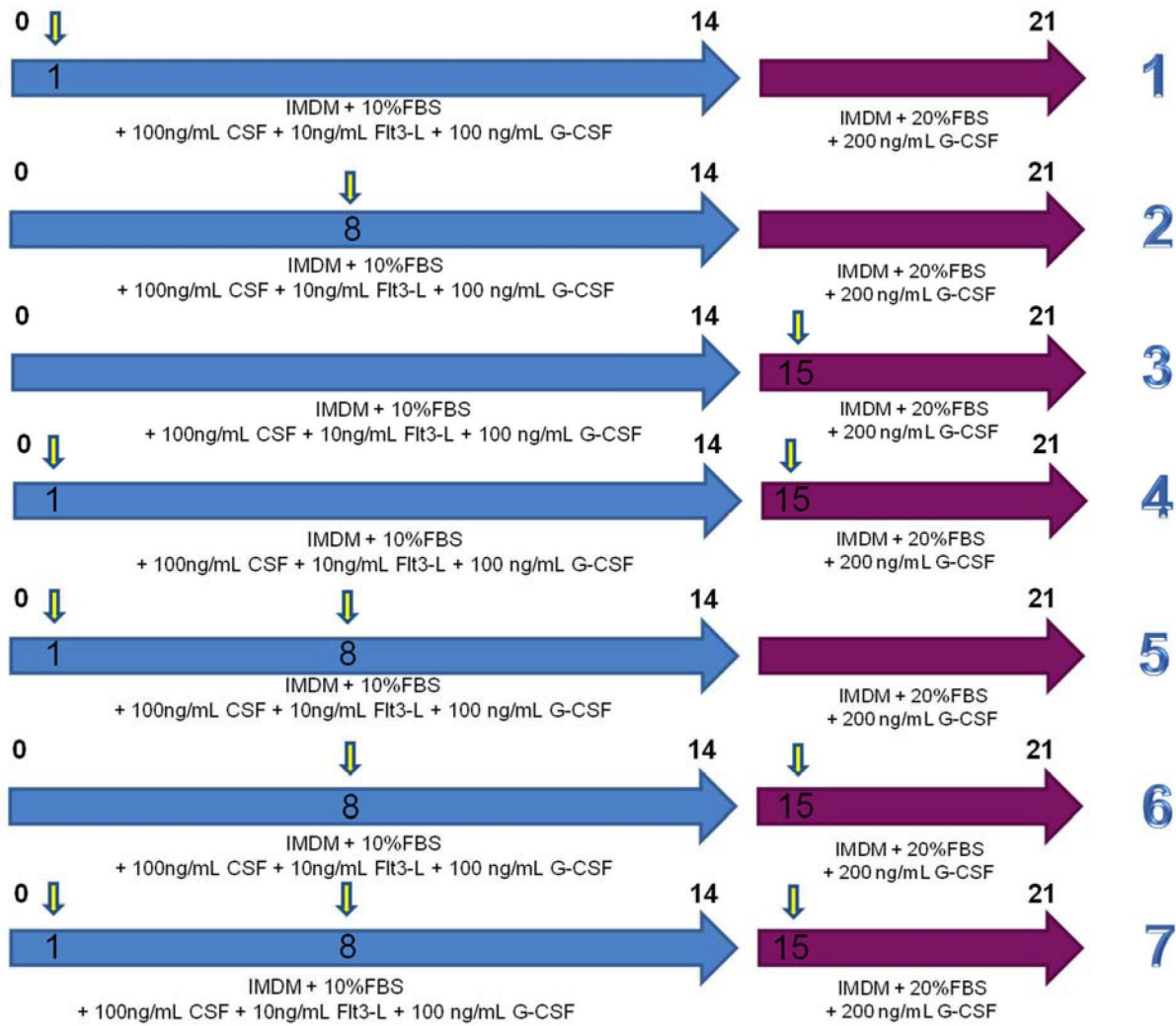
【圖8】



【圖9】

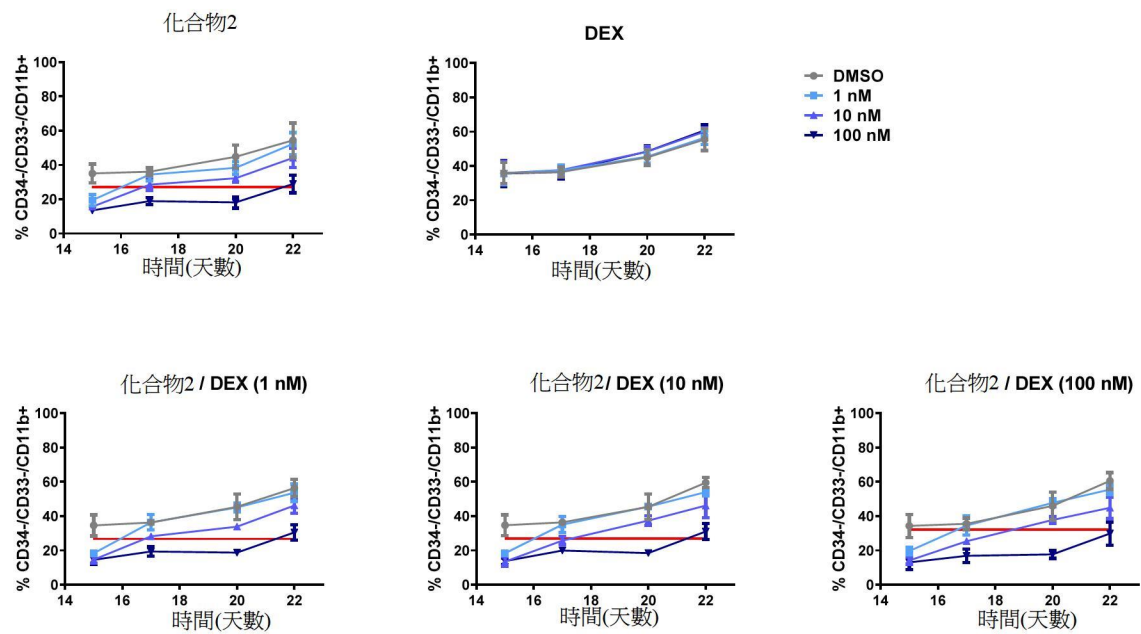


【圖10】

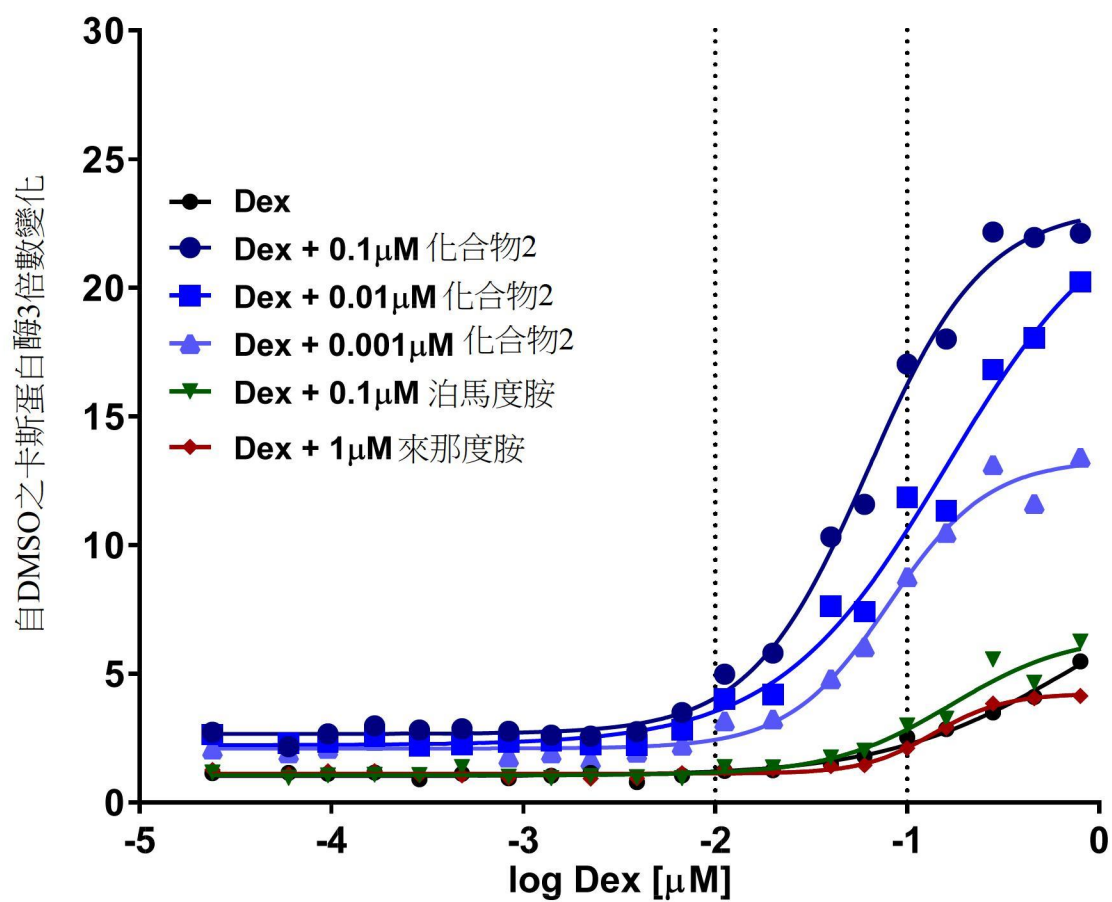


↓ 指示地塞米松暴露30小時

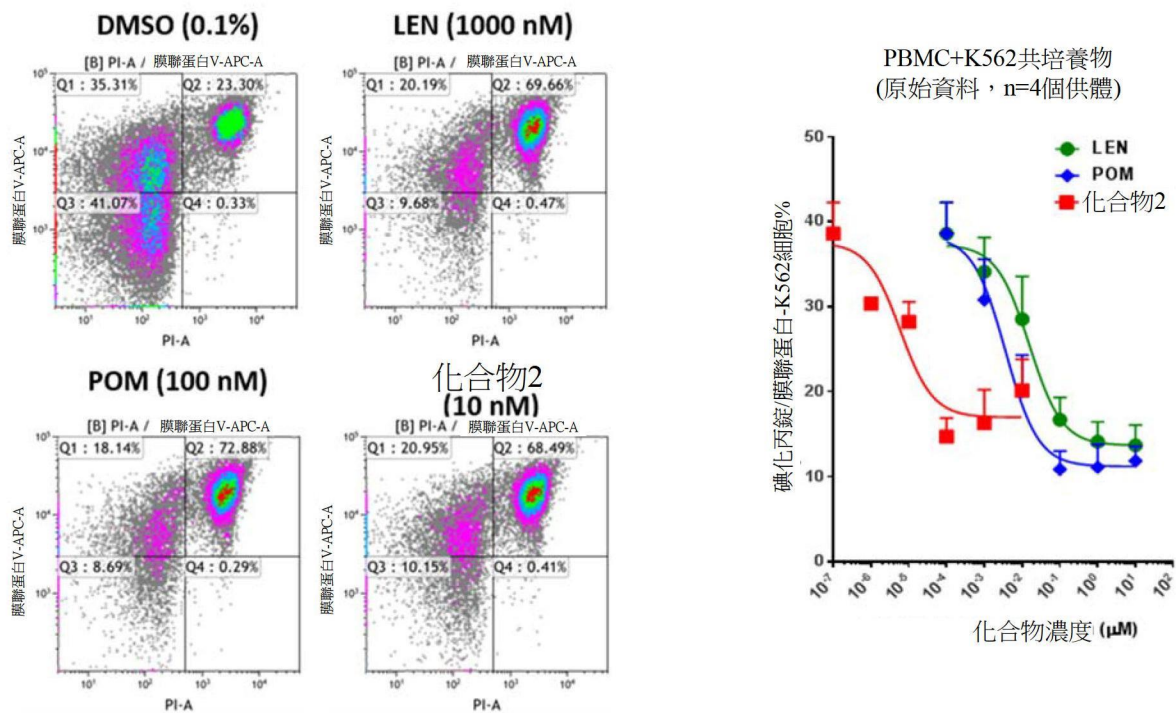
