



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108348480 A

(43)申请公布日 2018.07.31

(21)申请号 201680046591.3

(22)申请日 2016.08.19

(30)优先权数据

62/207,709 2015.08.20 US

62/207,760 2015.08.20 US

62/269,756 2015.12.18 US

62/269,511 2015.12.18 US

62/308,924 2016.03.16 US

62/323,422 2016.04.15 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.02.07

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2016/047814 2016.08.19

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/031442 EN 2017.02.23

(71)申请人 益普生生物制药有限公司

地址 英国雷克瑟姆

(72)发明人 S·F·布兰彻特 D·C·德鲁蒙德

J·B·费兹格拉德 V·莫尤

(74)专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

代理人 陈文平 黄海波

(51)Int.Cl.

A61K 31/04(2006.01)

A61K 31/166(2006.01)

A61K 31/416(2006.01)

A61K 31/4184(2006.01)

A61K 31/436(2006.01)

A61K 31/4745(2006.01)

A61K 31/475(2006.01)

A61K 31/502(2006.01)

A61K 31/55(2006.01)

A61K 9/127(2006.01)

A61K 47/06(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

权利要求书2页 说明书40页 附图40页

(54)发明名称

使用脂质体伊立替康和PARP抑制剂用于癌症治疗的组合疗法

(57)摘要

本发明提供了用于治疗癌症的组合疗法,其包括拓扑异构酶-1抑制剂和PARP抑制剂的施用。所述拓扑异构酶-1抑制剂可作为脂质体制剂递送,所述脂质体制剂提供相对于肿瘤外部而言所述拓扑异构酶-1抑制剂在所述肿瘤内的延长的积聚。通过在脂质体伊立替康制剂的每次施用之后将所述PARP抑制剂的所述施用延迟到所述拓扑异构酶抑制剂在所述肿瘤中的积聚充分大于所述肿瘤外部,以导致所述PARP抑制剂和拓扑异构酶抑制剂在所述肿瘤内的功效增加,同时减少所述组合疗法的外周毒性而获得治疗有益效果。本文所公开的疗法可用于患有实体肿瘤(包括宫颈癌)的人癌症的治疗。例如,用脂质体Topi抑制剂例如MM-398和维利帕尼的组合治疗患有癌症

的患者方法。

1. 脂质体伊立替康与多腺苷二磷酸核糖聚合酶 (PARP) 抑制剂组合在抗肿瘤疗法中用于治疗实体肿瘤的用途, 其中所述脂质体伊立替康每两周一次重复施用并且所述PARP抑制剂在所述脂质体伊立替康的连续施用之间的3至10天每天施用, 并且在所述脂质体伊立替康的3天内不施用所述PARP抑制剂。

2. 根据权利要求1所述的用途, 其中所述PARP抑制剂在施用所述脂质体伊立替康时的日子之间的连续的第3天至第10天中的每一天施用。

3. 脂质体伊立替康和多腺苷二磷酸核糖聚合酶 (PARP) 抑制剂在抗肿瘤疗法中用于治疗实体肿瘤的用途, 所述用途包括由以下组成的28天抗肿瘤疗法治疗周期: 在所述治疗周期的第1天和第15天施用所述脂质体伊立替康, 以及在所述脂质体伊立替康之后的至少3天开始且在施用另外的脂质体伊立替康之前的至少1天结束的一天或多天施用所述PARP抑制剂。

4. 根据权利要求3所述的用途, 其中在脂质体伊立替康的所述施用之后的至少3天不施用所述PARP抑制剂。

5. 根据权利要求3-4中任一项所述的用途, 其中在脂质体伊立替康的下一次施用之前的至少3天不施用所述PARP抑制剂。

6. 根据权利要求1-5中任一项所述的用途, 其中在所述抗肿瘤疗法治疗周期的第5天-第12天中的一天或多天施用所述PARP抑制剂。

7. 根据权利要求1-6中任一项所述的用途, 其中在所述抗肿瘤疗法治疗周期的第19天-第25天中的一天或多天施用所述PARP抑制剂。

8. 根据权利要求1-7中任一项所述的用途, 其中在所述抗肿瘤疗法治疗周期的第3天-第12天中的一天或多天施用所述PARP抑制剂。

9. 根据权利要求1-8中任一项所述的用途, 其中在所述抗肿瘤疗法治疗周期的第17天-第25天中的一天或多天施用所述PARP抑制剂。

10. 根据权利要求1-9中任一项所述的用途, 其中所述脂质体伊立替康具有26.8小时的伊立替康最终消除半衰期和38.0微克/毫升的最大伊立替康血浆浓度。

11. 根据权利要求1-10中任一项所述的用途, 其中在所述脂质体伊立替康的所述施用之前或之后的3天内不施用所述PARP抑制剂。

12. 根据权利要求1-11中任一项所述的用途, 其中脂质体伊立替康的每次施用以80mg/m² (盐) 或70 (盐) 或70mg/m² (游离碱) 的剂量施用。

13. 根据权利要求1-12中任一项所述的用途, 其中所述PARP抑制剂的每次施用以约20mg/天至约800mg/天的剂量施用。

14. 根据权利要求1-13中任一项所述的用途, 其中所述PARP抑制剂的每次施用以约20mg/天至约400mg/天的剂量每天施用一次或两次。

15. 根据权利要求1-14中任一项所述的用途, 其中所述PARP抑制剂选自自由以下组成的组: 尼拉帕尼、奥拉帕尼、维利帕尼、芦卡帕尼和talazoparib。

16. 根据权利要求1-15中任一项所述的用途, 其中所述癌症为宫颈癌、卵巢癌、三阴乳腺癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、胃肠道间质瘤、胃癌、胰腺癌、结肠直肠癌或神经内分泌癌。

17. 根据权利要求1-16中任一项所述的用途, 其中所述癌症为宫颈癌并且所述PARP抑

制剂为维利帕尼。

18. 根据权利要求1-17中任一项所述的用途, 其中所述癌症为宫颈癌并且所述PARP抑制剂为奥拉帕尼。

19. 根据权利要求1-18中任一项所述的用途, 还包括使用纳米氧化铁作为成像剂以选择患者接受所述脂质体伊立替康和PARP抑制剂。

20. 根据权利要求19所述的用途, 还包括施用纳米氧化铁并且接着在纳米氧化铁施用24小时后获得所述患者的MRI图像。

使用脂质体伊立替康和PARP抑制剂用于癌症治疗的组合法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求以下美国临时申请的权益：2016年8月20日提交的62/207,709；2015年8月20日提交的62/207,760；2015年12月18日提交的62/269,756；2015年12月18日提交的62/269,511；2016年4月15日提交的62/323,422；以及2016年3月16日提交的62/308,924；所述申请的公开内容特此以引用的方式整体并入。

技术领域

[0003] 本发明涉及使用多腺苷二磷酸核糖聚合酶 (PARP) 抑制剂和拓扑异构酶抑制剂治疗癌症，例如：伊立替康脂质体制剂 (MM-398) 和PARP抑制剂诸如维利帕尼 (veliparib) 的组合治疗癌症。

[0004] 发明背景

[0005] 已经证明了拓扑异构酶 I (Top1) 抑制剂作为抗癌剂是非常有价值的，其中获得官方批准的有用在子宫颈癌、卵巢癌和小细胞肺癌中的拓扑替康以及用在结肠直肠癌中的伊立替康。I型拓扑异构酶是在DNA复制和修复期间切割DNA的一条链以使其松弛的酶。所述抑制剂产生DNA和Top1的稳定复合物，其诱导DNA损伤。改善Top1抑制剂的活性的临床前策略的目的在于提高DNA损伤的水平以促进细胞死亡。

[0006] 纳米脂质体伊立替康 (nal-IRI) 是伊立替康的高度稳定的脂质体制剂，其提供了伊立替康和活性代谢物SN-38在肿瘤中在细胞周期较敏感的S期期间对更高比例细胞的持续暴露。NaI-IRI已经在一定范围的癌症类型中显示出有前景的临床前和临床活性，并且近期在美国被批准在基于吉西他滨的疗法之后疾病进展后与5-FU/LV组合用于患有胰腺的转移性腺癌的患者。

[0007] 多腺苷二磷酸核糖聚合酶 (PARP) 抑制剂是目前开发的用于治疗各种癌症类型的一类新的化疗剂。PARP是参与DNA修复的酶家族。修复途径的抑制导致细胞死亡。

[0008] PARP和Top1抑制剂的组合在体外测定中已经显示出具有协同作用。然而，PARP抑制剂和Top1抑制剂的临床开发由于增加的毒性和所导致的剂量减少而受到限制，从而限制了该组合潜在的临床应用。例如，在维利帕尼和拓扑替康的剂量递增研究中观察到显著的骨髓抑制，其中在第一计划剂量水平下超过了最大耐受剂量。大部分PARP抑制剂至今正在开发来仅作为单一疗法。

[0009] 因此，需要安全且有效地将PARP抑制剂与Top1抑制剂组合起来治疗癌症的方法。本公开满足此需求并且提供其他益处。

[0010] 概述

[0011] 本公开提供以减小的外周毒性向肿瘤施用Top1抑制剂和PARP抑制剂的组合的方法。在一个方面，提供了一种治疗癌症（例如，恶性肿瘤）的方法，所述方法包括包含Top1抑制剂和PARP抑制剂的共同施用的一种或多种情况的治疗方案，共同施用的每种情况包括：(a) 向有需要的患者施用有效量的伊立替康脂质体制剂；以及 (b) 在Top1抑制剂的施用完成之后，向患者施用有效量的PARP抑制剂，其中在允许与同时施用Top1抑制剂和PARP抑制剂

相比外周毒性减小的间隔之后向患者施用PARP抑制剂。

[0012] 本公开提供了通过以减小的外周毒性施用拓扑异构酶抑制剂和PARP抑制剂来治疗癌症的方法。这可通过以下方式实现：以相对于肿瘤外部的部位延长拓扑异构酶抑制剂在肿瘤中的积聚的形式（例如，脂质体伊立替康）施用拓扑异构酶抑制剂，接着随后在拓扑异构酶抑制剂与PARP抑制剂的施用之间的间隔之后向患者施用一种或多种PARP抑制剂。间隔可经过选择，以便为拓扑异构酶抑制剂（例如，伊立替康和/或其代谢物SN-38）提供足够的时间，以在比肿瘤内部更大的程度上清除肿瘤外部的血浆或组织。优选地，该间隔为有效的拓扑异构酶-1抑制剂血浆清除间隔。如本文所用，术语“有效的拓扑异构酶-1抑制剂血浆清除间隔”（例如，伊立替康血浆清除间隔）是结束拓扑异构酶-1抑制剂制剂（例如，脂质体伊立替康）的施用与开始一种或多种PARP抑制剂的施用之间的间隔，其中时间间隔经过选择，以允许从血浆（或周围组织）中充分清除拓扑异构酶-1抑制剂（例如，伊立替康或其活性代谢物SN-38），但是允许有效量的拓扑异构酶-1抑制剂（例如，伊立替康和/或SN38）在随后以有效提供对肿瘤的期望作用（例如，提高位于肿瘤内的组合毒性）的量施用PARP抑制剂期间仍然保留在患者体内的一个或多个肿瘤中。优选地，在一个或多个28天治疗周期中的每一个期间在第1天和第15天完成脂质体伊立替康的施用之后3-5天（例如，3、4或5天）的伊立替康血浆清除间隔之后施用PARP抑制剂。

[0013] 本文公开的治疗癌症的方法包括实体肿瘤的治疗。在某些实例中，所治疗的癌症可选自由以下组成的组：宫颈癌、卵巢癌、三阴乳腺癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、胃肠道间质瘤、胃癌、胰腺癌、结肠直肠癌以及神经内分泌癌。优选地，癌症为宫颈癌。

[0014] 拓扑异构酶抑制剂可提供为脂质体制剂。优选地，拓扑异构酶抑制剂为脂质体伊立替康。脂质体伊立替康可提供26.8小时的伊立替康最终消除半衰期和38.0微克/毫升的最大伊立替康血浆浓度。在一些实例中，脂质体伊立替康可包括包封在具有约110nm的尺寸的磷脂囊泡内的伊立替康蔗糖八硫酸酯。例如，脂质体伊立替康可以是产品ONIVYDE®（伊立替康脂质体注射剂）（Merrimack Pharmaceuticals公司，Cambridge, MA），先前命名为“MM-398”。PARP抑制剂可包括选自由以下组成的组的一种或多种化合物：尼拉帕尼（niraparib）、奥拉帕尼（olaparib）、维利帕尼和芦卡帕尼（rucaparib），优选维利帕尼或奥拉帕尼。

[0015] 拓扑异构酶-1抑制剂优选为脂质体伊立替康（例如，MM-398），其可每2周一次以 $80\text{mg}/\text{m}^2$ （盐）伊立替康的剂量与PARP抑制剂（例如，维利帕尼、奥拉帕尼、尼拉帕尼或芦卡帕尼）组合施用，所述PARP抑制剂在每两周周期期间在施用脂质体伊立替康后3-5天开始每天施用，并且在施用脂质体伊立替康的日子不施用PARP抑制剂（例如，在脂质体伊立替康下一次施用之前的1、2或3天不施用PARP抑制剂）。优选地，在施用脂质体伊立替康3天内（即，不是3天后，也不是3天前）不施用PARP抑制剂。

[0016] 本文提供的治疗癌症的具体方法包括施用由以下组成的抗肿瘤疗法：每2周施用脂质体伊立替康（例如，在28天治疗周期的第1天和第15天），以及在每次施用脂质体伊立替康之后至少3天（例如，3、4或5天）开始每天施用PARP抑制剂一次或多次（例如，每天两次），持续一天或多天（例如，7-9天），并且在抗肿瘤疗法期间不施用其他抗肿瘤剂。例如，一种抗肿瘤疗法是由以下组成的28天治疗周期：在第1天和第15天施用 $70\text{mg}/\text{m}^2$ ONIVYDE/MM-398脂质体伊立替康（游离碱），以及治疗周期的第5天-第12天和第19天-第25天中的每一天施

用治疗有效量的PARP抑制剂(例如,对于维利帕尼,50-400mg,每天两次),其中在治疗周期期间不施用其他抗肿瘤剂。另一种抗肿瘤疗法是由以下组成的28天治疗周期:在第1天和第15天施用70mg/m²ONIVYDE/MM-398脂质体伊立替康(游离碱),以及在治疗周期的第3天-第12天和第17天-第25天中的每一天施用治疗有效量的PARP抑制剂(例如,对于维利帕尼,50-400mg,每天两次),其中在治疗周期期间不施用其他抗肿瘤剂。

[0017] 在一些实施方案中,脂质体伊立替康和PARP抑制剂可在抗肿瘤疗法中组合用于实体肿瘤的治疗,其包括由以下组成的28天抗肿瘤疗法治疗周期:在治疗周期的第1天和第15天施用脂质体伊立替康,以及在脂质体伊立替康之后的至少3天开始且在施用另外的脂质体伊立替康之前的至少1天结束的一天或多天施用PARP抑制剂。在一些实施方案中,在施用脂质体伊立替康之后至少3天不施用PARP抑制剂。例如,可在抗肿瘤疗法治疗周期的第5天-第12天中的一天或多天施用PARP抑制剂,并且在抗肿瘤疗法治疗周期的第19天-第25天中的一天或多天施用PARP抑制剂。在一些实施方案中,在抗肿瘤疗法治疗周期的第3天-第12天中的一天或多天施用PARP抑制剂,并且在抗肿瘤疗法治疗周期的第17天-第25天中的一天或多天施用PARP抑制剂。在一些实施方案中,在施用脂质体伊立替康之前或之后的3天内不施用PARP抑制剂。此外,本文提供了治疗有效剂量的拓扑异构酶抑制剂和PARP抑制剂化合物。在一些实施方案中,脂质体伊立替康的每次施用以80mg/m²(盐)的ONIVYDE/MM-398的剂量施用。在一些实施方案中,PARP抑制剂的每次施用以约20mg/天至约800mg/天的剂量施用。PARP抑制剂的每次施用可以约20mg/天至约400mg/天的剂量每天施用一次或两次。

[0018] 不希望受任何具体操作理论的束缚,据信这一间隔允许从血浆中充分清除Top1抑制剂(例如,伊立替康和SN-38中的任一者或两者)的时间,以避免由Top1抑制剂和PARP抑制剂的组合的协同毒性作用造成的外周毒性,同时允许有效量的Top1抑制剂在PARP抑制剂的随后施用期间仍然保留在患者体内的一个或多个肿瘤中,以具有期望的协同治疗效果。

[0019] 此治疗方案提供一种或多种属性,其可包括与单一药剂治疗相比组合的功效增大;减小的副作用,与PARP抑制剂和非脂质体Top1抑制剂的组合的施用相比以更高剂量给药药物。

[0020] 另外的方面包括为患者提供护理疗法的现有标准,其可或不包括使用适当的单一药剂进行治疗。在一些情况下,护理标准可包括施用PARP抑制剂化合物。

[0021] 因此,在一个方面,本公开提供了一种治疗患有癌症和具有肿瘤的患者方法,所述方法包括:

[0022] i. 向患者胃肠外(例如静脉内)施用有效量的伊立替康脂质体制剂;以及

[0023] ii. 向患者施用有效量的PARP抑制剂,其中PARP抑制剂在有效的伊立替康血浆清除间隔之后施用。

[0024] 如本文所公开的,PARP抑制剂的施用可在施用脂质体伊立替康之后延迟到施用脂质体伊立替康一段时间之后,以允许癌性肿瘤的治疗。

[0025] 附图简述

[0026] 图1A为示出用拓扑异构酶1抑制剂SN-38和各种PARP抑制剂处理的ME-180人宫颈癌细胞的细胞活力体外测量的结果的图。

[0027] 图1B为示出用拓扑异构酶1抑制剂SN-38和各种PARP抑制剂处理的MS-751人宫颈癌细胞的细胞活力体外测量的结果的图。

[0028] 图1C为示出用拓扑异构酶1抑制剂SN-38和各种PARP抑制剂处理的C-33A人宫颈癌细胞的细胞活力体外测量的结果的图。

[0029] 图1D为示出用拓扑异构酶1抑制剂SN-38和各种PARP抑制剂处理的SW756人宫颈癌细胞的细胞活力体外测量的结果的图。

[0030] 图1E为示出用拓扑异构酶1抑制剂SN-38和各种PARP抑制剂处理的SiHa人宫颈癌细胞的细胞活力体外测量的结果的图。

[0031] 图2A为示出用拓扑异构酶抑制剂SN-38和PARP抑制剂芦卡帕尼处理的DMS-114小细胞肺癌细胞的随时间推移的%细胞数量的体外测量的结果的图。

[0032] 图2B为示出用拓扑异构酶抑制剂SN-38和PARP抑制剂芦卡帕尼处理的NCI-H1048小细胞肺癌细胞的随时间推移的%细胞数量的体外测量的结果的图。

[0033] 图2C为示出用拓扑异构酶抑制剂SN-38和PARP抑制剂芦卡帕尼处理的CFPAC-1胰腺癌细胞的随时间推移的%细胞数量的体外测量的结果的图。

[0034] 图2D为示出用拓扑异构酶抑制剂SN-38和PARP抑制剂芦卡帕尼处理的BxPC-3胰腺癌细胞的随时间推移的%细胞数量的体外测量的结果的图。

[0035] 图2E为示出用拓扑异构酶抑制剂SN-38和PARP抑制剂芦卡帕尼处理的MDA-MB-231三阴乳腺癌 (TNBC) 癌细胞的随时间推移的%细胞数量的体外测量的结果的图。

[0036] 图3A为示出用拓扑异构酶抑制剂SN-38和PARP抑制剂talazoparib处理的BT-20三阴乳腺癌 (TNBC) 癌细胞的细胞存活率的体外测量的结果的图。

[0037] 图3B为示出用拓扑异构酶抑制剂SN-38和PARP抑制剂talazoparib处理的HCC38三阴乳腺癌 (TNBC) 癌细胞的细胞存活率的体外测量的结果的图。

[0038] 图4A和4B为示出与其他器官相比在MM-398施用之后在肿瘤中看到的SN-38的延长积聚的图。(A) 以20mg/kg的剂量向携带HT-29结肠直肠癌 (CRC) 肿瘤异种移植物的小鼠静脉内 (IV) 注射MM-398并且在单次注射之后, 在各种时间点 (1、4、8、24、48、72、168小时) 收集组织样品。使用HPLC分析测量这些组织中的SN-38水平。(B) 由在20mg/kg的MM-398之后的肿瘤和正常组织中的SN-38的药代动力学特征计算超过阈值120nmol/L的SN-38持续时间。

[0039] 图5A-5D为示出鼠HT-29结肠直肠癌 (CRC) 异种移植研究中的MM-398PK参数的图。各种剂量的MM-398或游离伊立替康的IV注射之后的血浆CPT-11水平 (A) 或SN-38水平 (B)。在给药等剂量的游离伊立替康 (红色) 或MM-398 (蓝色) 之后, 在各种时间点计算肿瘤CPT-11水平 (C) 或SN-38水平 (D)。使用HPLC分析测量CPT-11及其代谢物SN-38在这些样品中的水平。

[0040] 图6A-6D为示出MM-398在各种癌症模型中的功效的图。将癌细胞皮下植入小鼠中; 当肿瘤建立良好并且达到200mm³的平均体积时, 开始使用游离伊立替康、MM-398或对照进行IV治疗。在每个研究中使用的游离和纳米脂质体伊立替康的剂量在上文指出, 其中通过箭头指示给药时间点。(A) 用仅对照 (○)、药物-和脂质体-游离媒介物; 游离CPT-11 (●); 或纳米脂质体CPT-11 (■) 治疗的BT474乳腺癌模型。(B) 用对照 (黑色) 或MM-398 (蓝色) 治疗的OVCAR8卵巢癌模型。(C) 用对照 (黑色)、游离伊立替康 (红色) 或MM-398 (蓝色) 治疗的HT-29CRC模型。(D) 给药对照 (PBS, 黑色)、游离伊立替康 (红色) 或MM-398 (蓝色) 的原位胰腺肿瘤异种移植模型。

[0041] 图7A和7B为示出来自II期临床研究的PK分析的图。胃癌患者每3周以120mg/m²的

剂量接受MM-398 (深灰色线) 或以300mg/m²的剂量接受游离伊立替康 (较浅灰色线)。在周期1期间测量CPT-11 (A) 及其活性代谢物SN-38 (B)。图7C-7E示出SN-38在肿瘤组织中的局部激活和积聚的临床证据。(C) na1-IRI的理论肿瘤PK模型预测了与血浆相比在肿瘤中更高的SN-38水平。从患有晚期实体肿瘤的患者 (n=12) 的I期研究中收集的实际数据的范围通过黑色 (肿瘤) 或灰色 (血浆) 垂直条指出。(D) CPT-11水平和 (E) SN-38水平, 由MM-398输注后72h收集的患者肿瘤 (黑色) 和血浆 (灰色) 样品测量得到。

[0042] 图8示出MM-398+维利帕尼组合在小鼠中的剂量耐受性研究。在第1天一周一向所有小鼠慢性给药, 随后在第2天-第4天 (A)、第3天-第5天 (B) 或第4天-第6天 (C) 连续3天给药维利帕尼。将小鼠每天称重并且在Y轴上指示%体重增加。体重减轻表明组合的不耐受性。更详细地, 图8A为示出鼠耐受性研究的结果的图, 该研究测量在施用脂质体伊立替康 (15mg/kg、28mg/kg或50-mg/kg的MM398 (盐), 一周一次), 接着在MM-398施用之后的第2天、第3天和第4天每天施用50mg/kg维利帕尼之后的%体重变化。

[0043] 图8B为示出鼠耐受性研究的结果的图, 该研究测量在施用不同剂量的脂质体伊立替康 (15mg/kg、28mg/kg或50mg/kg的MM398 (盐), 一周一次), 接着在MM-398施用之后的第3天、第4天和第5天每天施用50mg/kg维利帕尼之后的%体重变化。

[0044] 图8C为示出鼠耐受性研究的结果的图, 该研究测量在施用不同剂量的脂质体伊立替康 (15mg/kg、28mg/kg或50-mg/kg的MM398 (盐), 一周一次), 接着在MM-398施用之后的第4天、第5天和第6天每天施用50mg/kg维利帕尼之后的%体重变化。

[0045] 图9示出使用固定剂量的MM-398和不同剂量的奥拉帕尼对作为单一疗法或组合的MM-398和奥拉帕尼进行比较的鼠耐受性研究设计的图形表示, 不同的组使用各种给药方案。

[0046] 图10A-D为示出鼠耐受性研究的结果的一系列图, 所述研究测量在单独施用脂质体伊立替康 (10mg/kg)、奥拉帕尼以及在施用MM-398与不同给药方案的奥拉帕尼之后的%体重变化。

[0047] 图11示出MM-398+维利帕尼的组合具有协同作用。利用两种不同的宫颈癌异种移植模型来研究在第1天一周一向给药的MM-398 (蓝色箭头)、在每周的第4天-第6天连续3天每天一次以50mg/kg口服给药的维利帕尼, 或以相同的方案作为组合起来的单一药剂治疗给药的组合的功效。(A) 使用以5mg/kg给药的MM-398的MS751宫颈癌异种移植模型, 以及 (B) 使用以2mg/kg给药的MM-398的C33A宫颈癌异种移植模型。

[0048] 图12A示出MM-398与维利帕尼的组合的体内耐受性结果, 其具有经过调整的下限, 条为SEM。具体地讲, 其示出50mg/kg剂量的MM-398与在MM-398的施用之后的第1天、第2天、第3天或第2天、第3天、第4天或第3天、第4天、第5天给予的50mg/kg维利帕尼的组合的体内耐受性。

[0049] 图12B示出MM-398与维利帕尼的组合的体内耐受性结果。具体地讲, 其示出28mg/kg剂量的MM-398与在MM-398的施用之后的第1天、第2天、第3天或第2天、第3天、第4天或第3天、第4天、第5天给予的50mg/kg维利帕尼的组合的体内耐受性。

[0050] 图13A示出MM-398与维利帕尼组合在MS751异种移植模型中的抗肿瘤功效, 其中维利帕尼在MM-398 (na1-IRI) 施用之后72h给药。具体地讲, 该图示出来自在用脂质体伊立替康 (5mg/kg MM398) 和/或在MM398的施用之后开始的第3天-第5天的PARP抑制剂维利帕尼

(50mpk) 处理的鼠模型中进行的使用MS751宫颈癌细胞的小鼠异种移植模型的数据。

[0051] 图13B示出MM-398与维利帕尼组合在MS751异种移植模型中在动物存活方面的作用。具体地讲,该图示出来自在用脂质体伊立替康(5mg/kg MM398)和/或在MM398的施用之后开始的第3天-第5天的PARP抑制剂维利帕尼(50mpk)处理的鼠模型中进行的使用MS751宫颈癌细胞的小鼠异种移植模型的存活率数据。

[0052] 图13C示出MM-398与维利帕尼组合在MS751异种移植模型中的作用和对体重的作用,其中维利帕尼在MM-398(nal-IRI)施用之后72h给药。具体地讲,该图示出MM-398与维利帕尼组合在使用脂质体伊立替康(5mg/kg MM398)和/或在MM398的施用之后开始的第3天-第5天的PARP抑制剂维利帕尼(50mpk)处理的MS751异种移植鼠模型中的作用。

[0053] 图14示出MM-398与维利帕尼组合在C33A异种移植模型中的抗肿瘤功效,其中维利帕尼在MM-398(nal-IRI)施用之后72h给药。使用C33宫颈癌细胞的小鼠异种移植研究在用脂质体伊立替康(2mg/kg MM398)和/或在MM398的施用之后开始的第3天-第5天的PARP抑制剂维利帕尼(50mpk)处理的鼠模型中进行。

[0054] 图15示出MM-398与维利帕尼组合在C33A异种移植模型中在动物存活方面的作用。在使用C33宫颈癌细胞的小鼠异种移植研究中,用脂质体伊立替康(5mg/kg MM398)和/或在MM398的施用之后开始的第3天-第5天用PARP抑制剂维利帕尼(50mpk)处理鼠模型。

[0055] 图16示出MM-398与维利帕尼组合在C33A异种移植模型和体重中的作用,其中维利帕尼在MM-398(nal-IRI)施用之后72h给药。(5mg/kg MM398)和/或在MM398的施用之后开始的第3天-第5天的PARP抑制剂维利帕尼(50mpk)。

[0056] 图17A和17B示出在宫颈模型中SN-38的体外活性(A)和肿瘤含量(B)。(A)以相同时间或以在SN-38之后24h添加维利帕尼的时间方案用维利帕尼和SN-38处理宫颈癌细胞系,并且使用CTG测定测量细胞活力。测量多个宫颈癌细胞系的体外活性(IC50)。(B)向携带宫颈肿瘤的裸鼠注射单剂量的10mg/kg的nal-IRI并且通过LC-MS测量CPT-11和SN-38的肿瘤含量。

[0057] 图18为采用MM-398(nal-IRI)和维利帕尼的組合的I期研究设计的图形表示。初级端点读出结果(primary endpoint readout)是为了鉴定MTD/RP2D,并且次级端点读出结果(secondary endpoint readout)为AE特征、PK参数以及生物标志物分析,包括用以测量纳米颗粒肿瘤递送和功效的治疗前MRI。

[0058] 图19示出FMX MRI可以是对MM-398的肿瘤反应的预测工具。(A) MM-398和FMX具有类似特性,包括1)延长的PK,2)通过EPR效应(即渗漏的脉管系统)沉积在肿瘤组织中的能力,以及3)通过巨噬细胞摄取。因此,在MRI上进行FMX的可视化可以预测MM-398沉积。图19A为示出纳米氧化铁(FMX)作为使用脂质体伊立替康(例如MM-398)进行癌症治疗的预测性生物标志物的用途的示意图。(B)使用标准曲线由在FMX注射后24h获得的MR图像计算各个患者病灶的FMX浓度。(C)示出相对于在FMX MRI可评价病灶中观察到的中值且相比于基于CT扫描的病灶尺寸的最佳变化(从9名患者中获得的数据,共计31个病灶)对在24h时来自病灶的FMX信号进行分组的图。

[0059] 图20A为示出与施用MM-398(5mg/kg、10mg/kg或20mg/kg)相比,在施用50mg/kg或100mg/kg的游离(非脂质体)伊立替康(CPT-11)之后在肿瘤中测量的肿瘤SN-38(nmol/L)的图。

[0060] 图20B为示出肿瘤生长抑制的水平随产生肿瘤应答所需的SN-38浓度的时间变化的图。

[0061] 图21示出描绘在使用作为单一药剂或组合的SN-38或奥拉帕尼治疗之后的细胞活力的线图。将C-33A(宫颈癌, ATCC®HTB-31™;A)或OVCAR-8(卵巢癌, 来自NCI-60panel;B)、SK-OV-3(卵巢癌, ATCC®HTB-77™;C)或OVCAR-3(卵巢腺癌, ATCC®HTB-161™,D)细胞以1000个细胞/孔在348孔板中涂板并且用SN-38和奥拉帕尼(各自单独或组合)处理24h,洗涤,然后再用新鲜培养基温育72h,然后评估细胞活力。在所测试的所有细胞系中,与用单一药剂处理相比,用SN-38和奥拉帕尼的组合处理细胞减小IC50。

[0062] 详细描述

[0063] 本公开提供一种治疗患有癌症和具有肿瘤的患者方法,所述方法包括可每周或以更长的间隔(例如Q2W、Q3W或Q4W)重复的治疗方案,治疗的每种情况包括:

[0064] i.向患者静脉内施用有效量的Top1抑制剂的伊立替康脂质体制剂,诸如伊立替康、拓扑替康、勒托替康、indotecan以及indimitecan;以及

[0065] ii.向患者施用有效量的PARP抑制剂,其中PARP抑制剂在Top1抑制剂的施用完成之后的间隔(例如,有效的伊立替康血浆清除间隔)之后施用。

[0066] 在另一个实施方案中,所述方法包括:

[0067] i.向患者静脉内施用有效量的具有约26.8小时的最终消除半衰期和约38.0微克/毫升的最大伊立替康血浆浓度的伊立替康脂质体制剂;以及

[0068] ii.向患者施用有效量的PARP抑制剂,其中PARP抑制剂在伊立替康的施用完成之后24小时或至多3天的间隔后施用。

[0069] 在以上两种方法的一些实施方案中,有效的血浆清除间隔为约24至约240小时,诸如,有效的血浆清除间隔为约48至约168小时,例如,约48至约90小时。在以上两种方法、以上实施方案或如本文其他地方所公开的一些实施方案中,有效的血浆清除间隔为2、3、4或5天。在以上两种方法、以上实施方案或如本文其他地方所公开的一些实施方案中,有效量的MM-398为约60mg/m²至约120mg/m²。在以上两种方法、以上实施方案或如本文其他地方所公开的一些实施方案中,有效量的MM-398为约80mg/m²。在以上两种方法、以上实施方案或如本文其他地方所公开的一些实施方案中,PARP抑制剂以约20mg/天至约800mg/天的剂量施用。在以上两种方法、以上实施方案或如本文其他地方所公开的一些实施方案中,PARP抑制剂以其最大耐受剂量的约10百分比至100百分比的剂量施用。在以上两种方法、以上实施方案或如本文其他地方所公开的一些实施方案中,PARP抑制剂以约20mg至约400mg的剂量每天施用一次或两次。在一些实施方案中,PARP抑制剂选自由以下各项组成的组: talazoparib、尼拉帕尼、奥拉帕尼、维利帕尼、iniparib、芦卡帕尼、CEP 9722、talazoparib和BGB-290,例如为维利帕尼。在以上两种方法、以上实施方案或如本文其他地方所公开的一些实施方案中,癌症为宫颈癌、卵巢癌、三阴乳腺癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、胃肠道间质瘤、胃癌、胰腺癌、结肠直肠癌或神经内分泌癌。

[0070] 本发明还提供脂质体伊立替康与多腺苷二磷酸核糖聚合酶(PARP)抑制剂的组合在抗肿瘤疗法中用于治疗实体肿瘤的用途,其中脂质体伊立替康每两周一次重复施用并且PARP抑制剂在脂质体伊立替康的连续施用之间的3至10天每天施用,并且在脂质体伊立替康的3天内不施用PARP抑制剂。PARP抑制剂可在施用脂质体伊立替康的日子之间的连续的

第3天至第10天中的每一天施用。

[0071] 本发明还提供了脂质体伊立替康和多腺苷二磷酸核糖聚合酶 (PARP) 抑制剂在抗肿瘤疗法中用于治疗实体肿瘤的用途,所述使用包括由以下组成的28天抗肿瘤疗法治疗周期:在治疗周期的第1天和第15天施用脂质体伊立替康,以及在脂质体伊立替康之后的至少3天开始且在施用另外的脂质体伊立替康之前的至少1天结束的一天或多天施用PARP抑制剂。在一些实施方案中,在脂质体伊立替康的施用之后的至少3天不施用PARP抑制剂,诸如其中在下一天施用脂质体伊立替康之前的至少3天不施用PARP抑制剂。

