



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109010340 A

(43)申请公布日 2018. 12. 18

(21)申请号 201810781649.X

A61P 35/02(2006.01)

(22)申请日 2012.09.29

(30)优先权数据

61/705,838 2012.09.26 US

(62)分案原申请数据

201210378267.5 2012.09.29

(71)申请人 安罗格制药有限责任公司

地址 美国得克萨斯

(72)发明人 V·K·柴恩

(74)专利代理机构 北京超凡志成知识产权代理

事务所(普通合伙) 11371

代理人 王晖 李丙林

(51)Int.Cl.

A61K 31/4709(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

权利要求书2页 说明书10页 附图1页

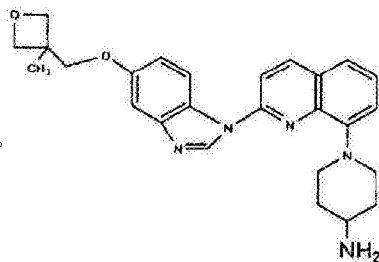
(54)发明名称

抑制突变型C-KIT的方法

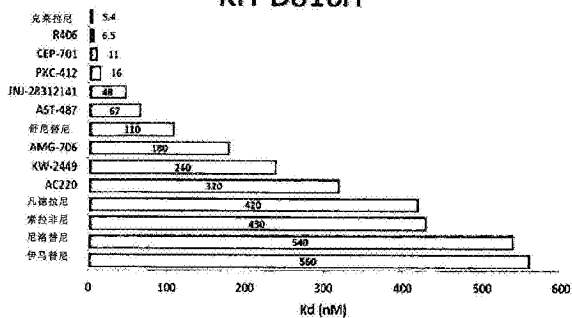
(57)摘要

本发明包括降低或抑制细胞或对象中C-KIT突变体酪氨酸激酶活性的方法,以及利用本发明化合物或其药学上可接受的盐相关的此类化合物在治疗对象中突变型C-KIT驱动细胞增殖性

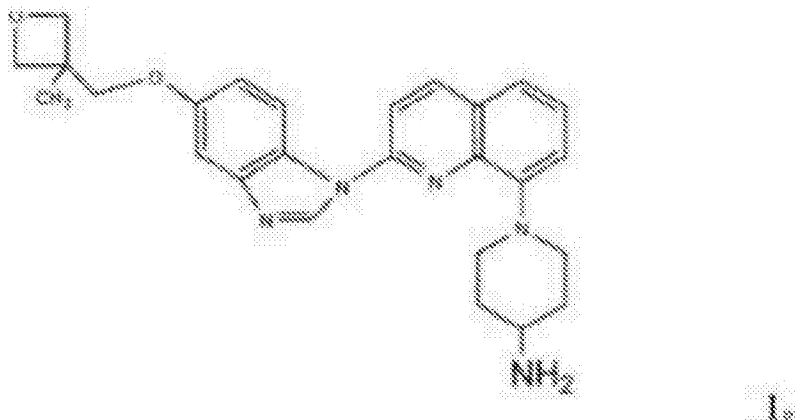
疾病中的应用。



KIT D816H



1. 一种治疗有效量的式I所示化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物作为制备抑制或降低患有增殖性疾病的对象中突变型C-KIT酪氨酸激酶活性或表达的药物应用:



2. 如权利要求1所述的应用,其特征在于,所述增殖性疾病选自以下的至少一种:肥大细胞增多症、急性髓性白血病、胃肠基质瘤、鼻腔鼻窦NK/T-细胞淋巴瘤、精原细胞瘤、恶性胚胎瘤、黑色素瘤和胸腺肿瘤。

3. 如权利要求1所述的应用,其特征在于,所述治疗有效量是每天约50-500毫克。

4. 如权利要求1所述的应用,其特征在于,所述化合物的给药是连续、间歇、全身性或局部给药中的至少一种。

5. 如权利要求1所述的应用,其特征在于,所述突变型C-KIT限定为组成型活性的。

6. 如权利要求1所述的应用,其特征在于,所述化合物经口服、静脉内或腹膜内给药。

7. 如权利要求1所述的应用,其特征在于,克萊拉尼是苯磺酸克萊拉尼、磷酸克萊拉尼、乳酸克萊拉尼、盐酸克萊拉尼、柠檬酸克萊拉尼、乙酸克萊拉尼、甲苯磺酸克萊拉尼或琥珀酸克萊拉尼。

8. 如权利要求1所述的应用,其特征在于,所述C-KIT突变体是以下的至少一种:C-KIT D816、D816F、D816H、D816N、D816Y、D816V、K642E、Y823D、Del 550-558、Del 557-561、N822K、V654A、N822H、Del 550-558+V654A、Del557-561+V654A、Ins503AY、V560G、55bNP、Del557-558、DelW559-560、F522C、Del1579、R634W、K642E、T801I、C809G、D820Y、N822K、N822H、Y823D、Y823C和T670I。

9. 如权利要求1所述的应用,其特征在于,所述治疗有效量的化合物每天最多给药三次或更多次,只要所述对象需要治疗增殖性疾病。

10. 如权利要求1所述的应用,其特征在于,所述化合物与另一药剂以顺次或相伴方式中的至少一种提供给新诊断的增殖性疾病患者或复发/难治的增殖性疾病患者以维持消退。

11. 如权利要求1所述的应用,其特征在于,所述化合物作为单一药剂提供或与另一药剂组合提供给新诊断的增殖性疾病患者或复发/难治的增殖性疾病患者,以维持消退。

12. 如权利要求1所述的应用,其特征在于,所述化合物作为单一药剂提供或与另一药剂组合提供给新诊断的增殖性疾病儿科患者或复发/难治的增殖性疾病儿科患者,以维持消退。

13. 如权利要求1所述的应用法,其特征在于,所述患者是复发患者/干扰素 α 、2-氯脱氧腺苷或甲磺酸伊马替尼难治的患者。

14. 一种治疗有效量的克莱拉尼或其盐作为制备用于治疗患有增殖性疾病的患者的药物的应用, 包括:

给予需要此类治疗的患者治疗有效量的克莱拉尼或其盐, 其中所述细胞增殖性疾病的特征在于突变型C-KIT受体酪氨酸激酶活性, 所述增殖性疾病选自以下的至少一种: 肥大细胞增多症、急性髓性白血病、胃肠基质瘤、鼻腔鼻窦NK/T-细胞淋巴瘤、精原细胞瘤、恶性胚胎瘤、黑色素瘤和胸腺肿瘤。