【圖11】



【圖12】

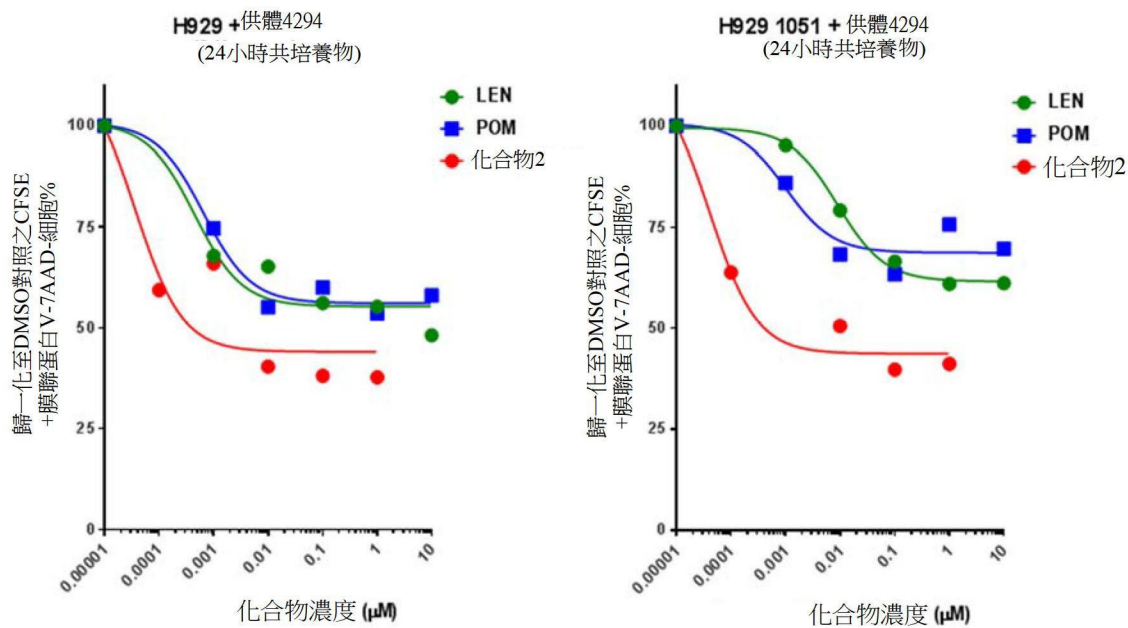


【圖13】



APC =別藻藍蛋白；CM=沙利布倫蛋白調節；DMSO =二甲亞砜；IL-2 =介白素-2；LEN =來那度胺；PBMC =外周血單核細胞；PI=碘化丙錠；POM=泊馬度胺；Q =象限；T:E =靶:效應子比率；U =單位。

