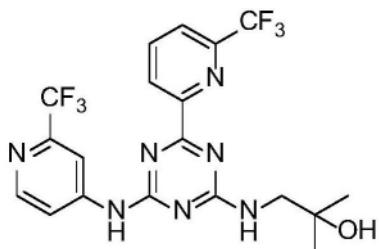


1. 具有下式的2-甲基-1-[(4-[6-(三氟甲基)吡啶-2-基]-6-[[2-(三氟甲基)吡啶-4-基]氨基]-1,3,5-三嗪-2-基)氨基]丙-2-醇：



或其药学上可接受的盐(化合物1)与阿扎胞苷联合在制备用于治疗以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的急性骨髓性白血病的药物中的用途。

2. 如权利要求1所述的用途,其中所述IDH2突变是IDH2 R140Q或R172K突变。
3. 如权利要求1所述的用途,其中所述急性骨髓性白血病是新诊断的。
4. 如权利要求1至3中任一项所述的用途,其中所述药物以20至2000mg/天的量施用化合物1。
5. 如权利要求1至3中任一项所述的用途,其中所述药物以50至500mg/天的量施用化合物1。
6. 如权利要求1至3中任一项所述的用途,其中所述药物以50mg/天的量施用化合物1。
7. 如权利要求1至3中任一项所述的用途,其中所述药物以100mg/天的量施用化合物1。
8. 如权利要求1至3中任一项所述的用途,其中所述药物以200mg/天的量施用化合物1。
9. 如权利要求1至3中任一项所述的用途,其中所述药物以50至500mg/m²的量施用阿扎胞苷。
10. 如权利要求1至3中任一项所述的用途,其中所述药物以50至200mg/m²的量施用阿扎胞苷。
11. 如权利要求1至3中任一项所述的用途,其中所述药物以50mg/m²的量施用阿扎胞苷。
12. 如权利要求1至3中任一项所述的用途,其中所述药物以60mg/m²的量施用阿扎胞苷。
13. 如权利要求1至3中任一项所述的用途,其中所述药物以75mg/m²的量施用阿扎胞苷。
14. 一种药物组合物,其包含2-甲基-1-[(4-[6-(三氟甲基)吡啶-2-基]-6-[[2-(三氟甲基)吡啶-4-基]氨基]-1,3,5-三嗪-2-基)氨基]丙-2-醇或其药学上可接受的盐,以及阿扎胞苷,其中所述药物组合物用于治疗以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的急性髓性白血病。

用于治疗恶性肿瘤的组合疗法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2015年10月15日提交的美国临时申请No.62/242,218的优先权权益，所述美国临时申请的公开内容以引用的方式整体并入本文。

[0003] 领域

[0004] 本文提供用于治疗血液恶性肿瘤和实体瘤的组合疗法。在一个实施方案中，所述疗法涉及用IDH2抑制剂和DNA去甲基化治疗。

[0005] 背景

[0006] 异柠檬酸脱氢酶(IDH)催化异柠檬酸氧化脱羧为2-氧化戊二酸酯(即,α-酮戊二酸盐)。这些酶属于两个不同的亚类，其中一个亚类利用NAD(+)作为电子受体，并且另一个亚类利用NADP(+)作为电子受体。已经报道了五种异柠檬酸脱氢酶：三种NAD(+) - 依赖性异柠檬酸脱氢酶，它们定位于线粒体基质；和两种NADP(+) - 依赖性异柠檬酸脱氢酶，其中之一是线粒体的并且另一个主要是胞质的。每种NADP(+) - 依赖性同工酶为同源二聚体。

[0007] IDH2(异柠檬酸脱氢酶2(NADP+),线粒体的)也被称为IDH; IDP; IDHM; IDPM; ICD-M; 或mNADP-IDH。由这种基因编码的蛋白质是在线粒体中发现的NADP(+) - 依赖性异柠檬酸脱氢酶。它在中间代谢和能量生产中起作用。这种蛋白质可与丙酮酸脱氢酶复合物紧密相关或相互作用。人IDH2基因编码452个氨基酸的蛋白质。IDH2的核苷酸和氨基酸序列可以分别以GenBank条目NM_002168.2和NP_002159.2找到。人IDH2的核苷酸和氨基酸序列也描述在例如Huh等人，提交(NOV-1992)给EMBL/GenBank/DDBJ数据库；和The MGC Project Team, Genome Res.14:2121-2127 (2004)。

[0008] 非突变体(例如野生型)IDH2例如在正向反应中催化异柠檬酸盐氧化脱羧为α-酮戊二酸盐(α-KG)，由此将NAD⁺(NADP⁺)还原为NADH(NADPH)：

[0009] 异柠檬酸盐+NAD⁺(NADP⁺)→α-KG+CO₂+NADH(NADPH)+H⁺。

[0010] 已经发现存在于某些癌细胞中的IDH2的突变导致所述酶催化α-酮戊二酸盐以NAPH-依赖性还原为R(-)-2-羟基戊二酸盐(2HG)的新能力。2HG不是由野生型IDH2形成的。2HG的产生据信促成癌症的形成和进展(Dang, L等人, Nature 462:739-44, 2009)。

[0011] 体细胞IDH2突变发生在一系列实体瘤和血液肿瘤以及恶化前病症中，包括急性骨髓性白血病(AML)和骨髓增生异常综合征(MDS)。约15%的AML患者群体含有IDH2基因突变，所述突变导致癌代谢物2HG的产生，2HG的累积抑制DNA去甲基酶的10-11易位(TET)基因，从而产生DNA超甲基化表型。增加的DNA甲基化导致AML的分化阻断和增殖(Wang等人, Science 340:622-626, 2013)。

[0012] IDH2突变体酶的选择性抑制剂的开发为携带IDH2突变的AML患者提供治疗益处的可能性。在临床中已经有成功的响应，伴随减少的爆发人群和分化功能性血细胞的益处。然而，即使总体响应良好，患者中也存在遗传负荷。因此，需要用于治疗具有IDH2突变的癌症的改进的疗法。

[0013] 概述

[0014] 在一个实施方案中，本文提供通过向对象施用突变体IDH2抑制剂与DNA去甲基化

剂的组合来治疗血液恶性肿瘤的方法。

[0015] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗各自以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的血液恶性肿瘤的方法,所述血液恶性肿瘤如急性骨髓性白血病(AML)、骨髓增生异常综合征(MDS)、慢性粒单核细胞白血病(CMML)、髓样肉瘤、多发性骨髓瘤、淋巴瘤(例如,T细胞淋巴瘤或B细胞淋巴瘤)、血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤(AITL)或母细胞性浆细胞样树突细胞赘生物,所述方法包括向对象施用治疗有效量的2-甲基-1-[(4-[6-(三氟甲基)吡啶-2-基]-6- {[2-(三氟甲基)吡啶-4-基]氨基}-1,3,5-三嗪-2-基)氨基]丙-2-醇或其药学上可接受的盐、溶剂化物、互变异构体、立体异构体、同位素体、前药、代谢物或多晶型物(化合物1)和DNA去甲基化剂。

[0016] 在一个实施方案中,所述DNA去甲基化剂是胞昔类似物。

[0017] 在一个实施方案中,适用于本文提供的方法中的胞昔类似物包括但不限于,5-阿扎胞昔(阿扎胞昔)、5-氮杂脱氧胞昔(地西他滨)、阿糖胞昔、假异胞昔、吉西他滨、泽布罗恩、FCdR、Emtriva、5,6-二氢-5-阿扎胞昔以及普鲁卡因。在一个实施方案中,所述胞昔类似物是地西他滨或阿扎胞昔。在一个实施方案中,所述胞昔类似物是阿扎胞昔。

[0018] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗各自以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的血液恶性肿瘤的方法,所述血液恶性肿瘤如急性骨髓性白血病(AML)、骨髓增生异常综合征(MDS)、慢性粒单核细胞白血病(CMML)、髓样肉瘤、多发性骨髓瘤、淋巴瘤(例如,T细胞淋巴瘤或B细胞淋巴瘤)、血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤(AITL)或母细胞性浆细胞样树突细胞赘生物,所述方法包括向对象施用治疗有效量的化合物1和阿扎胞昔。

[0019] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗各自以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的血液恶性肿瘤的方法,所述血液恶性肿瘤如急性骨髓性白血病(AML)、骨髓增生异常综合征(MDS)、慢性粒单核细胞白血病(CMML)、髓样肉瘤、多发性骨髓瘤、淋巴瘤(例如,T细胞淋巴瘤或B细胞淋巴瘤)、血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤(AITL)或母细胞性浆细胞样树突细胞赘生物,所述方法包括向对象施用包含治疗有效量的化合物1和胞昔类似物的药物组合物。

[0020] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗各自以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的血液恶性肿瘤的方法,所述血液恶性肿瘤如急性骨髓性白血病(AML)、骨髓增生异常综合征(MDS)、慢性粒单核细胞白血病(CMML)、髓样肉瘤、多发性骨髓瘤、淋巴瘤(例如,T细胞淋巴瘤或B细胞淋巴瘤)、血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤(AITL)或母细胞性浆细胞样树突细胞赘生物,所述方法包括向对象施用包含治疗有效量的化合物1和阿扎胞昔的药物组合物。

[0021] 在一些实施方案中,待治疗的血液恶性肿瘤是晚期血液恶性肿瘤。

[0022] 在一些实施方案中,待治疗的血液恶性肿瘤是AML。在一些实施方案中,待治疗的血液恶性肿瘤是新诊断的AML。在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是复发性和/或难治性AML。

[0023] 在一些实施方案中,待治疗的血液恶性肿瘤是MDS。在一些实施方案中,待治疗的血液恶性肿瘤是高危MDS。

[0024] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗各自以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的实体瘤,如神经胶质瘤、黑色素瘤、软骨肉瘤或胆管癌的方法,所述方法包括向对象施

用治疗有效量的化合物1和DNA去甲基化剂。

[0025] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗各自以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的实体瘤,如神经胶质瘤、黑色素瘤、软骨肉瘤或胆管癌的方法,所述方法包括向对象施用治疗有效量的化合物1和阿扎胞苷。

[0026] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗各自以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的实体瘤,如神经胶质瘤、黑色素瘤、软骨肉瘤或胆管癌的方法,所述方法包括向对象施用包含治疗有效量的化合物1和胞苷类似物的药物组合物。

[0027] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗各自以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的实体瘤,如神经胶质瘤、黑色素瘤、软骨肉瘤或胆管癌的方法,所述方法包括向对象施用包含治疗有效量的化合物1和阿扎胞苷的药物组合物。

[0028] 在一个实施方案中,本文提供一种包含治疗有效量的化合物1和胞苷类似物的药物组合物。

[0029] 在一个实施方案中,本文提供一种包含治疗有效量的化合物1和阿扎胞苷的药物组合物。

[0030] 附图简述

[0031] 图1在部分A中描绘用于以下依序治疗的化合物1和阿扎胞苷(AZA)组合时间表和给药范式:用阿扎胞苷预先治疗3天(QDx3),随后用化合物1治疗一周以及促红细胞生成素(EPO)+化合物1再治疗一周。在第18天收获细胞并进行各种终点测定以监测分化和死亡。图1在部分B中描绘用于以下同时治疗的化合物1和阿扎胞苷组合时间表和给药范式:用阿扎胞苷与化合物1的组合治疗7天,随后用阿扎胞苷、化合物1和EPO治疗7天。在第14天收获细胞并进行各种终点测定以监测分化和死亡。

[0032] 图2A描绘依序使用的阿扎胞苷和化合物1的组合对分化标志物的影响。在第18天观察团块的血红蛋白化(i)。使处理的细胞进行qRT-PCR(ii)和HBG qRT-PCR(iii)。图2B描绘同时使用的阿扎胞苷和化合物1的组合对分化标志物的影响。在第14天观察团块的血红蛋白化(i)。使处理的细胞进行qRT-PCR(ii)和HBG qRT-PCR(iii)。

[0033] 图3描绘阿扎胞苷和化合物1的组合对干细胞标志物的影响。针对依序时间表和同时时间表进行流式细胞术分析。将造血祖细胞(CD34+/CD38+) (i) 和干细胞(CD34+/CD38-) (ii) 群体归一化至DMSO+EPO并绘图。示出群体百分比的值,其中红色字体的那些描绘与作为单一药剂的AZA或化合物1相比,使用所述组合的大于相加作用。

[0034] 图4描绘阿扎胞苷和化合物1的组合对细胞死亡标志物的影响。针对依序给药时间表(第18天)和同时给药时间表(第14天)进行膜联蛋白V和7-AAD流式细胞术分析。将群体归一化至DMSO+EPO,并且绘制膜联蛋白V+和/或7-AAD+百分比的倍数变化。

[0035] 图5描绘依序使用的阿扎胞苷和化合物1的组合对实时生长(i)和(iii)以及细胞凋亡(ii)和(iv)的影响(Incucyte Zoom)。将TF-1 R140Q细胞在含有1 μ M的QDx3阿扎胞苷的烧瓶中批量预处理,且然后用10、3和0.3 μ M的化合物1浓度以及半胱天冬酶3/7染料(从Essen Biosciences获得)接种以在Incucyte Zoom上监测实时生长和细胞凋亡达104个小时。

[0036] 图6描绘同时使用的阿扎胞苷和化合物1的组合对实时生长(i)和(iii)以及细胞凋亡(ii)和(iv)的影响(Incucyte Zoom)。将TF-1 R140Q细胞用阿扎胞苷(1和0.3 μ M)和化

合物1(1 μ M)的组合接种并在IncuCyte Zoom上针对实时生长和细胞凋亡成像达104个小时。

[0037] 图7描绘依序使用的阿扎胞苷和化合物1的组合对早期(第4天)增强的分化的影响。

[0038] 图8描绘阿扎胞苷和化合物1的组合对CD34和CD38标志物的分布的影响。针对依序(i) (图8A) 和同时(i i) (图8B) 时间表进行CD34和CD38流式细胞术。

[0039] 图9描绘阿扎胞苷和化合物1的组合对膜联蛋白V/7-ADD分布的影响。使细胞经受针对依序(i) (图9A) 和同时(i i) (图9B) 时间表进行的膜联蛋白V/7-ADD流式细胞术。

[0040] 图10是化合物1形式1的X射线粉末衍射图(XPRD)。

[0041] 图11是化合物1形式2的X射线粉末衍射图(XPRD)。

[0042] 图12是化合物1形式3的X射线粉末衍射图(XPRD)。

[0043] 图13是化合物1形式4的X射线粉末衍射图(XPRD)。

[0044] 图14是化合物1形式5的X射线粉末衍射图(XPRD)。

[0045] 图15是化合物1形式6的X射线粉末衍射图(XPRD)。

[0046] 详述

[0047] 在以下描述中阐述的或在附图中说明的构造的细节和组分的布置并不旨在是限制性的。用于实践本发明的其它实施方案和不同方式被明确地包括。同样，本文所使用的措辞和术语是出于描述的目的并且不应被视为限制性的。本文使用“包括”、“包含”或“具有”、“含有”、“涉及”及其变化形式意图涵盖其后所列的项目和其等效形式，以及另外项目。

[0048] 定义：

[0049] 术语“突变体IDH2抑制剂”或“IDH2突变体的抑制剂”是指分子，例如多肽、肽或小分子(例如小于1,000道尔顿的分子)或适体，所述分子结合至IDH2突变体亚基并例如通过抑制二聚体(例如突变体IDH2亚基的同二聚体或突变体和野生型亚基的异二聚体)的形成而抑制新活性。在一些实施方案中，与不存在突变体IDH2抑制剂情况下的活性相比，新活性抑制是至少约60%、70%、80%、90%、95%或99%。在一个实施方案中，所述突变体IDH2抑制剂是化合物1。

[0050] 术语“升高的2HG水平”是指与未携带突变体IDH2等位基因的对象中所存在的相比，10%、20%、30%、50%、75%、100%、200%、500%或更多的2HG存在于携带突变体IDH2等位基因的对象中。术语“升高的2HG水平”可以指细胞、肿瘤、包含肿瘤的器官或体液内的2HG的量。

[0051] 术语“体液”包括以下中的一种或多种：围绕胎儿的羊水、眼房水、血液(例如血浆)、血清、脑脊髓液、耳垢、食糜、库伯氏体液(Cowper's fluid)、女性射精、间质液、淋巴液、母乳、粘液(例如，鼻腔引流(nasal drainage)或痰)、胸膜液、脓液、唾液、皮脂、精液、血清、汗液、眼泪、尿、阴道分泌物或呕吐物。

[0052] 术语“抑制”或“预防”包括完全和部分抑制和预防二者。抑制剂可完全地或部分地抑制旨在靶标。

[0053] 术语“对象”意图包括人和非人动物。示例性人对象包括患有病症(例如本文所描述的病症)的人患者(被称为患者)或正常对象。本发明一方面的术语“非人动物”包括所有脊椎动物，例如非哺乳动物(如，鸡、两栖动物、爬行动物)，和哺乳动物，如非人灵长类动物、家养的和/或农业上有用的动物，例如绵羊、狗、猫、牛、猪等。

[0054] 术语“治疗”是指减少、抑制、减弱、减氢、阻止或稳定疾病/病症(例如,晚期血液恶性肿瘤,如急性骨髓性白血病(AML)、骨髓增生异常综合征(MDS)、慢性粒单核细胞白血病(CMML)、髓样肉瘤、多发性骨髓瘤或淋巴瘤(例如,T细胞淋巴瘤),其各自以IDH2的突变体等位基因的存在为特征)的发展或进展,减轻所述疾病/病症的严重程度或改善与所述疾病/病症相关的症状。

[0055] 术语“骨髓增生异常综合征”是指以血液的细胞组分(红细胞、白细胞(除淋巴细胞外)和血小板(或其祖细胞、巨核细胞))中的一种或多种的产生异常为特征的血液学病状。

[0056] 术语“复发”是指在治疗后具有癌症(包括AML)的缓解的患者具有癌细胞的回归。

[0057] 术语“难治性或抗性”是指即使在强化治疗之后患者体内仍具有残留癌细胞的情况。

[0058] 化合物(包括其药学上可接受的盐、溶剂化物、互变异构体、立体异构体、同位素体、前药、代谢物或多晶型物)可有效治疗病症的量或“治疗有效量”或“治疗有效剂量”是指在单剂量或多剂量施用至对象时有效治疗或治愈、缓解、缓和或改善患有病症的对象超出在不存在这种治疗情况下所预期的所述化合物,包括其药学上可接受的盐、溶剂化物、互变异构体、立体异构体、同位素体、前药、代谢物或多晶型物的量。

[0059] 白血病(具体地说AML)对治疗的反应可基于AML的国际工作组反应标准(Cheson等人Revised recommendations of the International Working Group for diagnosis, standardization of response criteria, treatment outcomes, and reporting standards for therapeutic trials in acute myeloid leukemia.J Clin Oncol 2003; 21 (24) :4642-9)进行评估。

响应标准	评估时间	嗜中性粒细胞(μL)	血小板(μL)	骨髓母细胞(%)	其它
早期治疗评估	疗法后 7 至 10 天	NA	NA	< 5	
无形态学白血病状态	因方案变化	NA	NA	< 5	流式细胞术 EMD
形态学 CR	因方案变化	$\geq 1,000$	$\geq 100,000$	< 5	输 血 EMD
细胞遗传学 CR (CRc)	因方案变化	$\geq 1,000$	$\geq 100,000$	< 5	细胞遗传学-正常, EMD
分子 CR (CRm)	因方案变化	$\geq 1,000$	$\geq 100,000$	< 5	分子 - 阴性, EMD
形态学 CR 伴有不完全血液恢复(CRi)	因方案变化	符合 CR 的所有标准, 除残留嗜中性粒细胞减少症($< 1,000/\mu\text{L}$)或血小板减少症($< 100,000/\mu\text{L}$)外。			
部分缓解	因方案变化	$\geq 1,000$	$\geq 100,000$	降低 ≥ 50 , 从而导致 5 至 25	如果 Auer 棒阳性, 则母细胞 $\leq 5\%$
[0061] 在 CR 后复发	因方案变化	不可归因于任何其它原因(例如在巩固疗法后的骨髓再生)的外周血中白血病母细胞的再现或骨髓中 $\geq 5\%$ 母细胞。			

[0062] 关键字: AML=急性骨髓性白血病; CR=完全缓解; EMD=髓外病; IWG=国际工作组 (International Working Group); NA=不适用。

[0063] 对于MDS, 对治疗的响应可基于修订的国际工作组 (IWG) 骨髓增生异常响应标准 (Cheson等人, Blood 2006;108:419-425) 进行评估。

[0064] 用于改变MDS的自然史的修订的国际工作组响应标准

类别	响应标准(响应必须持续至少 4 周)
完全缓解	骨髓: $\leq 5\%$ 成髓细胞, 伴随所有细胞系的正常成熟 [*]
	将注意到持久性发育异常 ^{††}
	外周血 [‡]
	$Hgb \geq 11 \text{ g/dL}$
	血小板 $\geq 100 \times 10^9/\text{L}$
	嗜中性粒细胞 $\geq 1.0 \times 10^9/\text{L}^{\ddagger}$
	母细胞 0%
部分缓解	所有 CR 标准如果在治疗之前异常, 除了:
	在治疗前期间骨髓母细胞减少 $\geq 50\%$ 但仍 $> 5\%$
	细胞结构和形态学不相关
[0065] 骨髓 CR [‡]	骨髓: $\leq 5\%$ 成髓细胞且在治疗前期间减少 $\geq 50\%^{\ddagger}$
	外周血: 如果 HI 响应, 则除了骨髓 CR 外将注意到它们 [‡]
稳定疾病	未能实现至少 PR, 但无进展持续 > 8 周的证据
失败	在治疗期间死亡或特征在于细胞减少恶化、骨髓母细胞的比例增加或进展为比治疗前更晚期的 MDS FAB 亚型的疾病进展
在 CR 或 PR 后复发	以下中的至少一种:
类别	响应标准(响应必须持续至少 4 周)
	返回治疗前骨髓母细胞百分比
	从粒细胞或血小板中的最大缓解/响应水平递减 $\geq 50\%$
	Hgb 浓度降低 $\geq 1.5 \text{ g/dL}$ 或输血依赖性

[0066]	细胞遗传学响应	完全 染色体异常消失, 无新的染色体异常出现 部分 染色体异常的至少 50%降低
	疾病进展	对于具有以下的患者: 少于 5%母细胞; 母细胞 \geq 50%增加至 $>$ 5%母细胞 5%-10%母细胞: \geq 50%增加至 $>$ 10%母细胞 10%-20%母细胞: \geq 50%增加至 $>$ 20%母细胞 20%-30%母细胞: \geq 50%增加至 $>$ 30%母细胞
		以下中的任一种: 从粒细胞或血小板的最大缓解/响应递减至少 50% Hgb 降低 \geq 2 g/dL 输血依赖性
	存活	终点: 总体: 任何原因的死亡 无事件: 失败或任何原因的死亡 PFS: 疾病进展或因 MDS 死亡
	类别	响应标准(响应必须持续至少 4 周) DFS: 复发时间 原因特异性死亡: 与 MDS 有关的死亡

[0067] IWG响应标准的删除未示出。

[0068] 要将血红蛋白从克/分升转换为克/升, 将每分升克数乘以10。

[0069] MDS表示骨髓增生异常综合征;Hgb, 血红蛋白;CR, 完全缓解;HI, 血液学改善;PR, 部分缓解;FAB, 法国人-美国人-英国人;AML, 急性骨髓性白血病;PFS, 无进展存活;DFS, 无疾病存活。

[0070] *发育异常变化应考虑发育异常变化的正常范围(修改)。41

[0071] [†]修改为IWG响应标准。

[0072] [‡]在一些情况下, 方案治疗可能需要在4周时期之前开始进一步治疗(例如, 巩固、维持)。此类患者可被纳入他们在疗法开始时适合的响应类别。重复化疗过程中的暂时性血细胞减少症不应被视为中断响应的持久性, 只要他们恢复到先前疗程的改进的计数。

[0073] 血液学改善的修订的国际工作组响应标准

血液学改善*	响应标准(响应必须持续至少 8 周)[‡]
[0074]	

	红细胞响应(治疗前, <11 g/dL) Hgb 增加 ≥ 1.5 g/dL
	与之前 8 周的治疗前输血次数相比, RBC 输血单位的绝对数量相关减少至少 4 RBC 输血/8 周。对于治疗前 $\text{Hgb} \leq 9.0$ g/dL 给出的仅 RBC 输血将计数在 RBC 输血响应评价中 [‡]
	血小板响应 (治疗前, $<100 \times 10^9/\text{L}$) 对于以 $> 20 \times 10^9/\text{L}$ 血小板开始的患者, $\geq 30 \times 10^9/\text{L}$ 的绝对增加
	从 $< 20 \times 10^9/\text{L}$ 增加至 $> 20 \times 10^9/\text{L}$ 且增加至少 100% [‡]
[0075]	嗜中性粒细胞响应(治疗前, $<1.0 \times 10^9/\text{L}$) 至少 100%增加且绝对增加 $> 0.5 \times 10^9/\text{L}$ [‡]
	在 HI 后进展或复发 [‡] 以下中的至少 1 种:
	从粒细胞或血小板的最大响应水平递减至少 50%
	Hgb 降低 ≥ 1.5 g/dL
	输血依赖性

[0076] IWG响应标准的删除未示出。

[0077] 将血红蛋白水平从克/分升转换为克/升, 将每分升克数乘以 10。

[0078] Hgb 表示血红蛋白; RBC: 红细胞; HI: 血液学改善。

[0079] *至少 2 次测量的治疗前计数平均值(不受输血影响) ≥ 1 周间隔(修改)。

[0080] [‡]修改为 IWG 响应标准。

[0081] [‡]在没有其它解释的情况下, 如急性感染、化学疗法(修改)的重复过程、消化道出血、溶血等。建议总体报告 2 种红细胞和血小板响应以及各个响应模式。

[0082] 如本文所用, ECOG 状态是指东部肿瘤协作组 (ECOG) 行为状态 (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:

评分	描述
[0083]	

[0084]	0	完全活动，能够不受限制地继续所有疾病前行为
	1	限制身体剧烈的活动，但能走动并能够进行轻松或久坐性质的工作，如轻松家务、办公室工作。
	2	能走动且能够全部自理，但不能进行任何工作活动。达且约超过 50% 的清醒时间。
	3	只能进行有限的自理，局限于床或座椅超过 50% 的清醒时间。
	4	完全丧失能力。不能进行任何自理。完全局限于床或座椅
	5	死亡

[0085] 在一个实施方案中，本文提供用于改善患者的美国东部肿瘤协作组行为状态 (Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status, ECOG) 的方法，所述方法包括施用有效量的本文所述的化合物。

[0086] 如本文相对于另外癌症治疗剂所用的术语“共同施用”是指所述另外癌症治疗剂可作为单一剂型 (如包含如以上所描述的化合物和第二治疗剂的组合物) 的一部分或作为单独的多剂型与本文提供的化合物一起施用。或者，所述另外癌症治疗剂可在施用本文提供的化合物之前、相继地或之后施用。在这种组合疗法治疗中，本文提供的化合物和第二治疗剂二者通过常规方法施用。向对象施用包含本文提供的化合物和第二治疗剂二者的组合物不排除在治疗过程期间的另一时间向所述对象单独施用所述相同治疗剂、任何其它第二治疗剂或本文提供的任何化合物。如本文相对于另外癌症治疗所用的术语“共同施用”是指所述另外癌症治疗可在施用本文提供的化合物之前、相继地、同时或之后发生。

[0087] 术语“DNA去甲基化剂”是指抑制甲基转移至DNA的药剂。在一个实施方案中，所述DNA去甲基化剂是胞苷类似物。

[0088] 本文提及的术语“胞苷类似物”意图涵盖胞苷类似物的游离碱，或其盐、溶剂化物、水合物、共晶体、复合物、前药、前体、代谢物和/或衍生物。在某些实施方案中，本文提及的胞苷类似物涵盖胞苷类似物的游离碱，或其盐、溶剂化物、水合物、共晶体或复合物。在某些实施方案中，本文提及的胞苷类似物涵盖胞苷类似物的游离碱，或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物。

[0089] 如本文所用的术语“基本上不含其它立体异构体”是指富含在一个或多个选定的立体中心处具有选定的立体化学的化合物达至少约 60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、或 99% 的制剂。

[0090] 术语“富含”是指制剂的至少所指定的百分比是在一个或多个选定的立体中心处具有选定的立体化学的化合物。

[0091] 术语“结晶”是指具有高度规则的化学结构的固体。具体地说，结晶化合物1可作为化合物1的一种或多种单晶形式产生。出于本申请的目的，术语“结晶形式”、“单晶形式”和“多晶型物”是同义的；所述术语区分具有不同性质(例如，不同的XRPD图案和/或不同的DSC扫描结果)的晶体。术语“多晶型物”包括假多晶型物，其通常是材料的不同溶剂化物且因此它们的性质彼此不同。因此，化合物1的每种不同的多晶型物和假多晶型物在本文中被认为是不同的单晶形式。

[0092] 术语“基本上结晶的”是指可以是至少特定重量百分比结晶的形式。具体重量百分比是10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、99.9%或介于10%与100%之间的任何百分比。在一些实施方案中，基本上结晶是指为至少70%结晶的化合物1。在其它实施方案中，基本上结晶是指为至少90%结晶的化合物1。

[0093] 术语“分离的”是指可为至少特定重量百分比的特定化合物结晶形式的形式。具体重量百分比是90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、99.9%或介于90%与100%之间的任何百分比。

[0094] 术语“溶剂化物或溶剂化的”是指本发明化合物(包括其结晶形式)与一种或多种溶剂分子的物理缔合。这种物理缔合包括氢键合。在某些情况下，溶剂化物将能够分离，例如当一个或多个溶剂分子合并在结晶固体的晶格中时。“溶剂化物”或“溶剂化的”包括溶液相和可分离的溶剂化物。代表性的溶剂化物包括例如水合物、乙醇化物或甲醇化物。

[0095] 术语“水合物”是溶剂分子为以限定化学计算量存在的H₂O的溶剂化物，并且可例如包括半水合物、一水合物、二水合物或三水合物。

[0096] 术语“混合物”用于指混合物的组合元素，而不管组合的相态(例如液体或液体/结晶)。

[0097] 术语“种晶”用于指添加结晶材料以引发重结晶或结晶。

[0098] 术语“抗溶剂”用于指其中化合物(包括其结晶形式)难溶的溶剂。

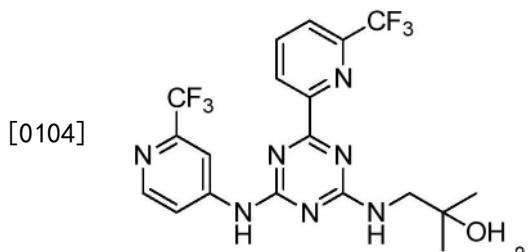
[0099] 术语“药学上可接受的载体或佐剂”是指可与本发明的一方面的化合物一起施用至对象并且在以足以递送治疗量的化合物的剂量施用时不会破坏其药理学活性且无毒的载体或佐剂。

[0100] 如本文所用的术语“药学上可接受的盐”是指所述术语所指的化合物的无毒酸或碱加成盐。药学上可接受的盐的实例在Berge等人, 1977, "Pharmaceutically Acceptable Salts." J.Pharm.Sci. 第66卷, 第1至19页中进行了论述。

[0101] 术语“约”是指大致地、在...范围内、粗略地或在...左右。当结合数值范围来使用术语“约”时，它通过扩展到在所列举数值以上和以下的界限来改变所述范围。通常，本文使用术语“约”来使一个数值改变到所指出的值以上和以下的10%偏差值。

[0102] 化合物

[0103] 在一个实施方案中，化合物1是2-甲基-1-[(4-[6-(三氟甲基)吡啶-2-基]-6- {[2-(三氟甲基)吡啶-4-基]氨基}-1,3,5-三嗪-2-基)氨基]丙-2-醇或其药学上可接受的盐、溶剂化物、互变异构体、立体异构体、同位素体、前药、代谢物或多晶型物，其具有下式：



[0105] 化合物1还可包含一种或多种同位素取代(“同位素体”)。例如,H可处于任何同位素形式,包括¹H、²H(D或氘)和³H(T或氚);C可处于任何同位素形式,包括¹²C、¹³C和¹⁴C;O可处于任何同位素形式,包括¹⁶O和¹⁸O等。例如,化合物1富含至少约60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、或99%的特定同位素形式的H、C和/或O。

[0106] 在某些实施方案中化合物1也可以多种互变异构体形式表示,在此类情况下,本发明的一个方面明确地包括本文所述的化合物1的所有互变异构形式,虽然仅可表示单一互变异构形式(例如,酮-烯醇互变异构体)。本文明确包括化合物1的所有此类异构形式。化合物1的合成描述于2013年7月25日公布的美国公布的申请US-2013-0190287-A1中,其以引用的方式整体并入。

[0107] 可方便或可期望制备、纯化和/或处理化合物1的相应盐,例如药学上可接受的盐。药学上可接受的盐的实例在Berge等人,1977,“Pharmaceutically Acceptable Salts.” J.Pharm.Sci.第66卷,第1至19页中进行了论述。

[0108] 例如,如果化合物1是阴离子的或具有可以是阴离子的官能团(例如,-NH-可以是-N⁻),则盐可用合适的阳离子形成。合适的无机阳离子的实例包括但不限于碱金属离子,如Na⁺和K⁺;碱土金属阳离子,如Ca²⁺和Mg²⁺;以及其它阳离子,如Al³⁺。一些合适的取代的铵离子的实例是衍生自以下的那些:乙胺、二乙胺、二环己胺、三乙胺、丁胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌嗪、苄胺、苯基苄胺、胆碱、葡甲胺和氨丁三醇、以及氨基酸,如赖氨酸和精氨酸。常见季铵离子的实例是N(CH₃)₄⁺。

[0109] 如果化合物1是阳离子的或具有可以是阳离子的官能团(例如,-NHR可以是-NH₂R⁺),则盐可用合适的阴离子形成。合适的无机阴离子的实例包括但不限于衍生自以下无机酸的那些:盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、亚硫酸、硝酸、亚硝酸、磷酸以及亚磷酸。

[0110] 合适的有机阴离子的实例包括但不限于衍生自以下有机酸的那些:2-乙酰氧基苯甲酸、乙酸、抗坏血酸、天冬氨酸、苯甲酸、樟脑磺酸、肉桂酸、柠檬酸、依地酸、乙二磺酸、乙磺酸、富马酸、葡萄糖酸、葡糖酸、谷氨酸、乙醇酸、羟基马来酸、羟基苯丙酸、羟乙基磺酸、乳酸、乳糖酸、月桂酸、马来酸、苹果酸、甲磺酸、粘液酸、油酸、草酸、棕榈酸、扑酸、泛酸、苯乙酸、苯磺酸、丙酸、丙酮酸、水杨酸、硬脂酸、琥珀酸、对氨基苯磺酸、酒石酸、甲苯磺酸以及戊酸。在一个实施方案中,化合物1包含2-甲基-1-[4-[6-(三氟甲基)吡啶-2-基]-6-[[2-(三氟甲基)吡啶-4-基]氨基]-1,3,5-三嗪-2-基]氨基]丙-2-醇的甲磺酸盐。合适的聚合有机阴离子的实例包括但不限于衍生自以下聚合酸的那些:鞣酸、羧甲基纤维素。

[0111] 用于本文提供的方法和药物组合物中的化合物1因此包括化合物1本身,以及其药学上可接受的盐、溶剂化物、互变异构体、立体异构体、同位素体、前药、代谢物或多晶型物。化合物1的代谢物在专利申请公布W02015/006592中公开,其以引用的方式整体并入本文。可通过添加适当的官能度对本文提供的化合物1进行修饰并且将其转化成前药以增强选定

生物学特性(例如靶向特定组织)。此类修饰(即前药)为本领域所已知并且包括增加进入给定生物隔室的生物穿透(例如,血液、淋巴系统、中枢神经系统)、增加口服利用度、增加溶解度以允许通过注射施用、改变代谢以及改变排泄速率的那些。前药的实例包括酯(例如,磷酸酯、氨基酸(例如缬氨酸)酯)、氨基甲酸酯以及其它药学上可接受的衍生物,其在向对象施用后能够提供活性化合物。