15. 如权利要求14所述的应用, 其特征在于, 所述化合物经口服、静脉内或腹膜内给药。

16. 如权利要求14所述的应用, 其特征在于, 所述克莱拉尼是苯磺酸克莱拉尼、磷酸克莱拉尼、乳酸克莱拉尼、盐酸克莱拉尼、柠檬酸克莱拉尼、乙酸克莱拉尼、甲苯磺酸克莱拉尼或琥珀酸克莱拉尼。

17. 如权利要求14所述的应用, 其特征在于, 所述C-KIT突变体是以下的至少一种: D816F、D816H、D816N、D816Y、D816V、K642E、Y823D、Del 550-558、Del 557-561、N822K、V654A、N822H、Del 550-558+V654A、Del557-561+V654A、Ins503AY、V560G、55bNP、Del557-558、Del W559-560、F522C、Del1579、R634W、K642E、T801I、C809G、D820Y、N822K、N822H、Y823D、Y823C和T670I。

18. 如权利要求14所述的应用, 其特征在于, 所述治疗有效量的化合物每天最多给予三次或更多次, 只要所述对象需要治疗增殖性疾病。

19. 如权利要求14所述的应用, 其特征在于, 所述克莱拉尼与另一药剂以顺次或相伴方式中的至少一种提供给新诊断的增殖性疾病或复发/难治的增殖性疾病, 以维持消退。

20. 如权利要求14所述的应用, 其特征在于, 所述克莱拉尼作为单一药剂提供或与另一药剂组合提供以便治疗增殖性疾病的儿科患者。

21. 如权利要求14所述的应用, 其特征在于, 所述克莱拉尼在新诊断的增殖性疾病中的化疗或靶向治疗中的至少一种之后作为单一药剂提供。

22. 如权利要求14所述的应用, 其特征在于, 所述克莱拉尼作为单一药剂提供, 用于另一化疗或靶向治疗难治的或在另一化疗或靶向治疗后复发的增殖性疾病患者的治疗。

23. 如权利要求14所述的应用, 其特征在于, 所述患者是干扰素 α 、2-氯脱氧腺苷或甲磺酸伊马替尼中至少一种难治的患者。

抑制突变型C-KIT的方法

[0001] 本申请是申请日为2012年9月29日、发明名称为“抑制突变型C-KIT的方法”的中国发明专利申请No.201210378267.5的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及降低或抑制细胞或对象中突变C-KIT的激酶活性的方法,以及此类方法在预防或治疗C-KIT相关的细胞疾病中的应用。

背景技术

[0003] 结合在治疗KIT依赖性疾病中抑制突变形式KIT的能力描述了本发明的背景,但并不限制本发明的范围。

[0004] c-kit基因位于人第四染色体的基因座q11-q12上,其编码蛋白质KIT(也称为CD 117),该蛋白是许多不同细胞表面表达的细胞因子受体。参见Rulina等,生物化学Biochemistry(莫斯科),“激活的白血病致癌基因和c-M:产生急性髓性白血病的作用和目前抑制它们的方法”(Activated Leukemic Oncogenes AML1-ETO and c-kif.Role of Development of Acute Myeloid Leukemia and Current Approaches for Their Inhibition)2010;75(13):1650-1666。KIT是单体受体家族的III型受体酪氨酸激酶,和干细胞因子的跨膜受体。参见Tefferi和Pardanani.“白血病和淋巴瘤”(Leukemia and Lymphoma),2010年3月;51(3):360-362。

[0005] KIT主要由肥大细胞、造血祖细胞、生殖细胞、黑素细胞和胃肠道中的Cajal间质细胞表达,其与正常肥大细胞发育、造血、配子发生、黑素生成和胃慢波的调节相关。参见Miettinen等,“(KIT(CD117):正常和肿瘤组织中表达以及突变和它们的临床病理相关性的综述”(KIT(CD 117):A Review on Expression in 25Normal and Neoplastic Tissues, and Mutations and their Clinicopathologic Correlation).Appl Immunohistochem Mol Morphol,2005;13:205-220。

[0006] 导致KIT的配体不依赖性激活的激活突变在该基因的近膜和激酶结构域中发生。参见Hug等,“ETO相互作用蛋白”(ETO Interacting Proteins).Oncogene,2004;23(24):4270-4274。产生激活形式KIT的突变显示在增殖性疾病中起作用,所述增殖性疾病是,例如肥大细胞增多症、急性髓性白血病、胃肠基质瘤、鼻腔鼻窦NK/T-细胞淋巴瘤、精原细胞瘤、无性细胞瘤(dysgerminomas)、黑色素瘤和胸腺肿瘤。

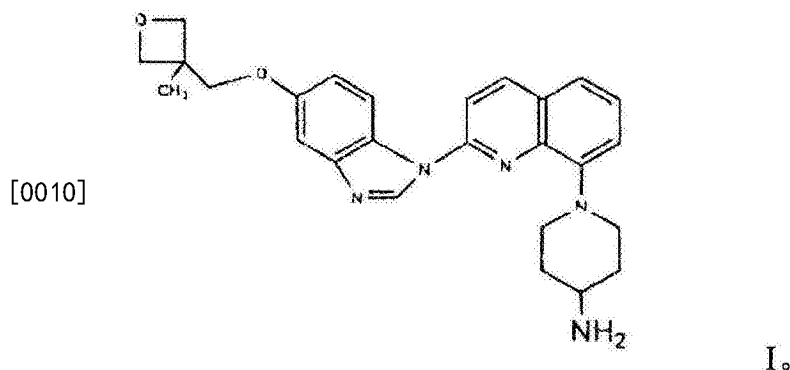
[0007] 目前用于治疗野生型和突变KIT相关疾病的靶向剂是甲磺酸伊马替尼(也称为GLEEVEC或GLIVIC;诺华公司,巴塞尔,瑞士)。伊马替尼分别对某些跨膜和近膜KIT突变体,即F522C和V560G表现出活性,但该活性在共有激酶结构域突变体(包括D816V)中显著降低。参见Akin等,“跨膜C-KIT突变相关的肥大细胞增多症新形式以及对伊马替尼的反应”(A Novel Form of Mastocytosis Associated with a Transmembrane C-KIT Mutation and Response to Imatinib).Blood.2004;103:3222-3225;Zermati等,“酪氨酸激酶抑制剂STI571对肥大细胞瘤中发现的野生型和各种突变C-KIT受体的激酶活性的作用”(Effect