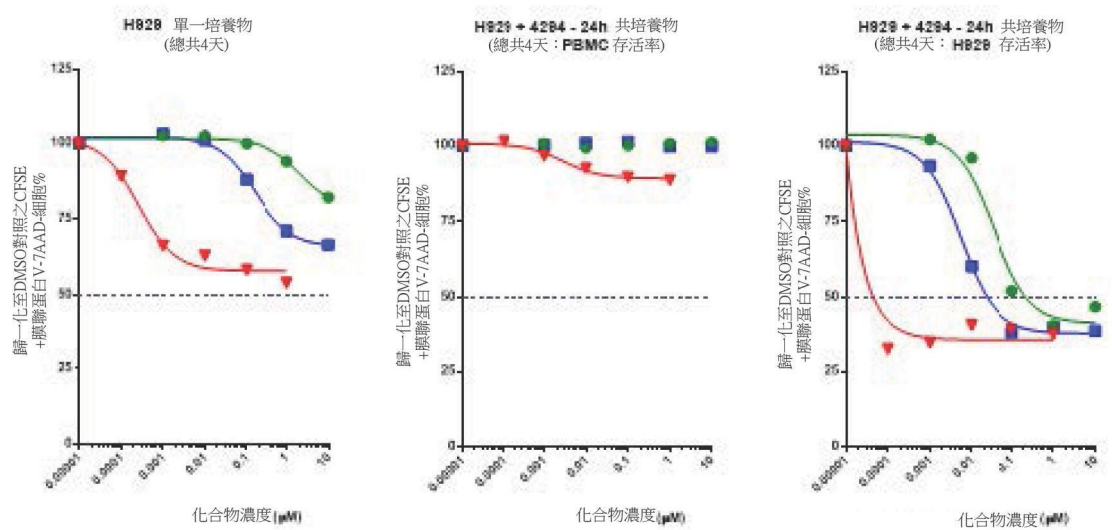
【圖14】



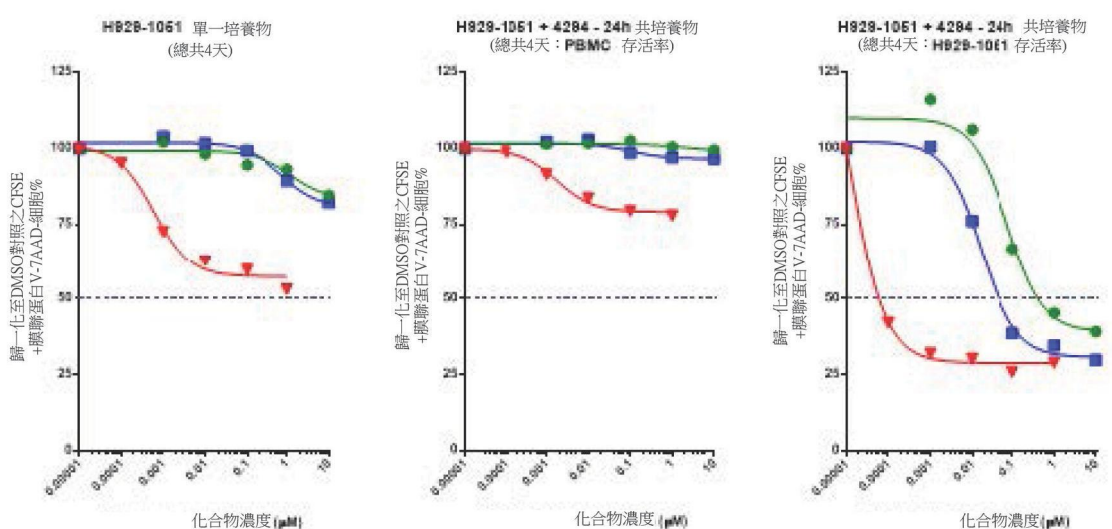
7-AAD = 7-胺基放線菌素D；CFSE = 羧基螢光素琥珀醯亞胺酯；DMSO = 二甲亞砜；LEN = 來那度胺；PBMC = 外周血單核細胞；POM = 泊馬度胺。