[0072] 在本文阐述的用途或方法中的任一个的一些实施方案中,在抗肿瘤疗法治疗周期的第5天-第12天中的一天或多天施用PARP抑制剂。在上文阐述的用途或方法中的任一个的一些实施方案中,在抗肿瘤疗法治疗周期的第19天-第25天中的一天或多天施用PARP抑制剂。在上文阐述的用途或方法中的任一个的一些实施方案中,在抗肿瘤疗法治疗周期的第3天-第12天中的一天或多天施用PARP抑制剂。在上文阐述的用途或方法中的任一个的一些实施方案中,在抗肿瘤疗法治疗周期的第17天-第25天中的一天或多天施用PARP抑制剂。

[0073] 如已经指出的那样,在一些实施方案中,诸如在本部分内所述的方法或用途的一些实施方案中,脂质体伊立替康具有26.8小时的伊立替康最终消除半衰期和38.0微克/毫升的最大伊立替康血浆浓度。在上文阐述的用途或方法中的任一个的一些实施方案中,其中在施用脂质体伊立替康之前或之后的3天内不施用PARP抑制剂。

[0074] 在本文阐述的用途或方法中的任一个的一些实施方案中,以 $80\text{mg}/\text{m}^2$ (盐) 或 $70\text{mg}/\text{m}^2$ (游离碱) 的剂量施用脂质体伊立替康。在本文阐述的用途或方法中的任一个的一些实施方案中,PARP抑制剂的每次施用以约 $20\text{mg}/\text{天}$ 至约 $800\text{mg}/\text{天}$ 的剂量施用。在本文阐述的用途或方法中的任一个的一些实施方案中,PARP抑制剂的每次施用以约 $20\text{mg}/\text{天}$ 至约 $400\text{mg}/\text{天}$ 的剂量每天施用一次或两次。

[0075] 在本文阐述的用途或方法中的任一个的一些实施方案中,脂质体伊立替康以 $80\text{mg}/\text{m}^2$ (盐) 或 $70\text{mg}/\text{m}^2$ (游离碱) 的剂量施用,并且PARP抑制剂以约 $20\text{mg}/\text{天}$ 至约 $800\text{mg}/\text{天}$ 的剂量施用。

[0076] 在本文阐述的用途或方法中的任一个的一些实施方案中,脂质体伊立替康以 $80\text{mg}/\text{m}^2$ (盐) 或 $70\text{mg}/\text{m}^2$ (游离碱) 的剂量施用,并且PARP抑制剂以约 $20\text{mg}/\text{天}$ 至约 $400\text{mg}/\text{天}$ 的剂量每天施用一次或两次。

[0077] 在本文阐述的用途或方法中的任一个的一些实施方案中,其中PARP抑制剂选自以下组成的组:尼拉帕尼、奥拉帕尼、维利帕尼、芦卡帕尼和talazoparib。在本文阐述的用途或方法中的任一个的一些实施方案中,癌症为宫颈癌、卵巢癌、三阴乳腺癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、胃肠道间质瘤、胃癌、胰腺癌、结肠直肠癌或神经内分泌癌。

[0078] 在本文阐述的用途或方法中的任一个的一些实施方案中,癌症为宫颈癌并且PARP抑制剂为维利帕尼。在本文阐述的用途或方法中的任一个的一些实施方案中,癌症为宫颈癌并且PARP抑制剂为奥拉帕尼。

[0079] 在本文阐述的用途或方法中的任一个的一些实施方案中,癌症为宫颈癌并且PARP抑制剂为维利帕尼,脂质体伊立替康以 $80\text{mg}/\text{m}^2$ (盐) 或 $70\text{mg}/\text{m}^2$ (游离碱) 的剂量施用,并且PARP抑制剂以约 $20\text{mg}/\text{天}$ 至约 $800\text{mg}/\text{天}$ 的剂量施用。在本文阐述的用途或方法中的任一个的一些实施方案中,癌症为宫颈癌并且PARP抑制剂为奥拉帕尼,脂质体伊立替康以 $80\text{mg}/\text{m}^2$

(盐)或70mg/m²(游离碱)的剂量施用,并且PARP抑制剂以约20mg/天至约800mg/天的剂量施用。在本文阐述的用途或方法中的任一个的一些实施方案中,癌症为宫颈癌并且PARP抑制剂为维利帕尼,脂质体伊立替康以80mg/m²(盐)或70mg/m²(游离碱)的剂量施用,并且PARP抑制剂以约20mg/天至约400mg/天的剂量每天施用一次或两次。在本文阐述的用途或方法中的任一个的一些实施方案中,癌症为宫颈癌并且PARP抑制剂为奥拉帕尼,脂质体伊立替康以80mg/m²(盐)或70mg/m²(游离碱)的剂量施用,并且PARP抑制剂以约20mg/天至约400mg/天的剂量每天施用一次或两次。

[0080] 在本文阐述的用途或方法中的任一个的一些实施方案中,癌症为宫颈癌并且PARP抑制剂为维利帕尼,脂质体伊立替康以80mg/m²(盐)或70mg/m²(游离碱)的剂量施用,并且PARP抑制剂以约20mg/天至约800mg/天的剂量施用,其中脂质体伊立替康每两周一次重复施用并且PARP抑制剂在脂质体伊立替康的连续施用之间的3至10天每天施用,并且在脂质体伊立替康的3天内不施用PARP抑制剂。在本文阐述的用途或方法中的任一个的一些实施方案中,癌症为宫颈癌并且PARP抑制剂为奥拉帕尼,脂质体伊立替康以80mg/m²(盐)或70mg/m²(游离碱)的剂量施用,并且PARP抑制剂以约20mg/天至约800mg/天的剂量施用,其中脂质体伊立替康每两周一次重复施用并且PARP抑制剂在脂质体伊立替康的连续施用之间的3至10天每天施用,并且在脂质体伊立替康的3天内不施用PARP抑制剂。在本文阐述的用途或方法中的任一个的一些实施方案中,癌症为宫颈癌并且PARP抑制剂为维利帕尼,脂质体伊立替康以80mg/m²(盐)或70mg/m²(游离碱)的剂量施用,并且PARP抑制剂以约20mg/天至约400mg/天的剂量每天施用一次或两次,其中脂质体伊立替康每两周一次重复施用并且PARP抑制剂在脂质体伊立替康的连续施用之间的3至10天每天施用,并且在脂质体伊立替康的3天内不施用PARP抑制剂。在本文阐述的用途或方法中的任一个的一些实施方案中,癌症为宫颈癌并且PARP抑制剂为奥拉帕尼,脂质体伊立替康以80mg/m²(盐)或70mg/m²(游离碱)的剂量施用,并且PARP抑制剂以约20mg/天至约400mg/天的剂量每天施用一次或两次,其中脂质体伊立替康每两周一次重复施用并且PARP抑制剂在脂质体伊立替康的连续施用之间的3至10天每天施用,并且在脂质体伊立替康的3天内不施用PARP抑制剂。

[0081] 在一个实施方案中,癌症为乳腺癌,例如,转移性乳腺癌,其包括乳腺癌相关基因BRCA1或BRCA2中的一个的突变。在另一个实施方案中,癌症为卵巢癌,其包括BRCA1和BRCA2的突变。肿瘤阻遏基因BRCA1和BRCA2的突变与增加的乳腺癌风险(约5倍于没有BRCA突变的人的风险)和/或增加的卵巢癌风险(约10-30倍于没有BRCA突变的人的风险)相关。BRCA相关卵巢癌的统计通常不仅涵盖卵巢自身的癌症,而且还涵盖了腹膜癌以及输卵管的癌症;具有BRCA突变的女性患输卵管癌的比率比正常比率大100倍。BRCA突变还在男性中具有增加的前列腺癌风险。缺乏正常BRCA1或BRCA2(或其他DNA修复酶诸如ATM)的癌细胞相反地取决于PARP调控的DNA修复,因此对于PARP抑制高度敏感。

[0082] 在本文阐述的用途或方法中的任一个的一些实施方案中,方法的使用还包括使用纳米氧化铁作为成像剂,以选择患者接受脂质体伊立替康和PARP抑制剂,例如其中所述方法还包括施用纳米氧化铁,然后在纳米氧化铁施用24小时之后获得患者的MRI图像。

[0083] 伊立替康为Top1抑制剂。伊立替康的化学名为(S)-4,11-二乙基-3,4,12,14-四氢-4-羟基-3,14-二氧代1H-吡喃并[3',4':6,7]-氮茚并[1,2-b]喹啉-9-基-[1,4'-二哌啶]-1'-羧酸酯。还以名称CPT-11和商品名CAMPTOSAR称呼伊立替康。伊立替康充当前药,并

且通过酯酶转化成更具活性的代谢物SN-38。

[0084] 本公开还提供了以减小的外周毒性向肿瘤施用拓扑异构酶-1 (Top1) 抑制剂(例如,伊立替康和/或其代谢物SN-38) 和PARP抑制剂的组合的方法。Top1抑制剂可以脂质体制剂的形式施用,从而导致相比于周围血浆和/或健康器官,Top1抑制剂在实体肿瘤中的积聚延长。随后,可在允许相对于肿瘤内Top1抑制剂的量来说肿瘤外部Top1抑制剂的量减小的时间段之后施用PARP抑制剂。优选地,Top1抑制剂以向实体肿瘤提供SN-38的脂质体伊立替康的形式施用。

[0085] 提供了治疗癌症的方法,以及PARP抑制剂化合物与脂质体伊立替康制剂的组合用于治疗癌症(尤其是包括实体肿瘤癌症)的治疗用途。

[0086] 本文公开的用途和方法部分基于在临床前和人临床研究中评价拓扑异构酶1抑制剂(例如,脂质体伊立替康或SN-38) 和PARP抑制剂的组合的实验。拓扑异构酶1抑制剂在某些体外动物模型中使用制剂施用,所述制剂实现拓扑异构酶1抑制剂(例如,伊立替康和/或命名为SN-38的伊立替康活性代谢物) 在实体肿瘤内比在周围组织和肿瘤外部的血浆中更加延长的暴露。在各种体外实验中对拓扑异构酶1抑制剂SN38和/或伊立替康与PARP抑制剂化合物的组合进行测试。如实施例2中所详述,拓扑异构酶1抑制剂(SN38) 和各种PARP抑制剂的多个组合在多于20种不同的癌细胞系(包括宫颈癌、乳腺癌、卵巢癌、结肠直肠癌、胰腺癌和小细胞肺癌细胞系) 中的体外测试均展示出降低的癌细胞系活力(图1A、1B、1C、1D、1E、2A、2B、2C、2D、2E和17A)。脂质体伊立替康(MM398) 在小鼠异种移植研究中在多个类型的癌细胞系(包括乳腺癌、卵巢癌、结肠直肠癌和胰腺癌细胞系) 中均展示出比非脂质体(游离的) 伊立替康(CPT11) 更大的肿瘤体积减小。

[0087] 如实施例3中所详述,对各种给药方案进行比较,在多个鼠模型中通过测量动物(小鼠) 体重的变化来评价与各种PARP抑制剂组合施用的拓扑异构酶1抑制剂(脂质体伊立替康) 的耐受性。在一些实验中,脂质体伊立替康和PARP抑制剂在同一天(第1天) 一起施用。在其他实验中,从每次施用脂质体伊立替康2、3或4天后开始每天首先施用PARP抑制剂。连续多天(例如,连续3天) 施用PARP抑制剂,并且在拓扑异构酶1抑制剂的同一天不施用。如本文的多个实验中所详述,在脂质体伊立替康之后至少一天施用PARP抑制剂导致PARP抑制剂和脂质体伊立替康(MM-398) 的相当组合剂量的改善的耐受性,如通过动物的百分比体重变化测得的(例如,图10A-10D、8A、8B、8C、12A和12B)。与在同一天施用脂质体伊立替康和PARP抑制剂相比,将PARP抑制剂的施用延迟到施用脂质体伊立替康2、3或4天后导致脂质体伊立替康和PARP抑制剂的组合施用的更大的总体耐受性。例如,在第1天施用脂质体伊立替康之后的第2天、第3天和第4天施用维利帕尼导致这两种药物的组合(在以下条件下观察:在第1天15mg/kg脂质体伊立替康剂量,接着在第2天、第3天和第4天维利帕尼给药;在第1天28mg/kg脂质体伊立替康剂量,接着在第3天、第4天和第5天维利帕尼给药(图12B),或接着在第2天、第3天和第4天维利帕尼给药(图12B);以及在第1天50mg/kg脂质体伊立替康剂量,接着在第4天、第5天和第6天维利帕尼给药,或接着在第2天、第3天和第4天维利帕尼给药或接着在第3天、第4天和第5天维利帕尼给药(图12A)) 的连续增加的耐受性(测量为更高百分比的小鼠体重)。类似地,从MM398之后第2天或第3天开始施用奥拉帕尼导致与在第1天施用两种药剂相比相当或改善的耐受性。例如,在第1天施用10mg/kg MM398脂质体伊立替康之后的第2天、第3天、第4天和第5天向小鼠施用200mg/kg剂量的奥拉帕尼导致与在第1天、第2天、

第3天和第4天施用相同剂量的MM398和奥拉帕尼两者相比更低的体重减轻。

[0088] 在各种临床前体内实验中对拓扑异构酶1抑制剂(SN38和/或伊立替康)和PARP抑制剂化合物的组合进行测试,以评价从施用脂质体拓扑异构酶1抑制剂MM398之后3或4天开始施用各种PARP抑制剂的效果。如实施例4中所详述,在第1天施用脂质体伊立替康(MM398),接着在第3天、第4天和第5天或第4天、第5天和第6天中的任一天施用PARP抑制剂维利帕尼在使用两种不同细胞系(MS751和C33A)的宫颈癌的小鼠异种移植模型中导致减小的肿瘤体积和延长的存活百分比(图11A、11B、13A、13B、14和15)。

[0089] 部分基于这些实验,治疗人癌症的方法包括在施用脂质体拓扑异构酶抑制剂诸如脂质体伊立替康之后的一天或多天(优选2、3、4、5或6天)施用PARP抑制剂。优选地,PARP抑制剂和脂质体伊立替康不在同一天施用。实施例6提供了脂质体伊立替康和一种或多种PARP抑制剂用于治疗人癌症诸如宫颈癌的用途的优选实施方案,同时还提供了其他实施方案(例如,表3)。

[0090] 拓扑异构酶抑制剂,包括脂质体伊立替康和喜树碱缀合物

[0091] 可以在施用拓扑异构酶抑制剂之后与肿瘤外部相比在肿瘤内提供拓扑异构酶1抑制剂活性的延长保持的任何形式施用拓扑异构酶抑制剂。例如,拓扑异构酶抑制剂可以是在体内向肿瘤细胞递送SN-38的、或在施用拓扑异构酶抑制剂之后的一段时间内在肿瘤内提供比肿瘤外部更高的SN-38浓度的量和方式施用的制剂。拓扑异构酶抑制剂的合适的制剂包括拓扑异构酶抑制剂的缀合分子(例如,缀合至聚合物或抗体的喜树碱)、包含拓扑异构酶抑制剂的脂质体或其他靶向释放制剂技术。Top1抑制剂优选地被配制成在肿瘤部位中提供与肿瘤部位外部的健康(非癌症)组织(例如,血浆和/或健康器官,诸如结肠、十二指肠、肾、肝、肺和脾)中的积聚相比延长的积聚。各种Top1抑制剂脂质体制剂描述于美国专利8,147,867和美国专利申请公布2015/0005354中,这两个专利均以引用方式并入本文。

[0092] 在一个实施方案中,拓扑异构酶抑制剂为SN-38、喜树碱或在体内转化成SN-38的化合物,诸如伊立替康。伊立替康和SN-38为Top1抑制剂的实例。伊立替康通过酯酶转化成更具活性的代谢物SN-3。

[0093] 拓扑异构酶抑制剂可以是缀合至生物相容性聚合物诸如环糊精或环糊精类似物(例如,磺化环糊精)的喜树碱。例如,拓扑异构酶抑制剂可以是与喜树碱、伊立替康、SN-38或其他拓扑异构酶1抑制剂化合物化学结合的含环糊精聚合物。环糊精-喜树碱缀合的拓扑异构酶1抑制剂可以药学上可接受的剂量施用,包括每周施用6、12或18mg/m²,或每两周施用12、15或18mg/m²。喜树碱-环糊精缀合的拓扑异构酶1抑制剂(例如,与喜树碱缀合的含环糊精聚合物,命名为“CRLX101”)的实例及其制备所用的相关中间体公开于例如Greenwald等人,Bioorg.Med.Chem.,1998,6,551-562,以及美国专利申请2010/0247668、美国专利申请2011/0160159和美国专利申请2011/0189092中。

[0094] 拓扑异构酶抑制剂也可以是拓扑异构酶抑制剂诸如伊立替康、喜树碱或拓扑替康的脂质体制剂。脂质体伊立替康(例如,MM-398,也称为“nal-IRI”)是伊立替康的高度稳定的脂质体制剂,其提供了伊立替康和活性代谢物SN-38在肿瘤中在细胞周期的较为敏感的S期期间对更高比例细胞的持续暴露。MM-398是已经在一定范围的癌症类型中显示出有前景的临床前和临床活性的脂质体伊立替康,并且近期在美国被批准在基于吉西他滨的疗法之后疾病进展后与5-FU/LV组合用于患有胰腺的转移性腺癌的患者。与游离伊立替康相比,

nal-IRI具有延长的PK特征以及MM-398和SN-38的延长的局部肿瘤暴露。由于SN-38从正常组织中比从肿瘤中更加快速地被清除,因此假设维利帕尼相对于MM-398的延迟给药将允许在不同时间存在维利帕尼毒性的情况下经过最大伊立替康诱导毒性的预期窗口。然而,预测SN-38的肿瘤水平在随后的维利帕尼给药时是持续的,由此维持两种药物在肿瘤组织中同时起作用并且维持协同作用的能力。

[0095] 一种合适的脂质体Top1抑制剂制剂为脂质体伊立替康,其可以品牌名ONIVYDE®(伊立替康脂质体注射剂)(Merrimack Pharmaceuticals公司,Cambridge,MA)获得,在FDA批准之前命名为“MM-398”,以及与ONIVYDE生物等效的脂质体伊立替康产品。

[0096] 如本文所用,术语“MM-398”是指纳米脂质体伊立替康组合物。MM-398的剂量是指基于伊立替康盐酸盐三水合物的分子量的伊立替康的剂量,除非另外清楚地指明。

[0097] 如本文所用,除非另外指明,ONIVYDE/MM-398中伊立替康的剂量是指基于伊立替康盐酸盐三水合物的分子量的伊立替康的剂量(即,“(盐)”剂量),除非另外清楚地指明。剂量也可表示为伊立替康游离碱(即,“(碱)”剂量)。将基于伊立替康盐酸盐三水合物的剂量转换成基于伊立替康游离碱的剂量通过将基于伊立替康盐酸盐三水合物的剂量乘以伊立替康游离碱的分子量(586.68g/mol)与伊立替康盐酸盐三水合物的分子量(677.19g/mol)的比率来实现。该比率为0.87,其可用作转换因子。例如,80mg/m²的基于伊立替康盐酸盐三水合物的剂量等于69.60mg/m²的基于伊立替康游离碱的剂量(80x0.87)。在临床中,将其四舍五入成70mg/m²,以使任何可能的给药误差最小。类似地,120mg/m²的伊立替康盐酸盐三水合物的剂量等于100mg/m²的伊立替康游离碱。

[0098] MM-398伊立替康脂质体注射剂包括包封在脂质体中以用于静脉内使用的伊立替康硫酸酯盐。药物产品脂质体是小的单层脂质双层媒介物,直径为大约110nm,其包封含有处于胶凝或沉淀状态的呈硫酸酯盐形式的伊立替康的含水空间。脂质体载体由以下各项构成:1,2-二硬脂酰-sn-甘油基-3-磷酸胆碱(DSPC),6.81mg/mL;胆固醇,2.22mg/mL;以及以甲氧基为端基的聚乙二醇(MW 2000)-二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺(MPEG-2000-DSPE),0.12mg/mL。每毫升还包含作为缓冲剂的2-[4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基]乙磺酸(HEPES),4.05mg/mL;作为等渗试剂的氯化钠,8.42mg/mL。溶液经缓冲处于pH 7.25。

[0099] ONIVYDE/MM-398已经显示出通过伊立替康分子在脂质体内的高保持,通过延长伊立替康在血浆中的半衰期,以及相比于其他器官肿瘤细胞对伊立替康的增加的暴露来改善游离伊立替康的药代动力学和安全性特征。以下表1提供了在以80mg/m²伊立替康(盐)剂量每2周施用一次施用ONIVYDE/MM-398之后在具有实体肿瘤的患者中观察到的中值(%IQR)*总伊立替康和SN-38药代动力学参数的汇总。

[0100] 具有实体肿瘤的患者中的中值(%IQR)*总伊立替康和SN-38药代动力学参数的汇总。

[0101]

剂量 (mg/m ²)	总伊立替康					SN-38		
	C _{max} [μg/ml]]	t _{1/2} [h] [†]	AUC _{0-∞} [h·μg/ml] †	V _d [L/m ²] [†]	CL [L h/m ²] [†]	C _{max} [ng/ml]]	t _{1/2} [h] [†]	AUC _{0-∞} [h·ng/ml] †
80 (n=25)	38.0 (36%)	26.8 (110%)	1030 (169%)	2.2 (55%)	0.077 (143%)	4.7 (89%)	49.3 (103%)	587 (69%)

[0102] *% IQR: %四分位数间距 = $\frac{\text{四分位数间距}}{\text{均值}} \times 100\%$

[0103] 仅针对在末期具有足够样品数的患者的子组计算[†]t_{1/2}、AUC_{0-∞}和V_d:对于总伊立替康, n=23;对于SN-38, n=13。

[0104] C_{max}:最大血浆浓度

[0105] t_{1/2}:最终消除半衰期

[0106] AUC_{0-∞}:外推到时间无穷大的血浆浓度曲线下面积

[0107] V_d:分布体积

[0108] 对于MM-398,在60至180mg/m²的剂量范围上,总伊立替康和SN-38两者的最大浓度均随剂量线性增加。总伊立替康的AUC随剂量线性增加;SN-38的AUC的增加小于与剂量成比例地增加。总伊立替康和SN-38两者的半衰期均不随剂量变化。在来自353名患者的综合分析中,较高的血浆SN-38C_{max}与经历中性粒细胞减少的可能性增大相关联,并且较高的血浆总伊立替康C_{max}与经历腹泻的可能性增大相关联。脂质体伊立替康的直接测量显示,95%的伊立替康在循环期间保持被脂质体包封。MM-398 80mg/m²的分布体积为2.2L/m²。伊立替康HCl的分布体积在110L/m²(剂量=125mg/m²)与234L/m²(剂量=340mg/m²)之间。MM-398的血浆蛋白结合小于MM-398中总伊立替康的0.44%。伊立替康HCl的血浆蛋白结合为30%至68%,并且大约95%的SN-38与人血浆蛋白结合。来自MM-398 80mg/m²的总伊立替康的血浆清除率为0.077L/h/m²,最终半衰期为26.8h。在施用伊立替康HCl 125mg/m²之后,伊立替康的血浆清除率为13.3L/h/m²,最终半衰期为10.4h。MM398脂质体伊立替康可在患者内部提供伊立替康以及其活性代谢物SN-38,它们分别通过人细胞色素P450 3A4同工酶(CYP3A4)和尿苷二磷酸葡萄糖醛酸基转移酶1A1(UGT1A1)代谢性地清除。伊立替康至活性代谢物SN-38的代谢转化由羧酸酯酶介导。体外研究表明,伊立替康、SN-38和另一种代谢物氨基戊烷羧酸(APC)不抑制细胞色素P-450同工酶。SN-38随后主要缀合酶UGT1A1以形成葡萄糖醛酸苷代谢物。在具有导致减小的酶活性的遗传多态性诸如UGT1A1*28多态性的个体中,UGT1A1活性减小。大约10%的北美人群对于UGT1A1*28等位基因(也称为UGT1A1 7/7基因型)是纯合的。基于群体药代动力学分析的结果,对于UGT1A1*28等位基因(UGT1A1 7/7基因型)纯合和非纯合的患者具有类似的SN-38暴露。伊立替康HCl的尿排泄为11%至20%;SN-38,<1%;并且SN-38葡萄糖醛酸苷,3%。伊立替康HCl及其代谢物(SN-38和SN-38葡萄糖醛酸苷)在施用伊立替康HCl之后48小时的时间段内在两种患者中的累积的胆汁排泄和尿排泄在大约25%(100mg/m²)至50%(300mg/m²)的范围内。使用脂质体包封的¹⁴C-伊立替康在Sprague-Dawley大鼠中进行的质量平衡研究显示,一旦伊立替康从脂质体中释放,即遵循与未包封的伊立替康相同的消除途径。粪便排泄是雄性和雌性大鼠中的主要排泄途径,分别占在168

小时内施用的脂质体包封的¹⁴C-伊立替康的总放射性剂量的78.3%和83.4%。

[0109] 各种伊立替康脂质体制剂描述于美国专利8,147,867和美国专利申请公布2015/0005354中,这两个专利均以引用方式并入本文。据信MM-398包括包封在直径为约100nm的脂质体中的约80,000分子的处于胶凝或沉淀状态的呈硫糖酯盐形式的伊立替康。MM-398已经显示出通过伊立替康分子在脂质体内的高保持,通过延长伊立替康在血浆中的半衰期,以及相比于其他器官肿瘤细胞对伊立替康的增加的暴露而改善伊立替康的药代动力学和安全性特征。

[0110] 在本公开的方法中,有效量的脂质体伊立替康提供为约60mg/m²至约120mg/m²的MM-398。在另一个实施方案中,有效量的MM-398为约80mg/m²,经30分钟任选地与400mg/m²的甲酰四氢叶酸组合施用,之后经46小时以输液的形式静脉内施用2400mg/m²的5-氟尿嘧啶。在一些实施方案中,剂量为70、80、90、100、110或120mg/m²(基于伊立替康盐酸盐三水合物盐的重量)和50、60、70、80、95和100mg/m²(基于伊立替康游离碱的重量)的剂量,各自每两(2)周给予一次(例如,在28天抗肿瘤治疗周期的第1天和第15天)。在一些实施方案中,有效量的MM-398为约90mg/m²(游离碱)。

[0111] 脂质体伊立替康MM-398延长拓扑异构酶1抑制剂SN-38的肿瘤暴露。在多个鼠异种移植模型中发现MM-398脂质体伊立替康比伊立替康更具活性。肿瘤暴露于高于阈值最小浓度(例如,120nM)的拓扑异构酶1抑制剂SN-38的持续时间与脂质体伊立替康的抗肿瘤活性相关。此外,MM-398脂质体伊立替康可提供延长的SN-38肿瘤持续时间,其超过由非脂质体伊立替康提供的那些。例如,图17B示出多个鼠宫颈癌模型中SN-38的肿瘤含量。向携带宫颈肿瘤的裸鼠注射单剂量的10mg/kg的MM-398并且通过LC-MS测量CPT-11和SN-38的肿瘤含量。图20A为示出与施用MM-398(5mg/kg、10mg/kg或20mg/kg)相比,在施用50mg/kg或100mg/kg的游离(非脂质体)伊立替康(CPT-11)之后在肿瘤中测量的肿瘤SN-38(nmol/L)的图。该图示出使用携带HT-29结肠直肠癌(CRC)肿瘤异种移植物的鼠获得的在脂质体伊立替康(MM-398)施用之后相比于其他器官在肿瘤中测得的SN-38(浓度)的延长积聚。图20B为示出肿瘤生长抑制的水平随产生肿瘤应答所需的SN-38浓度的时间变化的图。120nM的SN-38水平被鉴定为产生肿瘤应答所需的SN-38肿瘤浓度。可使用作用于细胞系的SN-38的体外IC₅₀作为体内阈值(对于HT-29,观察到GI₅₀为约60nM)。观察到MM-398脂质体伊立替康在10mg/kg和20mg/kg的剂量下延长SN-38暴露的持续时间。

[0112] PARP抑制剂

[0113] 在本公开的方法中,PARP抑制剂选自由以下组成的组:talazoparib、尼拉帕尼、奥拉帕尼、维利帕尼、iniparib、芦卡帕尼、CEP 9722或BGB-290。在另一个实施方案中,PARP抑制剂为维利帕尼。

[0114] PARP是参与DNA修复的酶家族,其通过两种机制起作用:催化抑制和PARP-DNA复合物的捕获,并且这一修复途径的抑制可导致在DNA损伤之后细胞死亡。在优选的实施方案中,将PARP抑制剂与Top1抑制剂组合起来在临床上导致与任一单独药剂相比增加的功效。虽然已经证实了PARP抑制剂与Top1抑制剂之间的协同作用是由PARP催化抑制造成的,并且不涉及PARP捕获,但是对于这些组合而言,这种有前景的临床前活性已经产生了在临床上不可接受的毒性。

[0115] PARP抑制剂可选自抑制多腺苷二磷酸核糖聚合酶(PARP)(参与DNA修复的酶家族)

的化合物。优选地,PARP抑制剂为通过两种机制起作用的化合物:催化抑制和PARP-DNA复合物的捕获。PARP抑制剂可以是一种或多种临床上可获得的PARP抑制剂化合物(例如,talazoparib、尼拉帕尼、奥拉帕尼和维利帕尼等等),包括可通过两种机制起作用(尽管程度不同)的化合物。例如,尼拉帕尼在PARP捕获上比维利帕尼有效得多,而两者表现出类似的PARP催化活性。

[0116] 在另一个实施方案中,PARP抑制剂为维利帕尼、奥拉帕尼、芦卡帕尼或尼拉帕尼。在另一个实施方案中,PARP抑制剂为维利帕尼或奥拉帕尼。PARP抑制剂可以是在脂质体伊立替康之后施用的维利帕尼。PARP抑制剂可以是在脂质体伊立替康之后施用的奥拉帕尼。

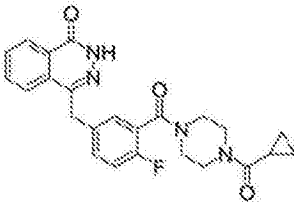
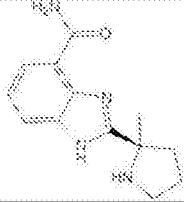
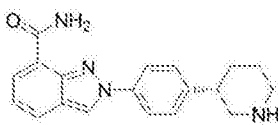
[0117] 奥拉帕尼在先前已经用三线或更多线化疗治疗的患有有害或疑似有害种系BRCA突变的(如通过FDA批准的测试所检测的)晚期卵巢癌的患者中被指示为单一疗法。对此指示奥拉帕尼的推荐剂量为400mg(8颗50mg胶囊),每天两次服用,总日剂量为800mg。服用奥拉帕尼的患者被指示避免同时使用强和中等CYP3A抑制剂并且考虑具有较小CYP3A抑制的替代药剂。如果抑制剂不可避免,那么将Lynparza剂量减少至150mg(三颗50mg胶囊),每天服用两次(对于强CYP3A抑制剂),或200mg(四颗50mg胶囊),每天服用两次(对于中等CYP3A抑制剂)。

[0118] PARP抑制剂可抑制PARP 1和/或PARP 2。例如,PARP抑制剂可以是在无细胞测定中具有5nM/1nM的IC₅₀并且对端锚聚合酶-1的有效性低300倍的PARP1/2抑制剂(例如,奥拉帕尼)。PARP抑制剂可以是在无细胞测定中分别具有5.2nM和2.9nM的K_i且对SIRT2没有活性的PARP 1和PARP2的抑制剂(例如,维利帕尼)。PARP抑制剂可以是在无细胞测定中具有1.4nM的K_i的PARP1的抑制剂,并且对于其他PARP结构域也可显示出结合亲和力(例如,芦卡帕尼)。PARP抑制剂可单独或与其他药剂组合地对三阴乳腺癌(TNBC)有效。PARP抑制剂可以是在无细胞测定中具有0.58nM的IC₅₀的PARP1抑制剂,其不抑制PARG并且对PTEN突变敏感(例如,talazoparib)。PARP抑制剂可以是具有46nM的IC₅₀且对于TNKS 1/2具有25nM的IC₅₀的有效且具有选择性的端锚聚合酶抑制剂(例如,G007-LK)。PARP抑制剂可以是在无细胞测定中具有小于约5nM的K_i的PARP 1的有效抑制剂(例如,AG-14361)。PARP抑制剂可以是具有0.3微摩尔的IC₅₀的PARP 2的选择性抑制剂,并且对PARP 1可具有约27倍的选择性(例如,UPF-1069)。PARP抑制剂可以是对于PARP 3具有约0.89微摩尔的IC₅₀以及约7倍于PARP 1的选择性的有效且具有选择性的抑制剂(例如,ME0328)。PARP抑制剂可以是分别具有1nM和1.5nM的K_i值的PARP 1和PARP2的抑制剂。

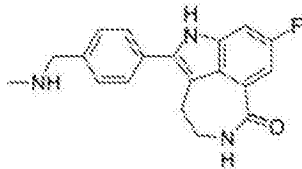
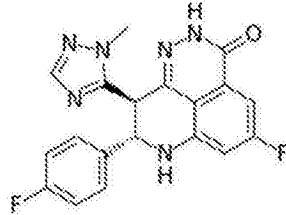
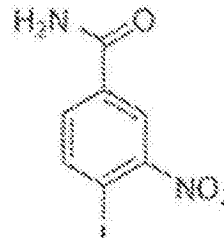
[0119] PARP抑制剂的优选实例,以及药学上可接受的前药、盐(例如,甲苯磺酸盐)及其酯提供于以下表2A中。

[0120] 表2A:PARP抑制剂的实例

[0121]

奥拉帕尼(AZD-2281)	
维利帕尼(ABT-888)	
尼拉帕尼(MK04827)	

[0122]

芦卡帕尼(AG 014699)	
Talazoparib (BMN-673)	
Iniparib (BSI-201)	

[0123] PARP抑制剂的剂量和给药频率可基于PARP抑制剂的各种特征进行选择,包括化合物的药代动力学特性(例如,半衰期)、之前的给药方案以及患者特征。可用于选择PARP抑制剂剂量的参数包括以下表2B中列出的那些。

[0124] 此外,可选择患者来接受将拓扑异构酶抑制剂和PARP抑制剂组合起来的治疗。例如,可基于患者在BRCA方面的状态(例如,BRCA1、BRCA2)、同源重组缺陷(HRD)、BROCA-HR或患者的其他遗传风险小组(panel)分析进行选择。

[0125] 表2B一些PARP抑制剂的特征

[0126]

特征	维利帕尼	奥拉帕尼	芦卡帕尼	尼拉帕尼	Talazopari b
分子量	244.3	434.5	323.4	320.4	380.4
PA RP1 IC50	4.73-5.2	1.94-5	1.4-1.98	2.1-3.8	0.57-1.2
PA R EC50	5.9	3.6	4.7		2.5
单一疗法 给药	200-400 mg BID	300 mg BID	240-600 mg BID	300 mg QD	1 mg QD
CD x	BRCA	BRCA、 HRD	HRD	BRCA 、HR	HRD、HR

[0127] 在本公开的方法中,PARP抑制剂以治疗有效剂量(例如,针对PARP抑制剂单一疗法选择的剂量,诸如对于维利帕尼约200mg/天至约800mg/天)施用。在另一个实施方案中,PARP抑制剂以约100至约400mg的剂量每天施用两次。在一些实施方案中,维利帕尼、芦卡帕尼或奥拉帕尼以约100至约400mg的剂量每天施用两次。在一些实施方案中,在每次施用脂质体伊立替康之后(例如,3-5天后),施用200mg BID剂量的维利帕尼。