of Tyrosine Kinase Inhibitor STI571 on the Kinase Activity of Wild-type and Various Mutated C-KIT Receptors Found in Mast Cell Neoplasms). *Oncogene*. 2003; 22:660-664; Akin等. “酪氨酸激酶抑制剂STI571对携带野生型或突变C-KIT的人肥大细胞的作用” (Effects of Tyrosine Kinase Inhibitor STI571 on Human Mast Cells Bearing Wild-type or Mutated C-KIT). *Exp Hematol*. 2003; 31:686-692; Ma等. “导致人肥大细胞增多症的C-KIT突变对STI571和其它KIT激酶抑制剂耐受; 含酶促位点突变的激酶显示不同于野生型激酶和含调节型突变的那些激酶的抑制剂敏感性特征” (The C-KIT Mutation Causing Human Mastocytosis is Resistant to STI571 and Other KIT Kinase Inhibitors; Kinases with Enzymatic Site Mutations Show Different Inhibitor Sensitivity Profiles than Wild-type Kinases and Those with Regulatory-type Mutations). *Blood*. 2002; 99:1741-1744. 本领域中所研究的其它KIT突变激酶抑制剂包括达沙替尼 (Dasatinib, 百时美施贵宝公司 (BMS), 纽约, 纽约州)、米哚妥林 (Midostaurin, 也称为PKC412; 诺华公司, 巴塞尔, 瑞士) 和马萨替尼 (Masatinib, 也称为AB1010; AB Science, 法国)。因此, 本领域需要治疗KIT活性失调所致的疾病和病症。

发明内容

[0008] 本发明涉及抑制结构域突变的KIT和治疗突变的KIT所驱动的此类疾病。KIT依赖性疾病包括特征在于以下的已知KIT突变的疾病: D816F、D816H、D816N、D816Y、D816V、K642E、Y823D、Del 550-558、Del 557-561、N822K、V654A、N822H、Del 550-558+V654A、Del 557-561+V654A、Ins503AY、V560G、55bNP、Del 557-558、Del 559-560、F522C、Del 579、R634W、K642E、T801I、C809G、D820Y、N822K、N822H、Y823D、Y823C和T670I。

[0009] 本发明包括抑制或降低患有突变型C-KIT相关增殖性疾病的对象中突变C-KIT酪氨酸激酶的活性或表达的方法, 包括给予患有增殖性疾病的所述对象治疗有效量的式I所示化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物:



[0011] 在一方面, 本发明的治疗有效量是每天约50-500毫克。在另一方面, 所述化合物的给药是连续、间歇、全身性或局部给药中的至少一种。在另一方面, 突变的C-KIT进一步限定为组成型活性的突变C-KIT。在另一方面, 所述化合物经口服、静脉内或腹膜内给药。在另一方面, 克莱拉尼 (Crenolanib) 是苯磺酸克莱拉尼、磷酸克莱拉尼、乳酸克莱拉尼、盐酸克莱拉尼、柠檬酸克莱拉尼、乙酸克莱拉尼、甲苯磺酸克莱拉尼或琥珀酸克莱拉尼。在另一方面, 所述C-KIT突变是以下之一: D816F、D816H、D816N、D816Y、D816V、K642E、Y823D、Del 550-558、Del 557-561、N822K、V654A、N822H、Del 550-558+V654A、Del 557-561+V654A、

Ins503AY、V560G、55bNP、De1557-558、De1 W559-560、F522C、De1579、R634W、K642E、T801I、C809G、D820Y、N822K、N822H、Y823D、Y823C和T670I。在另一方面,治疗有效量的所述化合物每天最多给予三次或更多次,只要对象需要治疗C-KIT突变体激活的增殖性疾病。在另一方面,所述化合物与另一药剂以顺次或相伴方式中的至少一种提供给新诊断的增殖性疾病患者或复发/难治的增殖性疾病患者。在另一方面,所述化合物作为单一药剂提供或与另一药剂(如化疗剂)组合提供给新诊断的增殖性疾病患者或复发/难治的增殖性疾病患者。在另一方面,所述化合物作为单一药剂提供或与另一药剂组合提供给新诊断的增殖性疾病儿科患者或复发/难治的增殖性疾病儿科患者。在另一方面,所述患者是复发患者/干扰素 α 、2-氯脱氧腺苷或甲磺酸伊马替尼难治的患者。

[0012] 在另一实施方式中,本发明包括治疗患有C-KIT突变体驱动的增殖性疾病的患者的方法,包括:给予需要此类治疗的患者治疗有效量的本发明化合物或其盐,其中细胞增殖性疾病的特征在于C-KIT突变体受体酪氨酸激酶活性,所述增殖性疾病选自以下的至少一种:肥大细胞增多症、急性髓性白血病、胃肠基质瘤、鼻腔鼻窦NK/T-细胞淋巴瘤、精原细胞瘤、恶性胚胎瘤(dysgerminomas)、黑色素瘤和胸腺肿瘤。在另一方面,克莱拉尼是苯磺酸克莱拉尼、磷酸克莱拉尼、乳酸克莱拉尼、盐酸克莱拉尼、柠檬酸克莱拉尼、乙酸克莱拉尼、甲磺酸克莱拉尼或琥珀酸克莱拉尼。在另一方面,所述C-KIT突变是以下之一:D816F、D816H、D816N、D816Y、D816V、K642E、Y823D、De1 550-558、De1 557-561、N822K、V654A、N822H、De1 550-558+V654A、De1557-561+V654A、Ins503AY、V560G、55bNP、De1557-558、De1 W559-560、F522C、De1579、R634W、K642E、T801I、C809G、D820Y、N822K、N822H、Y823D、Y823C和T670I。在另一方面,克莱拉尼与另一药剂以顺次或相伴方式中的至少一种提供给新诊断的增殖性疾病或复发/难治的增殖性疾病。在另一方面,克莱拉尼作为单一药剂提供或与另一药剂(例如,化疗剂)组合提供以便治疗增殖性疾病的儿科患者。在另一方面,克莱拉尼作为单一药剂以顺次或相伴方式与化疗或靶向治疗提供给新诊断的增殖性疾病。在另一方面,克莱拉尼作为单一药剂提供以治疗化疗或靶向治疗难治的或在化疗或靶向治疗后复发的增殖性疾病患者。在另一方面,所述患者是干扰素 α 、2-氯脱氧腺苷或甲磺酸伊马替尼中至少一种难治的患者。

[0013] 本发明提供降低或抑制细胞或对象中突变型C-KIT的激酶活性的方法,以及此类方法在治疗突变型C-KIT驱动细胞增殖性疾病中的应用。本发明的其它特征和优点将从下文的本发明详述和权利要求中明白。

附图说明

[0014] 为更完全地了解本发明的特征和优点,可参考本发明详述和附图,其中:

[0015] 图1显示相比于其它KIT酪氨酸激酶抑制剂,本发明苯磺酸盐对组成型活性KIT D816H突变的结合常数;