【圖15】

A

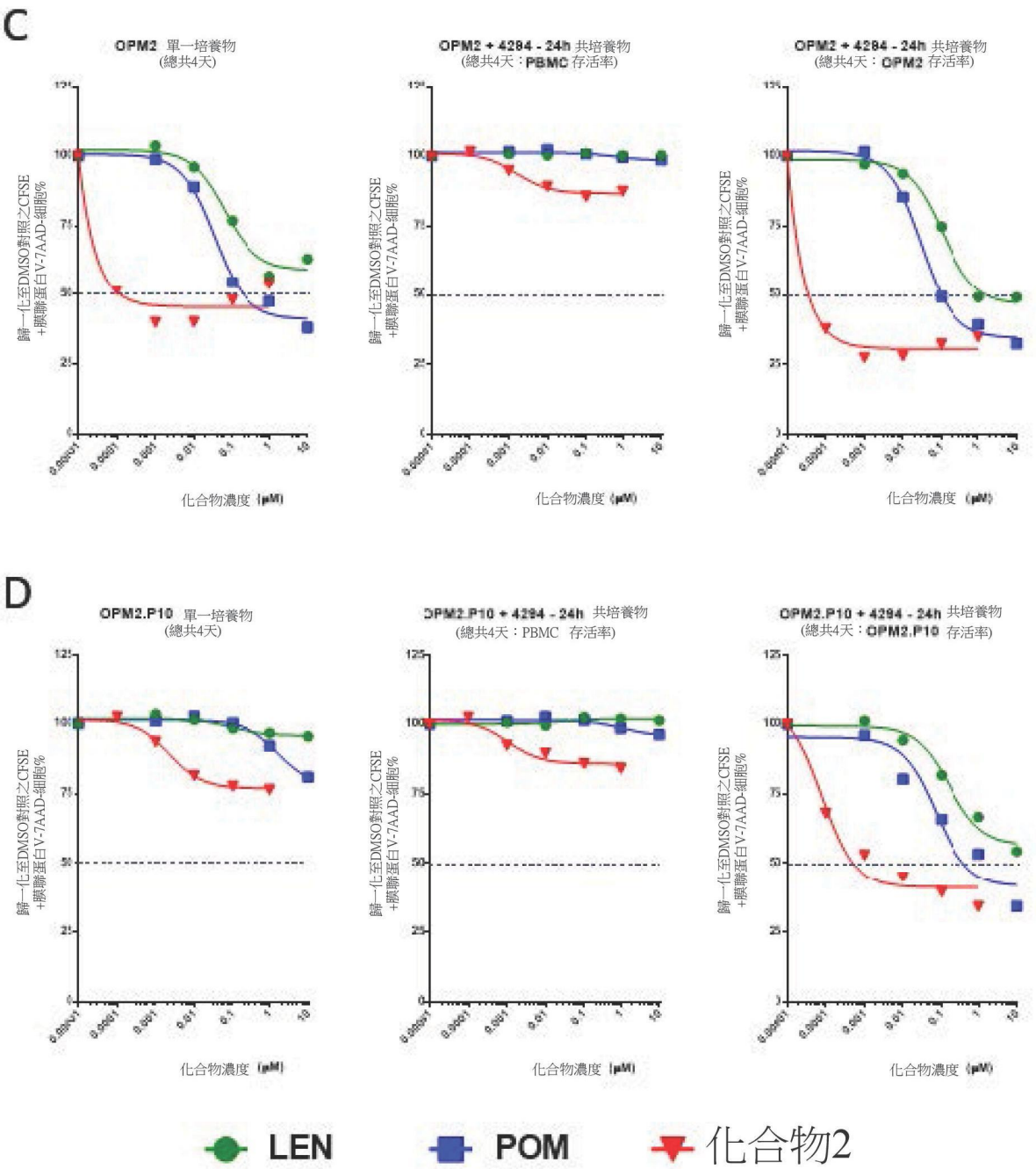


B



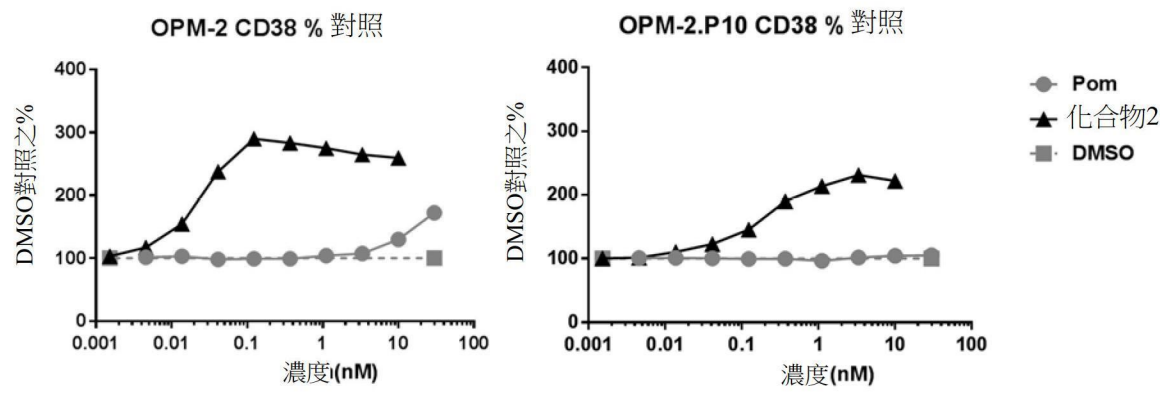
● LEN ■ POM ▼ 化合物2

【圖16】

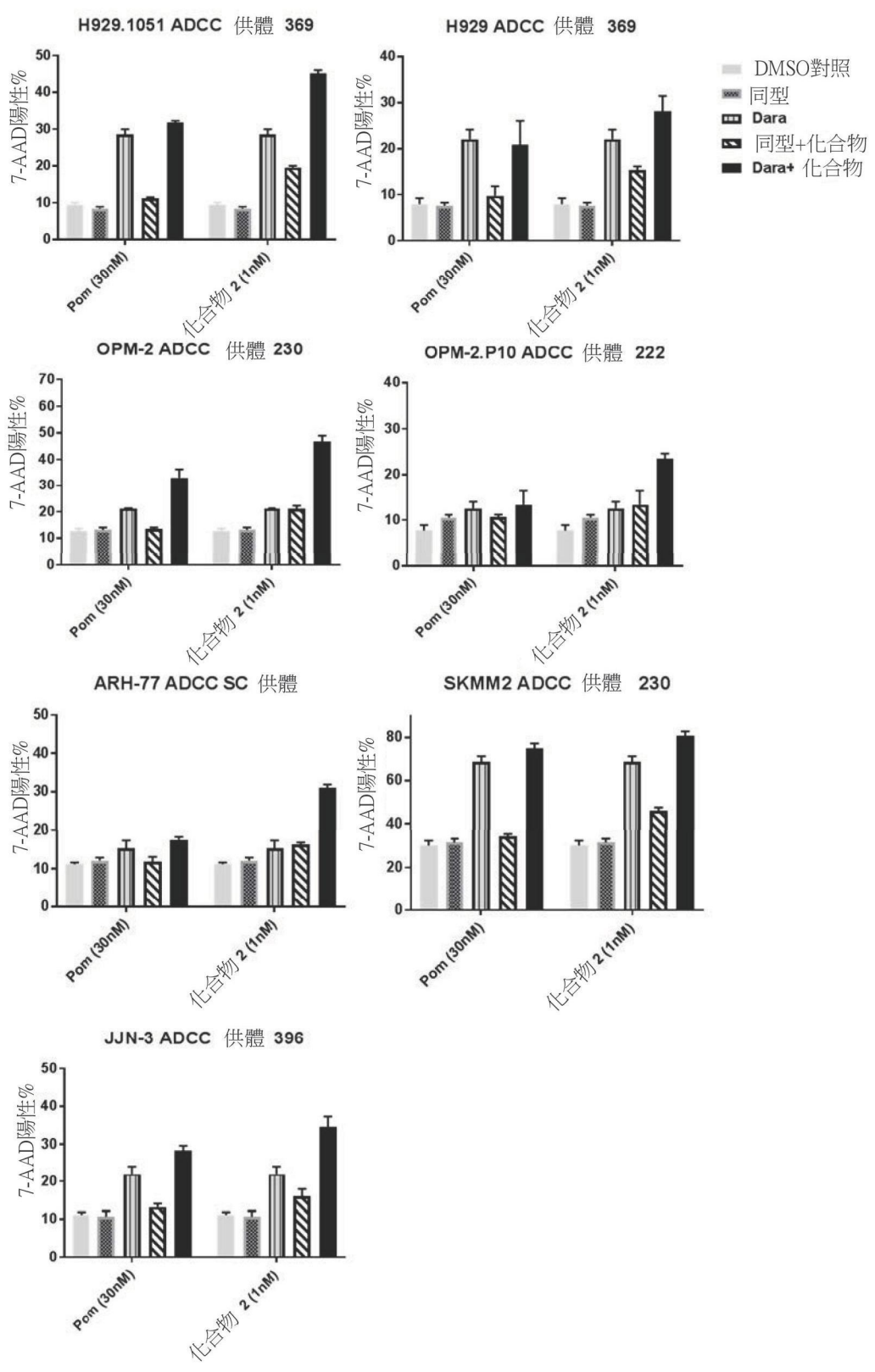


7-AAD = 7-胺基放線菌素D；CFSE = 羧基螢光素琥珀鹽亞胺酯；DMSO = 二甲亞砜；LEN = 來那度胺；PBMC = 外周血單核細胞；POM = 泊馬度胺。