[0128] 在本公开的方法中,在“有效的伊立替康血浆清除间隔”之后施用PARP抑制剂。“有效的伊立替康血浆清除间隔”是脂质体伊立替康和PARP抑制剂的施用之间的间隔,其允许从血浆中充分清除伊立替康和SN-38并且允许有效量的伊立替康和/或SN38在PARP抑制剂的随后施用期间保留在患者体内的一个或多个肿瘤中以具有期望的治疗效果。本公开的方法中的有效的血浆清除间隔为约24至约168小时,包括48小时至约168小时。在另一个实施方案中,有效的血浆清除间隔为约48至约96小时。在另一个实施方案中,有效的血浆清除间隔为24小时或2、3、4或5天。

[0129] 在本公开的方法中,癌症为宫颈癌、卵巢癌、三阴乳腺癌(TNBC)、非小细胞肺癌(NSCLC)、小细胞肺癌(SCLC)、胃癌、胰腺癌、结肠直肠癌或神经内分泌癌。

[0130] 在一个实施方案中,根据本发明的治疗患者的方法导致病理学完全反应(pCR)、完全反应(CR)、部分反应(PR)或稳定性疾病(SD)。

[0131] 本公开的方法还可包括向患者施用一种或多种另外的药剂,包括但不限于止吐药诸如5-HT3拮抗剂;用于治疗腹泻的药剂,诸如洛派丁胺;地塞米松;或其他化疗剂。

[0132] 在一个实施方案中,本公开的方法导致病理学完全反应(pCR)、完全反应(CR)、部分反应(PR)或稳定性疾病(SD)。在另一个实施方案中,使用MM-398和PARP抑制剂(例如维利帕尼)的组合疗法导致治疗协同作用。

[0133] 在某些实施方案中,在至少一个周期中施用MM-398和PARP抑制剂。一个周期包括施用第一药剂(例如,第一预防或治疗剂),持续一段时间;之后施用第二药剂(例如,第二预防或治疗剂),持续一段时间;任选地之后施用第三药剂(例如,第三预防或治疗剂),持续一段时间,等等,并且重复这一顺序施用,即周期。在一个实施方案中,在至少一个周期中施用MM-398和PARP抑制剂的组合。在一个实施方案中,该周期为2周周期。在另一个实施方案中,该周期为3周周期。在另一个实施方案中,该周期为4周周期。在一个实施方案中,在周期开始时施用MM-398并且将PARP抑制剂(例如,维利帕尼)的施用延迟到MM-398的施用之后的至

少约12、24、48、72、96或120小时。在一个实施方案中，在周期开始时施用MM-398，并且将PARP抑制剂(例如，维利帕尼)的施用延迟到MM-398的施用之后的至少约24、48、72、96或120小时。在一个实施方案中，在第1天和第15天作为28天周期的一部分施用MM-398，并且在第3天-第12天和第17天-第25天施用PARP抑制剂。在另一个实施方案中，在第1天和第15天作为28天周期的一部分施用MM-398，并且在第5天-第12天和第19天-第25天施用PARP抑制剂。

[0134] 在一些实例中，包括表3中的方案，在施用脂质体拓扑异构酶1抑制剂诸如MM-398脂质体伊立替康的3天内不施用PARP抑制剂(即，PARP抑制剂仅在施用脂质体拓扑异构酶1抑制剂之后的至少2、3、4或5天以及在下一次施用脂质体拓扑异构酶1抑制剂之前的2、3、4或5天的日子施用)。表3示出用于在28天抗肿瘤治疗周期的某些天施用治疗有效量的PARP抑制剂和脂质体伊立替康的给药计时方案。

[0135] 表3:28天治疗周期的实例

方 案	PARP 抑制剂给 予日	脂质体伊立替康 给予日
1	3-12; 17-25	1、15
2	4-12; 17-25	1、15
3	5-12; 17-25	1、15
4	6-12; 17-25	1、15
5	3-12; 18-25	1、15
6	4-12; 18-25	1、15
7	5-12; 18-25	1、15
8	6-12; 18-25	1、15
9	3-12; 19-25	1、15
10	4-12; 19-25	1、15
11	5-12; 19-25	1、15
12	6-12; 19-25	1、15

[0137] 在一些实例中，在28天抗肿瘤治疗周期的一天或多天施用PARP抑制剂。例如，当脂质体伊立替康(例如MM-398)每两周施用一次或在28天抗肿瘤治疗周期的第1天和第15天施用时，可在28天抗肿瘤治疗周期的第3天、第4天、第5天、第6天、第7天、第8天、第9天、第10天、第11天和第12天以及第19天、第20天、第21天、第22天、第23天、第24天和第25天中的一天或多天施用PARP抑制剂。

[0138] 治疗的方法以及PARP抑制剂和拓扑异构酶抑制剂的治疗用途。

实施例

[0139] 以下非限制性实施例阐释了本公开的方法。

[0140] 实施例1:

[0141] MM-398和维利帕尼的组合在实体肿瘤中的I期研究背景--PARP抑制剂和Top1抑制剂

[0142] 多腺苷二磷酸核糖聚合酶 (PARP) 抑制剂是目前开发的用于治疗各种癌症类型的一类新的化疗剂。PARP为参与DNA修复的酶家族，并且这一修复途径的抑制导致细胞死亡。因此，已经在具有其他已知的DNA修复途径缺陷的肿瘤类型诸如具有BRCA1或BRCA2突变的乳腺和卵巢肿瘤中对PARP抑制剂进行了研究，其导致合成致死。PARP抑制剂通过两种机制

起作用：催化抑制和PARP-DNA复合物的捕获。临床上可获得的PARP抑制剂（例如，talazoparib、尼拉帕尼、奥拉帕尼和维利帕尼等等）通过两种机制起作用，尽管程度不同。例如，尼拉帕尼在PARP捕获上比维利帕尼有效得多，而两者表现出类似的PARP催化活性。假设这转化成与尼拉帕尼或奥拉帕尼中的任一者相比使用维利帕尼观察到的减小的毒性。然而，减小的毒性不妨碍功效，因为已经在接受维利帕尼单一疗法的88名患者（60BRCA+和28BRCA-野生型）的I期研究中证实了维利帕尼的临床活性，其中总体反应率（ORR；CR+PR）为23%，其中在BRCA+患者中临床受益率（CBR；CR+PR+稳定性疾病）为58%，并且在MTD和RP2D下的ORR为40%，CBR为68%。反应可评价的BRCA-野生型患者的ORR为4%，其中CBR为38% [5]。

[0143] 在其中单一疗法治疗不表现出合成致死的BRCA-野生型患者中，可利用组合疗法实现改善肿瘤应答的能力。因此，用损伤DNA的其他抗癌剂预先处理癌细胞被认为使肿瘤细胞对PARP抑制剂敏感。Top1抑制剂是为了抑制DNA复制的一类化疗剂，并且已知诱导DNA链断裂，其包括用于它们修复的PARP。假设将PARP抑制剂与Top1抑制剂组合起来将在临床上导致与任一单独药剂相比增加的功效。虽然PARP抑制剂仍在开发之中，Top1抑制剂已经在各种肿瘤类型中展示出成功的临床活性，如上文所指出。近来，已经证实，PARP抑制剂与Top1抑制剂之间的协同作用是由PARP催化抑制造成的，并且不涉及PARP捕获。因此，当使用效力较低的PARP捕获剂维利帕尼与Top1抑制剂的组合将两个种类的药物组合起来时，预测将允许最佳的协同作用，同时使剂量限制性毒性最小，并且针对此研究进行选择（图1）。当使用与维利帕尼相比效力较低的PARP捕获剂奥拉帕尼与Top1抑制剂的组合将两个种类的药物组合起来时，预测允许最佳协同作用（图21）。与奥拉帕尼给药相关的毒性通过错开奥拉帕尼和Top1抑制剂的施用来减小。另外，Top1诱导的DNA损伤也可通过替代的内切核酸酶修复途径诸如XPF-ERCC1途径修复。因此，还预测内切核酸酶修复途径中的肿瘤缺陷在伊立替康（CPT-11）的情况下对细胞死亡更加敏感。在临床前，维利帕尼加CPT-11的细胞毒性在XPF缺陷型细胞中进步增强。在临床中，预期伊立替康加维利帕尼导致在靶向在各种DNA损伤应答途径中具有缺陷的肿瘤时增加的功效。

[0144] 维利帕尼与Top1抑制剂组合的临床经验

[0145] 已经在I期临床试验中对PARP抑制剂和Top1抑制剂组合进行了测试。然而，这些化疗组合方案的开发受到所观察到的毒性增大的限制，从而导致可能限制功效的剂量减小。具体地讲，在维利帕尼和拓扑替康的剂量递增研究中观察到显著的骨髓抑制，其中在第一计划剂量水平下超过了最大耐受剂量。结果是减小剂量的拓扑替康，以及维利帕尼的不递增，其中最终维利帕尼剂量为10mg BID，相比于400mg BID的所确定的单一疗法剂量减小40倍。在维利帕尼与伊立替康组合的I期试验中，剂量限制性毒性（DLT）包括发热性中性粒细胞减少（3级）、白细胞减少和中性粒细胞减少（4级），并且导致与维利帕尼单一疗法相比维利帕尼的剂量降低10倍。另一个I期剂量递增研究在具有晚期实体肿瘤的患者中将维利帕尼与两月一次的FOLFIRI组合起来。重要的是，在此研究中四个DLT中的三个为中性粒细胞减少事件，并且3/4级中性粒细胞减少率为47%。然而，在这些I期试验中，已经在个体患者中观察到一些功效。例如，在维利帕尼加伊立替康试验中在32名经治疗的患者中观察到5PR，而在总共招募了96名接受维利帕尼与FOLFIRI组合的患者的研究中观察到12PR和1CR。以下表1提供了将维利帕尼与Top1抑制剂组合起来的试验的可获得的临床数据的汇总，其

示出在组合治疗的情况下一种或多种药物的剂量减小,以及相当的毒性。因此,确定如何安全地组合这两个种类的药物是个挑战,因为组合的潜在功效仍然是有前景的。

[0146] 将维利帕尼与Top1抑制剂组合起来的临床试验的汇总。

[0147]

试验	Top1 抑制剂	MTD / RP2D	DLT	最常见的 G3/4 AE	最常见的 AE	参考文献
维利帕尼(V)与两月一次的 FOLFIRI 在具有晚期实体肿瘤的患者中的 1 期剂量递增研究	伊立替康(作为具有 5-FU 的 FOLFIRI 方案的一部分)	V: 200 mg bid, 每 28 天第 1 天-第 5 天和第 15 天-第 19 天 伊立替康: 150(减小)或 180(标准)mg/m ² , 两周一次	中性粒细胞减少 (n=3; P1, 160 mg 和 270 mg BID V; P2, 100 mg BID V); 以及胃炎和呕吐(P1, 270 mg BID V)	>30 名患者各自: 中性粒细胞减少 (47%)、恶心(38%) 以及腹泻 (34%)	腹泻 (61%)、恶心(60%)、中性粒细胞减少 (59%)、呕吐(48%)、疲倦 (47%)、贫血和脱发 (各自 41%)	J Clin Oncol 32, 2014 (增刊 15S; 摘要 2574)
多腺苷二磷酸核糖聚合酶 (PARP)抑制剂 维利帕尼 (ABT-888; V) 与伊立替康 (CPT-11; Ir) 的组合在具有晚期实体肿瘤的患者(pt)中的安全性、药代动力学(PK)和药效学(PD)的 I 期研究。	伊立替康:	V: 40 mg BID 15 天给予/6 天中断(21 天周期) 伊立替康: 100 mg/m ² , 在 21 天周期的第 1 天和第 8 天	疲倦、腹泻、发热 中性粒细胞减少 (3 级)、白细胞减少 (4 级)	未提供	腹泻 (59%)、恶心(56%)、白细胞减少 (50%)、疲倦 (47%)、中性粒细胞减少 (47%)、贫血(34%)以及呕吐 (31%)	J Clin Oncol 29: 2011 (增刊; 摘要 3000)

[0148]

PARP 抑制剂 ABT-888(维利 帕尼)与拓扑替 康的组合在具 有顽固性实体 肿瘤和淋巴瘤 的成人中的 I 期研究	拓扑替 康	V: 10 mg BID, 在 21 天周期的 第 1 天-第 5 天 拓扑替康: 0.6(减 小)mg/m2/ 天, 在 21 天周期的 第 1 天-第 5 天	4 级中性 粒细胞减 少和血小 板减少(1 名患者); 4 级中性 粒细胞减 少, 持续 长于 5 天 (2 名患 者); 发热 性中性粒 细胞减少 (2 名患 者); 4 级 血小板减 少(2 名患 者)	未提供	未提供	Cancer Res 2011;71:5626-563 4。
---	----------	--	--	-----	-----	--------------------------------------

[0149] MM-398作用机制

[0150] MM-398是伊立替康的纳米脂质体制剂(nal-IRI),其由包封在直径为~100nm的脂质体中的大约80,000个伊立替康分子组成。该稳定制剂被设计来通过延长暴露并且保护脂质体内的伊立替康分子而改善游离药物的药代动力学和安全性特征。还已知脂质体通过增强的渗透性和保留(EPR)效应而优先沉积在肿瘤组织中,这是由允许大分子的外渗的异常肿瘤脉管系统以及促进这些分子保留在肿瘤微环境内的受损的淋巴引流造成的。EPR效应允许肿瘤组织对MM-398的暴露延长,其继而允许MM-398在细胞周期的较为敏感的S期暴露于更高比例的细胞。在鼠生物分布研究中,在MM-398给药之后在各种组织中测量伊立替康的活性代谢物SN-38并且确定SN-38在肿瘤组织中比在正常组织(包括肾和肝)中持续存在更长时间(图4)。另外的临床前药代动力学(PK)研究显示出相对于给药游离的伊立替康,在给药MM-398之后延长的血浆PK,以及延长的肿瘤PK(图5)。在游离伊立替康施用之后,伊立替康和SN-38非常快速地(8小时内)从血浆中被清除。然而,在大约48小时的半衰期的情况下,MM-398清除相当缓慢,如图5A所示,因为在血浆中>90%的伊立替康是包封的,伊立替康水平反应了MM-398浓度。在MM-398施用之后,SN-38血浆暴露也较大,但是C_{max}水平降低,表明了脂质体制剂在延长暴露和半衰期方面的优点(图5B)。在肿瘤组织中,CPT-11和SN-38在给药游离伊立替康之后大约2天被清除,然而CPT-11和SN-38在等效剂量的MM-398之后在肿瘤组织中持续存在至少1周。

[0151] 负责CPT-11至SN-38的酶促转化的肿瘤渗透性以及肿瘤组织羧酸酯酶(CES)活性预测是在MM-398给药之后SN-38的局部肿瘤暴露的关键因素。体内肿瘤异种移植研究已经

证实,MM-398的功效与高CES活性和/或给药MM-398之后CPT-11的高肿瘤水平相关。另外,在若干临床前模型(包括乳腺、结肠、卵巢和胰腺肿瘤异种移植模型)中,相比于游离伊立替康的相等给药,MM-398已经展示出优异的活性(图6)。

[0152] 使用MM-398和纳米氧化铁MRI的临床经验

[0153] 在临床上,MM-398还展示了延长的SN-38暴露。来自胃癌患者的II期研究的PK结果展示了相比于使用游离伊立替康的治疗,在用MM-398进行治疗时CPT-11和SN-38的延长的血浆PK(图7A/B)。此外,I期研究(方案#MM-398-01-01-02)使用治疗后的活检对使用MM-398治疗之后CPT-11和SN-38的肿瘤水平进行了研究。基于模型预测,预期肿瘤中的SN-38水平高于血浆,表明CPT-11在具有MM-398的肿瘤微环境中局部转化成SN-38(图7C)。通过测量从给药后72小时的患者中收集的肿瘤活检样品中的CPT-11和SN-38水平来证实预测,其在肿瘤中展示出比血浆高5倍的SN-38水平(图7D-E)。

[0154] 总的来说,证据表明对SN-38的延长暴露将导致延长的DNA损伤。SN-38与拓扑异构酶1裂解复合物(“Top1cc”)可逆结合。因此,裂解复合物“捕获的”SN-38与游离SN-38处于平衡状态。由于IC₅₀在高纳摩尔范围内,因此结合亲和力相对低(但是通过总选择性进行补偿)。简言之,在细胞内,游离SN-38是Top1cc结合的SN-38的可靠反映。SN-38代谢物依赖于通过UGT1A1进行的葡萄糖醛酸化以及通过ABCC2进行的肝的分泌。发现UGT1A1在正常肝中的水平比在其他组织和肿瘤(肝细胞癌除外)中的水平高得多。肿瘤组织中的SN-38因此将不在任何显著的程度被代谢。图7示出表明持续的循环水平和更加显著的持续的肿瘤水平的临床数据。因此,现在已经发现,在MM-398的情况下发生持续的DNA损伤(与被快速清除的游离伊立替康相反,其将导致初始DNA损伤,所述初始DNA损伤接着被快速修复)。

[0155] MM-398的I期研究还检查了磁共振(MR)成像的可行性,以预测肿瘤相关巨噬细胞(TAM)含量和MM-398沉积。TAM似乎在MM-398在肿瘤微环境内的沉积、保留和激活中起到关键作用。在此临床研究中,使用纳米氧化铁(FMX)(用聚葡萄糖山梨醇羧甲基醚涂布的超顺磁性氧化铁的微颗粒制剂)作为成像造影剂并且在FMX注射之后的1h、24h和72h获得MR图像。FMX是被指明用于在患有慢性肾病的成人患者中治疗缺铁性贫血的批准疗法;然而,越来越多的没有缺铁的癌症患者被施用FMX作为成像剂来使巨噬细胞含量和脉管系统可视化。像MM-398一样,FMX也是具有大约17-31nm直径的纳米颗粒。因为肿瘤渗透性被预测是MM-398功效中的重要因素,因此也针对FMX作为用于脂质体沉积的替代品的用途对其进行了研究(图19A)。FMX的有益效果是该药剂有助于鉴定由于不良的药物吸收而不太可能对MM-398应答的患者。作为诊断检验的纳米氧化铁使得能够检测将显著地受益于MM-398的本不可归类的患者群体。

[0156] 相对于与FMX输注相关的风险,根据Feraheme[®]包装说明书,针对FMX指出以下警告和预防措施:超敏反应、低血压、铁过载以及影响MRI的诊断性能的能力。在招募了用FMX治疗的605名患者的三个随机临床试验中,≥1%的用纳米氧化铁治疗的患者报告了以下不良事件:恶心、头晕、低血压、外周性水肿、头痛、水肿、呕吐、腹痛、胸痛、咳嗽、瘙痒、发热、背痛、肌肉痉挛、呼吸困难和皮疹。所有IV铁产品均有潜在危及生命的过敏反应的风险。在主要在患有慢性肾病的患者中进行的Feraheme[®]的初始临床试验中,在0.2百分比(3/1,726)的接受Feraheme[®]的患者中报告了重度超敏反应。在3.7百分比(63/1,726)的这些患者中报告了与超敏性可能相关的其他不良反应(例如,瘙痒、皮疹、荨麻疹或哮喘)。在不包

括患有慢性肾病的患者的其他试验中,在2.6百分比(26/1,014)的用Feraheme®治疗的患者中报告了中度至重度超敏反应,包括过敏症。由于2009年6月30日Feraheme®的批准,已经发生了重度超敏性(包括死亡)的病例。在研究MM-398-01-01-02中,迄今为止共计15名患者已经接受了纳米氧化铁并且13/15患者继续研究,接受MM-398。对于这15名患者,未报告与纳米氧化铁相关的超敏反应或不良事件。正在用所研究的药剂诸如MM-398治疗的患有晚期不能治愈的癌症的患者具有治疗选择非常有限的末期癌症并且由于他们潜在的疾病死亡风险非常高。使用FMX,接着使用MM-398治疗患者的增加的风险相对于与转移性癌症患者的MM-398治疗相关的总体风险而言似乎较小。采取预防措施,以确保根据标签说明施用FMX,包括当作为MM-398临床试验的一部分施用时,在纳米氧化铁输注之后的30分钟期间且持续30分钟对患者进行小心监测。采取另外的预防措施,以便不在任何以下条件下向患者施用FMX:铁过载的证据、对纳米氧化铁或任何其他IV铁产品的已知的超敏性、多药物过敏的记录史,或原本禁用MRI的那些。

[0157] 来自研究MM-398-01-01-02的MRI结果表明,沉积在肿瘤病灶中的FMX的量能够定量(图19B),并且随后显示在MRI的肿瘤病灶纳米氧化铁摄取与对MM-398的应答之间存在相关性(图19C)。这种相关性现在正在1期研究的扩展中进一步研究,并且作为针对MM-398+维利帕尼的试验的相关成像研究被包括在内。

[0158] 最后,作为成对诊断剂的FMX的开发具有使无应答患者不必须暴露于治疗相关毒性,同时还用作富集工具以增加可应答的经治疗患者的比例的潜能。

[0159] 治疗计划

[0160] 将每两周以 $80\text{mg}/\text{m}^2$ 的剂量经90分钟通过静脉内(IV)输注施用MM-398。选择 $80\text{mg}/\text{m}^2$ 的MM-398起始剂量作为成功用于胰腺癌的NAPOLI试验中与5-FU和甲酰四氢叶酸组合的剂量,因此MM-398剂量将保持恒定并且将不递增。维利帕尼将由患者在家中每天两次口服施用;将保留日记以记载给药药物的剂量和时间。将通过下表中的剂量递增方案探讨维利帕尼的给药天数。 100mg bid 的维利帕尼起始剂量是作为FOLFIRI的一部分与伊立替康组合施用的剂量的一半并且近期在ASCO年会(J Clin Oncol 32,2014(增刊15S;摘要2574))上报告。通过在MM-398给药之后第5天开始维利帕尼的起始来确保在起始剂量水平下的安全性。迄今为止所获得的数据表明在该点时SN-38将被从血浆中清除,但是仍然积聚在肿瘤组织中(参见图7C)。剂量水平2, 200mg BID 的维利帕尼,是在FOLFIRI方案中使用的维利帕尼的MTD,因此如果在评价周期之后确定剂量水平2是安全的,那么增加维利帕尼的给药天数是用于下一剂量水平(剂量水平3)的计划剂量递增步骤。如果确定在剂量水平3下维利帕尼的剂量和方案是安全的,则将进行维利帕尼剂量的递增。如果不确定剂量水平3是安全的,那么可探讨替代的给药方案,其中逐步减少维利帕尼的给药天数。

[0161] 每两周以 $80\text{mg}/\text{m}^2$ 的剂量经90分钟通过静脉内(IV)输注施用MM-398。维利帕尼由患者在家中根据以下方案每日两次口服共同施用:

[0162]

剂量水平 ¹	维利帕尼剂量 (mg BID)	维利帕尼给药日	MM-398 剂量 (mg/m ² q2w)
1	100	第 2 天、第 3 天、第 4 天 或第 5 天-第 12 天; 第 16 天、第 17 天、第 18 天或 第 19 天-第 25 天	80, 第 1 天、第 15 天
2	200	第 2 天、第 3 天、第 4 天 或第 5 天-第 12 天; 第 16 天、第 17 天、第 18 天或 第 19 天-第 25 天	80, 第 1 天、第 15 天
3	200	第 2 天、第 3 天、第 4 天 或第 5 天-第 12 天; 第 16 天或第 17 天-第 25 天	80, 第 1 天、第 15 天
4	300	第 2 天、第 3 天、第 4 天 或第 5 天-第 12 天; 第 16 天、第 17 天、第 18 天或 第 19 天-第 25 天	80, 第 1 天、第 15 天
5	400	第 2 天、第 3 天、第 4 天 或第 5 天-第 12 天; 第 16 天、第 17 天、第 18 天或 第 19 天-第 25 天	80, 第 1 天、第 15 天

[0163] ¹可在赞助者、医务监管者和研究者协商下探讨另外的剂量水平和替代的给药方案。

[0164] **在达到MTD之后,并且仅针对第一周期,我们计划招募大约18名患者,根据以下相关因素部分中概述的方案获得肿瘤活检。

[0165] 实施例2:体外研究

[0166] 进行体外研究,以测试各种PARP抑制剂和拓扑异构酶抑制剂脂质体伊立替康和SN-38的组合。

[0167] 图1A-1D示出描绘在用SN-38和/或各种PARP抑制剂治疗之后宫颈癌细胞活力的线图。除非另外指明,这些图中的每一个中的数据通过测量5种不同的宫颈癌细胞(图1A中的ME-180、图1B中的MS-751、图1C中的C-33A、图1D中的SW756以及图1E中的SiHa)的细胞活力获得,其中在384孔板中1000个细胞/孔,用SN-38(拓扑异构酶1抑制剂)和/或3种不同的PARP抑制剂(维利帕尼、尼拉帕尼或奥拉帕尼)中的一种以0.33微克/毫升处理24小时,之后洗涤并用新鲜的培养基再温育72小时。

[0168] 拓扑异构酶1抑制剂SN-38和各种PARP抑制剂(维利帕尼、奥拉帕尼和芦卡帕尼)的组合在体外使用各种小细胞肺癌(SCLC)、胰腺癌和乳腺癌细胞系进行测试。在2nM SN-38浓度下,在与奥拉帕尼、维利帕尼和芦卡帕尼的组合中观察到癌细胞的累加/协同的生长抑制(其中观察到维利帕尼与SN-38的组合的功效略小于奥拉帕尼和芦卡帕尼与SN-38的组合)。

在所测试的所有浓度下,实现了癌细胞群的静止生长。图2A-2E为示出评价拓扑异构酶1抑制剂SN38与各种PARP抑制剂的组合的体外实验的结果的图,其格式根据以下表4-5设计(5,000个细胞/孔的板,100微升每孔;每种药物10微升,20x添加药物,用DMEM加至最高100微升;然后每4小时启动扫描,最多至68小时)。

[0169] 表4

[0170]

处理	小细胞肺癌		胰腺癌		TNBC
	DM S-114	NCI-H 1048	CFP AC-1	Bx PC-3	MDA-M B-231
SN-38 & 奥拉帕尼	板 1	板 2	板 3	板 4	板 5
SN-38 & 芦卡帕尼	板 1	板 2	板 3	板 4	板 5
SN-38 & 维利帕尼	板 1	板 2	板 3	板 4	板 5

[0171] 表5

[0172]

目标浓度				
药物	基于XTC008的活性范围	估计的肿瘤范围(nM)	剂量水平	浓度 ² (nM)
SN-38	1-30 nM	3-163 nM (598); 100 < 200 nM	S1	2
			S2	5
			S3	10
			S4	25
			S5	50
奥拉帕尼	1000-10000 nM	2000 nM	O1	2000
			O2	4000
			O3	8000
维利帕尼	1000-10000 nM	> 2000 nM	V1	2000
			V2	4000
			V3	8000
芦卡帕尼	3-100 nM (Panc)	< 5000 nM	R1	2000
			R2	4000
			R3	8000

[0173] 在与所测试的PARP抑制剂奥拉帕尼、维利帕尼和芦卡帕尼组合的2nM的SN-38与DMS-114SCLC细胞之间观察到累加/协同效应。图2A为示出用拓扑异构酶抑制剂SN-38和PARP抑制剂芦卡帕尼处理的DMS-114小细胞肺癌细胞的随时间推移的%细胞数量的体外测量的结果的图。

[0174] NCI-H1048 SCLC细胞缓慢生长并且对奥拉帕尼和芦卡帕尼与2nM的SN-38的组合非常敏感。图2B为示出用拓扑异构酶抑制剂SN-38和PARP抑制剂芦卡帕尼处理的NCI-H1048小细胞肺癌细胞的随时间推移的%细胞数量的体外测量的结果的图。

[0175] 在与所测试的PARP抑制剂奥拉帕尼、维利帕尼和芦卡帕尼组合的2nM的SN-38与CFPAC-1胰腺癌细胞之间观察到累加/协同效应。图2C为示出用拓扑异构酶抑制剂SN-38和PARP抑制剂芦卡帕尼处理的CFPAC-1胰腺癌细胞的随时间推移的%细胞数量的体外测量的结果的图。

[0176] 图2D为示出用拓扑异构酶抑制剂SN-38和PARP抑制剂芦卡帕尼处理的BxPC-3胰腺癌细胞的随时间推移的%细胞数量的体外测量的结果的图。图2E为示出用拓扑异构酶抑制

剂SN-38和PARP抑制剂芦卡帕尼处理的MDA-MB-231三阴乳腺癌 (TNBC) 癌细胞的随时间推移的%细胞数量的体外测量的结果的图。

[0177] 图17A示出在宫颈模型中SN-38的体外活性。以相同时间或以在SN-38之后24h添加维利帕尼的时间方案用维利帕尼和SN-38处理宫颈癌细胞系,并且使用CTG测定测量细胞活力。

[0178] 实施例3:临床前剂量耐受性研究

[0179] 进行各种临床前体内实验,以评价相对于脂质体伊立替康延迟维利帕尼的给药可减轻全身毒性,包括临床前剂量耐受性研究。维利帕尼和伊立替康的组合受到剂量限制性毒性的困扰,剂量限制性毒性已经阻止了该组合以每种药物的高(有效)剂量给药,从而限制了其临床应用。为了解决这一问题,临床前研究对施用拓扑异构酶1抑制剂的脂质体制剂,之后在施用脂质体拓扑异构酶1抑制剂的日子之后至少1天(优选2-3天)施用PARP抑制剂进行评价。

[0180] 相比于游离伊立替康给药MM-398的优点是MM-398的延长的PK特征和延长的局部肿瘤暴露。由于从正常组织中比从肿瘤中更加快速地清除SN-38,因此维利帕尼的延迟给药(例如,在MM-398施用几天后开始维利帕尼给药)允许在不同时存在维利帕尼毒性的情况下经过最大伊立替康诱导的毒性的窗口。然而,SN-38的肿瘤水平比在健康组织中持续更长时间,由此使得在脂质体Top1抑制剂(例如MM-398)施用之后给药PARP抑制剂时,两种药物将同时作用于肿瘤组织。

[0181] 为了证实维利帕尼相对于na1-IRI的延迟给药可减轻全身毒性,进行临床前剂量耐受性研究。在第1天以各种剂量一周一次对小鼠慢性给药na1-IRI,同时每周连续3天(第2天-第4天、第3天-第5天,或第4天-第6天)以固定剂量每天一次给药维利帕尼,并且作为毒性的全身测量对体重进行跟踪。在第1天一周一次向所有小鼠慢性给药,随后在第2-4天(8A)、第3-5天(8B)或第4-6天(8C)连续3天给药维利帕尼。将小鼠每天称重并且在Y轴上指示%体重增加。体重减轻表明组合的不耐受性。值得注意的是,当在第4天、第5天和第6天施用维利帕尼时,最佳耐受最高(50mg/kg)剂量的MM-398脂质体伊立替康(即,在实验过程中观察到最低的所测量的%体重的减小)(图8C)。类似地,当仅在MM-398施用之后的第4天、第5天和第6天施用维利帕尼时,在较低的MM-398脂质体伊立替康剂量下最佳耐受维利帕尼和MM-398的组合。当紧接着维利帕尼给药给予时,在最高MM-398剂量下观察到该组合的毒性(图8A)。然而,可通过剂量减小的MM-398或延迟维利帕尼给药的起始来减轻这种毒性,由此可与维利帕尼一起成功地给药最高剂量的MM-398,如果所述维利帕尼在MM-398的第1天给药之后的第4天-第6天给予的话(图8A-8C)。在后续的功效研究中遵循第4天-第6天维利帕尼给药方案(在MM398的第1天给药之后),其证实了该组合在两种宫颈癌肿瘤异种移植模型中的协同作用,其中单独的维利帕尼是没有功效的(图11A),并且在第二模型中,MM-398或维利帕尼作为单一药剂均是无效的(图11B),然而该组合展现出了肿瘤生长抑制(图11B)。

[0182] 为了举例说明表明了奥拉帕尼相对于MM-398的延迟给药可减轻全身毒性的实施方案,进行临床前剂量耐受性研究。图9示出使用固定剂量的MM-398和不同剂量的奥拉帕尼对作为单一疗法或组合的MM-398和奥拉帕尼进行比较的鼠耐受性研究设计的图形表示,对于不同的组使用各种给药方案:组1:仅MM-398,IV(10mg/kg);组2:仅奥拉帕尼,口服(200mg/kg);组3:MM-398(d1)+奥拉帕尼(200mg/kg,d1-5);组4:MM-398(d1)+奥拉帕尼

(150mg/kg, d1-5); 组5: MM-398 (d1) + 奥拉帕尼 (200mg/kg, d1-4); 组6: MM-398 (d1) + 奥拉帕尼 (200mg/kg, d2-5); 组7: MM-398 (d1) + 奥拉帕尼 (200mg/kg, d3-5); 组8: 仅DMSO, 口服。图10A-10D为展现出在鼠模型中与作为单一疗法或作为组合疗法以不同剂量的奥拉帕尼和在MM-398之后PARP抑制剂的不同施用方案给予的MM-398和奥拉帕尼相关的毒性的线图。接受MM-398、奥拉帕尼的单一疗法的小鼠每周给药5x。接受恒定浓度的MM-398 (10mg/kg) 和不同浓度的奥拉帕尼的组合的小鼠以不同的方案给药: 组3: MM-398 (d1) + 奥拉帕尼 (200mg/kg, d1-5); 组4: MM-398 (d1) + 奥拉帕尼 (150mg/kg, d1-5); 组5: MM-398 (d1) + 奥拉帕尼 (200mg/kg, d1-4); 组6: MM-398 (d1) + 奥拉帕尼 (200mg/kg, d2-5); 组7: MM-398 (d1) + 奥拉帕尼 (200mg/kg, d3-5)。通过对(A)体重和(B)存活百分比制图来监测小鼠的治疗依赖性毒性。奥拉帕尼的添加似乎比单一疗法更具毒性, 然而与同时疗法相比, 将奥拉帕尼施用的起始延迟至d3似乎降低奥拉帕尼特有毒性。在第1天以各种剂量一周一次对小鼠慢性给药MM-398, 同时每周连续5天、4天或3天(第1天-第5天、第1天-第4天、第2天-第5天, 或第3天-第5天)以固定剂量每天一次给药奥拉帕尼, 并且作为毒性的全身测量对体重和存活百分比进行跟踪。当紧接着奥拉帕尼给药给予时, 在最高MM-398剂量下观察到该组合的毒性(图8)。然而, 可通过延迟奥拉帕尼给药的起始来减轻这种毒性, 由此可与奥拉帕尼一起成功地给药最高剂量的MM-398, 如果所述奥拉帕尼在MM-398的第1天给药之后的第3天-第5天给予的话(图10A-10D)。

[0183] 在第1天以各种剂量一周一次对小鼠慢性给药MM-398, 同时每周连续3天(第2天-第4天、第3天-第5天, 或第4天-第6天)以固定剂量每天一次给药维利帕尼, 并且作为毒性的全身测量对体重进行跟踪。当紧接着维利帕尼给药给予时, 在最高na1-IRI剂量下观察到该组合的毒性。然而, 可通过剂量减小的na1-IRI或延迟维利帕尼给药的起始来减轻这种毒性。在后续的小鼠功效研究中遵循此给药方案, 其证实了该组合在两种宫颈癌肿瘤异种移植模型中的协同作用, 其中单独的维利帕尼是没有功效的, 并且在第二模型中na1-IRI或维利帕尼作为单一药剂均是无效的, 然而该组合展现出了肿瘤生长抑制。