[0016] 图2显示相比于其它KIT酪氨酸激酶抑制剂,本发明苯磺酸盐对组成型活性KIT D816V突变的结合常数。

具体实施方式

[0017] 虽然下文详细讨论了作出和利用本发明的各种实施方式,但应该知道本发明提供

了许多可适用的发明点,它们可以具体体现为各种特定的内容。本文讨论的具体实施方式仅是作出和利用本发明的具体方式的说明,不限制本发明的范围。

[0018] 下文定义了许多术语以帮助理解本发明。本文定义的术语具有本发明相关领域的普通技术人员通常理解的含义。诸如“一”、“一个”和“该”等术语不应仅指单数实体,还包括可用具体例子作说明的普通种类。本文的术语用于描述本发明的具体实施方式,但利用它们并不限制本发明,除非在权利要求中描述的。

[0019] 本发明包括本发明化合物在抑制细胞或对象中突变型C-KIT激酶活性,或治疗对象中突变型C-KIT激酶活性或表达相关疾病中的应用。

[0020] 在该方面的一个实施方式中,本发明提供降低或抑制细胞中突变型C-KIT的激酶活性的方法,包括将所述细胞与本发明化合物接触的步骤。本发明还提供降低或抑制对象中突变型C-KIT激酶活性的方法,包括给予所述对象本发明化合物的步骤。本发明还提供抑制细胞增殖的方法,包括将所述细胞与本发明化合物接触的步骤。

[0021] 本文所用的术语“对象”指已经作为治疗、观察或实验客体的动物,例如哺乳动物或人。

[0022] 本文所用的术语“接触”指将本发明化合物或其药学上可接受的盐加入到细胞,从而所述细胞摄取所述化合物。

[0023] 在该方面的其它实施方式中,本发明提供治疗方法以便治疗具有患有细胞增殖性疾病的对象,所述疾病由突变型C-KIT的异常激酶活性驱动。

[0024] 本文所用的术语“治疗有效量”指研究人员、兽医、医生或其它临床医师所寻求的,引发对象中生物学或医学反应的活性化合物或药用盐的用量,所述反应包括缓解所治疗疾病或病症的症状。

[0025] 本领域知晓测定包含本发明化合物的药物组合物的治疗有效剂量的方法。

[0026] 本文所用的术语“组合物”应包括含有特定量的特定成分的产品以及从特定量的特定成分的组合直接或间接获得的任何产品。

[0027] 本文所用的术语“突变型C-KIT相关疾病”或“C-KIT突变的受体酪氨酸激酶相关疾病”或“突变型C-KIT驱动细胞增殖性疾病”包括与突变型C-KIT活性相关或涉及突变型C-KIT活性的疾病,例如导致C-KIT组成型激活的突变。“突变型C-KIT相关疾病”的例子包括C-KIT中突变造成C-KIT过度刺激所致的疾病。

[0028] 术语“细胞增殖性疾病”指多细胞生物体中一个或多个细胞亚组的过度细胞增殖,从而对该多细胞生物体致害(即,不适或预期寿命降低)。细胞增殖性疾病可在不同类型的动物和人中发生。细胞增殖性疾病的例子是肥大细胞增多症、急性髓性白血病、胃肠基质瘤、鼻腔鼻窦NK/T-细胞淋巴瘤、精原细胞瘤、无性细胞瘤、黑色素瘤和胸腺肿瘤。

[0029] 在一个实施方式中,本发明可与另一疗法组合为组合治疗以便治疗对象中突变型C-KIT相关的细胞增殖性疾病发作。组合治疗包括给予治疗有效量的本发明化合物与一种或多种其它抗细胞增殖疗法,包括但不限于化疗和靶向疗法,例如放疗。

[0030] 在本发明的另一实施方式中,本发明化合物可与化疗组合给予。本文所用的化疗指涉及化疗剂的疗法。各种化疗剂可与本发明联用。紫杉烷化合物,具体是多西他赛与本发明化合物以每平方米体表面积75毫克(mg/m^2)的剂量安全组合给药,仅是举例。

[0031] 化疗是本领域技术人员已知的。化疗的合适剂量和方案类似于临床治疗中早已采

用的那些,其中所述化疗与其它疗法组合使用或单用。

[0032] 在本发明的另一实施方式中,本发明化合物可与放疗组合给予。本文所用的“放疗”指包括有需要的对象暴露于射线的治疗。本领域技术人员已知放疗。放疗的合适剂量和方案类似于临床治疗中早已采用的那些,其中所述放疗与其它疗法组合递送或单用。

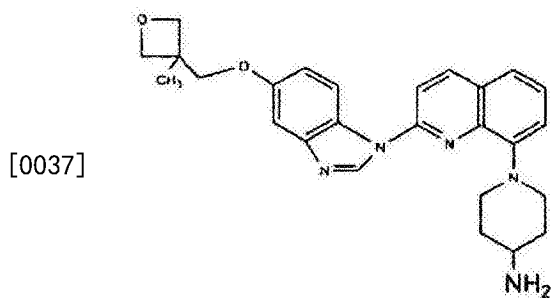
[0033] 在本发明的另一实施方式中,本发明化合物可与靶向治疗组合给予。本文所用的“靶向治疗”指靶向参与肿瘤产生或致癌信号传导的特定类型蛋白质的治疗。例如,抗血管内皮生长因子的酪氨酸激酶抑制剂已用于治疗癌症。