[0112] 已经发现化合物1可以各种固体形式存在。在一个实施方案中,本文提供包括纯晶体形式的固体形式。在另一个实施方案中,本文提供包括溶剂化形式和非晶形式的固体形式。本公开提供化合物1的某些固体形式。在某些实施方案中,本公开提供包含呈本文所述形式的化合物1的组合物。在所提供的组合物的一些实施方案中,化合物1以一种或多种固体形式的混合物存在;在所提供的组合物的一些实施方案中,化合物1以单一形式存在。

[0113] 在一个实施方案中,化合物1是单晶形式或本文所述的单晶形式中的任一种。化合物1的结晶形式的合成描述于2015年2月5日公布的国际申请公布WO 2015/017821和2015年2月4日提交的美国临时申请序列号61/112,127中,两者均以引用的方式整体并入本文。还提供药物组合物,所述药物组合物包含至少一种药学上可接受的载体或稀释剂;以及化合物1,其中化合物1是单晶形式,或本文描述的任一种结晶形式。还提供化合物1用于制备药物组合物的用途,其中化合物1是单晶形式或本文所述的任一种单晶形式。

[0114] 本文提供用于描述化合物1的结晶形式的表征信息的分类。然而,应理解的是,并非所有这种信息为本领域技术人员所需来确定这种特定形式存在于给定组合物中、但是特定形式的确定可使用本领域技术人员将认为足以确立特定形式的存在的表征信息的任一部分来实现,例如,即使单个区分峰对于本领域技术人员来说也可足以了解存在这种特定形式。

[0115] 在一个实施方案中,至少特定重量百分比的化合物1是结晶。具体重量百分比可以是10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、99.9%或介于10%与100%之间的任何百分比。当特定重量百分比的化合物1是结晶时,化合物1的剩余部分是化合物1的非晶形式。结晶化合物1的非限制性实例包括单晶形式的化合物1或不同单晶形式的混合物。在一些实施方案中,化合物1是至少75重量%结晶。在一些实施方案中,化合物1是至少80重量%结晶。在一些实施方案中,化合物1是至少83重量%结晶。在一些实施方案中,化合物1是至少85重量%结晶。在一些实施方案中,化合物1是至少87重量%结晶。在一些实施方案中,化合物1是至少90重量%结晶。在一些实施方案中,化合物1是至少93重量%结晶。在一些其它实施方案中,化合物1是至少95重量%结晶。在一些实施方案中,化合物1是至少97重量%结晶。在一些实施方案中,化合物1是至少99重量%结晶。

[0116] 在另一个实施方案中,特定重量百分比的结晶化合物1是特定单晶形式或单晶形式的组合。具体重量百分比可以是10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、99.9%或介于10%与100%之间的任何百分比。在一些实施方案中,化合物1是至少75重量%结晶。在一些实施方案中,化合物1是至少80重量%结晶。在一些实施方案中,化合物1是至少83重量%的单晶形式。在一些实施方案中,化合物1是至少85重量%的单晶形式。在一些实施方案中,化合物1是至少87重量%的单晶形式。在一些实施方案中,化合物1是至少

90重量%的单晶形式。在一些实施方案中,化合物1是至少93重量%的单晶形式。在一些其它实施方案中,化合物1是至少95重量%的单晶形式。在一些实施方案中,化合物1是至少97重量%的单晶形式。在一些实施方案中,化合物1是至少99重量%的单晶形式。

[0117] 在以下对化合物1的描述中,本发明的实施方案可参照化合物1的特定结晶形式进行描述,如通过如本文所论述的一种或多种性质进行表征。表征结晶形式的描述也可用于描述可能存在于结晶化合物1中的不同结晶形式的混合物。然而,化合物1的特定结晶形式还可通过如本文所描述的结晶形式的一种或多种特征来表征,无论是否涉及特定结晶形式。

[0118] 通过下文给出的详细描述和说明性实施例进一步说明结晶形式。表1至表6中描述的XRPD峰可取决于用于获取数据的仪器而变化±0.2°。表1至表6中描述的XRPD峰的强度可变化10%。

[0119] 形式1

[0120] 在一个实施方案中,化合物1的单晶形式(形式1)的特征在于使用CuK α 辐射获得的图10中所示的X射线粉末衍射(XRPD)图以及表1中所示的数据。在一个具体实施方案中,所述多晶型物的特征可在于从图10中截取的一个或多个峰,如表1中所示。例如,所述多晶型物的特征可在于表1中所示的1或2或3或4或5或6或7或8或9个峰。

[0121] 表1

角度2-	强度%
6.7	42.2
8.9	61.8
9.1	41.9
13.0	46.7
16.4	33.2
18.9	100.0
21.4	27.3
23.8	49.2
28.1	47.5

[0123] 在另一个实施方案中,形式1的特征可在于在8.9°、13.0°、18.9°、23.8°和28.1°的2θ角度处鉴定的峰。在另一个实施方案中,形式1的特征可在于在8.9°、18.9°和23.8°的2θ角度处鉴定的峰。

[0124] 形式2

[0125] 在一个实施方案中,化合物1的单晶形式(形式2)的特征在于使用CuK α 辐射获得的图11中所示的X射线粉末衍射(XRPD)图以及表2中所示的数据。在一个具体实施方案中,所述多晶型物的特征可在于从图11中截取的一个或多个峰,如表2中所示。例如,所述多晶型物的特征可在于表2中所示的1或2或3或4或5或6或7或8或9个峰。

[0126] 表2

角度 2-	强度 %
8.4	65.2
12.7	75.5
16.9	57.9
17.1	69.4
17.7	48.6
19.2	100.0
23.0	69.7
23.3	61.1
[0128]	24.2
	87.3

[0129] 在另一个实施方案中,形式2的特征可在于在12.7°、17.1°、19.2°、23.0°和24.2°的2θ角度处鉴定的峰。在另一个实施方案中,形式2的特征可在于在12.7°、19.2°和24.2°的2θ角度处鉴定的峰。

[0130] 形式3

[0131] 在一个实施方案中,化合物1的单晶形式(形式3)的特征在于使用CuK α 辐射获得的图12中所示的X射线粉末衍射(XRPD)图以及表3中所示的数据。在一个具体实施方案中,所述多晶型物的特征可在于从图12中截取的一个或多个峰,如表3中所示。例如,所述多晶型物的特征可在于表3中所示的1或2或3或4或5或6或7或8或9个峰。

[0132] 表3

角度2-	强度 %
6.8	35.5
10.1	30.7
10.6	53.1
13.6	46.0
14.2	63.8
17.2	26.4
18.4	34.0
19.2	100.0
23.5	3.8

[0134] 在另一个实施方案中,形式3的特征可在于在6.8°、10.6°、13.6°、14.2°和19.2°的2θ角度处鉴定的峰。在另一个实施方案中,形式3的特征可在于在10.6°、14.2°和19.2°的2θ角度处鉴定的峰。

[0135] 形式4

[0136] 在一个实施方案中,化合物1的单晶形式(形式4)的特征在于使用CuK α 辐射获得的图13中所示的X射线粉末衍射(XRPD)图以及表4中所示的数据。在一个具体实施方案中,所

述多晶型物的特征可在于从图13中截取的一个或多个峰,如表4中所示。例如,所述多晶型物的特征可在于表4中所示的1或2或3或4或5或6或7或8或9个峰。

[0137] 表4

角度 2-	强度 %
7.2	53.3
10.1	26.7
11.5	20.5
13.6	100.0
18.5	72.0
19.3	46.9
20.3	39.4
21.9	55.4
[0139]	23.5
	77.5

[0140] 在另一个实施方案中,形式4的特征可在于在7.2°、13.6°、18.5°、19.3°、21.9°和23.5°的2θ角度处鉴定的峰。在另一个实施方案中,形式4的特征可在于在13.6°、18.5°和23.5°的2θ角度处鉴定的峰。

[0141] 形式5

[0142] 在一个实施方案中,化合物1的单晶形式(形式5)的特征在于使用CuK α 辐射获得的图14中所示的X射线粉末衍射(XRPD)图以及表5中所示的数据。在一个具体实施方案中,所述多晶型物的特征可在于从图14中截取的一个或多个峰,如表5中所示。例如,所述多晶型物的特征可在于表5中所示的1或2或3或4或5或6或7或8或9个峰。

[0143] 表5

角度2-	强度 %
6.4	45.4
8.4	84.0
9.8	100.0
16.1	26.0
16.9	22.7
17.8	43.6
19.7	40.4
21.1	20.5
26.1	15.9

[0145] 在另一个实施方案中,形式5的特征可在于在6.4°、8.4°、9.8°、17.8°和19.7°的2θ角度处鉴定的峰。在另一个实施方案中,形式5的特征可在于在8.4°和9.8°的2θ角度处鉴定的峰。

[0146] 形式6

[0147] 在一个实施方案中,化合物1的单晶形式(形式6)的特征在于使用CuK α 辐射获得的图15中所示的X射线粉末衍射(XRPD)图以及表6中所示的数据。在一个具体实施方案中,所

述多晶型物的特征可在于从图15中截取的一个或多个峰,如表6中所示。例如,所述多晶型物的特征可在于表6中所示的1或2或3或4或5或6或7或8个峰。

[0148] 表6

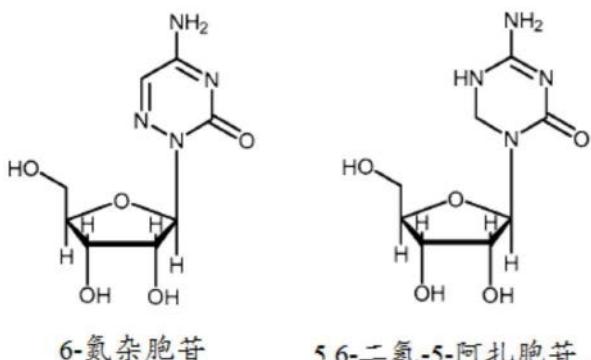
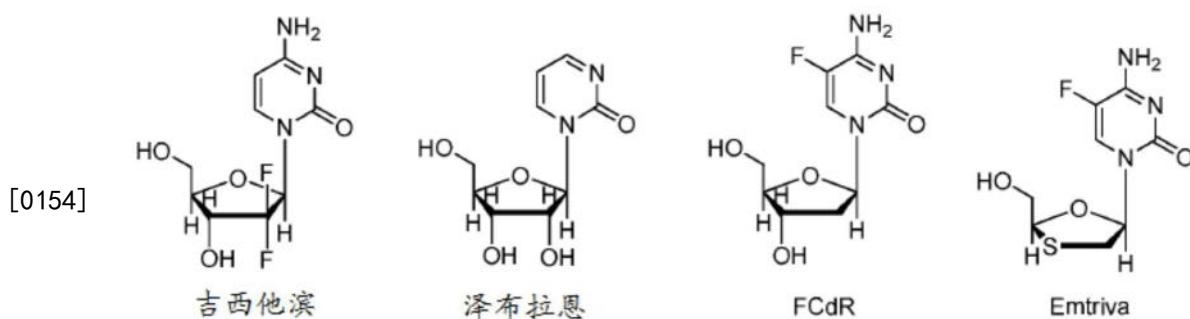
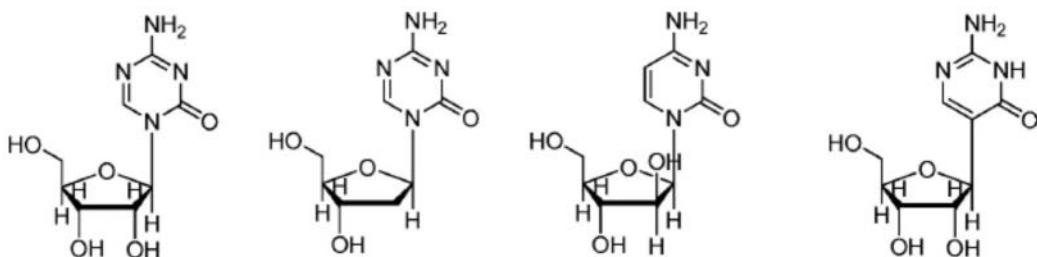
[0149] 角度2-	强度%
8.1	97.9
11.4	24.9
14.1	51.5
15.2	28.4
16.4	85.0
17.3	100.0
20.5	54.7
24.1	88.7

[0150] 在另一个实施方案中,形式6的特征可在于在8.1°、14.1°、16.4°、17.3°、20.5°和24.1°的2θ角度处鉴定的峰。在另一个实施方案中,形式6的特征可在于在8.1°、16.4°、17.3°和24.1°的2θ角度处鉴定的峰。

[0151] DNA去甲基化剂

[0152] 在一个实施方案中,本文提供的方法包括施用或共同施用一种或多种DNA去甲基化剂。在一个实施方案中,所述DNA去甲基化剂是胞苷类似物。在某些实施方案中,所述胞苷类似物是阿扎胞苷或5-氮杂-2'-脱氧胞苷(地西他滨)。在某些实施方案中,所述胞苷类似物是阿扎胞苷。在某些实施方案中,所述胞苷类似物是5-氮杂-2'-脱氧胞苷(地西他滨)。在某些实施方案中,所述胞苷类似物是例如:1-β-D-阿拉伯呋喃糖基胞嘧啶(阿糖胞苷或ara-C);假异胞苷(psi ICR);5-氟-2'-脱氧胞苷(FCdR);2'-脱氧-2',2'-二氟胞苷(吉西他滨);5-氮杂-2'-脱氧-2',2'-二氟胞苷;5-氮杂-2'-脱氧-2'-氟胞苷;1-β-D-呋喃核糖基-2(1H)-嘧啶酮(泽布拉恩);2',3'-双脱氧-5-氟-3'-硫代胞苷(Emtriva);2'-环胞苷(安西他滨);1-β-D-阿拉伯呋喃糖基-5-氮杂胞嘧啶(法扎拉滨或ara-AC);6-阿扎胞苷(6-aza-CR);5,6-二氢-5-阿扎胞苷(dH-氮杂-CR);N⁴-戊氧基-羰基-5'-脱氧-5-氟胞苷(卡培他滨);N⁴十八烷基-阿糖胞苷;或反油酸阿糖胞苷。在某些实施方案中,所述胞苷类似物包括与胞苷或脱氧胞苷在结构上相关并在功能上模拟和/或拮抗胞苷或脱氧胞苷的作用的任何化合物。

[0153] 在某些实施方案中,示例性胞苷类似物具有以下提供的结构:



[0155] 用于本文提供的方法中的胞苷类似物可使用本文所述的合成方法和程序或文献中可获得的其它方法和程序来制备。例如,用于合成阿扎胞苷和地西他滨的具体方法公开于例如美国专利号7,038,038以及其中所论述的参考文献中,其各自以引用的方式并入本文。用于本文提供的方法中的其它胞苷类似物可例如使用本领域已知的程序来制备,或者可从商业来源购买。在一个实施方案中,用于本文提供的方法中的胞苷类似物可以特定固体形式(例如非晶形或结晶形式)制备。参见例如,2005年5月8日发布的美国专利6,887,855和2005年9月13日发布的美国专利6,943,249,所述专利两者均以引用的方式整体并入本文。

[0156] 在一个实施方案中,在本文提供的方法中使用的胞苷类似物是游离碱或其药学上可接受的盐或溶剂化物。在一个实施方案中,游离碱或药学上可接受的盐或溶剂化物是固体。在另一个实施方案中,游离碱或药学上可接受的盐或溶剂化物是呈非晶形形式的固体。在另一个实施方案中,游离碱或药学上可接受的盐或溶剂化物是呈结晶形式的固体。例如,具体实施方案提供呈固体形式的阿扎胞苷和地西他滨,所述阿扎胞苷和地西他滨可例如根据美国专利号6,887,855、6,943,249、7,038,038、7,078,518、7,192,781、7,772,199以及美国专利申请公布号2005/027675中所描述的方法来制备,所述专利各自以引用的方式整体

并入本文。在其它实施方案中,呈固体形式的阿扎胞昔和地西他滨可使用本领域中已知的其它方法来制备。

[0157] 在一个实施方案中,在本文提供的方法中使用的胞昔类似物是胞昔类似物的药学上可接受的盐,其包括但不限于乙酸盐、己二酸盐、藻酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐(benzenesulfonate/besylate)、硫酸氢盐、丁酸盐、柠檬酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、1,2-乙二磺酸盐(乙二磺酸盐)、乙磺酸盐(ethanesulfonate/esylate)、甲酸盐、富马酸盐、葡萄糖酸盐、甘油磷酸盐、乙醇酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、2-羟基乙磺酸盐、乳酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐(methanesulfonate/mesylate)、2-萘磺酸盐(萘磺酸盐)、烟酸盐、硝酸盐、草酸盐、双羟萘酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、水杨酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺酸盐或十一烷酸盐。

[0158] 阿扎胞昔是4-氨基-1- β -D-呋喃核糖基-s-三嗪-2(1H)-酮,也称为VIDAZA[®](Celgene Corporation)。其经验式是C₈H₁₂N₄O₅,分子量是244。阿扎胞昔是白色至灰白色固体,其不溶于丙酮、乙醇和甲基酮中;微溶于乙醇/水(50/50)、丙二醇和聚乙二醇中;略微可溶于水、水饱和辛醇、5%右旋糖水溶液、N-甲基-2-吡咯烷酮、生理盐水和5%吐温80水溶液中,并可溶于二甲亚砜(DMSO)中。

[0159] VIDAZA[®]被批准用于高风险MDS患者的治疗。它是以无菌形式供应以用于复溶为用于皮下注射的悬浮液或复溶为用于静脉输注的进一步稀释的溶液。VIDAZA[®]的小瓶含有100mg的阿扎胞昔和100mg的甘露醇作为无菌冻干粉。批准的给药时间表是在28天治疗周期的连续七天每日两次皮下注射或单次每日静脉输注。

[0160] 口服阿扎胞昔在低风险骨髓增生异常综合征(MDS)和急性骨髓性白血病(AML)患者中是有效和安全的。在一个实施方案中,在MDS和AML患者中使用的剂量是基于延长的给药(28天治疗周期的14或21天),300mg每天一次。在一个实施方案中,口服阿扎胞昔的起始剂量是120mg,并且最大耐受剂量是480mg。

[0161] 地西他滨是4-氨基-1-(2-脱氧- β -D-赤-呋喃戊糖基)-1,3,5-三嗪-2(1H)-酮,也称为DACOGEN[®]。其经验式是C₈H₁₂N₄O₄,分子量是228.21。地西他滨是一种精细的白色至几乎白色粉末,其微溶于乙醇/水(50/50)、甲醇/水(50/50)和甲醇中;略微可溶于水中,且可溶于二甲亚砜(DMSO)中。

[0162] DACOGENTM被批准用于治疗骨髓增生异常综合征患者。它作为白色无菌注射用冻干粉以透明无色玻璃小瓶的形式供应。作为单次剂量的每20mL玻璃小瓶含有50mg地西他滨、68mg磷酸二氢钾(磷酸二氢钾)和11.6mg盐酸钠。

[0163] 组合物和施用途径

[0164] 在一个实施方案中,本文提供一种包含治疗有效量的突变体IDH2抑制剂和DNA去甲基化剂的药物组合物。在一个实施方案中,所述突变体IDH2抑制剂是化合物1。

[0165] 在一个实施方案中,本文提供一种包含治疗有效量的化合物1和阿扎胞昔的药物组合物。

[0166] 在一个实施方案中,化合物1和阿扎胞昔被配制为一种组合物。在另一个实施方案中,化合物1和阿扎胞昔被配制为单独的组合物。

[0167] 在一个实施方案中,在施用至对象之前,在本文提供的方法中使用的化合物可与药学上可接受的载体或佐剂一起配制成药学上可接受的组合物。在另一个实施方案中,此类药学上可接受的组合物还包含呈有效于实现疾病或疾病症状的调节的量的另外治疗剂,包括本文所描述的那些。

[0168] 可用于本发明的一方面的药物组合物中的药学上可接受的载体、佐剂和媒介物包括但不限于:离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、自乳化药物递送系统(SEDDS)(如d- α -生育酚聚乙二醇1000琥珀酸酯)、药物剂型中使用的表面活性剂(如吐温或其它类似的聚合递送基质)、血清蛋白(如人血清白蛋白)、缓冲物质(如磷酸盐)、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、水、盐、或电解质(如硫酸鱼精蛋白、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐)、胶体二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、基于纤维素的物质、聚乙二醇、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙烯-聚氧丙烯嵌段聚合物、聚乙二醇以及羊毛脂。环糊精如 α -、 β -以及 γ -环糊精、或化学改性的衍生物如羟基烷基环糊精(包括2-和3-羟基丙基- β -环糊精)、或其它可溶解的衍生物也可有利地用于增强本文所描述的化合物1的递送。

[0169] 在一个实施方案中,所述药物组合物包含化合物1和赋形剂。在一个实施方案中,包含化合物1和赋形剂的药物组合物是用于口服施用。在一个实施方案中,赋形剂是稀释剂、粘合剂、崩解剂、润湿剂、稳定剂、助流剂和/或润滑剂。在一个实施方案中,赋形剂是稀释剂。在一个实施方案中,赋形剂是粘合剂。在一个实施方案中,赋形剂是崩解剂。在一个实施方案中,赋形剂是润湿剂。在一个实施方案中,赋形剂是稳定剂。在一个实施方案中,赋形剂是助流剂。在一个实施方案中,赋形剂是润滑剂。

[0170] 在一个实施方案中,赋形剂是微晶纤维素。

[0171] 在一个实施方案中,粘合剂是羟丙基纤维素。

[0172] 在一个实施方案中,崩解剂是淀粉乙醇酸钠。

[0173] 在一个实施方案中,润湿剂是月桂基硫酸钠。

[0174] 在一个实施方案中,稳定剂是乙酸琥珀酸羟丙甲纤维素。

[0175] 在一个实施方案中,助流剂是胶态二氧化硅。

[0176] 在一个实施方案中,润滑剂是硬脂酸镁。

[0177] 在一个实施方案中,所述药物组合物包含化合物1和/或阿扎胞昔和赋形剂。在一个实施方案中,包含化合物1和/或阿扎胞昔和赋形剂的药物组合物是用于口服施用。

[0178] 化合物1和/或阿扎胞昔的口服递送形式包括但不限于片剂、胶囊、囊片、溶液、悬浮液和糖浆,并且还可包括可以或者可以不被封装的多种颗粒、珠粒、粉末或丸剂。此类形式在本文中也可被称为“药物核心”,所述药物核心含有化合物1和/或阿扎胞昔。

[0179] 本文的具体实施方案提供为片剂或胶囊的固体口服剂型。在某些实施方案中,制剂是包含化合物1和/或阿扎胞昔的片剂。在某些实施方案中,制剂是包含化合物1和/或阿扎胞昔的胶囊。在某些实施方案中,本文提供的片剂或胶囊任选地包含一种或多种赋形剂,例如像助流剂、稀释剂、润滑剂、着色剂、崩解剂、造粒剂、粘合剂、聚合物以及包衣剂。在某些实施方案中,所述制剂是立即释放片剂。在某些实施方案中,所述制剂是例如基本上在胃中释放活性药物成分(API)的控释片剂。在某些实施方案中,所述制剂是硬明胶胶囊。在某些实施方案中,所述制剂是软明胶胶囊。在某些实施方案中,所述胶囊是羟丙基甲基纤维素

(HPMC) 胶囊。在某些实施方案中,所述制剂是立即释放胶囊。在某些实施方案中,所述制剂是例如基本上在胃中释放API的立即释放或控制释放胶囊。在某些实施方案中,所述制剂是在施用后基本上溶解于口中的快速崩解片剂。在某些实施方案中,本文的实施方案涵盖化合物1和/或阿扎胞昔用于制备用于治疗特征在于IDH2的突变体等位基因的存在的恶性肿瘤的药物组合物的用途,其中所述组合物被制备用于口服施用。

[0180] 本文的具体实施方案提供包含化合物1和/或阿扎胞昔的药物制剂(例如,立即释放口服制剂和/或基本上在胃中释放API的制剂),所述药物制剂在口服施用所述制剂的对象(例如人)中实现特定AUC值(例如,AUC(0-t)或AUC(0-∞))。具体实施方案提供口服制剂,所述口服制剂实现至少约25ng·hr/mL、至少约50ng·hr/mL、至少约75ng·hr/mL、至少约100ng·hr/mL、至少约150ng·hr/mL、至少约200ng·hr/mL、至少约250ng·hr/mL、至少约300ng·hr/mL、至少约350ng·hr/mL、至少约400ng·hr/mL、至少约450ng·hr/mL、至少约500ng·hr/mL、至少约550ng·hr/mL、至少约600ng·hr/mL、至少约650ng·hr/mL、至少约700ng·hr/mL、至少约750ng·hr/mL、至少约800ng·hr/mL、至少约850ng·hr/mL、至少约900ng·hr/mL、至少约950ng·hr/mL、至少约1000ng·hr/mL、至少约1100ng·hr/mL、至少约1200ng·hr/mL、至少约1300ng·hr/mL、至少约1400ng·hr/mL、至少约1500ng·hr/mL、至少约1600ng·hr/mL、至少约1700ng·hr/mL、至少约1800ng·hr/mL、至少约1900ng·hr/mL、至少约2000ng·hr/mL、至少约2250ng·hr/mL或至少约2500ng·hr/mL的AUC值。在具体实施方案中,AUC测定是从给药后从动物或人志愿者的血液样品获得的时间-浓度药物代谢动力学曲线获得。

[0181] 本文的具体实施方案提供包含化合物1和/或阿扎胞昔的药物制剂(例如,立即释放口服制剂和/或基本上在胃中释放API的制剂),所述药物制剂在口服施用所述制剂的对象中实现特定最大血浆浓度(“C_{max}”)。具体实施方案提供口服制剂,所述口服制剂实现化合物1和/或胞昔类似物的至少约25ng/mL、至少约50ng/mL、至少约75ng/mL、至少约100ng/mL、至少约150ng/mL、至少约200ng/mL、至少约250ng/mL、至少约300ng/mL、至少约350ng/mL、至少约400ng/mL、至少约450ng/mL、至少约500ng/mL、至少约550ng/mL、至少约600ng/mL、至少约650ng/mL、至少约700ng/mL、至少约750ng/mL、至少约800ng/mL、至少约850ng/mL、至少约900ng/mL、至少约950ng/mL、至少约1000ng/mL、至少约1100ng/mL、至少约1200ng/mL、至少约1300ng/mL、至少约1400ng/mL、至少约1500ng/mL、至少约1600ng/mL、至少约1700ng/mL、至少约1800ng/mL、至少约1900ng/mL、至少约2000ng/mL、至少约2250ng/mL或至少约2500ng/mL的C_{max}。

[0182] 本文的具体实施方案提供包含化合物1和/或阿扎胞昔的药物制剂(例如,立即释放口服制剂和/或基本上在胃中释放API的制剂),所述药物制剂在口服施用所述制剂的对象中实现特定达到最大血浆浓度的时间(“T_{max}”)。具体实施方案提供口服制剂,所述口服制剂实现胞昔类似物的少于约10分钟、少于约15分钟、少于约20分钟、少于约25分钟、少于约30分钟、少于约35分钟、少于约40分钟、少于约45分钟、少于约50分钟、少于约55分钟、少于约60分钟、少于约65分钟、少于约70分钟、少于约75分钟、少于约80分钟、少于约85分钟、少于约90分钟、少于约95分钟、少于约100分钟、少于约105分钟、少于约110分钟、少于约115分钟、少于约120分钟、少于约130分钟、少于约140分钟、少于约150分钟、少于约160分钟、少于约170分钟、少于约180分钟、少于约190分钟、少于约200分钟、少于约210分钟、少于约220

分钟、少于约230分钟或少于约240分钟的T_{max}。在具体实施方案中，T_{max}值是从口服施用制剂的时间测量的。

[0183] 本文的具体实施方案提供包含化合物1和/或阿扎胞昔的口服剂型，其中所述口服剂型具有肠溶包衣。具体实施方案提供一种具有孔隙的可渗透或部分可渗透(例如“渗漏”)肠溶包衣。在具体实施方案中，所述可渗透或部分可渗透的肠溶包衣片剂以立即释放方式基本上在胃中释放化合物1和/或阿扎胞昔。

[0184] 本文提供经设计以使在口服施用后化合物1和/或氮杂胞昔的吸收和/或有效递送(例如以基本上在胃中释放)的剂型。因此，本文的某些实施方案提供使用药物赋形剂的化合物1和/或阿扎胞昔的固体口服剂型，所述固体口服剂型被设计用于在口服施用后例如基本上在胃中立即释放API。特定立即释放制剂包含特定量的化合物1和/或阿扎胞昔以及任选的一种或多种赋形剂。在某些实施方案中，所述制剂可以是立即释放片剂或立即释放胶囊(例如像HPMC胶囊)。

[0185] 本文提供制备本文提供的包含本文提供的化合物1和/或阿扎胞昔的制剂(例如，立即释放口服制剂和/或基本上在胃中释放API的制剂)的方法。在具体实施方案中，本文提供的制剂可使用例如在相关教科书中描述的药物制剂领域的技术人员已知的常规方法来制备。参见例如，R_{EMINGTON}, T_{HE} S_{CIENCE} AND P_{RACTICE} OF P_{HARMACY}, 第20版, Lippincott Williams& Wilkins, (2000) ; A_{NSEL} 等人, P_{HARMACEUTICAL} D_{OSAGE} F_{ORMS} AND D_{RUG} D_{ELIVERY} S_{YSTEMS}, 第7版, Lippincott Williams& Wilkins, (1999) ; G_{IBSON}, P_{HARMACEUTICAL} P_{REFORMULATION} AND F_{ORMULATION}, CRC Press (2001)。

[0186] 在具体实施方案中，本文提供的制剂(例如，立即释放口服制剂，基本上在胃中释放API的制剂，或基本上溶解在口中的快速崩解制剂)包含特定量的化合物1和/或阿扎胞昔。在具体实施方案中，所述制剂中化合物1和/或阿扎胞昔的具体量是例如约10mg。在一个实施方案中，具体量是约20mg。在一个实施方案中，具体量是约40mg。在一个实施方案中，具体量是约60mg。在一个实施方案中，具体量是约80mg。在一个实施方案中，具体量是约100mg。在一个实施方案中，具体量是约120mg。在一个实施方案中，具体量是约140mg。在一个实施方案中，具体量是约160mg。在一个实施方案中，具体量是约180mg。在一个实施方案中，具体量是约200mg。在一个实施方案中，具体量是约220mg。在一个实施方案中，具体量是约240mg。在一个实施方案中，具体量是约260mg。在一个实施方案中，具体量是约280mg。在一个实施方案中，具体量是约300mg。在一个实施方案中，具体量是约320mg。在一个实施方案中，具体量是约340mg。在一个实施方案中，具体量是约360mg。在一个实施方案中，具体量是约380mg。在一个实施方案中，具体量是约400mg。在一个实施方案中，具体量是约420mg。在一个实施方案中，具体量是约440mg。在一个实施方案中，具体量是约460mg。在一个实施方案中，具体量是约480mg。在一个实施方案中，具体量是约500mg。在一个实施方案中，具体量是约600mg。在一个实施方案中，具体量是约700mg。在一个实施方案中，具体量是约800mg。在一个实施方案中，具体量是约900mg。在一个实施方案中，具体量是约1000mg。在一个实施方案中，具体量是约1100mg。在一个实施方案中，具体量是约1200mg。在一个实施方案中，具体量是约1300mg。在一个实施方案中，具体量是约1400mg。在一个实施方案中，具体量是约1500mg。在一个实施方案中，具体量是约1600mg。在一个实施方案中，具体量是约1700mg。在一个实施方案中，具体量是约1800mg。在一个实施方案中，具体量是约1900mg。在

一个实施方案中,具体量是约2000mg。在一个实施方案中,具体量是约2100mg。在一个实施方案中,具体量是约2200mg。在一个实施方案中,具体量是约2300mg。在一个实施方案中,具体量是约2400mg。在一个实施方案中,具体量是约2500mg。在一个实施方案中,具体量是约3000mg。在一个实施方案中,具体量是约4000mg。在一个实施方案中,具体量是约5000mg。

[0187] 在某些实施方案中,所述制剂是片剂,其中片剂是使用标准的本领域公认的片剂加工程序和设备制造的。在某些实施方案中,用于形成片剂的方法是直接压制包含单独或与一种或多种赋形剂(例如像载体、添加剂、聚合物等)组合的化合物1和/或阿扎胞昔的粉末状、结晶和/或颗粒状组合物。在某些实施方案中,作为直接压制的替代方案,可使用湿法制粒或干法制粒工艺来制备片剂。在某些实施方案中,片剂是由湿润或另外易处理的材料开始,模制而不是压制的。在某些实施方案中,使用压制和制粒技术。

[0188] 在某些实施方案中,所述制剂是胶囊,其中胶囊可使用标准的本领域公认的胶囊加工程序和设备来制造。在某些实施方案中,可制备软明胶胶囊,其中胶囊含有化合物1和/或胞昔类似物以及植物油或非水性水混溶性材料(例如像聚乙二醇等)的混合物。在某些实施方案中,可制备硬明胶胶囊,所述胶囊含有化合物1和/或胞昔类似物与固体粉状载体(例如像乳糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露糖醇、马铃薯淀粉、玉米淀粉、支链淀粉、纤维素衍生物或明胶的组合的颗粒。在某些实施方案中,硬明胶胶囊壳可由包含明胶和少量增塑剂如甘油的胶囊组合物制备。在某些实施方案中,作为明胶的替代方案,胶囊壳可由碳水化合物材料制成。在某些实施方案中,胶囊组合物可根据需要另外包含聚合物、着色剂、调味剂和遮光剂。在某些实施方案中,胶囊包含HPMC。

[0189] 在某些实施方案中,使用水性溶剂制备化合物1和/或阿扎胞昔的制剂而不引起阿扎胞昔的显著水解降解。在具体实施方案中,化合物1和/或阿扎胞昔的制剂是片剂,所述片剂含有使用水性溶剂施加至药物核心的包衣,而不引起制剂中阿扎胞昔的显著水解降解。在某些实施方案中,使用水作为包覆药物核心的溶剂。在某些实施方案中,化合物1和/或阿扎胞昔的口服剂型是含有使用水性溶剂施加至药物核心的薄膜衣的片剂。在具体实施方案中,使用水作为用于薄膜包衣的溶剂。在具体实施方案中,使用水性溶剂对含有化合物1和/或阿扎胞昔的片剂进行薄膜包衣而不影响药物组合物的降解。在具体实施方案中,使用水作为薄膜包衣溶剂而不影响药物组合物的降解。在某些实施方案中,包含化合物1和/或阿扎胞昔以及水性薄膜包衣的口服剂型在口服递送时实现立即药物释放。在某些实施方案中,包含化合物1和/或阿扎胞昔的口服剂型和水性薄膜包衣在口服施用后实现控制药物释放至上胃肠道,例如胃。在具体实施方案中,具有水基薄膜包衣的片剂包含化合物1和/或氮杂胞昔作为API。

[0190] 在某些实施方案中,本文提供一种用于口服施用阿扎胞昔的控制释放药物制剂,所述药物制剂基本上在胃中释放化合物1和/或阿扎胞昔,所述药物制剂包含:a)特定量的化合物1和/或阿扎胞昔;b)用于控制基本上在上胃肠道例如胃中释放化合物1和/或阿扎胞昔的药物释放控制组分;以及c)任选的一种或多种赋形剂。在某些实施方案中,包含化合物1和/或阿扎胞昔的口服剂型被制备为控释片剂或胶囊,所述片剂或胶囊包含药物核心,所述药物核心包含药物组合物和任选的赋形剂。任选地,应用“密封包衣”或“壳”。在某些实施方案中,本文提供的包含本文提供的化合物1和/或阿扎胞昔的制剂是控释片剂或胶囊,所述片剂或胶囊包含治疗有效量的化合物1和/或阿扎胞昔、控制在口服施用后基本上在胃中

释放化合物1和/或阿扎胞昔的药物释放控制组分以及任选的一种或多种赋形剂。

[0191] 具体实施方案提供一种为聚合物基质的药物释放控制组分,所述药物释放控制组分在暴露于胃液时溶胀以实现制剂的胃潴留和基本上在胃中从聚合物基质持续释放化合物1和/或阿扎胞昔。在某些实施方案中,此类制剂可通过在配制期间将化合物1和/或阿扎胞昔并入合适的聚合物基质中来制备。此类制剂的实例是本领域中已知的。参见例如,She11等人,美国专利公布号2002/0051820(申请号09/990,061);She11等人,美国专利公布号2003/0039688(申请号10/045,823);Gusler等人,美国专利公布号2003/0104053(申请号10/029,134),所述专利各自以引用的方式整体并入本文。

