



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106029070 A

(43)申请公布日 2016.10.12

(21)申请号 201580011593.4

(22)申请日 2015.03.02

(30)优先权数据

61/947398 2014.03.03 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.08.31

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2015/018335 2015.03.02

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/134399 EN 2015.09.11

(71)申请人 卫材R&D管理有限公司

地址 日本东京都

(72)发明人 B.A.利特尔菲尔德 Y.富纳哈施

T.尤纳卡

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

代理人 黄登高 黄希贵

(51)Int.Cl.

A61K 31/4523(2006.01)

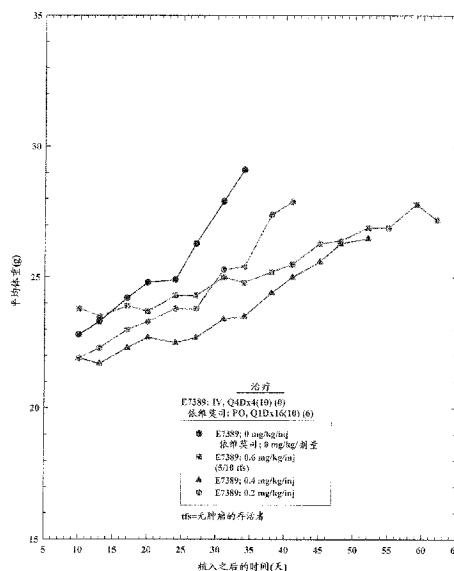
权利要求书2页 说明书18页 附图14页

(54)发明名称

艾日布林和mTOR抑制剂作为治疗癌症的联合疗法的用途

(57)摘要

提供用于通过给予艾日布林(例如甲磺酸艾日布林,即E7389, Halaven)与一种或多种雷帕霉素的哺乳动物靶(mTOR)抑制剂(例如依维莫司、地磷莫司和坦西莫司)的联合治疗有需要的受试者(例如人类患者)中的癌症(例如乳腺癌、肺癌、胰腺癌、原始神经外胚层肿瘤、肺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、咽癌、食道癌和肉瘤)的方法及用于所述方法的试剂盒。



1. 用于治疗患有癌症或处于发生癌症风险中的受试者的方法,所述方法包括给予受试者(i) 艾日布林或其药学上可接受的盐,和(ii) 雷帕霉素的哺乳动物靶(mTOR)抑制剂或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体。

2. 权利要求1的方法,其中所述受试者为人类患者。

3. 权利要求1的方法,其中所述受试者诊断患有癌症,在癌症治疗中,或在癌症治疗后的恢复中。

4. 权利要求1的方法,其中所述癌症为原发性肿瘤。

5. 权利要求1的方法,其中所述癌症为转移。

6. 权利要求1的方法,其中所述癌症为实体瘤。

7. 权利要求1的方法,其中所述癌症选自乳腺癌、肺癌、胰腺癌、原始神经外胚层肿瘤、肺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、咽癌、食道癌和肉瘤。

8. 权利要求7的方法,其中所述癌症选自乳腺癌和肺癌。

9. 权利要求1的方法,其中所述艾日布林的药学上可接受的盐为甲磺酸艾日布林。

10. 权利要求1的方法,其中所述艾日布林或所述其药学上可接受的盐通过静脉输注给予。

11. 权利要求10的方法,其中所述静脉输注为约1-约20分钟。

12. 权利要求11的方法,其中所述静脉输注为约2-约5分钟。

13. 权利要求1的方法,其中所述艾日布林或所述其药学上可接受的盐以约0.1mg/m²-约20mg/m²范围的量给予。

14. 权利要求13的方法,其中所述艾日布林或所述其药学上可接受的盐以约1.1mg/m²或1.4mg/m²的量给予。

15. 权利要求1的方法,其中所述艾日布林或所述其药学上可接受的盐在21天周期的第1和8天各给予一次,或28天周期的第1和15天各给予一次。

16. 权利要求1的方法,其中所述mTOR抑制剂选自依维莫司、地磷莫司和坦西莫司,及其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体。

17. 权利要求1的方法,其中所述mTOR抑制剂为依维莫司或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体。

18. 权利要求17的方法,其中所述依维莫司或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体经口服给予。

19. 权利要求18的方法,其中所述依维莫司或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体以约0.1mg-约30mg范围的量给予。

20. 权利要求19的方法,其中所述依维莫司或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体以约10mg的量给予。

21. 权利要求1的方法,其中所述mTOR抑制剂或所述其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体在21天周期或28天周期期间每日给予一次。

22. 权利要求1的方法,其中所述艾日布林或所述其药学上可接受的盐和所述mTOR抑制剂或所述其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体基本上同时或序贯给予。

23. 权利要求22的方法,其中所述艾日布林或所述其药学上可接受的盐在所述mTOR抑制剂或所述其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体之前给予。

24. 权利要求1的方法,其中所述艾日布林或所述其药学上可接受的盐和所述mTOR抑制剂或所述其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体作为唯一抗癌剂给予。

25. 权利要求24的方法,其中所述艾日布林的药学上可接受的盐为甲磺酸艾日布林和/或所述mTOR抑制剂为依维莫司。

26. 权利要求1的方法,其中所述治疗:(i) 减少癌细胞的数目;(ii) 减小肿瘤体积;(iii) 增加肿瘤消退速率;(iv) 减少或减慢癌细胞浸润到周围器官;(v) 减少或减慢肿瘤转移;(vi) 减少或抑制肿瘤生长;(vii) 预防或延迟癌症的发生和/或复发,和/或延长无疾病或肿瘤的生存时间;(viii) 增加总生存时间;(ix) 减少治疗的频率;和/或(x) 减轻与癌症有关的一种或多种症状。

27. 一种用于减小受试者中的肿瘤大小的方法,所述方法包括给予所述受试者(i) 艾日布林或其药学上可接受的盐,和(ii) mTOR抑制剂或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体。

28. 权利要求27的方法,其中所述mTOR抑制剂为依维莫司或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体。

29. 一种用于治疗癌症或减小肿瘤大小的试剂盒,所述试剂盒包括(i) 艾日布林或其药学上可接受的盐,和(ii) mTOR抑制剂或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体。

30. 权利要求29的试剂盒,其中所述mTOR抑制剂为依维莫司或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体。

31. 权利要求29的试剂盒,其中所述(i) 艾日布林或所述其药学上可接受的盐,和所述(ii) mTOR抑制剂或所述其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体呈剂量形式。

艾日布林和mTOR抑制剂作为治疗癌症的联合疗法的用途

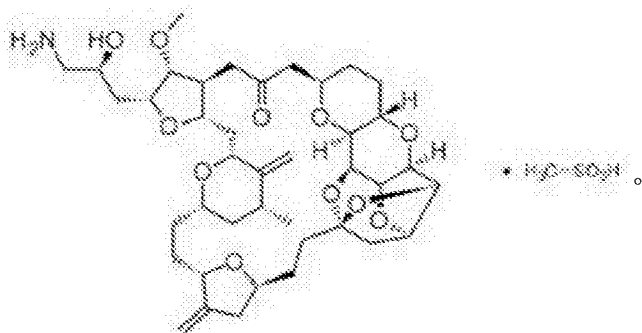
[0001] 发明背景

癌症涵盖广泛种类的疾病,所述疾病各自以特定类型的细胞的不受控制的恶性生长为特征。它开始于含有这样的细胞的组织中,并且,如果癌症在诊断时并未扩散到任何另外的组织,可通过例如手术、放射或另一种类型的局部疗法治疗。然而,当有证据表明癌症已经从其起源组织转移时,通常采用不同的治疗方法。事实上,由于不可能肯定地确定转移的程度,当检测到任何扩散迹象时,通常采用系统的治疗方法。这些方法可以涉及给予干扰快速分裂细胞(例如癌细胞)的生长的化学治疗药。其它方法涉及使用免疫疗法,其中引起或增强对受试者中的癌细胞的免疫响应。

[0002] 软海绵素B是结构复杂的大环化合物,其最初从海洋海绵动物冈田软海绵(*Halichondria okadai*)分离,且随后在*Axinella sp.*、*Phakellia carteri*和*Lissodendoryx sp.*中发现。软海绵素B的总合成在1992年公开(Aicher等, J. Am. Chem. Soc. 114:3162-3164, 1992)。软海绵素B已显示在体外抑制微管蛋白聚合、微管装配、 β^S -微管蛋白交联、GTP和长春碱与微管蛋白的结合,和微管蛋白-依赖性GTP水解。还已显示该分子具有体外和体内抗-癌特性。具有抗-癌活性的软海绵素B类似物描述于美国专利号6,214,865 B1中。

[0003] 艾日布林(Eribulin)是软海绵素B的合成类似物。艾日布林也称为ER-086526,且已被指定为CAS 253128-41-5号和US NC指定号NSC-707389。艾日布林的甲磺酸盐(甲磺酸艾日布林,其以商品名HALAVEN[®]上市并且也称为E7389)被批准用于治疗患有乳腺癌的患者,所述患者先前已接受至少两种用于治疗转移性疾病的化学治疗方案,所述方案应已包括在辅助情况下或者转移情况下的蒽环霉素和紫杉烷。

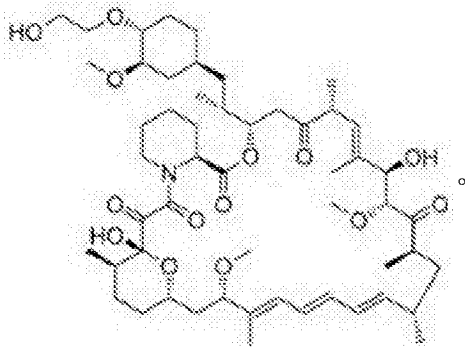
[0004] 甲磺酸艾日布林的化学名为II,15:18,21:24,28-三环氧-7,9-桥亚乙基-12,15-桥亚甲基-9*H*,15*H*-呋喃并[3,2-*i*]呋喃并[2',3':5,6]吡喃并[4,3-*b*][1,4]二氧杂环二十五烷(dioxacyclopentacosin)-5(4*H*)-酮,2-[(2*S*)-3-氨基-2-羟基丙基]二十六氢-3-甲氧基-26-甲基-20,27-双(亚甲基)-(2*R*,3*R*,3*aS*,7*R*,8*aS*,9*S*,10*aR*,11*S*,12*R*,13*aR*,13*bS*,15*S*,18*S*,21*S*,24*S*,26*R*,28*R*,29*aS*)-甲磺酸盐,且它可如下描述为:



[0005] mTOR(还称为雷帕霉素的哺乳动物靶、雷帕霉素的机械靶和FK506-结合蛋白12-雷帕霉素-相关蛋白1 (FRAP1))为调节细胞生长、细胞增殖、细胞运动性、细胞存活、蛋白合成和转录的丝氨酸/苏氨酸激酶。mTOR属于磷脂酰肌醇3-激酶-有关的激酶蛋白家族。mTOR复合物1 (mTORC1)由mTOR、mTOR的调节相关蛋白(raptor)、具有SEC13蛋白8的哺乳动物致死

因子(MLST8)和非核心组分PRAS40和Deptor构成。该复合物充当营养素/能量/氧化还原传感物且还在控制蛋白合成中起作用。

[0006] 依维莫司(RAD-001)为mTOR的抑制剂且其发挥其对mTORC1复合物的作用。在肿瘤学中依维莫司由Novartis以商标Afinitor销售。依维莫司的化学名为二羟基-12-[(2*R*)-1-[(1*S*,3*R*,4*R*)-4-(2-羟基乙氧基)-3-甲氧基环己基]丙-2-基]-19,30-二甲氧基-15,17,21,23,29,35-六甲基-11,36-二氧杂-4-氮杂三环[30.3.1.0三十六烷-16,24,26,28-四烯-2,3,10,14,20-戊酮,且其可如下描述为:



[0007] 发明概述

本发明基于这样的观察:甲磺酸艾日布林和mTOR抑制剂依维莫司的组合显示改进的(例如协同的)抗肿瘤效果。因此,本发明的特点在于通过使用艾日布林(例如甲磺酸艾日布林)和一种或多种mTOR抑制剂(例如依维莫司)的组合预防和治疗癌症的方法。

[0008] 当在文中使用术语“艾日布林”时,应当认为指定艾日布林或其药学上可接受的盐(例如甲磺酸艾日布林),除非上下文另有指定。类似地,当在文中使用术语“mTOR抑制剂”(或特定的mTOR抑制剂名称,例如依维莫司)时,应当认为指定mTOR抑制剂或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体(如适用的),除非上下文另有指定。

[0009] 本发明提供用于治疗患有癌症或处于发生癌症风险中的受试者(例如,人类患者)的方法。这些方法包括给予受试者(i) 艾日布林或其药学上可接受的盐(例如甲磺酸艾日布林),和(ii) 雷帕霉素的哺乳动物靶(mTOR)抑制剂(例如依维莫司、地磷莫司或坦西莫司)或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体。所述受试者可以诊断患有癌症,在癌症治疗中,或在癌症治疗后的恢复中。在各种实施方案中,癌症可以为原发性肿瘤或转移,且可以任选为实体瘤。在其它实施方案中,癌症选自乳腺癌、肺癌、胰腺癌、原始神经外胚层肿瘤、肺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、咽癌、食道癌和肉瘤。

[0010] 艾日布林或其药学上可接受的盐(例如甲磺酸艾日布林)可以通过静脉输注给予,例如,历时1-约20分钟,例如,约2-约5分钟。艾日布林或其药学上可接受的盐(例如甲磺酸艾日布林)的量可以为约0.1mg/m²-约20mg/m²范围(例如1.4mg/m²或1.1mg/m²),任选在21天周期的第1和8天各每日给予一次,或在28天周期的第1和15天各每日给予一次。

[0011] mTOR抑制剂(例如依维莫司、地磷莫司或坦西莫司)可以例如以约0.1mg-约30mg范围(例如,10mg)的量口服给予,且可以任选在21天周期或28天周期期间每日给予一次。

[0012] 艾日布林或其药学上可接受的盐,和mTOR抑制剂(例如依维莫司、地磷莫司或坦西莫司),或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体,可以基本上同时或序贯给予。例如,艾日布林或其药学上可接受的盐可以在mTOR抑制剂(例如依维莫司、地磷莫司或

坦西莫司)或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体之前给予。

[0013] 而且,艾日布林或其药学上可接受的盐(例如甲磺酸艾日布林)和mTOR抑制剂(例如依维莫司、地磷莫司或坦西莫司)或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体,可以任选作为唯一抗癌剂给予。

[0014] 根据本发明方法的治疗:(i) 减少癌细胞的数目;(ii) 减小肿瘤体积;(iii) 增加肿瘤消退速率;(iv) 减少或减慢癌细胞浸润到周围器官;(v) 减少或减慢肿瘤转移;(vi) 减少或抑制肿瘤生长;(vii) 预防或延迟癌症的发生和/或复发,和/或延长无疾病或肿瘤的生存时间;(viii) 增加总生存时间;(ix) 减少治疗的频率;和/或(x) 减轻与癌症有关的一种或多种症状。