[0034] 本发明还包括以下方法:除了本发明化合物,该方法还利用第二化疗剂,二者同时或顺次(任一次序)给予。

[0035] 本文所用的术语“化疗剂”指与本发明联用的化疗剂。为详细讨论可与本发明联用的化疗剂以及它们的给药剂量和方法,可参见,例如Dorr等.,《癌症化疗手册》(The Cancer Chemotherapy Handbook) (第6版)Fischer,Durivage,Knobf和Beaulieu,Mosby-Year Book,Inc. (2003),相关剂型、治疗方案和操作要求通过引用纳入本文。化疗剂的非限制性例子选自以下的至少一种:烷化/氨基甲酰化剂;铂衍生物;抗有丝分裂剂;微管蛋白抑制剂;拓扑异构酶抑制剂;核苷酸或核苷拮抗剂,例如嘧啶或嘌呤拮抗剂;叶酸拮抗剂、紫杉烷类、激酶抑制剂;磷酸酶抑制剂;蛋白酶体抑制剂;组蛋白脱乙酰基酶抑制剂;热激蛋白抑制剂;血管靶向剂(VAT);单克隆抗体(例如,曲妥珠单抗(Trastuzumab)、利妥昔单抗(Rituximab)、阿莱珠单抗(Alemtuzumab)、托西莫单抗(Tositumomab)、赛图昔单抗(Cetuximab)、贝伐珠单抗(Bevacizumab))以及单克隆抗体的突变体、片段和偶联物(例如,吉妥单抗(Gemtuzumab ozogamicin)或替伊莫单抗(Ibritumomab tiuxetan));基于寡核苷酸的剂;Toll-样受体激动剂;蛋白酶抑制剂;抗-雌激素激素剂;抗-雄激素激素剂;促黄体激素释放激素(LHRH)剂(例如,亮丙瑞林(Leuporelin)、戈舍瑞林(Goserelin)、曲普瑞林(Triptorelin));芳香酶抑制剂;博来霉素;类维生素A;DNA甲基转移酶抑制剂;丙氨酸(Alanine);细胞因子;干扰素;和死亡受体激动剂。在还有的另一方面,所述化疗剂选自以下的至少一种:放线菌素D、阿巴瑞克(Abarelix)、阿昔单抗(Abciximab)、阿柔比星(Aclarubicin)、阿达帕林(Adapalene)、阿莱珠单抗、六甲蜜胺(Altretamine)、氨鲁米特、氨普立糖(Amiprilose)、氨柔比星(Amribicin)、阿那曲唑(Anastrozole)、安西他滨(Ancitabine)、青蒿素、硫唑嘌呤(Azathioprine)、巴利昔单抗(Basiliximab)、苯达莫司汀(Bendamustine)、百克沙(Bexxar)、比卡鲁胺(Bicalutamide)、博来霉素、硼替佐米(Bortezomib)、溴尿苷(Broxuridine)、白消安、坎帕斯(Campath)、卡培他滨(Capecitabine)、卡铂、卡波醌(Carboquone)、卡莫司汀(Carmustine)、西曲瑞克(Cetorelix)、瘤可宁(Chlorambucil)、氮芥(Chlormethine)、顺铂、克拉屈滨(Cladribine)、氯米芬(Clomifene)、环磷酰胺、达卡巴嗪(Dacarbazine)、达利珠单抗(Daclizumab)、更生霉素、柔红霉素、地西他滨(Decitabine)、德舍瑞林(Deslorelin)、右雷佐生(Dexrazoxane)、多西他赛、多西氟尿啶(Doxifluridine)、阿霉素、屈洛昔芬(Droloxifene)、屈他雄酮(Drostanolone)、依地福新(Edelfosine)、依洛尼塞(Eflornithine)、依米替氟(Emiterfur)、表柔比星、环硫雄醇(Epitiostanol)、依铂(Eptaplatin)、西妥昔单抗(Erbix)、埃罗替尼(Erlotinib)、雌莫司汀(Estramustine)、依托泊甙、依西美坦(Exemestane)、法倔唑(Fadrozole)、非那雄胺(Finasteride)、氟尿苷

(Floxuridine)、氟胞嘧啶、氟达拉滨(Fludarabine)、氟尿嘧啶、氟他胺(Flutamide)、福美司坦(Formestane)、膦甲酸(Foscarnet)、磷雌酚(Fosfestrol)、福莫司汀(Fotemustine)、氟维司群(Fulvestrant)、吉非替尼(Gefitinib)、吉那森斯(Genasense)、吉西他滨(Gemcitabine)、格列卫(Glivec)、戈舍瑞林(Goserelin)、胍立莫司(Gusperimus)、赫赛汀(Herceptin)、伊达比星(Idarubicin)、碘苷(Idoxuridine)、异环磷酰胺>Ifosfamide)、伊马替尼(Imatinib)、英丙舒凡(Improsulfan)、英夫利昔单抗(Infliximab)、依立替康(Irinotecan)、伊沙匹隆(Ixabepilone)、兰瑞肽(Lanreotide)、来曲唑(Letrozole)、亮丙瑞林(Leuprorelin)、乐巴铂(Lobaplatin)、洛莫司汀(Lomustine)、鲁珀若利得(Luprolide)、美法仑、巯嘌呤(Mercaptopurine)、甲氨蝶呤、美妥替哌(Meturedopa)、米铂(Miboplatin)、米非司酮(Mifepristone)、米特福辛(Miltefosine)、米立司亭(Mirimostim)、米托胍脲(Mitoguazone)、二溴卫矛醇(Mitolactol)、丝裂霉素、米托蒽醌、咪唑立宾(Mizoribine)、莫特沙芬(Motexafin)、麦罗塔(Mylotarg)、那托司亭(Nartograstim)、那巴珠单抗(Nebazumab)、奈达铂(Nedaplatin)、尼鲁米特(Nilutamide)、尼莫司汀(Nimustine)、奥曲肽(Octreotide)、奥美昔芬(Ormeloxifene)、奥沙利铂(Oxaliplatin)、紫杉醇、帕利珠单抗(Palivizumab)、埃坡霉素(Patupilone)、培门冬酶(Pegaspargase)、聚乙二醇非格司亭(Pegfilgrastim)、培美曲唑(Pemetrexed)、喷曲肽(Pentetreotide)、喷司他丁(Pentostatin)、培磷酰胺(Perfosfamide)、哌泊舒凡(Piposulfan)、吡柔比星(Pirarubicin)、光神霉素、泼尼氮芥(Prednimustine)、丙卡巴肼(Procarbazine)、丙帕锗(Propagermanium)、丙螺氯铵(Prospidium Chloride)、雷洛昔芬(Raloxifen)、雷替曲塞(Raltitrexed)、雷莫司汀(Ranimustine)、豹蛙酶(Ranpirinase)、拉布立酶(Rasburicase)、雷佐生(Razoxane)、利妥昔单抗、利福平、利曲舒凡(Ritrosulfan)、罗莫肽(Romurtide)、鲁伯斯塔(Ruboxistaurin)、沙格司亭(Sargramostim)、沙铂(Satraplatin)、西罗莫司(Sirolimus)、索布佐生(Sobuzoxane)、索拉非尼(Sorafenib)、螺莫司汀(Spiromustine)、链佐星(Streptozocin)、舒尼替尼(Sunitinib)、他莫昔芬、他索纳明(Tasonermin)、替加氟(Tegafur)、替莫泊芬(Temoporphin)、替莫唑胺(Temozolomid)e、替尼泊苷(Teniposide)、睾内酯酮(Testolactone)、塞替派(Thiotepa)、胸腺法新(Thymalfasin)、硫米嘌呤(Tiamiprine)、拓扑替康(Topotecan)、托瑞米芬(Toremifene)、特雷尔(Trail)、曲奥舒凡(Treosulfan)、三亚胺醌(Triaziquone)、三甲曲沙(Trimetrexate)、曲普瑞林(Triptorelin)、曲磷胺(Trofosfamide)、乌瑞替哌(Uredepa)、戊柔比星(Valrubicin)、瓦他拉尼(Vatalanib)、维替泊芬(Verteporfin)、长春花碱、长春新碱、长春地辛、长春瑞滨(Vinorelbine)、伏罗唑(Vorozole)和泽娃灵(Zevalin)。