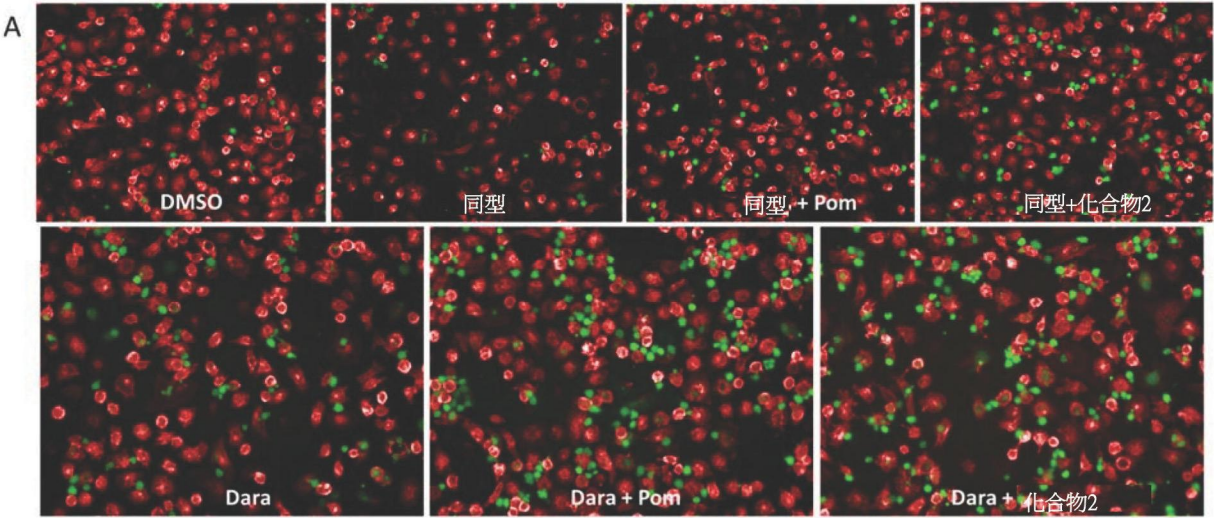
【圖16(續)】



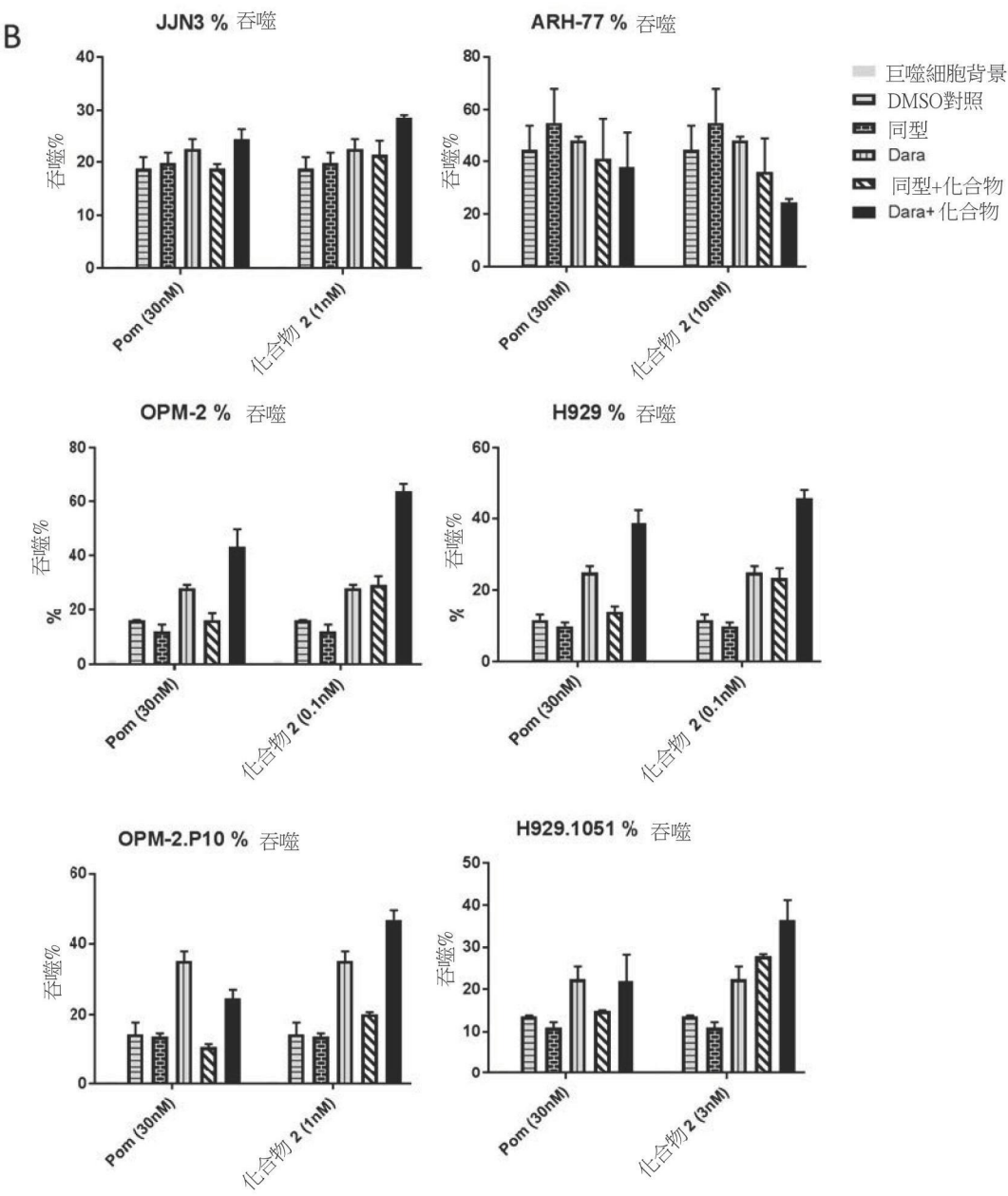