[0184] 第1天MM398的组合在小鼠模型中的耐受性结合在第1天-第3天、第2天-第4天和第3天-第5天维利帕尼的施用进行评价。组合方案在小鼠中的耐受性(通过在20天过程中体重百分比的变化进行测量)在维利帕尼的第一次施用发生在第2天和第3天时增加, 其中第3天初始维利帕尼给药提供最耐受的给药方案。图12A为进一步示出以具有经过调整的下限的体重变化百分比反映的第1天50毫克/千克(mpk)剂量MM-398与在MM-398施用之后第1天、第2天、第3天或第2天、第3天、第4天或第3天、第4天、第5天给予的50mg/kg维利帕尼的组合的体内耐受性的图。图12B为进一步示出以具有经过调整的下限的体重变化百分比反映的第1天28mpk剂量MM-398与在MM-398施用之后第1天、第2天、第3天或第2天、第3天、第4天或第3天、第4天、第5天给予的50mg/kg维利帕尼的组合的体内耐受性的图。

[0185] 图16为示出用MM-398与维利帕尼的组合在实施例5中所述的C33A异种移植模型中治疗小鼠也导致与任一药物单独施用相比体重降低的图。

[0186] 这些研究表明, 可通过延迟PARP抑制剂给药的起始, 优选在施用脂质体伊立替康的日子之后的2-3天, 来减轻这种毒性。在小鼠功效研究(实施例4)中遵循仅在施用脂质体伊立替康之后的日子施用PARP抑制剂的给药方案, 其证实了PARP抑制剂和脂质体伊立替康的组合在两种宫颈癌肿瘤异种移植模型中的治疗协同作用(其中仅维利帕尼是无效的, 并

且在第二模型中作为单一药剂的MM-398或维利帕尼均是无效的,然而该组合展现出肿瘤生长抑制)。

[0187] 实施例4:脂质体伊立替康的临床前功效

[0188] 体内肿瘤异种移植研究表明脂质体伊立替康的功效大于游离伊立替康。此外,体内肿瘤异种移植研究表明,MM-398与高CES活性和/或给药MM-398之后CPT-11的高肿瘤水平相关。另外,在若干临床前模型(包括乳腺、结肠、卵巢和胰腺肿瘤异种移植模型)中,相比于游离伊立替康的相等给药,MM-398已经展示出优异的活性。

[0189] 在各种癌症模型中,相比于非脂质体伊立替康,脂质体伊立替康(MM-398)具有更大的功效。将癌细胞皮下植入小鼠中;当肿瘤建立良好并且达到200mm³的平均体积时,开始使用游离伊立替康、MM-398或对照进行IV治疗。在每个研究中使用的游离和纳米脂质体伊立替康的剂量在上文指出,其中通过箭头指示给药时间点。负责CPT-11至SN-38的酶促转化的肿瘤渗透性以及肿瘤组织羧酸酯酶(CES)活性预测是在MM-398给药之后SN-38的局部肿瘤暴露的关键因素。体内肿瘤异种移植研究已经证实,MM-398的功效与高CES活性和/或给药MM-398之后CPT-11的高肿瘤水平相关。另外,在若干临床前模型(包括乳腺、结肠、卵巢和胰腺肿瘤异种移植模型)中,相比于游离伊立替康的相等给药,MM-398已经展示出优异的活性。

[0190] 实施例5:脂质体伊立替康和PARP抑制剂的临床前活性

[0191] 参考图11A和图11B,在多个宫颈异种移植模型中与维利帕尼(PARPi)结合起来研究MM-398的抗肿瘤活性。在此研究中,采用宫颈癌的MS-751和C33A异种移植模型探查与PARP抑制剂维利帕尼组合地施用次最佳剂量的MM-398的作用。在24和72小时时MM-398的有差别的组织水平表明MM-398和活性代谢物SN-38从肝、脾、结肠和血浆中比从肿瘤中更快地被清除。当与单独的维利帕尼或MM-398相比时,维利帕尼和MM-398的组合给予关键PD生物标志物(裂解的半胱天冬酶和 γ H2AX)的改善。图11A和11B示出MM-398+维利帕尼的组合具有协同作用。利用两种不同的宫颈癌异种移植模型来研究在第1天一周一给药MM-398(箭头)、在每周的第4天-第6天连续3天每天一次以50mg/kg口服给药的维利帕尼,或以相同的方案作为组合起来的单一药剂治疗给药的该组合的功效。(A)使用以5mg/kg给药的MM-398的MS751宫颈癌异种移植模型,以及(B)使用以2mg/kg给药的MM-398的C33A宫颈癌异种移植模型。在该研究中,对照小鼠为相同品系,并且在测试小鼠(稍年幼)之前收获。对于因体重减轻而从研究中去掉的小鼠或在结束日期之前无意去除的小鼠,未提供数据。

[0192] 宫颈MS-751异种移植模型

[0193] MS-751异种移植模型细节汇总于表6中。

[0194] 表6

[0195]

小鼠品系	裸鼠 (Tacoma)			
肿瘤	宫颈MS-751, C33A			
接种:	5*10 ⁶ (s.c.), 在30%MG中			
药物:	MM-398 (iv) + 维利帕尼 (口服)			
组:		每组的动物:	剂量 (mpk)	
1	盐水	10		

2	MM-398	10	5	
3	维利帕尼/口服	10	50	第3/4/5天
4	MM-398+维利帕尼	10	5+50	第3/4/5天

[0196] 图13A显示,与任一药物单独施用相比,当在MS751异种移植模型中与维利帕尼组合施用MM-398 (5mpk剂量)时,肿瘤体积减小 ($p=0.03$)。图13B显示,与使用单独施用的任一单独药物的治疗相比,在MS751异种移植模型中使用MM-398 (5mpk剂量) 与维利帕尼的组合治疗的小鼠的存活百分比更佳。图13C显示,与任一药物单独施用相比,在MS751异种移植模型中使用MM-398与维利帕尼的组合进行治疗导致体重降低。

[0197] C33A宫颈异种移植模型

[0198] C33A异种移植模型细节汇总于表7中。

[0199] 表7

[0200]

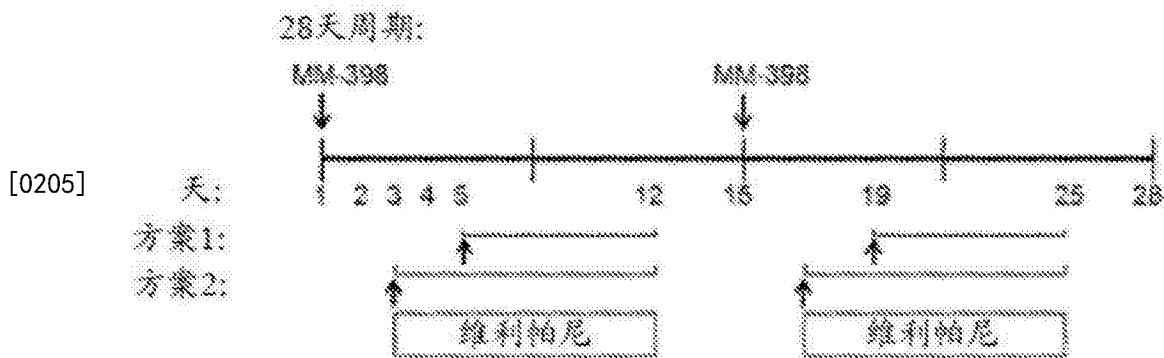
小鼠:	雌性, Ncr 裸鼠(Taconic), 5-6 周。	
细胞系:	C33 A	
肿瘤接种:	5×10^6 , 在 100 μ l Matrigel (30 体积%)中, sc	
每种细胞系 15 只小鼠		
组:	剂量, mpk:	
仅 MM-398	2	
仅维利帕尼	50	
MM-398 + 维利帕尼(3-4-5 d)	2+60	
生命结束收集: 第一次注射后 72 h		
冰冻(肿瘤、肝、脾、血浆)		
FFPA(肿瘤)		
分析:		
γ H2AX 和裂解的半胱天冬酶/FFPE 中的通道(Lia)		
对于仅快速冷冻的 MM-398, 所有组织中的 CPT-11 和 SN-38(Roswell)		

[0201] 图14显示,与单独施用的任一单独药物相比,MM-398与维利帕尼的组合在C33A异种移植模型中导致肿瘤体积减小。图15显示,与单独施用的任一药物相比,在C33A异种移植模型中MM-398 (5mpk剂量) 与维利帕尼的组合的小鼠的存活百分比更佳。

[0202] 实施例6:脂质体伊立替康和PARP抑制剂的临床使用

[0203] 脂质体伊立替康和维利帕尼的临床使用

[0204] 这是1期人剂量递增研究,以表征MM-398与维利帕尼组合的安全性、耐受性、MTD和PK,以便确定将被鉴定为推荐的2期剂量的最佳组合剂量和方案。以下示意图概述了将与每周两周给药的MM-398组合探讨的维利帕尼给药的两种不同方案:



[0206] 将每两周以 $80\text{mg}/\text{m}^2$ 的剂量经90分钟通过静脉内 (IV) 输注施用MM-398。每两周一次 (每个28天治疗周期的第1天和第15天) 以 $80\text{mg}/\text{m}^2$ (盐) 伊立替康的剂量经90分钟通过静脉内 (IV) 输注施用MM-398。维利帕尼由患者在家中根据以下方案每日两次口服共同施用:

[0207] 表8

[0208]

剂量水平 ¹	维利帕尼剂量 (mg BID)	维利帕尼给药日	MM-398 剂量(盐) (mg/m^2 q2w)
1	100	第5天-第12天; 第19天-第25天	80, 第1天、第15天
2	200	第5天-第12天; 第19天-第25天	80, 第1天、第15天
3	200	第5天-第12天; 第17天-第25天	80, 第1天、第15天
4	300	第5天-第12天; 第19天-第25天	80, 第1天、第15天
5	400	第5天-第12天; 第19天-第25天	80, 第1天、第15天

[0209] ¹可在赞助者、医务监管者和研究者协商下探讨另外的剂量水平和替代的给药方案。

[0210] **在达到MTD之后,并且仅针对第一周期,我们计划招募大约18名患者,根据以下相关因素部分中概述的方案获得肿瘤活检。

[0211] 本研究将遵循传统的3+3剂量递增设计,每个剂量队列 (dose cohort) 招募3名患者。将在第一治疗周期 (28天) 期间评价剂量限制性毒性 (DLT),以便确定MTD。如果在安全性评价期内没有DLT,那么可按照研究者与医务监管者之间的协商开始下一队列。如果发生DLT,那么将该队列扩展至6名患者。如果2名或更多名患者在给定的剂量水平内具有DLT,那么剂量将不再进一步递增;然而,可探讨较低的剂量。也可根据所观察到的安全性、耐受性和PK探讨另外的给药方案。

[0212] 鉴于已经在先前的临床试验中研究了所述各个疗法,重要的是安全性评估将标准给药方案的预期安全性特征考虑在内。对于所有治疗方案,与疾病进展相关的任何毒性将不被视为DLT。在研究组合的周期1期间发生的以下事件将视为DLT (如果认为是药物相关的话):

[0213] 3级或4级中性粒细胞减少,并发 $\geq 38.5^\circ\text{C}$ 的发烧 (即发热性中性粒细胞减少) 和/

或记载的感染；

[0214] 4级中性粒细胞减少，尽管使用最佳疗法（不给予研究药物以及GCSF施用），7天内不消退；

[0215] 7天内不消退的4级血小板减少或并发出血的任何3-4级血小板减少；

[0216] 4级贫血，尽管使用最佳疗法（不给予研究药物以及红血细胞输血），7天内不消退；

[0217] 由于研究药物毒性，在指定日期的14天内不能开始随后的治疗过程；

[0218] 任何3-4级非血液毒性（除了持续时间<2周的疲劳/无力；持续少于72小时的呕吐或腹泻，无论是否使用最佳止吐或止泻方案进行治疗；或碱性磷酸酶变化）。

[0219] ≥ 2 级惊厥

[0220] 将治疗患者，直到疾病进展（从研究药物的第一次给药开始每8周通过CT扫描进行评价，通过RECIST v1.1标准确定）。临床试验的纳入和排除标准汇总于以下表9中。

[0221] 表9

	纳入标准	排除标准
[0222]	患者必须具有癌症的组织学或细胞学验证，对于所述癌症没有能够延长预期寿命	- 活跃的 CNS 转移 - 临床上重要的 GI 病症，包括小肠
[0223]	的已知的标准疗法。 - ECOG 行为状态 0 或 1 - 可进行多次(multiple pass)经皮活检的一个或多个肿瘤病灶以及进行所需的治疗前和治疗后活检的患者意愿 - 必须具有足够的： - 骨髓功能 - 在不使用造血生长因子的情况下，ANC > 1,500 细胞/μl - 血小板计数 > 100,000 细胞/μl - 血红蛋白 > 9 g/dL - 肝功能 - 正常的血清总胆红素 - AST 和 ALT $\leq 2.5 \times$ ULN(如果存在肝转移，$\leq 5 \times$ ULN 是可接受的) - 肾功能 - 血清肌酸酐 $\leq 1.5 \times$ ULN - 正常 ECG ≥ 18 岁 - 能理解并签署知情同意书 - 允许先前的 PARP 抑制剂疗法 - 愿意进行治疗前纳米氧化铁 MRI(如果患者有铁过载的证据、已知对纳米氧化铁或任何其他 IV 铁产品的超敏性、多药物过敏的记载史，或原本禁用 MRI 的那些(包括与进行 MRI 相关的幽闭恐惧症或焦虑)，那么将被从经受纳米氧化铁 MRI 中排除)	梗阻史，除非梗阻是经过外科手术的久远的发作 - 在研究治疗的第一次给药的 6 个月内的先前伊立替康疗法；或拓扑替康疗法或贝伐单抗疗法 - 在研究治疗的第一次给药之前的 3 周内或在小于药剂的 5 个半衰期的时间间隔内的先前化疗或生物疗法 - 在研究治疗的第一次给药的 4 周内的先前放射疗法 - 已经具有对骨盆或其他携带骨髓部位的放射的患者将根据具体情况考虑并且如果认为骨髓储备不足(即对 >25% 的骨髓放射)则可排除 - 已知对 MM-398 的超敏性 - 活动性感染 - 妊娠或哺乳

[0224] 如果在5个剂量水平中的每一个需要6名患者的话,那么试验的剂量递增部分可需要至多30名患者。另外的18名患者可用于探讨维利帕尼对生物学相关因素的影响。因此,增长的上限将设置为48名患者。

[0225] 该研究被提出包括所有实体肿瘤类型,然而,本研究高度感兴趣的具体适应症包括以下:宫颈癌、卵巢癌、三阴乳腺癌(TNBC)、非小细胞肺癌(NSCLC)、小细胞肺癌(SCLC)、胃癌、胰腺癌以及神经内分泌肿瘤。

[0226] 本文的方法和用途也可应用于其他合适的肿瘤类型,包括因在散发性肿瘤中发现的DNA损伤应答(DDR)途径缺陷(或‘BRCAness’)的增加的频率而著称的那些,其被预测对PARP抑制剂敏感。如先前所提及的,具体地在三阴乳腺癌和高级重度卵巢癌中发现的BRCA1或BRCA2缺陷使细胞对PARP抑制剂敏感。同样,参与DDR途径的其他基因和蛋白(包括内切核酸酶XPF-ERCC1、同源重组修复蛋白减数分裂重组蛋白11(MRE11)以及Fanconi贫血途径(FANC)蛋白)的功能的丧失也使细胞对PARP抑制剂敏感。Fanconi贫血途径缺陷已经在肺癌、宫颈癌和乳腺癌以及卵巢癌中得到证实。这些和其他DDR途径缺陷可以是PARP抑制剂疗法的预测性生物标志物,并且将在本研究中回顾性地探讨。具体地讲,维利帕尼也已经在多个适应症中展现出与FOLFIRI组合的临床活性,所述适应症包括BRCA阳性和BRCA野生型乳腺癌和卵巢癌,以及胃癌。对于所提出的研究,不仅针对它们高的未满足的医学需要,而且基于前文提到的临床前和/或临床经验针对对伊立替康和/或维利帕尼的潜在的敏感性对适应症进行选择。虽然PARP抑制剂奥拉帕尼近期经FDA批准在BRCA+卵巢癌中作为单一疗法,但是本研究将不把在卵巢患者群体中的治疗局限于BRCA+患者,因为这是组合疗法的I期研究并且可以回顾性地鉴定具有除了BRCA之外的其他DDR途径缺陷的患者。

[0227] 脂质体伊立替康和奥拉帕尼的使用

[0228] 每两周以80mg/m²的剂量(基于伊立替康盐酸盐三水合物的对应量,等于70mg/m²伊立替康游离碱)经90分钟通过静脉内(IV)输注施用MM-398。奥拉帕尼由患者在家中根据以下方案每日两次口服共同施用(表10)。

[0229] 表10

[0230]

剂量水平 ¹	奥拉帕尼剂量 (mg BID)	奥拉帕尼给药日	MM-398 剂量 (mg/m ² q2w)*
1	100	第5天-第12天; 第19天-第25天	80, 第1天、第15天
2	200	第5天-第12天; 第19天-第25天	80, 第1天、第15天
3	200	第5天-第12天; 第17天-第25天	80, 第1天、第15天
4	300	第5天-第12天; 第19天-第25天	80, 第1天、第15天
5	400	第5天-第12天; 第19天-第25天	80, 第1天、第15天

[0231] $\ast=80\text{mg}/\text{m}^2$ MM-398剂量是基于伊立替康盐酸盐三水合物的对应量(等于基于伊立替康游离碱的 $70\text{mg}/\text{m}^2$)。

[0232] 实施例7:测量肿瘤活检中的磷酸化H2AX

[0233] 磷酸化H2AX (γ -H2AX) 在DNA修复和检查点蛋白诸如BRCA1、MRE11/RAD50/NBS1复合物、MDC1和53BP1的募集和/或保留中起到重要作用。已经显示DNA损伤增加在暴露于喜树碱之后癌细胞中的H2AX磷酸化。如果一种或多种PARP抑制剂化合物能够由于来自MM-398的伊立替康而增加DNA损伤的程度,那么通过测量H2AX磷酸化可对其进行检测。在先前的临床研究中使使用免疫荧光测定。如果存在易于获得的疾病,将收集患者外周血单核细胞(PBMC)、毛囊和/或肿瘤活检样品。通过 γ -H2AX水平测量的药效学反应之间的关联可在适当时通过费歇尔检验法(Fisher's test)或Wilcoxon秩和检验法进行评估;这种评价将在MTD $\pm$ 2个剂量水平的最大值下进行(图18)。

[0234] 表11.活检的方案和替代样品

剂量水平		PARPi 剂量 (mg BID)	PARPi 给药日	MM-398 剂量 (mg/m^2 q2w)	针对 PD 标志物的动物活检
1		100	第 5 天-第 12 天; 第 19 天-第 25 天	80, 第 1 天、 第 15 天	--
2		200	第 5 天-第 12 天; 第 19 天-第 25 天	80, 第 1 天、 第 15 天	--
3		200	第 3 天-第 12 天; 第 17 天-第 25 天	80, 第 1 天、 第 15 天	第 1 天、第 5 天、 第 19 天
4		300	第 3 天-第 12 天; 第 17 天-第 25 天	80, 第 1 天、 第 15 天	第 1 天、第 5 天、 第 19 天
5		400	第 3 天-第 12 天; 第 17 天-第 25 天	80, 第 1 天、 第 15 天	第 1 天、第 5 天、 第 19 天
确证	A	MTD	第 3 天-第 12 天; 第 19 天-第 25 天	80, 第 1 天、 第 15 天	第 1 天、第 5 天、 第 19 天
	B	MTD	第 5 天-第 12 天; 第 17 天-第 25 天	80, 第 1 天、 第 15 天	第 1 天、第 5 天、 第 19 天

[0236] 实施例8:施用和检测纳米氧化铁以预测来自脂质体伊立替康的拓扑异构酶抑制剂的沉积

[0237] 图19A-19C示出FMX MRI可以是对MM-398的肿瘤反应的预测工具。图19A为示出MM-398和FMX具有类似特性的示意图,所述特性包括1)延长的PK,2)通过EPR效应(即渗漏的脉管系统)沉积在肿瘤组织中的能力,以及3)通过巨噬细胞摄取。因此,在MRI上进行FMX的可视化可以预测MM-398沉积。(B)使用标准曲线由在FMX注射后24h获得的MR图像计算各个患者病灶的FMX浓度。(C)相对于在FMX MRI可评价病灶中观察到的中值且相比于基于CT扫描的病灶尺寸的最佳变化(从9名患者中获得的数据,共计31个病灶)对在24h时来自病灶的FMX信号进行分组。

[0238] MM-398的I期研究还检查了磁共振(MR)成像的可行性,以预测肿瘤相关巨噬细胞(TAM)含量和MM-398沉积。TAM似乎在MM-398在肿瘤微环境内的沉积、保留和激活中起到关键作用。在此临床研究中,使用纳米氧化铁(FMX)(用聚葡萄糖山梨醇羧甲基醚涂布的超顺磁性氧化铁的微颗粒制剂)作为成像造影剂并且在FMX注射之后的1h、24h和72h获得MR图像。FMX是被指明用于在患有慢性肾病的成人患者中治疗缺铁性贫血的批准疗法;然而,越来越多的没有缺铁的癌症患者被施用FMX作为成像剂来使巨噬细胞含量和脉管系统可视化。像MM-398一样,FMX也是具有大约17-31nm直径的纳米颗粒。因为肿瘤渗透性被预测是MM-398功效中的重要因素,因此也针对FMX作为用于脂质体沉积的替代品的用途对其进行了研究(图19A)。FMX的有益效果是该药剂有助于鉴定由于不良的药物吸收而不太可能对MM-398应答的患者。作为诊断检验的纳米氧化铁使得能够检测将显著地受益于MM-398的本不可归类的患者群体。

[0239] 来自人临床试验研究的MRI结果表明,沉积在肿瘤病灶中的FMX的量能够定量(图19B),并且随后显示在MRI的肿瘤病灶纳米氧化铁摄取与对MM-398的应答之间存在相关性(图19C)。这种相关性现在正在I期研究的扩展中进一步研究,并且作为针对MM-398+维利帕尼的试验的相关成像研究被包括在内。

[0240] FMX是被指明用于在患有慢性肾病的成人患者中治疗缺铁性贫血的铁替代产品。尽管未以指明的形式被批准,但是还使用纳米氧化铁在癌症患者中作为成像剂并且将在本研究中这样使用。在周期1第1天之前的至少2天(之前最大8天),将通过静脉内注射施用单剂量的5mg/kg FMX。总的单剂量将不超过FMX的最大批准单剂量510mg。此给药方案比推荐相隔3至8天两剂量的510mg的批准标签的强度小,然而由于FMX在本研究中用作成像剂而不是缺铁的替代产品,因此较低剂量更为适当。对于每个患者,将经2天进行三个MRI。所有患者将具有在FMX输注之前获取的基线图像和在FMX施用结束之后1-4h获取的第二图像。所有患者将在第二天返回到使用与先前相同的方案和顺序进行的24h FMX-MRI。每个患者将被要求在相同的扫描仪上完成他们的FMX-MRI,以减小扫描间差异。待扫描的身体区域将通过患者的疾病位置进行确定。将在T1、T2和T2*加权序列上针对图像质量和肿瘤的信号特征以及参考组织评价每个MRI研究。一旦已经接受了来自每个患者的完整的图像组,将进行定性评论并将其发送给定量实验室进行分析。将以与上文所述类似的方式对数据进行分析。

[0241] 成像相关因素表12

[0242]

相关对象	成像技术	扫描的一个或多个器官和扫描计时
纳米氧化铁(FMX)摄取	MRI	疾病部位; 在周期1第1天之前的大约2-6天完成3次扫描。扫描时间点: -基线(即将进行FMX输注之前) -1h(FMX输注后) -24h(FMX输注后)
组蛋白 γ -H2AX(Pommier, DTB-CCR; Doroshow, Leidos)	免疫荧光显微术 ELISA(正在开发中)	- 治疗之前和治疗期间的组织活检。 - 治疗期间的毛囊。 治疗之前和治疗期间的 PBMC

[0243] 成像相关因素研究

[0244] 如果患者不满足下列标准中的任一个,那么他们将有资格参与FMX成像研究:

[0245] ○如通过以下各项确定的铁过载的证据:

[0246] ■>45%的禁食转铁蛋白饱和度和/或

[0247] ■>1000ng/ml的血清铁蛋白水平

[0248] ○对以下各项中的任一个的过敏反应史:

[0249] ■与纳米氧化铁或如纳米氧化铁注射的完整处方信息中所述的其组分中的任一个相似的化合物

[0250] ■任何IV铁替代产品(例如,胃肠外铁、葡聚糖、右旋糖酐铁或胃肠外铁多糖制剂)

[0251] ■多种药物

[0252] ○不能进行MRI或原本禁用MRI的人(例如,存在偏离金属、心脏起搏器、疼痛泵或其他MRI不兼容的装置;或与进行MRI相关的历史性幽闭恐惧症或焦虑)

[0253] 如果患者同意FMX-MRI,那么患者将接受纳米氧化铁输注并且在开始MM-398治疗之前的大约2-6天(FMX期)进行所需的FMX-MRI扫描。将以5mg/kg,至多最大510mg的剂量施用FMX。施用的所有其他方面将与最新的纳米氧化铁处方信息一致。详细的FMX-MRI方案将包括在研究成像手册中。简而言之,每个患者将被要求在相同的扫描仪上完成他们的FMX-MRI,以减小扫描间差异。将在T1、T2和T2*加权序列上针对图像质量和肿瘤的信号特征以及参考组织评价每个MRI研究。一旦已经接收到来自每个患者的完整的图像组,将把图像加载到查看工作站上,以用于定性评论,接着将其发送至定量实验室(通过中央成像CRO进行处理)进行分析。

[0254] 将在FMX期的第1天-第2天在各种时间点收集多个MR图像:在FMX输注之前获取的基线图像、发生在FMX施用结束之后的1-4h的第二图像,以及在FMX后大约24h的第三图像,使用与第1天相同的方案和顺序。待扫描的身体区域将通过患者的疾病位置进行确定;详细说明将在研究成像手册中进行描述。

[0255] 实施例9:脂质体伊立替康与5-氟尿嘧啶和甲酰四氢叶酸的组合的临床使用

[0256] MM-398的临床功效已经在吉西他滨难治性转移性胰腺癌患者中得到证实:在随机的3期国际研究(NAPOLI-1)中,MM-398与5-氟尿嘧啶/甲酰四氢叶酸(5-FU/LV)组合给予,并且与单独的5-FU/LV治疗相比,具有显著延长的总体存活(OS)。相比于对照臂的4.2个月,含有MM-398的臂的中位OS为6.1月(HR=0.67, p=0.0122)。因为MM-398中的活性药物成分为伊立替康,所以如预期的那样,安全性特征定性地类似于伊立替康,其中最常见的不良事件($\geq 30\%$)是恶心、呕吐、腹痛、腹泻、便秘、厌食、中性粒细胞减少、白细胞减少(包括淋巴细胞减少)、贫血、无力、发烧、体重降低以及脱发(伊立替康包装说明书)。表14提供了来自NAPOLI-1研究的用MM-398加5-FU/LV治疗的患者的3级或更高安全性数据的汇总。表13提供了在I期单一疗法研究中观察到的毒性,用于比较。

[0257] 表13. 来自在I期研究期间每2周以80mg/m²的剂量用MM-398单一疗法治疗的13名患者的最常见的(>10%) 3级或更大的不良事件的汇总。

[0258]

研究 MM-398-01-01-02 中 ≥ 3 级的不良事件	
	n (%)
腹泻	4 (30.8)
低钾血	3 (23.1)
腹痛	2 (15.4)
贫血	2 (15.4)
恶心	2 (15.4)
中性粒细胞减少	2 (15.4)

[0259] 表14. 来自NAPOLI-1 III期研究的3级或更高AE的汇总。

[0260]

	MM-398 + 5-FU/LV ¹ (N=117)	5-FU/LV ² (N=134)
>5%患者中的 ≥ 3 级非血液 AE, % ³	%	%
疲劳	14	4
腹泻	13	5
呕吐	11	3
恶心	8	3
无力	8	7
腹痛	7	6
食欲下降	4	2
低钾血	3	2
高钠血	3	2
基于实验室值的 ≥ 3 级血液 AE, % ^{3,4}		
嗜中性粒细胞计数减小	20	2
血红蛋白降低	6	5
血小板计数减小	2	0

[0261]

[0262] ¹剂量: 80mg/m²MM-398+2400mg/m²经46h/400mg/m² 5-FU/LV q2w[0263] ²剂量: 2000mg/m²经24h/200mg/m² 5-FU/LV每周x 4, q6w[0264] ³按照CTCAE版本4[0265] ⁴仅包括具有至少一次基线后评估的患者

[0266] 实施例10: 在SN-38和PARP抑制剂组合治疗之后各种TNBC细胞系的细胞存活率。

[0267] 表15和16提供了各种三阴乳腺癌 (TNBC) 癌细胞系的细胞存活率的体外测量的结果, 以确定在用SN-38和/或PARP抑制剂处理之后的细胞活力。表15提供IC50数据并且表16提供最大杀伤率数据。

[0268] 生成这些数据的实验在384孔格中进行。将细胞以1000个细胞/孔涂板, 接着温育24小时。然后添加SN-38和/或四种不同的PARP抑制剂 (talazoparib、尼拉帕尼、奥拉帕尼或芦卡帕尼) 中的一种并且再温育24小时, 然后用PBS洗涤孔以去除药物并且将新鲜培养基加回到孔中。然后使板温育72小时的时间段。在72小时的温育时间段之后, 移除培养基并且

使用CellTiter-Glo®细胞活力测定 (Promega, Madison WI) 根据产品说明书测定细胞活力。图3A和3B为分别示出在用SN-38和/或talazoparib处理之后BT20和HCC38乳腺癌细胞系中的细胞活力的线图。

[0269] 表15 IC₅₀ log₁₀ (uM)

[0270]

实验 1	处理	细胞系					
		BT20	SUM159P T	HCC38	HCC118 7	HCC180 6	BT54 9
	SN38	-0.18	-2.35	-2.80	-0.68	-2.08	-0.10
	尼拉帕尼	2.14	0.35	1.23	2.11	1.27	2.03
	SN38 & 尼拉帕尼 (3ug/ml)	-0.67	-3.99	-0.12	-1.58	-2.80	-0.39
	SN38 & 尼拉帕尼	-0.70	-3.42	-4.09	-1.45	-2.62	-0.64

[0271]

实验 1 处理		细胞系					
	尼(1ug/ml)						
	SN38 & 尼拉帕尼(0.3ug/ml)	-0.71	-2.85	-4.23	-1.61	-2.55	-0.74
	SN38 & 尼拉帕尼(0.1ug/ml)	-0.61	-2.87	-4.05	-1.41	-2.52	-0.55
实验 2 处理		细胞系					
		BT20	SUM149P T	SUM159P T	HCC70	HCC118 7	BT54 9
	SN38	-0.69	0.24	-2.39	-0.07	-0.64	-0.04
	奥拉帕尼	1.24	2.40	0.18	-4.2×10^7	2.41	2.04
	SN38 & 奥拉帕尼(3ug/ml)	-1.48	-0.19	-3.70	-0.58	-1.77	-0.55
	SN38 & 奥拉帕尼(1ug/ml)	-1.49	-0.34	-3.31	-0.49	-1.67	-0.48
	SN38 & 奥拉帕尼(0.3ug/ml)	-1.44	-0.18	-2.92	-0.50	-1.35	-0.35
	SN38 & 奥拉帕尼(0.1ug/ml)	-1.29	-0.11	-2.92	-0.48	-1.56	-0.04
实验 3 处理		细胞系					
		BT20	SUM149P T	SUM159P T	HCC38	HCC195 4	BT54 9
	SN38	-0.37	0.27	-2.66	-2.89	-0.97	-0.05
	芦卡帕尼	1.27	1.68	-0.07	-0.07	1.60	1.75
	SN38 & 芦卡帕尼(3ug/ml)	-1.33	-0.16	-3.64	4.93	-1.22	-0.48
	SN38 & 芦卡帕尼(1ug/ml)	-1.47	-0.23	-3.28	-3.88	-1.33	-0.57
	SN38 & 芦卡帕尼(0.3ug/ml)	-1.48	-0.49	-3.23	-4.01	-1.51	-0.49
	SN38 & 芦卡帕尼(0.1ug/ml)	-1.24	-0.10	-3.11	-3.29	-1.57	-0.52
实验 4 处理		细胞系					
		BT20	SUM159P T	HCC38	HCC118 7	HCC195 4	SKBR 3
	SN38	-0.24	-2.33	-2.75	-0.98	-0.65	-1.38
	Talazoparib	1.45	-1.03	-1.23	2.28	3.64	-2.8×10^4

[0272]

实验 1	处理	细胞系					
	SN38 & Talazoparib (3ug/ml)	-1.88	-4.01	-3.41	-1.79	-1.64	-2.05
	SN38 & Talazoparib (1ug/ml)	-1.70	-4.01	-4.01	-1.79	-1.51	-2.65
	SN38 & Talazoparib (0.3ug/ml)	-1.10	-4.01	-5.46	-1.94	-1.45	-2.23
	SN38 & Talazoparib (0.1ug/ml)	-1.36	-4.01	-2.87	-1.92	-1.29	-2.41

[0273] 表16最大杀伤率

[0274]

实验 1	处理	细胞系					
		BT20	SUM159P T	HCC38	HCC118 7	HCC180 6	BT549
	SN38	100	97	96	90	93	95
	尼拉帕尼	100	97	100	98	100	100
	SN38 & 尼拉帕尼(3ug/ml)	100	100		89	91	94
	SN38 & 尼拉帕尼(1ug/ml)	100	100	93	93	92	92
	SN38 & 尼拉帕尼(0.3ug/ml)	100	99	100	89	92	92
	SN38 & 尼拉帕尼(0.1ug/ml)	100	100	100	89	93	94
实验 2	处理	细胞系					
		BT20	SUM149P T	SUM159P T	HCC70	HCC118 7	BT549
	SN38	100	96	97	97	100	93
	奥拉帕尼	98	100	94	50	87	100
	SN38 & 奥拉帕尼(3ug/ml)	98	97	100	98	100	
	SN38 & 奥拉帕尼(1ug/ml)	99	96	97	100	91	96
	SN38 & 奥拉帕尼(0.3ug/ml)	100	98	99	100	99	94

[0275]		SN38 & 奥拉帕尼(0.1ug/ml)	100	96	99	100	99	96
	实验 3 处理	细胞系						
			BT20	SUM149P T	SUM159P T	HCC38	HCC195 4	BT549
		SN38	100	95	99	92	94	94
		芦卡帕尼	100	99	97	87	100	100
		SN38 & 芦卡帕尼(3ug/ml)	92	97	99		96	93
		SN38 & 芦卡帕尼(1ug/ml)	100	97	99	98	94	92
		SN38 & 芦卡帕尼(0.3ug/ml)	94	95	100	98	95	93
		SN38 & 芦卡帕尼(0.1ug/ml)	96	100	97	97	93	94
	实验 4 处理	细胞系						
			BT20	SUM159P T	HCC38	HCC118 7	HCC195 4	SKBR 3
		SN38	100	96	92	88	100	88
		Talazoparib	100	94	92		100	
		SN38 & Talazoparib(3ug/ml)	100			89	93	90
		SN38 & Talazoparib(1ug/ml)	90			89	94	89
		SN38 & Talazoparib(0.3ug/ml)	93			89	94	100
		SN38 & Talazoparib(0.1ug/ml)	93			100	96	87