[0036] 在一个实施方式中,本发明利用治疗有效量的式I所示化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物抵御增殖性疾病:



I

[0038] 所述增殖性疾病选自以下的至少一种：肥大细胞增多症、急性髓性白血病、胃肠基质瘤、鼻腔鼻窦NK/T-细胞淋巴瘤、精原细胞瘤、无性细胞瘤、黑色素瘤和胸腺肿瘤。药学上可接受的盐有，例如盐酸盐、磷酸盐和乳酸盐，它们的制备方式类似于苯磺酸盐的制备方式且是本领域普通技术人员熟知的。

[0039] 可将本发明化合物经全身性，例如口服、静脉内、皮下、肌肉内、真皮内或胃肠外给予对象。本发明化合物还可局部给予对象。

[0040] 可将本发明化合物配制成缓释或速释制剂，其目的是在所需时间范围内维持本发明化合物与靶向组织的接触。

[0041] 适合口服给药的组合物包括固体形式，例如丸剂、片剂、囊片、胶囊、粒剂和粉末，液体形式，例如溶液、乳液和混悬液。可用于胃肠外给药的形式包括无菌溶液、乳液和混悬液。

[0042] 本发明化合物的每日剂量可以在每日每位成年人50-500毫克的宽范围内变动。对于口服给药，组合物宜采用含有20-100毫克的片剂形式提供。本发明的化合物可采用每日最多三次或更多次的服法给予。优选每日三次。待给予的最佳剂量可由本领域技术人员决定，可依据所用的本发明化合物、给药方式、给药时间、制品强度、疾病细节作出改变。剂量调节取决于患者特征相关的因素，例如年龄、体重和饮食。

[0043] 本发明化合物的制备。

[0044] 可用于制备式I所示化合物的通用合成方法见美国专利号5,990,146 (1999年11月23日授权) (华纳-兰伯特公司Warner-Lambert Co.) 和PCT公布申请号W0 99/16755 (1999年4月8日公布) (默克公司Merck&Co.)、W0 01/40217 (2001年7月7日公布) (辉瑞公司Pfizer, Inc.)、美国专利申请号US 2005/0124599 (辉瑞公司) 和美国专利申请号7,183,414 (辉瑞公司)，相关部分通过引用纳入本文。

[0045] 药学上可接受的盐，例如盐酸盐、磷酸盐和乳酸盐采用类似于苯磺酸盐的制备方式制备，这些盐是本领域普通技术人员熟知的。以下本发明代表性的化合物仅是出于示范性目的，绝非意味着限制本发明。

[0046] 生物学活性。

[0047] 体外试验。

[0048] 进行以下代表性的体外试验以测定本发明化合物的C-KIT生物学活性。给出这些试验以非限制性方式说明本发明。

[0049] 抑制突变型C-KIT酶活性证明特异性抑制了突变型C-KIT酶和依赖于突变型C-KIT活性的细胞过程。本文的所有实例显示突变型C-KIT激酶和C-KIT-依赖性细胞反应的显著和特异性抑制作用。

[0050] 竞争性结合试验。

[0051] 进行体外激酶试验以测定本发明化合物的活性。采用KINOME扫描Kdelect试验方案抑制突变型人C-KIT受体的激酶结构域。KINOME扫描平台采用高通量竞争结合技术。混合DNA-标记的激酶、固定化配体和本发明化合物进行该试验。采用DNA标签的定量PCR检测本发明化合物与固定化配体竞争的能力。采用竞争结合试验评估本发明化合物对一组96个人蛋白激酶的活性。

[0052] 在24-孔板中,将激酶-标记的T7噬菌体菌株在源自BL21菌株的大肠杆菌宿主中平行培养。将大肠杆菌培养至对数阶段,用冷冻储备物的T7噬菌体感染并在32℃振荡温育直至裂解。然后离心并过滤裂解物。在HEK-293细胞中产生其余激酶并用DNA标记以供定量PCR检测。室温下,用生物素化的小分子配体处理链霉亲和素-包被的磁珠30分钟来产生用于激酶试验的亲树脂。用过量生物素封闭配体珠,用封闭缓冲液洗涤以减少非特异性噬菌体结合,所述封闭缓冲液由Sea Block、1%牛血清白蛋白(BSA)、0.05%吐温20、1mM二硫苏糖醇(DTT)构成。在100%二甲基亚砜(DMSO)中,将本发明的11-点3-倍连续稀释液制备成40×储备液,稀释成1×直接加入试验。

[0053] 通过在1x结合缓冲液中混合配体亲和珠、激酶和本发明化合物启动结合反应,所述结合缓冲液由20%Sea Block、0.17磷酸缓冲盐水(PBS)、0.05%吐温20、6mM DTT构成。所有反应在聚丙烯384-孔平板中进行,最终体积为0.04mL。平板在室温下振荡温育1小时。亲和珠用1xPBS和0.05%吐温20缓冲液洗涤,然后重悬在由1x PBS、0.05%吐温20、0.5uM非生物素化的亲和配体构成的洗脱缓冲液中。重悬后,室温下振荡温育亲和珠。然后通过定量PCR检测洗脱液的激酶浓度。

[0054] 采用Hill方程,利用标准剂量-反应曲线计算结合常数(Kd)。利用非线性最小二乘与Levenberg-Marquardt算法拟合曲线。将本发明化合物的Kd与阴性DMSO对照和阳性对照化合物的Kd作比较。利用化合物特性目测相互作用图,TREE点(TREEspot)目测观察本发明化合物的结合亲和力。

[0055] 直接酶磷酸化试验。

[0056] 采用密理博激酶IC50分析试验(Millipore Kinase IC50 Profiler assay),对一组正常C-KIT和突变的C-KIT激酶筛选本发明化合物。对于两种激酶的试验,C-KIT酶与pH 7.0的8mM 3-(N-吗啉基)丙磺酸(MOPS)、0.2mM乙二胺四乙酸(EDTA)、50uM合成的Ab1肽底物EAIYAAPFAKKK、10mM乙酸镁和[γ -33P-ATP]温育。加入MgATp混合物启动反应。反应混合物在室温温育40分钟,加入3%磷酸溶液停止反应。将10微升反应溶液点样在P30滤垫上,用75mM磷酸洗涤3次,5分钟,然后用甲醇洗涤1次,随后干燥并作闪烁计数。利用5.1版的XLfit分析各重复样品(包括阳性和阴性对照)的闪烁值,以测定本发明化合物对正常和突变C-KIT的IC50值。