[0192] 在某些实施方案中,所述药物释放控制组分可包含围绕含药物核心的壳,其中所述壳通过例如允许化合物1和/或阿扎胞昔从核心中扩散并通过在暴露于胃液时溶胀至保留在胃中的大小来促进制剂的胃潴留而从所述核心释放化合物1和/或阿扎胞昔。在某些实施方案中,此类制剂可通过首先压制化合物1和/或阿扎胞昔与一种或多种赋形剂的混合物以形成药物核心并在药物核心上压制另一种粉末状混合物以形成壳或用由合适的材料制成的胶囊壳包封药物核心来制备。此类制剂的实例是本领域中已知的。参见例如,Berner等人,美国专利公布号2003/0104062(申请号10/213,823),其以引用的方式整体并入本文。

[0193] 在某些实施方案中,本文提供的药物制剂含有化合物1和/或阿扎胞昔以及任选的一种或多种赋形剂以形成“药物核心”。任选的赋形剂包括例如稀释剂(增积剂)、润滑剂、崩解剂、填充剂,稳定剂、表面活性剂、防腐剂、着色剂、调味剂、粘合剂、赋形剂载体、助流剂、渗透增强赋形剂、增塑剂等,例如,如本领域已知的。本领域技术人员将理解,一些物质在药物组合物中用于多于一种目的。例如,一些物质是在压缩后帮助将片剂保持在一起的粘合剂,但也是一旦到达目标递送位点就帮助将片剂分开的崩解剂。赋形剂的选择和使用的量可由配方科学家根据经验和对本领域可用的标准程序和参考工作的考虑而容易地确定。

[0194] 在某些实施方案中,本文提供的制剂包含一种或多种粘合剂。例如,可使用粘合剂来赋予片剂粘着性质,并因此确保片剂在压缩后保持完整。合适的粘合剂包括但不限于淀粉(包括玉米淀粉和预胶化淀粉)、明胶、糖(包括蔗糖、葡萄糖、右旋糖和乳糖)、聚乙二醇、丙二醇、蜡和天然和合成树胶(例如,阿拉伯胶、藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮)、纤维素聚合物(包括羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、甲基纤维素、乙基纤维素、羟乙基纤维素、羧甲基纤维素等)、维格姆(veegum)、卡波姆(例如,卡波普)、钠、糊精、瓜尔胶、氢化植物油、硅酸镁铝、麦芽糖糊精、聚甲基丙烯酸酯、聚维酮(例如,KOLLIDON、PLASDONE)、微晶纤维素等。结合剂还包括例如阿拉伯胶、琼脂、海藻酸、卡波姆、角叉菜胶、邻苯二甲酸乙酸纤维素、角豆胶、壳聚糖、糖粉、共聚维酮、葡萄糖结合剂、糊精、右旋糖、乙基纤维素、明胶、山嵛酸甘油酯、瓜尔胶、羟乙基纤维素、羟乙基甲基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基淀粉、羟丙甲纤维素、菊粉、乳糖、硅酸镁铝、麦芽糖糊精、麦芽糖、甲基纤维素、泊洛沙姆、聚卡波非、聚葡萄糖、聚环氧乙烷、聚甲基丙烯酸酯、聚维酮、藻酸钠、羧甲基纤维素钠、淀粉、预胶化淀粉、硬脂酸、蔗糖以及玉米醇溶蛋白。结合剂的量可以是相对于药物核心,药物核心的约2%w/w、药物核心的约4%w/w、药物核心的约6%w/w、药物核心的约8%w/w、药物核心的约10%w/w、药物核心的约12%w/w、药物核心的约14%w/w、药物核心的约16%w/w、药物核心的约18%w/w、药物核心的约20%w/w、药物核心的约22%w/w、药物核心的约24%w/w、药物核心的约26%w/w、药物核心的约28%w/w、药物核心的约30%w/w、药物核心的约32%w/w、药物核心的约34%w/w。

w、药物核心的约36%w/w、药物核心的约38%w/w、药物核心的约40%w/w、药物核心的约42%w/w、药物核心的约44%w/w、药物核心的约46%w/w、药物核心的约48%w/w、药物核心的约50%w/w、药物核心的约52%w/w、药物核心的约54%w/w、药物核心的约56%w/w、药物核心的约58%w/w、药物核心的约60%w/w、药物核心的约62%w/w、药物核心的约64%w/w、药物核心的约66%w/w、药物核心的约68%w/w、药物核心的约70%w/w、药物核心的约72%w/w、药物核心的约74%w/w、药物核心的约76%w/w、药物核心的约78%w/w、药物核心的约80%w/w、药物核心的约82%w/w、药物核心的约84%w/w、药物核心的约86%w/w、药物核心的约88%w/w、药物核心的约90%w/w、药物核心的约92%w/w、药物核心的约94%w/w、药物核心的约96%w/w、药物核心的约98%w/w或更多(如果确定为适当的)。在某些实施方案中,特定粘合剂的合适量由本领域普通技术人员确定。

[0195] 在某些实施方案中,本文提供的制剂包含一种或多种稀释剂。稀释剂可用于例如增加体积,以使得最终提供实际尺寸的片剂。合适的稀释剂包括磷酸二钙、硫酸钙、乳糖、纤维素、高岭土、甘露糖醇、氯化钠、干淀粉、微晶纤维素(例如AVICEL)、微细纤维素、预胶化淀粉、碳酸钙、硫酸钙、糖、葡萄糖结合剂、糊精、右旋糖、磷酸氢钙二水合物、磷酸三钙、高岭土、碳酸镁、氧化镁、麦芽糖糊精、甘露糖醇、聚甲基丙烯酸酯(例如EUDRAGIT)、氯化钾、氯化钠、山梨糖醇以及滑石等。稀释剂还包括例如藻酸铵、碳酸钙、磷酸钙、硫酸钙、乙酸纤维素、可压缩糖、糖粉、葡萄糖结合剂、糊精、右旋糖、赤藓糖醇、乙基纤维素、果糖、富马酸、棕榈酸硬脂酸甘油酯、异麦芽酮糖醇、高岭土、乳糖醇、乳糖、甘露糖醇、碳酸镁、氧化镁、麦芽糖糊精、麦芽糖、中链甘油三酯、微晶纤维素、微晶硅化纤维素、粉状纤维素、聚葡萄糖、聚甲基丙烯酸酯、西甲硅油、藻酸钠、氯化钠、山梨糖醇、淀粉、预胶化淀粉、蔗糖、碘基丁基醚-β-环糊精、滑石、黄蓍胶、海藻糖以及木糖醇。对于片剂或胶囊,稀释剂可以计算为获得所需体积的量使用;在某些实施方案中,稀释剂以药物核心的重量/重量,约5%或更多、约10%或更多、约15%或更多、约20%或更多、约22%或更多、约24%或更多、约26%或更多、约28%或更多、约30%或更多、约32%或更多、约34%或更多、约36%或更多、约38%或更多、约40%或更多、约42%或更多、约44%或更多、约46%或更多、约48%或更多、约50%或更多、约52%或更多、约54%或更多、约56%或更多、约58%或更多、约60%或更多、约62%或更多、约64%或更多、约68%或更多、约70%或更多、约72%或更多、约74%或更多、约76%或更多、约78%或更多、约80%或更多、约85%或更多、约90%或更多或约95%或更多;药物核心的介于约10%与约90%w/w之间;药物核心的介于约20%与约80%w/w之间;药物核心的介于约30%与约70%w/w之间;药物核心的介于约40%与约60%w/w之间的量使用。在某些实施方案中,特定稀释剂的合适量由本领域普通技术人员确定。

[0196] 在某些实施方案中,本文提供的制剂包含一种或多种润滑剂。可使用润滑剂例如以便于片剂制造;合适润滑剂的实例包括例如植物油(如花生油、棉籽油、芝麻油、橄榄油、玉米油和可可油)、甘油、硬脂酸镁、硬脂酸钙以及硬脂酸。在某些实施方案中,硬脂酸酯(如果存在)占含药物核心的不超过约2重量%。润滑剂的其它实例包括例如硬脂酸钙、甘油单硬脂酸酯、甘油-硬脂酸酯、棕榈酸硬脂酸甘油酯、月桂基硫酸镁、硬脂酸镁、肉豆蔻酸、棕榈酸、泊洛沙姆、聚乙二醇、苯甲酸钾、苯甲酸钠、氯化钠、月桂基硫酸钠、硬脂酰富马酸钠、硬脂酸、滑石以及硬脂酸锌。在具体实施方案中,润滑剂是硬脂酸镁。在某些实施方案中,润滑剂相对于药物核心以药物核心的约0.2%w/w、药物核心的约0.4%w/w、药物核心的约0.6%

w/w、药物核心的约0.8%w/w、药物核心的约1.0%w/w、药物核心的约1.2%w/w、药物核心的约1.4%w/w、药物核心的约1.6%w/w、药物核心的约1.8%w/w、药物核心的约2.0%w/w、药物核心的约2.2%w/w、药物核心的约2.4%w/w、药物核心的约2.6%w/w、药物核心的约2.8%w/w、药物核心的约3.0%w/w、药物核心的约3.5%w/w、药物核心的约4%w/w、药物核心的约4.5%w/w、药物核心的约5%w/w、药物核心的约6%w/w、药物核心的约7%w/w、药物核心的约8%w/w、药物核心的约10%w/w、药物核心的约12%w/w、药物核心的约14%w/w、药物核心的约16%w/w、药物核心的约18%w/w、药物核心的约20%w/w、药物核心的约25%w/w、药物核心的约30%w/w、药物核心的约35%w/w、药物核心的约40%w/w、药物核心的介于约0.2%与约10%w/w之间、药物核心的介于约0.5%与约5%w/w之间或药物核心的介于约1%与约3%w/w之间的量存在。在某些实施方案中,特定润滑剂的合适量由本领域普通技术人员确定。

[0197] 在某些实施方案中,本文提供的制剂包含一种或多种崩解剂。崩解剂可用于例如促进片剂的崩解,并且可以是例如淀粉、粘土、纤维素、藻胶、树胶或交联聚合物。崩解剂还包括例如,海藻酸、羧甲基纤维素钙、羧甲基纤维素钠(例如AC-DI-SOL, PRIMELLOSE)、胶态二氧化硅、交联羧甲基纤维素钠、交聚维酮(例如KOLLIDON, POLYPLASDONE)、瓜尔胶、硅酸镁铝、甲基纤维素、微晶纤维素、聚克立林钾、粉状纤维素、预胶化淀粉、藻酸钠、淀粉乙醇酸钠(例如EXPLOTAB)以及淀粉。另外的崩解剂包括例如藻酸钙、壳聚糖、多库酯钠、羟丙基纤维素以及聚维酮。在某些实施方案中,崩解剂相对于药物核心,以药物核心的约1%w/w、药物核心的约2%w/w、药物核心的约3%w/w、药物核心的约4%w/w、药物核心的约5%w/w、药物核心的约6%w/w、药物核心的约7%w/w、药物核心的约8%w/w、药物核心的约9%w/w、药物核心的约10%w/w、药物核心的约12%w/w、药物核心的约14%w/w、药物核心的约16%w/w、药物核心的约18%w/w、药物核心的约20%w/w、药物核心的约22%w/w、药物核心的约24%w/w、药物核心的约26%w/w、药物核心的约28%w/w、药物核心的约30%w/w、药物核心的约32%w/w、药物核心的大于约32%w/w、药物核心的介于约1%与约10%w/w之间、药物核心的介于约2%与约8%w/w之间、药物核心的介于约3%与约7%w/w之间或药物核心的介于约4%与约6%w/w之间的量存在。在某些实施方案中,特定崩解剂的合适量由本领域普通技术人员确定。

[0198] 在某些实施方案中,本文提供的制剂包含一种或多种稳定剂。稳定剂(也称为吸收促进剂)可用于例如抑制或延迟药物分解反应(例如包括氧化反应)。稳定剂包括例如d- α -生育酚聚乙二醇1000琥珀酸酯(维生素E TPGS)、阿拉伯胶、白蛋白、海藻酸、硬脂酸铝、藻酸铵、抗坏血酸、抗坏血酸棕榈酸酯、膨润土、丁羟甲苯、藻酸钙、硬脂酸钙、羧甲基纤维素钙、角叉菜胶、角豆胶、胶态二氧化硅、环糊精、二乙醇胺、依地酸酯、乙基纤维素、棕榈酸硬脂酸乙二醇酯、甘油单硬脂酸酯、瓜尔胶、羟丙基纤维素、羟丙甲纤维素、转化糖、卵磷脂、硅酸镁铝、单乙醇胺、果胶、泊洛沙姆、聚乙烯醇、藻酸钾、聚克立林钾、聚维酮、没食子酸丙酯、丙二醇、藻酸丙二醇酯、棉子糖、乙酸钠、藻酸钠、硼酸钠、羧甲基纤维素钠、硬脂酰富马酸钠、山梨糖醇、硬脂醇、磺丁基- β -环糊精、海藻糖、白蜡、黄原胶、木糖醇、黄蜡以及乙酸锌。在某些实施方案中,稳定剂相对于药物核心,以药物核心的约1%w/w、药物核心的约2%w/w、药物核心的约3%w/w、药物核心的约4%w/w、药物核心的约5%w/w、药物核心的约6%w/w、药物核心的约7%w/w、药物核心的约8%w/w、药物核心的约9%w/w、药物核心的约10%w/w、药物

核心的约12%w/w、药物核心的约14%w/w、药物核心的约16%w/w、药物核心的约18%w/w、药物核心的约20%w/w、药物核心的约22%w/w、药物核心的约24%w/w、药物核心的约26%w/w、药物核心的约28%w/w、药物核心的约30%w/w、药物核心的约32%w/w、药物核心的介于约1%与约10%w/w之间、药物核心的介于约2%与约8%w/w之间、药物核心的介于约3%与约7%w/w之间或药物核心的介于约4%与约6%w/w之间的量存在。在某些实施方案中,特定稳定剂的合适量由本领域普通技术人员确定。

[0199] 在某些实施方案中,本文提供的制剂包含一种或多种助流剂。助流剂可用于例如改进粉末组合物或颗粒的流动性或改进给药的精确度。可充当助流剂的赋形剂包括例如胶态二氧化硅、三硅酸镁、粉状纤维素、淀粉、磷酸三钙、硅酸钙、粉状纤维素、胶态二氧化硅、硅酸镁、三硅酸镁、二氧化硅、淀粉、磷酸三钙以及滑石。在某些实施方案中,助流剂相对于药物核心,以药物核心的少于约1%w/w、药物核心的约1%w/w、药物核心的约2%w/w、药物核心的约3%w/w、药物核心的约4%w/w、药物核心的约5%w/w、药物核心的约6%w/w、药物核心的约7%w/w、药物核心的约8%w/w、药物核心的约9%w/w、药物核心的约10%w/w、药物核心的约12%w/w、药物核心的约14%w/w、药物核心的约16%w/w、药物核心的约18%w/w、药物核心的约20%w/w、药物核心的约22%w/w、药物核心的约24%w/w、药物核心的约26%w/w、药物核心的约28%w/w、药物核心的约30%w/w、药物核心的约32%w/w、药物核心的介于约1%与约10%w/w之间、药物核心的介于约2%与约8%w/w之间、药物核心的介于约3%与约7%w/w之间或药物核心的介于约4%与约6%w/w之间的量存在。在某些实施方案中,特定助流剂的合适量由本领域普通技术人员确定。

[0200] 在某些实施方案中,本文提供的制剂包含一种或多种渗透促进剂(也称为例如渗透性促进剂)。在某些实施方案中,渗透促进剂增强阿扎胞昔通过胃肠壁(例如胃)的摄取。在某些实施方案中,渗透促进剂改变进入血流的阿扎胞昔的速率和/或量。在具体实施方案中,d- α -生育酚聚乙二醇-1000琥珀酸酯(维生素E TPGS)用作渗透促进剂。在具体实施方案中,使用一种或多种其它合适的渗透促进剂,包括例如本领域中已知的任何渗透促进剂。

[0201] 在一个实施方案中,本文提供的药物组合物可口服、胃肠外、通过吸入喷雾、局部地、经直肠、经鼻、经颊、经阴道或经由植入式储药器施用,优选地通过口服施用或通过注射施用。在一个实施方案中,所述药物组合物可含有任何常规无毒的药学上可接受的载体、佐剂或媒介物。在一些情况下,可用药学上可接受的酸、碱或缓冲剂调节制剂的pH以增强所配制的化合物或其递送形式的稳定性。如本文所用的术语胃肠外包括皮下、皮内、静脉内、肌内、关节内、动脉内、滑膜内、胸骨内、鞘内、病灶内以及颅内注射或输注技术。

[0202] 在一个实施方案中,本文提供的药物组合物可呈无菌可注射制剂的形式,例如呈无菌可注射水性或油性悬浮液。这种悬浮液可根据本领域中已知的技术,使用合适的分散剂或润湿剂(例如像吐温80)和悬浮剂来配制。无菌可注射制剂也可为在无毒胃肠外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液或悬浮液,例如为在1,3-丁二醇中的溶液。可采用的可接受的媒介物和溶剂有甘露醇、水、林格氏溶液以及等渗氯化钠溶液。另外,无菌的不挥发性油通常用作溶剂或悬浮介质。出于此目的,可以采用包括合成的甘油单酯或甘油二酯在内的任何温和的不挥发性油。脂肪酸类如油酸和它的甘油酯衍生物适用于制备可注射剂,如天然的药学上可接受的油类如橄榄油或蓖麻油,尤其呈它们的聚氧乙基化型式。这些油溶液或悬浮液也可包含长链醇稀释剂或分散剂、或羧甲基纤维素或通常用于药学上可接

受的剂型(如乳剂和或悬浮液)的配制中的类似分散剂。其它常用的表面活性剂(如吐温或司盘)和/或其它通常用于制造药学上可接受的固体、液体或其它剂型的类似乳化剂或生物利用度增强剂也可用于配制的目的。

[0203] 在一个实施方案中,本文提供的药物组合物还可以供直肠施用的栓剂形式来施用。可以通过将本发明的一方面的化合物与适合的无刺激性赋形剂混合来制备这些组合物,所述赋形剂在室温下为固体,但在直肠温度下为液体,并且因此将在直肠中熔化以释放活性组分。此类材料包括,但不限于可可脂、蜂蜡和聚乙二醇。

[0204] 当所需治疗涉及可通过局部施加来接近的区域或器官时,本文提供的药物组合物的局部施用是有用的。对于局部施加至皮肤,应使用含有悬浮或溶解于载体中的活性组分的合适软膏剂来配制所述药物组合物。用于本发明的一方面的化合物的局部施用的载体包括但不限于矿物油、液态石油、白石油、丙二醇、聚氧乙烯聚氧丙烯化合物、乳化蜡以及水。或者,所述药物组合物可用含有活性化合物的适合洗剂或乳膏配制,所述活性化合物用合适的乳化剂悬浮或溶解于载体中。合适的载体包括但不限于矿物油、脱水山梨糖醇单硬脂酸酯、聚山梨醇酯60、十六烷基酯蜡、鲸蜡硬脂醇、2-辛基十二烷醇、苯甲醇以及水。本文提供的药物组合物还可通过直肠栓剂制剂或在合适灌肠制剂中局部地施加至低位肠道。局部透皮贴剂也包括于本文中。

[0205] 在一个实施方案中,本文提供的药物组合物可通过鼻气雾剂或吸入来施用。此类组合物根据药物制剂领域中熟知的技术进行制备,并且可制备为盐水溶液,采用苯甲醇或其它合适的防腐剂、可增强生物利用度的吸收促进剂、碳氟化合物、和/或其它本领域已知的助溶剂或分散剂。

[0206] 当本文提供的组合物包含化合物1与阿扎胞苷的组合时,化合物1和阿扎胞苷两者均应以在单一疗法方案中通常施用的剂量的介于约1%至100%之间,并且更优选地介于约5%至95%之间的剂量水平存在。阿扎胞苷可作为多剂量方案的一部分与本发明的一方面的化合物分开放用。或者,阿扎胞苷可以是与在单一组合物中化合物1混合在一起的单一剂型的一部分。

[0207] 在一个实施方案中,本文提供的组合物可(例如)通过静脉内、动脉内、皮下、腹膜内、肌内或皮下注射施用;或通过口服、经颊、经鼻、经粘膜、局部、在眼用制剂中或通过吸入施用,其中剂量范围为约0.5至约100mg/kg体重,可选的剂量为介于1mg与1000mg/剂量之间,每4至120小时服用一次,或根据具体药物的需要。本文的方法涵盖施用有效量的化合物或化合物组合物以实现所需或所述作用。通常,所述药物组合物每天施用约1至约6次或可替代地,以连续输注形式施用。这种施用可用作慢性或急性疗法。可与载体材料组合以产生单一剂型的活性成分的量取决于所治疗的宿主和特定施用模式而改变。典型的制剂包含约5%至约95%活性化合物(w/w)。或者,此类制剂包含约20%至约80%活性化合物。

[0208] 可能需要低于或高于以上所列举的那些的剂量。任何具体对象的具体剂量和治疗方案取决于多种因素,包括所采用的具体化合物的活性、年龄、体重、一般健康状况、性别、饮食、施用时间、排泄率、药物组合、疾病、病状或症状的严重程度和过程、对象对疾病、病状或症状的倾向、以及治疗医师的判断。

[0209] 在改善对象的病状后,如果有必要,可施用本文提供的化合物、组合物或组合的维持剂量。随后,施用的剂量或频率、或两者随着症状的变化可减轻至当所述症状已被缓和至

所需水平时保持改善的病状的水平。然而,在疾病症状的任何复发时,对象可能需要长期的间歇治疗。

[0210] 使用方法

[0211] 在一个实施方案中,本文提供一种通过向对象施用突变体IDH2抑制剂与DNA去甲基化剂的组合来治疗血液恶性肿瘤的方法。在一些此类实施方案中,所述血液恶性肿瘤是晚期血液恶性肿瘤。

[0212] 在一些实施方案中,待治疗的血液恶性肿瘤是AML。在一些实施方案中,待治疗的血液恶性肿瘤是新诊断的AML。

[0213] 在一个实施方案中,本文提供通过向对象施用突变体IDH2抑制剂与DNA去甲基化剂的组合来治疗复发性或难治性AML的方法。在一个实施方案中,本文提供通过向对象施用突变体IDH2抑制剂与DNA去甲基化剂的组合来治疗复发性AML的方法。在一个实施方案中,本文提供通过向对象施用突变体IDH2抑制剂与DNA去甲基化剂的组合来治疗难治性AML的方法。

[0214] 在一些实施方案中,待治疗的血液恶性肿瘤是MDS。在一个实施方案中,MDS是选自以下病症:难治性贫血(RA)、伴有环形铁粒幼红细胞的RA(RARS)、伴有过量母细胞的RA(RAEB)、伴有多系发育异常的难治性血细胞减少症(RCMD)、伴有单系发育异常的难治性血细胞减少症(RCUD)、不可分类的骨髓增生异常综合征(MDS-U)、与分离的del(5q)染色体异常相关的骨髓增生异常综合征、治疗相关的骨髓肿瘤以及慢性骨髓单核细胞性白血病(CMML)。

[0215] 在一个实施方案中,本文提供通过向对象施用突变体IDH2抑制剂与DNA去甲基化剂的组合来治疗MDS的方法。

[0216] 在一个实施方案中,所述血液恶性肿瘤是难治性贫血(RA)。

[0217] 在一个实施方案中,所述血液恶性肿瘤是伴有环形铁粒幼红细胞的RA(RARS)。

[0218] 在一个实施方案中,所述血液恶性肿瘤是伴有过量母细胞的RA(RAEB)。

[0219] 在一个实施方案中,所述血液恶性肿瘤是伴有多系发育异常的难治性血细胞减少症(RCMD)。

[0220] 在一个实施方案中,所述血液恶性肿瘤是伴有单系发育异常的难治性血细胞减少症(RCUD)。

[0221] 在一个实施方案中,所述血液恶性肿瘤是不可分类的骨髓增生异常综合征(MDS-U)。

[0222] 在一个实施方案中,所述血液恶性肿瘤是与分离的del(5q)染色体异常相关的骨髓增生异常综合征。

[0223] 在一个实施方案中,所述血液恶性肿瘤是治疗相关的骨髓肿瘤。

[0224] 在一个实施方案中,所述血液恶性肿瘤是慢性骨髓单核细胞性白血病(CMML)。

[0225] 在一个实施方案中,MDS是选自低风险MDS和高风险MDS。

[0226] 在某些实施方案中,低风险MDS和高风险MDS由预后系统确定,所述预后系统最常见地基于母细胞百分比、细胞遗传学风险等级和血细胞减少,但其也可包括年龄、行为状态、输血需求和其它临床(以及越来越多的分子)因素。

[0227] 在某些实施方案中,患有较高风险MDS的患者落入中等-2和高等级的国际预后评

分系统(IPSS)类别中,主要对应于IPSS-R等级非常高、高和有时中等,并且其通常对应于伴有过量母细胞的难治性贫血(RAEB)-1和RAEB-2的世界卫生组织(World Health Organization,WHO)组织学亚型,预期中值总体存活期<2年。患有高危MDS(INT-2/高IPSS或高/极高IPSS-R评分)的患者分别具有33%至45%的进展至AML的机会,和在没有干预的情况下约12个月的中值存活期(Greenberg等人Clinical application and proposal for modification of the International Working Group(IWG) response criteria in myelodysplasia.Blood 2006;108(2):419-25 1997)。

[0228] 在一些实施方案中,待治疗的血液恶性肿瘤是高危MDS。

[0229] 在一个实施方案中,本文提供一种通过向对象施用突变体IDH2抑制剂与DNA去甲基化剂的组合来治疗实体瘤的方法。

[0230] 在一个实施方案中,所述突变体IDH2抑制剂是化合物1。在一个实施方案中,化合物1涵盖其药学上可接受的盐、溶剂化物、互变异构体、立体异构体、同位素体、前药、代谢物或多晶型物。

[0231] 在一个实施方案中,所述DNA去甲基化剂是阿扎胞苷。

[0232] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗各自以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的晚期血液恶性肿瘤的方法,所述血液恶性肿瘤如急性骨髓性白血病(AML)、骨髓增生异常综合征(MDS)、慢性粒单核细胞白血病(CMML)、髓样肉瘤、多发性骨髓瘤、淋巴瘤(例如,T细胞淋巴瘤或B细胞淋巴瘤)、血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤(AITL)或母细胞性浆细胞样树突细胞赘生物,所述方法包括向对象施用治疗有效量的化合物1和阿扎胞苷。

[0233] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的AML的方法,所述方法包括向对象施用治疗有效量的化合物1和阿扎胞苷。

[0234] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的新诊断的AML的方法,所述方法包括向对象施用治疗有效量的化合物1和阿扎胞苷。

[0235] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的复发性或难治性AML的方法,所述方法包括向对象施用治疗有效量的化合物1和阿扎胞苷。

[0236] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的MDS的方法,所述方法包括向对象施用治疗有效量的化合物1和阿扎胞苷。

[0237] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的高危MDS的方法,所述方法包括向对象施用治疗有效量的化合物1和阿扎胞苷。

[0238] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗各自以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的晚期血液恶性肿瘤的方法,所述血液恶性肿瘤如急性骨髓性白血病(AML)、骨髓增生异常综合征(MDS)、慢性粒单核细胞白血病(CMML)、髓样肉瘤、多发性骨髓瘤、淋巴瘤(例如,T细胞淋巴瘤或B细胞淋巴瘤)、血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤(AITL)或母细胞性浆细胞样树突细胞赘生物,所述方法包括向对象施用治疗有效量的单晶形式的化合物1和阿扎胞苷。在一个实施方案中,单晶形式的化合物1是介于90%与100%之间的任何百分比纯度。

[0239] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的AML的方法,所述方法包括向对象施用治疗有效量的单晶形式的化合物1和阿扎胞苷。

[0240] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的新诊断的AML的方法,所述方法包括向对象施用治疗有效量的单晶形式的化合物1和阿扎胞

昔。

[0241] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的复发性或难治性AML的方法,所述方法包括向对象施用治疗有效量的单晶形式的化合物1和阿扎胞昔。

[0242] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的MDS的方法,所述方法包括向对象施用治疗有效量的单晶形式的化合物1和阿扎胞昔。

[0243] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的高危MDS的方法,所述方法包括向对象施用治疗有效量的单晶形式的化合物1和阿扎胞昔。

[0244] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗各自以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的晚期血液恶性肿瘤的方法,所述血液恶性肿瘤如急性骨髓性白血病(AML)、骨髓增生异常综合征(MDS)、慢性粒单核细胞白血病(CMML)、髓样肉瘤、多发性骨髓瘤、淋巴瘤(例如,T细胞淋巴瘤或B细胞淋巴瘤)、血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤(AITL)或母细胞性浆细胞样树突细胞赘生物,所述方法包括向对象施用包含治疗有效量的化合物1和阿扎胞昔的药物组合物。

[0245] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的AML的方法,所述方法包括向对象施用包含治疗有效量的化合物1和阿扎胞昔的药物组合物。

[0246] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的新诊断的AML的方法,所述方法包括向对象施用包含治疗有效量的化合物1和阿扎胞昔的药物组合物。

[0247] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的复发性或难治性AML的方法,所述方法包括向对象施用包含治疗有效量的化合物1和阿扎胞昔的药物组合物。

[0248] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的MDS的方法,所述方法包括向对象施用包含治疗有效量的化合物1和阿扎胞昔的药物组合物。

[0249] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的高危MDS的方法,所述方法包括向对象施用包含治疗有效量的化合物1和阿扎胞昔的药物组合物。

[0250] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗各自以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的晚期血液恶性肿瘤的方法,所述血液恶性肿瘤如急性骨髓性白血病(AML)、骨髓增生异常综合征(MDS)、慢性粒单核细胞白血病(CMML)、髓样肉瘤、多发性骨髓瘤、淋巴瘤(例如,T细胞淋巴瘤或B细胞淋巴瘤)、血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤(AITL)或母细胞性浆细胞样树突细胞赘生物,所述方法包括向对象施用包含治疗有效量的单晶形式的化合物1和阿扎胞昔的药物组合物。在一个实施方案中,单晶形式的化合物1是介于90%与100%之间的任何百分比纯度。

[0251] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的AML的方法,所述方法包括向对象施用包含治疗有效量的单晶形式的化合物1和阿扎胞昔的药物组合物。

[0252] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的复发性或难治性AML的方法,所述方法包括向对象施用包含治疗有效量的单晶形式的化合物1和阿扎胞苷的药物组合物。

[0253] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的新诊断的AML的方法,所述方法包括向对象施用包含治疗有效量的单晶形式的化合物1和阿扎胞苷的药物组合物。

[0254] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的MDS的方法,所述方法包括向对象施用包含治疗有效量的单晶形式的化合物1和阿扎胞苷的药物组合物。

[0255] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的高危MDS的方法,所述方法包括向对象施用包含治疗有效量的单晶形式的化合物1和阿扎胞苷的药物组合物。

[0256] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗各自以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的实体瘤,如神经胶质瘤、黑色素瘤、软骨肉瘤、胆管癌、肉瘤或非小细胞肺癌的方法,所述方法包括向对象施用治疗有效量的化合物1和阿扎胞苷。

[0257] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗各自以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的实体瘤,如神经胶质瘤、黑色素瘤、软骨肉瘤、胆管癌、肉瘤或非小细胞肺癌的方法,所述方法包括向对象施用治疗有效量的单晶形式的化合物1和阿扎胞苷。在一个实施方案中,单晶形式的化合物1是介于90%与100%之间的任何百分比纯度。

[0258] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗各自以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的实体瘤,如神经胶质瘤、黑色素瘤、软骨肉瘤、胆管癌、肉瘤或非小细胞肺癌的方法,所述方法包括向对象施用包含治疗有效量的化合物1和阿扎胞苷的药物组合物。

[0259] 在一个实施方案中,本文提供一种治疗各自以IDH2的突变体等位基因的存在为特征的实体瘤,如神经胶质瘤、黑色素瘤、软骨肉瘤、胆管癌、肉瘤或非小细胞肺癌的方法,所述方法包括向对象施用包含治疗有效量的单晶形式的化合物1和阿扎胞苷的药物组合物。在一个实施方案中,单晶形式的化合物1是介于90%与100%之间的任何百分比纯度。

[0260] 在一个实施方案中,待治疗的恶性肿瘤以IDH2的突变体等位基因为特征,其中IDH2突变导致所述酶在对象中催化 α -酮戊二酸盐以NAPH-依赖性还原为R(-)-2-羟基戊二酸盐的新能力。在这个实施方案的一方面,突变体IDH2具有R140X突变。在这个实施方案的另一方面,R140X突变为R140Q突变。在这个实施方案的另一方面,R140X突变为R140W突变。在这个实施方案的另一方面,R140X突变为R140L突变。在这个实施方案的另一方面,突变体IDH2具有R172X突变。在这个实施方案的另一方面,R172X突变为R172K突变。在这个实施方案的另一方面,R172X突变为R172G突变。

[0261] 恶性肿瘤可通过对细胞样品进行测序以确定在IDH2的氨基酸140和/或172处的突变(例如,所存在的改变的氨基酸)的存在和具体性质。

[0262] 不受理论限制,申请人已经发现IDH2的突变体等位基因(其中IDH2突变导致所述酶催化 α -酮戊二酸盐以NAPH-依赖性还原为R(-)-2-羟基戊二酸盐的新能力),并且具体地说IDH2的R140Q和/或R172K突变表征所有类型的癌症的亚型,而不考虑其在体内的细胞性质或位置。因此,本文提供的化合物、组合物和方法适用于治疗任何类型的以赋予这种活性

的IDH2的突变体等位基因、并且具体地说IDH2R140Q和/或R172K突变的存在为特征的癌症。

[0263] 在一个实施方案中,所述恶性肿瘤是肿瘤,其中在诊断或治疗时至少30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的肿瘤细胞携带IDH2突变,并且具体地说IDH2R140Q、R140W、或R140L和/或R172K或R172G突变。

[0264] 在一个实施方案中,恶性肿瘤的治疗的功效通过测量对象中2HG的水平进行监测。通常在治疗前测量2HG的水平,其中升高的水平指示使用化合物1。一旦升高的水平已确立,在治疗过程期间和/或在治疗终止之后测定2HG的水平以便确立功效。在某些实施方案中,仅在治疗过程期间和/或在治疗终止之后测定2HG的水平。在治疗过程期间和治疗之后2HG水平的降低指示功效。类似地,2HG水平在治疗过程期间或治疗之后未升高的确定也指示功效。通常,2HG测量值与恶性肿瘤治疗的功效的其它熟知的确定一起使用,如肿瘤和/或其它癌症相关病变的数目和大小的减少、对象的一般健康状况的改善、以及与恶性肿瘤治疗功效相关的其它生物标志物中的变化。

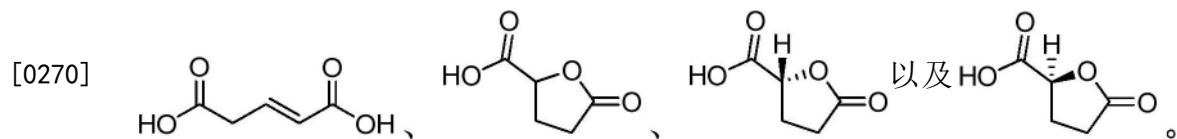
[0265] 可在样品中通过LC/MS检测2HG。将所述样品与甲醇80:20混合,并且在3,000rpm下在4°C下离心20分钟。可收集所得上清液并且在LC-MS/MS之前将其在-80°C下储存以评估2-羟基戊二酸盐水平。可使用多种不同的液相色谱(LC)分离方法。各方法可通过负电喷射电离(ESI,-3.0kV)偶联到在多反应监测(MRM)模式下操作的三重-四极质谱仪,其中MS参数对于输注代谢物标准溶液优化。可根据先前报道的方法(Luo等人J Chromatogr A 1147,153-64,2007)的变型,在水性流动相中通过使用10mM三丁基胺作为离子配对剂的反相色谱法来分离代谢物。一种方法允许TCA代谢物的解析: $t=0,50\%B$; $t=5,95\%B$; $t=7,95\%B$; $t=8,0\%B$,其中B是指100%甲醇的有机流动相。另一方法对2-羟基戊二酸盐具有特异性,其经5分钟运行50%至95%B(如以上所定义的缓冲剂)的快速线性梯度。如上所描述,可以将Synergi Hydro-RP,100mm×2mm,2.1μm粒度(Phenomenex)用作柱。可通过与已知浓度下的纯代谢物标准物比较峰面积来量化代谢物。可如例如Munger等人Nat Biotechnol 26,1179-86,2008中所描述来进行来自¹³C-谷氨酰胺的代谢物通量研究。