[0276] 虽然已经结合其具体实施方案描述了本发明,但是应当理解,能够对其进行进一步修改并且本申请旨在涵盖大体遵循本发明的原理且包括落入本发明所属领域内的已知或常规实践内的本公开的此类偏离的本发明的任何变型、用途或改型并且可应用于本文阐述的基本特征。本文提及的每个美国、国际或其他专利或专利申请或公布的公开内容由此以引用的方式整体并入本文。

使用SN-38且使用不同的PARP抑制剂(0.33 ug/ml)处理24小时,洗涤并且用新鲜培养基再温育72小时的ME-180细胞活力(在384孔板中1000个细胞/孔)

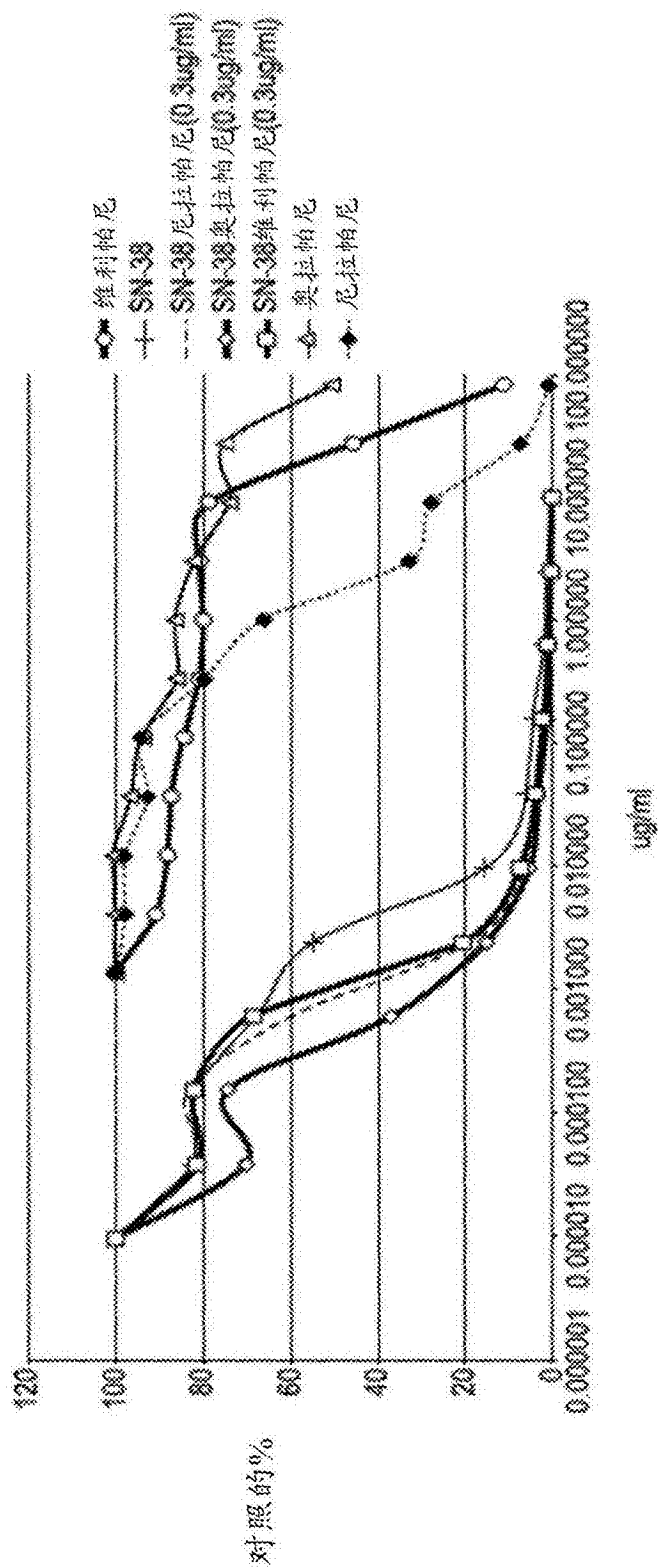


图1A

使用SN-38并且使用不同的PARP抑制剂(0.33 ug/ml)处理24小时,洗涤并且用新鲜培养基再温育72小时的MS-751细胞活力(在384孔板中1000个细胞/孔)

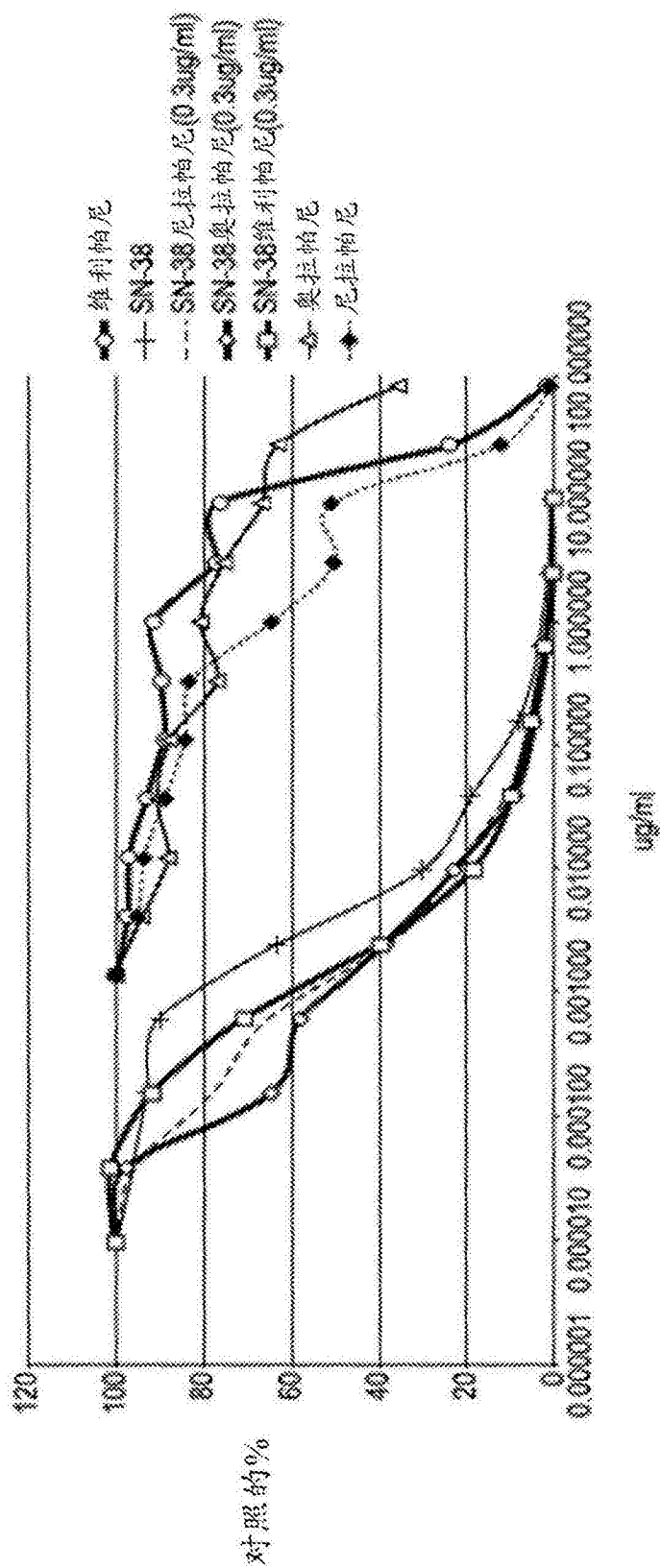


图1B

使用SN-38并且使用不同的PARP抑制剂(0.33 ug/ml)处理24小时, 洗涤并且用新鲜培养基再强
育72小时的C-33A细胞活力(在384孔板中1000个细胞/孔)

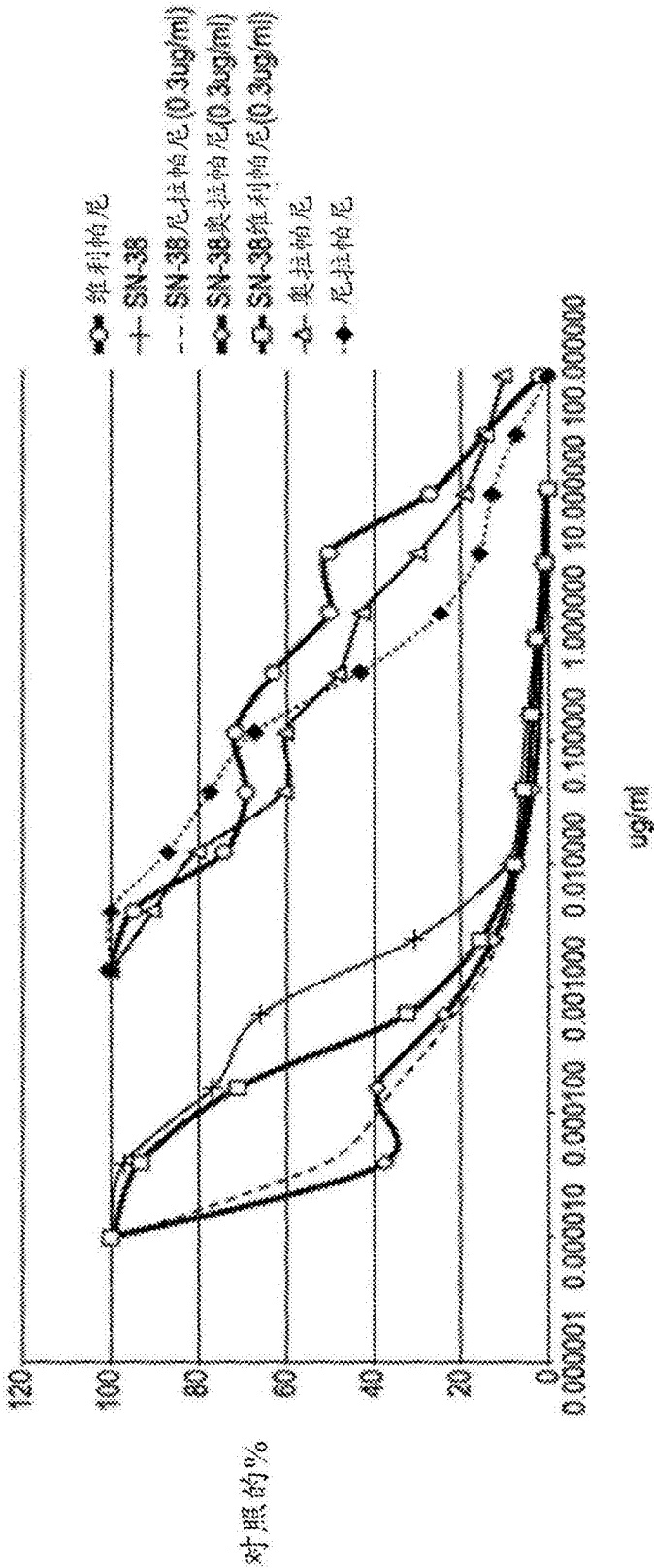


图1C

使用SN-38并且使用不同的PARP抑制剂(0.33 ug/ml)处理24小时, 洗涤并且用新鲜培养基再温育72小时的SW756细胞活力(在384孔板中1000个细胞/孔)

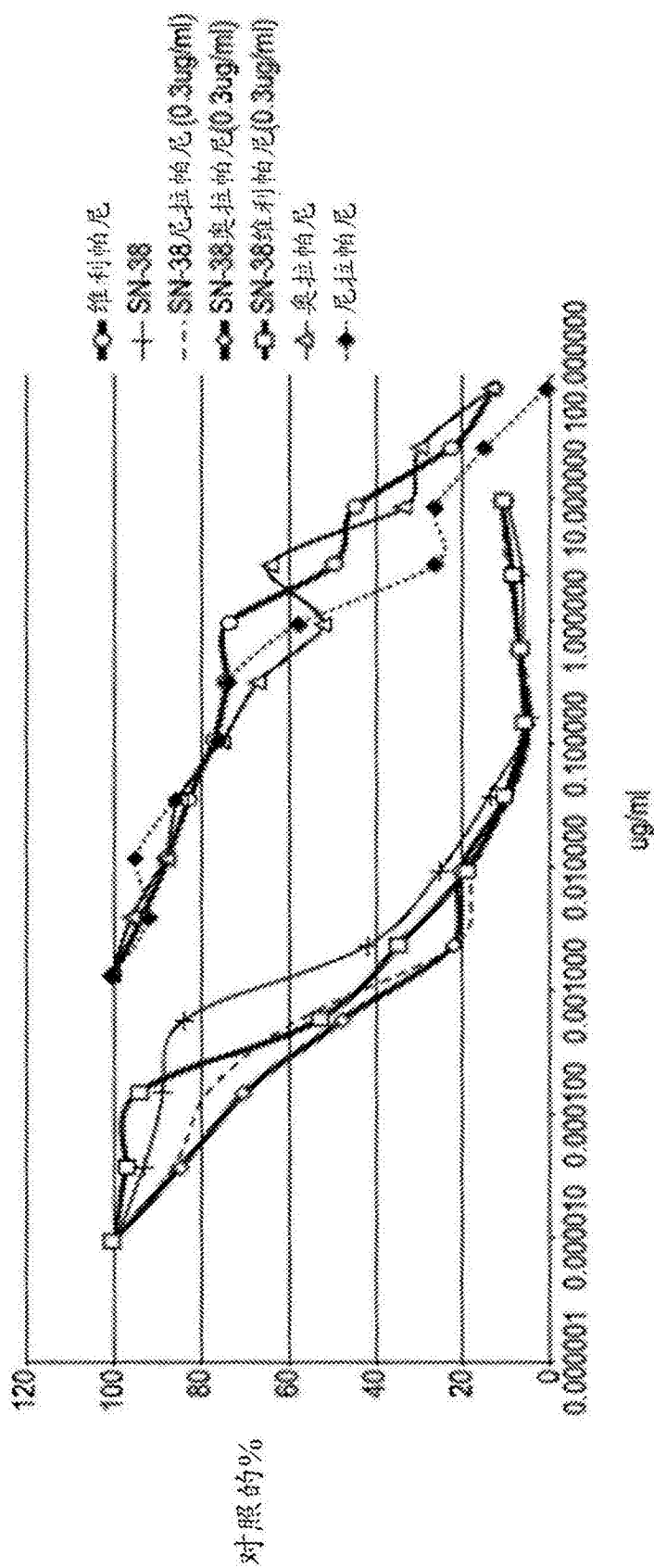


图1D

使用SN-38并且使用不同的PARP抑制剂(0.33 ug/ml)处理24小时,洗涤并且用新鲜培养基再温育72小时的SiHa细胞活力(在384孔板中1000个细胞/孔)

