



## (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107982270 A

(43)申请公布日 2018.05.04

(21)申请号 201711383372.7

(51)Int.Cl.

(22)申请日 2012.08.31

A61K 31/566(2006.01)

(30)优先权数据

A61K 45/06(2006.01)

61/530,873 2011.09.02 US

A61K 31/4406(2006.01)

61/532,534 2011.09.08 US

A61P 35/00(2006.01)

61/628,999 2011.11.12 US

A61P 15/14(2006.01)

61/568,110 2011.12.07 US

(62)分案原申请数据

201280053368.3 2012.08.31

(71)申请人 辛达克斯制药股份有限公司

地址 美国马萨诸塞州

(72)发明人 R.古德诺 P.奥登特里科

(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 曹立莉 何伟

权利要求书2页 说明书26页 附图33页

(54)发明名称

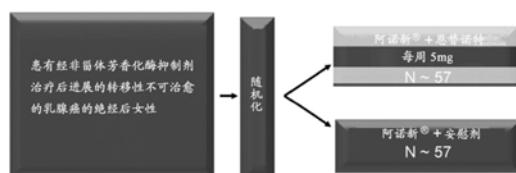
治疗乳腺癌的方法

(57)摘要

本文描述了治疗受试者乳腺癌的方法。具体地，提供了使用恩替诺特和芳香化酶抑制剂组合治疗耐药性、转移性乳腺癌的方法。

II 期研究

假说：恩替诺特抑制对激素疗法耐药的机理和使肿瘤对芳香化酶抑制剂敏感



1. 恩替诺特-依西美坦组合,其用于以下方法中:

(a) 治疗患者乳腺癌,其中所述方法包括如果在恩替诺特-依西美坦组合疗法约15天后测定的蛋白质赖氨酸乙酰化水平大于恩替诺特-依西美坦组合疗法前的蛋白质赖氨酸乙酰化水平,则继续用恩替诺特-依西美坦组合疗法治疗;

(b) 治疗患者乳腺癌,其中所述方法包括(i)给予恩替诺特-依西美坦组合疗法,和(ii)在所述疗法的疗程中测定与治疗前蛋白质赖氨酸乙酰化的水平比较蛋白质赖氨酸乙酰化水平的变化,其中该蛋白质赖氨酸乙酰化水平在开始治疗约15天后得到的组织样品中测定;

(c) 治疗患者乳腺癌,其中所述方法包括(i)在给予恩替诺特-依西美坦组合疗法前测定蛋白质赖氨酸乙酰化的水平,(ii)给予恩替诺特-依西美坦组合疗法,和(iii)在所述疗法的疗程中测定蛋白质赖氨酸乙酰化水平,其中该蛋白质赖氨酸乙酰化水平在开始治疗约15天后得到的组织样品中测定;或

(d) 治疗乳腺癌,该乳腺癌对之前的芳香化酶抑制剂疗法显示耐药性,所述方法包括给予患者包含恩替诺特与依西美坦的组合,其中所述患者在之前的芳香化酶抑制剂治疗过程中未显示完全应答、部分应答或大于6个月的病情稳定,并且所述方法进一步包括在给予所述组合约15天后得到的组织样品中测定蛋白质赖氨酸乙酰化水平。

2. 用于权利要求1(b)的恩替诺特-依西美坦组合,其中所述方法还包括如果蛋白质赖氨酸乙酰化水平的变化是蛋白质赖氨酸乙酰化水平增加,则选择该患者以进一步进行恩替诺特-依西美坦组合疗法的步骤。

3. 用于权利要求1(c)的恩替诺特-依西美坦组合,其中所述方法还包括以下步骤(iv)将开始治疗后约15天得到的组织样品中蛋白质赖氨酸乙酰化水平与开始治疗前测定的蛋白质赖氨酸乙酰化水平比较,和(v)如果开始治疗后蛋白质赖氨酸乙酰化水平增加,则选择该患者以进一步进行恩替诺特-依西美坦组合疗法。