[0266] 在一个实施方案中,直接地评价2HG。

[0267] 在另一个实施方案中,对在进行所述分析方法的过程中形成的2HG的衍生物进行评价。例如,这种衍生物可以是在MS分析中形成的衍生物。衍生物可包括盐加合物(例如Na加合物)、水合变体或(例如)如在MS分析中形成的也是盐加合物(例如Na加合物)的水合变体。

[0268] 在另一个实施方案中,对2HG的代谢衍生物进行评价。实例包括由于2HG的存在而累积或升高或降低的物质,如将与2HG(例如R-2HG)相关的戊二酸盐或谷氨酸盐。

[0269] 示例性2HG衍生物包括脱水衍生物,如以下提供的化合物或其盐加合物:



[0271] 2HG已知在遗传性代谢病症2-羟基戊二酸尿症中积聚。这种疾病由酶2-羟基戊二酸脱氢酶中的缺陷引起,所述酶将2HG转化成α-KG(Struys,E.A.等人Am J Hum Genet 76,358-60(2005))。具有2-羟基戊二酸脱氢酶缺陷的患者在脑中积聚2HG(如通过MRI和CSF分析评估的),发展脑白质病,并且具有增加的发展脑肿瘤的风险(Aghili,M.,Zahedi,F.&

Rafiee, J Neurooncol 91, 233-6 (2009); Kolker, S., Mayatepek, E. & Hoffmann, G.F. Neuropediatrics 33, 225-31 (2002); Wajner, M., Latini, A., Wyse, A.T. & Dutra-Filho, C.S. J Inherit Metab Dis 27, 427-48 (2004)。此外,升高的脑2HG水平导致增加的ROS水平(Kolker, S. 等人Eur J Neurosci 16, 21-8 (2002); Latini, A. 等人Eur J Neurosci 17, 2017-22 (2003)),从而潜在地促成增加的癌症风险。2HG充当NMDA受体激动剂的能力可促进这种作用(Kolker, S. 等人Eur J Neurosci 16, 21-8 (2002))。2HG还可能通过完全地抑制谷氨酸盐和/或利用αKG的酶而对细胞具有毒性。这些包括允许利用谷氨酸盐氮用于氨基酸和核酸生物合成的氨基转移酶,和αKG依赖性脯氨酸羟化酶,如调控Hif1-α水平的那些。

[0272] 因此,根据另一个实施方案,本文提供一种通过向对象施用化合物1和阿扎胞苷来治疗所述对象的2-羟基戊二酸尿症,特别是D-2-羟基戊二酸尿症的方法。

[0273] 本文所述的治疗方法可另外包括在用化合物1和阿扎胞苷处理之前和/或之后的各种评价步骤。

[0274] 在一个实施方案中,在用化合物1和阿扎胞苷治疗之前和/或之后,所述方法还包括评价恶性肿瘤的生长、大小、重量、侵袭力、阶段和/或其它表型的步骤。

[0275] 在一个实施方案中,在用化合物1和阿扎胞苷治疗之前和/或之后,所述方法还包括评价恶性肿瘤的IDH2基因型的步骤。这可通过本领域中的普通方法实现,如DNA测序、免疫分析、和/或2HG的存在、分布或水平的评价。

[0276] 在一个实施方案中,在用化合物1和阿扎胞苷治疗之前和/或之后,所述方法还包括测定对象中的2HG水平的步骤。这可通过以下来实现:光谱分析,例如基于磁共振的分析,例如MRI和/或MRS测量;体液的样品分析,如血清或脊髓液分析;或通过外科材料的分析,例如通过质谱。

[0277] 在一个实施方案中,化合物1和阿扎胞苷同时施用。在一个实施方案中,化合物1和阿扎胞苷依序施用。

[0278] 在一个实施方案中,取决于待治疗的疾病和对象的病状,化合物1可通过口服、胃肠外(例如肌内、腹膜内、静脉内、CIV、脑池内注射或输注、皮下注射或植入)、吸入、经鼻、经阴道、经直肠、舌下或局部(例如透皮或局部)施用途径来施用。化合物1可单独或与一种或多种活性剂一起以合适的剂量单位与适合于每种施用途径的药学上可接受的赋形剂、载体、佐剂和媒介物一起配制。

[0279] 在一个实施方案中,在本文提供的方法中施用的化合物1的量可例如在介于约5mg/天与约2,000mg/天之间的范围内。在一个实施方案中,所述范围是介于约10mg/天与约2,000mg/天之间。在一个实施方案中,所述范围是介于约20mg/天与约2,000mg/天之间。在一个实施方案中,所述范围是介于约50mg/天与约1,000mg/天之间。在一个实施方案中,所述范围是介于约100mg/天与约1,000mg/天之间。在一个实施方案中,所述范围是介于约150mg/天与约500mg/天之间。在一个实施方案中,所述范围是介于约150mg/天与约250mg/天之间。在某些实施方案中,具体剂量是例如约10mg/天。在一个实施方案中,所述剂量是约20mg/天。在一个实施方案中,所述剂量是约50mg/天。在一个实施方案中,所述剂量是约75mg/天。在一个实施方案中,所述剂量是约100mg/天。在一个实施方案中,所述剂量是约120mg/天。在一个实施方案中,所述剂量是约150mg/天。在一个实施方案中,所述剂量是约200mg/天。在一个实施

方案中,所述剂量是约250mg/天。在一个实施方案中,所述剂量是约300mg/天。在一个实施方案中,所述剂量是约350mg/天。在一个实施方案中,所述剂量是约400mg/天。在一个实施方案中,所述剂量是约450mg/天。在一个实施方案中,所述剂量是约500mg/天。在一个实施方案中,所述剂量是约600mg/天。在一个实施方案中,所述剂量是约700mg/天。在一个实施方案中,所述剂量是约800mg/天。在一个实施方案中,所述剂量是约900mg/天。在一个实施方案中,所述剂量是约1,000mg/天。在一个实施方案中,所述剂量是约1,200mg/天。在一个实施方案中,所述剂量是或约1,500mg/天。在某些实施方案中,具体剂量是例如达约10mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约20mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约50mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约75mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约100mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约120mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约150mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约200mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约250mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约300mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约350mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约400mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约450mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约500mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约600mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约700mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约800mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约900mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约1,000mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约1,200mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约1,500mg/天。

[0280] 在一个实施方案中,本文提供的药物组合物或剂型中化合物1的量可在例如介于约5mg与约2,000mg之间的范围内。在一个实施方案中,所述范围是介于约10mg与约2,000mg之间。在一个实施方案中,所述范围是介于约20mg与约2,000mg之间。在一个实施方案中,所述范围是介于约50mg与约1,000mg之间。在一个实施方案中,所述范围是介于约50mg与约500mg之间。在一个实施方案中,所述范围是介于约50mg与约250mg之间。在一个实施方案中,所述范围是介于约100mg与约500mg之间。在一个实施方案中,所述范围是介于约150mg与约500mg之间。在一个实施方案中,所述范围是介于约150mg与约250mg之间。在某些实施方案中,具体量是例如约10mg。在一个实施方案中,具体量是约20mg。在一个实施方案中,具体量是约50mg。在一个实施方案中,具体量是约75mg。在一个实施方案中,具体量是约100mg。在一个实施方案中,具体量是约120mg。在一个实施方案中,具体量是约150mg。在一个实施方案中,具体量是约200mg。在一个实施方案中,具体量是约250mg。在一个实施方案中,具体量是约300mg。在一个实施方案中,具体量是约350mg。在一个实施方案中,具体量是约400mg。在一个实施方案中,具体量是约450mg。在一个实施方案中,具体量是约500mg。在一个实施方案中,具体量是约600mg。在一个实施方案中,具体量是约700mg。在一个实施方案中,具体量是约800mg。在一个实施方案中,具体量是约900mg。在一个实施方案中,具体量是约1,000mg。在一个实施方案中,具体量是约1,200mg。在一个实施方案中,具体量是或约1,500mg。在某些实施方案中,具体量是例如达约10mg。在一个实施方案中,具体量是达约20mg。在一个实施方案中,具体量是达约50mg。在一个实施方案中,具体量是达约75mg。在一个实施方案中,具体量是达约100mg。在一个实施方案中,具体量是达约120mg。在一个实施方案中,具体量是达约150mg。在一个实施方案中,具体量是达约200mg。在一个实施方案中,具体量是达约250mg。在一个实施方案中,具体量是达约300mg。在一个实施方案中,具体量是达约350mg。在一个实施方案中,具体量是达约400mg。在一个实施方案中,具体量是达约450mg。在一个实施方案中,具体量是达约500mg。在一个实施方案中,具体量是达约600mg。在一个实施方案中,具体量是达约700mg。在一个实施方案中,具体量是达约800mg。在一个实施方案中,具体量是达约900mg。在一个实施方案中,具体量是达约1,000mg。在一个实施方案中,具体量是达约1,200mg。在一个实施方案中,具体量是达约1,500mg。

是达约350mg。在一个实施方案中,具体量是达约400mg。在一个实施方案中,具体量是达约450mg。在一个实施方案中,具体量是达约500mg。在一个实施方案中,具体量是达约600mg。在一个实施方案中,具体量是达约700mg。在一个实施方案中,具体量是达约800mg。在一个实施方案中,具体量是达约900mg。在一个实施方案中,具体量是达约1,000mg。在一个实施方案中,具体量是达约1,200mg。在一个实施方案中,具体量是达约1,500mg。

[0281] 在一个实施方案中,化合物1可作为单次剂量例如像单次推注注射或口服片剂或丸剂;或随时间推移,例如像随时间推移的连续输注或随时间推移的分次推注剂量递送。在一个实施方案中,如果需要,可重复施用化合物1,例如,直到患者经历稳定的疾病或消退,或直到患者经历疾病进展或不可接受的毒性。稳定的疾病或其缺乏通过本领域中已知的方法来确定,如评估患者的症状、体检、已使用X射线、CAT、PET或MRI扫描和其它普遍接受的评估模式成像的肿瘤的可视化来确定。

[0282] 在某些实施方案中,化合物1以周期(例如,每日一次施用持续一周,然后休息期,不给药达三周)施用至患者。循环疗法包括施用活性剂一段时间,然后休息一段时间,并重复这种依序施用。循环疗法可减少抗性的发展,避免或减少副作用,和/或改善治疗的功效。

[0283] 在一个实施方案中,本文提供的方法包括在1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40或大于40个周期中施用化合物1。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约1。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约2。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约3。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约4。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约5。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约6。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约7。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约8。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约9。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约10。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约11。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约12。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约13。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约14。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约15。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约16。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约17。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约18。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约19。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约20。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约21。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约22。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约23。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约24。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约25。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约26。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约27。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约28。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约29。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约30。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是大于约30个周期。

[0284] 在某些实施方案中,治疗周期包括在多天(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或大于14天)内向有需要的对象施用的多个剂量的化合物1,任选地随后是治疗给药假期(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28或大于28天)。

[0285] 在一个实施方案中,取决于待治疗的疾病和对象的病状,阿扎胞昔可通过口服、胃肠外(例如肌内、腹膜内、静脉内、CIV、脑池内注射或输注、皮下注射或植入)、吸入、经鼻、经阴道、经直肠、舌下或局部(例如透皮或局部)施用途径来施用。阿扎胞昔可单独或与化合物1和/或一种或多种活性剂一起以合适的剂量单位与适合于每种施用途径的药学上可接受的赋形剂、载体、佐剂和媒介物一起配制。

[0286] 在一个实施方案中,阿扎胞昔通过例如静脉内(IV)、皮下(SC)或口服途径施用。本文的某些实施方案提供阿扎胞昔与化合物1和/或一种或多种另外的活性剂的共同施用以在有需要的对象中提供协同治疗作用。如本文所述,共同施用的活性剂可以是癌症治疗剂。在某些实施方案中,共同施用的活性剂可以是IDH2的抑制剂。在某些实施方案中,共同施用的药剂可例如口服或通过注射(例如IV或SC)给药。

[0287] 在某些实施方案中,治疗周期包括在多天(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或大于14天)内向有需要的对象施用的多个剂量的阿扎胞昔,任选地随后是治疗给药假期(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28或大于28天)。用于本文提供的方法的合适剂量包括例如治疗有效量和预防有效量。例如,在某些实施方案中,在本文提供的方法中施用的阿扎胞昔的量可在例如介于约50mg/m²/天与约2,000mg/m²/天之间的范围内。在某些实施方案中,阿扎胞昔的量是介于约100mg/m²/天与约1,000mg/m²/天之间。在某些实施方案中,阿扎胞昔的量是介于约100mg/m²/天与约500mg/m²/天之间。在某些实施方案中,阿扎胞昔的量是介于约50mg/m²/天与约500mg/m²/天之间。在某些实施方案中,阿扎胞昔的量是介于约50mg/m²/天与约200mg/m²/天之间。在某些实施方案中,阿扎胞昔的量是介于约50mg/m²/天与约100mg/m²/天之间。在某些实施方案中,阿扎胞昔的量是介于约50mg/m²/天与约75mg/m²/天之间。在某些实施方案中,阿扎胞昔的量是介于约120mg/m²/天与约250mg/m²/天之间。在某些实施方案中,具体剂量是约50mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是约60mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是约75mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是约80mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是约100mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是约120mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是约140mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是约150mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是约180mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是约200mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是约220mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是约240mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是约250mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是约260mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是约280mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是约300mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是约320mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是约350mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是约380mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是约400mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是约450mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是约500mg/m²/天。在某些实施方案中,具体剂量是达约100mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约120mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约140mg/m²/天。在一个

实施方案中,具体剂量是达约150mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约180mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约200mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约220mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约240mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约250mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约260mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约280mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约300mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约320mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约350mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约380mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约400mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约450mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约500mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约750mg/m²/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约1000mg/m²/天。

[0288] 在一个实施方案中,在本文提供的方法中施用的阿扎胞苷的量可例如在介于约5mg/天与约2,000mg/天之间的范围内。在一个实施方案中,所述范围是介于约10mg/天与约2,000mg/天之间。在一个实施方案中,所述范围是介于约20mg/天与约2,000mg/天之间。在一个实施方案中,所述范围是介于约50mg/天与约1,000mg/天之间。在一个实施方案中,所述范围是介于约100mg/天与约1,000mg/天之间。在一个实施方案中,所述范围是介于约100mg/天与约500mg/天之间。在一个实施方案中,所述范围是介于约150mg/天与约500mg/天之间。在一个实施方案中,所述范围是介于约150mg/天与约250mg/天之间。在某些实施方案中,具体剂量是约10mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是约20mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是约50mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是约75mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是约100mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是约120mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是约150mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是约200mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是约250mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是约300mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是约350mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是约400mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是约450mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是约500mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是约600mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是约700mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是约800mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是约900mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是约1,000mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是约1,200mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是约1,500mg/天。在某些实施方案中,具体剂量是达约10mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约20mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约50mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约75mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约100mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约120mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约150mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约200mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约250mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约300mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约350mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约400mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约450mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约500mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约600mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约700mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约800mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约900mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约1,000mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约1,200mg/天。在一个实施方案中,具体剂量是达约1,500mg/天。

[0289] 在一个实施方案中,本文提供的药物组合物或剂型中阿扎胞昔的量可在例如介于约5mg与约2,000mg之间的范围内。在一个实施方案中,所述范围是介于约10mg与约2,000mg之间。在一个实施方案中,所述范围是介于约20mg与约2,000mg之间。在一个实施方案中,所述范围是介于约50mg与约1,000mg之间。在一个实施方案中,所述范围是介于约50mg与约500mg之间。在一个实施方案中,所述范围是介于约50mg与约250mg之间。在一个实施方案中,所述范围是介于约100mg与约500mg之间。在一个实施方案中,所述范围是介于约150mg与约500mg之间。在一个实施方案中,所述范围是介于约150mg与约250mg之间。在某些实施方案中,具体量是约10mg。在一个实施方案中,具体量是约20mg。在一个实施方案中,具体量是约50mg。在一个实施方案中,具体量是约75mg。在一个实施方案中,具体量是约100mg。在一个实施方案中,具体量是约120mg。在一个实施方案中,具体量是约150mg。在一个实施方案中,具体量是约200mg。在一个实施方案中,具体量是约250mg。在一个实施方案中,具体量是约300mg。在一个实施方案中,具体量是约350mg。在一个实施方案中,具体量是约400mg。在一个实施方案中,具体量是约450mg。在一个实施方案中,具体量是约500mg。在一个实施方案中,具体量是约600mg。在一个实施方案中,具体量是约700mg。在一个实施方案中,具体量是约800mg。在一个实施方案中,具体量是约900mg。在一个实施方案中,具体量是约1,000mg。在一个实施方案中,具体量是约1,200mg。在一个实施方案中,具体量是约1,500mg。在某些实施方案中,具体量是达约10mg。在一个实施方案中,具体量是达约20mg。在一个实施方案中,具体量是达约50mg。在一个实施方案中,具体量是达约75mg。在一个实施方案中,具体量是达约100mg。在一个实施方案中,具体量是达约120mg。在一个实施方案中,具体量是达约150mg。在一个实施方案中,具体量是达约200mg。在一个实施方案中,具体量是达约250mg。在一个实施方案中,具体量是达约300mg。在一个实施方案中,具体量是达约350mg。在一个实施方案中,具体量是达约400mg。在一个实施方案中,具体量是达约450mg。在一个实施方案中,具体量是达约500mg。在一个实施方案中,具体量是达约600mg。在一个实施方案中,具体量是达约700mg。在一个实施方案中,具体量是达约800mg。在一个实施方案中,具体量是达约900mg。在一个实施方案中,具体量是达约1,000mg。在一个实施方案中,具体量是达约1,200mg。在一个实施方案中,具体量是达约1,500mg。

[0290] 在一个实施方案中,阿扎胞昔可作为单次剂量例如像单次推注注射或口服片剂或丸剂;或随时间推移,例如像随时间推移的连续输注或随时间推移的分次推注剂量递送。在一个实施方案中,如果需要,可重复施用阿扎胞昔,例如,直到患者经历稳定的疾病或消退,或直到患者经历疾病进展或不可接受的毒性。稳定的疾病或其缺乏通过本领域中已知的方法来确定,如评估患者的症状、体检、已使用X射线、CAT、PET或MRI扫描和其它普遍接受的评估模式成像的肿瘤的可视化来确定。

[0291] 在一个实施方案中,阿扎胞昔可每日一次施用,或分成多个每日剂量,如每日两次、每日三次和每日四次施用。在一个实施方案中,施用可以是连续的(即每天一次连续几天或每天);间歇的,例如以周期方式(即,包括当不施用药物时的数天、数周或数月的休息)。在一个实施方案中,每日一次施用阿扎胞昔,例如每天一次或多于一次持续一段时间。在一个实施方案中,阿扎胞昔每日一次施用持续至少7天的不间断时期。在一些实施方案中,施用阿扎胞昔达52周。在一个实施方案中,间歇地施用阿扎胞昔,即以规则或不规则的间隔停止和开始。在一个实施方案中,阿扎胞昔每周施用一至六天。在一个实施方案中,阿

扎胞昔隔日地施用。在一个实施方案中,阿扎胞昔以周期(例如,每日一次或连续施用以休息期间断的特定时期)。在一个实施方案中,每日一次施用阿扎胞昔连续两周至八周,然后无给药的休息期达一周;或者例如每日一次施用一周,然后无给药的休息期达三周)。

[0292] 在一个实施方案中,施用频率在约每日一次至约每月一次的范围内。在一个实施方案中,阿扎胞昔每天一次施用。在另一个实施方案中,阿扎胞昔每天两次施用。在又一个实施方案中,阿扎胞昔每天三次施用。在又一个实施方案中,阿扎胞昔每天四次施用。在一个实施方案中,阿扎胞昔每隔一天施用一次。在一个实施方案中,阿扎胞昔每周两次施用。在一个实施方案中,阿扎胞昔每周一次施用。在一个实施方案中,阿扎胞昔每两周一次施用。在一个实施方案中,阿扎胞昔每三周一次施用。在一个实施方案中,阿扎胞昔每四周一次施用。

[0293] 在一个实施方案中,阿扎胞昔每天一次施用从一天至六个月。在一个实施方案中,阿扎胞昔施用一周至三个月。在一个实施方案中,阿扎胞昔施用一周至四周。在一个实施方案中,阿扎胞昔施用一周至三周。在一个实施方案中,阿扎胞昔施用一周至两周。在一个实施方案中,阿扎胞昔每天一次施用持续约一周。在一个实施方案中,阿扎胞昔每天一次施用持续约两周。在一个实施方案中,阿扎胞昔每天一次施用持续约三周。在一个实施方案中,阿扎胞昔每天一次施用持续约四周。在一个实施方案中,阿扎胞昔每天一次施用持续约6周。在一个实施方案中,阿扎胞昔每天一次施用持续约9周。在一个实施方案中,阿扎胞昔每天一次施用持续约12周。在一个实施方案中,阿扎胞昔每天一次施用持续约15周。在一个实施方案中,阿扎胞昔每天一次施用持续约18周。在一个实施方案中,阿扎胞昔每天一次施用持续约21周。在一个实施方案中,阿扎胞昔每天一次施用持续约26周。在某些实施方案中,间歇地施用阿扎胞昔。在某些实施方案中,阿扎胞昔以介于约50mg/m²/天与约2,000mg/m²/天之间的量间歇地施用。在某些实施方案中,连续地施用阿扎胞昔。在某些实施方案中,阿扎胞昔以介于约50mg/m²/天与约1,000mg/m²/天之间的量连续地施用。

[0294] 在某些实施方案中,阿扎胞昔以周期(例如,每日一次施用持续一周,然后休息期,不给药达三周)施用至患者。循环疗法包括施用活性剂一段时间,然后休息一段时间,并重复这种依序施用。循环疗法可减少抗性的发展,避免或减少副作用,和/或改善治疗的功效。

[0295] 在一个实施方案中,本文提供的方法包括在1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40或大于40个周期中施用阿扎胞昔。在一个实施方案中,在一组患者中施用的中值周期数目是约1。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约2。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约3。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约4。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约5。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约6。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约7。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约8。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约9。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约10。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约11。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约12。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约13。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约14。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约15。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约16。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约17。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约18。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约19。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约

20.在一个实施方案中,所述中值周期数目是约21。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约22。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约23。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约24。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约25。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约26。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约27。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约28。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约29。在一个实施方案中,所述中值周期数目是约30。在一个实施方案中,所述中值周期数目是大于约30个周期。

[0296] 在一个实施方案中,阿扎胞昔在28天的周期内以本文提供的剂量施用至患者,所述周期由7天治疗期和21天休息期组成。在一个实施方案中,阿扎胞昔在第1天至第7天每天以本文提供的剂量施用至患者,接着是第8天至第28天的休息期,不施用阿扎胞昔。在一个实施方案中,阿扎胞昔以周期方式施用至患者,每个周期由7天治疗期和随后的21天休息期组成。在具体实施方案中,阿扎胞昔以约50、约60、约70、约75、约80、约90或约100mg/m²/天的剂量施用至患者持续7天,接着是21天的休息期。在一个实施方案中,阿扎胞昔通过静脉内施用。在一个实施方案中,阿扎胞昔通过皮下施用。

[0297] 在其它实施方案中,阿扎胞昔在周期中口服施用。在一个实施方案中,阿扎胞昔以单剂量或分次剂量每日一次施用持续约一周。在一个实施方案中,阿扎胞昔每日一次施用持续约两周。在一个实施方案中,阿扎胞昔每日一次施用持续约三周。在一个实施方案中,阿扎胞昔每日一次施用持续约四周。在一个实施方案中,阿扎胞昔每日一次施用持续约五周。在一个实施方案中,阿扎胞昔每日一次施用持续约六周。在一个实施方案中,阿扎胞昔每日一次施用持续约八周。在一个实施方案中,阿扎胞昔每日一次施用持续约十周。在一个实施方案中,阿扎胞昔每日一次施用持续约十五周。在一个实施方案中,阿扎胞昔每日一次施用持续约二十周。施用之后是约1天至约10周的休息期。在一个实施方案中,本文提供的方法考虑约一周的周期治疗。在一个实施方案中,本文提供的方法考虑约两周的周期治疗。在一个实施方案中,本文提供的方法考虑约三周的周期治疗。在一个实施方案中,本文提供的方法考虑约四周的周期治疗。在一个实施方案中,本文提供的方法考虑约五周的周期治疗。在一个实施方案中,本文提供的方法考虑约六周的周期治疗。在一个实施方案中,本文提供的方法考虑约八周的周期治疗。在一个实施方案中,本文提供的方法考虑约十周的周期治疗。在一个实施方案中,本文提供的方法考虑约十五周的周期治疗。在一个实施方案中,本文提供的方法考虑约二十周的周期治疗。在一些实施方案中,阿扎胞昔以单剂量或分次剂量每日一次施用持续约一周。在一个实施方案中,阿扎胞昔每日一次施用持续约两周。在一个实施方案中,阿扎胞昔每日一次施用持续约三周。在一个实施方案中,阿扎胞昔每日一次施用持续约四周。在一个实施方案中,阿扎胞昔每日一次施用持续约五周。在一个实施方案中,阿扎胞昔每日一次施用持续约六周。在一个实施方案中,休息期是约1、3、5、7、9、12、14、16、18、20、22、24、26、28、29或30天。在一些实施方案中,休息期是1天。在一些实施方案中,休息期是3天。在一些实施方案中,休息期是7天。在一些实施方案中,休息期是14天。在一些实施方案中,休息期是28天。给药周期的频率、数目和长度可增加或减少。

[0298] 在一个实施方案中,化合物1每天一次口服施用。在一个实施方案中,化合物1在每个28天周期的第1-28天施用。在一个实施方案中,每天一次口服施用50mg的化合物1。在另一个实施方案中,每天一次口服施用100mg的化合物1。在另一个实施方案中,每天一次口服施用200mg的化合物1。在一个实施方案中,阿扎胞昔皮下施用7天。在一个实施方案中,阿扎

胞昔在每个28天周期的第1-7天施用。在一个实施方案中,75mg/m²/天的阿扎胞昔在每个28天周期的第1-7天施用。

实施例

[0299] 实施例1.化合物1与阿扎胞昔的组合对AML细胞中EPO分化的影响

[0300] 细胞系

[0301] 在过量表达IDH2/R140Q等位基因的工程化TF-1红白血病细胞或空载体对照TF-1/pLVX中评价细胞分化、生长和死亡的量度(Wang等人,Science 340:622-626,2013)。将细胞在含有HEPES和L-谷氨酰胺(Lonza 12-115F)、10%FBS(HyClone SH30088.03)、Pen/Strep(Life Technologies 15070-063)、G418:最终浓度500μg/ml(Life Technologies 10131-027);GM-CSF:最终浓度5ng/ml(R&D 215-GM-050)的RPMI中生长。仅使用新生长的细胞。在每次细胞传代时将G418和GM-CSF新鲜添加至培养基。通过使细胞成团并重新悬浮在新鲜培养基中或通过向10ml新鲜培养基加入2ml细胞来每2-3天更换培养基。当用化合物处理细胞时,通过使细胞成团来改变培养基以确保化合物的适当浓度。

[0302] 化合物溶液的制备

[0303] 化合物1以DMSO中的10mM储备溶液获得。将所述储备液等分为20μl批次并储存在-20℃下。将运行储备液解冻并在室温下在黑暗中保存以用于正在进行的实验。

[0304] 在4℃下将阿扎胞昔保持在干燥器中。将所需量称量在Mettler覆盖的称重天平中并在不含RNA酶和DNA酶的水中复溶以获得10mM运行储备液。将溶液等分为30μl批次并储存在-20℃下。每六个月制备新鲜储备液。每次实验解冻10mM阿扎胞昔小瓶并在使用后丢弃。

[0305] 通过在990μl培养基中加入10μl的10mM储备液来制备每种化合物的100μl储备液。从这种100X储备液中,将所需体积添加至细胞以达到给定所需最终浓度。

[0306] 测定

[0307] 促红细胞生成素(EPO)分化测定

[0308] 将F1/pLVX和TF1 IDH2/R140Q细胞(100,000个细胞/ml)用化合物1、阿扎胞昔或其组合预处理7天(每2天更换培养基)并用PBS洗涤以除去残留的GM-CSF。在存在或不存在化合物1的情况下使用EPO(2单位/ml)诱导细胞分化。继续诱导7天,并且收集细胞团块并针对血红蛋白化内含物(作为分化成血细胞谱系的替代物)成像。

[0309] HBG和KLF1 qPCR

[0310] 通过RNA easy试剂盒(从Qiagen获得)从细胞分离RNA。使用500ng的RNA来制备进行实时qPCR以检测胎儿血红蛋白(HBG)和KLF-1基因表达的cDNA。RNA easy试剂盒获自Qiagen。cDNA由Superscript VIL0试剂盒(Life technologies)制备。Taqman探针获自Applied Biosciences。

[0311] 造血干细胞和母细胞含量测定(CD34、CD38、FACS)

[0312] 将细胞在10xBSA中封闭并用MACS冲洗溶液稀释至1x浓度持续15分钟(染色缓冲液, BD Biosciences)。通过旋转除去上清液。加入10μl的抗CD34FITC和抗CD38APC抗体(各自在染色缓冲液中)。使用小鼠IgG2a FITC和IgG2a APC作为同种型对照。将细胞在黑暗中染色10分钟,将溶液旋转以除去上清液,将细胞重新悬浮于300μl染色缓冲液中并进行荧光活化细胞分选(FACS)。

[0313] 结果

[0314] 增强的EP0诱导的分化

[0315] 使用体外EP0分化测定和图1中所示的剂量-时间表范式评价TF1-R140Q细胞中的细胞分化、生长和死亡的量度。将细胞用媒介物、单独阿扎胞苷、单独化合物1或阿扎胞苷与化合物1的组合进行处理。在依序时间表中,在添加化合物1之前,将细胞用阿扎胞苷预处理三天。在同时时间表中,在整个测定中将细胞用阿扎胞苷和化合物1共同处理。

[0316] 两种时间表均展示关于血红蛋白化、KLF1 (Kruppel样因子1) 和HBG (血红蛋白基因A/B) RNA水平(图2)的分化终点的类似趋势。在依序时间表情况下,单独化合物1以剂量依赖性方式增加血红蛋白产生,如通过在0.2 μ M和1.0 μ M浓度情况下细胞团块的红色增加所证明。单独阿扎胞苷对细胞团块颜色几乎没有影响;然而,使用阿扎胞苷与化合物1的组合,着色/血红蛋白化显著大于单独使用化合物1(图2Ai)。

[0317] 使用两种单一药剂观察到分化标志物KLF1和HBG的RNA表达的剂量依赖性增加。阿扎胞苷和化合物1的依序组合导致那些参数的相加或大于相加的增加(图2Aii、iii)。例如,作为单一药剂的化合物1(0.2 μ M)和阿扎胞苷(0.3 μ M)分别显示HBG基因表达的241倍和92倍增加(图2A,iii),而阿扎胞苷(0.3 μ M)与化合物1(0.2 μ M)的组合产生530倍增加,这比单一药剂的组合倍数增加高159%(图2A,iii)。阿扎胞苷和化合物1的依序组合也减少了EP0诱导的分化的总时间,如通过更快的血红蛋白化所证明。尽管需要7天来观察在化合物1作为单一药剂情况下细胞的红色增加,在药剂组合情况下血红素产生的这种增加到EP0后第4天视觉上明显(图7)。

[0318] 在同时给药方案情况下观察到关于血红蛋白化(图2Bi)、KLF1表达(图2Bii)和HBG表达(图2Biii)的类似结果。单独化合物1(0.2和1 μ M)以剂量依赖性方式增加EP0分化后的血红蛋白产生。单独阿扎胞苷也在0.1和0.3 μ M浓度下增加血红蛋白产生,但是细胞死亡在1 μ M下发生,如通过细胞团块大小减小所证明。阿扎胞苷和化合物1的组合作用产生比单一药剂情况下显著更高的着色/血红蛋白化(图2Bi)。

[0319] 在阿扎胞苷和化合物1作为单一药剂情况下观察到分化标志物KLF1和HBG的RNA表达的剂量依赖性增加,并且阿扎胞苷与化合物1的同时组合产生RNA表达的相加或大于相加的增加(图2Bii、iii)。例如,作为单一药剂的化合物1(0.2 μ M)和阿扎胞苷(1 μ M)分别显示HBG基因表达的2.5倍和7.1倍增加(图2Biii),而阿扎胞苷(1 μ M)与化合物1(0.2 μ M)的组合产生11.3倍增加,这比单一药剂的组合倍数增加高121%(图2Biii)。

[0320] 造血祖细胞和干细胞的耗竭增强

[0321] 在EP0分化测定结束时对造血干细胞(CD34+/CD38-)和祖细胞(CD34+/CD38+)细胞群体进行定量(图3和8)。作为单一药剂,阿扎胞苷和化合物1两者均减少CD34+/CD38+(图3i)和CD34+/CD38-(图3ii)细胞群体。阿扎胞苷与化合物1的组合产生相加或大于相加的减少。例如,在依序处理情况下作为单一药剂的化合物1(0.2 μ M)和阿扎胞苷(0.1 μ M)分别使造血祖细胞(CD34+/CD38+)减少32%和7%,而阿扎胞苷(0.1 μ M)与化合物1(0.2 μ M)的组合使造血祖细胞群体减少64%(图3i)。

[0322] 在依序或同时处理方案情况下作为单一药剂的化合物1(0.2 μ M)和阿扎胞苷(0.1 μ M)对造血干细胞群体没有影响(<10%减少)(图3ii),然而,在依序和同时方案两者中,它们呈相同浓度的组合使造血干细胞群体减少20%(图3ii)。

[0323] 这些数据证明化合物1与阿扎胞昔的组合对耗竭TF1-R140Q细胞的白血病干细胞和祖细胞群体的大于相加效应。

[0324] 增强的细胞死亡

[0325] 在EP0分化测定结束时经由膜联蛋白V/7-AAD流式细胞术分析细胞死亡(图4和图9)。在依序剂量-时间表方案中,用单一药剂没有诱导(<2倍)死亡(膜联蛋白V+和/或7AAD+)。在同时剂量-时间表方案中,作为单一药剂的阿扎胞昔和化合物1分别使膜联蛋白V+和/或7AAD+细胞的百分比增加3.4倍和3.5倍(跨剂量浓度的平均值)。使用依序或同时处理方案在药剂组合情况下没有细胞死亡的增强。

[0326] 使用IncuCyte Zoom进行实时死亡分析(图5和图6)。在浓度1-10 μ M下,化合物1对细胞生长没有影响,而阿扎胞昔(1 μ M)降低生长并增加细胞凋亡(图5i相对于图5iii;图5ii相对于图5iv)。用两种药剂依序处理不会进一步减少生长或增加细胞凋亡超过单独使用阿扎胞昔观察到的情况(图5iii,5iv)。

[0327] 阿扎胞昔(0.3 μ M)与化合物1(1 μ M)的同时组合不影响细胞生长(图6i),但增加细胞杀伤(在104小时增加77%)超过单一药剂的情况(图6ii)。考虑到在这些浓度下在单一药剂情况下死亡诱导的缺乏,在药剂组合情况下的死亡增加是值得注意的。与单一药剂相比,阿扎胞昔(1 μ M)与化合物1(1 μ M)的组合减少生长(在104小时减少32%)(图6iii)并增加细胞凋亡(在104小时增加95%)(图6iii,6iv)。总之,作为单一药剂的化合物1对半胱天冬酶3/7死亡量度没有影响,然而所述组合的同时剂量-时间表方案增强阿扎胞昔的单一药剂作用。

[0328] 这些结果一起表明用于组合AZA和化合物1以有益于IDH2-突变型AML患者且更具体地IDH2^{R140Q}-突变型AML患者的新型组合范式。基于这种机制,所述组合可转化至其它IDH2^{R140Q}-突变型癌症。

[0329] 实施例2. 异柠檬酸脱氢酶(IDH)突变体靶向疗法加阿扎胞昔的2种组合的1b期/2期开放标签随机化研究:在患有新诊断的急性骨髓性白血病的分别携带IDH1或IDH2突变的患者中口服化合物2加皮下阿扎胞昔和口服化合物1加皮下阿扎胞昔,所述患者不是接受强化诱导化学疗法的候选者