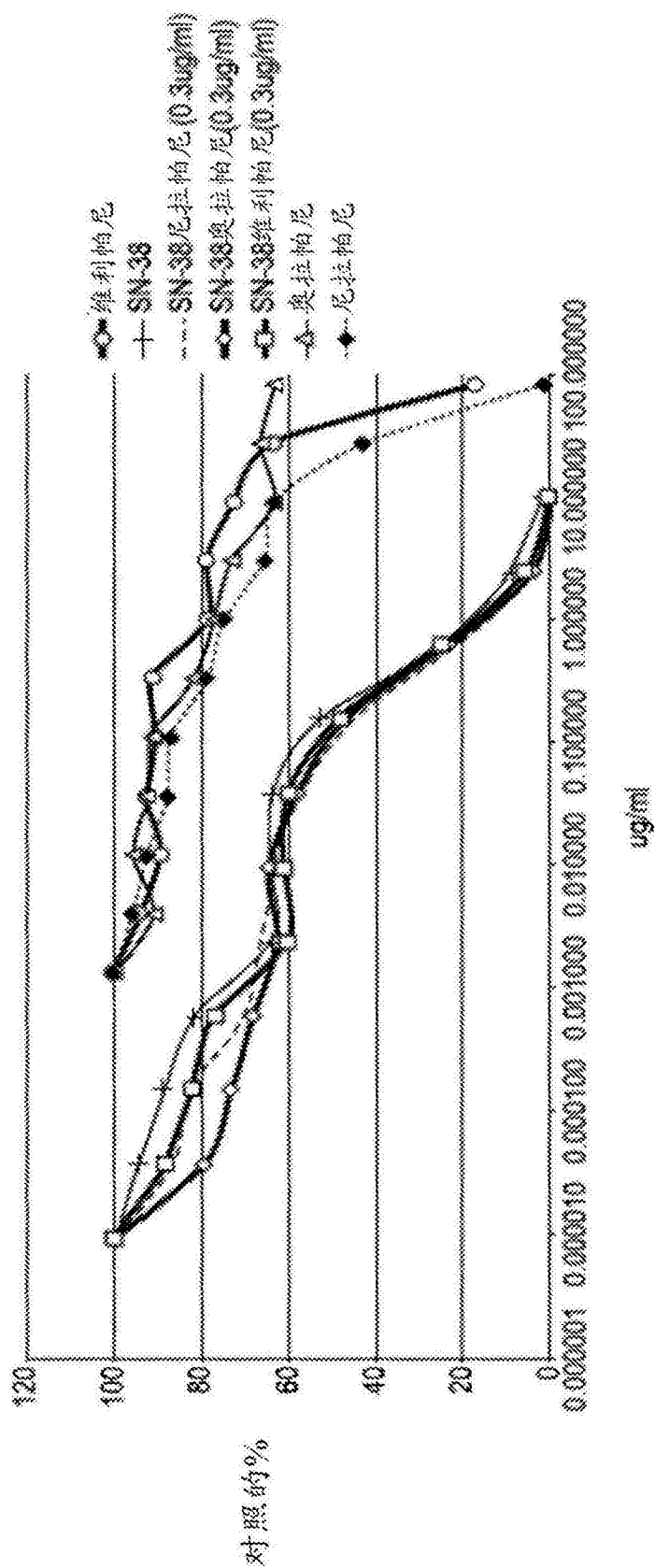


图1E

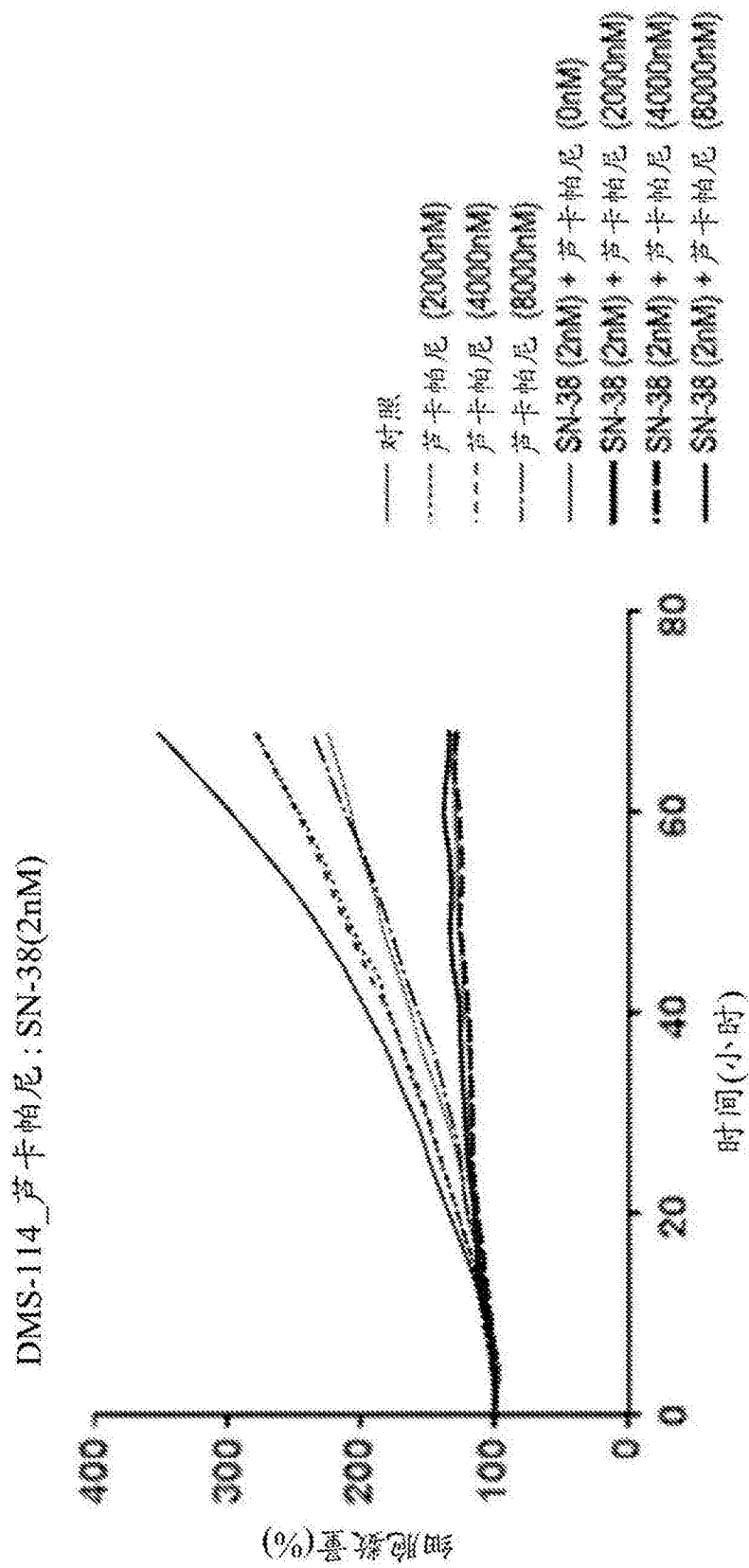


图2A

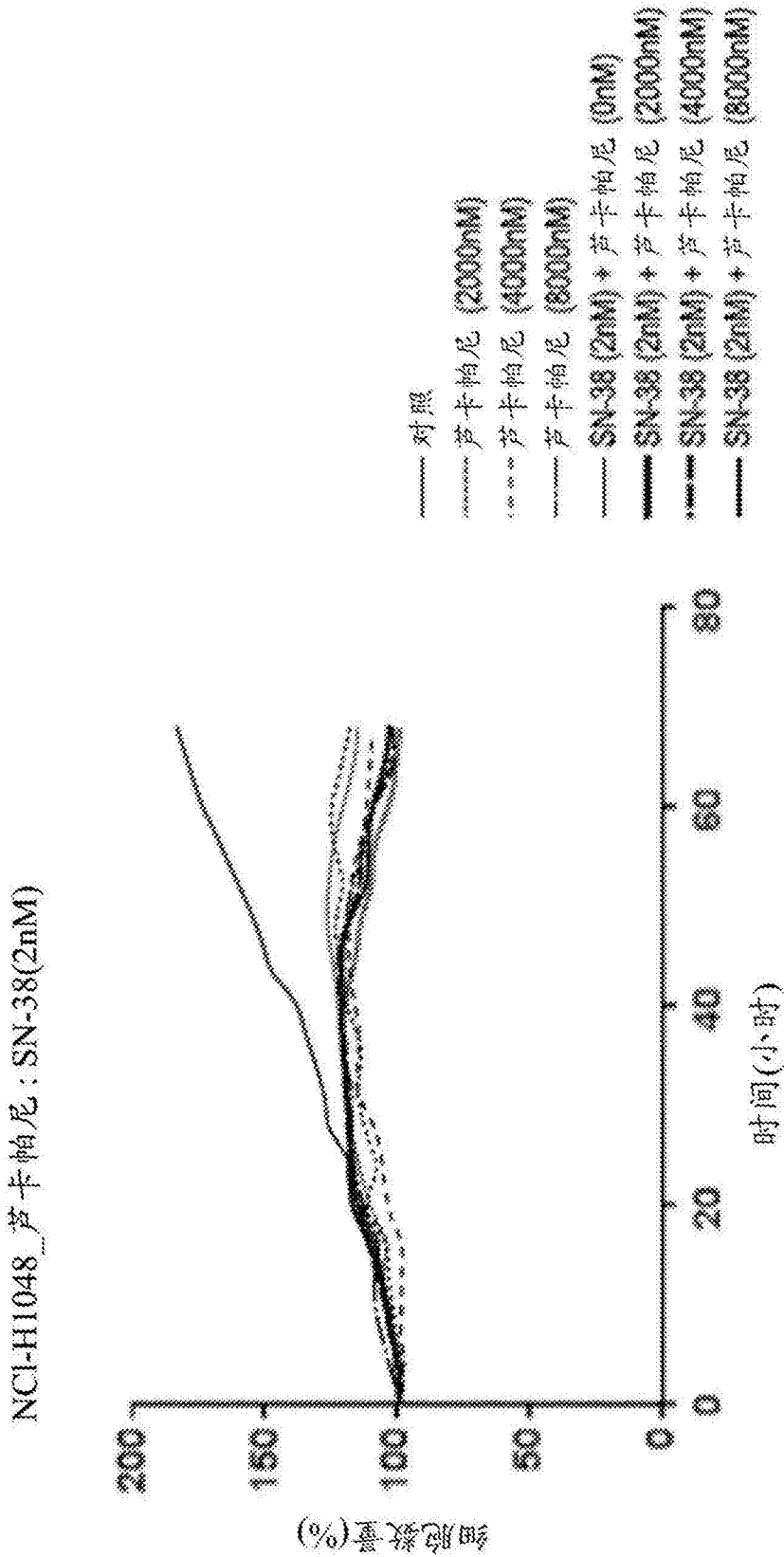


图2B

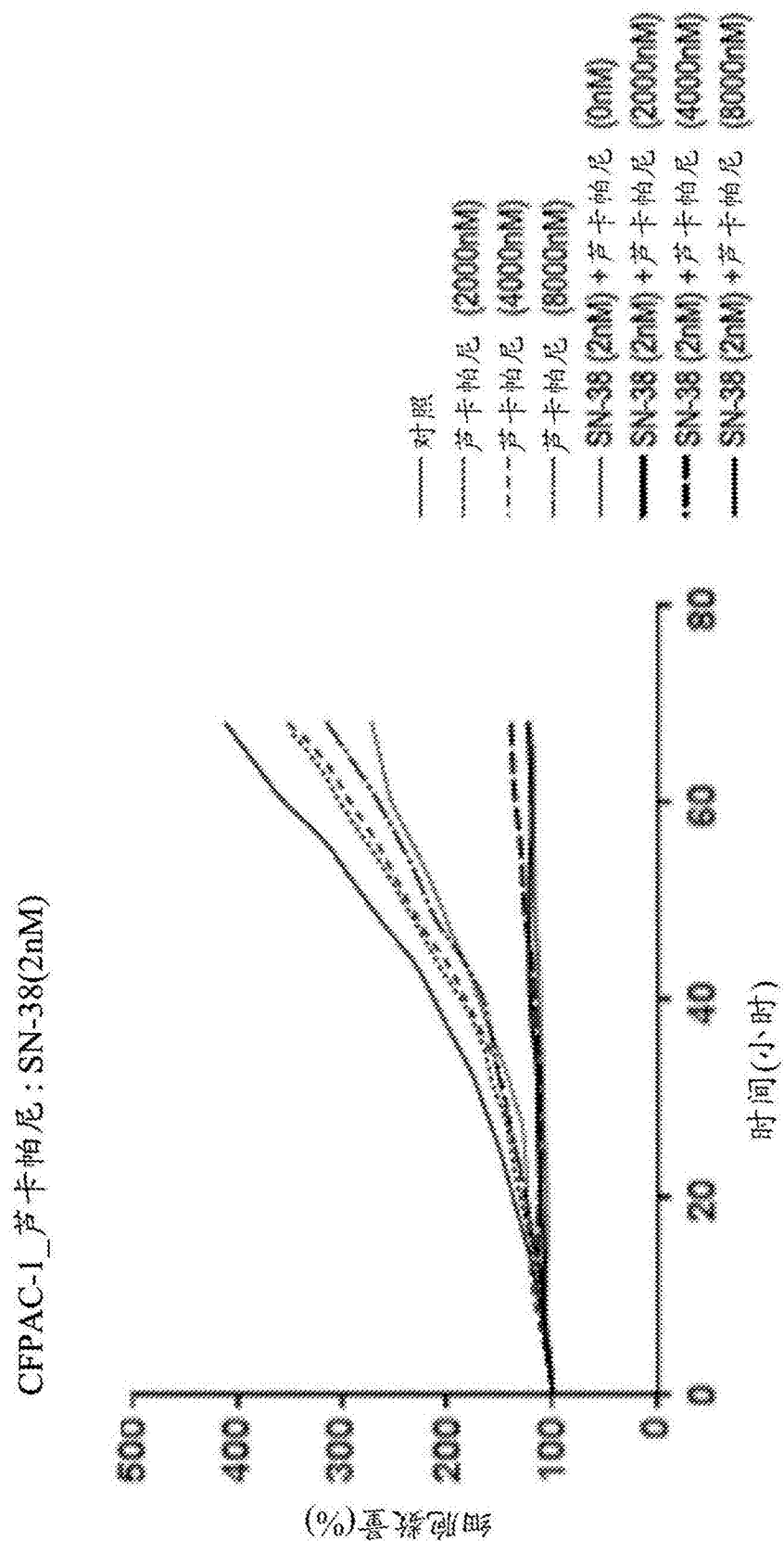


图2C

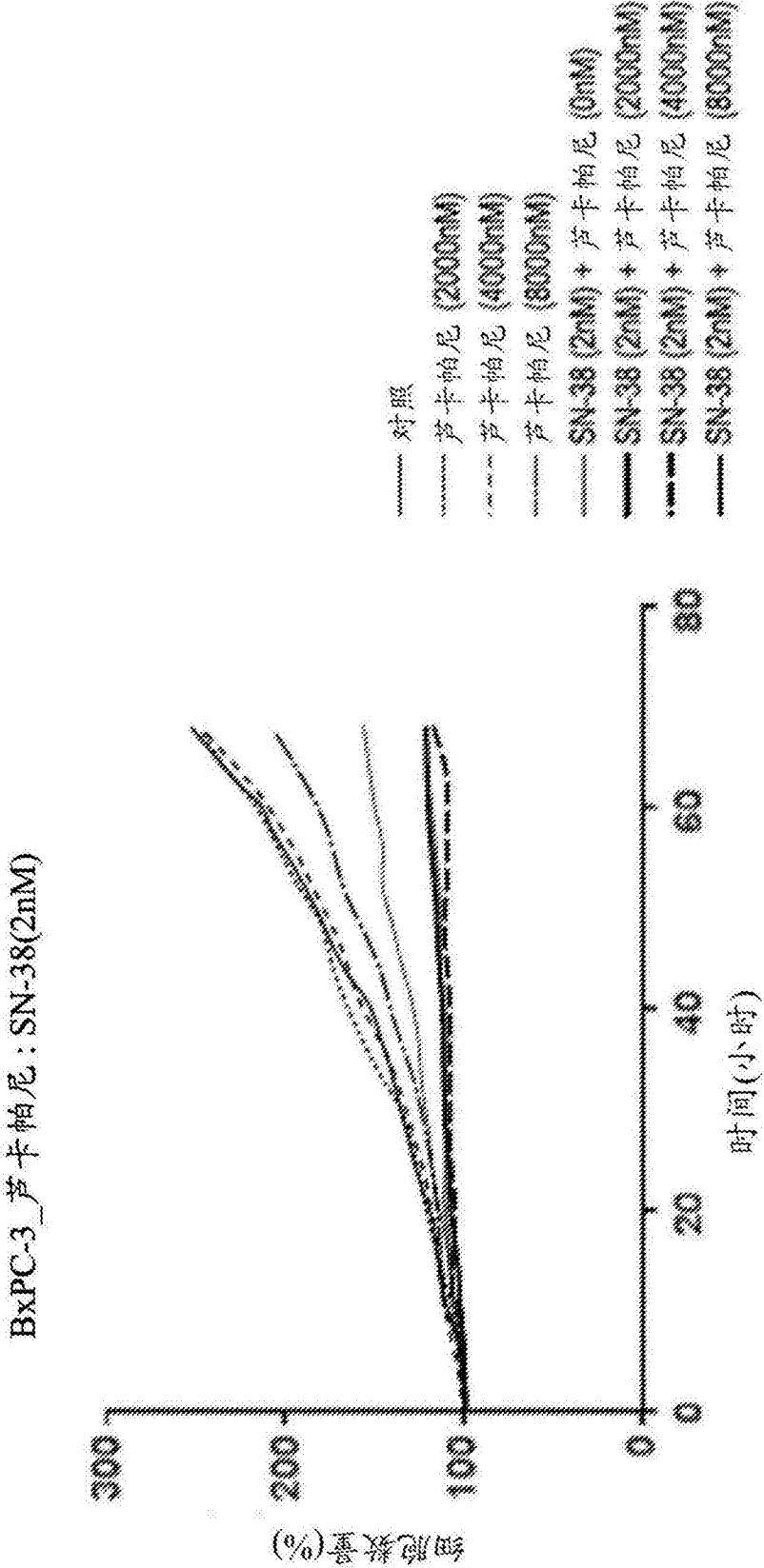


图2D

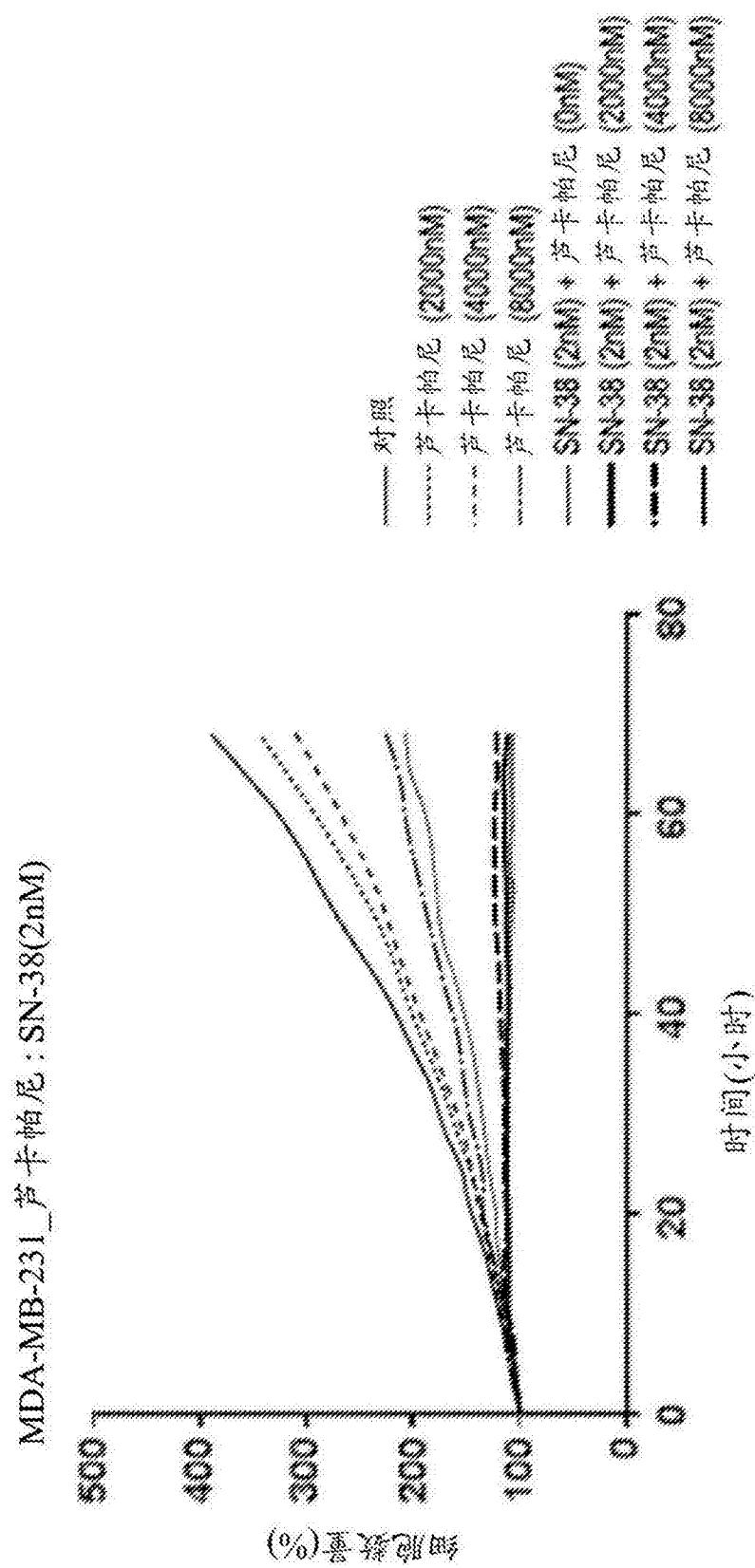


图2E

用SN-38和Talazoparib处
理的BT20细胞存活率

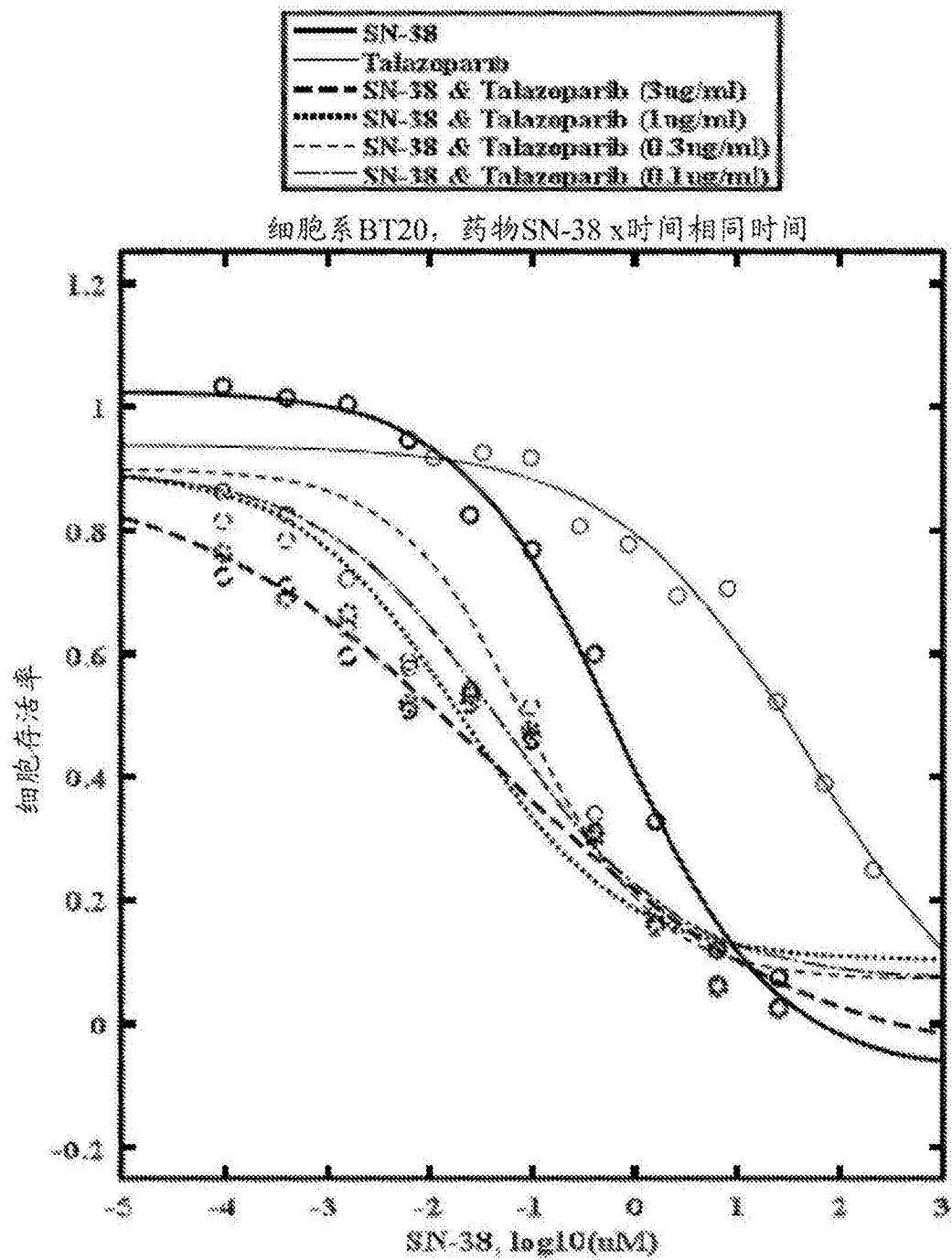


图3A

用SN-38和Talazoparib处理的HCC38细胞存活率

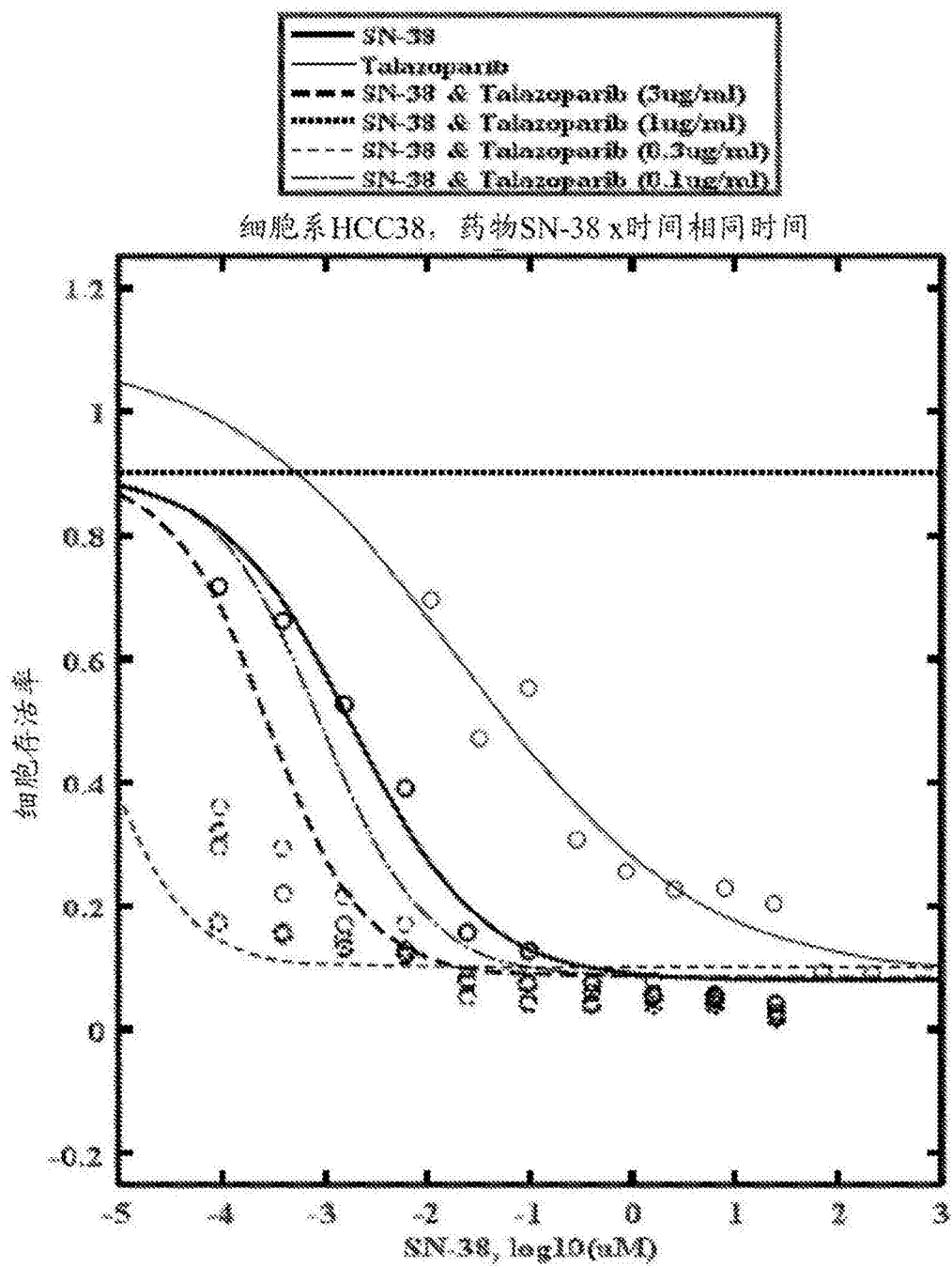


图3B

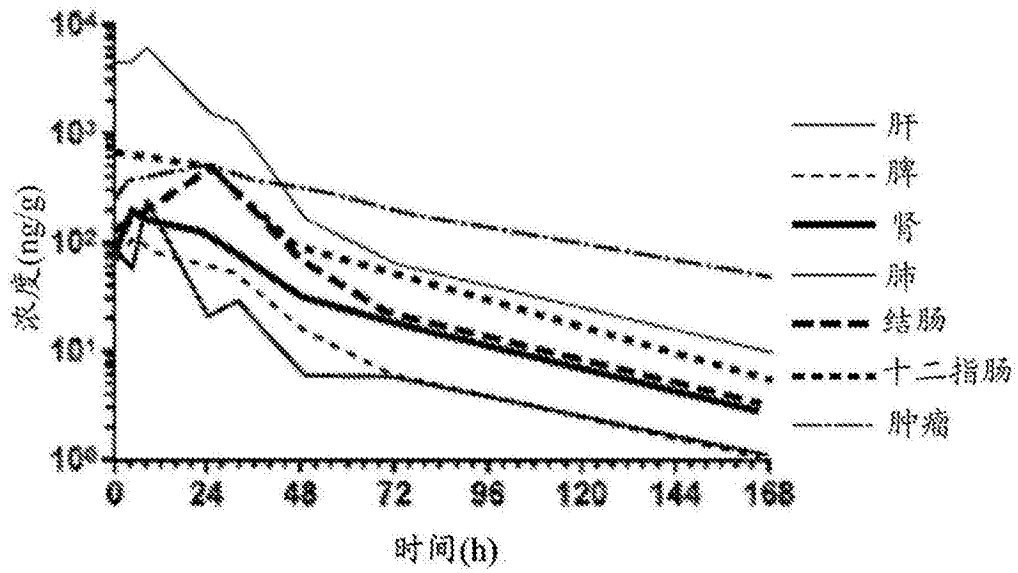


图4A

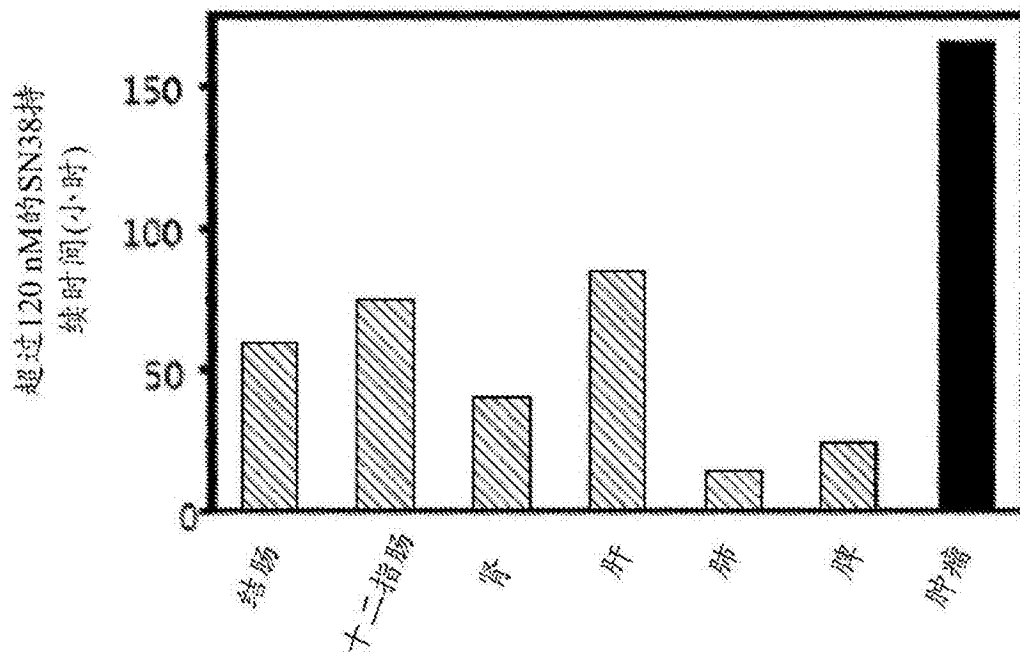


图4B

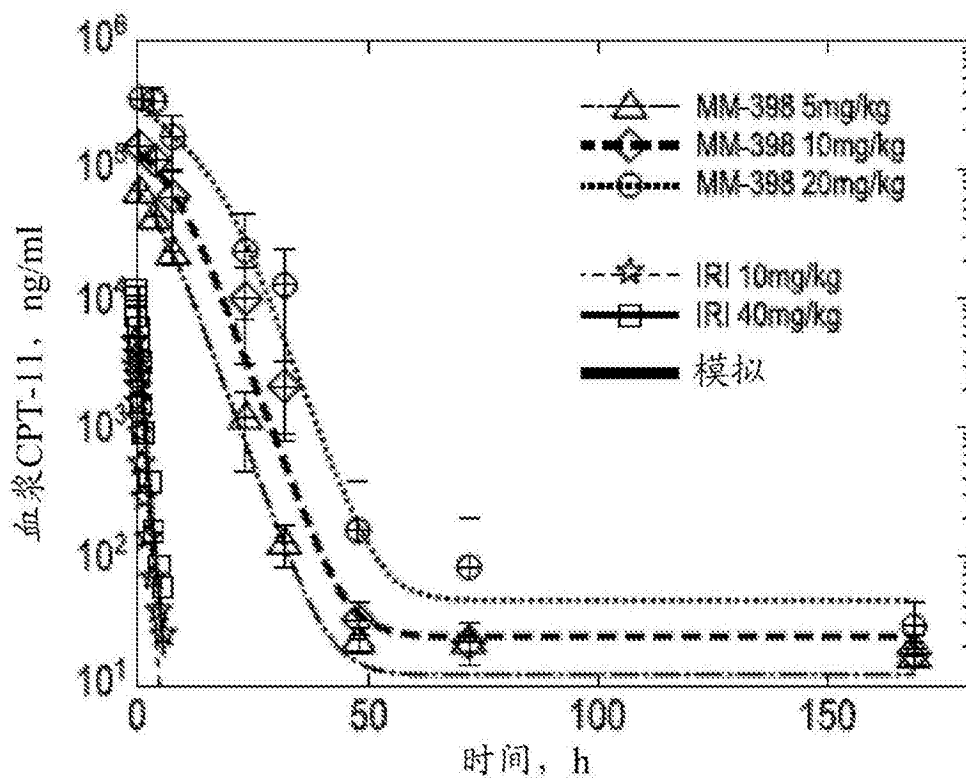


图5A

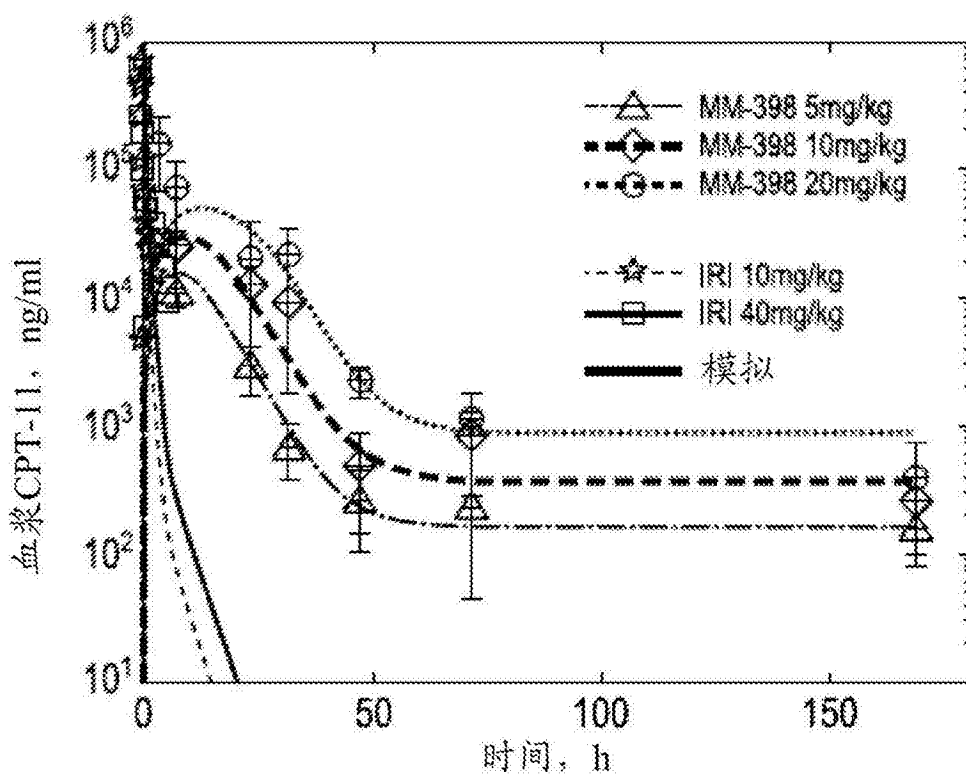


图5B

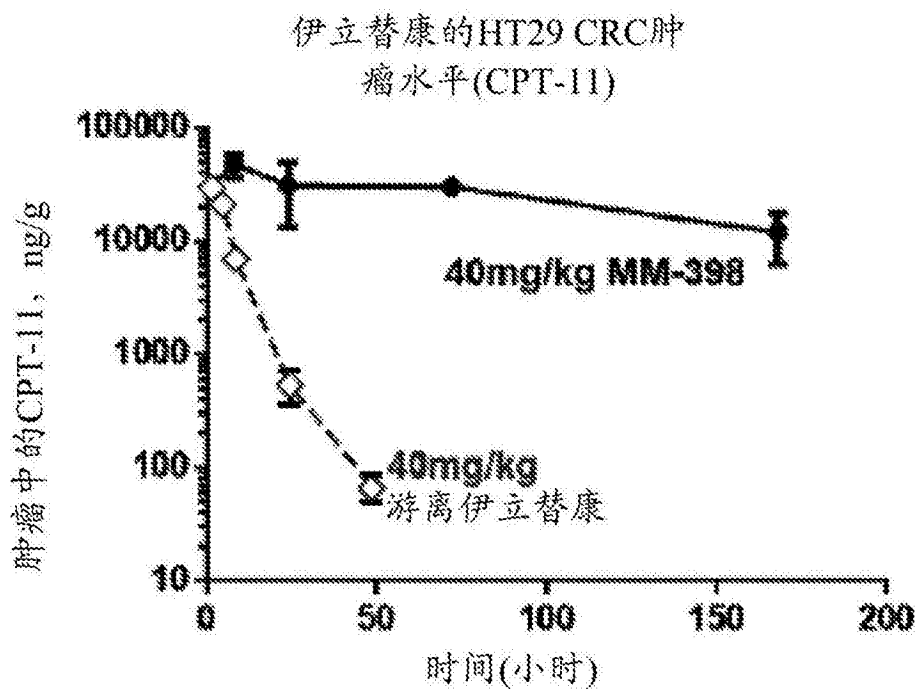


图5C

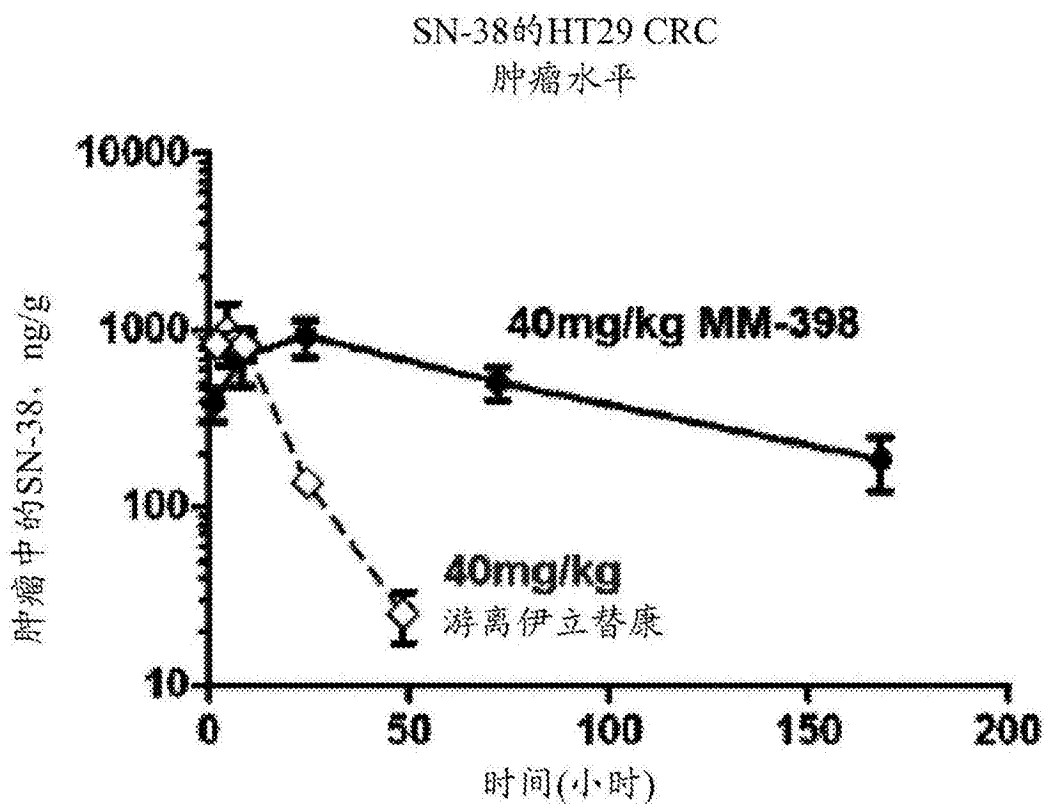


图5D

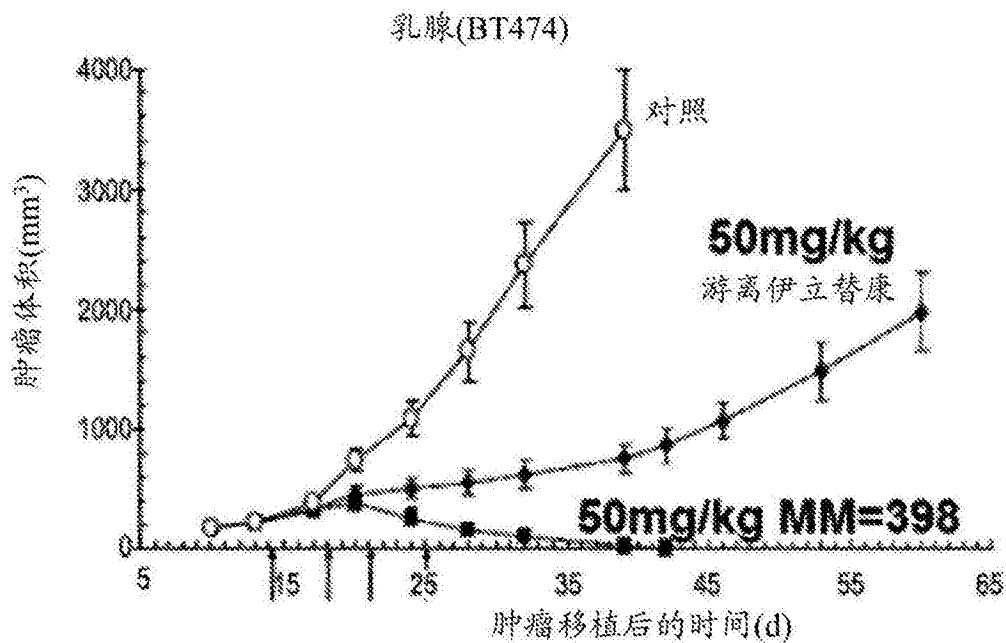


图6A

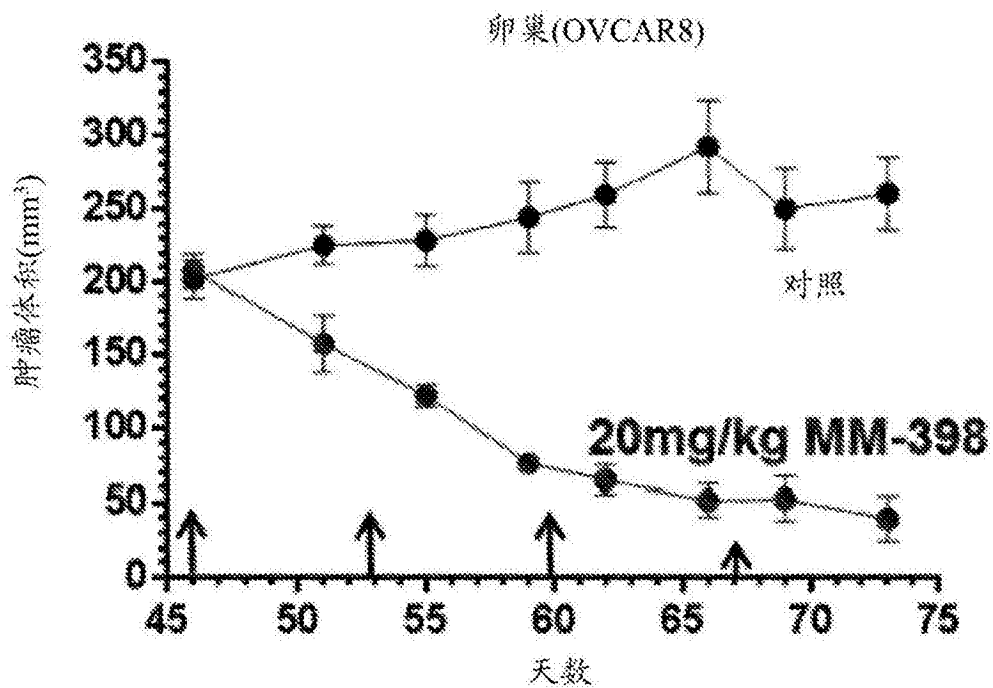


图6B

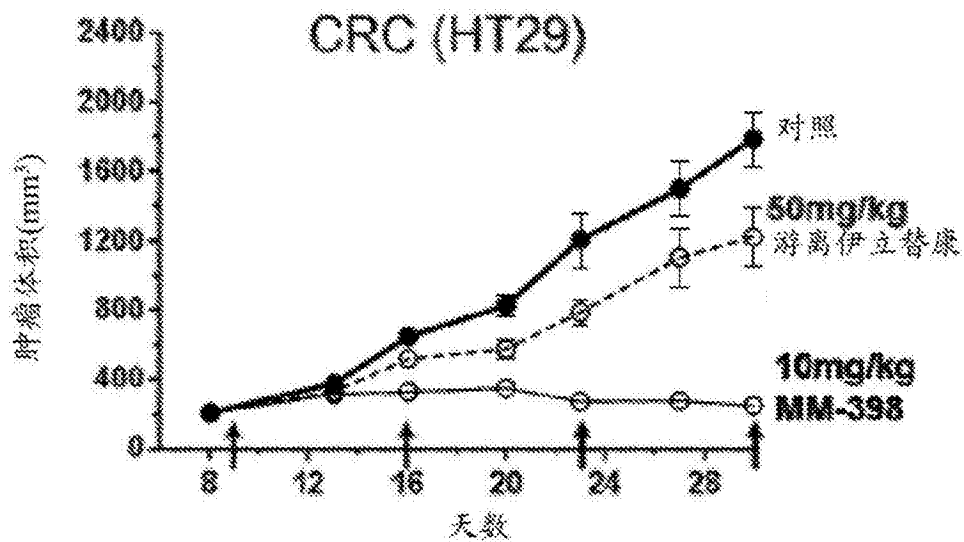


图6C

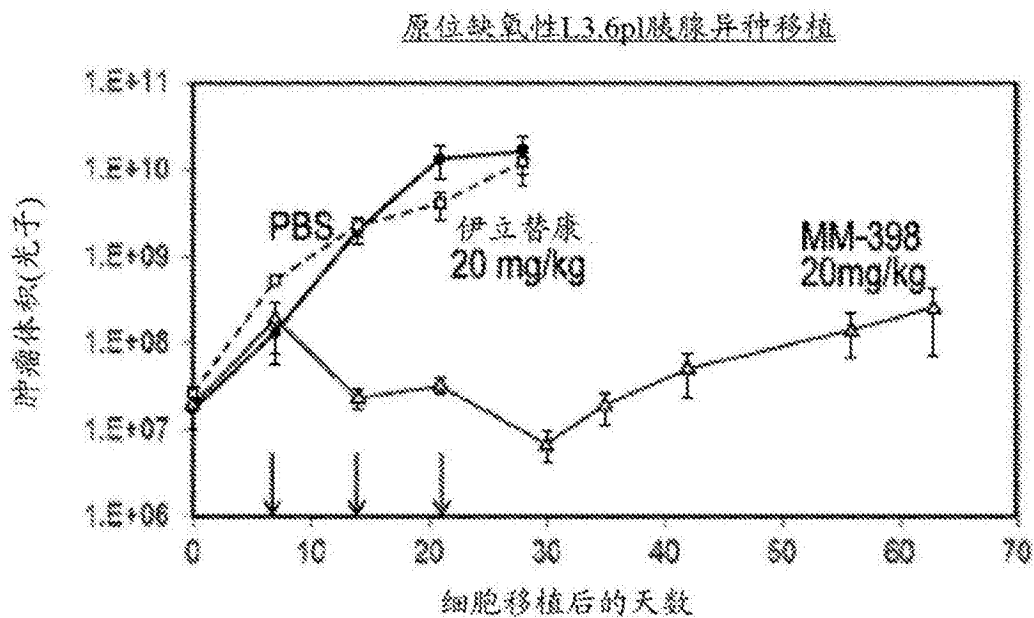


图6D