[0015] 本发明还提供用于减小受试者(例如,人类患者)中的肿瘤大小的方法。这些方法包括给予受试者(i) 艾日布林或其药学上可接受的盐(例如甲磺酸艾日布林),和(ii) mTOR抑制剂(例如依维莫司、地磷莫司或坦西莫司)或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体。这些方法可以涉及上文和文中其它地方所述的给药方案和癌症。

[0016] 本发明中还包括用于预防或治疗癌症或减小肿瘤大小(还例如参见上文列出的效果)的试剂盒。所述试剂盒可以包括(i) 艾日布林或其药学上可接受的盐,和(ii) mTOR抑制剂(例如依维莫司、地磷莫司或坦西莫司)或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体,任选呈剂量形式。

[0017] 本发明进一步包括药物组合物,包含用于预防和治疗文中所述的疾病和病况的文中所述的药剂。而且,本发明包括文中所述的药剂用于制备药物和/或用于预防或治疗这些疾病和病况的用途。

[0018] 本发明的方法提供抵抗癌症的改进功效。例如,文中所述的组合治疗方法可以用于获得协同作用,其中例如所述作用大于单独给予的药物的作用总和,如可以通过本领域技术人员确定。加和作用亦是有利的。

[0019] 本发明的其它特点和优点从以下详述、附图和权利要求书将是显而易见的。

[0020] 附图简述

图1为显示用E7389治疗对用MX-1乳腺肿瘤异种移植物SC植入的雌性无胸腺裸小鼠的平均体重的作用的图表。

[0021] 图2为显示SC植入的MX-1乳腺肿瘤异种移植物对用E7389治疗的响应的图表。

[0022] 图3为显示用依维莫司治疗对用MX-1乳腺肿瘤异种移植物SC植入的雌性无胸腺裸小鼠的平均体重的作用的图表。

[0023] 图4为显示SC植入的MX-1乳腺肿瘤异种移植物对用依维莫司治疗的响应的图表。

[0024] 图5为显示用E7389与依维莫司(40mg/kg/剂)的组合治疗对用MX-1乳腺肿瘤异种移植物SC植入的雌性无胸腺裸小鼠的平均体重的作用的图表。

[0025] 图6为显示用E7389与依维莫司(20mg/kg/剂)的组合治疗对用MX-1乳腺肿瘤异种移植物SC植入的雌性无胸腺裸小鼠的平均体重的作用的图表。

[0026] 图7为显示SC植入的MX-1乳腺肿瘤异种移植物对用E7389 (0.6mg/kg/inj)与依维莫司的组合治疗的响应的图表。

[0027] 图8为显示SC植入MX-1乳腺肿瘤异种移植物对用E7389 (0.4mg/kg/inj)与依维莫司的组合治疗的响应的图表。

[0028] 图9为显示SC植入的MX-1乳腺肿瘤异种移植植物对用E7389 (0.2mg/kg/inj)与依维莫司的组合治疗的响应的图表。

[0029] 图10说明使用Loewe加和性定量Loewe体积(Volume)。协同作用可以相对于Loewe加和性形状模型定量,所述Loewe加和性形状模型由单一试剂剂量响应构建。加和性模型用作“零假设”且假定在化学品A和B之间没有协同的相互作用。如图中所述,在任何浓度下最高作用水平指示模型的形状。为了定量Loewe体积,经验数据面从加和性形状模型中减去。Loewe体积为整个组合剂量矩阵中任何残余过量活性的总和。

[0030] 图11显示在25个细胞系小组中的艾日布林的GI₅₀。细胞系小组的中值GI₅₀为0.51nM。单一试剂剂量分析使用三倍、十点剂量滴定在1536孔和384孔板形式中进行。顶部的柱状图显示通过提高对艾日布林的灵敏度的细胞系数据。底部的柱状图显示各种肿瘤类型中的艾日布林单一试剂活性。

[0031] 图12说明6x6剂量矩阵形式。在纵轴显示增强剂单一试剂剂量曲线。沿着横轴显示被增强剂(enhancee)单一试剂剂量曲线。各种被增强剂和增强剂收集在五点的单一试剂剂量系列中,且在6x6剂量矩阵中总共收集25个组合剂量比率点。

[0032] 图13显示依维莫司的协同作用评分热图值。分析使用6种乳腺肿瘤(MCF7、MDA-MB-231、MDA-MB-436、MDA-MB-468、SK-BR-3和T47D)、6种肺肿瘤(A549、NCI-H1650、NCI-H460、NCI-H522、NCI-H526和NCI-H69)、2种卵巢肿瘤(A2780和SK-OV-3)和其它肿瘤类型的单一代表性细胞系的取样进行。在横轴中描述25个细胞系。对于该分析,确定4.42的协同作用评分截留值。显示依维莫司x艾日布林的组合在MDA-MB-468、T47D、NCI-H69、A2780、FaDu和HT-1080细胞中的组合活性(生长抑制数据)。

[0033] 图14显示依维莫司在指定细胞类型中的协同作用评分值和Loewe体积评分。

[0034] 发明详述

本发明提供用于预防和治疗癌症的方法,其包括:给予艾日布林或其药学上可接受的盐(例如甲磺酸艾日布林)和一种或多种mTOR抑制剂(例如依维莫司)。根据本发明的方法通过给予艾日布林或其药学上可接受的盐(例如甲磺酸艾日布林)和依维莫司治疗癌症可以(i)减少癌细胞的数目;(ii)减小肿瘤体积;(iii)增加肿瘤消退速率;(iv)减少或减慢癌细胞浸润到周围器官;(v)减少或减慢肿瘤转移;(vi)减少或抑制肿瘤生长;(vii)预防或延迟癌症的发生和/或复发,和/或延长无疾病或肿瘤的生存时间;(viii)增加总生存时间;(ix)减少治疗的频率;和/或(x)减轻与癌症有关的一种或多种症状。

[0035] 药物组合物、剂量和方法

合成艾日布林的方法描述于,例如美国专利号6,214,865;美国专利号7,982,060;美国专利号8,350,067;和美国专利号8,093,410中,其各自通过引用结合到本文中。如上所述,甲磺酸艾日布林为市售的且作为HALAVEN®销售。关于依维莫司的方法及其合成描述于,例如美国专利号5,665,772、6,004,973、7,297,703、8,410,131、8,436,010,其通过引用结合到本文中。还有,如上所述,依维莫司作为AFINITOR®销售。如下文进一步讨论,除了依维莫司之外的mTOR抑制剂亦可以在本发明中使用且可市售或可以使用本领域已知方法合成。

[0036] 如上所述,艾日布林和/或mTOR抑制剂(例如依维莫司)可任选地以盐形式用于本发明中。对于所使用的盐没有特别的限制,无论是无机酸盐或是有机酸盐均可。举例来说,盐可选自甲磺酸盐(例如甲磺酸艾日布林)、盐酸盐、硫酸盐、柠檬酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸

盐、硝酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、多聚磷酸盐(super phosphoric acid salt)、异烟酸盐、乙酸盐、乳酸盐、水杨酸盐、酒石酸盐、泛酸盐、抗坏血酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、富马酸盐、葡萄糖酸盐、糖精酸盐、甲酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对-甲苯磺酸盐、扑酸盐(pamoate)等。而且,使用铝、钙、锂、镁、钠、锌和二乙醇胺的盐是可接受的。

[0037] 包含艾日布林和/或mTOR抑制剂(例如依维莫司)的药物组合物可以使用本领域已知的标准方法制备(参见例如上述专利文献)。通常,用于本发明的艾日布林和mTOR抑制剂(例如依维莫司)包括在分开的药物组合物内,但它们可以,任选,包括在单一组合物内。艾日布林通常以液体形式提供以静脉给予,而mTOR抑制剂(例如依维莫司)通常以片剂形式提供以口服给予。

[0038] 用于本发明的药物组合物可通过例如,使具有所需纯度的活性成分混合或溶解于生理学上可接受的稀释剂、载体、赋形剂或稳定剂中制备(参见,例如,Remington's Pharmaceutical Sciences (第20版),A. Gennaro编辑,2000, Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, PA)。可接受的稀释剂包括水和盐水,任选地包括缓冲剂例如磷酸盐、柠檬酸盐或其它有机酸;抗氧化剂包括丁羟甲苯(BHT)、丁羟茴醚(BHA)、抗坏血酸;低分子量(少于约10个残基)多肽;蛋白,例如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物例如聚乙烯吡咯烷酮、氨基酸例如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖或其它碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂例如EDTA;糖醇例如甘露醇或山梨醇;成盐反荷离子例如钠;和/或非离子表面活性剂例如TWEEN™、PLURONICS™或PEG。

[0039] 在制备用于口服剂型的组合物(例如,包含mTOR抑制剂例如依维莫司的组合物)中,可以采用任何常见药物介质,例如,水、二醇、油、醇、调味剂、防腐剂、着色剂。另外,载体例如淀粉、糖、微晶纤维素、稀释剂、颗粒剂、润滑剂、结合剂、崩解剂等可以例如用于口服固体制剂的情况,例如,粉末、胶囊和片剂。

[0040] 任选地,本发明的制剂含有药学上可接受的防腐剂。在一些实施方案中,防腐剂浓度范围从0.1至2.0%(通常为v/v)。合适的防腐剂包括在制药领域已知的那些,例如苊醇、苯酚、间甲酚、对羟基苯甲酸甲酯和对羟基苯甲酸丙酯。此外,艾日布林和/或mTOR抑制剂(例如依维莫司)制剂可以任选地包括药学上可接受的盐,例如氯化钠,例如大约生理浓度的氯化钠。因此,在一个实例中,艾日布林(例如甲磺酸艾日布林)以0.9%氯化钠注射液(USP)配制。

[0041] 上述制剂(和其它)可用来经胃肠外给予药物。因此,药物可通过以下途径给予:包括静脉内、肿瘤内、肿瘤周围、动脉内、皮内、膀胱内、眼、肌内、皮内、腹膜内、肺部、皮下和经皮途径。也可采用其它途径包括,例如,经粘膜、经皮、吸入、阴道内、直肠和口服给予途径。

[0042] 给予艾日布林和/或mTOR抑制剂(例如依维莫司)组合物的剂量可根据目标疾病的类型,递送方法的选择,以及患者的年龄、性别和体重,症状的严重性以及其它因素而显著不同。

[0043] 艾日布林(例如甲磺酸艾日布林)的日剂量可以在例如,0.001mg/m²-约100mg/m²范围内(例如,在约0.1mg/m²-约50mg/m²或在约0.7mg/m²-约1.5mg/m²范围内,或这些范围内的任何单一量(例如,1.44mg/m²或1.1mg/m²)).艾日布林可作为一天一次、一周一次、两周一次、一月一次或一年一次的单一剂量给予,或可以每天、每周、两周、每月或每年给予多于一个剂量的艾日布林。给予可以任选为静脉内,例如,历时约1-约20分钟,或约2-约5分钟。举

例来说,在一个给药方案中,艾日布林可在21天周期的第1天和第8天给予一次。更具体地说,艾日布林(例如甲磺酸艾日布林)的推荐剂量是 $1.4\text{mg}/\text{m}^2$,在21天周期的第1天和第8天静脉内经2-5分钟给予。在患有轻度肝损伤(Child-Pugh A)的患者中,艾日布林(例如甲磺酸艾日布林)的推荐剂量是 $1.1\text{mg}/\text{m}^2$,在21天周期的第1天和第8天静脉内经2-5分钟给予,而在患有中度肝损伤(Child-Pugh B)的患者中,艾日布林(例如甲磺酸艾日布林)的推荐剂量是 $0.7\text{mg}/\text{m}^2$,在21天周期的第1天和第8天静脉内经2-5分钟给予。此外,在患有中度肾损伤($30\text{--}50\text{mL}/\text{min}$ 的肌酐清除率)的患者中,艾日布林(例如甲磺酸艾日布林)的推荐剂量是 $1.1\text{mg}/\text{m}^2$,在21天周期的第1天和第8天静脉内经2-5分钟给予。在另一个实施例中,艾日布林(例如甲磺酸艾日布林)可以每两周时间表给予,例如,在28天周期的第1和15天各给予一次。更具体地,艾日布林(例如甲磺酸艾日布林)的例示性剂量为静脉内给予 $1.4\text{mg}/\text{m}^2$,历时2-5分钟,在28天周期的第1和15天各给予一次。上述剂量降低,在患有轻度肝损伤或患有中度肾损伤的患者的情况下的 $1.1\text{mg}/\text{m}^2$ 和在患有中度肝损伤的患者的情况下的 $0.7\text{mg}/\text{m}^2$,还可以用于每两周方案。根据本发明的方法,艾日布林(例如甲磺酸艾日布林)的这些或其它较低剂量可以任选用于具有不良反应(例如,血液学或其它不良反应)的患者的情况或用于组合治疗。

[0044] mTOR抑制剂可以使用本领域中的标准方法和给药方案给予。依维莫司,例如,可以在约 $1\text{mg}/\text{天}$ —约 $20\text{mg}/\text{天}$ 范围(例如, 1 、 2.5 、 5 、 7.5 、 10 或 $15\text{mg}/\text{天}$)中以单一剂量或分剂量口服给予。依维莫司可以每天、每周、每月或每年作为单一剂量给予一次,或超过一个剂量的依维莫司可以每天、每周、每月或每年给予。例如,在一个给药方案中,依维莫司可以在用艾日布林(参见上文)治疗过程期间每日给予且,任选,依维莫司给予可以超过艾日布林治疗方案而持续。在其它实施方案中,依维莫司可以剂量逐渐减小给予,使得第二和随后的剂量给予相对于第一和在先剂量减少。在mTOR抑制剂的其它实例的情况下,地磷莫司(Merck & Company and Ariad Pharmaceuticals),例如,可以 $40\text{mg QD}\times 5/\text{周}$ 给予,而坦西莫司(Pfizer Inc.)可以在30-60分钟过程中每周一次输注 25mg 的量给予。这些量和方案可以随本领域技术人员确定为合适而变化。

[0045] 艾日布林和mTOR抑制剂(例如依维莫司)组合物可以基本上同时或序贯且以任一顺序(例如,艾日布林在mTOR抑制剂(例如依维莫司)之前给予,或反之亦然)给予患者。在一个实例中,艾日布林在开始mTOR抑制剂(例如依维莫司)给予之前(例如,早1-12小时或1-3天)给予。用于给予化学疗法药物的许多方案包括,例如,静脉给予一种药物(或多种药物),接着在一段时间(例如,1-4周)之后重复这种治疗,在该时间段期间患者从治疗的任何不良反应恢复。可能合乎需要的是在每次给予时使用艾日布林和mTOR抑制剂(例如依维莫司)两者或,可替代地,一些(或所有)治疗仅包括艾日布林或仅包括mTOR抑制剂(例如依维莫司)。