【圖17】



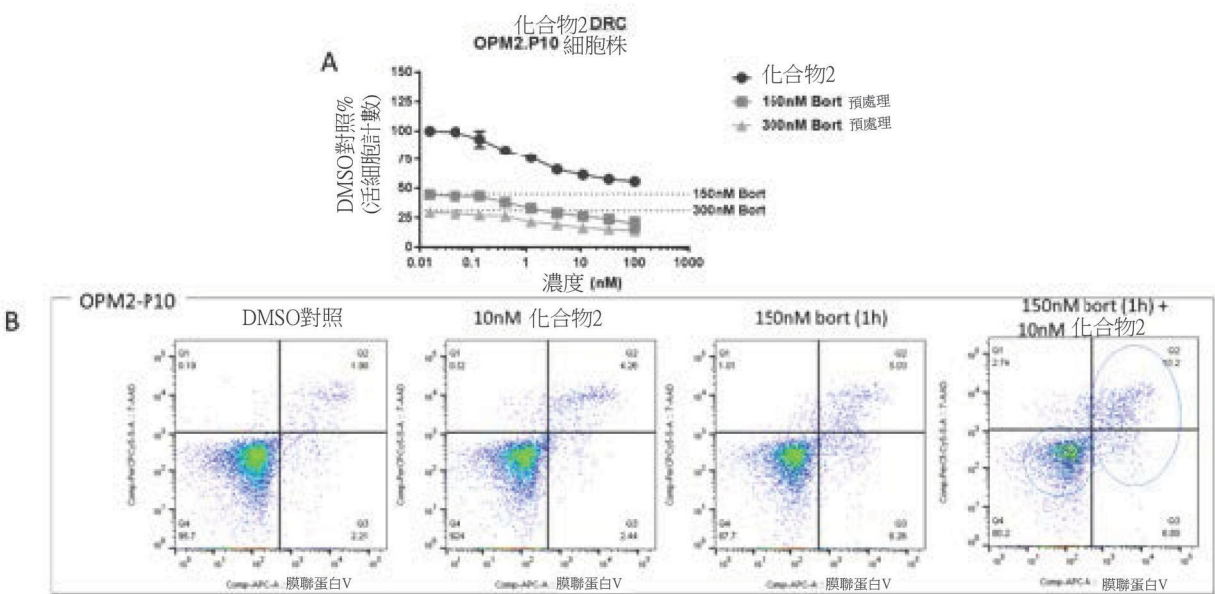
【圖18】



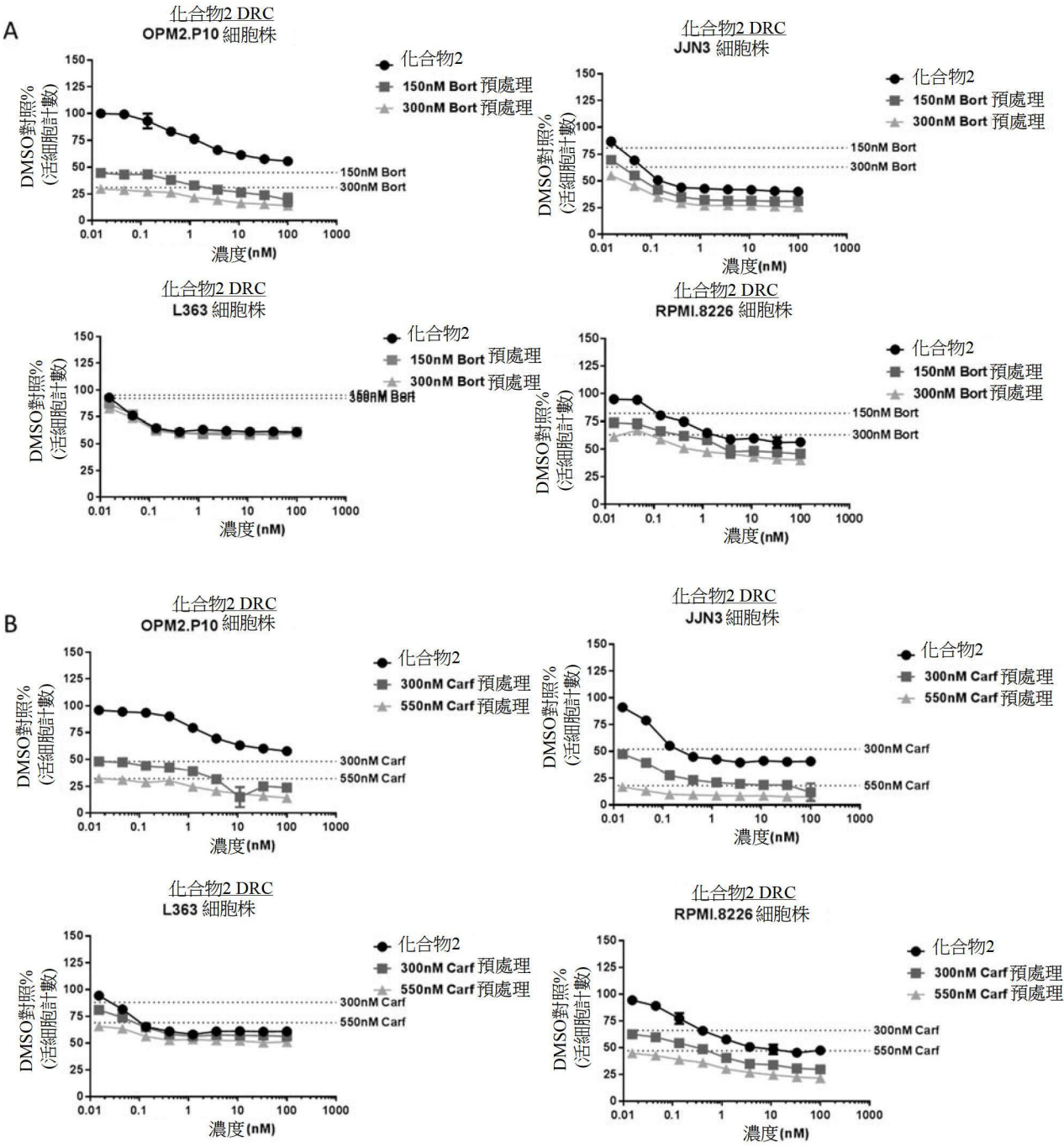