[0057] C-KIT-D816突变的生物学数据。

[0058] 本发明的苯磺酸盐对C-KIT酪氨酸激酶结构域突变D816H和D816V的活性示于图1和2。所有结合常数以纳摩尔浓度示出。在图1和2中,比较了本发明化合物与本领域已知的其它抑制剂对C-KIT D816突变的活性。参见Davis MI,Hunt JP,Herrgard S等,“激酶抑制剂选择性的综合分析”(Comprehensive analysis of kinase inhibitor selectivity.) Nat Biotechnol 2011;29:1046-51。本发明苯磺酸盐对C-KIT D816H突变的结合常数(Kd)

是5.4nM,对C-KIT D816V突变的结合常数(Kd)是2.5nM。比较本发明的苯磺酸盐对C-KIT D816H和D816V突变的Kd与本领域的其它抑制剂的Kd时,本发明的苯磺酸盐形式对C-KIT D816H突变的亲和力是其它抑制剂的1-103倍,对C-KIT D816V突变的亲和力是其它抑制剂的1-392倍。与甲磺酸伊马替尼相比,本发明的苯磺酸盐形式对C-KIT D816H突变的亲和力是甲磺酸伊马替尼的103倍以上,对C-KIT D816V突变的亲和力是甲磺酸伊马替尼的392倍(D816H Kd=560nM和D816V Kd=980nM)。

[0059] 采用直接酶促密理博激酶IC50分析试验(direct enzymatic Millipore IC50 profiler assay)测定本发明苯磺酸盐的活性。所有IC50值以纳摩尔浓度示出。在直接酶促检测试验中,本发明苯磺酸盐对C-KIT D816H突变的IC50值是7nM。

[0060] 对于本发明的任何方法、试剂盒、试剂或组合物,可实施本说明书讨论的任何实施方式,反之亦然。此外,可利用本发明的组合物实施本发明的方法。

[0061] 应该理解,本文所述的特定实施方式是为说明目的显示,不是对本发明的限制。本发明的主要特征可用于各种实施方式中而不脱离本发明的范围。仅采用常规实验,本领域技术人员会知道或确定本文所述具体流程的许多等价方式。此类等价方式应视作落在本发明的范围内并被权利要求所覆盖。

[0062] 说明书述及的所有出版物和专利申请说明了本发明所属领域的技术人员的技术水平。与各出版物或专利申请专门且单独表示通过引用纳入的程度一样,所有出版物和专利申请通过引用纳入本文。

[0063] 当词语“一”在权利要求和/或说明书中与术语“包含”联用时,可表示“一”,但还与“一个或多个”、“至少一个”和“一个或多于一个”的意义一致。在权利要求中利用术语“或”表示“和/或”,除非明确表示指代唯一的备选方案或者备选方案相互排斥,但本发明支持指代唯一的备选方案和“和/或”的定义。本申请通篇利用术语“约”表明某数值包括用于测定该数值的方法、装置的固有误差,或研究客体之间存在的偏差。

[0064] 本说明书和权利要求中使用的词语“包含”(和任何形式的包含,例如“含有”和“包括”)、“具有”(和任何形式的具有,例如“有”和“拥有”)、“包括”(和任何形式的包括,例如“包括有”和“包括了”)或“含有”(任何形式的含有,例如“含”和“包含”)是非排他性的或开放式的,不排除未述及的其它元素或方法步骤。

[0065] 本文所用的术语“或它们的组合”指该术语之前所列项目的排列和组合。例如,“A、B、C或它们的组合”应包括以下的至少一种:A、B、C、AB、AC、BC或ABC,如果在特定情况中顺序是至关重要的,还包括BA、CA、CB、CBA、BCA、ACB、BAC或CAB。继续以此为例,明显包括的组合含有一个或多个项目或术语的重复,例如BB、AAA、MB、BBC、AAABCCCC、CBAAAA、CABABB等等。技术人员应理解任何组合中项目或术语的数量通常不作限制,除非上下文中明显有限制。

[0066] 本文所用的近似词语,例如但不限于“约”、“实质性”或“实质性地”指这样一种条件:当如此修饰时,应理解为不必是绝对的或完美的,但认为足够接近本领域普通技术人员的那些条件,从而保证能指明该条件,如其存在的那样。说明书可变动的范围取决于产生的改变有多大,但该改变仍使得本领域普通技术人员认识到修饰的特征仍具有未修饰特征的所需特征和性能。根据前述讨论,用近似词语,例如“约”修饰的数值通常可自所述值改变至少±1、2、3、4、5、6、7、10、12或15%。

[0067] 根据本说明书,可以作出和实施本文披露和要求保护的所有组合物和/或方法。虽然根据优选的实施方式描述了本发明的组合物和方法,本领域技术人员应该明白可对本文所述的组合物和/或方法以及方法的步骤或步骤次序作出改变而不脱离本发明的概念、构思和范围。本领域技术人员显而易见的所有此类相似的替代方式和改进应视作落在随附权利要求限定的本发明构思、范围和概念内。

[0068] 参考文献

[0069] Rulina等.,Biochemistry(莫斯科).“激活的白血病致癌基因AML1-ETO和c-kit:产生急性髓性白血病的作用和目前抑制它们的方法”(Activated Leukemic Oncogenes AML1-ETO and c-kit:Role of Development of Acute Myeloid Leukemia and Current Approaches for Their Inhibition).2010;75(13):1650-1666.

[0070] Tefferi和Pardanani.“KIT816V-阳性肥大细胞增多症的靶向治疗:等待原则证明”(Targeted Therapy in KIT816V-positive mastocytosis:waiting for proof-of-principle.)“白血病和淋巴瘤”(Leukemia and Lymphoma),2010年3月;51(3):360-362.

[0071] Miettinen等,“(KIT(CD117):正常和肿瘤组织中表达以及突变和它们的临床病理相关性的综述”(KIT(CD117):A Review on Expression in Normal and Neoplastic Tissues,and Mutations and their ClinicopathologicCorrelation).Appl Immunohistochem Mol Morphol.2005;13:205-220.

[0072] Hug等,“ETO相互作用蛋白”(ETO Interacting Proteins).Oncogene.2004;23(24):4270-4274.