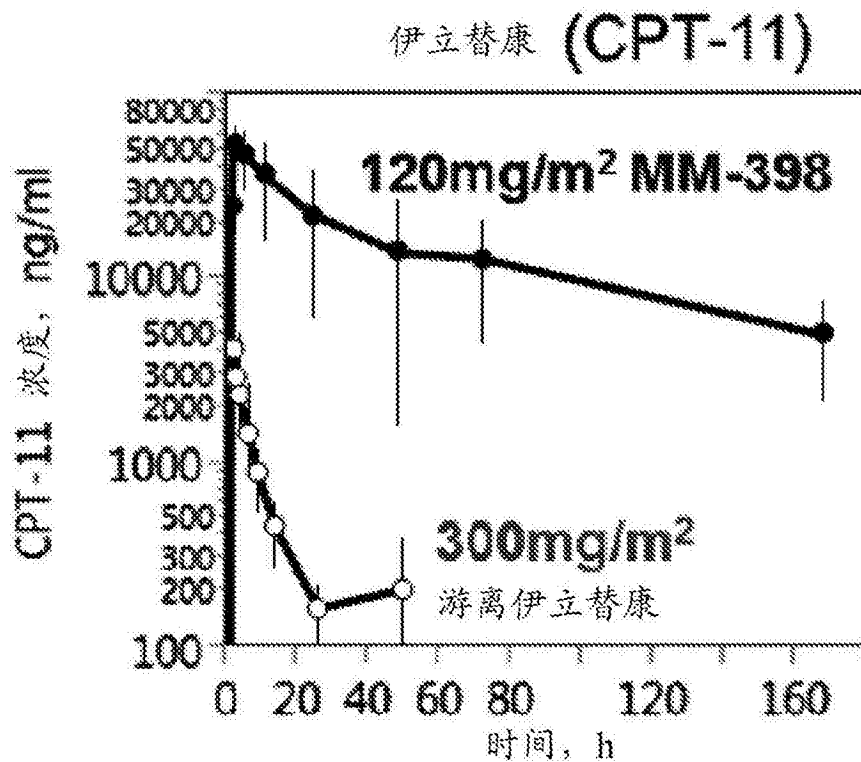


图7A

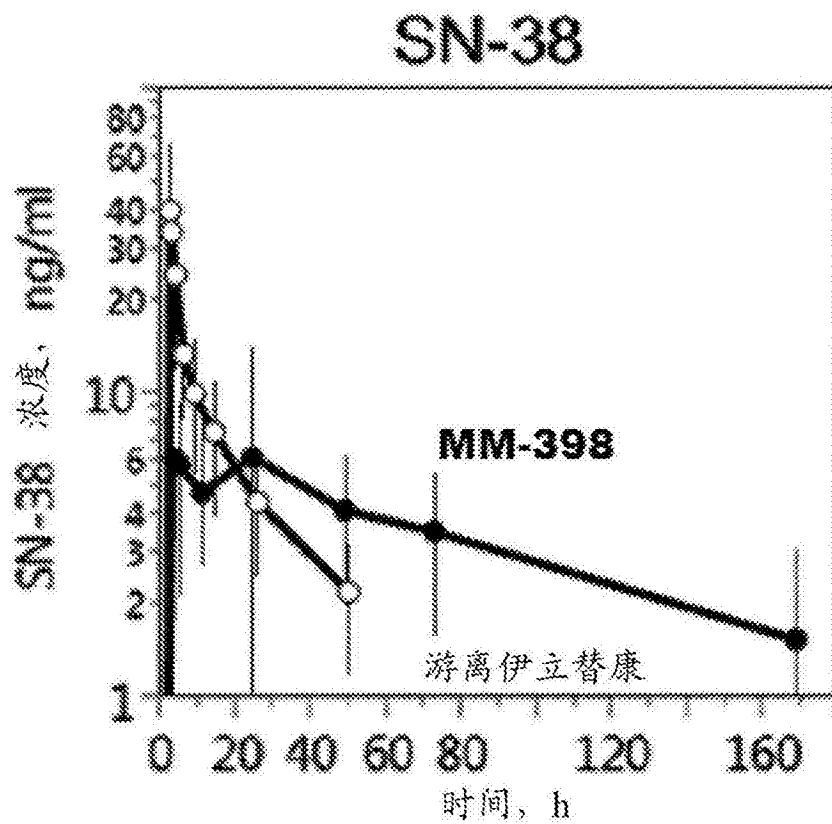


图7B

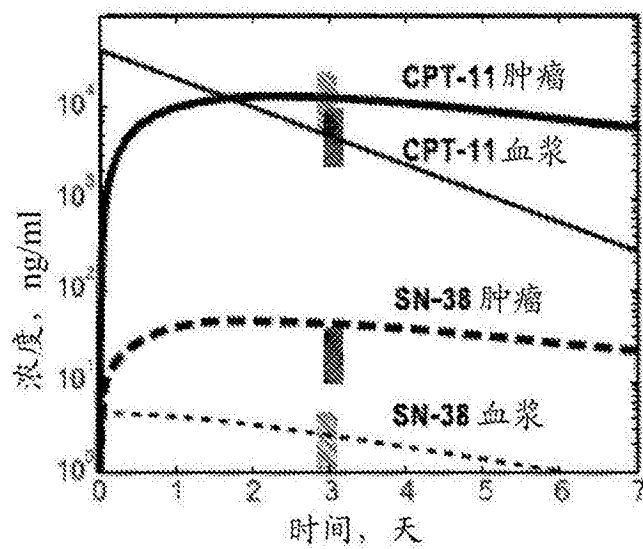


图7C

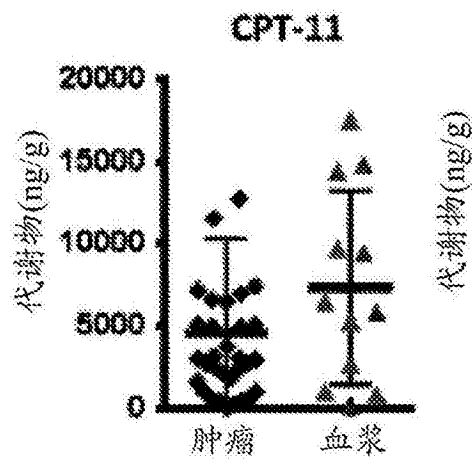


图7D

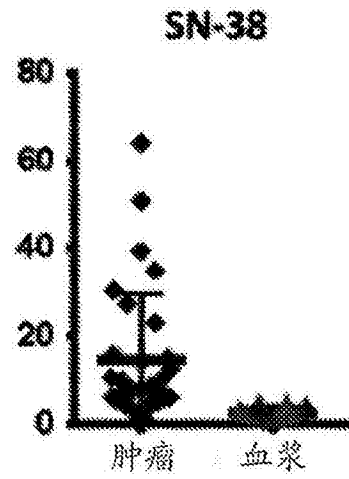


图7E

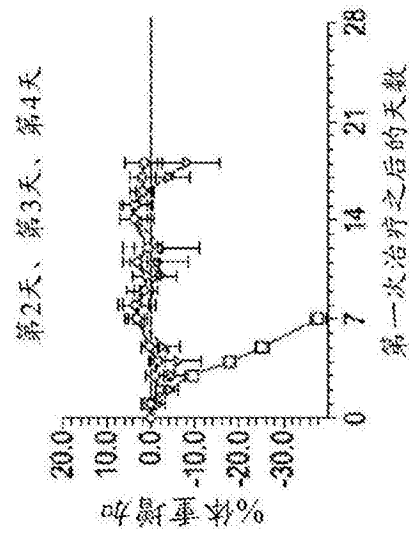


图8A

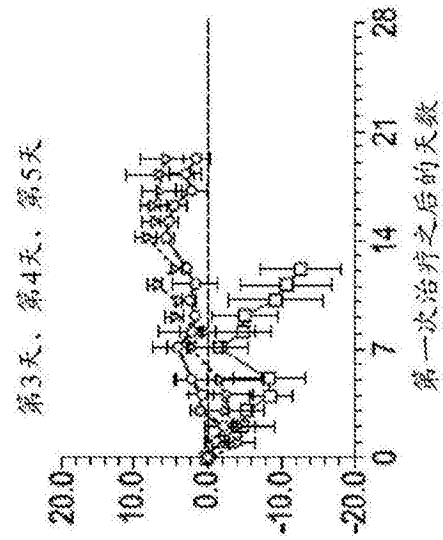


图8B

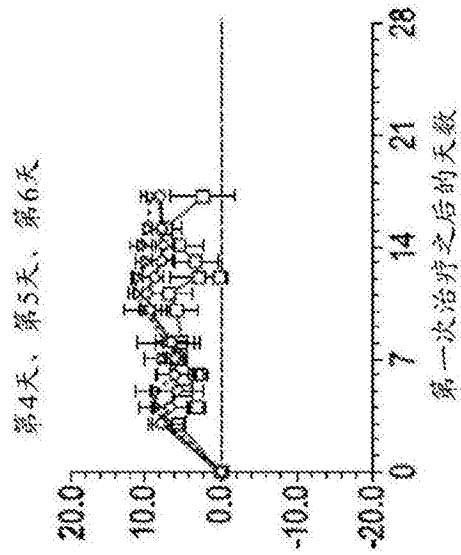


图8C

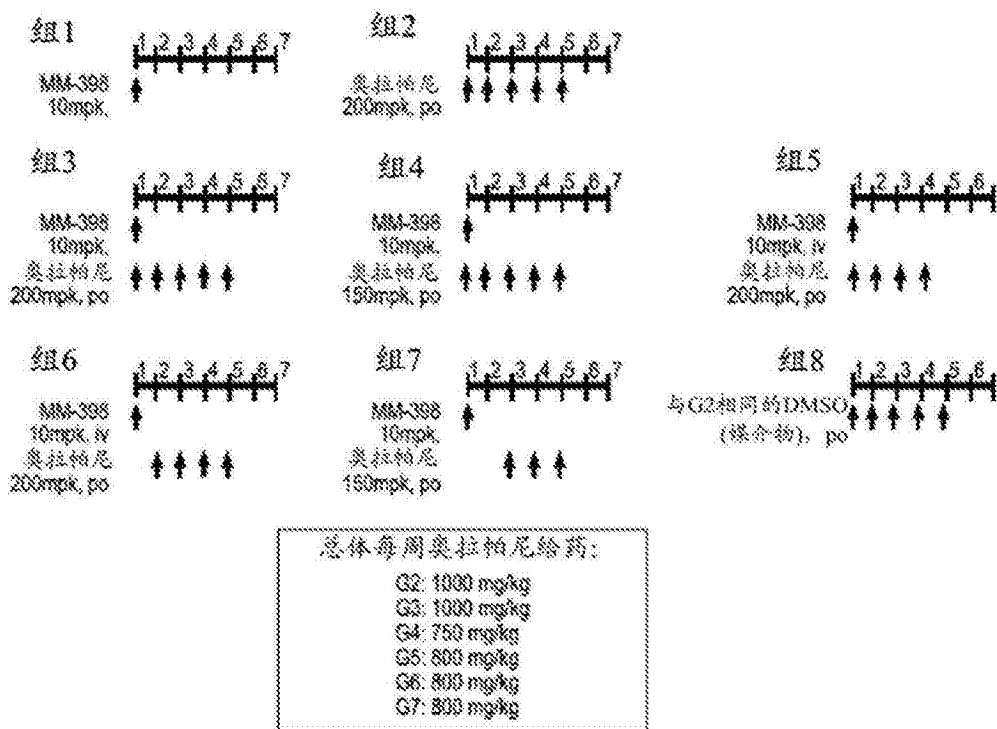


图9

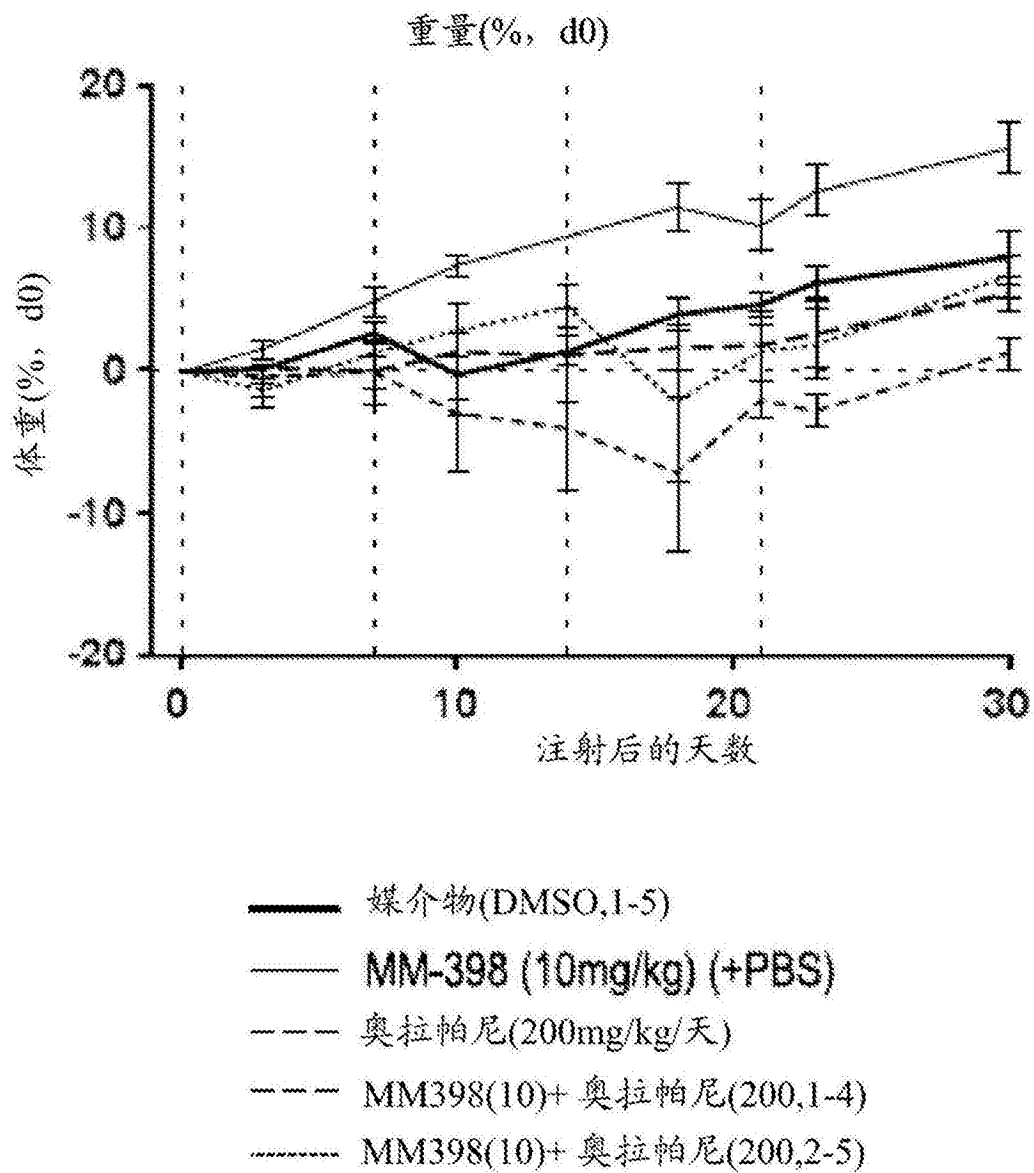


图10A

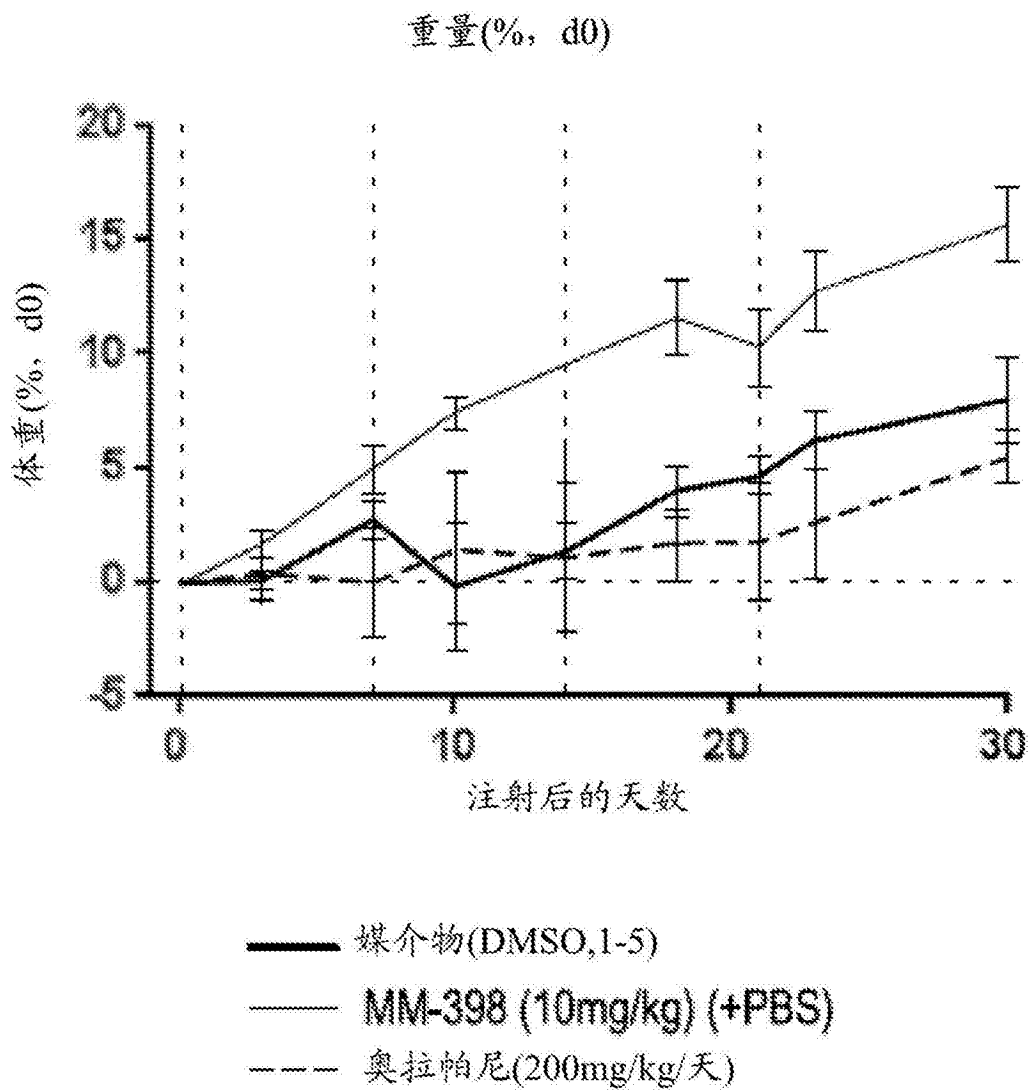


图10B

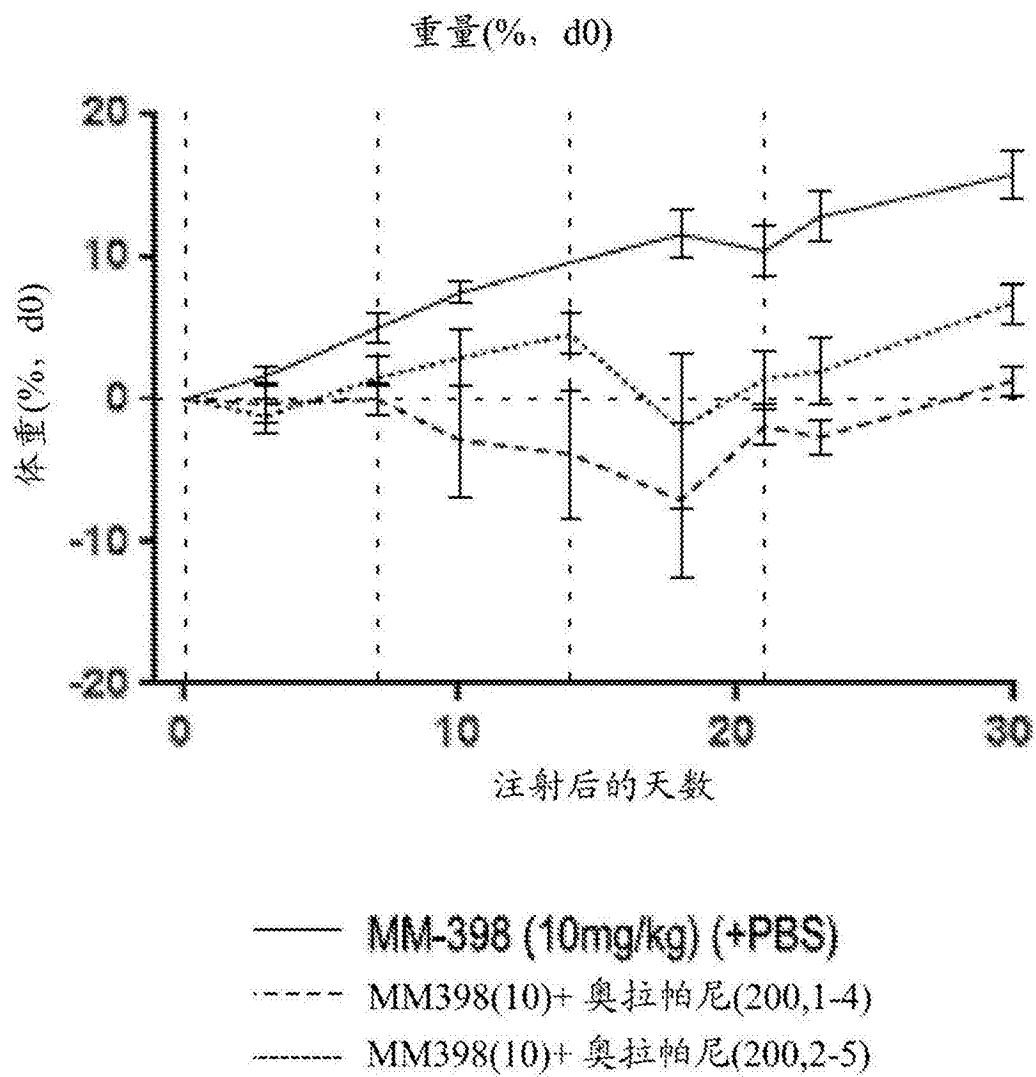


图10C

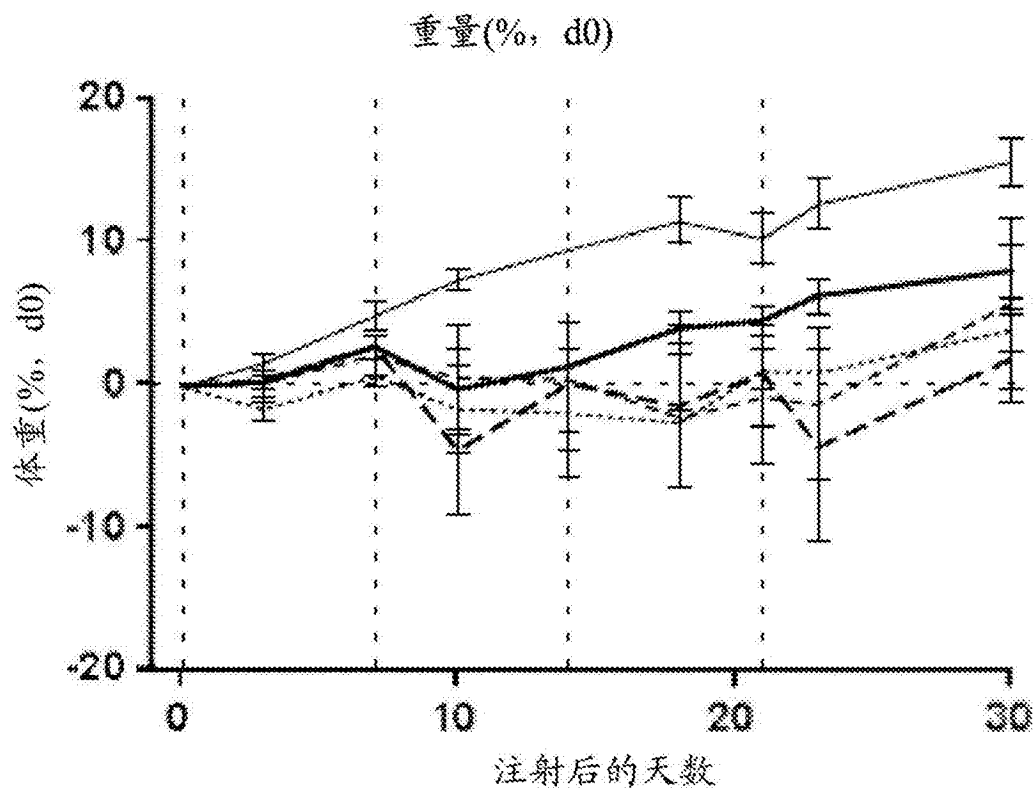


图10D

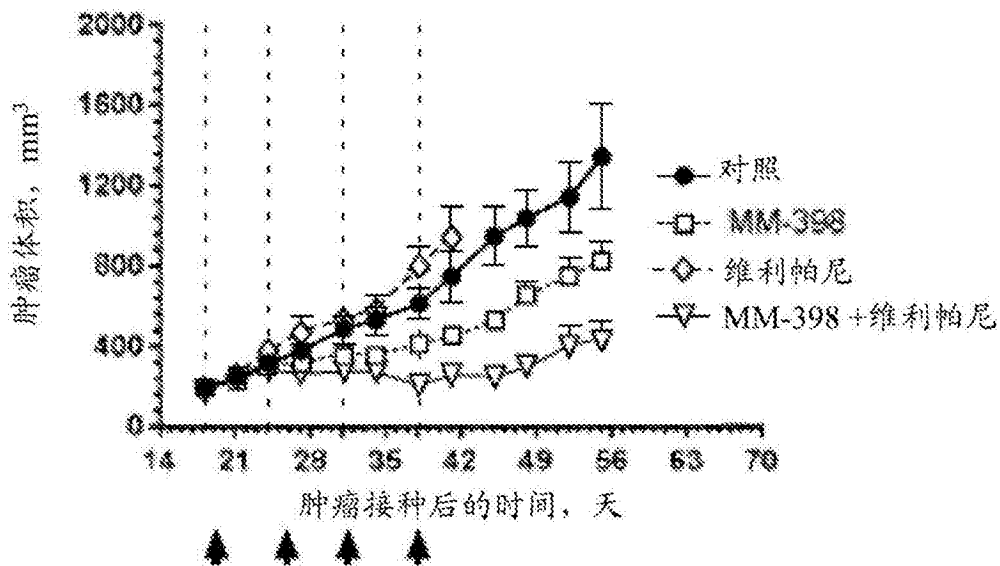


图11A

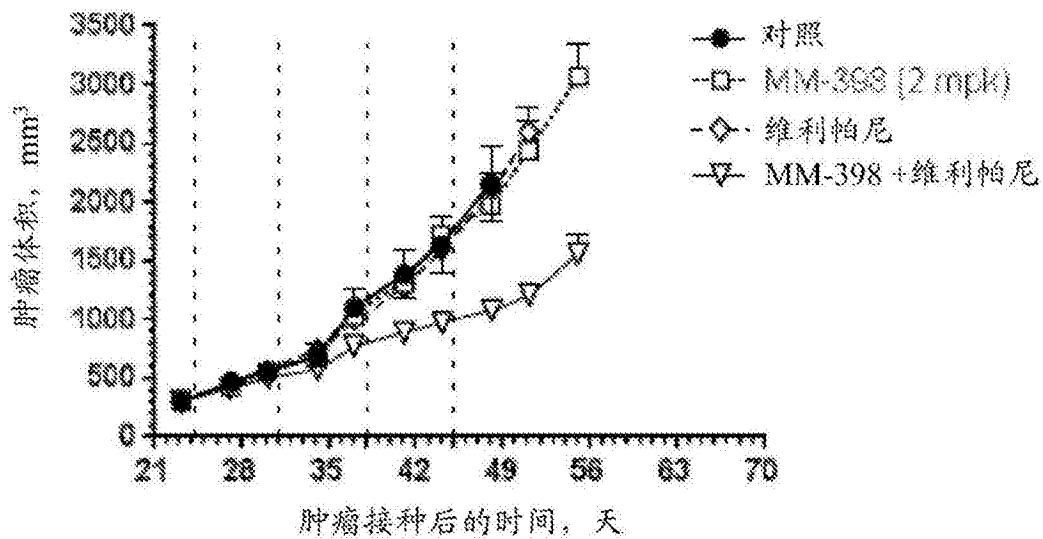


图11B

MM-398与PARPi (ATB-888)组合

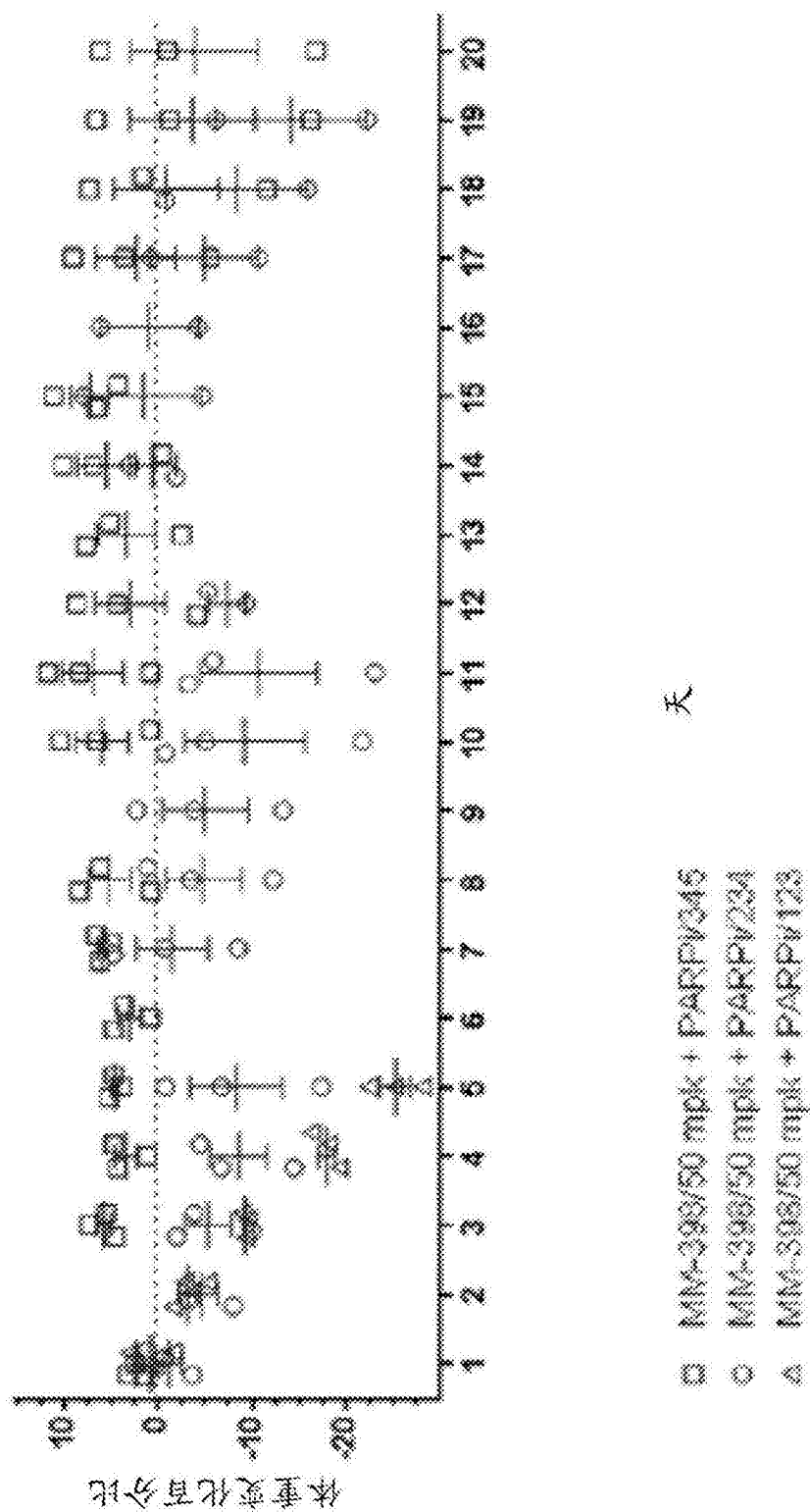


图12A

MM-398与PARPi (ATB-888)组合

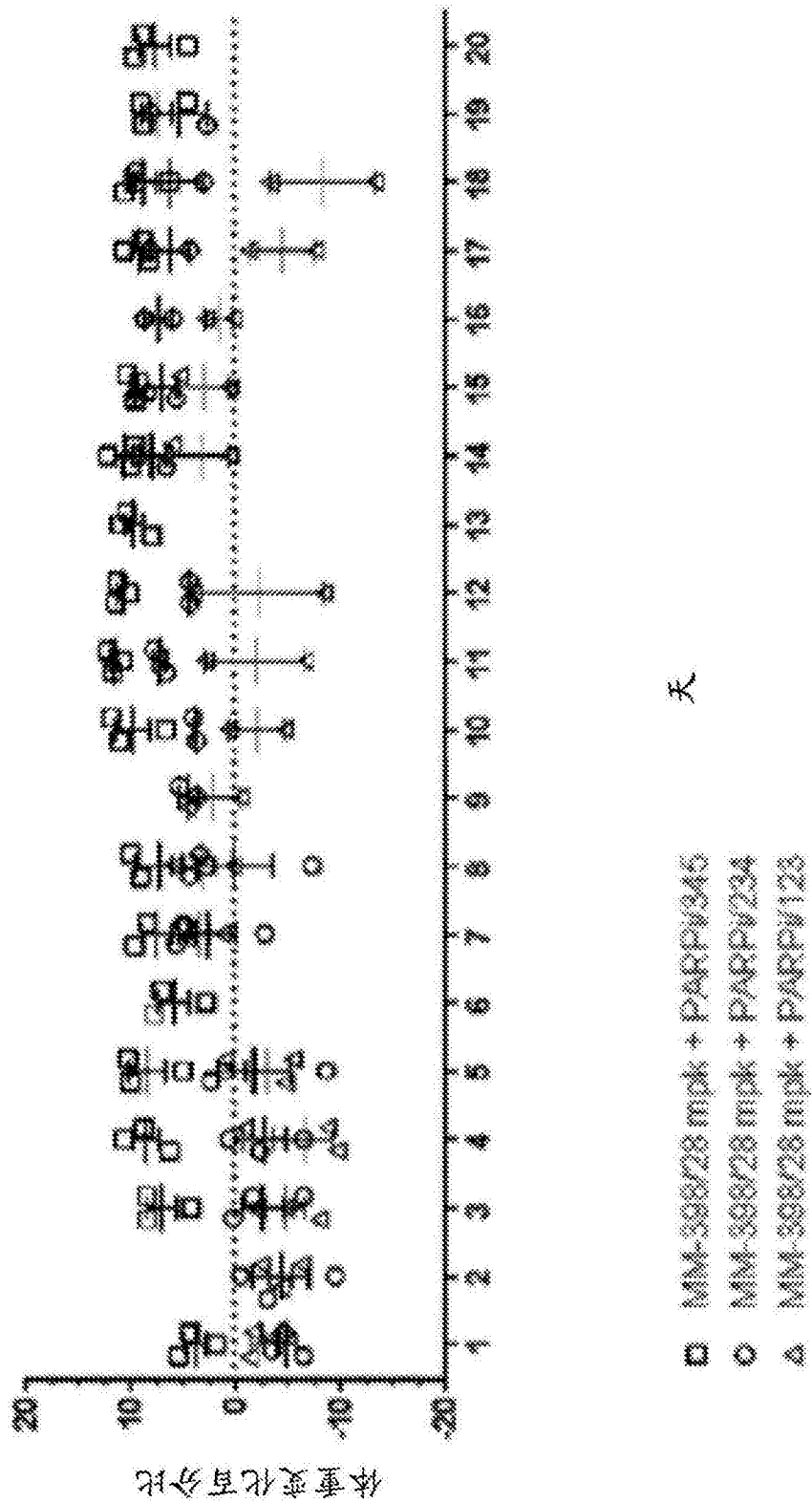


图12B

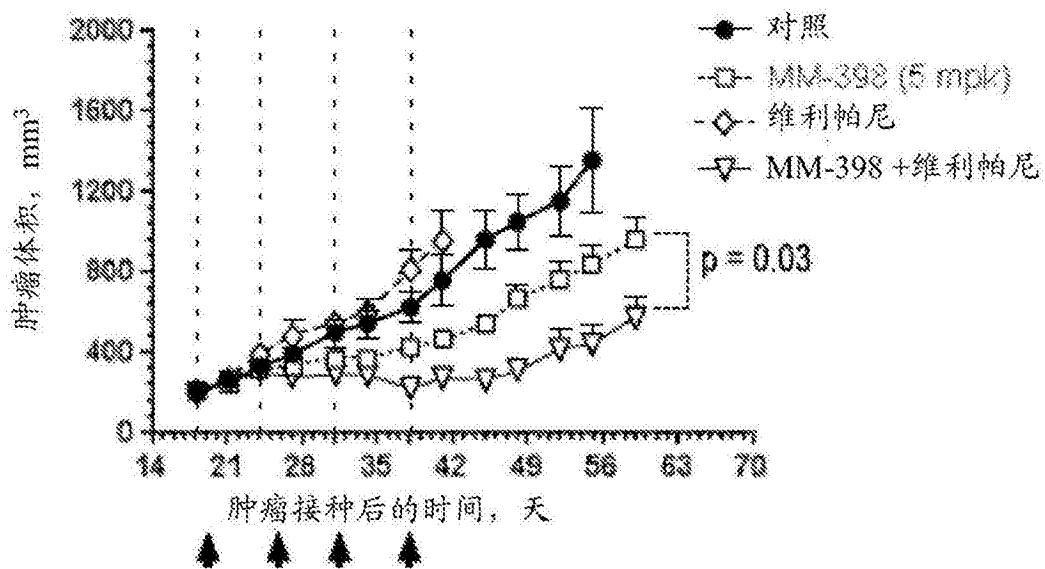


图13A

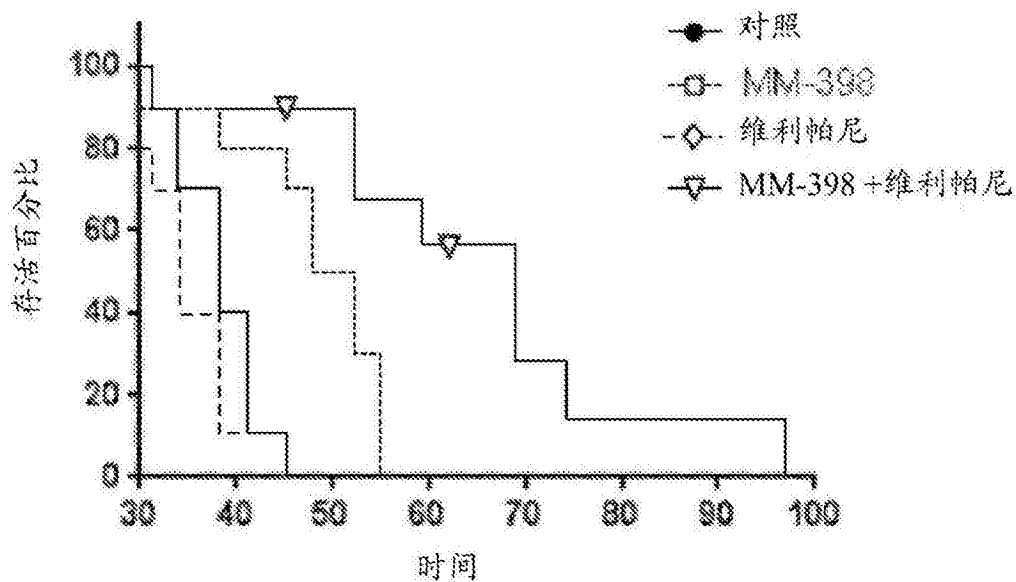