【圖19】



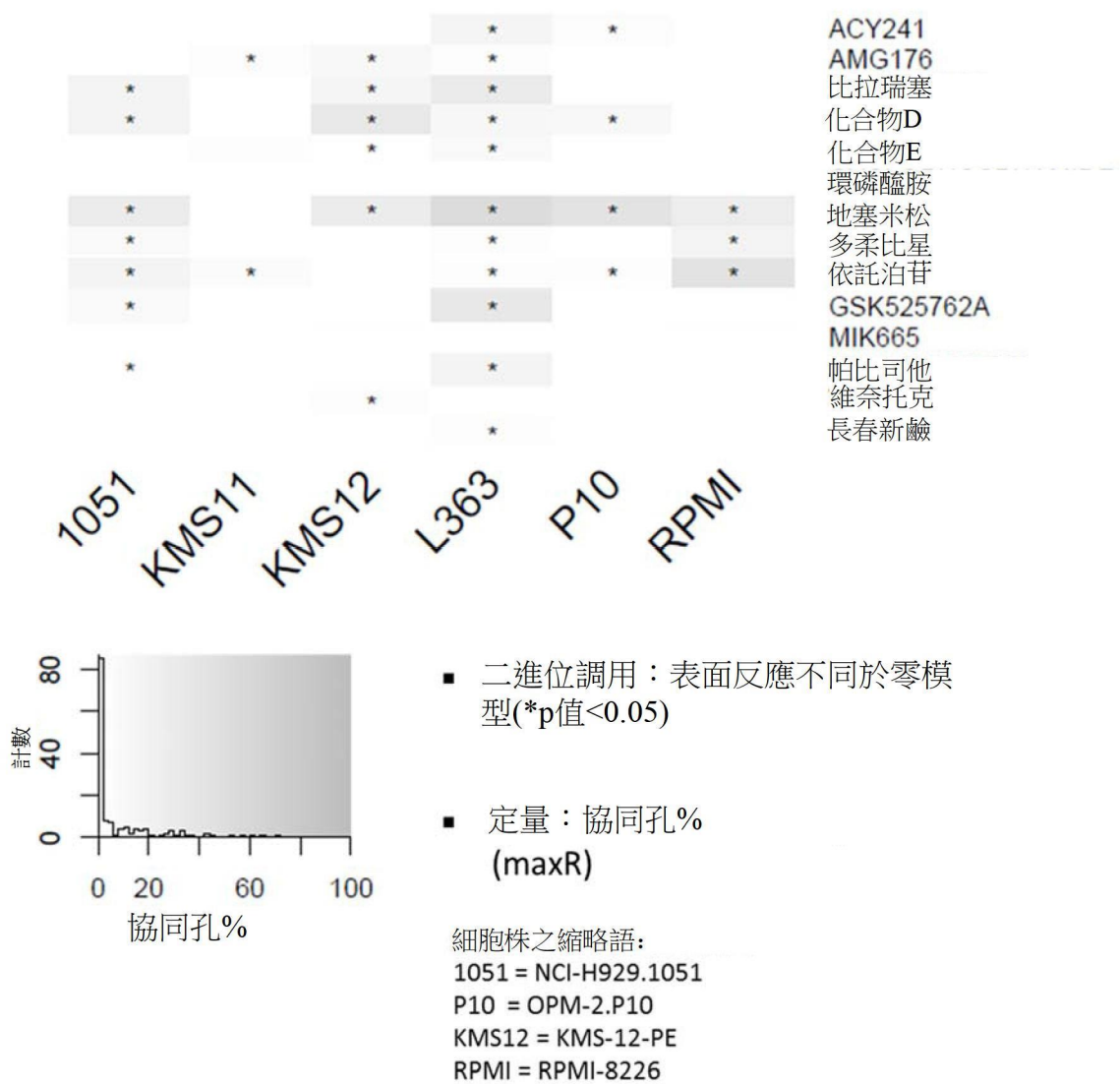
【圖19(續)】



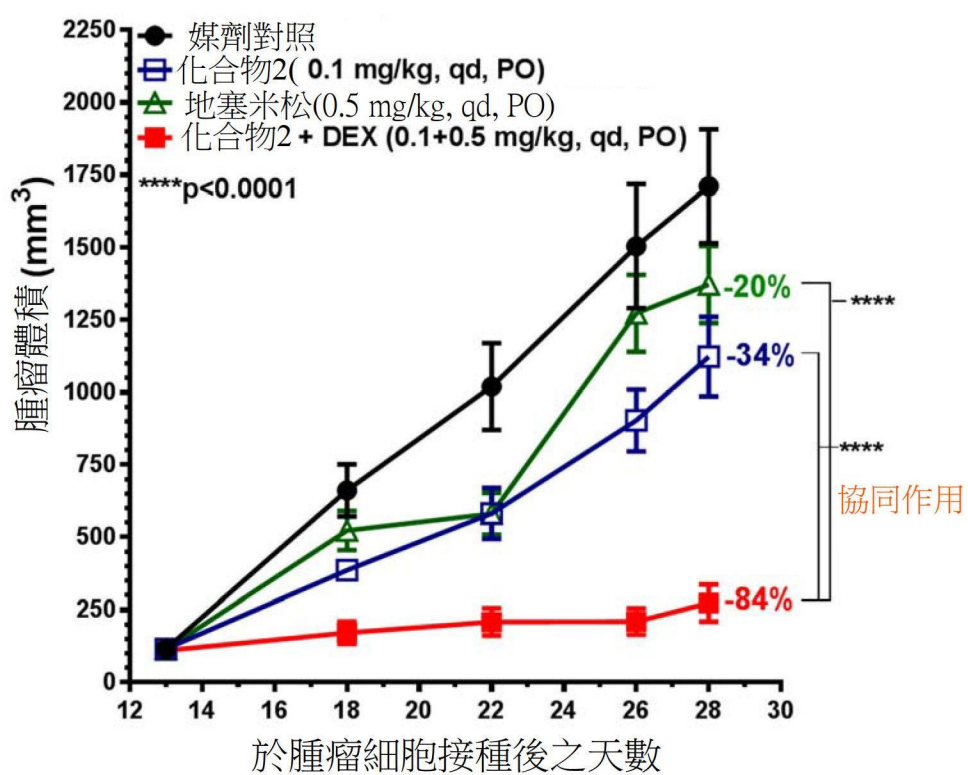