[0046] 作为本发明中包括的治疗方案的具体非限制性实例,通过在21天周期的第1和8天(或28天周期的第1和15天)静脉输注1-20分钟(例如,经2-5分钟)给予艾日布林(例如, $0.01\text{--}5\text{mg}/\text{m}^2$,例如, $1.1\text{mg}/\text{m}^2$ 或 $1.4\text{mg}/\text{m}^2$)到患者,而mTOR抑制剂例如依维莫司在该周期期间每日给予(例如, $1\text{--}20\text{mg}$ 或 10mg)。这个治疗过程可以重复(例如,1-8、2-6或4-5次),如由本领域技术人员确定为可容忍且有效。

[0047] 除了艾日布林和mTOR抑制剂(例如依维莫司)之外,本发明的方法还可以包括给予

一种或多种另外的治疗剂。在这些治疗剂中,免疫调节剂(例如,抗体或疫苗)、化学疗法/抗肿瘤剂、抗菌剂、止吐剂和抗炎剂是合适的。在一个具体实施例中,艾日布林(例如甲磺酸艾日布林)和mTOR抑制剂(例如依维莫司)与BKM-120 (Buparlisib)、一种脂质激酶的泛类I磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)家族的可口服生物利用的特定口服抑制剂组合给予。在该实例中,艾日布林和mTOR抑制剂可以如上所述任选给予,而BKM-120可以例如约0.01mg-约200mg、例如约50mg-约150mg范围给予,或在该范围(例如,100mg)内以任何单一量给予,作为在艾日布林和mTOR治疗过程期间或超过艾日布林和mTOR治疗的每日、每周或每月一次的单一剂量给予。在其它情形下,艾日布林(例如甲磺酸艾日布林)和mTOR抑制剂(例如依维莫司)可以作为唯一治疗(例如,唯一抗癌)剂用于治疗方案。因此,本发明的方法可以由以下组成:给予(i) 艾日布林或其药学上可接受的盐(例如甲磺酸艾日布林),和(ii) mTOR抑制剂(例如依维莫司)。

[0048] 本发明的方法可以用于治疗(包括,例如,延缓进展)或预防受试者(例如,人类患者)中的癌症和/或减小肿瘤大小。受试者可以诊断患有癌症,处于发生癌症风险中,在癌症治疗中,或在癌症治疗后的恢复中。而且,所述方法可以用于治疗或预防转移和/或复发。治疗可以是单独的化学治疗剂,虽然也预想了与除去肿瘤或减少肿瘤大小的外科手术、放射疗法、免疫疗法和/或消融(ablation)疗法组合的治疗。

[0049] 可以根据本发明的方法治疗的癌症类型包括,例如,乳腺癌(例如,阳性或阴性雌激素受体、阳性或阴性孕激素受体、阳性或阴性HER-2或三阴性乳腺癌)、肺癌(例如,非小细胞肺癌)、卵巢癌、咽癌、食道癌和肉瘤。

[0050] 试剂盒

本发明还提供包括具有艾日布林(例如甲磺酸艾日布林)的容器和/或具有mTOR抑制剂(例如依维莫司)的容器的试剂盒。可以在该试剂盒中以足以治疗有需要的患者中的癌症的量(例如足以单独给予或多次给予的量)提供艾日布林(例如甲磺酸艾日布林)和/或mTOR抑制剂(例如依维莫司)。试剂盒可以因此包括多个容器,各自包括有效量的单一剂量艾日布林(例如甲磺酸艾日布林)和/或mTOR抑制剂(例如依维莫司)药物组合物。任选,对给予药物组合物必要的仪器和/或设备还可以包括在试剂盒中。而且,试剂盒可以包括另外的组分,例如说明书或给药时间表,用于用艾日布林(例如甲磺酸艾日布林)和/或mTOR抑制剂(例如依维莫司)治疗癌症患者。

[0051] 通过以下实施例说明本发明,其无论如何不旨在限制本发明。

[0052] 实验实施例

实施例1

概述

本研究的目的在于确定当与依维莫司组合给予时E7389 (甲磺酸艾日布林)对雌性无胸腺NCR-nu/nu小鼠中的皮下植入的人类MX-1乳腺肿瘤异种移植物的生长的作用。将总共120只带有肿瘤的小鼠分成12组,每组10只小鼠。组1分别用以下治疗:E7389和依维莫司溶液[2.5% DMSO/97.5%盐水,静脉内(IV),每四天一次,总共注射四次(Q4Dx4)以及注射用水中的0.5%甲基纤维素/0.2%聚山梨醇酯80,口服管饲(P0),每日一次,连续16天(Q1Dx16)]。按照Q4Dx4时间表,组2、3和4用静脉内给予的三个剂量(0.6,0.4和0.2mg/kg/注射)的E7389治疗。按照Q1Dx16时间表,组5和6用口服管饲给予的两个剂量(40和20mg/kg/剂)的依维莫

司治疗。组7、8和9用0.6、0.4或0.2mg/kg/注射剂量的E7389与剂量为40mg/kg/剂的依维莫司组合治疗。组10、11和12用0.6、0.4或0.2mg/kg/注射剂量的E7389与剂量为20mg/kg/剂的依维莫司组合治疗。依维莫司在E7389后的6小时给予。所有治疗在植入肿瘤异种移植物的10天开始。MX-1人类乳腺肿瘤异种移植物的生长对按照Q4Dx4时间表用0.6、0.4和0.2mg/kg/注射剂量静脉内给予的E7389治疗灵敏,导致对所有三组中肿瘤生长的统计学显著抑制。给予0.6mg/kg/注射剂量的E7389使六只小鼠的肿瘤完全消退并得到五只无肿瘤的存活者。按照Q1Dx16时间表P0给予40和20mg/kg/剂的剂量的依维莫司在两个试验剂量下导致肿瘤生长的最小但统计学显著抑制。用0.6、0.4和0.2mg/kg/注射剂量的E7389与40或20mg/kg/剂的剂量的依维莫司组合治疗是容许的且导致MX-1乳腺肿瘤异种移植物的生长的统计学显著抑制。

[0053] 基于达到肿瘤质量四次加倍的个体动物的时间和个体动物在第62天的肿瘤重量,其中给予0.6mg/kg/注射剂量的E7389与40或20mg/kg/剂的剂量的依维莫司的组合的两个组合组中的肿瘤生长与单独用E7389治疗的组中的肿瘤生长没有统计学差异。虽然当比较达到肿瘤质量四次加倍的个体动物的时间时,其中给予0.4mg/kg/注射剂量的E7389与40或20mg/kg/剂的剂量的依维莫司的组合的组中的肿瘤生长与单独用E7389治疗的组中的肿瘤生长具有统计学差异,但当比较个体动物在第52天的肿瘤重量时,该差异并未达到显著性。基于中值肿瘤生长延缓的比较,与通过单独给予各种化合物产生的抗肿瘤活性相比,两个组合治疗的抗肿瘤活性大于加和。当比较达到肿瘤质量四次加倍的个体动物的时间和个体动物在第41天的肿瘤重量时,其中给予0.2mg/kg/注射剂量的E7389与40或20mg/kg/剂的剂量的依维莫司的组合的两组中的肿瘤生长与单独用E7389治疗的组中的肿瘤生长具有统计学差异。基于中值肿瘤生长延缓的比较,与通过单独给予各种化合物产生的抗肿瘤活性相比,两个组合治疗的抗肿瘤活性为加和。给予依维莫司导致动物的皮肤临时干燥(在对照或E7389-治疗组并没有注意到这种皮肤干燥)。所有组合组中的皮肤干燥的严重度似乎小于单独用依维莫司治疗的组中所发现的严重度。当与mTOR(雷帕霉素的哺乳动物靶)抑制剂依维莫司组合给予到用MX-1人类乳腺肿瘤异种移植皮下(SC)植入的雌性无胸腺NCr-nu/nu小鼠时,在该研究中评估化合物E7389的抗肿瘤功效。

[0054] 材料和方法

动物照料

六周龄雌性、无胸腺NCr-nu/nu小鼠购自Charles River Laboratories (Wilmington, MA)且在实验之前在实验室中适应10天。将该动物放在微型隔离笼中,每笼五只,具有12小时光照/黑暗周期。动物随意接受过滤的Birmingham城市用水和无菌Teklad Global 16%蛋白啮齿动物饮食(2016S, Harlan Laboratories, Inc.)。不提供可消耗的富集物(consumable enrichment)。在各个笼中提供Enrich-n'Nest纸辊(the Andersons Lab Bedding Products, Maumee, OH)作为操作特征(manipulanda)。每周改变笼两次。每日观察动物并注意临床信号。

[0055] 肿瘤模型

每只大鼠使用13-规格针从体内通道在右侧附近SC植入30-40mg MX-1人类乳腺肿瘤片段。肿瘤片段植入之日指定为第0天。120只动物的个体肿瘤在治疗开始之日,即在植入肿瘤片段后第10天生长到100-245mg重量(100-245mm³大小)。所选择的具有合适大小范围的肿

瘤的那些动物分配为12个治疗组,从而在第一天治疗时所有组中的平均肿瘤重量和中值肿瘤重量尽可能彼此接近(平均肿瘤重量为160-168mg范围,中值肿瘤重量为153或162mg)。

[0056] 药物储存

具有E7389粉末(甲磺酸艾日布林,10.1mg)的小瓶从Eisai Inc.获得,冷冻(在干冰上运输)且在收到时在低于-70℃下在黑暗中在干燥剂上储存。依维莫司(>99%,目录号E4040)购自LC Laboratories且在收到时在-20℃下储存。DriSolv® 甲基亚砷(DMSO,无水,目录号MX 1457-7)购自EMD Chemicals, Inc.且在收到时在室温下储存。一旦具有DMSO的瓶被打开,则在室温下在氮气下储存。盐水(生理盐水溶液,无菌,不含防腐剂,只用于动物用途)和注射用水、USP (WFI,无菌-无热原,只用于动物用途)由Nova-Tech, Inc.制造且在室温下储存。在配制周期期间,盐水和WFI在4℃下储存。甲基纤维素(MC,20℃下2%水溶液的粘度为4,000cP)购自Sigma-Aldrich且在室温下储存。聚山梨醇酯80(T80,Fisher Scientific)在室温下储存。0.5% MC/0.2% T80的WFI溶液在4℃下储存。

[0057] 药物配制

2.4mg/mL E7389在100% DMSO中的储备溶液通过加入4.21mL 100% DMSO(来自未打开瓶)到具有10.1mg E7389的小瓶并通过温和涡旋将E7389溶解在100% DMSO中来配制。让溶液静置2-3分钟以确保其完全在溶液中。将2.4mg/mL储备溶液等分以用于所有4天治疗,具有等分部分和剩余2.4mg/mL储液的小瓶中的空气用氮气置换,且具有等分部分和剩余储液的小瓶在低于-70℃下冷冻。在每天的治疗中,等分部分在室温下解冻且用盐水稀释以在2.5% DMSO/97.5%盐水中产生0.06mg/mL的浓度。通过用2.5% DMSO/97.5%盐水稀释0.06mg/mL溶液的一部分获得0.04和0.02mg/mL的较低浓度。在配制和给药之间具有给药溶液的瓶在4℃下储存。

[0058] 将100% DMSO等分用于每天治疗,小瓶中的空气用氮气置换,且小瓶在低于-70℃下冷冻。在每天治疗中,DMSO的等分部分在室温下解冻且用盐水稀释以产生2.5% DMSO/97.5%盐水。该溶液用于治疗组1(E7389溶媒)中的小鼠。

[0059] 在WFI中配制0.5% MC/0.2% T80且该溶液在4℃下储存。在每天治疗中在WFI中的0.5% MC/0.2% T80中配制4mg/mL浓度的依维莫司。4mg/mL混浊溶液的一部分用WFI中的0.5% MC/0.2% T80稀释到2mg/mL。在配制和给药之间具有给药溶液的瓶在4℃下储存。

[0060] 在每天治疗中,根据准确个体体重将所有E7389给药溶液、依维莫司给药溶液和溶媒给予小鼠,且注射体积为0.1mL/10g体重。

[0061] 药物治疗

该实验由在第一天治疗中1个溶媒治疗对照组和11个药物治疗组组成,总共120只小鼠每组10只小鼠。所有治疗在第10天开始。E7389以0.6、0.4和0.2mg/kg/注射剂量单独(分别为组2-4),和与依维莫司组合(组7-12)每四天静脉内(IV)给予一次,总共注射四次(Q4Dx4;第10天、第14天、第18天和第22天,在所有图中还称为Q4Dx4(10)-(0))。依维莫司以40和20mg/kg/剂的剂量单独(分别为组5和6),和与E7389组合(组7-12)通过口服管饲(PO)每日给予一次,连续16天(QIDx16;第10-25天,在所有图中还称为Q1Dx16(10)-(6))。在给予两种化合物之日,首先[-(0)]将E7389给予到所有组合组(注射分别在第10天、第14天、第18天和第22天的10:05、8:45、8:40和8:32 a.m开始),接着在之后6小时[-(6)]给予依维莫司。在只给予依维莫司之日,治疗在当天的第二部分时间(在1:15和2:45 pm之间)进行,不同之处在

于第15天,治疗在11:11 am开始。对照组(组1)用E7389和依维莫司溶媒(分别为2.5% DMSO/97.5%盐水,IV,WFI中的Q4Dx4和0.5% MC/0.2% T80,PO,Q1Dx16)治疗。

[0062] 肿瘤测量和体重

每日观察动物的死亡率和发病率一次。在治疗的第一天,即在植入肿瘤片段后的第10天开始测量SC肿瘤且每周称量动物两次。通过卡尺测量(mm)且使用用于椭圆球体的公式: $l \times w^2/2 = mm^3$ 确定肿瘤体积,其中l和w是指在每次测量收集的较大和较小的垂直尺寸。该公式还用于计算肿瘤重量,假定单位密度(1mm³=1mg)。肿瘤检测的限值为4 x 4 mm (32mg)。

[0063] 研究持续期间

该研究在肿瘤片段植入之后第62天结束。出于人道原因在计划的研究结束日之前将肿瘤达到4,000mg重量或溃烂的任何动物或体重降低到低于14g的任何动物安乐死。

[0064] 评估的参数

计算第62天的非特异性死亡的数目、完全肿瘤消退的数目,无肿瘤存活者的数目和各组中达到肿瘤质量四次加倍的肿瘤的中值天数。达到肿瘤质量四次加倍的中值时间用于计算中值肿瘤的生长中的总延缓(T-C,天)。第34天(当超过50%的动物在对照组中仍存活时,为数据收集的最后一天)的治疗组中的中值肿瘤重量(T)与对照组中的中值肿瘤重量的比较(T/C x 100%)用于另外评估抗肿瘤功效。另外地,针对各组,相对于第10天的组平均体重,计算数据收集的每天的组平均体重变化(以克且作为百分数表示)。