[0330] 适应症:患有新诊断的急性骨髓性白血病(AML)的携带IDH1和IDH2突变的18岁和更大的患者的治疗,所述患者不是接受强化诱导化学疗法(IC)的候选者。

[0331] 主要目标-1b期(剂量递增阶段)

[0332] 主要目标

[0333] 为了评估口服(S)-N-((S)-1-(2-氯苯基)-2-((3,3-二氟环丁基)氨基)-2-氧代乙基)-1-(4-氟基吡啶-2-基)-N-(5-氟吡啶-3-基)-5-氧代吡咯烷-2-甲酰胺(下文化合物2)加皮下(SC)阿扎胞昔以及口服化合物1加皮下阿扎胞昔的组合治疗在患有新诊断的AML的分别携带IDH1或IDH2突变的对象中的安全性和耐受性,所述对象不是接受强化IC的候选者。

[0334] 为了确立当与皮下阿扎胞昔一起施用时口服化合物2和口服化合物1的推荐的2期剂量(RP2D)。

[0335] 次要目标

[0336] 为了评估口服化合物2加皮下阿扎胞昔以及口服化合物1加皮下阿扎胞昔的组合

治疗在患有新诊断的AML的分别携带IDH1或IDH2突变的对象中的初步功效,所述对象不是接受强化IC的候选者。

[0337] 2期(随机化阶段)

[0338] 主要目标

[0339] 为了评估口服化合物2加皮下阿扎胞昔以及口服化合物1+皮下阿扎胞昔的组合治疗相对于皮下阿扎胞昔在患有新诊断的AML的分别携带IDH1或IDH2突变的对象中的功效,所述对象不是接受强化IC的候选者。

[0340] 次要目标

[0341] 为了评价当与皮下阿扎胞昔一起施用时口服化合物2和口服化合物1的安全性。

[0342] 为了表征当组合施用时口服化合物2、化合物1和皮下阿扎胞昔的药物代谢动力学(PK)。

[0343] 为了评价当与皮下阿扎胞昔一起施用时口服化合物2和口服化合物1在抑制骨髓和血浆样品中的2-羟基戊二酸盐(2-HG)水平情况下的PK和PD关系。

[0344] 为了评价当与皮下阿扎胞昔一起施用时口服化合物2和口服化合物1相对于单独皮下阿扎胞昔对健康相关的生活质量(HRQoL)结果的影响。

[0345] 研究设计

[0346] 此1b期/2期研究是用于评价口服化合物2+皮下阿扎胞昔以及口服化合物1+皮下阿扎胞昔在患有新诊断的AML的携带IDH1或IDH2突变的对象中的安全性和功效的开放标签随机化多中心试验。研究群体由不为接受强化IC的候选者的对象组成。所述研究包括1b期剂量递增阶段和2期随机化阶段。

[0347] 1b期剂量探索阶段

[0348] 1b期阶段是用于评价口服化合物2和口服化合物1与皮下阿扎胞昔的组合的安全性和耐受性的开放标签剂量探索研究以确定当与皮下阿扎胞昔组合施用时这两种药剂的RP2D。还将评估口服化合物2+皮下阿扎胞昔以及口服化合物1+皮下阿扎胞昔方案的初步临床活性。

[0349] 1b期阶段由3个时期组成:1)筛选;2)治疗;以及3)随访。

[0350] 对象筛选程序将在研究治疗开始之前的28天内的筛选期期间发生。具有IDH突变的AML的诊断将基于骨髓抽吸物和/或外周血液样品的血液病理学和IDH基因突变测试两者的本地审查。基于研究者的判断,由于共病、行为状态下降或其它因素的存在,符合入选条件的对象必须不是接受强化IC的对象。患有新诊断的AML的携带IDH1突变的对象将被分配至口服化合物2+皮下阿扎胞昔组,并且患有新诊断的AML的携带IDH2突变的对象分配至口服化合物1+皮下阿扎胞昔组。在对象被诊断患有与双重IDH1和IDH2突变相关的AML的罕见病例中,分配至口服化合物2或化合物1治疗组将基于联合研究者和医学监查员决定并记录在来源中。

[0351] 在治疗期期间将使用标准3+3设计。由医学监查员、主任安全医师、生物统计学家、其它功能领域代表或指定人员(在适当情况下)以及所有活动现场研究者和/或指定人员(在对象接受研究药物的地点)组成的剂量审查小组(Dose Review Team, DRT)将审查每个剂量水平的周期1期间对象所经历的所有不良事件(AE),以确定当与皮下阿扎胞昔组合施用时口服化合物2或化合物1的最大耐受剂量(MTD)是否已经超过。计划评价口服化合物2的

一种剂量水平(每日一次500mg)和口服化合物1的2种剂量水平(每日一次100mg和每日一次200mg)。如果发现这些剂量与皮下阿扎胞昔的组合在周期1期间超过MTD,则将评价口服化合物2的低于每日一次500mg的剂量水平和口服化合物1的低于每日一次100mg的剂量水平。剂量中断/延迟和剂量减少可用于管理毒性。对象可接受研究治疗直到疾病进展/复发,研究治疗变得不可耐受,或者对象出于任何原因希望停止研究治疗。对治疗的响应将由研究者根据修订的国际工作组(IWG) AML响应标准(Cheson等人,J Clin Oncol 2003;21(24):4642-9)进行评估。血液学改善(HI)将根据IWG骨髓增生异常综合征HI标准(Cheson等人,Blood 2006;108(2):419-25)进行评估。当研究治疗停止时,对象将接受治疗结束评价。停止治疗的原因将记录在电子病例报告表(eCRF)页和原始文件中。

[0352] 出于除了撤回对随访的同意以外的任何原因而停止研究治疗的所有对象将继续针对AE、伴随药物、伴随程序、输血、医疗资源利用、响应、血液学改善、随后的AML疗法和存活进行评估。

[0353] 出于除了撤回对随访的同意或疾病进展以外的任何原因而停止研究治疗的所有对象将继续在研究的随访期期间针对响应进行评估直到疾病进展。

[0354] 出于除了撤回对随访的同意以外的任何原因而停止研究治疗的所有对象将继续针对随后的AML疗法和存活进行评估。

[0355] 所述研究将根据国际协调会议(International Conference on Harmonization, ICH)良好临床实践(Good Clinical Practices,GCP)准则进行。

[0356] 2期随机化阶段

[0357] 2期阶段是用于评价口服化合物2和口服化合物1与皮下阿扎胞昔的组合相对于单独皮下阿扎胞昔的功效的开放标签随机化研究,以便评估总体响应率(ORR)、无事件存活期(EFS)和形态学完全缓解(CR)。

[0358] 2期阶段也将由3个时期组成:1)筛选;2)治疗;以及3)随访。

[0359] 与1b期一样,对象筛选程序将在开始研究治疗之前28天内的筛选期期间发生,但AML的诊断将在本地进行以供招募并基于随后的中心复查进行确认。将使用骨髓抽吸物和/或外周血液两者的样品集中评估IDH突变。基于研究者的判断,由于共病、行为状态下降或其它因素的存在,符合招募资格的对象是不为接受强化IC的候选者的那些对象。

[0360] 在审查资格之后,患有新诊断的AML的携带IDH1或IDH2突变的对象将以2:1的比率随机化至3组中的1组中。具有IDH1突变的对象将以2:1的比率随机化以接受口服化合物2+皮下阿扎胞昔(第1组)相对于皮下阿扎胞昔(第3组);并且具有IDH2突变的对象将以2:1的比率随机化以接受口服化合物1+皮下阿扎胞昔(第2组)相对于皮下阿扎胞昔(第3组)。第1组和第2组将随机分配至少50名对象,并且第3组将随机分配至少25名IDH1和25名IDH2(第3组中共50名对象)(所有组中共150名对象)。在对象被诊断患有与双重IDH1和IDH2突变相关的AML的罕见病例中,随机化至口服化合物2或化合物1治疗组将基于研究者和医学监查员决定。

[0361] 对象将通过细胞遗传学进行分层(较好或中等相对于较差的细胞遗传学风险)。

[0362] 研究治疗将在随机化当天开始。研究治疗期间的评估包括功效、安全性、HRQoL、医疗资源利用、药物代谢动力学、药效动力学以及相关研究。

[0363] 在研究期间收集的所有骨髓抽吸物和/或活检组织、外周血涂片以及细胞遗传学

的回顾性中心复查将由对对象治疗不知情的人员进行。中心评估将用于统计分析中。中心评估与本地评估之间的分歧将由第三方审阅者进行裁决，并且裁决的评估将用于统计分析。

[0364] 对治疗的响应和HI将分别根据修订的IWG AML响应标准 (Cheson, J Clin Oncol 2003;21 (24) :4642-9) 和IWG骨髓增生异常综合征HI标准 (Cheson等人, Blood 2006;108 (2) :419-25) 由研究者评估和由不知情独立响应评估委员会 (Independent Response Assessment Committee, IRAC) 进行回顾性评估。

[0365] 给药中断、给药延迟或剂量修改可发生以用于管理研究治疗期间的毒性和/或增加治疗响应。

[0366] 允许对所述研究的组合组中的对象停止化合物2、化合物1或阿扎胞苷。如果在研究者的评估中对象继续显示临床益处并且符合用于持续研究治疗的所有方案指定标准，则对象可继续用单一药剂化合物2、化合物1或阿扎胞苷治疗。如果对象患有进行性疾病或接受替代疗法，则研究治疗将停止。

[0367] 使对象停止的决定(其将不被发起人延迟或拒绝)仍然是治疗医生的责任。但是，在使对象停止之前，建议研究者联系医学监查员并发送适当的支持文件以供审查和讨论。

[0368] 当停止研究治疗时，已经接受至少一个剂量的研究治疗的所有对象应进行治疗结束(EOT) 评价。停止的原因将记录在电子病例报告表(eCRF) 页和原始文件中。

[0369] 出于除了撤回对随访的同意以外的任何原因而停止研究治疗的所有对象将继续针对AE、伴随药物、伴随程序、输血、医疗资源利用、响应、血液学改善、随后的AML疗法和存活进行评估。

[0370] 出于除了撤回对随访的同意或疾病进展以外的任何原因而停止研究治疗的所有对象将继续在研究的随访期期间针对响应进行评估直到疾病进展。

[0371] 出于除了撤回对随访的同意以外的任何原因而停止研究治疗的所有对象将继续针对随后的AML疗法和存活进行评估。

[0372] 所述研究将根据国际协调会议 (ICH) 良好临床实践 (GCP) 进行。

[0373] 研究的长度

[0374] 预计所述研究的全部长度是大约60个月，包括1b期和2期的招收、筛选、治疗和随访。招收预计对于1b期来说需要7个月，且对于2期来说需要17个月。对于单个对象，研究的1b期阶段的预期持续时间是大约13个月，包括筛选期达28天，并且所述研究的2期阶段的预计持续时间是大约25个月，包括筛选期达28天。

[0375] 试验结束被定义为最后一名对象完成治疗后随访的最后一次访问的日期，或用于主要、次要和/或探索性分析所需的来自最后一名对象的最后一个数据点的接收日期，如在方案中预先规定，以较晚的日期为准。

[0376] 试验将继续进行，直到完整统计能力的所需量的EFS事件发生。

[0377] 研究治疗

[0378] 在每个28天周期的第1-28天每天一次 (QD) 口服施用化合物2和化合物1。应指导对象在大约每天同一时间±4小时服用他们的每日剂量。每一剂量应用一杯水服用，且尽可能短的时间内服用。应指导对象吞服整个片剂并且不咀嚼片剂。在化合物2或化合物1施用之前2小时和之后1小时需要禁食。在禁食期间允许饮水。

[0379] 在1b期和2期两者期间,将在第1天开始皮下施用阿扎胞昔持续每个28天治疗周期的7天。在2期阶段期间,随机化至单独阿扎胞昔组的对象将接受皮下阿扎胞昔 $75\text{mg}/\text{m}^2/\text{天}$ 持续每个28天周期的7天。除非停止治疗,否则所有随机化对象将接受每28天皮下阿扎胞昔 $75\text{mg}/\text{m}^2/\text{天}$ 持续7天,直到研究结束。此外,对象可根据需要接受最佳支持性医护,包括抗生素和输血,由研究者酌情决定。如果在7天给药期间错过2个剂量或更少剂量,则应继续给药,以使对象接受完整7天疗法。如果在7天给药期内错过3天或更多天,研究者应联系发起人,并根据个别案例决定做出关于给药的决定。

[0380] 1b期:

[0381] 1b期将使用3+3设计。对于化合物2,将探索一种剂量水平,从而招募3名对象。从每个周期的第1天开始,组群1将以口服化合物2 500mg每天一次和皮下阿扎胞昔 $75\text{mg}/\text{m}^2/\text{天}$ 开始持续每个28天周期的7天。如果组群1中2名或更多对象在组群1中具有剂量限制性毒性(DLT),则组群1将以250mg每天一次以及皮下阿扎胞昔 $75\text{mg}/\text{m}^2/\text{天}$ 持续每个28天周期的7天进行探索。

[0382] 对于化合物1,将探索两种剂量水平。从每个周期的第1天开始,组群1将以口服化合物1 100mg每天一次和皮下阿扎胞昔 $75\text{mg}/\text{m}^2/\text{天}$ 开始持续每个28天周期的7天。如果未观察到DLT,RP2D将由DRT确认,并且100mg剂量将被用作研究的2期阶段的起始剂量。从每个周期的第1天开始,组群2的剂量递增也将以口服化合物1 200mg每天一次和皮下阿扎胞昔 $75\text{mg}/\text{m}^2/\text{天}$ 开始持续每个28天周期的7天以探索在此剂量水平下所述组合的耐受性。如果组群1中2名或更多对象具有DLT,则将探索在每个周期的第1天开始,使用每日一次口服化合物1 50mg和皮下阿扎胞昔 $75\text{mg}/\text{m}^2/\text{天}$ 持续每个28天周期的7天的组群1。

[0383] DRT将评价在1个周期后每名对象的所有毒性,并确定各个对象是否需要进一步的剂量修改。

[0384] 2期:

[0385] 化合物2组合组:

[0386] 具有IDH1突变的对象将在每个28天周期的第1-28天接受RP2D口服QD的化合物2+皮下阿扎胞昔 $75\text{mg}/\text{m}^2/\text{天}$ 持续每个28天周期的7天。

[0387] 化合物1组合组:

[0388] 具有IDH2突变的对象将在每个28天周期的第1-28天接受RP2D口服QD的化合物1+皮下阿扎胞昔 $75\text{mg}/\text{m}^2/\text{天}$ 持续每个28天周期的7天。

[0389] 阿扎胞昔单独组:

[0390] 具有IDH1或IDH2突变的对象将接受皮下阿扎胞昔 $75\text{mg}/\text{m}^2/\text{天}$ 持续每个28天周期的7天。

[0391] 关键功效评估的概述

[0392] 功效

[0393] 系列血液和骨髓采样将用于确定从周期2开始对疗法的响应。将在1b期过程中本地评估响应。在2期过程中,将基于报告的血液学实验室参数、外周血涂片、骨髓抽吸物和/或活检组织以及细胞遗传学,根据修订的IWG标准本地评估并集中确认响应。

[0394] 在复发或进展之前停止研究治疗的对象将完成每月一次实地访视直到确认复发或进展。对于由于复发或进展而停止研究治疗的对象,可通过实地访视或电话进行每月一

次随访。将对对象进行随访,直到他们死亡、失访、取消对进一步数据收集的同意,或直到研究结束。

[0395] 其它关键评估的概述

[0396] 安全性

[0397] 安全性评估包括不良事件、体检、东部肿瘤协作组 (ECOG) 行为状态、生命体征、超声心动图 (ECHO) 或多门控采集 (MUGA) 扫描、心电图 (ECG)、心脏标志物、尿液分析、凝血、血液学、血清化学、输血、怀孕测试 (仅用于具有生育潜力的女性 (FCBP)) 以及伴随药物或程序。

[0398] 化合物2和化合物1的血浆PK/PD

[0399] 化合物2/化合物1与阿扎胞昔组合的PK曲线将通过化合物2/化合物1与阿扎胞昔组合在2期阶段中的血浆浓度和PK参数进行评价。将随时间推移关于化合物2或化合物1的血浆浓度评价2-HG的血浆浓度。

[0400] 研究产品问责制

[0401] 口服化合物2和化合物1在每个治疗周期的第1天分配,并在每个治疗周期完成后进行说明。

[0402] 阿扎胞昔将由研究现场人员皮下施用。所有IP(包括准备和给药)的准确记录将在对象的CRF和原始文件的适当部分进行。

[0403] 统计方法

[0404] 1b期:

[0405] 1b期中的统计分析本质上将主要是描述性的。将针对处置、人口统计学和基线疾病特征、安全性、PK、PD和临床活性参数产生制表。分类数据将通过频率分布(对象的数量和百分比)进行汇总,并且连续数据将通过描述性统计(平均值、标准偏差、中值、最小值和最大值)进行汇总。数据将通过剂量水平进行总结,并在适当时候进行总体总结。

[0406] 2期:

[0407] 根据修订的IWG AML响应标准,2期中的总体响应率 (ORR) 的主要功效终点包括对CR、CR_p、无形态学白血病状态 [MLFS]、CR_i 和 PR 的响应。ORR 中的治疗差异将在ITT群体中使用Fisher精确检验进行测试。此测试将提供关键p值以用于分别比较口服化合物2+皮下阿扎胞昔相对于合并的阿扎胞昔单一疗法组(其包括具有IDH1或IDH2突变的对象并且被随机化至阿扎胞昔单一疗法)的ORR和口服化合物1+皮下阿扎胞昔相对于合并的阿扎胞昔单一疗法组的ORR。

[0408] 最多150名对象将在此研究中随机化,其中50名IDH1对象在口服化合物2+皮下阿扎胞昔组中,50名IDH2对象在口服化合物1+皮下阿扎胞昔组中,并且组合的50名IDH1或IDH2对象在阿扎胞昔单一治疗组(合并的阿扎胞昔单一疗法)。比较将分别针对口服化合物2+皮下阿扎胞昔相对于合并的阿扎胞昔单一疗法和化合物1+阿扎胞昔相对于合并的阿扎胞昔单一疗法进行。

[0409] 纳入标准

[0410] 对象必须满足以下标准来招募于研究中:

[0411] 在签署知情同意书 (ICF) 时,对象 ≥ 18 岁。

[0412] 在进行任何研究相关的评估/程序之前,对象必须理解并自愿签署ICF。

[0413] 对象愿意且能够遵守研究访问时间表和其它方案要求。

[0414] 根据WHO分类,对象先前患有未经治疗的AML原发性(即从头)或继发性(MDS或骨髓组织增生性赘生物([MPN]的进展或治疗相关的)AML,其中骨髓中具有≥20%的白血病母细胞:具有IDH1或IDH2基因突变(R132、R140或R172);经验证的本地测试可用于确认1期的资格,但必须执行中心测试以确认2期的资格;根据研究者的评估,不是接受强化IC的候选者。

[0415] 对象具有0、1或2的东部肿瘤协作组(ECOG)行为状态。

[0416] 对象具有足够的器官功能,定义为:除非认为是由于白血病器官受累,否则血清天冬氨酸转氨酶/血清谷氨酸草酰乙酸转氨酶(AST/SGOT)和丙氨酸转氨酶(ALT/SGPT)≤3xULN;血清总胆红素<1.5xULN。如果这些可归因于无效红细胞生成、吉尔伯特综合征(Gilbert's syndrome)(例如,UGT1A1中的基因突变)或白血病器官受累,则可接受更高水平;基于Cockroft-Gault肾小球滤过率(GFR)估计,血清肌酸酐<2xULN或肌酐清除率>30mL/min:(140-年龄)×(体重(kg))×(如果女性0.85)/72×血清肌酸酐。

[0417] 同意系列骨髓抽吸物/活检组织。

[0418] 具有生育潜力的女性(FCBP)可参与,只要她们满足以下条件:在筛选和整个研究期间以及最后一次研究治疗后4个月(在加拿大最后一个剂量的阿扎胞苷后6个月)同意避免性交或使用至少两种有效的避孕方法(口服、可注射剂、贴剂或可植入的激素类避孕药;输卵管结扎;宫内避孕器;具有杀精子剂的合成双重屏障避孕药;或输精管结扎伴侣);并且在筛选时具有人绒毛膜促性腺激素(β-hCG)妊娠试验(灵敏度至少25mIU/mL)的阴性血清β-亚基;并且在治疗期中在研究治疗开始之前72小时内具有阴性血清或尿液(研究者根据当地规定判断)β-hCG妊娠试验(灵敏度为至少25mIU/mL)(注意筛选血清妊娠试验如果在72小时时间范围内进行,则可用作在治疗期中开始研究治疗之前的测试)。

[0419] 具有生育潜力的女性伴侣的男性对象必须同意在筛选期间和整个研究过程中避免性交或使用至少2种有效的避孕方法(例如,具有杀精子剂的合成避孕套等),并且应避免在研究过程期间以及最后一次研究治疗后4个月(在加拿大最后一个剂量的阿扎胞苷后6个月)做父亲。

[0420] 排除标准

[0421] 以下中的任一项的存在将从招募中排除对象:

[0422] 基于形态学、免疫表型、分子测定或核型,对象疑似或证实患有急性早幼粒细胞白血病。

[0423] 对象患有继发于慢性骨髓性白血病(CML)的AML。

[0424] 对象已经接受了针对IDH1或IDH2突变的靶向药剂。

[0425] 对象已经接受了针对AML的先前系统性抗癌疗法、HSCT或放射疗法。注意在开始研究治疗之前允许羟基脲用于控制白细胞(WBC)计数>30x10⁹/L的对象中的白细胞增多症(然而,羟基脲不应在施用阿扎胞苷之前和之后72小时内给予)。对于患有继发性AML(例如MDS或MPN)的对象,先前癌症的治疗不是排除性的;全面治疗信息将收集在CRF内。

[0426] 对象已经接受针对MDS的用阿扎胞苷或地西他滨的先前治疗。

[0427] 对象患有或疑似患有中枢神经系统(CNS)白血病。只有在筛选过程中疑似被白血病CNS受累才需要评价脑脊液。

[0428] 对象具有白血病的直接危及生命的严重并发症,如不受控制的出血、伴有缺氧或

休克的肺炎和/或弥散性血管内凝血。

[0429] 对象在开始研究治疗之前的6个月内具有显著活动性心脏疾病,包括纽约心脏协会(New York Heart Association, NYHA) III或IV级充血性心力衰竭;急性冠脉综合征(ACS);和/或中风;或在开始研究治疗之前的28天内通过超声心动图(ECHO)或多门控采集(MUGA)扫描获得的左心室射血分数(LVEF)<40%。

[0430] 对象具有除MDS、MPN或AML之外的恶性肿瘤的先前病史,除非对象在开始研究治疗之前已经没有疾病 ≥ 1 年。然而,允许具有以下病史/并存病状的对象:皮肤基底或鳞状细胞癌;宫颈原位癌;乳房原位癌;前列腺癌的偶然组织学发现(使用肿瘤、淋巴结、转移临床分期系统的T1a或T1b)。

[0431] 对象对于人免疫缺陷病毒(HIV)的活性病毒感染或乙型肝炎病毒(HBV)或丙型肝炎病毒(HCV)的活性感染是已知的血清阳性,或具有人免疫缺陷病毒(HIV)的活性病毒感染或乙型肝炎病毒(HBV)或丙型肝炎病毒(HCV)的活性感染

[0432] 已知对象患有吞咽困难、短肠综合征、胃轻瘫或限制口服施用的药物的摄入或胃肠道吸收的其它病状。

[0433] 对象具有不受控制的高血压(收缩压[BP]>180mmHg或舒张压BP>100mmHg)

[0434] 正在服用具有狭窄治疗范围的以下敏感CYP底物药物的对象从所述研究中排除,除非对象在开始研究治疗之前可转移至其它药物至少5个半衰期:苯妥英(CYP2C9)、S-美芬妥英(CYP2C19)、甲硫哒嗪(CYP2D6)、茶碱以及替扎尼定(CYP1A2)。

[0435] 对象正在服用乳腺癌抗性蛋白(BCRP)转运蛋白-敏感性底物罗苏伐他汀;对象应被从研究中排除,除非他/她可在开始研究治疗之前转移至其它药物至少5个半衰期

[0436] 对象具有活性不受控制的全身性真菌、细菌或病毒感染(定义为与感染有关的持续体征/症状,尽管采用了适当的抗生素、抗病毒疗法和/或其它治疗而没有改善)。

[0437] 对象已知或疑似对研究疗法的组分中的任一种具有超敏反应。

[0438] 对象正在服用已知延长QT间期的药物,除非他/她可在开始研究治疗之前 ≥ 5 个半衰期内转移至其它药物。(如果没有可供使用的等效药物,将密切监测QTc)

[0439] 对象在筛选时具有QTc间期(即Fridericia的校正[QTcF]) ≥ 450 ms或增加QT延长或心律失常事件(例如心力衰竭、低钾血症、长QT间期综合征家族史)的风险的其它因素。

[0440] 怀孕或哺乳的女性对象。

[0441] 对象具有将阻止对象参与研究的任何显著医学病状、实验室异常或精神疾病。

[0442] 对象具有在对象将参与研究的情况下将他/她置于不可接受的风险的任何病状,包括实验室异常的存在。

[0443] 对象具有混淆解释来自研究的数据的能力的任何病状。

[0444] 在某些实施方案中,用化合物1和阿扎胞苷治疗的AML患者(例如经历本文提供的临床方案)将显示治疗响应。在一些实施方案中,根据修订的IWG AML响应标准,治疗响应是完全响应(CR)、无形态学白血病状态(MLFS)、具有不完全嗜中性粒细胞恢复的形态学完全缓解(CRi)、具有不完整血小板恢复的形态学完全缓解(CRp)或部分缓解(PR)。在一些实施方案中,根据IWG MDS HI标准,治疗响应是血液学改善,例如嗜中性粒细胞响应(Hi-N)、血小板响应(Hi-P)和/或红细胞响应(Hi-E)的改善。在某些实施方案中,在本文提供的方法中用化合物1和阿扎胞苷治疗的AML患者将显示无事件存活期(EFS)、响应持续时间、HRQoL和/

或总体存活期的改善。

[0445] 实施例3. 异柠檬酸脱氢酶 (IDH) 突变体靶向疗法加阿扎胞苷的2种组合的1b期/2期开放标签随机化研究:在患有新诊断的急性骨髓性白血病的分别携带IDH1或IDH2突变的患者中口服化合物2加皮下阿扎胞苷和口服化合物1加皮下阿扎胞苷,所述患者不是接受强化诱导化学疗法的候选者

[0446] 适应症:患有新诊断的急性骨髓性白血病 (AML) 的具有IDH1和IDH2突变的18岁和更大的患者的治疗,所述患者不是接受强化诱导化学疗法 (IC) 的候选者。

[0447] 主要目标-1b期剂量探索阶段

[0448] 主要目标

[0449] • 为了评估当与皮下 (SC) 阿扎胞苷一起施用时口服化合物2以及当与皮下阿扎胞苷一起施用时口服化合物1的组合治疗在患有新诊断的AML的分别具有IDH1或IDH2突变的对象中的安全性和耐受性,所述对象不是接受强化IC的候选者。

[0450] 为了确立当与皮下阿扎胞苷一起施用时口服化合物2和口服化合物1的推荐的组合剂量 (RCD) 。

[0451] 次要目标

[0452] 为了评估当与皮下阿扎胞苷一起施用时口服化合物2以及当与皮下阿扎胞苷一起施用时口服化合物1的组合治疗在患有新诊断的AML的分别具有IDH1或IDH2突变的对象中的初步功效,所述对象不是接受强化IC的候选者。

[0453] 1b期化合物2扩展阶段

[0454] 主要目标

[0455] 为了评估当与皮下阿扎胞苷一起施用时口服化合物2的组合治疗在患有新诊断 AML的具有IDH1突变的对象中的安全性和耐受性,所述对象不是接受强化IC的候选者。

[0456] 次要目标

[0457] 为了评估当与皮下阿扎胞苷一起施用时口服化合物2的组合治疗在患有新诊断的 AML的具有IDH1突变的对象中的初步功效,所述对象不是接受强化IC的候选者。

[0458] 为了表征当与皮下阿扎胞苷一起施用时口服化合物2的药物代谢动力学 (PK) 。

[0459] 2期 (化合物1随机化阶段)

[0460] 主要目标

[0461] 为了评估当与皮下阿扎胞苷一起施用时口服化合物1相对于单独皮下阿扎胞苷在患有新诊断AML的具有IDH2突变的对象中的功效,所述对象不是接受强化IC的候选者。

[0462] 次要目标

[0463] 为了评价当与皮下阿扎胞苷一起施用时口服化合物1的安全性。

[0464] 为了表征当与皮下阿扎胞苷一起施用时口服化合物1的PK。

[0465] 为了评价当与皮下阿扎胞苷一起施用时口服化合物1相对于单独皮下阿扎胞苷对健康相关的生活质量 (HRQoL) 结果的影响。

[0466] 研究设计

[0467] 此1b期/2期研究是用于评价口服化合物2+皮下阿扎胞苷以及口服化合物1+皮下阿扎胞苷在患有新诊断AML的具有IDH1或IDH2突变的对象中的安全性和功效的开放标签随机化多中心试验。研究群体由不为接受强化IC的候选者的对象组成。所述研究包括1b期剂

量探索和化合物2扩展阶段以及2期随机化阶段。

[0468] 1b期剂量探索阶段

[0469] 1b期阶段是用于评价与皮下阿扎胞昔一起施用的口服化合物2和口服化合物1的安全性和耐受性的开放标签剂量探索研究以确定当与皮下阿扎胞昔一起施用时这两种药剂的RCD。还将评估口服化合物2+皮下阿扎胞昔以及口服化合物1+皮下阿扎胞昔方案的初步临床活性。

[0470] 1b期阶段由3个时期组成:1)筛选;2)治疗;以及3)随访。

[0471] 对象筛选程序将在研究治疗开始之前的28天内的筛选期期间发生。具有IDH突变的AML的诊断将基于骨髓抽吸物和/或外周血液样品的血液病理学和IDH基因突变测试的本地审查。基于研究者的判断,由于共病、行为状态下降或其它因素的存在,符合招募资格的对象必须不是接受强化IC的对象。患有新诊断的AML的具有IDH1突变的对象将被分配至口服化合物2+皮下阿扎胞昔组,并且患有新诊断的AML的具有IDH2突变的对象分配至口服化合物1+皮下阿扎胞昔组。在对象被诊断患有与双重IDH1和IDH2突变相关的AML的罕见病例中,分配至口服化合物2或化合物1治疗组将基于联合研究者和医学监查员决定并记录在来源中。

[0472] 在治疗期期间将使用标准3+3设计。由Celgene医学监查员、Celgene主任安全医师、Celgene生物统计学家、其它Celgene功能领域代表或指定人员(在适当情况下)以及所有活动现场研究者和/或指定人员(在对象接受研究药物的地点)组成的剂量审查小组(DRT)将审查每个剂量水平的周期1期间对象所经历的所有不良事件(AE),以确定当与皮下阿扎胞昔一起施用时口服化合物2或化合物1的最大耐受剂量(MTD)是否已经超过。计划评价口服化合物2的一种剂量水平(每日一次500mg)和口服化合物1的2种剂量水平(每日一次100mg和每日一次200mg)。如果发现当与皮下阿扎胞昔一起施用时这些剂量在周期1期间超过MTD,则将评价口服化合物2的低于每日一次500mg的剂量水平和口服化合物1的低于每日一次100mg的剂量水平。剂量中断/延迟和剂量减少可用于管理毒性。对象可接受研究治疗直到疾病进展/复发,研究治疗变得不可耐受,或者对象出于任何原因希望停止研究治疗。对治疗的响应将由研究者根据修订的国际工作组(IWG)AML响应标准(Cheson等人Revised recommendations of the International Working Group for diagnosis, standardization of response criteria, treatment outcomes, and reporting standards for therapeutic trials in acute myeloid leukemia.J Clin Oncol 2003; 21 (24) :4642-9)进行评估。

[0473] 患有新诊断的AML患者的血液学改善(HI)也将根据IWG骨髓增生异常综合征HI标准(Cheson等人Clinical application and proposal for modification of the International Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia.Blood 2006;108 (2) :419-25)进行评估。当研究治疗停止时,对象将接受治疗结束评价。停止治疗的原因将记录在电子病例报告表(eCRF)页和原始文件中。

[0474] 出于除了撤回对随访的同意以外的任何原因而停止研究治疗的所有对象将继续针对AE、伴随药物、伴随程序、输血、医疗资源利用、响应、血液学改善、随后的AML疗法和存活进行评估。

[0475] 出于除了撤回对随访的同意或疾病进展以外的任何原因而停止研究治疗的所有

对象将继续在研究的随访期期间针对响应进行评估直到疾病进展。

[0476] 出于除了撤回对随访的同意以外的任何原因而停止研究治疗的所有对象将继续针对随后的AML疗法和存活进行评估。

[0477] 所述研究将根据国际协调会议 (ICH) 良好临床实践 (GCP) 准则进行。

[0478] 1b期化合物1扩展阶段

[0479] 大约15名患有新诊断的AML的具有IDH1突变的对象的1b期扩展组将被招募至化合物2组合。被招募至化合物2扩展的对象将接受在RCD下的化合物2+阿扎胞苷。

[0480] 2期化合物2随机化阶段

[0481] 2期阶段是用于评价口服化合物1与皮下阿扎胞苷相对于单独皮下阿扎胞苷的功效的开放标签随机化研究,以便评估总体响应率 (ORR) 和无事件存活期 (EFS) 。

[0482] 2期阶段也将由3个时期组成:1) 筛选;2) 治疗;以及3) 随访。

[0483] 与1b期一样,对象筛选程序将在开始研究治疗之前28天内的筛选期期间发生,但AML的诊断将在本地进行以供招募并基于随后的中心病理学审查进行回顾性确认。IDH突变状态将在本地进行评估,并且对于没有本地测试能力的场地,将鉴定受委托实验室。必须将骨髓抽吸物和外周血液样品与相关样品一起送至中心实验室以用于对突变状态的潜在回顾性确认。纳入试验可基于当地IDH测试。基于研究者的判断,由于共病、行为状态下降或其它因素的存在,符合招募条件的对象是不为接受强化IC的候选者的那些对象。

[0484] 在审查资格之后,患有新诊断的AML的具有IDH2突变的对象将以2:1比率随机化以接受口服化合物1+皮下阿扎胞苷(第1组)相对于单独皮下阿扎胞苷(第2组)。组1将包括至少66名对象,并且组2将包括至少33名对象(在两个组中共99名对象)。

[0485] 根据WHO分类,对象将根据原发性(即从头)或继发性(骨髓增生异常综合征 (MDS) 或骨髓组织增生性赘生物 [MPN] 的进展或治疗相关的) AML进行分层。

[0486] 研究治疗将在随机化3天内开始。研究治疗期间的评估包括功效、安全性、HRQoL、医疗资源利用、药物代谢动力学、药效动力学以及相关研究。

[0487] 在1b期和2期研究期间,在筛选期间收集的所有骨髓抽吸物和/或活检组织以及外周血涂片的回顾性中心病理学审查将由对对象治疗不知情的人员进行以确认资格。在开始研究治疗后收集的骨髓抽吸物 (BMA) 和/或活检组织以及外周血涂片必须可用于本地和中心病理学审查。回顾性中心病理学审查将需要对每个骨髓采集时间点(包括BMA、外周血涂片和骨髓活检 (BMB) (如果进行的话))的一组一式多份的载玻片。中心病理学审查将由对研究治疗不知情的人员进行。

[0488] 对治疗的响应和HI将由研究者分别根据修订的IWG AML响应标准 (Cheson, 2003) 和IWG骨髓增生异常综合征HI标准 (Cheson, 2006) 进行评估。

[0489] 给药中断、给药延迟或剂量修改可发生以用于管理研究治疗期间的毒性和/或增加治疗响应。

[0490] 允许对于所述研究的组合组中的对象停止化合物2、化合物1或阿扎胞苷。如果在研究者的评估中对象继续显示临床益处并且符合用于持续研究治疗的所有方案指定标准,则对象可继续用单一药剂化合物2、化合物1或阿扎胞苷治疗。如果对象患有进行性疾病或接受替代疗法,则研究治疗将停止。