图13B

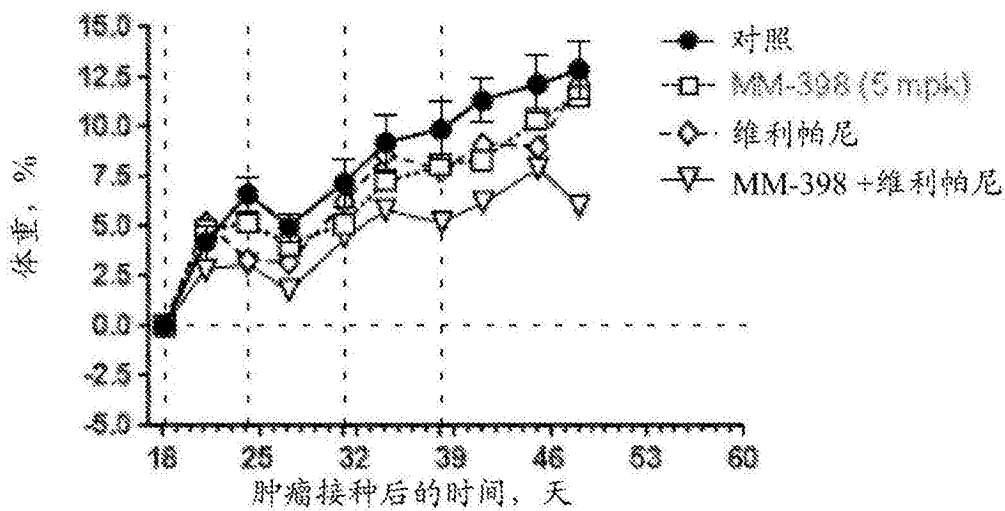


图13C

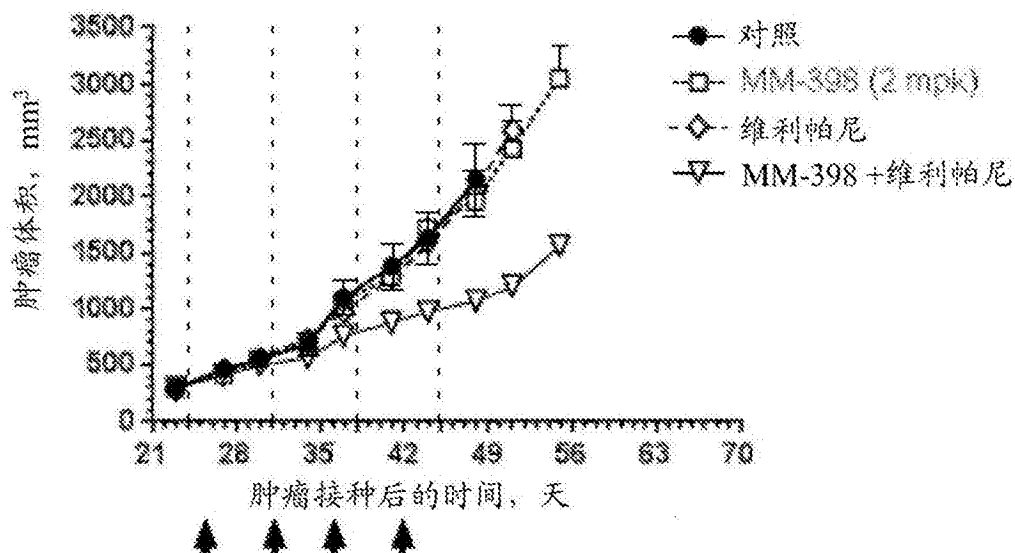


图14

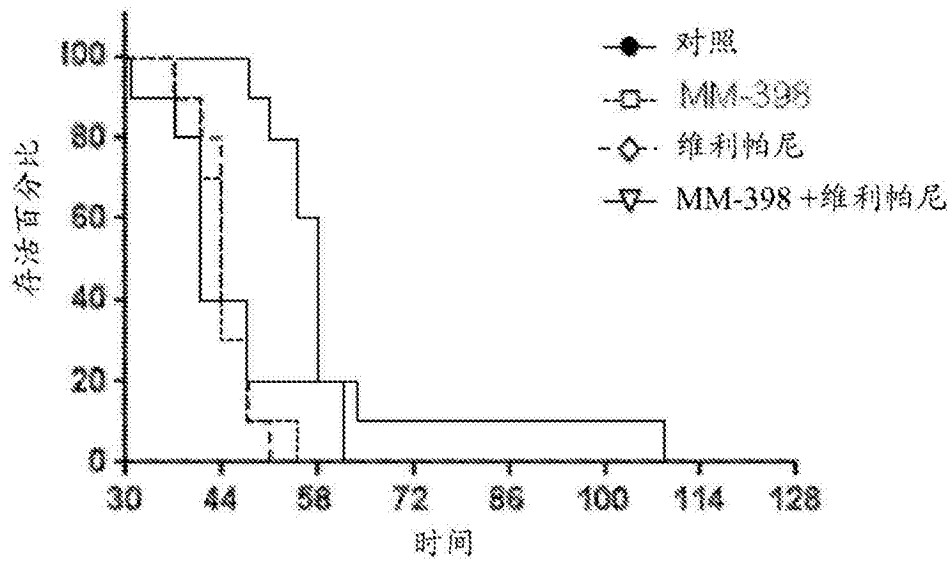


图15

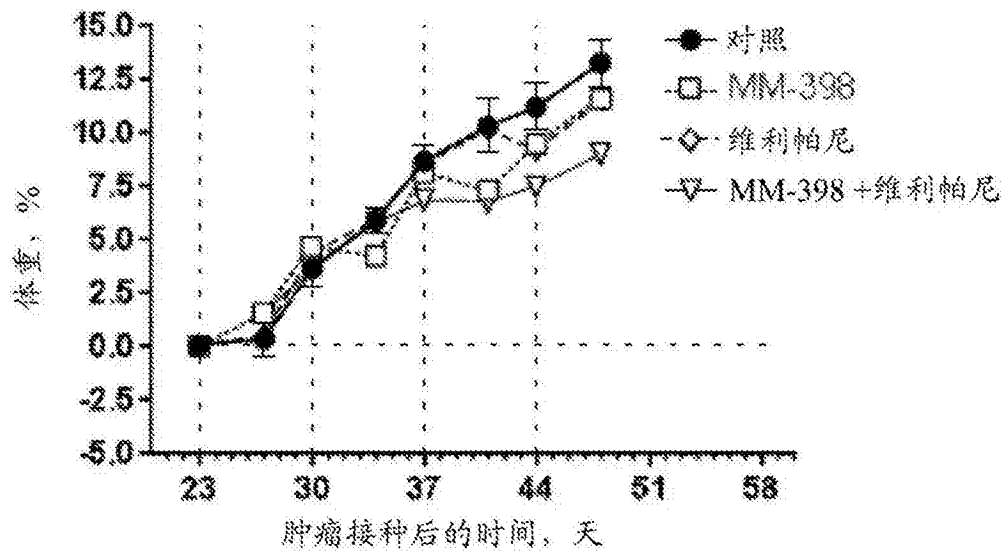


图16

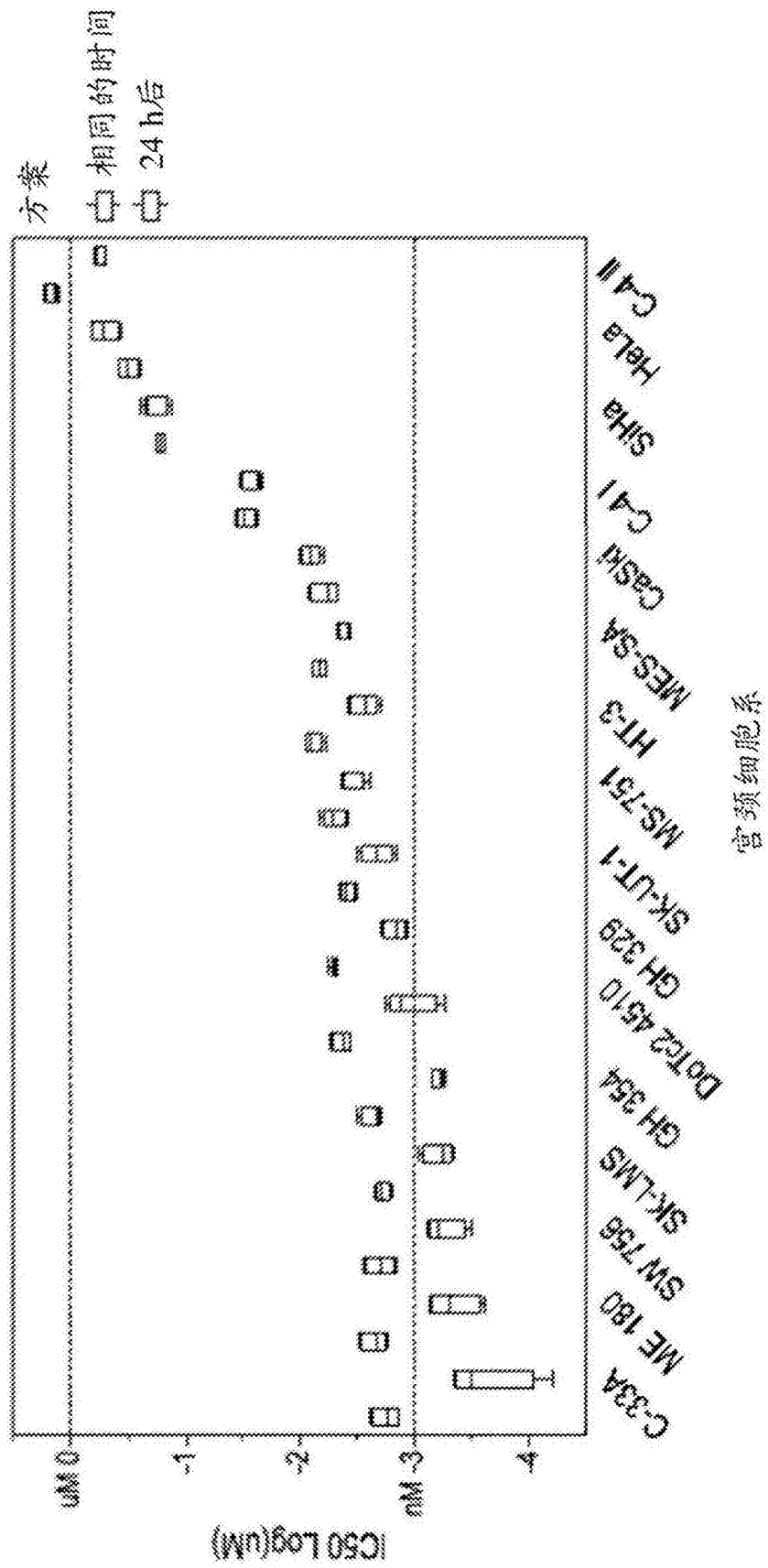


图17A

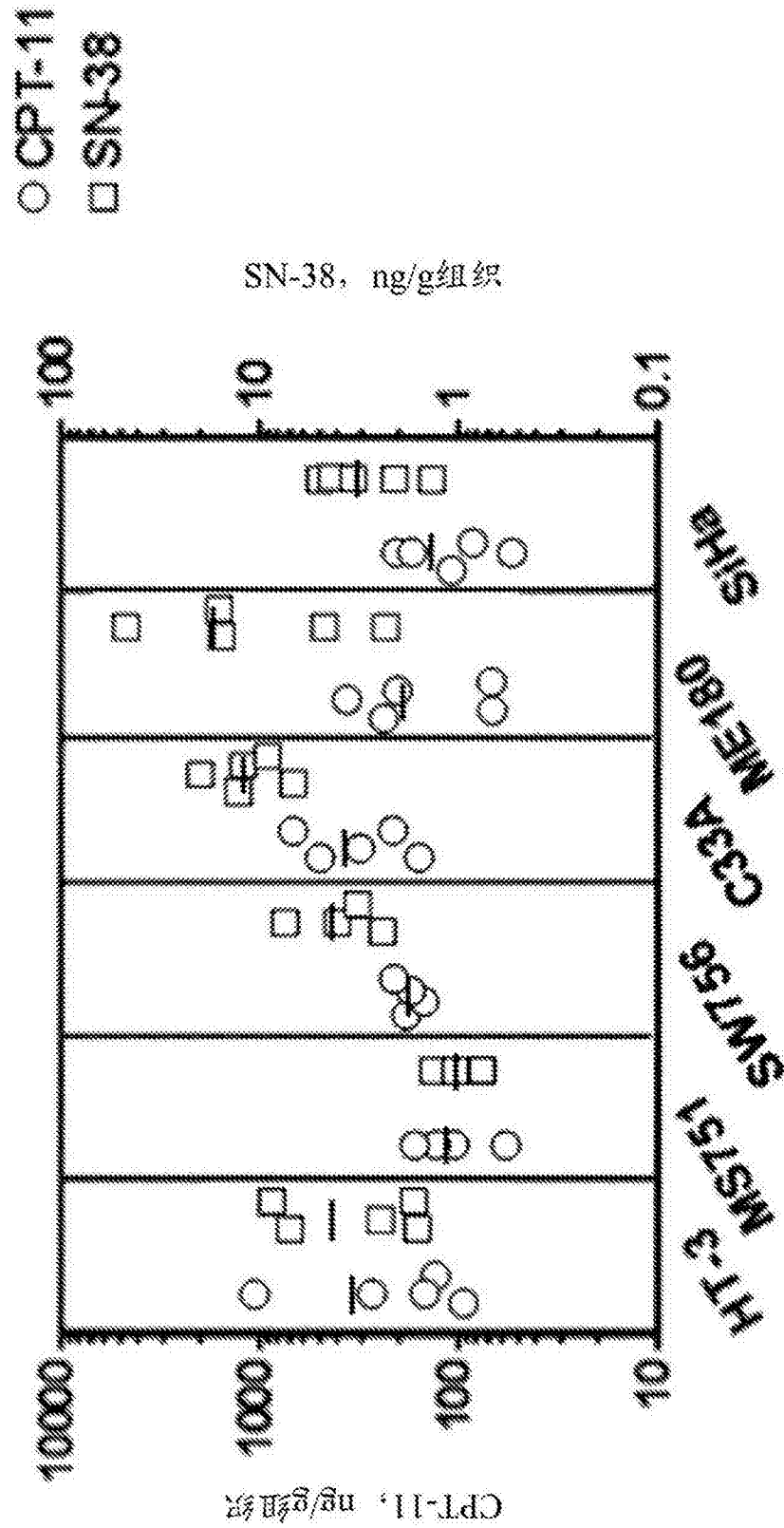
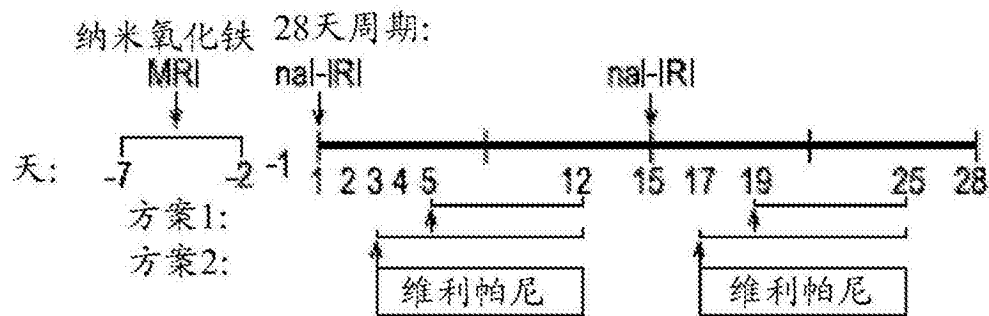


图17B

试验设计



剂量递增队列			
剂量水平	维利帕尼剂量 (mg BID)	维利帕尼起 始日	Nal-IRI 剂量 (盐) (mg/m ² q2w)
1	100	第5天	80
2	200	第5天	80
3	200	第3天	80
4	300	第3天	80
5	400	第3天	80

图18

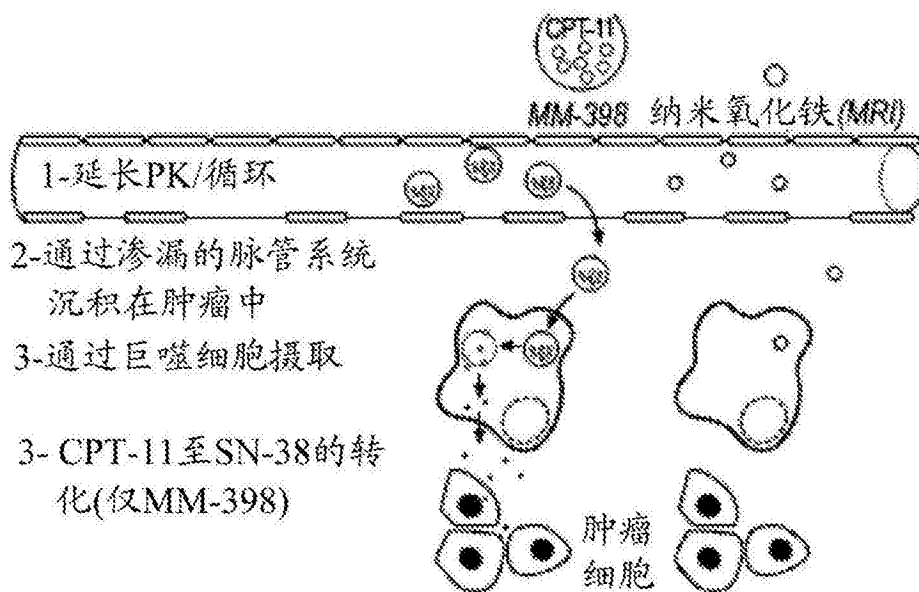


图19A

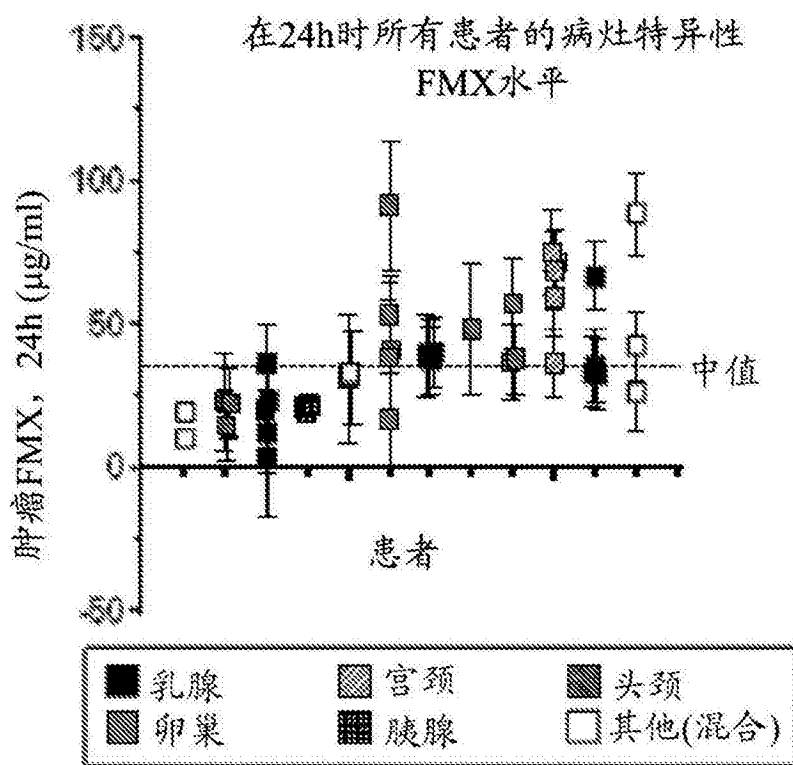


图19B

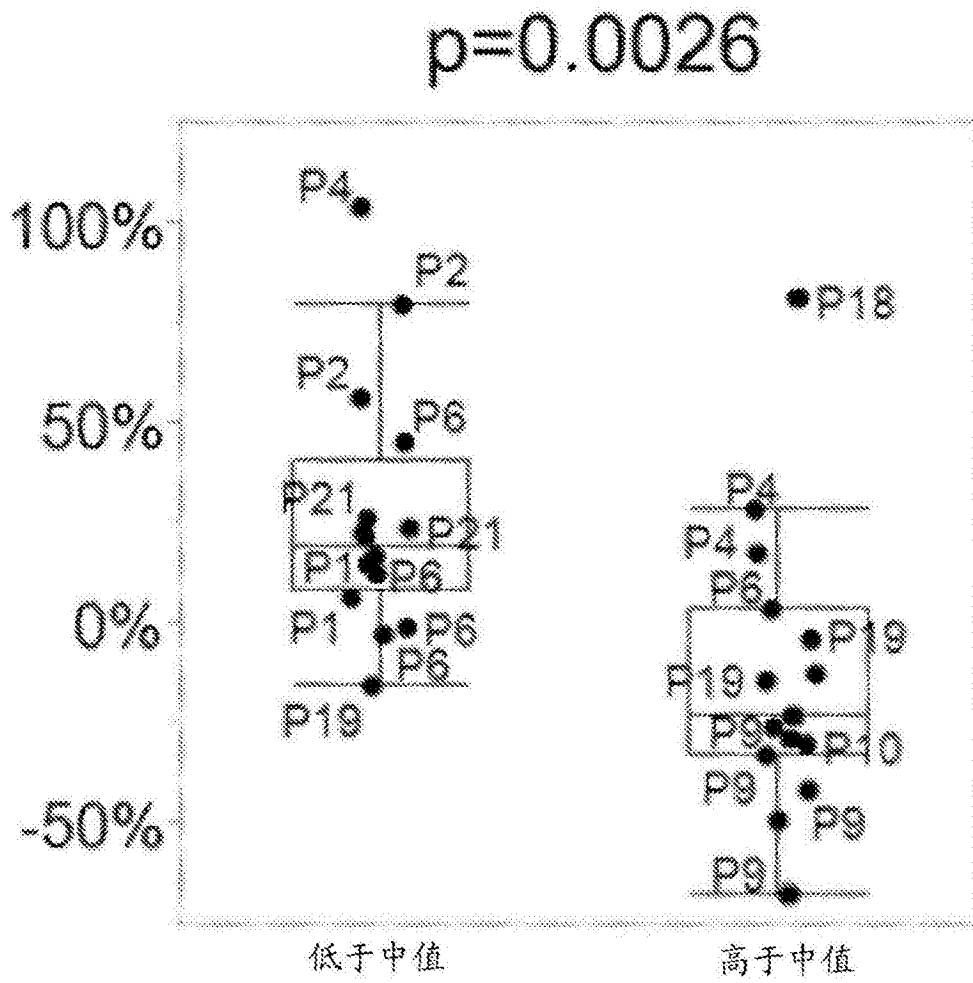


图19C

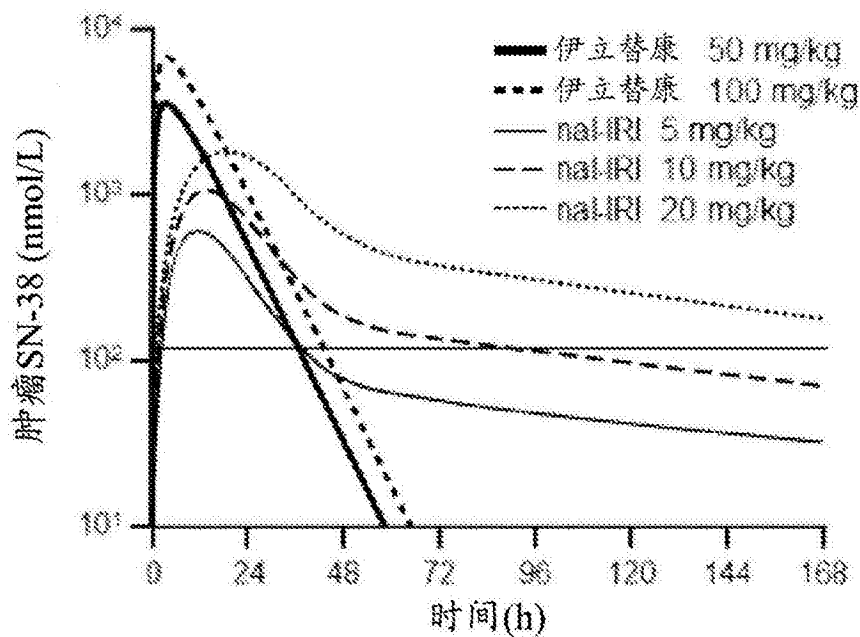


图20A

高于阈值的SN-38持续时间

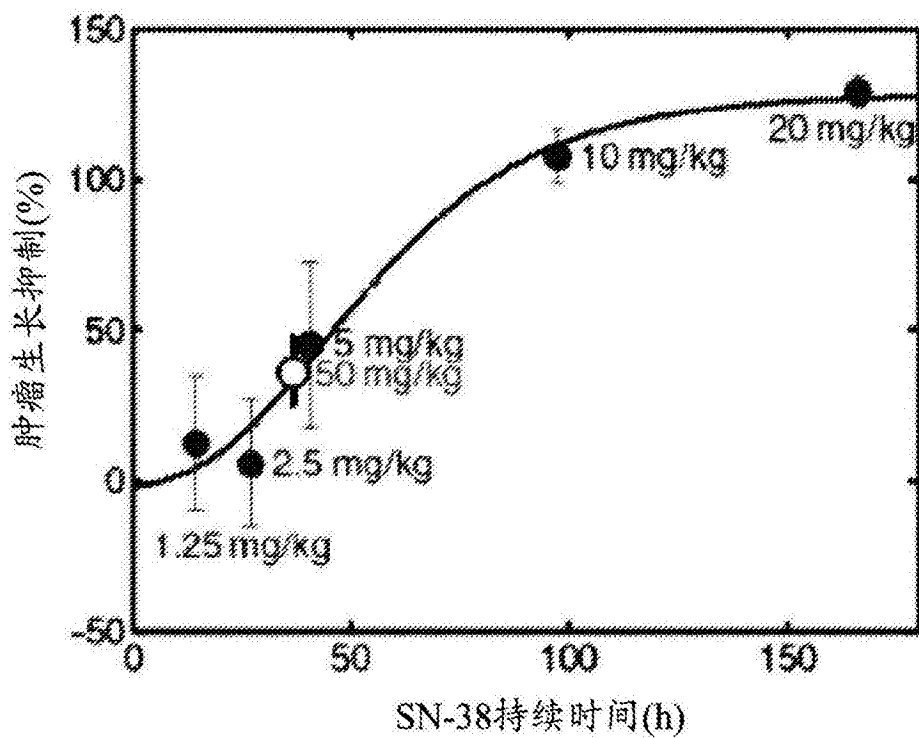


图20B

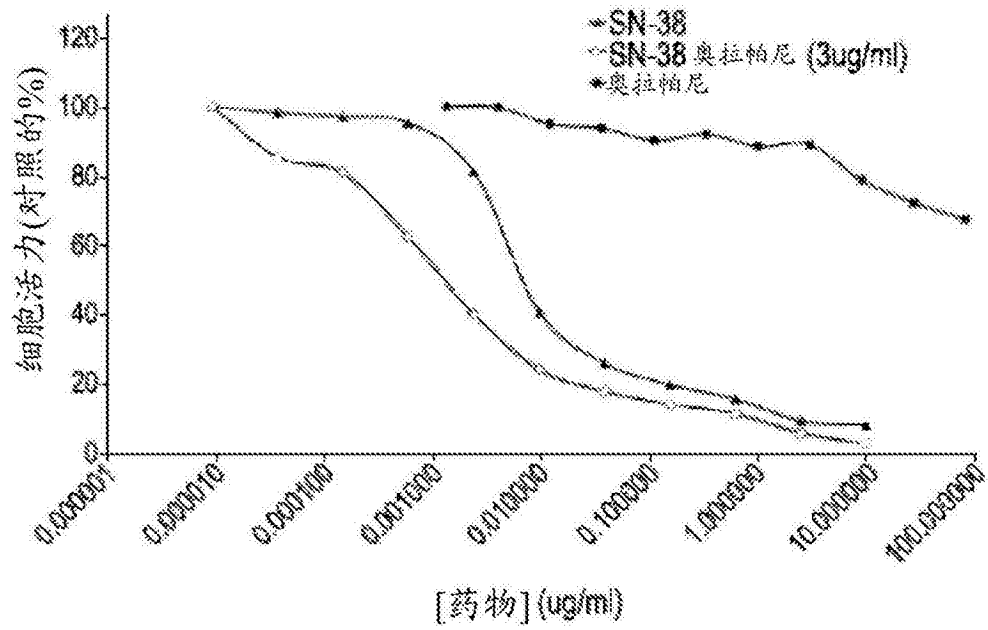


图21A

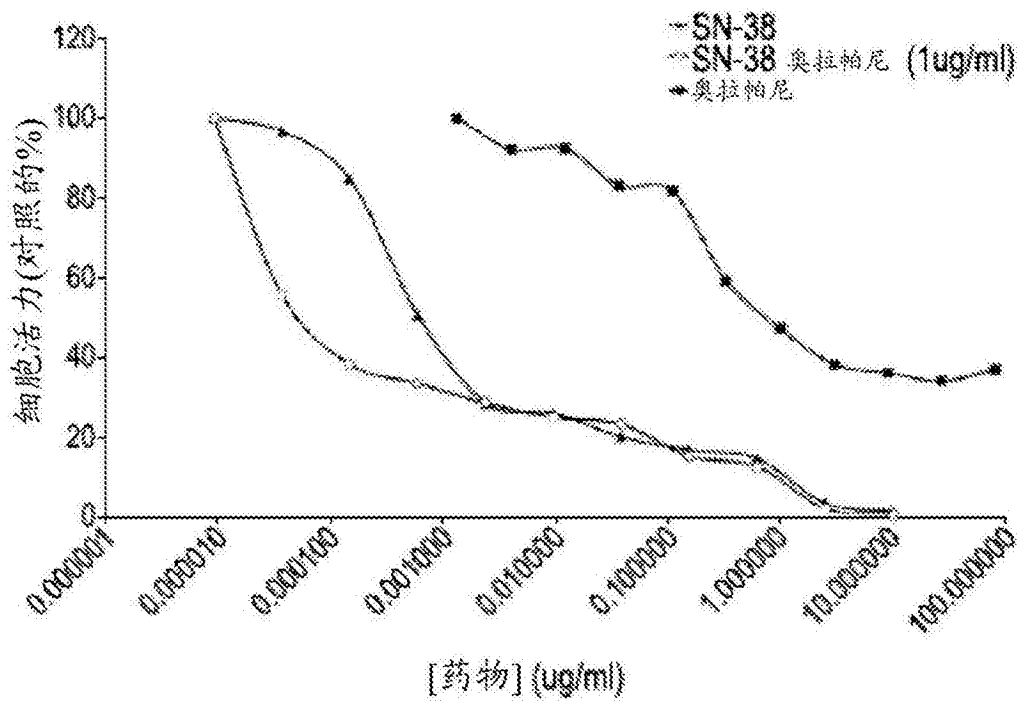


图21B

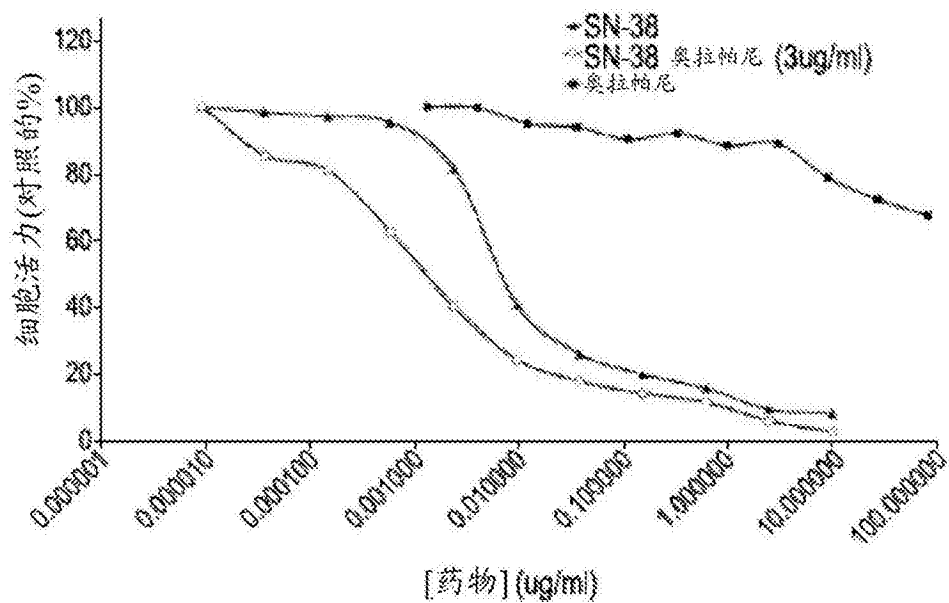


图21C

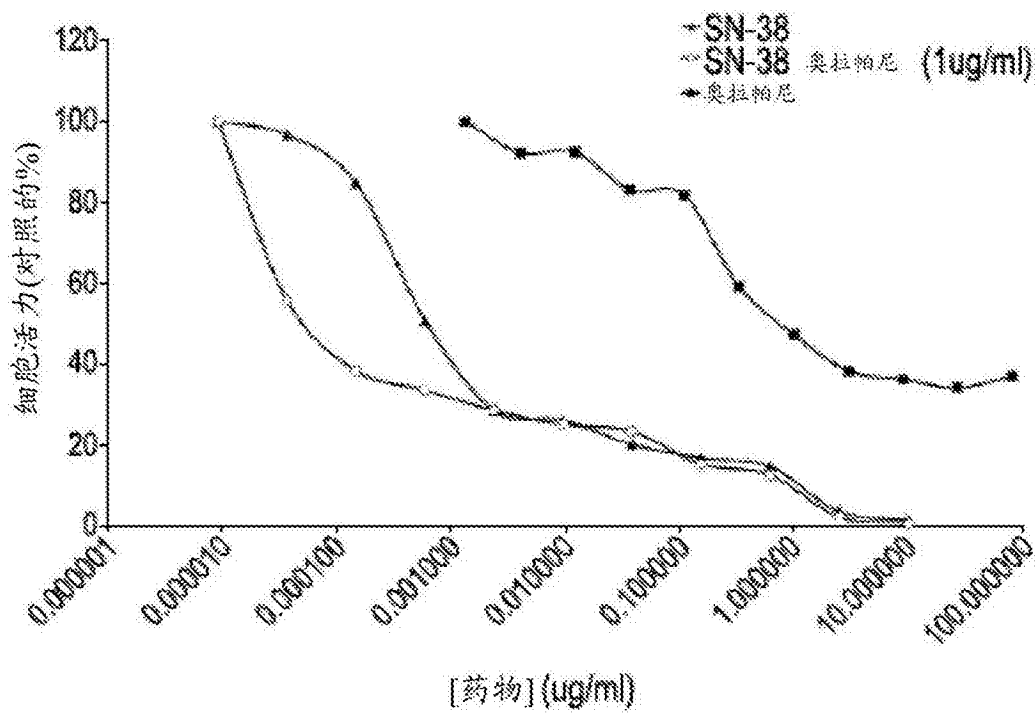


图21D