[0065] 数据分析

收集个体肿瘤测量和体重并使用在Southern Research Institute开发的软件ADAS (Automated Data Acquisition System)处理。SigmaPlot™ 9.0软件用于图示呈现身体和肿瘤重量数据。SigmaStat 3.5版统计软件用于统计上比较肿瘤生长数据。如果P值等于或小于0.05,认为组之间的区别是显著的。达到肿瘤质量四次加倍的个体动物的时间用作生命表分析(Kaplan-Meier存活分析,接着对数秩检验)的终点。使用肿瘤无法达到评估点的动物(通过检查它们),生命表分析允许比较组之间的生长数据。在第62天对用0.6mg/kg/注射剂量(单独或与依维莫司组合)的E7389治疗的三组、在第52天对用0.4mg/kg/注射剂量的E7389治疗的三组、和在第41天对用0.2mg/kg/注射剂量的E7389治疗的三组的个体动物的肿瘤重量通过t-检验(或Mann-Whitney秩和检验)比较。当数据组没有通过正态性检验时,使用非参数检验。当在所有三组中至少50%的动物存活时,所选分析日为数据收集的最后一天。

[0066] 结果

溶媒治疗的对照组(组1)中的肿瘤在所有十只小鼠中生长良好。在达到肿瘤质量四次加倍之前一个肿瘤溃烂。中值肿瘤在18.2天时达到肿瘤质量四次加倍且在第34天达到4,513mg重量。在实验的过程中动物重量增加。

[0067] 按照Q4Dx4时间表,静脉给予0.6、0.4和0.2mg/kg/注射剂量的E7389(分别为组2、3和4)是容许的且不具有治疗有关死亡。当分别给予0.6和0.4mg/kg/注射剂量的E7389时,治疗与1%的最大平均体重损失(0.2-0.3g)相关,而给予0.2mg/kg/注射剂量不导致平均体重损失。因此,当在该实验中按照Q4Dx4时间表静脉内给予时,并不达到E7389的最大容许剂量(MTD,定义为不导致组中超过10%的动物死亡或产生不超过20%平均体重损失的剂量)。用0.6、0.4和0.2mg/kg/注射剂量的E7389的静脉内治疗在抑制MX-1乳腺肿瘤异种移植物生长

中非常有效。在研究结束日,用0.6mg/kg/注射剂量治疗的组中的十只动物中有六只动物的肿瘤经历完全消退且五只动物无肿瘤。用0.6、0.4和0.2mg/kg/注射剂量治疗的组中的中值肿瘤生长延缓分别为>33.8、17.7和>6.3天。第34天的T/C值分别为0%、13%和51%。当比较达到肿瘤质量四次加倍的个体动物的时间(组1相对于组2: $P<0.001$,组1相对于组3: $P<0.001$,组1相对于组4: $P=0.001$)时,发现用0.6、0.4和0.2mg/kg/注射剂量的E7389治疗的组中的肿瘤生长与对照组中的肿瘤生长具有统计学差异。在实验过程中用E7389治疗的动物的平均体重变化在图1中图示呈现。SC-植入的人类MX-1乳腺肿瘤片段对用E7389治疗的响应在图2(平均肿瘤重量)中图示呈现。

[0068] 按照Q1Dx16时间表口服给予40和20mg/kg/剂的剂量的依维莫司(分别为组5和6)是容许的且不具有治疗有关死亡。用40mg/kg/剂的剂量治疗与在第24天观察到的8%的最大平均体重损失(1.8g)相关。用20mg/kg/剂的剂量治疗的组中的四只动物在第21天死亡。这些死亡由前一天晚上笼被水淹导致(这些动物从所有肿瘤生长计算排除)。用20mg/kg/剂的剂量治疗与在第20天观察到的2%的最大平均体重损失(0.4g)相关。因此,当按照Q1Dx16时间表口服管饲给予时,在该实验中并没有达到依维莫司的MTD。注意到两组中的所有动物在第20天开始具有干燥皮肤。到第31天皮肤出现正常。用两个试验剂量的依维莫司口服管饲治疗在抑制MX-1乳腺肿瘤异种移植物的生长中有效性最小,分别产生6.1和4.0天的中值肿瘤生长延缓。第34天的T/C值分别为46%和74%。当比较达到肿瘤质量四次加倍的个体动物的时间(组1相对于组5: $P<0.001$,组1相对于组6: $P=0.019$)时,发现用40和20mg/kg/剂的剂量的依维莫司治疗的组中的肿瘤生长与对照组中的肿瘤生长具有统计学差异。在实验过程中用依维莫司治疗的动物的平均体重变化在图3中图示呈现。SC-植入的人类MX-1乳腺肿瘤片段对用依维莫司治疗的响应在图4(平均肿瘤重量)中图示呈现。

[0069] 按照Q4Dx4时间表给予0.6、0.4和0.2mg/kg/注射剂量的E7389 IV和按照Q1Dx16时间表PO给予40mg/kg/剂的剂量(分别为组7、8和9)的依维莫司是容许的且不具有死亡。在第24天将用0.6mg/kg/注射剂量的E7389和40mg/kg/剂的剂量的依维莫司治疗的组中的一只动物安乐死,由于过多体重损失。这认为是治疗有关的安乐死。当分别给予0.6、0.4和0.2mg/kg/注射剂量的E7389时,组合治疗与9%的最大平均体重损失(2.1g)、5%的最大平均体重损失(1.2g)和8%的最大平均体重损失(1.8g)有关。因此,在该实验中并没有达到在按照Q4Dx4时间表静脉内给予的E7389与按照Q1Dx16时间表口服管饲给予的依维莫司组合时的MTD。注意到所有三组中的动物在第20天开始具有干燥皮肤。皮肤干燥的严重度似乎小于组5(单独40mg/kg/剂的剂量的依维莫司)中发现的。到第27天时皮肤状态改进。组合治疗呈现剂量依赖性抗肿瘤活性,在其中分别给予0.6、0.4和0.2mg/kg/注射剂量的E7389的组中产生>33.8、30.0和13.4天的中值肿瘤生长延缓。在研究结束日,其中分别给予0.6和0.4mg/kg/注射剂量的E7389的组中的九只和四只动物的肿瘤经历完全消退,且四只和两只动物分别无肿瘤。其中给予0.6、0.4和0.2mg/kg/注射剂量的E7389的组合组中的T/C值在第34天分别为0%、2%和19%。当比较达到肿瘤质量四次加倍的个体动物的时间时,所有三个组合组中的肿瘤生长与对照组中的肿瘤生长具有统计学差异(所有三组 $P<0.001$)。

[0070] 当比较达到肿瘤质量四次加倍的个体动物的时间(组2相对于组7: $P=0.285$)和个体动物在第62天的肿瘤重量(组2相对于组7: $P=0.567$)时,其中给予0.6mg/kg/注射剂量的E7389的组合组中的肿瘤生长与单独用E7389治疗的组中的肿瘤生长没有统计学差异。虽然

当比较达到肿瘤质量四次加倍的个体动物的时间(组3相对于组8: $P=0.032$)时,其中给予0.4mg/kg/注射剂量的E7389的组合组中的肿瘤生长与单独用E7389治疗的组中的肿瘤生长具有统计学差异,但当比较个体动物在第52天的肿瘤重量(组3相对于组8: $P=0.083$)时,差异未达到显著性。与通过单独给予各种化合物产生的抗肿瘤活性相比,这种组合治疗的抗肿瘤活性大于加和:与组8中的中值肿瘤生长延缓(0.4mg/kg/注射剂量的E7389和40mg/kg/剂的剂量的依维莫司)=30.0天相比,组3中的中值肿瘤生长延缓(单独0.4mg/kg/注射的剂量的E7389)=17.7天,组5中的中值肿瘤生长延缓(单独40mg/kg/剂的剂量的司依维莫)=6.1天。当比较达到肿瘤质量四次加倍的个体动物的时间(组4相对于组9: $P<0.001$)和个体动物在第41天的肿瘤重量(组4相对于组9: $P<0.001$)时,其中给予0.2mg/kg/注射剂量的E7389的组合组中的肿瘤生长与用E7389单独治疗的组中的肿瘤生长具有统计学差异。与通过单独给予各种化合物产生的抗肿瘤活性相比,组合治疗的抗肿瘤活性为加和:与组9中的中值肿瘤生长延缓(0.2mg/kg/注射剂量的E7389和40mg/kg/剂的剂量的依维莫司)=13.4天相比,组4中的中值肿瘤生长延缓(单独0.2mg/kg/注射的剂量的E7389)=6.3天,组5中的中值肿瘤生长延缓(单独40mg/kg/剂的剂量的依维莫司)=6.1天。

[0071] 按照Q4Dx4时间表给予0.6、0.4和0.2mg/kg/注射剂量的E7389 IV和按照Q1Dx16时间表P0给予20mg/kg/剂的剂量的依维莫司(分别为组10、11和12)是容许的且不具有死亡。当分别给予0.6、0.4和0.2mg/kg/注射剂量的E7389时,组合治疗与1%的最大平均体重损失(0.3g)、2%的最大平均体重损失(0.4g)和3%的最大平均体重损失(0.8g)相关。注意到所有三组中的动物在第20天开始具有干燥皮肤。皮肤干燥的严重度似乎小于组6(单独20mg/kg/剂的剂量的依维莫司)中所发现的。组合治疗呈现剂量-依赖性抗肿瘤活性,在其中分别给予0.6、0.4和0.2mg/kg/注射剂量的E7389的组中产生>33.8,25.1和12.9天的中值肿瘤生长延缓。在研究结束日,其中分别给予0.6和0.4mg/kg/注射剂量的E7389的组中的八只和一只动物的肿瘤经历完全消退且各组中的一只动物无肿瘤。其中在第34天给予0.6、0.4和0.2mg/kg/注射剂量的E7389的组合组中的T/C值分别为0%、3%和23%。当比较达到肿瘤质量四次加倍的个体动物的时间时,所有三个组合组中的肿瘤生长与对照组中的肿瘤生长具有统计学差异(对于所有三组 $P<0.001$)。

[0072] 当比较达到肿瘤质量四次加倍的个体动物的时间(组2相对于组10: $P=0.985$)和个体动物在第62天的肿瘤重量(组2相对于组10: $P=0.161$)时,其中给予0.6mg/kg/注射剂量的E7389的组合组中的肿瘤生长与单独用E7389治疗的组中的肿瘤生长没有统计学差异。虽然当比较达到肿瘤质量四次加倍的个体动物的时间(组3相对于组11: $P=0.05$)时,其中给予0.4mg/kg/注射剂量的E7389的组合组中的肿瘤生长与单独用E7389治疗的组中的肿瘤生长具有统计学差异,但当比较个体动物在第52天的肿瘤重量(组3相对于组11: $P=0.180$)时,差异未达到显著性。与通过单独给予各种化合物产生的抗肿瘤活性相比,这种组合治疗的抗肿瘤活性大于加和:与组11中的中值肿瘤生长延缓(0.4mg/kg/注射剂量的E7389和20mg/kg/剂的剂量的依维莫司)=25.1天相比,组3中的中值肿瘤生长延缓(单独0.4mg/kg/注射的剂量的E7389)=17.7天,组6中的中值肿瘤生长延缓(单独20mg/kg/剂的剂量的依维莫司)=4.0天。当比较达到肿瘤质量四次加倍的个体动物的时间(组4相对于组12: $P<0.001$)和个体动物在第41天的肿瘤重量(组4相对于组9: $P=0.029$)时,其中给予0.2mg/kg/注射剂量的E7389的组合组中的肿瘤生长与单独用E7389治疗的组中的肿瘤生长具有统计学差异。与通

过单独给予各种化合物产生的抗肿瘤活性相比,这种组合治疗的抗肿瘤活性为加和:与组12中的中值肿瘤生长延缓(0.2mg/kg/注射剂量的E7389和20mg/kg/剂的剂量的依维莫司)=12.9天相比,组4中的中值肿瘤生长延缓(单独0.2mg/kg/注射的剂量的E7389)=>6.3天,组6中的中值肿瘤生长延缓(单独20mg/kg/剂的剂量的依维莫司)=4.0天。

[0073] 在实验过程中用三个剂量的E7389与40或20mg/kg/剂的剂量的依维莫司组合治疗的动物的平均体重变化分别在图5和图6中图示呈现。SC-植入的人类MX-1乳腺肿瘤片段对用0.6、0.4或0.2mg/kg/注射剂量的E7389与两个剂量的依维莫司组合治疗的响应分别在图7、图8和图9中图示呈现(平均肿瘤重量)。

[0074] 结论

MX-1人类乳腺肿瘤异种移植物的生长对用按照Q4Dx4时间表以0.6、0.4和0.2mg/kg/注射剂量静脉内给予的E7389治疗灵敏,导致所有三组中的肿瘤生长的统计学显著抑制。给予0.6mg/kg/注射剂量的E7389使六只小鼠的肿瘤完全消退并得到五只无肿瘤的存活性。按照Q1Dx16时间表P0给予40和20mg/kg/剂的剂量的依维莫司在两个试验剂量下导致肿瘤生长的最小但统计学显著抑制。用0.6、0.4和0.2mg/kg/注射剂量的E7389与40或20mg/kg/剂的剂量的依维莫司组合治疗是容许的且导致MX-1乳腺肿瘤异种移植物的生长的统计学显著抑制。

[0075] 基于达到肿瘤质量四次加倍的个体动物的时间和个体动物在第62天的肿瘤重量,其中给予0.6mg/kg/注射剂量的E7389与40或20mg/kg/剂的剂量的依维莫司组合的两个组合组中的肿瘤生长与单独用E7389治疗的组中的肿瘤生长没有统计学差异。虽然当比较达到肿瘤质量四次加倍的个体动物的时间时,其中给予0.4mg/kg/注射剂量的E7389与40或20mg/kg/剂的剂量的依维莫司组合的组中的肿瘤生长与单独用E7389治疗的组中的肿瘤生长具有统计学差异,但当比较个体动物在第52天的肿瘤重量时,差异未达到显著性。与通过单独给予各种化合物产生的抗肿瘤活性相比,两种组合治疗的抗肿瘤活性大于加和。当比较达到肿瘤质量四次加倍的个体动物的时间和个体动物在第41天的肿瘤重量时,其中给予0.2mg/kg/注射剂量的E7389与40或20mg/kg/剂的剂量的依维莫司组合的两组中的肿瘤生长与单独用E7389治疗的组中的肿瘤生长具有统计学差异。与通过单独给予各种化合物产生的抗肿瘤活性相比,两种组合治疗的抗肿瘤活性为加和。

[0076] 给予依维莫司导致动物皮肤的临时干燥(在对照或E7389-治疗组中并没有注意到皮肤的这种干燥)。所有组合组中的皮肤干燥的严重度似乎小于用依维莫司单独治疗的组中所发现的严重度。