[0491] 停止对象的决定(其将不被发起人延迟或拒绝)仍然是治疗医生的责任。然而,在

停止对象之前,推荐研究者联系医学监查员并发送适当的支持文件以供审查和讨论。

[0492] 当停止研究治疗时,已经接受至少一个剂量的研究治疗的所有对象应进行治疗结束(EOT)评价。停止的原因将记录在电子病例报告表(eCRF)页和原始文件中。

[0493] 出于除了撤回对随访的同意以外的任何原因而停止研究治疗的所有对象将继续针对AE、伴随药物、伴随程序、输血、医疗资源利用、响应、血液学改善、随后的AML疗法和存活进行评估。

[0494] 出于除了撤回对随访的同意或疾病进展以外的任何原因而停止研究治疗的所有对象将继续在研究的随访期期间针对响应进行评估直到疾病进展。

[0495] 出于除了撤回对随访的同意以外的任何原因而停止研究治疗的所有对象将继续针对随后的AML疗法和存活进行评估。

[0496] 所述研究将根据国际协调会议(ICH)良好临床实践(GCP)进行。

[0497] 研究的长度

[0498] 预计所述研究的全部长度是大约60个月,包括1b期和2期的招收、筛选、治疗和随访。对于单个对象,研究的1b期阶段的预期持续时间是大约13个月,包括筛选期达28天,并且所述研究的2期阶段的预计持续时间是大约30个月,包括筛选期达28天。

[0499] 试验结束被定义为最后一名对象完成治疗后随访的最后一次访问的日期,或用于主要、次要和/或探索性分析所需的来自最后一名对象的最后一个数据点的接收日期,如在方案中预先规定,以较晚的日期为准。

[0500] 研究治疗

[0501] 在每个28天周期的第1-28天每天一次(QD)口服施用化合物2和化合物1。应指导对象在大约每天同一时间±6小时服用他们的每日剂量。每一剂量应用一杯水服用,且尽可能短的时间内服用。应指导对象吞服整个片剂并且不咀嚼片剂。在化合物1施用之前2小时和之后1小时需要禁食。在禁食期间允许饮水。对于化合物2施用不需要禁食。

[0502] 在1b期和2期两者期间,将在第1天开始皮下施用阿扎胞苷持续每个28天治疗周期的7天。在1b期化合物2扩展阶段中,患有AML且具有IDH1突变的对象在研究招募前可接受不超过一个周期的阿扎胞苷用于治疗AML。必须从阿扎胞苷研究前周期开始的28天内给予化合物2与阿扎胞苷的第1周期。

[0503] 在2期阶段期间,随机化至单独阿扎胞苷组的对象将接受皮下阿扎胞苷75mg/m²/天持续每个28天周期的7天。除非停止治疗,否则所有随机化对象将接受每28天皮下阿扎胞苷75mg/m²/天持续7天,直到研究结束。此外,对象可根据需要接受最佳支持性医护(请参考当地处方信息和当地治疗指南以获得更多关于最佳支持性医护的可用制剂、制备、储存条件[例如制冷]、已批准的适应症、已知预防措施、警告和不良反应的细节;(参见处方信息的当前版本),包括抗生素和输血,研究者酌情决定。如果在7天给药期间错过2个剂量或更少剂量,则应继续给药,以使对象接受完整7天疗法。如果在7天给药期内错过3天或更多天,研究者应联系发起人并视情况而决定做出关于给药的决定。

[0504] 1b期(剂量探索和化合物2扩展)阶段:

[0505] 1b期剂量探索将使用3+3设计。对于化合物2,将探索一种剂量水平,从而招募至少3名对象。从每个周期的第1天开始,组群1将以口服化合物2 500mg每天一次和皮下阿扎胞苷75mg/m²/天开始持续每个28天周期的7天。如果组群1中2名或更多对象在第1周期中具有

剂量限制性毒性 (DLT), 则组群1将以化合物1 250mg每天一次以及皮下阿扎胞苷75mg/m²/天持续每个28天周期的7天进行探索。在DRT声明RCD后, 将招募在RCD下达15名患者的扩展组群以进行进一步的安全性评价和PK采样。

[0506] 对于化合物1, 将探索两种剂量水平。从每个周期的第1天开始, 组群1将以口服化合物1 100mg每天一次和皮下阿扎胞苷75mg/m²/天开始持续每个28天周期的7天。如果未观察到DLT, RCD将由DRT确认, 并且100mg剂量将被用作研究的2期的起始剂量。从每个周期的第1天开始, 组群2的剂量递增将以口服化合物1 200mg每天一次和皮下阿扎胞苷75mg/m²/天开始持续每个28天周期的7天以探索在此剂量水平下化合物1+皮下阿扎胞苷的耐受性。如果组群1中2名或更多对象具有DLT, 则将探索在每个周期的第1天开始, 每个28天周期中使用每日一次口服化合物1 50mg和皮下阿扎胞苷75mg/m²/天持续每个28天周期的7天的组群1。

[0507] DRT将评价在1个周期后每名对象的所有毒性, 并确定各个对象是否需要进一步的剂量修改。

[0508] 2期 化合物1随机化阶段:

[0509] 化合物1+阿扎胞苷组(组1):

[0510] 具有IDH2突变的对象将在每个28天周期的第1-28天接受RCD的口服QD的化合物1+皮下阿扎胞苷75mg/m²/天持续每个28天周期的7天。

[0511] 阿扎胞苷组(组2):

[0512] 具有IDH2突变的对象将接受皮下阿扎胞苷75mg/m²/天持续每个28天周期的7天。

[0513] 关键功效评估的概述

[0514] 功效

[0515] 系列血液和骨髓采样将用于确定从周期2开始对疗法的响应。将基于中心报告的血液学实验室参数、外周血涂片、骨髓抽吸物和/或活检组织, 根据修订的IWG标准在两个阶段期间本地评估响应。如通过对最小残余疾病的流式细胞术测量所测量的响应的探索性评价也将在2期对象中进行。所述场地需要确保收集用于中心血液学的外周血并在每次骨髓收集时送达。

[0516] 将进行回顾性病理学审查。回顾性中心病理学审查将需要对每个骨髓采集时间点(包括BMA、外周血涂片和BMB(如果进行的话))的一组一式多份的载玻片。中心病理学审查将由对研究治疗不知情的人员进行。

[0517] 在研究参考和/或研究中心实验室手册中提供关于提交用于中心病理学审查的骨髓抽吸物(和/或活检组织)和外周血涂片的载玻片的说明。

[0518] 在复发或进展之前停止研究治疗的对象将完成每月一次实地访视直到确认复发或进展。对于由于复发或进展而停止研究治疗的对象, 可通过实地访视或电话进行每月一次随访。将对对象进行随访, 直到他们死亡、失访、取消对进一步数据收集的同意或直到研究结束。

[0519] 其它关键评估的概述

[0520] 安全性

[0521] 安全性评估包括不良事件、体检、东部肿瘤协作组(ECOG)行为状态、生命体征、超声心动图(ECHO)或多门控采集(MUGA)扫描、心电图(ECG)、心脏标志物、尿液分析、凝血、血

液学、血清化学、输血、怀孕测试(仅用于具有生育潜力的女性(FCBP))以及伴随药物或程序。

[0522] 化合物2和化合物1的血浆PK/PD

[0523] 当与皮下阿扎胞昔一起施用时化合物2的PK曲线将通过化合物2在1b期扩展阶段中的血浆浓度和PK参数进行评价。将随时间推移关于化合物2的血浆浓度评价2-HG的血浆浓度。

[0524] 当与皮下阿扎胞昔一起施用时化合物1的PK曲线将通过化合物1在2期阶段中的血浆浓度和PK参数进行评价。将随时间推移关于化合物1的血浆浓度评价2-HG的血浆浓度。

[0525] 研究产品问责制

[0526] 口服化合物2和化合物1在每个治疗周期的第1天分配,并在每个治疗周期完成后进行说明。

[0527] 阿扎胞昔将由研究现场人员皮下施用。所有IP给药的准确记录将在对象的eCRF和原始文件的适当部分进行。

[0528] 统计方法

[0529] 1b期(剂量探索和化合物2扩展)阶段:

[0530] 1b期中的统计分析本质上将主要是描述性的。将针对处置、人口统计学和基线疾病特征、安全性、PK、PD和临床活性参数产生制表。分类数据将通过频率分布(对象的数量和百分比)进行汇总,并且连续数据将通过描述性统计数据(平均值、标准偏差、中值、最小值和最大值)进行汇总。数据将通过剂量水平进行总结,并在适当时候进行总体总结。

[0531] 2期化合物1随机化阶段:

[0532] 根据修订的IWG AML响应标准,2期中的总体响应率(ORR)的主要功效终点包括对CR、CRp、CRi、无形态学白血病状态(MLFS)以及PR的响应。ORR中的治疗差异将在ITT群体中使用卡方检验(Chi square test)进行测试。此测试将提供关键p值(pivotal p-value)以用于比较口服化合物1+皮下阿扎胞昔相对于阿扎胞昔单一疗法组的ORR。

[0533] 大约99名对象将在此研究中随机化,其中66名IDH2对象在口服化合物1+皮下阿扎胞昔组中,并且33名IDH2对象在皮下阿扎胞昔单一疗法组中。假定阿扎胞昔单一治疗组中的ORR为30%,并且口服化合物1+皮下阿扎胞昔组的ORR为50%,这种设计的样本量(66在化合物1+皮下阿扎胞昔组中,并且33在阿扎胞昔单一疗法组中)将提供75%的能力来检测在0.2(双侧)第一类错误率下ORR的20%差异。

[0534] 纳入标准

[0535] 对象必须满足以下标准来招募于研究中:

[0536] 在签署知情同意书(ICF)时,对象 ≥ 18 岁。

[0537] 在进行任何研究相关的评估/程序之前,对象必须理解并自愿签署ICF。

[0538] 对象愿意且能够遵守研究访问时间表和其它方案要求。

[0539] 根据WHO分类,对象患有新诊断的原发性(即从头)或继发性(MDS或骨髓组织增生性赘生物[MPN]的进展或治疗相关的)AML,其中骨髓中具有 $\geq 20\%$ 的白血病母细胞:

[0540] 具有IDH1或IDH2基因突变(R132、R140或R172)

[0541] IDH突变状态将在本地进行评估;对于没有本地测试能力的场地,将鉴定受委托实验室

- [0542] 根据研究者的评估,不是接受强化IC的候选者
- [0543] 对象具有0、1或2的东部肿瘤协作组 (ECOG) 行为状态。
- [0544] 对象具有足够的器官功能,定义为:
- [0545] 除非认为是由于白血病器官受累,否则血清天冬氨酸转氨酶/血清谷氨酸草酰乙酸转氨酶 (AST/SGOT) 和丙氨酸转氨酶 (ALT/SGPT) $\leq 3 \times$ ULN。
- [0546] 血清总胆红素 $< 1.5 \times$ ULN。如果这些可归因于无效红细胞生成、对于吉尔伯特综合征(例如,UGT1A1中的基因突变) \leq 正常上限的3倍或白血病器官受累,则可接受更高水平。
- [0547] 基于肾脏疾病饮食调整 (MDRD) 肾小球滤过率 (GFR) , 血清肌酸酐 $< 2 \times$ ULN或肌酐清除率 $\geq 30 \text{ mL/min}$:
- [0548]
$$\text{GFR} (\text{mL/min}/1.73\text{m}^2) = 175 \times (S_{\text{cr}})^{-1.154} \times (\text{年龄})^{-0.203} \times (0.742 \text{ 如果女性}) \times (1.212 \text{ 如果非裔美国人})$$
- [0549] 同意系列骨髓抽吸物/活检组织。
- [0550] 具有生育潜力的女性 (FCBP) *可参与,只要她们满足以下条件:
- [0551] 同意在筛选和整个研究期间以及在最后一次研究治疗后至少4个月实行真正的避免性交**或使用高度有效的避孕方法(例如,组合的[含有雌激素和孕激素]或仅与排卵的抑制相关的孕激素、口服、可注射剂、阴道内、贴片或可植入的激素类避孕药;双侧输卵管阻塞;子宫内避孕器;子宫内激素释放系统;或男性伴侣绝育[注意,切除输精管的伴侣是非常有效的节育方法,前提是伴侣是FCBP试验参与者的唯一性伴侣,并且切除输精管的伴侣已经接受手术成功的医学评估]);以及
- [0552] 在筛选时具有人绒毛膜促性腺激素 (β -hCG) 妊娠试验(灵敏度为至少25mIU/mL)的阴性血清 β -亚基;以及
- [0553] 在治疗期中在研究治疗开始之前72小时内具有阴性血清或尿液(研究者根据当地规定判断) β hCG妊娠试验(灵敏度为至少25mIU/mL) (注意筛选血清妊娠试验如果在72小时时间范围内进行,则可用作在治疗期中开始研究治疗之前的测试)。
- [0554] 男性对象必须在筛选和整个研究过程中同意与具有生育潜力的非怀孕女性伴侣实行真正的避免性交或同意使用高度有效的避孕方法(如上文所描述),并且应避免在研究过程期间以及最后一次研究治疗后至少4个月(在加拿大最后一个剂量的阿扎胞苷后6个月)使其伴侣受孕。
- [0555] 此外,男性对象必须同意在用阿扎胞苷治疗时且在最后一个阿扎胞苷剂量后至少4个月使用避孕套。
- [0556] 排除标准
- [0557] 以下中的任一项的存在将从招募中排除对象:
- [0558] 基于形态学、免疫表型、分子测定或核型,对象疑似或证实患有急性早幼粒细胞白血病。
- [0559] 对象患有继发于慢性骨髓性白血病 (CML) 的AML。
- [0560] 对象已经接受了针对IDH1或IDH2突变的靶向药剂。
- [0561] 对象已经接受了针对AML的先前系统性抗癌疗法、HSCT或放射疗法。注意:在招募之前允许羟基脲用于控制患有白细胞增多症的对象的外周白血病母细胞。(然而,羟基脲不应在施用阿扎胞苷之前和之后72小时内给予)。对于患有继发性AML(例如MDS或MPN)的患

者,先前癌症的治疗不是排除性的;全面治疗信息将收集在CRF内。全反式维甲酸(ATRA)用于疑似APL不是排除性的,前提是在方案中开始治疗前停止使用。

[0562] 对象已经接受超过1个周期的先前使用阿扎胞昔的治疗,或者对象已经接受任何用于MDS的使用地西他滨的先前治疗。

[0563] 说明:可针对所述研究筛选正在接受他们的第1周期的阿扎胞昔(7天)的患有新诊断的AML的对象。在研究中,化合物1或化合物2与阿扎胞昔的第1周期必须在开始研究前阿扎胞昔后28天(+/-3天)开始。

[0564] 对象患有或疑似患有中枢神经系统(CNS)白血病。只有在筛选过程中疑似被白血病CNS受累才需要评价脑脊液。

[0565] 对象具有白血病的直接危及生命的严重并发症,如不受控制的出血、伴有缺氧或休克的肺炎和/或弥散性血管内凝血。

[0566] 对象在开始研究治疗之前的6个月内具有显著活动性心脏疾病,包括纽约心脏协会(NYHA)III或IV级充血性心力衰竭;急性冠脉综合征(ACS);和/或中风;或在开始研究治疗之前的28天内通过超声心动图(ECHO)或多门控采集(MUGA)扫描获得的左心室射血分数(LVEF)<40%。

[0567] 对象具有除MDS、MPN或AML之外的恶性肿瘤的先前病史,除非对象在开始研究治疗之前已经没有疾病≥1年。然而,允许具有以下病史/并存病状的对象:

[0568] 皮肤基底或鳞状细胞癌

[0569] 宫颈原位癌

[0570] 乳房原位癌

[0571] 前列腺癌的偶然组织学发现(使用肿瘤、淋巴结、转移临床分期系统的T1a或T1b)。

[0572] 对象对于人免疫缺陷病毒(HIV)的活性病毒感染或乙型肝炎病毒(HBV)或丙型肝炎病毒(HCV)的活性感染是已知的血清阳性,或具有人免疫缺陷病毒(HIV)的活性病毒感染或乙型肝炎病毒(HBV)或丙型肝炎病毒(HCV)的活性感染。

[0573] 已知对象患有吞咽困难、短肠综合征、胃轻瘫或限制口服施用的药物的摄入或胃肠吸收的其它病状。

[0574] 对象具有不受控制的高血压(收缩压[BP]>180mmHg或舒张压BP>100mmHg)

[0575] 正在服用具有狭窄治疗范围的以下敏感CYP底物药物的对象从所述研究中排除,除非对象在开始研究治疗之前可转移至其它药物至少5个半衰期:苯妥英(CYP2C9)、S-美芬妥英(CYP2C19)、甲硫哒嗪(CYP2D6)、茶碱以及替扎尼定(CYP1A2)。

[0576] 对象正在服用乳腺癌抗性蛋白(BCRP)转运蛋白敏感性底物罗苏伐他汀;对象应被从研究中排除,除非他/她可在开始研究治疗之前转移至其它药物至少5个半衰期。

[0577] 对象具有活性不受控制的全身性真菌、细菌或病毒感染(定义为与感染有关的持续体征/症状,尽管采用了适当的抗生素、抗病毒疗法和/或其它治疗而没有改善)。

[0578] 对象已知或疑似对研究疗法的组分中的任一种具有超敏反应。

[0579] 对象正在服用已知延长QT间期的药物,除非他/她可在开始研究治疗之前≥5个半衰期内转移至其它药物。(如果没有可供使用的等效药物,将密切监测QTc)

[0580] 对象在筛选时具有QTc间期(即Fridericia的校正[QTcF])≥450ms或增加QT延长或心律失常事件(例如心力衰竭、低钾血症、长QT间期综合征家族史)的风险的其它因素。

- [0581] 怀孕或哺乳的女性对象。
- [0582] 对象具有将阻止对象参与研究的任何显著医学病状、实验室异常或精神疾病。
- [0583] 对象具有在对象将参与研究的情况下将他/她置于不可接受的风险的任何病状，包括实验室异常的存在。
- [0584] 对象具有混淆解释来自研究的数据的能力的任何病状。

[0585] 实施例4:2-甲基-1-[(4-[6-(三氟甲基) 吡啶-2-基]-6-{[2-(三氟甲基) 吡啶-4-基]氨基}-1,3,5-三嗪-2-基) 氨基]丙-2-醇的合成

[0586] 实施例4, 步骤1:6-三氟甲基-吡啶-2-甲酸的制备在N₂气氛下将二乙醚(4.32L)和己烷(5.40L)加入反应容器中，并冷却到-75℃至-65℃。在低于-65℃下在N₂气氛下逐滴添加正丁基锂(3.78L,于1.6M己烷中)，随后逐滴添加二甲基氨基乙醇(327.45g, 3.67mol)，并且在10分钟后逐滴添加2-三氟甲基吡啶(360g, 2.45mol)。将反应物在N₂下搅拌，同时保持温度低于-65℃约2.0至2.5小时。将反应混合物在N₂下倾倒在碎干冰上，然后在搅拌(约1.0至1.5小时)同时升至0℃至5℃的温度，随后加入水(1.8L)。将反应混合物搅拌5-10分钟并使其升温至5-10℃。逐滴加入6N HCl(900mL)直到混合物达到pH 1.0至2.0，然后在5-10℃下搅拌混合物10-20分钟。将反应混合物在25℃-35℃下用乙酸乙酯稀释，然后用盐水溶液洗涤。将反应浓缩并用正庚烷冲洗，且然后干燥以得到6-三氟甲基-吡啶-2-甲酸。

[0587] 实施例4, 步骤2:6-三氟甲基-吡啶-2-甲酸甲酯的制备。在氮气氛下将甲醇加入到反应容器中。添加6-三氟甲基-吡啶-2-甲酸(150g, 0.785mol)并在环境温度下溶解。在低于45℃的温度下逐滴添加乙酰氯(67.78g, 0.863mol)。将反应混合物在65-70℃下维持约2-2.5小时，且然后在35-45℃下真空浓缩并冷却至25-35℃。将混合物用乙酸乙酯稀释并用饱和NaHCO₃溶液冲洗，然后用盐水溶液冲洗。将混合物在35-45℃下真空浓缩并冷却至25-35℃，然后用正庚烷冲洗并在35-45℃下真空浓缩，然后脱气以获得棕色固体，将所述固体用正庚烷冲洗并在25-35℃下搅拌10-15分钟。在搅拌同时将悬浮液冷却至-40至-30℃，并且过滤并干燥以得到6-三氟甲基-吡啶-2-甲酸甲酯。

[0588] 实施例4, 步骤3:6-(6-三氟甲基-吡啶-2-基)-1H-1,3,5-三嗪-2,4-二酮的制备。将1L无水乙醇在N₂气氛下装入反应容器中，并且在低于50℃下在N₂气氛下分批加入钠金属(11.2g, 0.488mol)。将反应物搅拌5-10分钟，然后加热至50-55℃。在N₂气氛下在50-55℃温度下，将干燥的双缩脲(12.5g, 0.122mol)加入到反应容器中，并搅拌10-15分钟。在维持50-55℃同时，加入6-三氟甲基-吡啶-2-甲酸甲酯(50.0g, 0.244mol)。将反应混合物加热至回流(75-80℃)并维持1.5-2小时，然后冷却至35-40℃，并在45-50℃下真空浓缩。加入水并将混合物真空浓缩，然后冷却至35-40℃，加入更多的水并将混合物冷却至0-5℃。通过缓慢加入6N HCl将pH调节至7-8，固体沉淀，将所述固体离心并用水冲洗并再次离心。将6-(6-三氟甲基-吡啶-2-基)-1H-1,3,5-三嗪-2,4-二酮的灰白色至浅棕色固体在50℃至60℃下在600mm/Hg压力下真空干燥8至10小时以提供6-(6-三氟甲基-吡啶-2-基)-1H-1,3,5-三嗪-2,4-二酮。

[0589] 实施例4, 步骤4:2,4-二氯-6-(6-三氟甲基-吡啶-2-基)-1,3,5-三嗪的制备。在20-35℃下将POCl₃(175.0mL)装入反应容器中，并在低于50℃下分批加入6-(6-三氟甲基-吡啶-2-基)-1H-1,3,5-三嗪-2,4-二酮(35.0g, 0.1355mol)。通过用N₂气体吹扫将反应混合物脱气5-20分钟。在低于50℃下搅拌的同时加入五氯化磷(112.86g, 0.542mol)，将所得浆

液加热至回流(105°C至110°C)并维持3-4小时。将反应混合物冷却至50-55°C,在低于55°C下浓缩,然后冷却至20-30°C。用乙酸乙酯冲洗反应混合物,并在搅拌并维持温度低于10°C的同时将乙酸乙酯层缓慢加入冷水(温度约5°C)。将混合物在10°C至20°C之间的温度下搅拌3-5分钟并收集乙酸乙酯层。将反应混合物用碳酸氢钠溶液冲洗并用无水硫酸钠干燥。将所述物质在低于45°C下真空干燥2-3小时以提供2,4-二氯-6-(6-三氟甲基-吡啶-2-基)-1,3,5-三嗪。

[0590] 实施例4,步骤5:4-氯-6-(6-(三氟甲基)吡啶-2-基)-N-(2-(三氟-甲基)-吡啶-4-基)-1,3,5-三嗪-2-胺的制备。在20-35°C下将THF(135mL)和2,4-二氯-6-(6-三氟甲基-吡啶-2-基)-1,3,5-三嗪(27.0g,0.0915mol)的混合物加入到反应容器中,然后加入4-氨基-2-(三氟甲基)吡啶(16.31g,0.1006mol)和碳酸氢钠(11.52g,0.1372mol)。将所得浆液加热至回流(75-80°C)持续20-24小时。将反应物冷却至30-40°C,并在减压下在低于45°C下蒸发THF。将反应混合物冷却至20-35°C,用乙酸乙酯和水冲洗,并收集乙酸乙酯层且用0.5N HCl和盐水溶液冲洗。将有机层在低于45°C下真空浓缩,然后用二氯甲烷和己烷冲洗,过滤并用己烷洗涤并在45-50°C下真空干燥5-6小时以提供4-氯-6-(6-(三氟甲基)吡啶-2-基)-N-(2-(三氟-甲基)-吡啶-4-基)-1,3,5-三嗪-2-胺。

[0591] 实施例4,步骤6:2-甲基-1-(4-(6-(三氟甲基)吡啶-2-基)-6-(2-(三氟甲基)-吡啶-4-基氨基)-1,3,5-三嗪-2-基氨基)丙-2-醇的制备。在20-35°C下将THF(290mL)、4-氯-6-(6-(三氟甲基)吡啶-2-基)-N-(2-(三氟甲基)吡啶-4-基)-1,3,5-三嗪-2-胺(29.0g,0.06893mol)、碳酸氢钠(8.68g,0.1033mol)和1,1-二甲基氨基乙醇(7.37g,0.08271mol)加入到反应容器中。将所得浆液加热至回流(75°C至80°C)16-20小时。将反应物冷却至30-40°C,并在减压下在低于45°C下蒸发THF。将反应混合物冷却至20-35°C,用乙酸乙酯和水冲洗,并收集乙酸乙酯层。将有机层在低于45°C下真空浓缩,然后用二氯甲烷和己烷冲洗,过滤并用己烷洗涤并在45-50°C下真空干燥8-10小时以提供2-甲基-1-(4-(6-(三氟甲基)吡啶-2-基)-6-(2-(三氟甲基)-吡啶-4-基氨基)-1,3,5-三嗪-2-基氨基)丙-2-醇。

[0592] 实施例5:2-甲基-1-[(4-[6-(三氟甲基)吡啶-2-基]-6-[[2-(三氟甲基)吡啶-4-基]氨基]-1,3,5-三嗪-2-基)氨基]丙-2-醇甲磺酸酯的合成:

[0593] 在20-35°C下将丙酮(435.0mL)和2-甲基-1-[(4-[6-(三氟甲基)吡啶-2-基]-6-[[2-(三氟甲基)吡啶-4-基]氨基]-1,3,5-三嗪-2-基)氨基]丙-2-醇(87.0g,0.184mol)加入到反应容器中。在单独的容器中,在搅拌同时在10分钟内将甲磺酸加入到冷(0-4°C)丙酮(191.4mL)中以制备甲磺酸溶液。在通过微米过滤器时,将新鲜制备的甲磺酸溶液逐滴添加到反应混合物中。将所得浆液用nutsche过滤器过滤并用丙酮洗涤。将过滤的物质使用真空干燥30-40分钟以提供2-甲基-1-[(4-[6-(三氟甲基)吡啶-2-基]-6-[[2-(三氟甲基)吡啶-4-基]氨基]-1,3,5-三嗪-2-基)氨基]丙-2-醇甲磺酸酯。

[0594] 实施例6:2-甲基-1-[(4-[6-(三氟甲基)吡啶-2-基]-6-[[2-(三氟甲基)吡啶-4-基]氨基]-1,3,5-三嗪-2-基)氨基]丙-2-醇甲磺酸酯形式3的合成

[0595] 经由以下盐形成完成至形式3的结晶:1)将丙酮(500ml,4.17体积)装入结晶器中,然后将混合物搅动(550rpm)10分钟,2)将2-甲基-1-[(4-[6-(三氟甲基)吡啶-2-基]-6-[[2-(三氟甲基)吡啶-4-基]氨基]-1,3,5-三嗪-2-基)氨基]丙-2-醇(120.0g,253.5mmol)在45分钟内经由固体加料器装入结晶器中,3)将固体加料器用丙酮(100ml,0.83体积)冲

洗,4) 将反应物搅拌(550rpm)并加热至35℃以获得澄清溶液(在10分钟内),5) 经由活塞泵在5分钟内加入第一部分(2%)的MSA/丙酮溶液(0.3mol/L,18.1ml,3.8ml/min),然后用丙酮(5ml,0.04体积)洗涤泵管线,6) 将混合物在35℃下老化10至15分钟,同时确保溶液保持澄清,7) 2-甲基-1-[4-[6-(三氟甲基)吡啶-2-基]-6-[[2-(三氟甲基)吡啶-4-基]氨基]-1,3,5-三嗪-2-基]氨基]丙-2-醇甲磺酸酯晶种(2.4g,如在实施例2中所产生,2wt%)加入到澄清溶液中,8) 在2小时内加入第二部分(49%)的MSA/丙酮溶液(0.3mol/L,444ml,3.7ml/min),9) 将混合物在35℃下老化30分钟,10) 在1小时内加入第三部分(49%)的MSA/丙酮溶液(0.3mol/L,444ml,7.4ml/min),11) 将混合物在35℃下老化2小时,12) 将混合物冷却至20℃持续1小时,13) 过滤混合物,并用丙酮(240ml两次)洗涤滤饼,17) 并在30℃下真空干燥;以提供形式3晶体。

[0596] 虽然已经以此方式描述了若干实施方案的若干方面,但应理解本领域的技术人员将容易地想到各种改变、修改和改进。此类改变、修改和改进意图是本公开的一部分,并且意图在本发明的精神和范围内。因此,前述描述和附图仅作为举例。