【圖20】



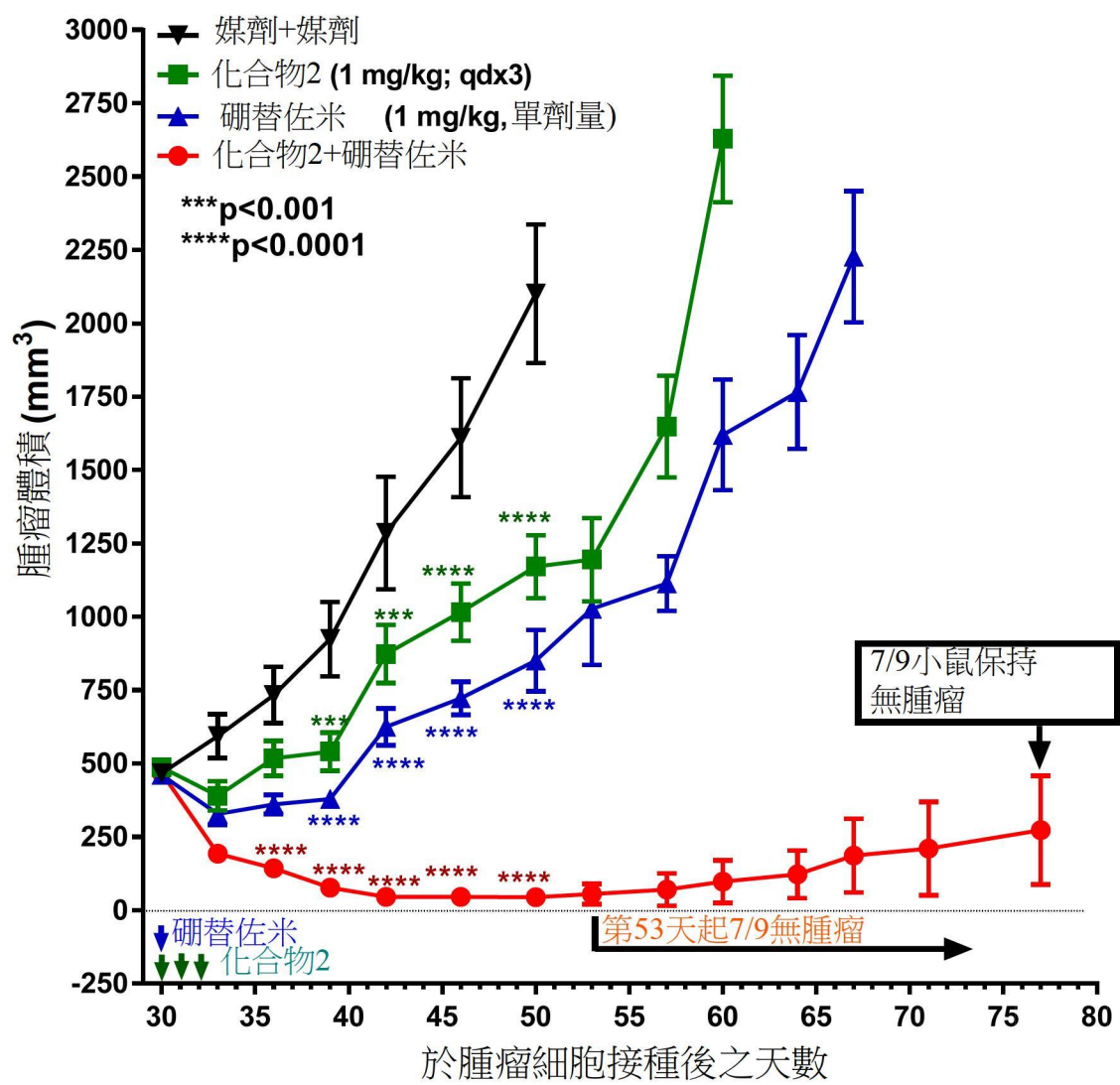
【圖21】



【圖22】



【圖23】



【圖24】