[0077] 实施例2

方法

抗增殖测定

在下文描述通过其进行该实施例中所述的实验的高通量筛选的方法。

[0078] 细胞从液氮保持状态解冻。一旦细胞以其预期加倍时间扩大并分裂,则开始筛选。将细胞接种在384孔和1536孔组织培养物处理的板中的生长培养基中。细胞在测定板中经由离心平衡且在处理之前在37℃下放在附接到给药模块的培养箱中24小时。在处理时,收集测定板的组(不接受处理)并通过加入ATPLite (Perkin Elmer)测量ATP水平。这些T_零(T₀)板在Envision读板器上使用超敏发光读取。处理的测定板用化合物孵育72小时。在72

小时之后,使用ATPLite使板显像用于端点分析。经由自动方法收集所有数据点,控制品质,并使用软件分析。如果测定板通过以下品质控制标准的话,则接受测定板:相对萤光素酶值贯穿整个实验一致,Z因子评分大于0.6,且未处理的/溶媒对照在板上表现一致。在下文提供协同作用评分的计算。

[0079] 生长抑制(GI)用作细胞生存能力的量度。在给药(T0)时和在72小时(T72)之后测量溶媒的细胞生存能力。0%的GI读数表示没有生长抑制,即,用化合物处理的细胞和T72溶媒信号匹配。GI 100%表示完全生长抑制,即,通过化合物处理的细胞和T0溶媒信号匹配。细胞数目在处理周期期间在具有GI 100%的孔中并不提高且可以表明在该作用水平下达到平稳的化合物的抑制细胞作用。GI 200%表示所有细胞在培养孔中完全死亡。达到GI 200%的活性平稳的化合物认为是具有细胞毒性。GI通过应用以下检验和公式计算:

$$\begin{aligned} \text{如果 } T < V_0: 100 * (1 - \frac{T-V_0}{V_0}) \\ \text{如果 } T \geq V_0: 100 * (1 - \frac{T-V_0}{V-V_0}) \end{aligned}$$

其中T为试验制品的信号量度,V为溶媒处理的对照量度,且V₀为在时间0的溶媒对照量度。该公式源自用于国立癌症研究所的NCI-60高通量筛选的生长抑制计算。所有单一试剂和组合数据分析在生长抑制中进行。

[0080] 协同作用评分分析

为了测量超过Loewe加和的组合作用,标量测量用于表征协同的相互作用的强度,称为协同作用评分。协同作用评分计算为:

$$\text{协同作用评分} = \log f_x \log f_y \sum \max(0, I_{\text{数据}}) (I_{\text{数据}} - I_{\text{Loewe}})$$

相对于所有溶媒处理的对照孔的中值计算各种组分试剂和矩阵中的组合点的部分抑制。协同作用评分方程整合了在矩阵中各点实验观察到的活性体积,其超过使用Loewe加和性模型数值上由组分试剂的活性推导的模型面。协同作用评分方程(以上)的其它项用于使用于各试剂的各种稀释因子标准化且允许在整个实验中比较协同作用评分。包括正抑制门控(gating)或I_{数据}乘法器除去0作用水平附近的噪声,和在高活性水平下出现的协同的相互作用的偏倚结果。

[0081] 使用等效效应图评估效能移位(potency shifting),其展示当与获得该作用所需要的单一试剂剂量比较时,在组合中需要少多少的药物以获得期望的作用水平。通过确定对应于与指定的抑制水平交叉的浓度的轨迹绘制等效效应图。这通过找到剂量矩阵中的各个单一试剂浓度横过其它单一试剂的浓度的交叉点进行。实际上,各个垂直浓度CY保持固定,同时对分算法用于确定水平浓度CX与垂直剂量的组合,这给出响应面Z(CX, CY)中所选择的作用水平。这些浓度随后通过线性插入连接以产生等效效应图显示。对于协同的相互作用,等效效应图轮廓低于加和性阈值并接近原点,而拮抗相互作用将位于高于加和性阈值。误差条表示由用于产生等效效应图的单个数据点产生的不确定性。对于各个交叉点的不确定性使用对分由响应误差评估以发现其中Z - σZ(CX, CY)和Z + σZ(CX, CY)交叉I_{截留值}的浓度,其中σZ为对作用大小(effect scale)的残留误差的标准偏差。

[0082] Loewe体积评分分析

Loewe体积用于评估组合相互作用超过Loewe加和性模型的总量值。当在表型活性(正的Loewe体积)相对于协同的拮抗作用(负的Loewe体积)中区分协同作用提高时,Loewe体积

特别有用。当观察到拮抗作用时,应当评估Loewe体积以检查拮抗作用和具体药物靶-活性或细胞基因型之间是否存在任何相关性。该模型将加和性限定为非协同的组合相互作用,其中组合剂量矩阵面应当不能与自交叉的任一种药物区分。

[0083] 用于加和性的计算为:

满足 $(X/X_I) + (Y/Y_I) = 1$ 的 I_{Loewe}

其中 X_I 和 Y_I 为用于观察到的组合作用 I 的单一试剂有效浓度。例如,如果通过1 μ M 药物A或1 μ M药物B分开地达到50%抑制,则0.5 μ M A和0.5 μ M B的组合应当亦抑制了50%。

[0084] 超过Loewe加和性观察到的活性确定潜在的协同相互作用。对于本分析,经验推导的组合矩阵与由实验收集的单一试剂剂量响应曲线构建的其相应的Loewe加和性模型比较。在从剂量响应矩阵减去加和性模型之后观察到的任何活性指示协同作用(图10)。负的Loewe体积指示拮抗作用。在剂量响应矩阵中该超过加和性的总和称为Loewe体积。

[0085] 结果

单一试剂剂量响应分析

艾日布林在25个细胞系小组中具有变化的活性。单一试剂活性使用3倍、10点剂量滴定评估。在1536孔板形式中评估23个细胞系。在384孔板形式中评估两个另外的细胞系。对于其中GI₅₀达到大于50%的抑制水平的细胞系,中值GI₅₀为0.51nM (图11)。

[0086] 组合筛选设计

在6x6剂量矩阵(图12)中收集组合分析数据。在1536孔板形式中筛选20个细胞系,而在384孔板形式中筛选5个细胞系。35种增强剂化合物,包括BKM-120,在25个细胞系小组中与被增强剂分子艾日布林组合。另外,在各个细胞系的自交叉分析中组合12种化合物。被增强剂(enhancee)的起始浓度集中在艾日布林的EC90。

[0087] 基于自交叉的组合筛选分析

为了客观地确立组合筛选分析的命中标准,选择12种化合物以在25个细胞系小组中自交叉,作为以经验确定基线加和、非协同响应的方式。12种自交叉化合物的身份通过选择具有多种最大响应值和单一试剂剂量响应陡度的化合物确定。产生统计上代替那些基线加和性值的作用水平的那些药物组合认为是协同的。

[0088] 协同作用评分测量用于自交叉分析。根据定义预期自交叉的协同作用评分为加和,因此,保持0的协同作用评分。然而,虽然一些自交叉协同作用评分接近0,但许多更大,表明单一试剂剂量响应的实验噪声或非最佳曲线拟合促成评分中的稍微扰动。25个细胞系小组的自交叉数据的重叠展示1.55的综合平均协同作用评分。在该细胞系小组中的综合中值产生1.15的自交叉协同作用评分,表明受逸出值的最小影响。考虑到对艾日布林组合活性的细胞系灵敏度中的潜在区别,我们选择使用细胞系中心策略,用于基于自交叉的组合筛选分析,相对于细胞系小组活性的总体考查关注于单个细胞系中的自交叉行为。可以认为其中协同作用评分大于平均自交叉加上两个标准偏差(2σ)或三个标准偏差(3σ)的组合为分别在95%和99%置信水平的候选协同。

[0089] 确定在 2σ 和 3σ 下超过细胞系特定的平均自交叉阈值的协同作用评分。在高于平均值的 2σ 和 3σ 下还基于每个细胞系计算Loewe截留体积。基于统计自交叉截留值,对于在整个细胞系小组中显示可能的协同作用的药物组合,过滤数据。基于每个细胞系分析组合数据,在高于平均值的 2σ 和 3σ 下将Loewe体积和协同作用评分与相应的自交叉截留值比较。认为

大于或等于自交叉截留值的任何Loewe体积或协同作用评分为命中(hit)。

[0090] 依维莫司

磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)信号传导途径为细胞增殖的主要驱动物和许多人类癌症的标志。PI3K途径的调节异常可以凭借组成性激活而转化,最后,刺激细胞增殖和抑制促凋亡信号传导。依维莫司为具有1.6-2.4nM的IC₅₀的变构性mTOR(TORC1)抑制剂。如使用协同作用评分热图显示(图13),在用于依维莫司的细胞系小组中,观察到组合活性的良好幅度。图14提供依维莫司的协同作用评分值和Loewe体积评分。

[0091] 其它实施方案

虽然本发明已结合其特定实施方案进行了描述,但应该理解其能够进一步进行修饰,并且本申请意欲涵盖大体上按照本发明的原理并包括本公开内容的此类偏离的本发明的任何变化、用途或修改,这些变化、用途或修改在本发明所属领域内已知的或习惯的实践范围内并可应用于先前阐述的必要特征。

[0092] 本说明书中提及的所有的出版物和专利申请通过引用结合到本文中,如同各个独立的出版物或专利申请特别地和单独地指明通过引用以其全文结合到本文中的程度一样。

[0093] 本文单数形式例如“一个/种”和“该”的使用不排除相应的复数形式的指代,除非上下文中有相反的指示。类似地,复数名词的使用不排除相应的单数形式的指代。

[0094] 还在以下编号段落中描述本发明。

[0095] 1. 用于治疗患有癌症或处于发生癌症风险中的受试者的方法,所述方法包括给予受试者(i) 艾日布林或其药学上可接受的盐,和(ii) 雷帕霉素的哺乳动物靶(mTOR)抑制剂或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体。

[0096] 2. 段落1的方法,其中所述受试者为人类患者。

[0097] 3. 段落1或2的方法,其中所述受试者诊断患有癌症,在癌症治疗中,或在癌症治疗后的恢复中。

[0098] 4. 段落1-3中任一段的方法,其中所述癌症为原发性肿瘤。

[0099] 5. 段落1-3中任一段的方法,其中所述癌症为转移。

[0100] 6. 段落1-5中任一段的方法,其中所述癌症为实体瘤。

[0101] 7. 段落1-6中任一段的方法,其中所述癌症选自乳腺癌、肺癌、胰腺癌、原始神经外胚层肿瘤、肺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、咽癌、食道癌和肉瘤。

[0102] 8. 段落7的方法,其中所述癌症选自乳腺癌和肺癌。

[0103] 9. 段落1-8中任一段的方法,其中所述艾日布林的药学上可接受的盐为甲磺酸艾日布林。

[0104] 10. 段落1-9中任一段的方法,其中所述艾日布林或所述其药学上可接受的盐通过静脉输注给予。

[0105] 11. 段落10的方法,其中所述静脉输注为约1-约20分钟。

[0106] 12. 段落11的方法,其中所述静脉输注为约2-约5分钟。

[0107] 13. 段落1-12中任一段的方法,其中所述艾日布林或所述其药学上可接受的盐以约0.1mg/m²-约20mg/m²范围的量给予。

[0108] 14. 段落13的方法,其中所述艾日布林或所述其药学上可接受的盐以约1.1mg/m²或1.4mg/m²的量给予。

[0109] 15. 段落1-14中任一段的方法,其中所述艾日布林或所述其药学上可接受的盐在21天周期的第1和8天各给予一次,或28天周期的第1和15天各给予一次。

[0110] 16. 段落1-15中任一段的方法,其中所述mTOR抑制剂选自依维莫司、地磷莫司和坦西莫司,及其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体。

[0111] 17. 段落1-16中任一段的方法,其中所述mTOR抑制剂为依维莫司或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体。

[0112] 18. 段落17的方法,其中所述依维莫司或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体经口服给予。

[0113] 19. 段落18的方法,其中所述依维莫司或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体以约0.1mg-约30mg范围的量给予。

[0114] 20. 段落19的方法,其中所述依维莫司或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体以约10mg的量给予。

[0115] 21. 段落1-20中任一段的方法,其中所述mTOR抑制剂或所述其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体在21天周期或28天周期期间每日给予一次。

[0116] 22. 段落1-21中任一段的方法,其中所述艾日布林或所述其药学上可接受的盐和所述mTOR抑制剂或所述其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体基本上同时或序贯给予。

[0117] 23. 段落22的方法,其中所述艾日布林或所述其药学上可接受的盐在所述mTOR抑制剂或所述其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体之前给予。

[0118] 24. 段落1-23中任一段的方法,其中所述艾日布林或所述其药学上可接受的盐和所述mTOR抑制剂或所述其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体作为唯一抗癌剂给予。

[0119] 25. 段落24的方法,其中所述艾日布林的药学上可接受的盐为甲磺酸艾日布林和/或所述mTOR抑制剂为依维莫司。

[0120] 26. 段落1-25中任一段的方法,其中所述治疗:(i) 减少癌细胞的数目;(ii) 减小肿瘤体积;(iii) 增加肿瘤消退速率;(iv) 减少或减慢癌细胞浸润到周围器官;(v) 减少或减慢肿瘤转移;(vi) 减少或抑制肿瘤生长;(vii) 预防或延迟癌症的发生和/或复发,和/或延长无疾病或肿瘤的生存时间;(viii) 增加总生存时间;(ix) 减少治疗的频率;和/或(x) 减轻与癌症有关的一种或多种症状。

[0121] 27. 一种用于减小受试者中的肿瘤大小的方法,所述方法包括给予所述受试者(i) 艾日布林或其药学上可接受的盐,和(ii) mTOR抑制剂或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体。

[0122] 28. 段落27的方法,其中所述mTOR抑制剂为依维莫司或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体。

[0123] 29. 一种用于治疗癌症或减小肿瘤大小的试剂盒,所述试剂盒包括(i) 艾日布林或其药学上可接受的盐,和(ii) mTOR抑制剂或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体。

[0124] 30. 段落29的试剂盒,其中所述mTOR抑制剂为依维莫司或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体。

[0125] 31. 段落29或30的试剂盒,其中所述(i) 艾日布林或所述其药学上可接受的盐,和所述(ii) mTOR抑制剂或所述其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或无定形固体呈剂量形式。