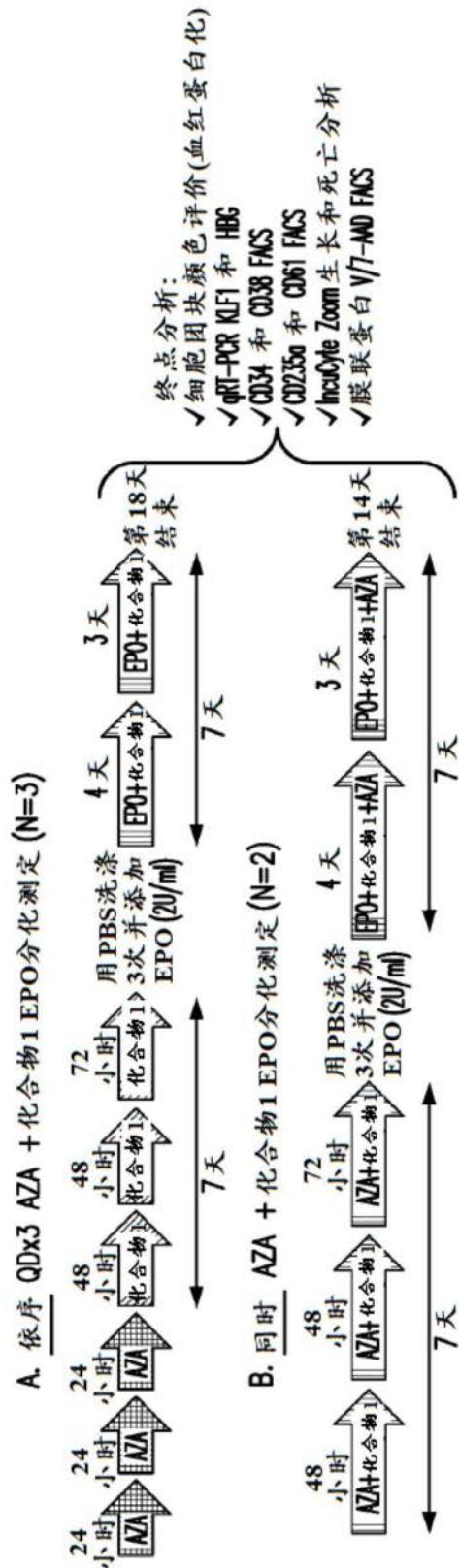


图1

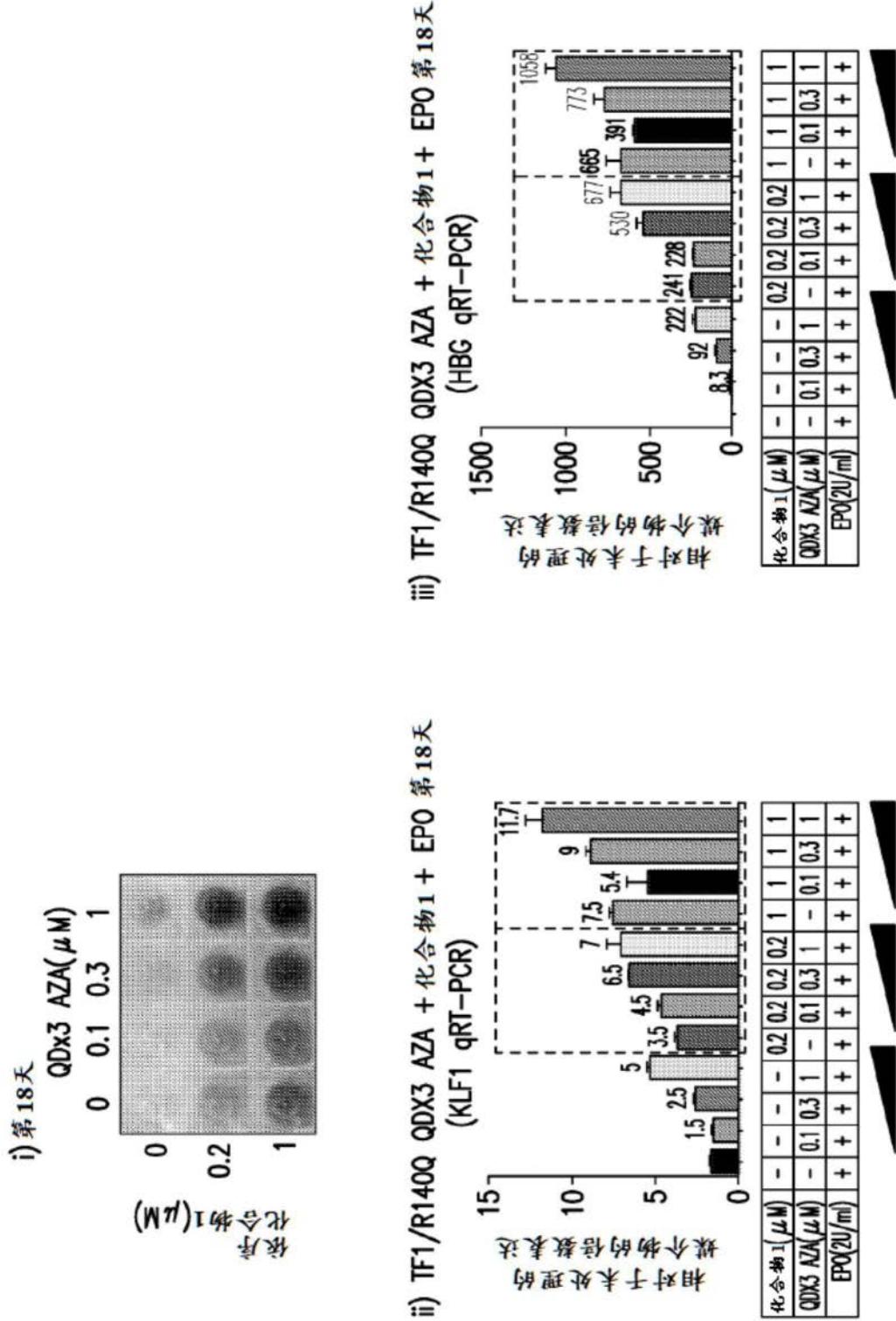


图2A

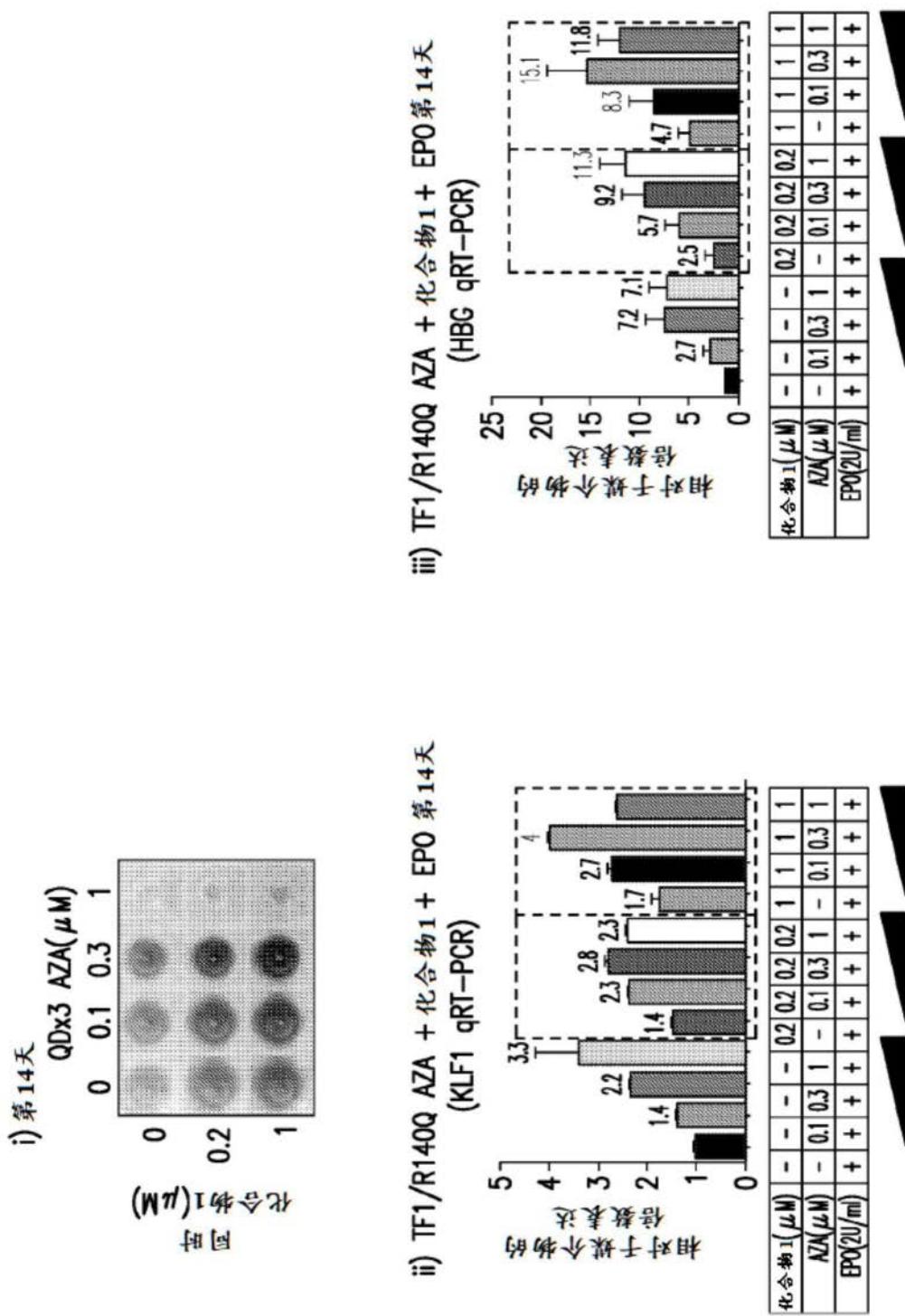


图2B

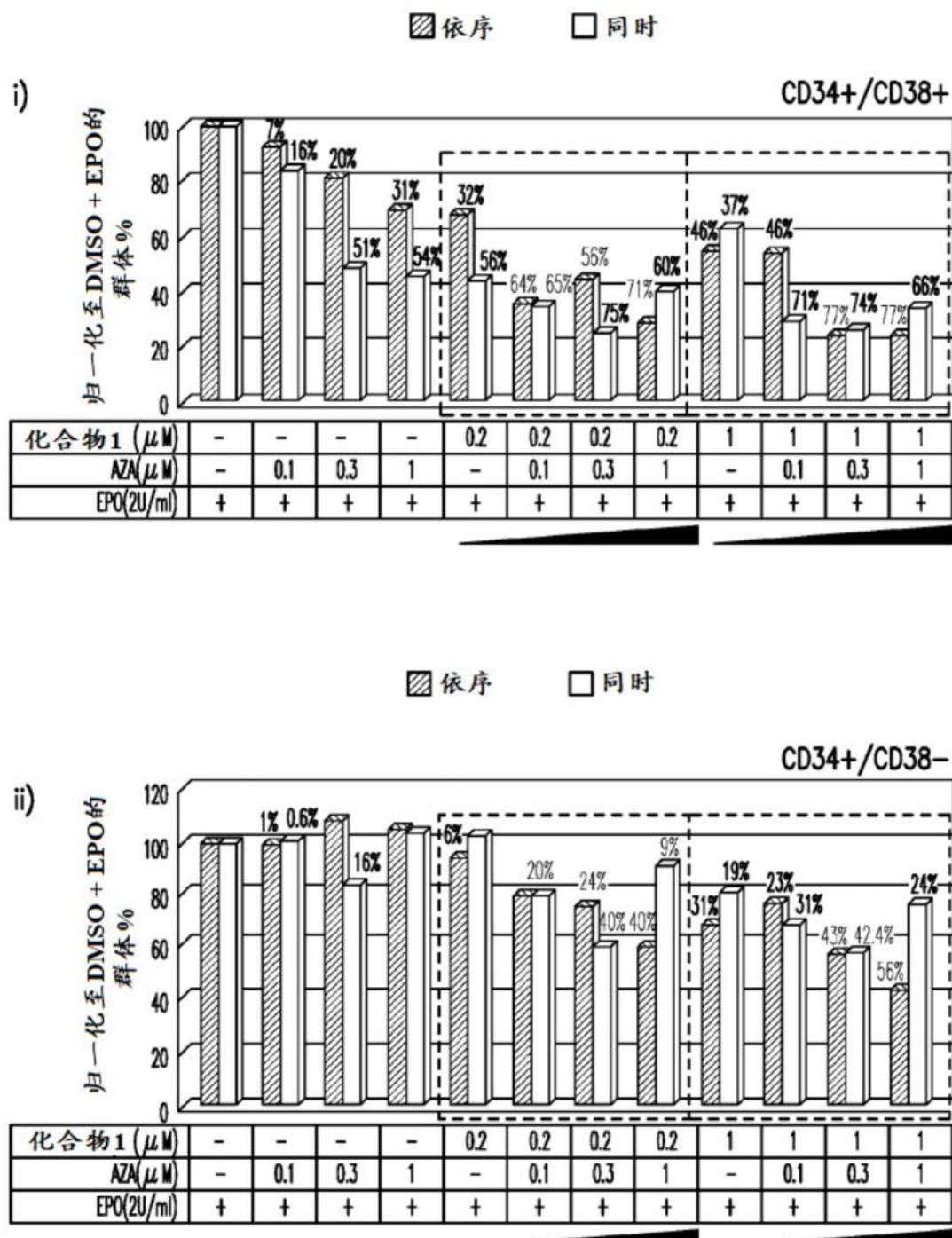


图3

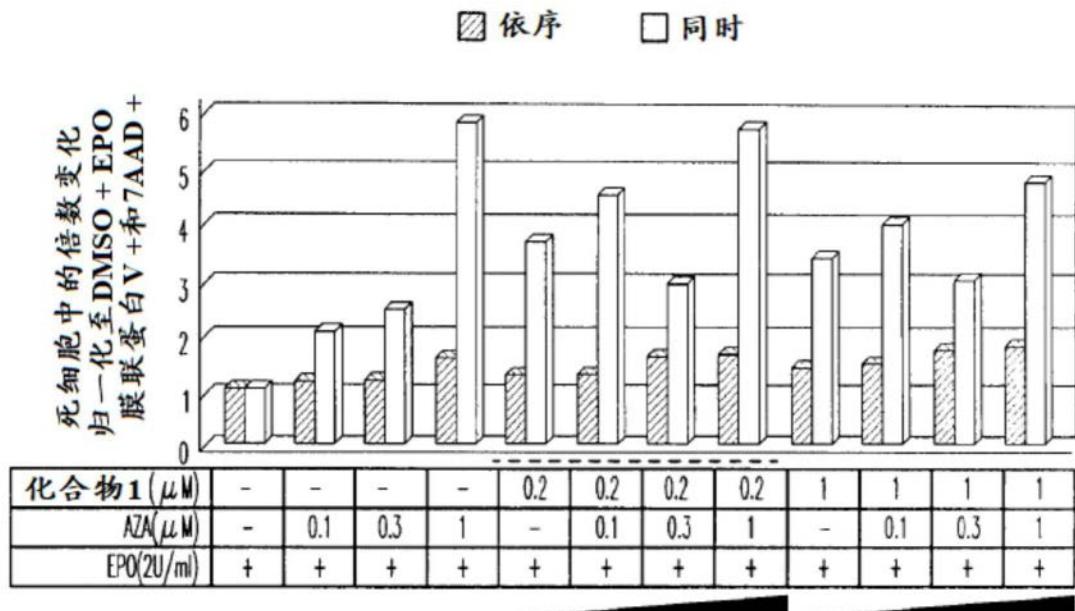


图4

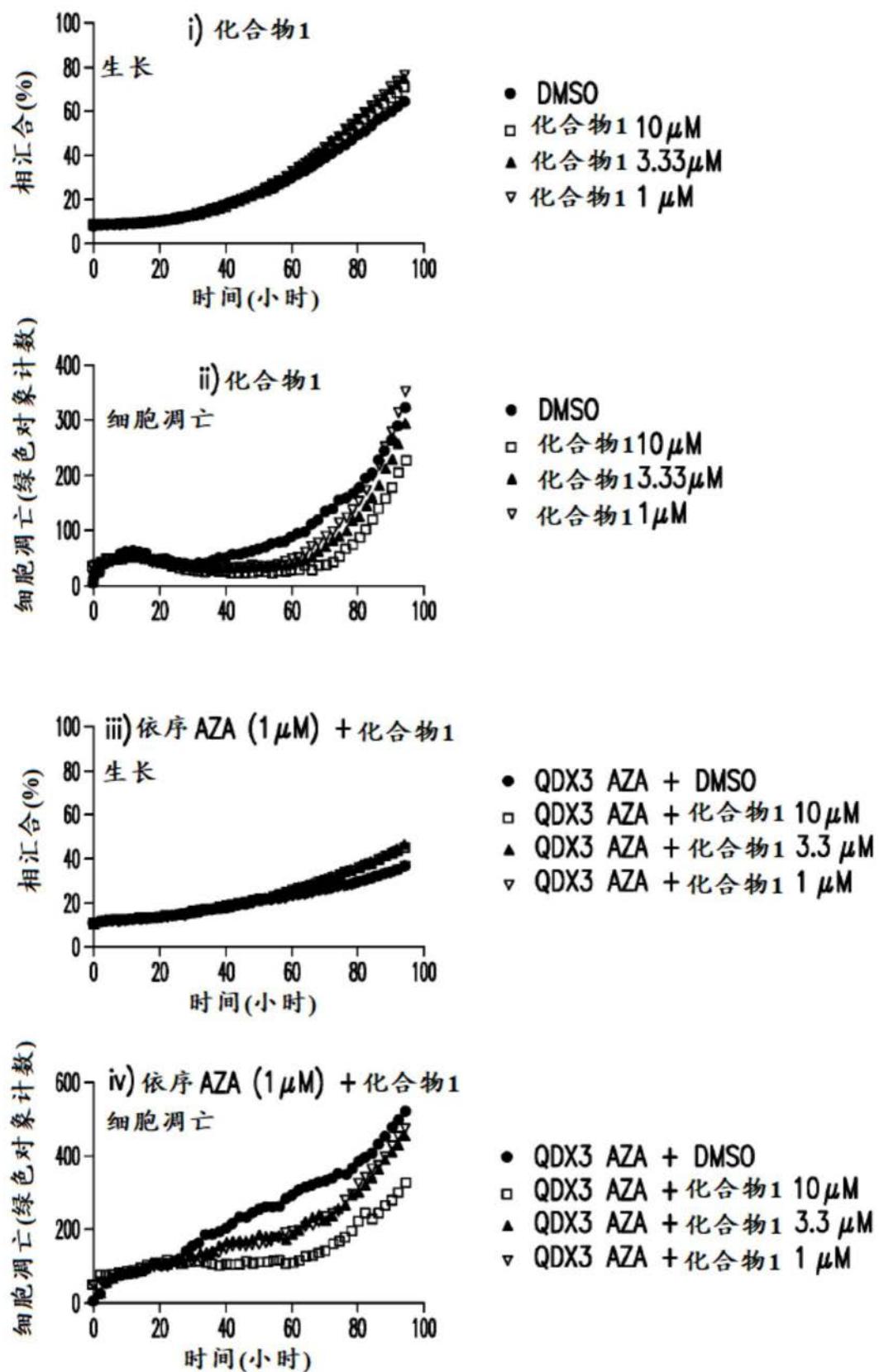


图5

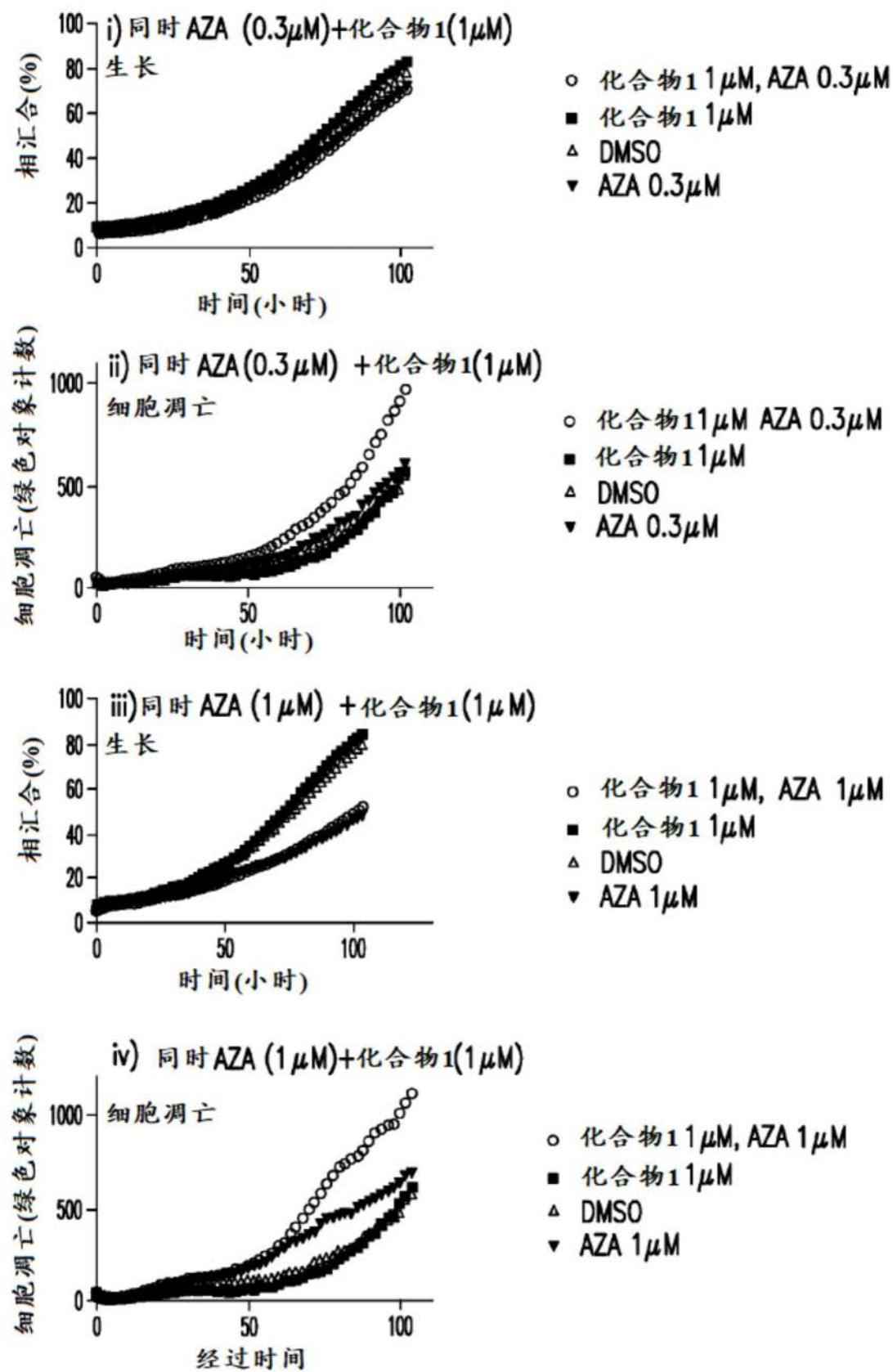


图6

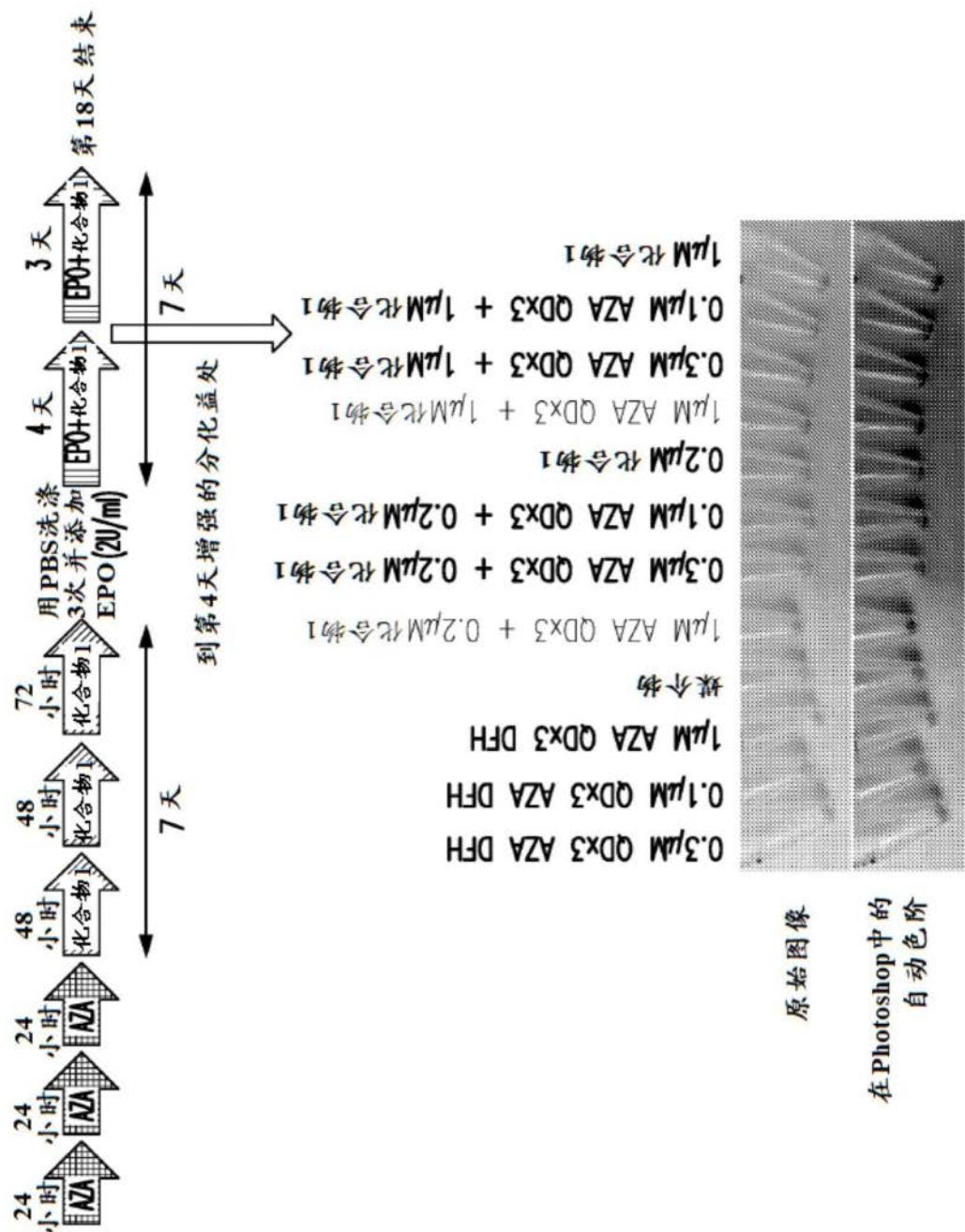


图7

CD34⁺/CD38⁻ = 造血干细胞
CD34⁺/CD38⁺ = 造血祖细胞

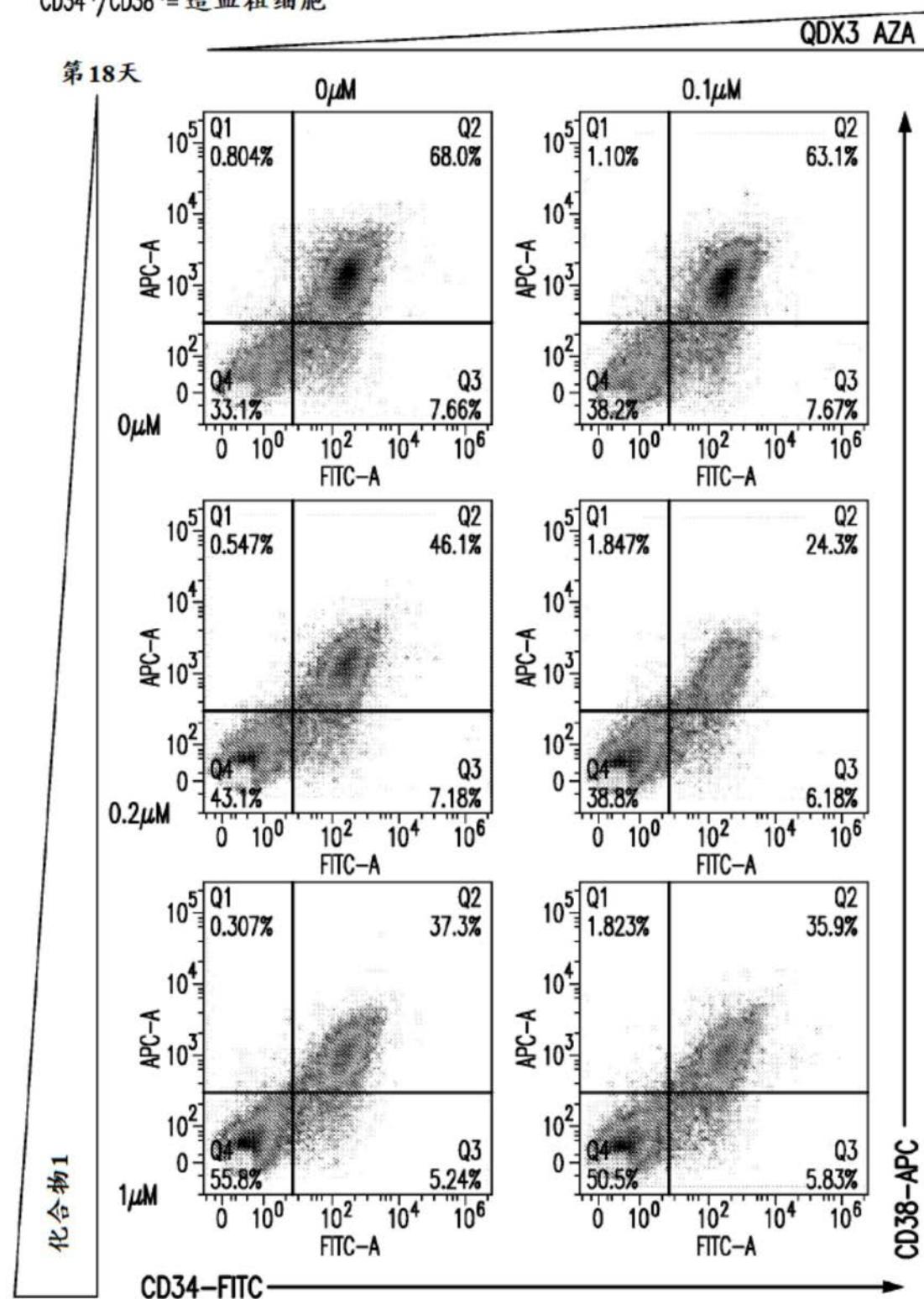


图8A

CD34⁺/CD38⁻ = 造血干细胞
CD34⁺/CD38⁺ = 造血祖细胞

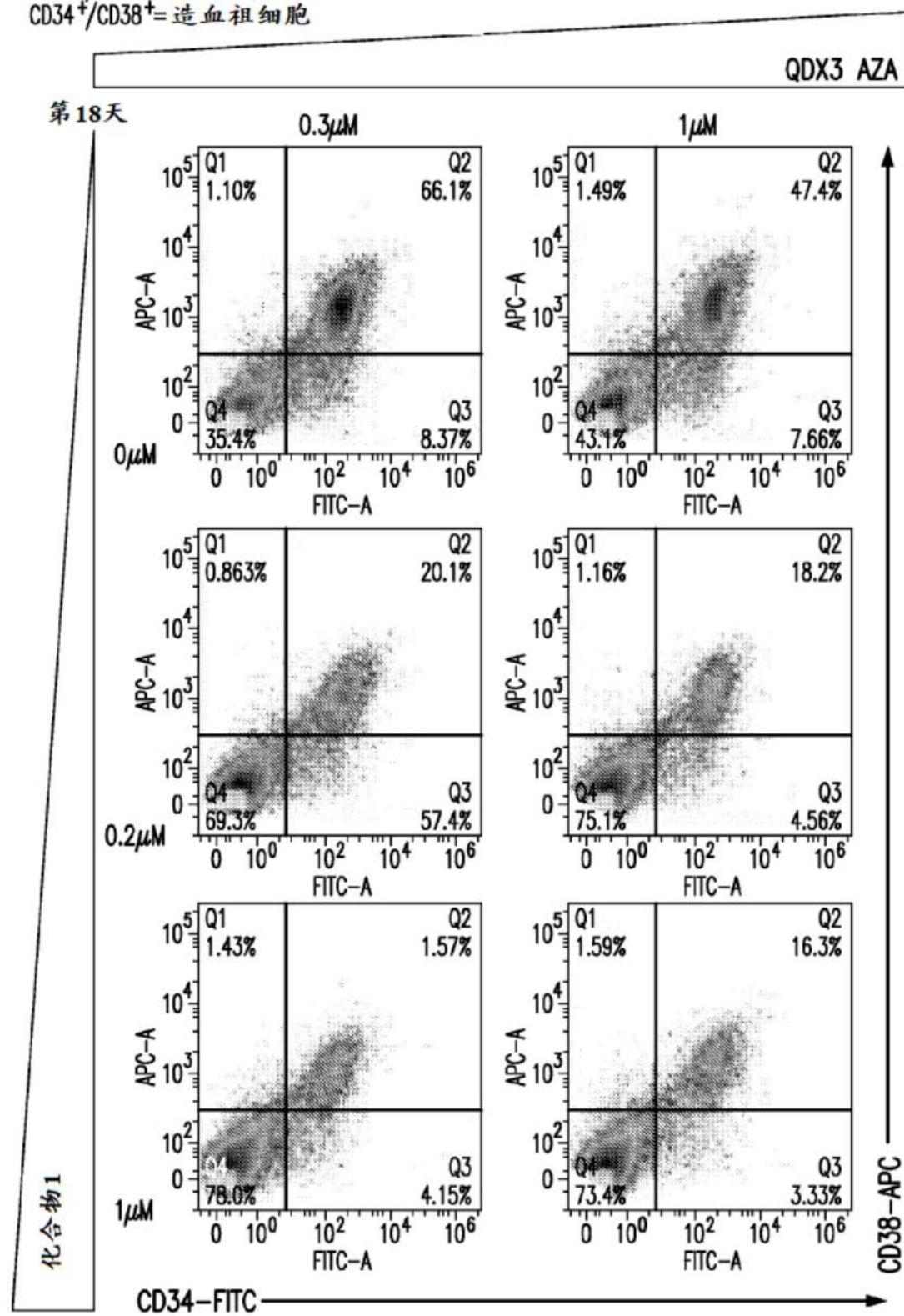


图8A (续)

CD34⁺/CD38⁻ = 造血干细胞
CD34⁺/CD38⁺ = 造血祖细胞

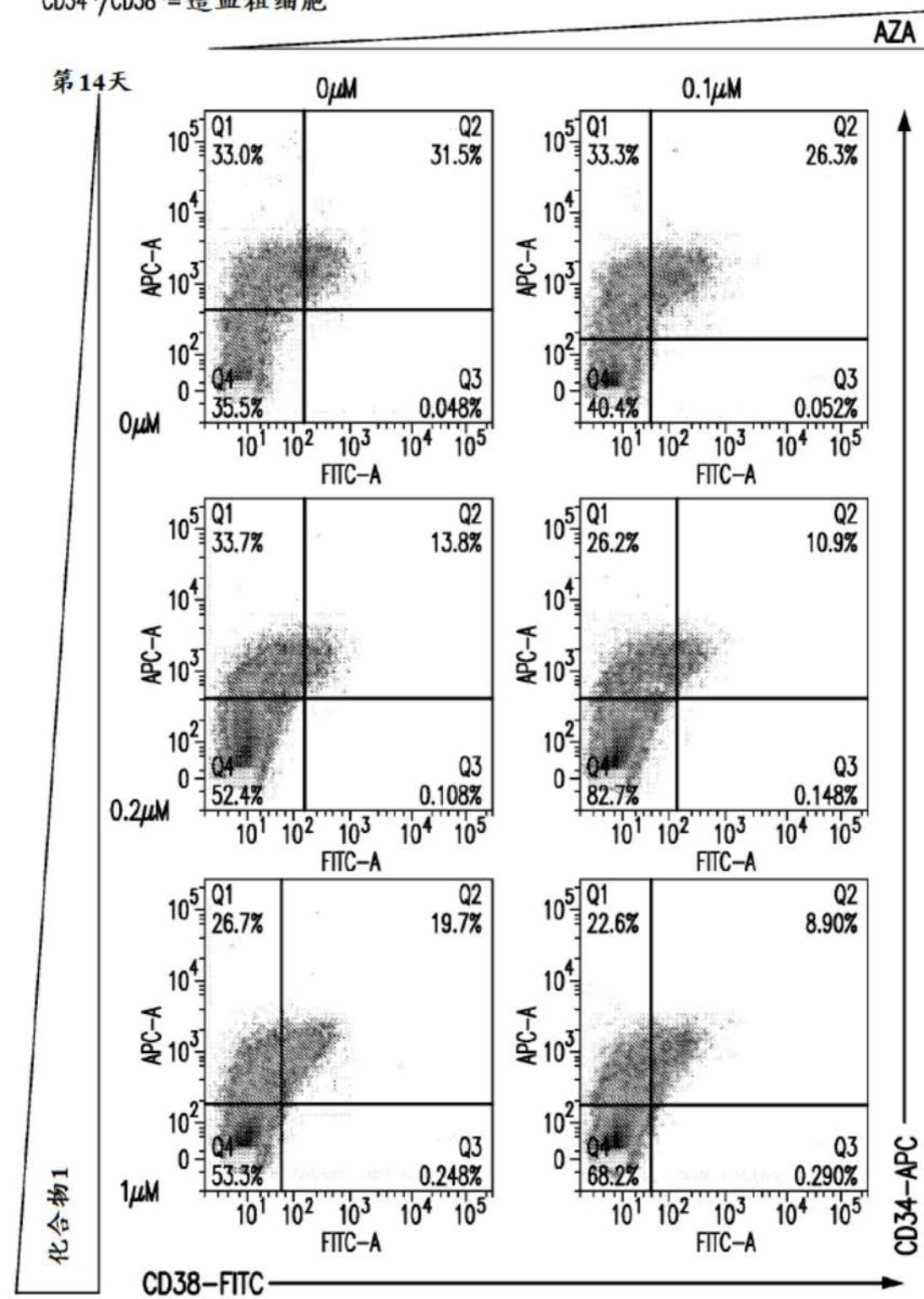


图8B

CD34⁺/CD38⁻ = 造血干细胞
CD34⁺/CD38⁺ = 造血祖细胞

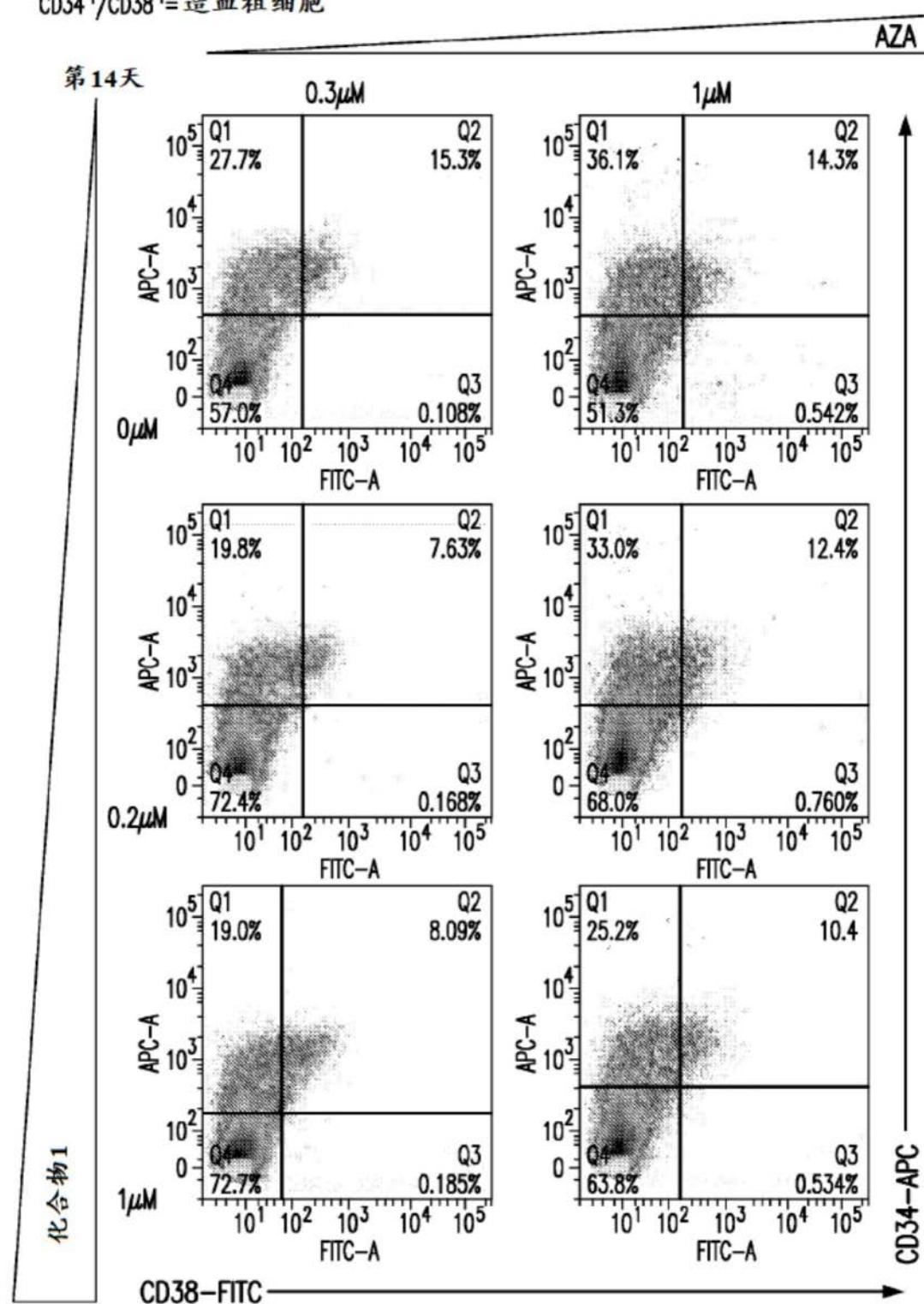


图8B(续)