[0073] Akin等.“跨膜C-KIT突变相关的肥大细胞增多症新形式以及对伊马替尼的反应”(A Novel Form of Mastocytosis Associated with a Transmembrane C-KIT Mutation and Response to Imatinib).Blood.2004;103:3222-3225.

[0074] Zermati等.“酪氨酸激酶抑制剂STI571对肥大细胞瘤中发现的野生型和各种突变C-KIT受体的激酶活性的作用”(Effect of Tyrosine Kinase Inhibitor STI571 on the Kinase Activity of Wild-type and Various Mutated C-KIT Receptors Found in Mast Cell Neoplasms).Oncogene.2003;22:660-664.

[0075] Akin等.“酪氨酸激酶抑制剂STI571对携带野生型或突变C-KIT的人肥大细胞的作用”(Effects of Tyrosine Kinase Inhibitor STI571 on Human Mast Cells Bearing Wild-type or Mutated C-KIT).Exp Hematol.2003;31:686-692.

[0076] Ma等.“导致人肥大细胞增多症的C-KIT突变体对STI571和其它KIT激酶抑制剂耐受;含酶促位点突变的激酶显示不同于野生型激酶和含调节型突变的那些激酶的抑制剂敏感性特征”(The C-KIT Mutation Causing Human Mastocytosis is Resistant to STI571 and Other KIT Kinase Inhibitors;Kinases with Enzymatic Site Mutations Show Different Inhibitor Sensitivity Profiles than Wild-type Kinases and Those with Regulatory-type Mutations).Blood.2002;99:1741-1744.

[0077] Davis MI,Hunt JP,Herrgard S等,“激酶抑制剂选择性的综合分析”(Comprehensive analysis of kinase inhibitor selectivity.)Nat Biotechnol 2011;29:1046-51.

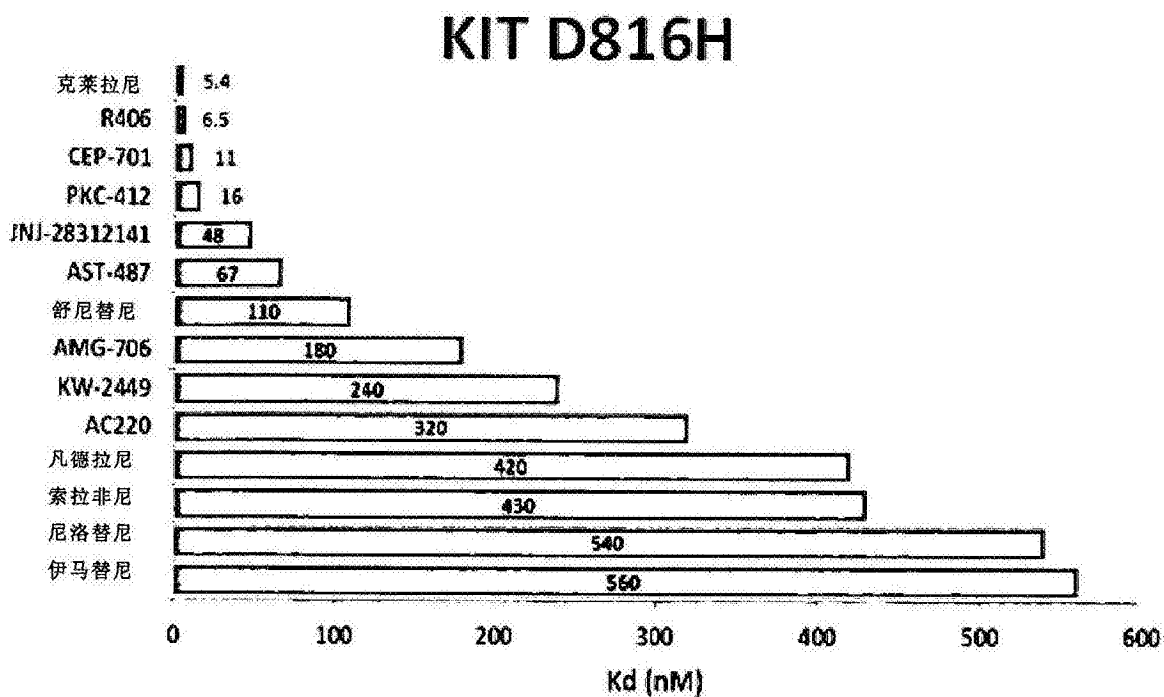


图1

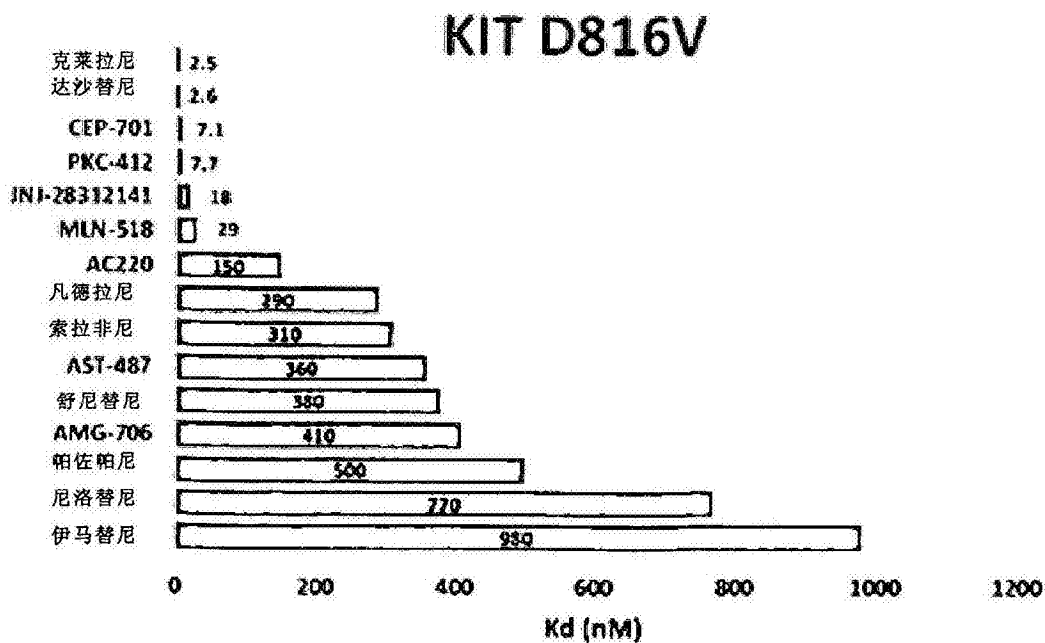


图2