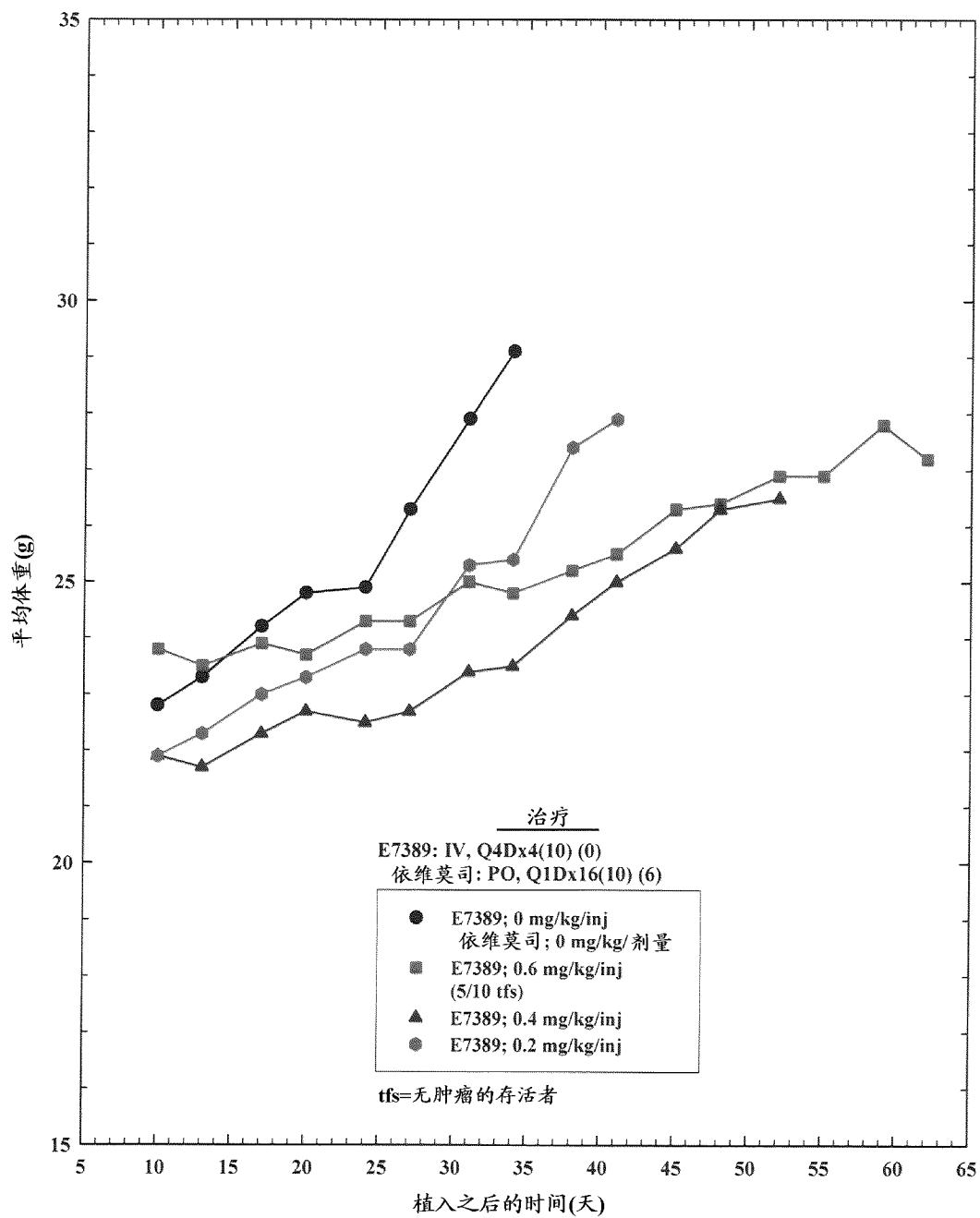


图 1

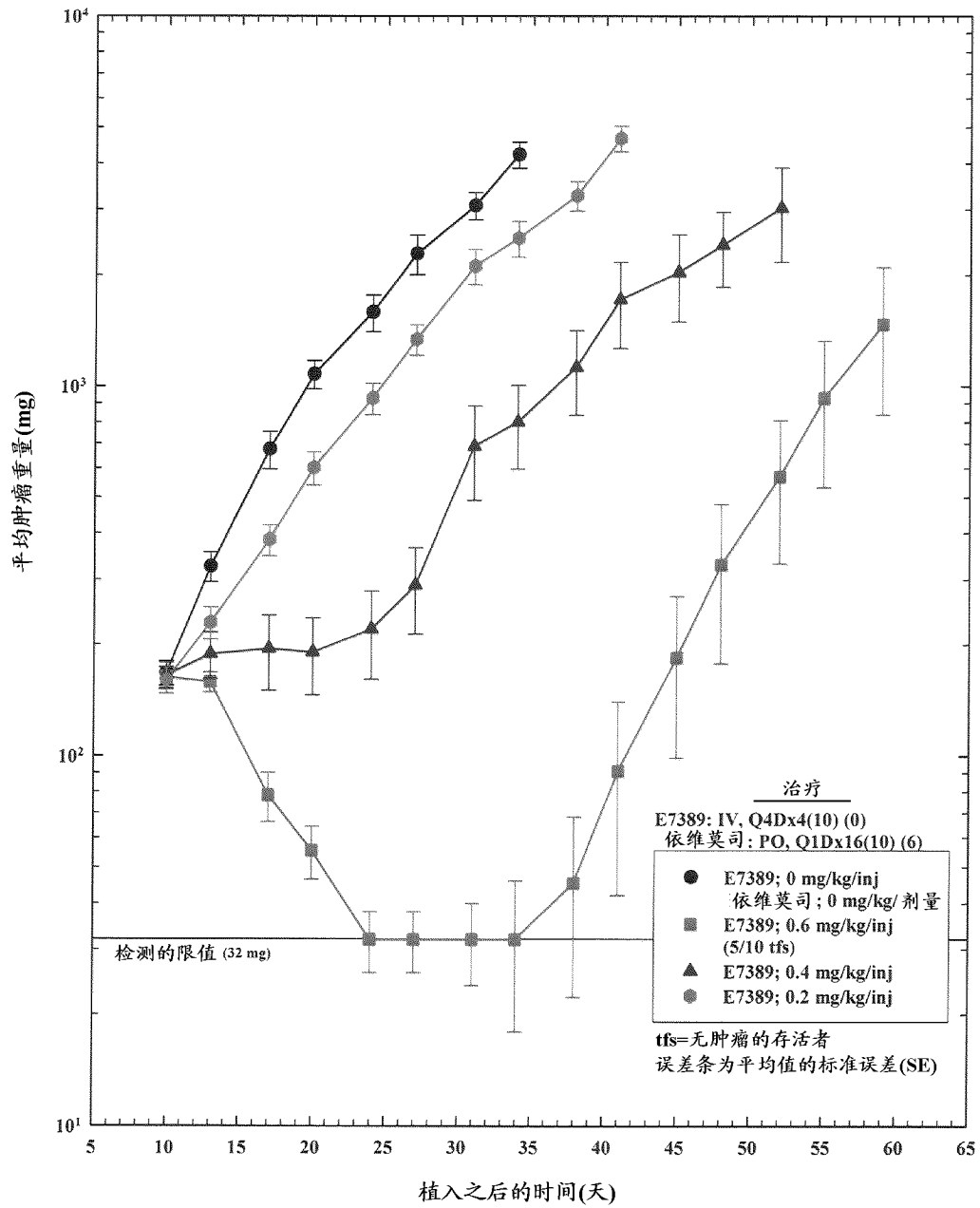


图 2

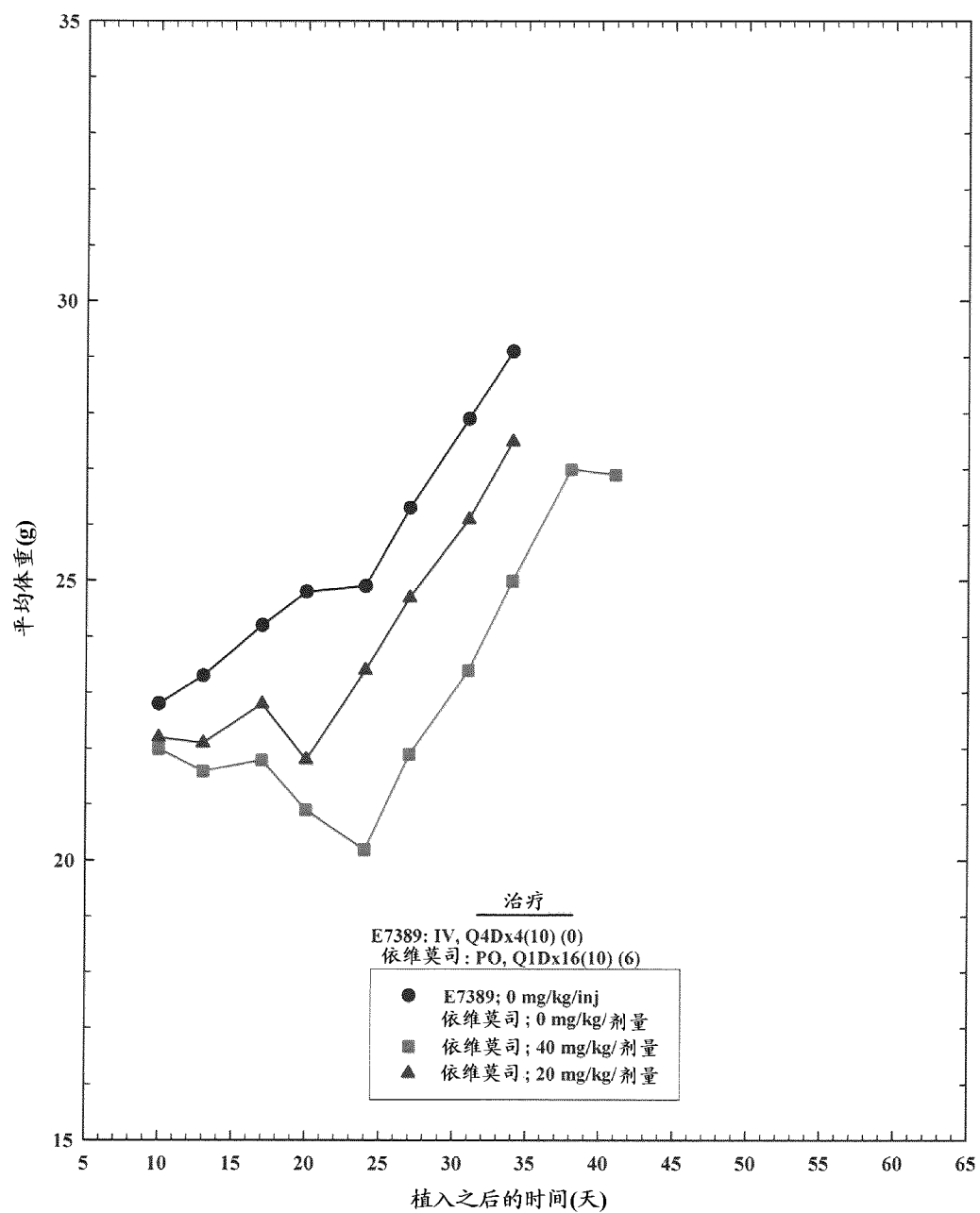


图 3

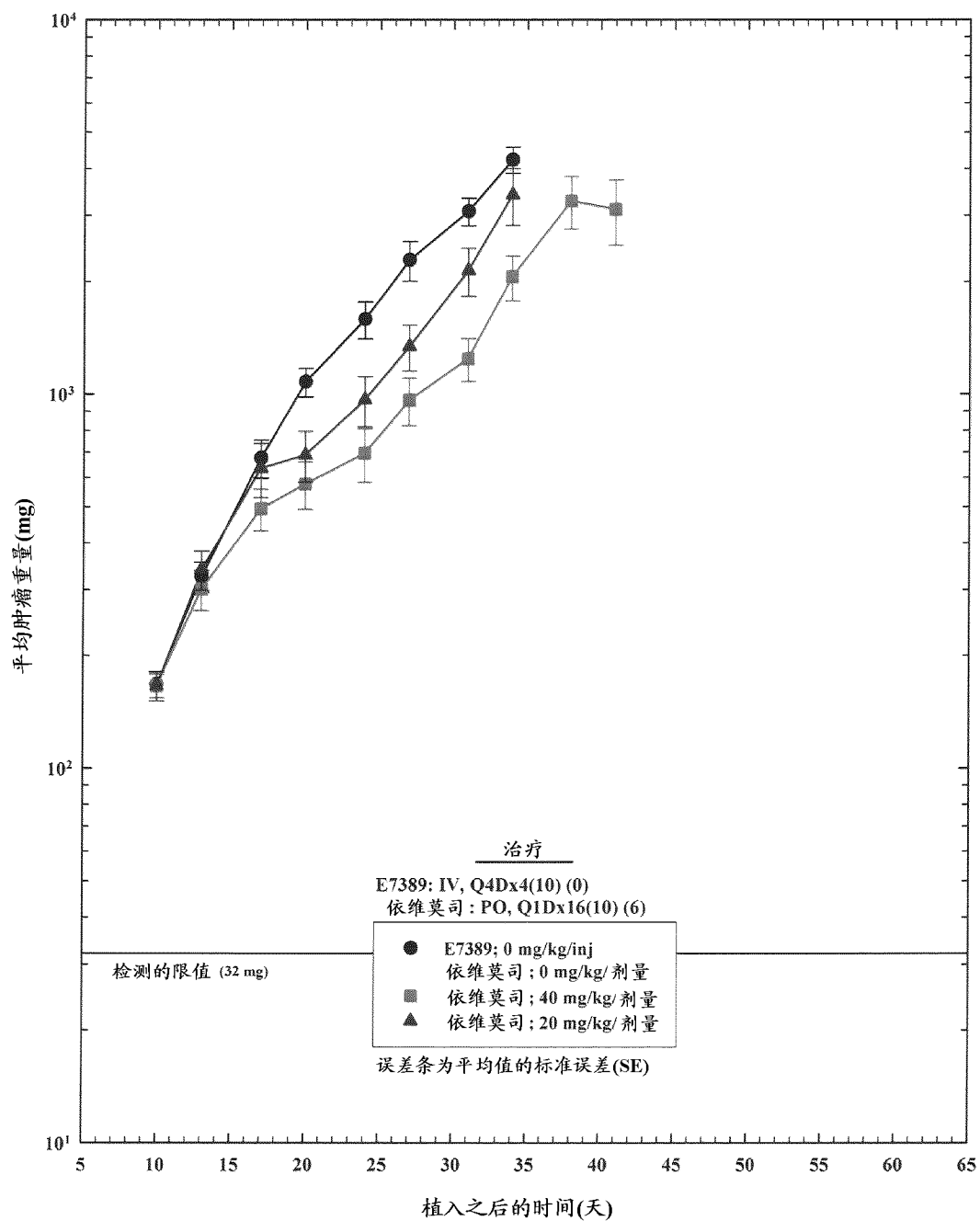


图 4

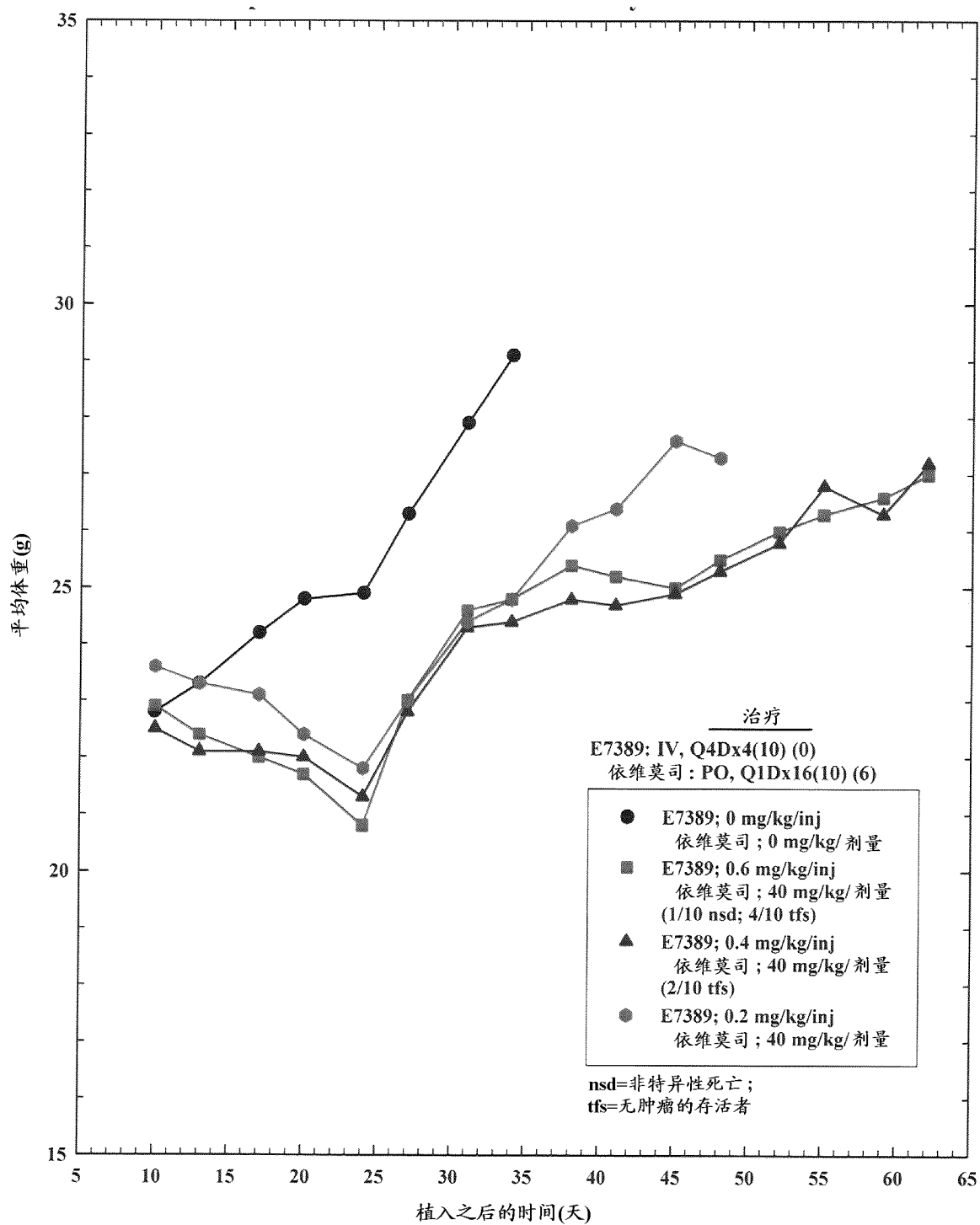


图 5

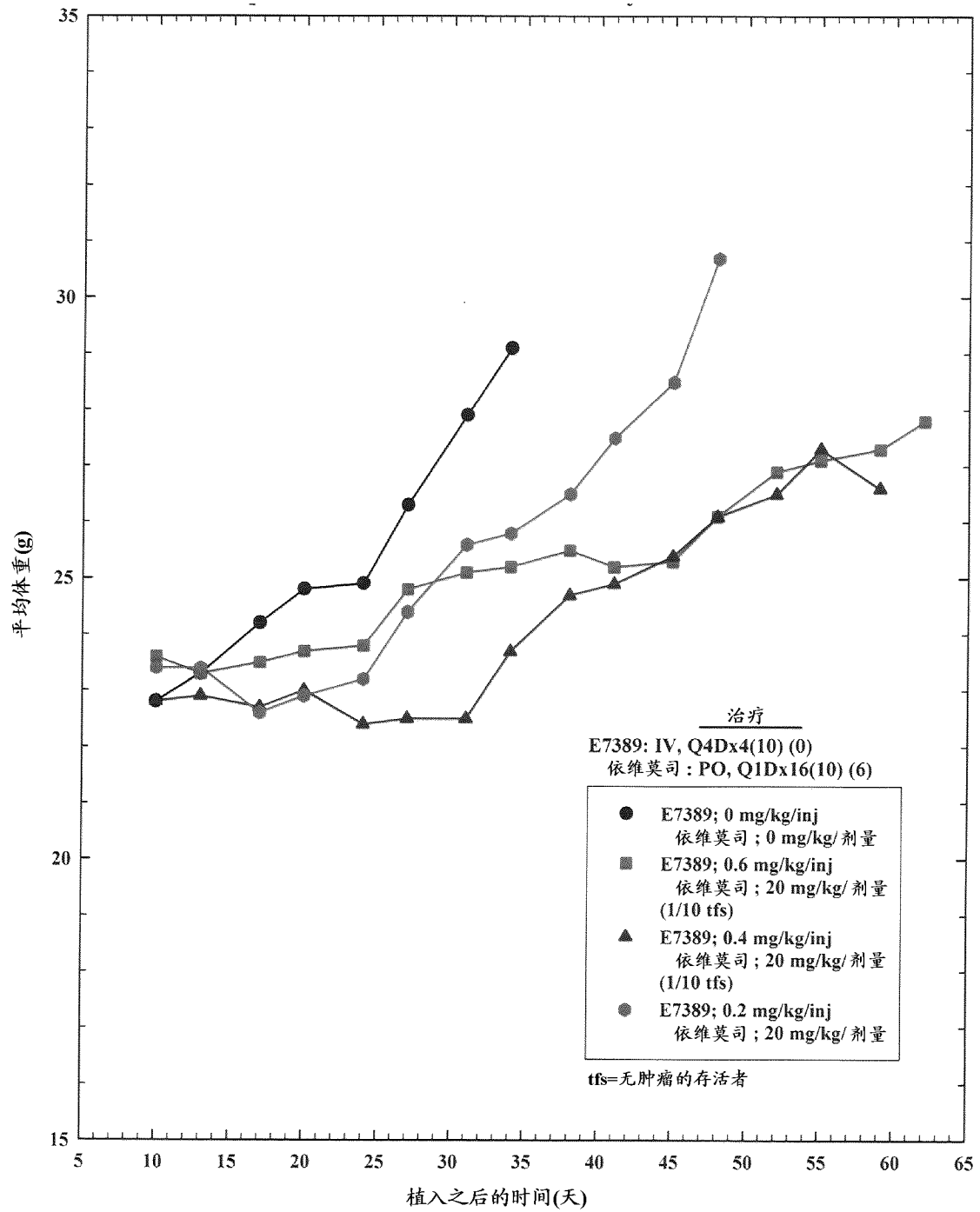


图 6

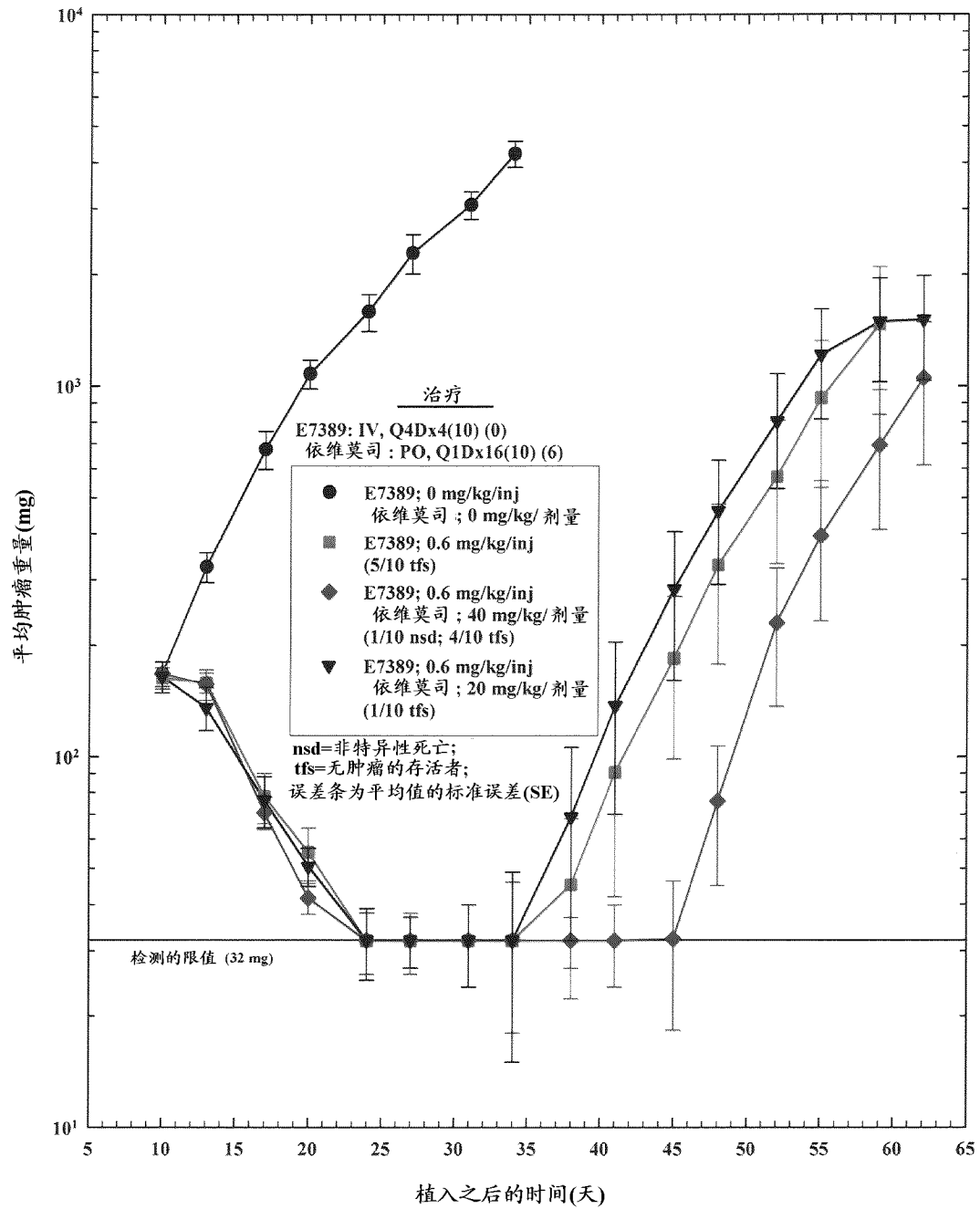