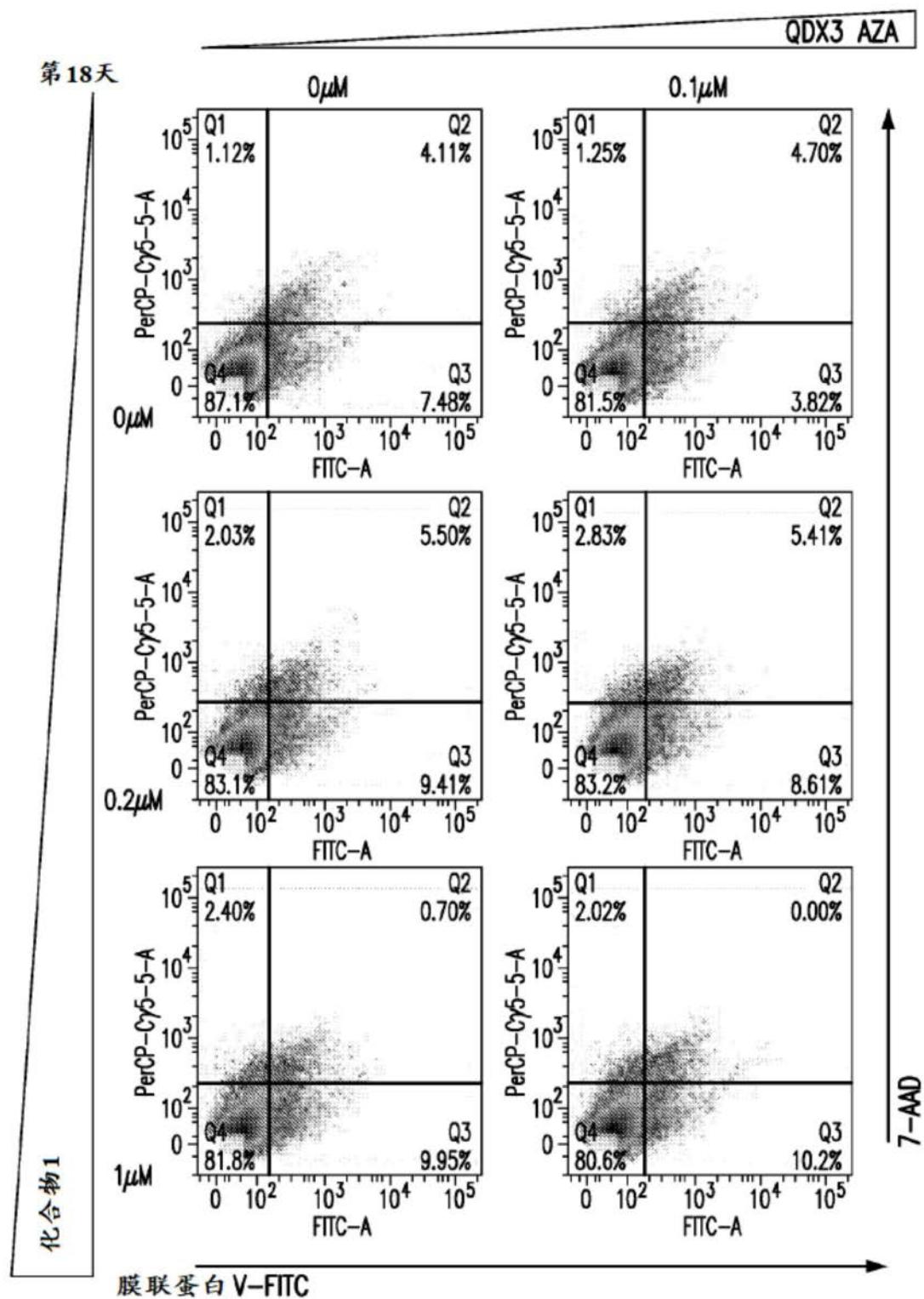


图9A

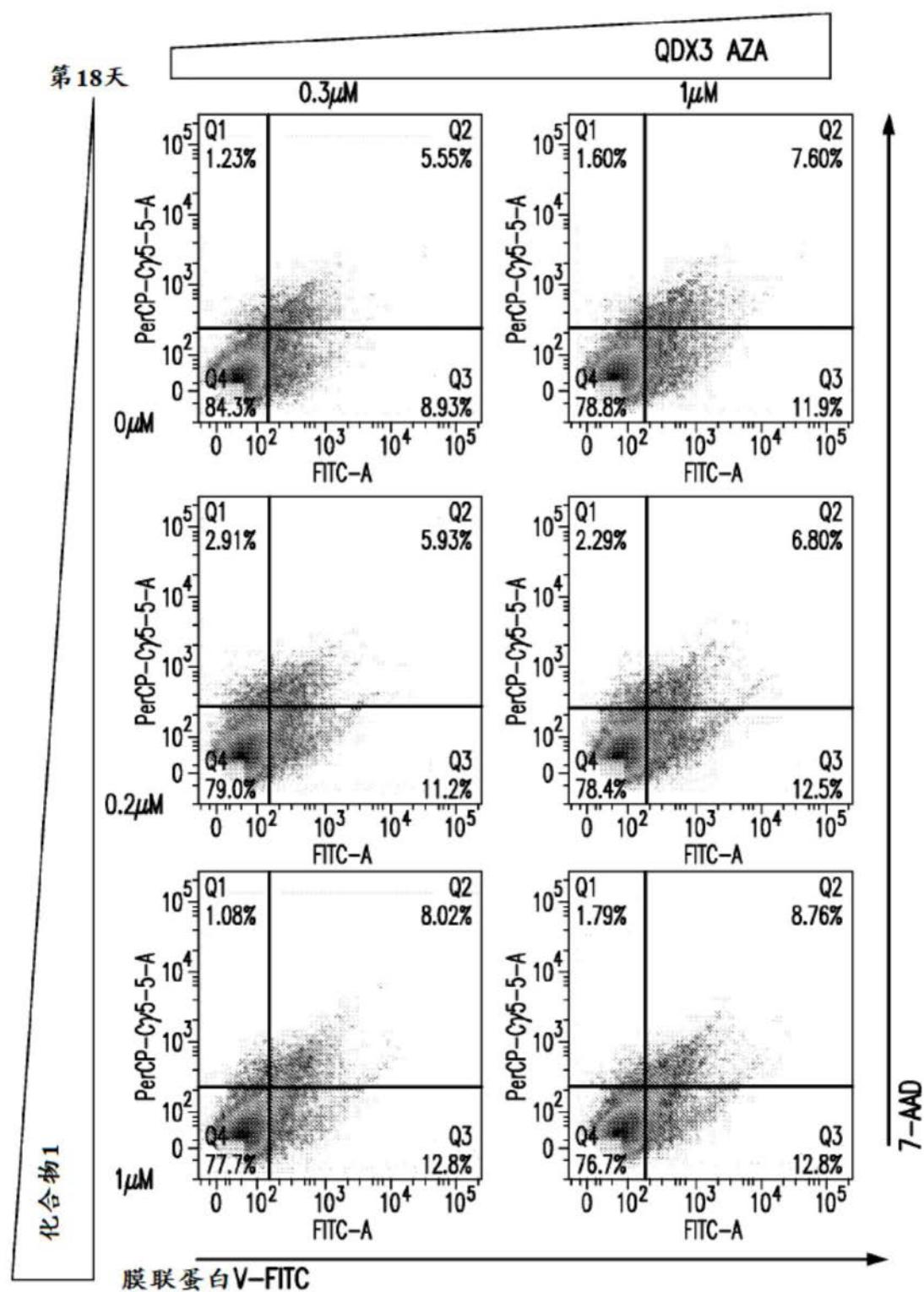


图9A(续)

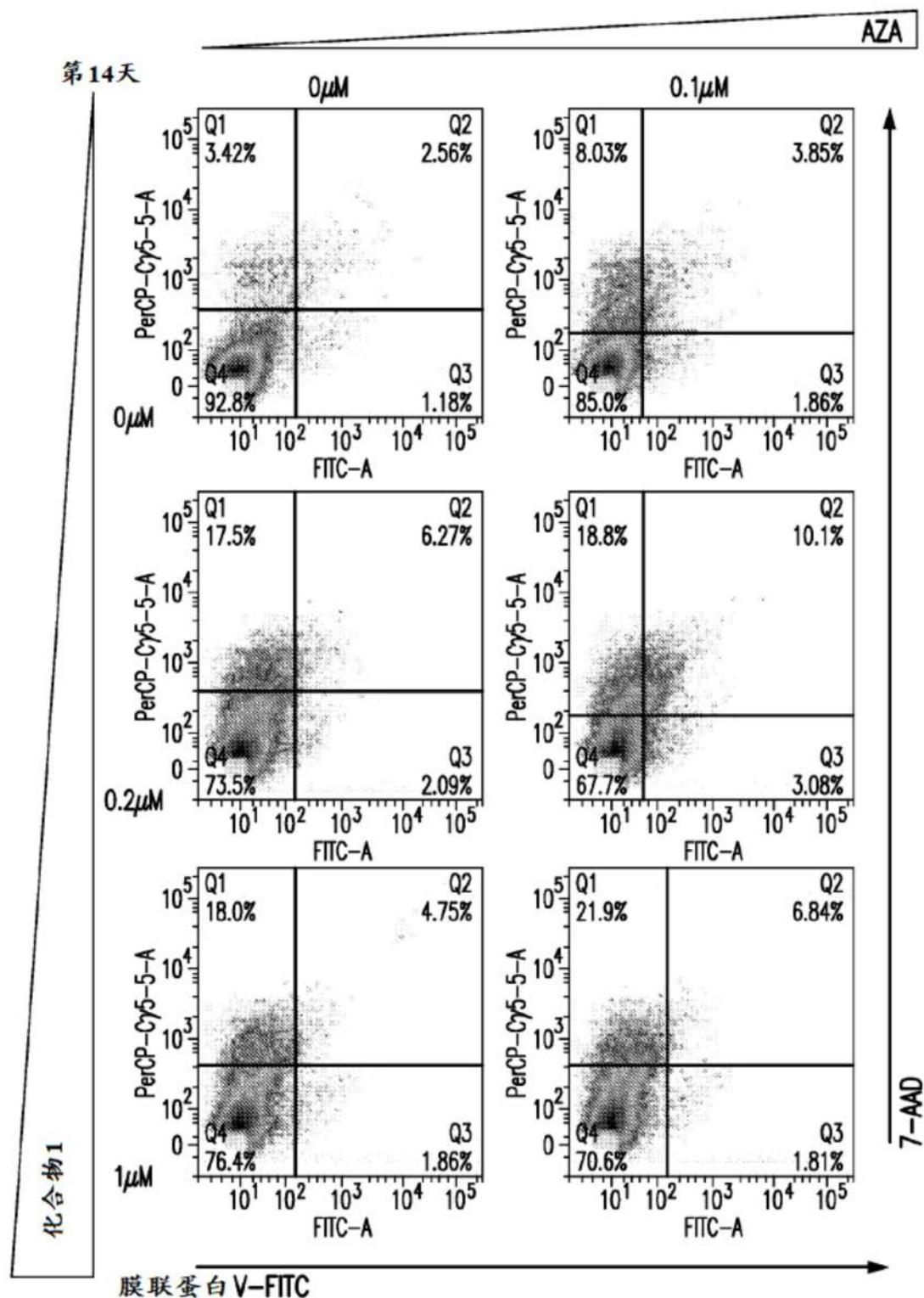


图 9B

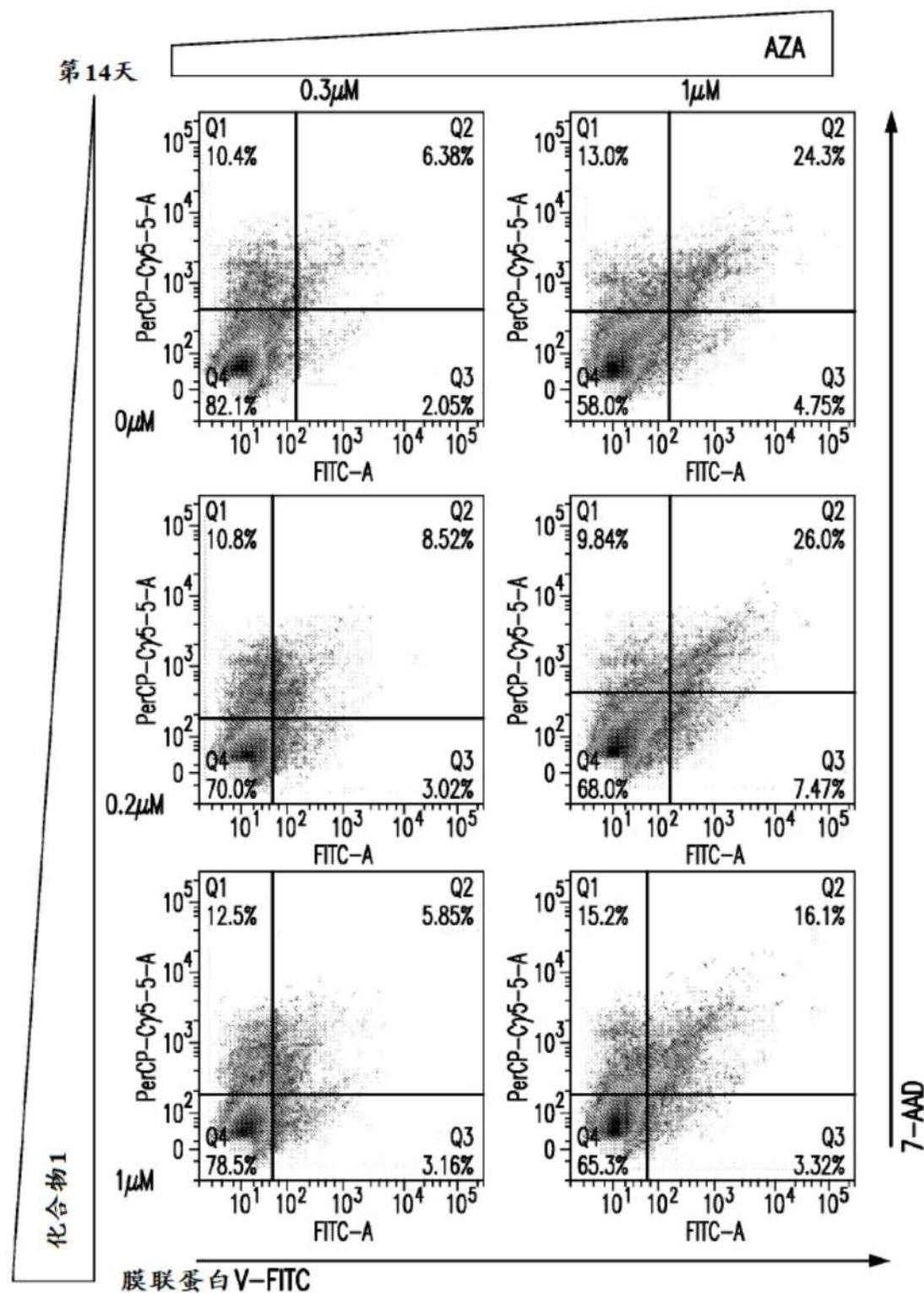


图9B(续)

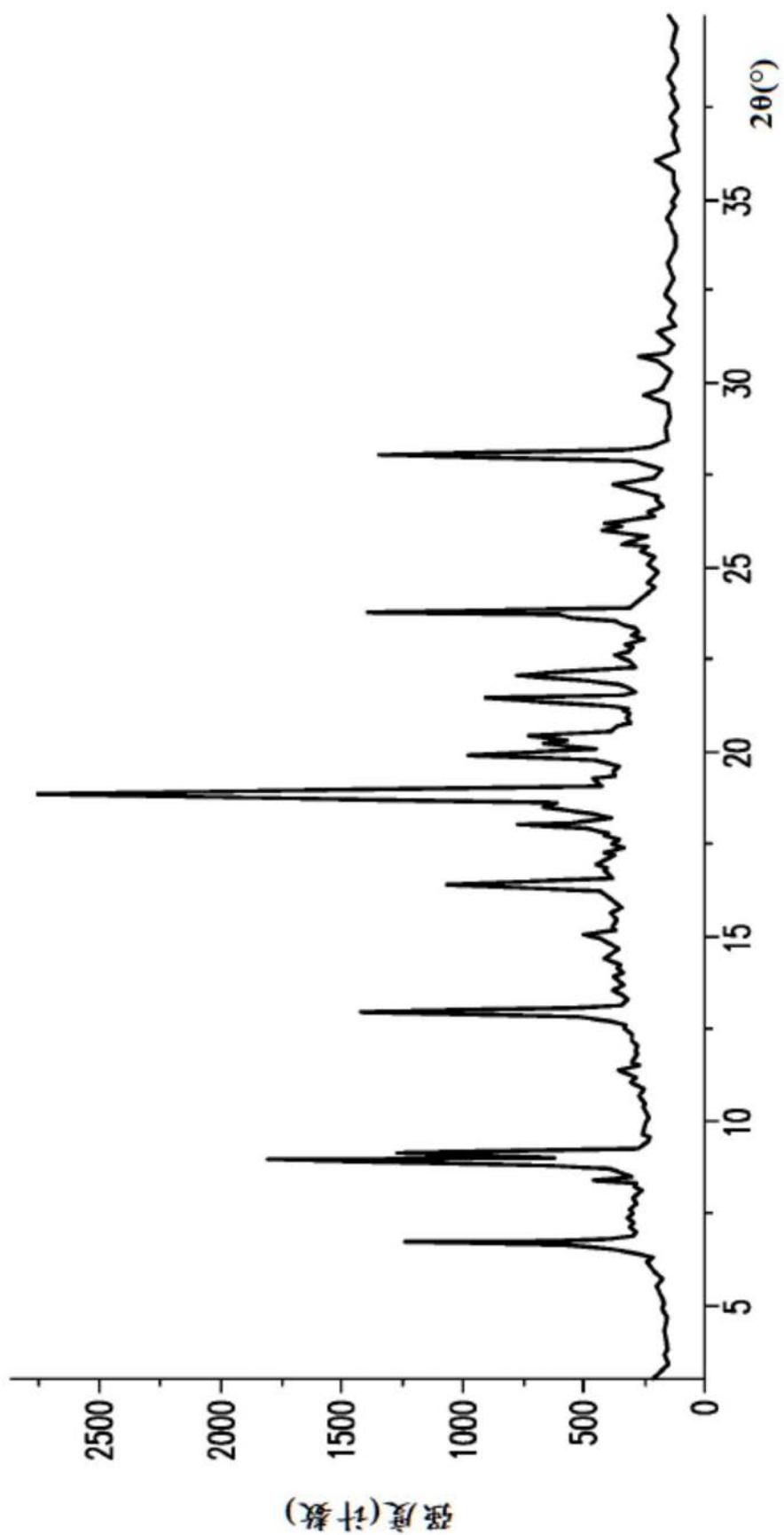


图10

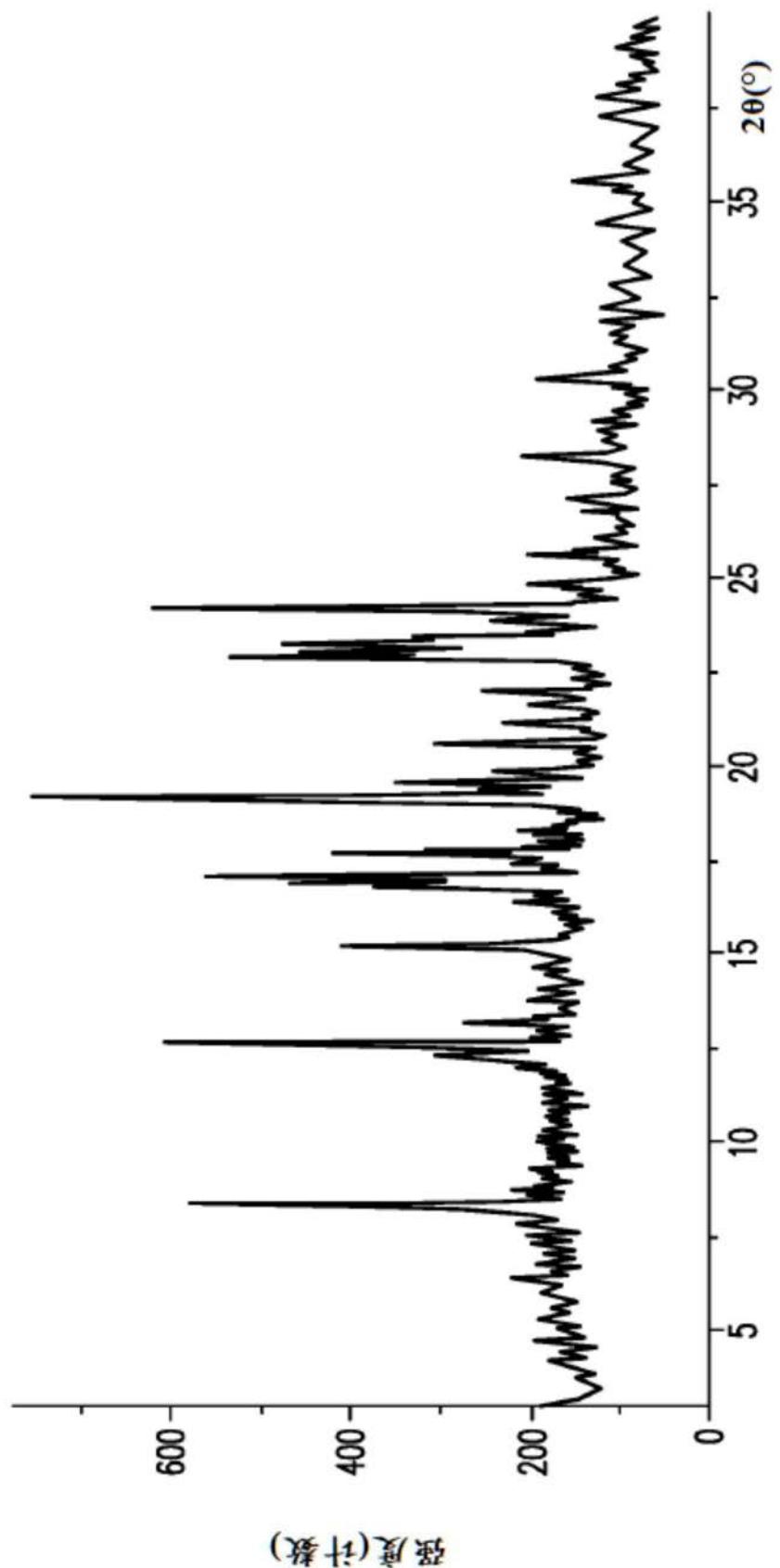


图11

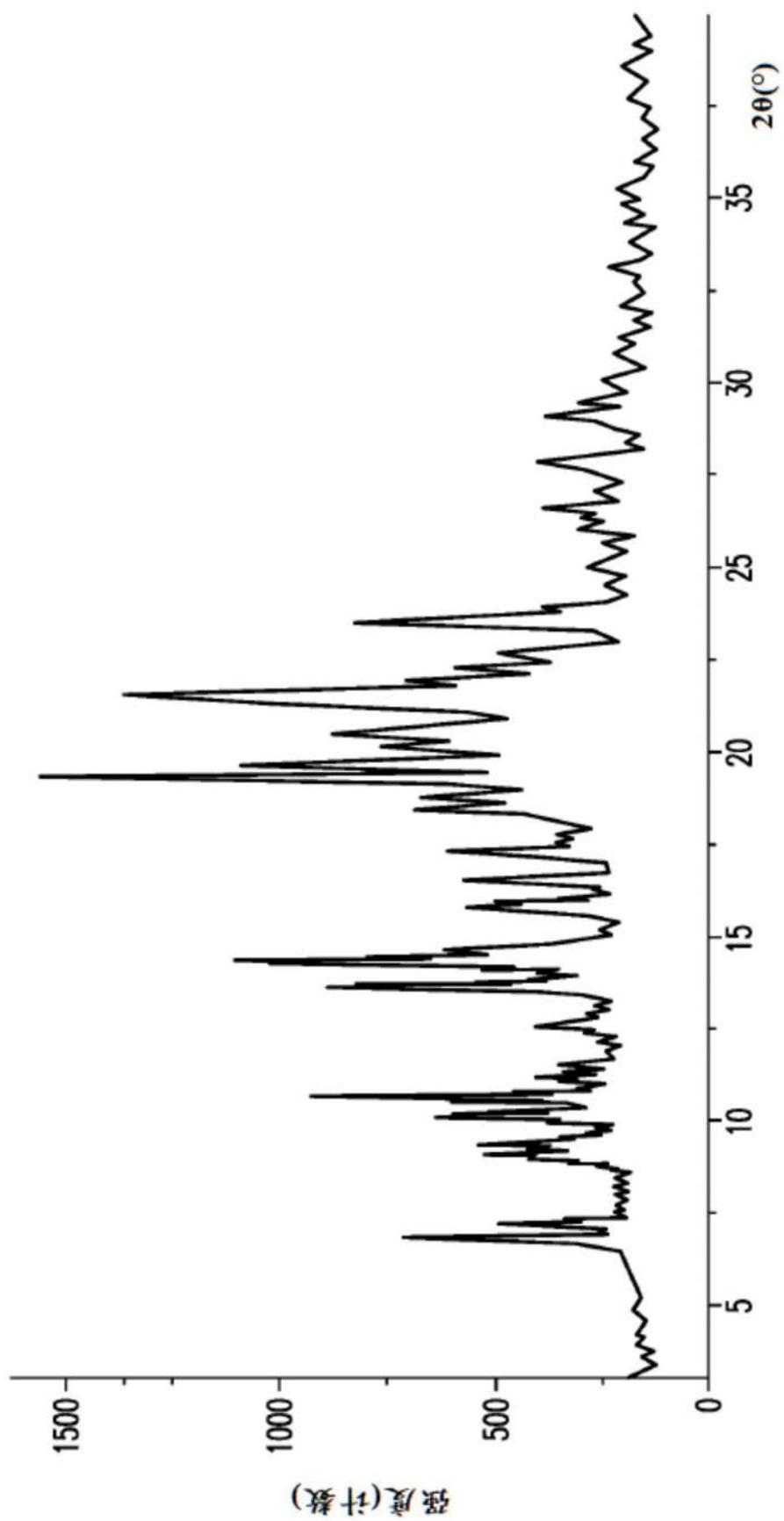


图12

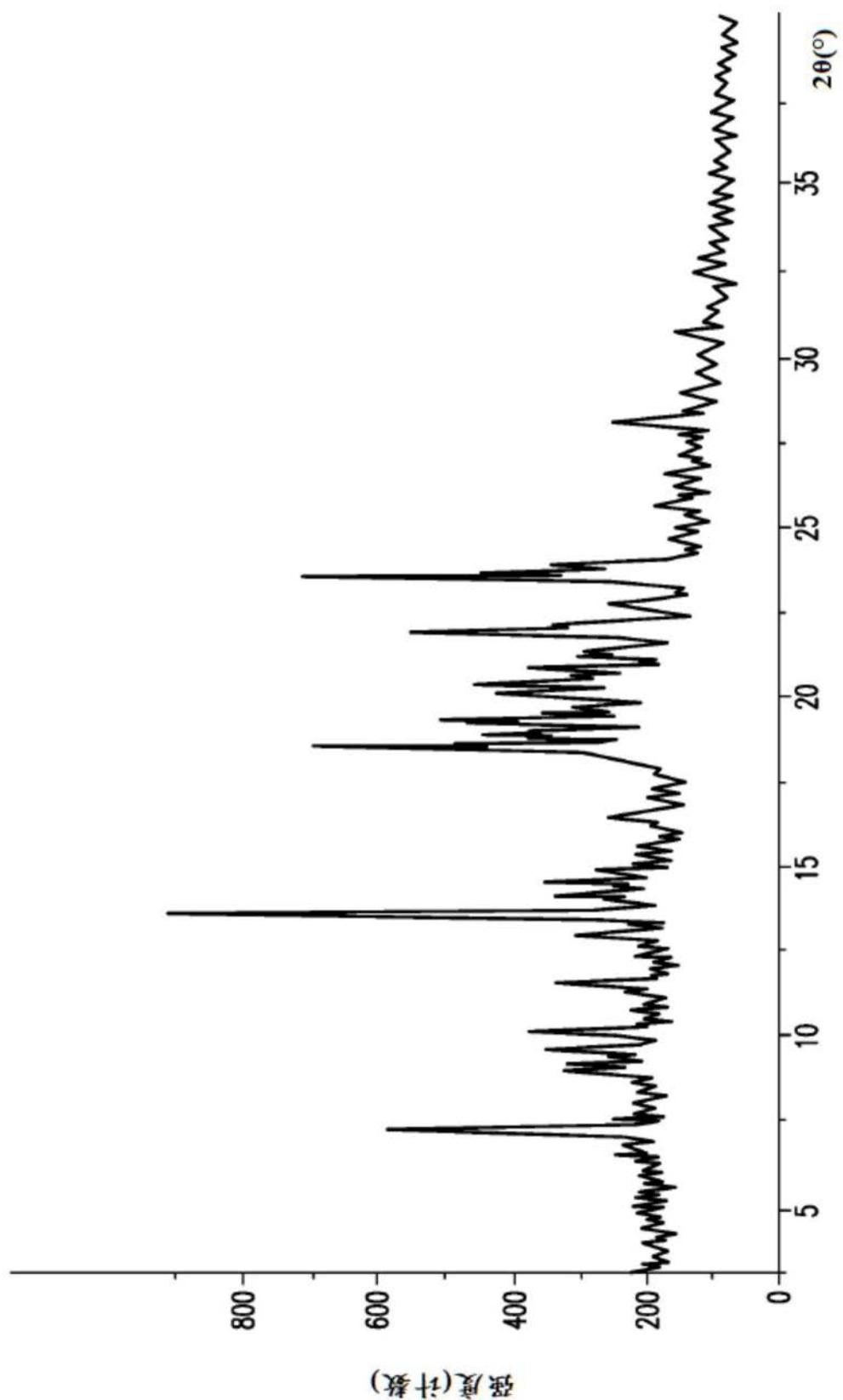


图13

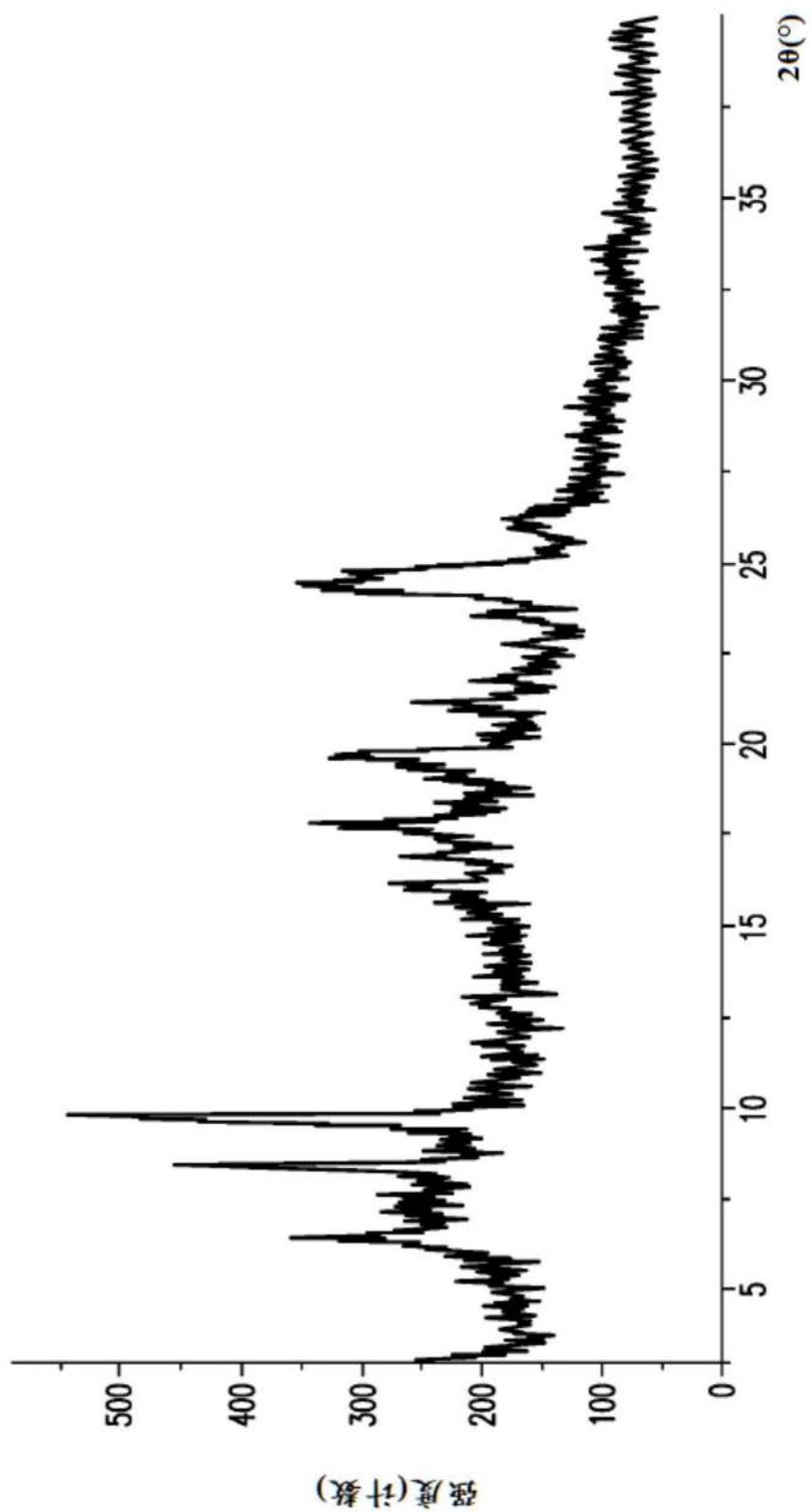


图14

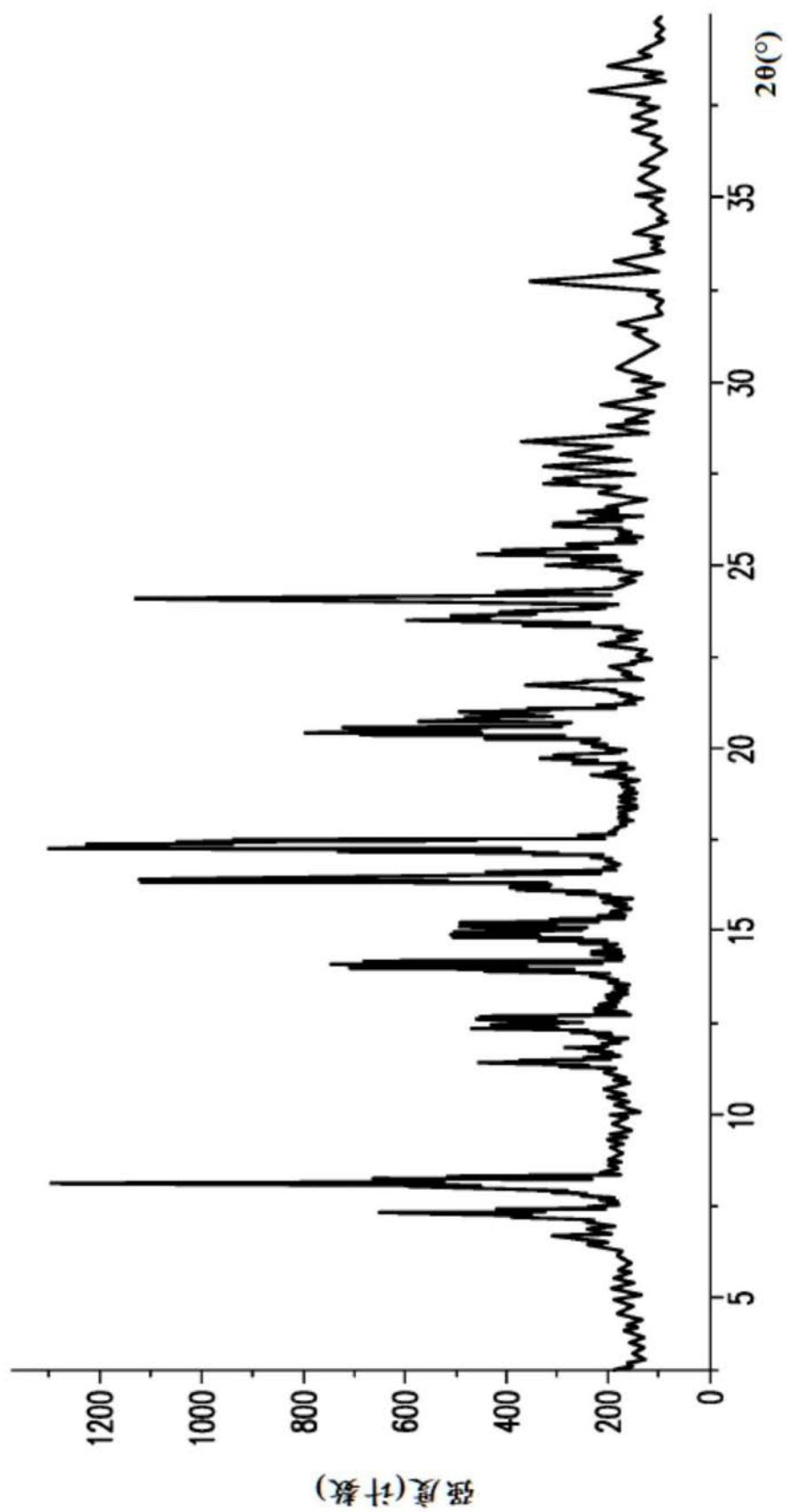


图15