图 7

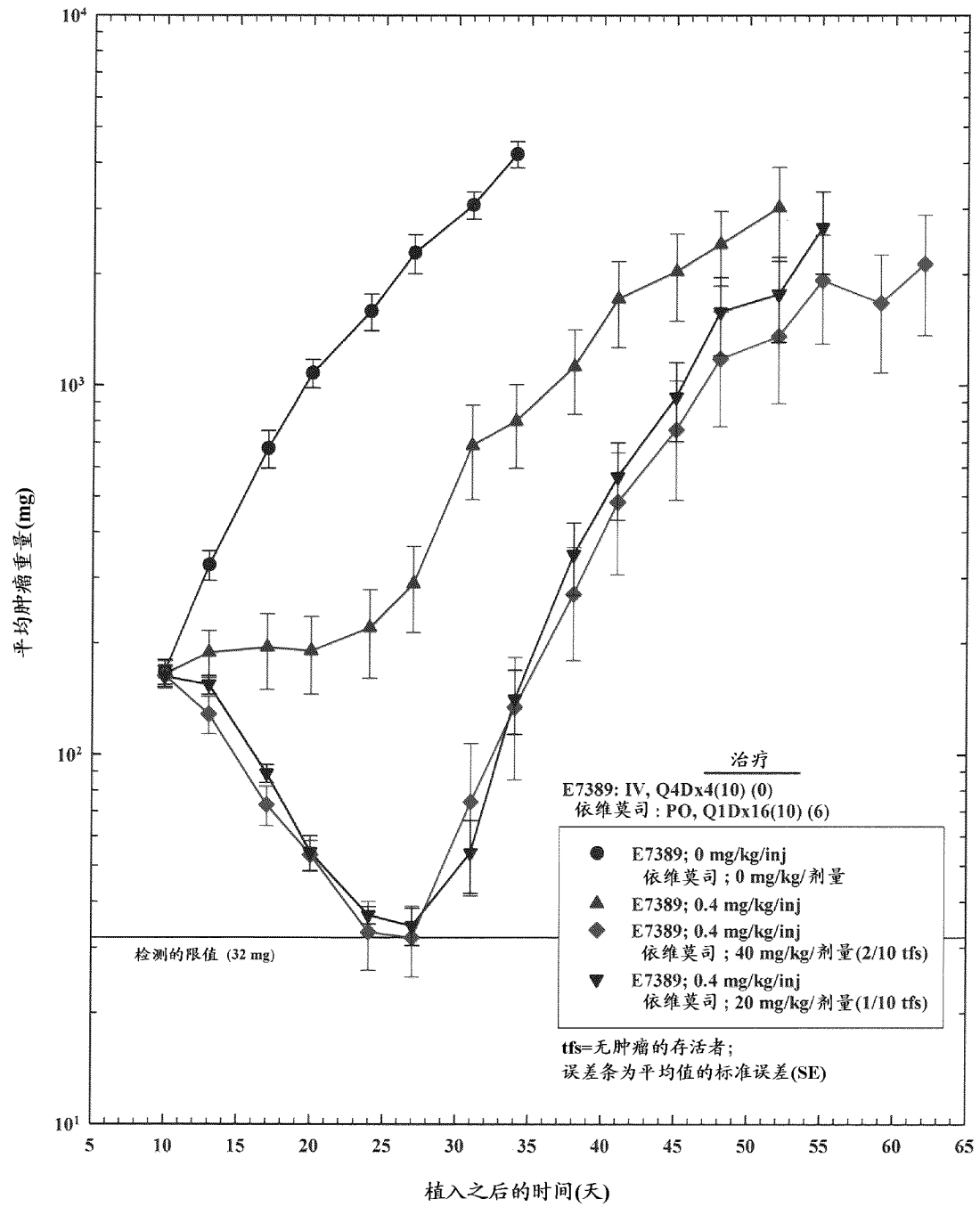


图 8

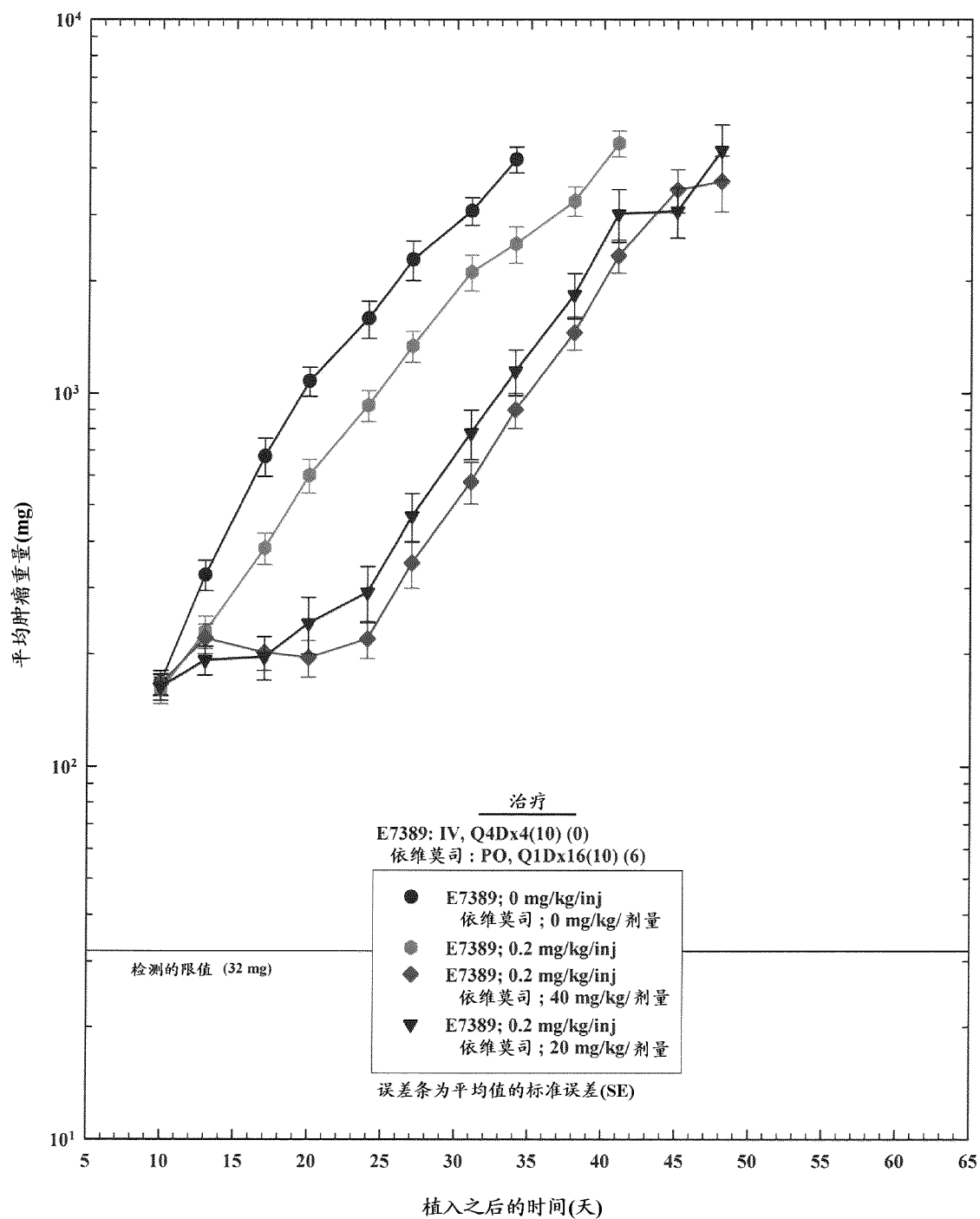


图 9

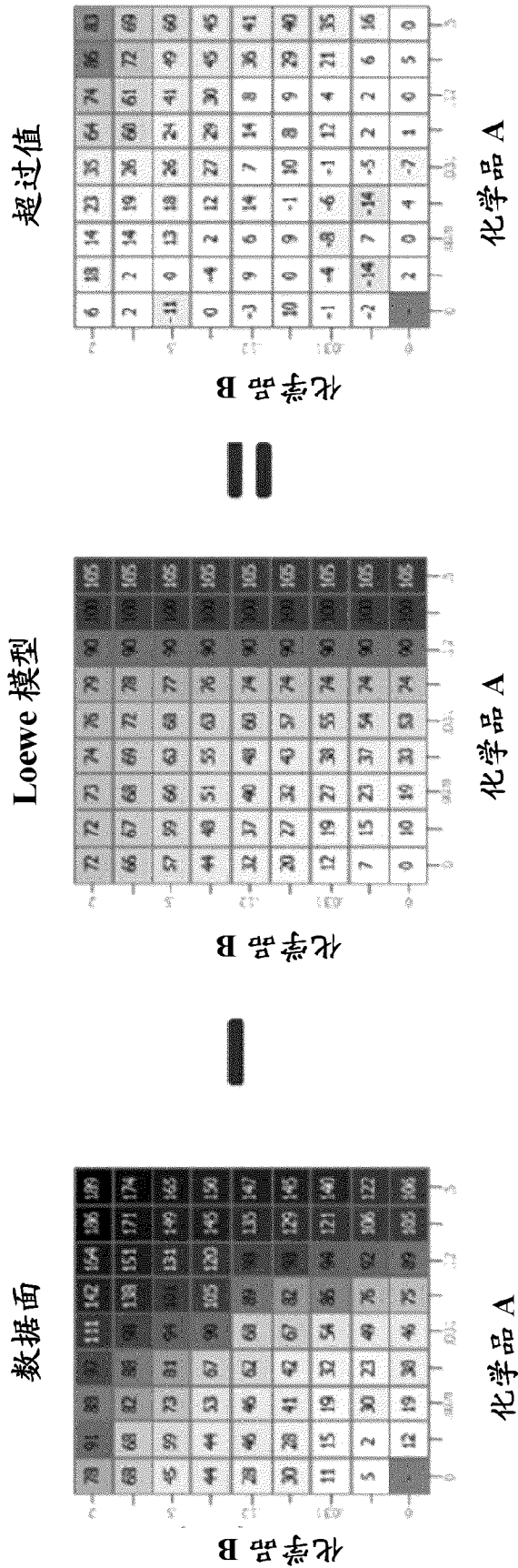


图 10

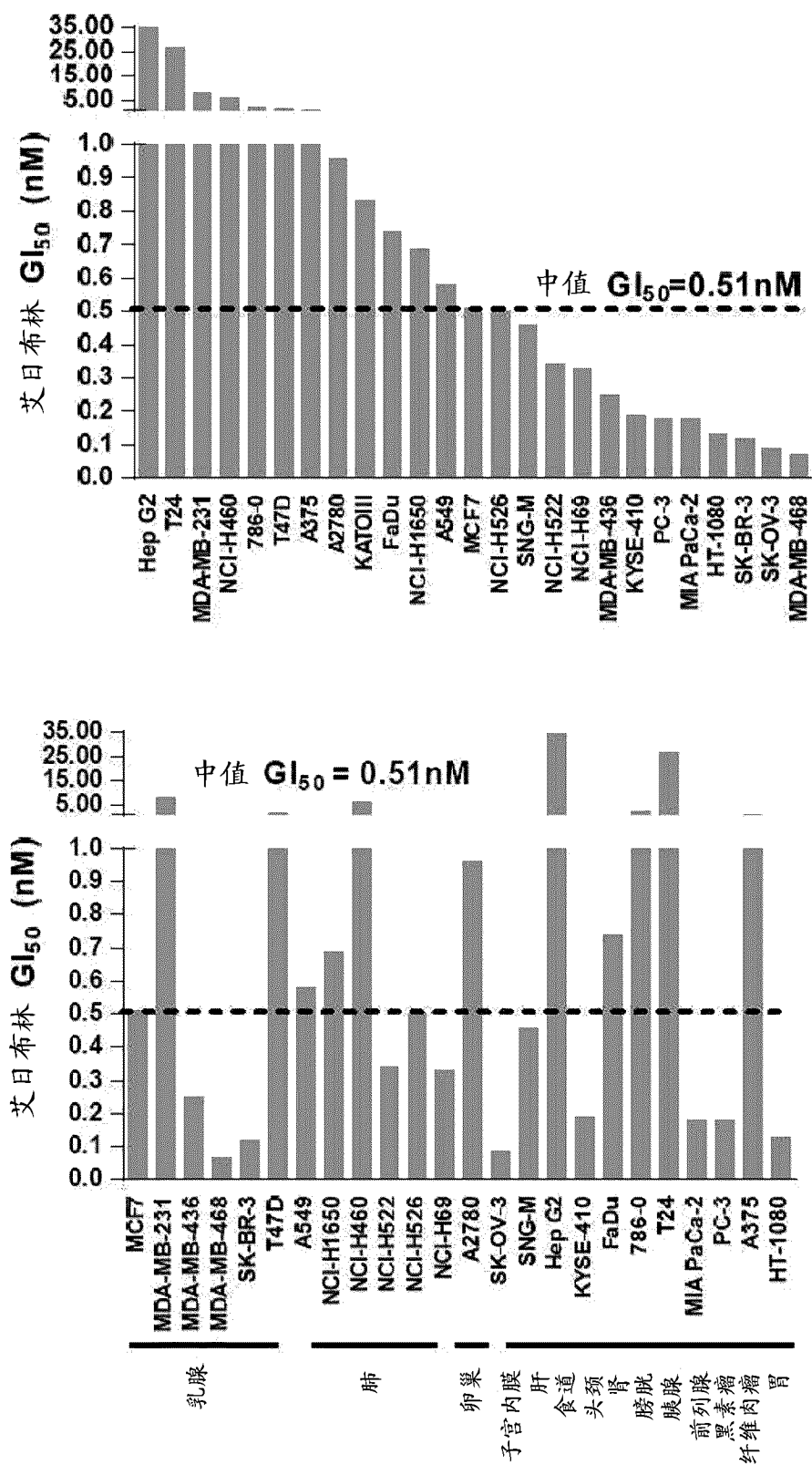


图 11

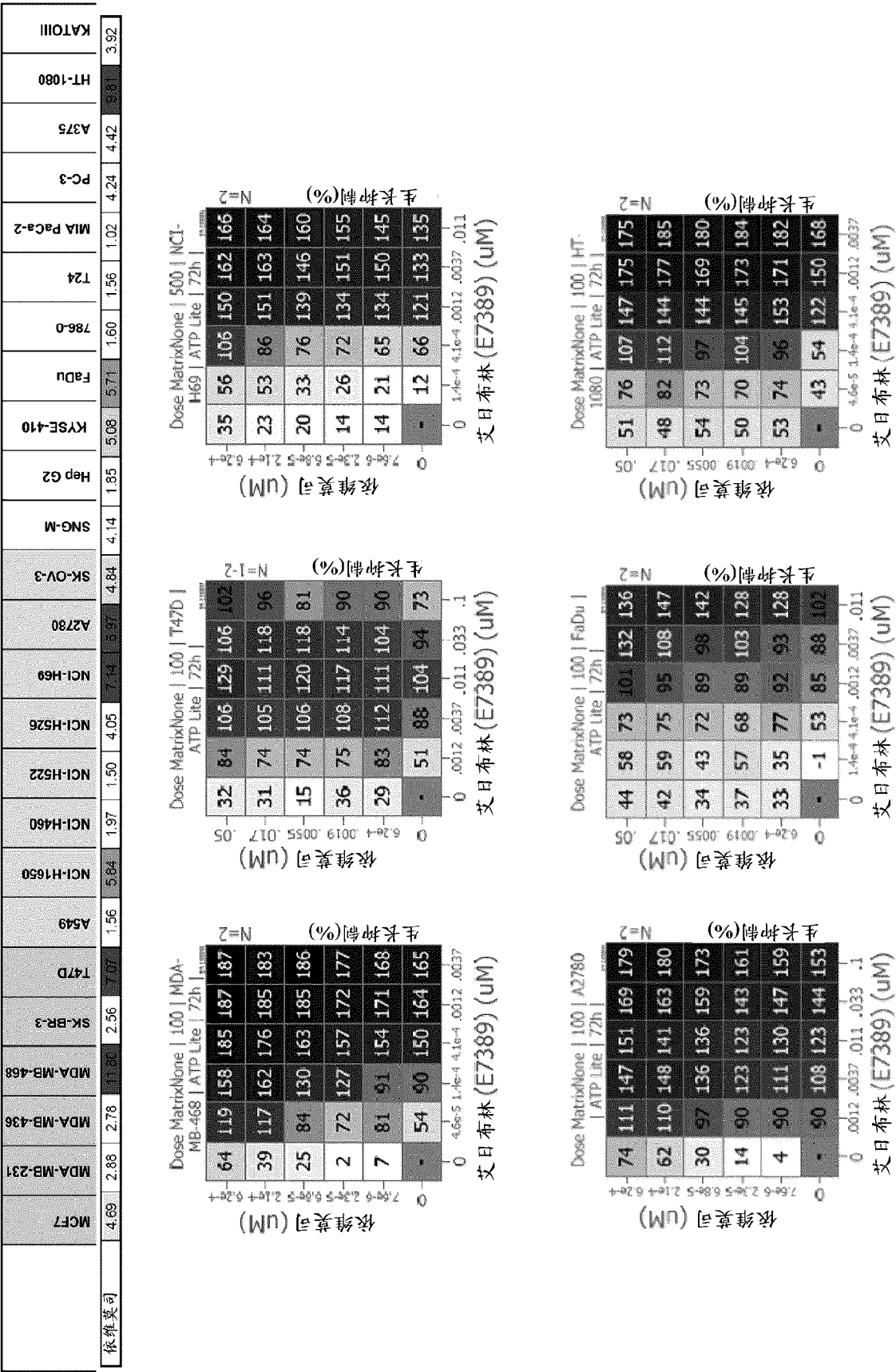


图 13

协同作用评分值

依维莫司		4.69	2.88	2.78	11.80	2.56	7.07	1.56	5.84	1.97	1.50	4.05	7.14	6.97	4.84	4.14	1.85	5.08	5.71	1.60	1.56	1.02	4.24	4.42	9.81	3.92	KATOIII	
	MCF7																											

Loewe 体积评分

依维莫司		2.71	MCF7	2.93	MDA-MB-231	2.46	MDA-MB-436	6.48	MDA-MB-468	SK-BR-3	5.59	147D	A549	NCH-1650	NCH-460	NCH-522	NCH-526	NCH-469	A2780	SK-OV-3	SNG-M	Hep G2	KYSE-410	Fadu	786-0	T24	MIA PaCa-2	PC-3	A375	HT-1080	KATOIII

图 14