4. 用于权利要求1(a)至1(c)任一项的恩替诺特-依西美坦组合,其中所述方法还包括将开始治疗约15天后得到的组织样品中蛋白质赖氨酸乙酰化水平与开始治疗前测定的蛋白质赖氨酸乙酰化水平的变化百分比比较,和如果开始治疗后蛋白质赖氨酸乙酰化水平降低百分比不为约5%至约50%,则选择该患者以进一步进行恩替诺特-依西美坦组合疗法。

5. 用于权利要求1(a)至1(c)任一项的恩替诺特-依西美坦组合,其中:

(a) 所述蛋白质赖氨酸乙酰化水平从选自B细胞、T细胞或单核细胞的组织样品获得;

(b) 每日给予所述依西美坦;

(c) 一个28天周期每7天给予恩替诺特;

(d) 所述恩替诺特-依西美坦组合疗法包括一个28天周期每7天口服给予恩替诺特,和每天口服给予依西美坦;

(e) 其中在疗程中进行多于一次测定蛋白质赖氨酸乙酰化水平的步骤;

(f) 其中在疗程中进行一次测定蛋白质赖氨酸乙酰化水平的步骤。

6. 用于所述用途的权利要求2或权利要求3的恩替诺特-依西美坦组合,其中:

(A) 在开始治疗后多于一次确定所获得的组织样品中的蛋白质赖氨酸乙酰化水平;

(B) 所述增加为约10%至约500%;

(C) 所述增加为约10%至约400%;

- (D) 所述增加为约10%至约300%；
- (E) 所述增加为约10%至约200%；
- (F) 所述增加为约10%至约100%；
- (G) 所述增加为约10%、约20%、约30%、约40%、约50%或约60%；或者，
- (H) 其中所述组织样品选自B细胞、T细胞或单核细胞。

7. 用于权利要求1(d)的恩替诺特-依西美坦组合，其中：

- (I) 其中所述患者在之前作为辅助疗法给予的非甾体芳香化酶抑制剂治疗过程中或结束的6个月内复发；
- (II) 其中所述患者在之前非甾体芳香化酶抑制剂治疗至少3个月后显示疾病进展；
- (III) 其中所述乳腺癌为ER阳性的；
- (IV) 其中以任意顺序依次给予或同时给予恩替诺特和依西美坦；
- (V) 其中同时给予恩替诺特和依西美坦；
- (VI) 其中首先给予依西美坦；
- (VII) 其中每日给予依西美坦并周期性给予恩替诺特；
- (VIII) 每周给予恩替诺特并且每日给予依西美坦；或
- (IX) 其中恩替诺特被引入正在进行的依西美坦疗程中。

8. 用于权利要求1的用途的试剂盒，其包含恩替诺特、依西美坦以及给予该剂型的说明书的组合。

9. 权利要求8的试剂盒，其中所述试剂盒包含：

- (a) 每7个依西美坦剂型包括1个恩替诺特剂型；
- (b) 每14个依西美坦剂型包括1个恩替诺特剂型；
- (c) 4个恩替诺特剂型和28个依西美坦剂型；或
- (d) 4个恩替诺特剂型和56个依西美坦剂型。

10. 权利要求1的用于所述用途的恩替诺特-依西美坦组合，其中所述方法进一步包含给予一种或多种选自放疗、化疗、高剂量化疗伴随干细胞移植和单克隆抗体疗法的疗法。

11. 权利要求10的用于所述用途的恩替诺特-依西美坦组合，其中所述放疗包括内部和/或外部放疗。

12. 权利要求10的用于所述用途的恩替诺特-依西美坦组合，其中所述化疗包括向受试者给予多柔比星、环磷酰胺、紫杉醇、拉帕替尼、卡培他滨、曲妥单抗、贝伐单抗、吉西他滨、艾瑞布林或白蛋白结合型紫杉醇的一种或多种。

## 治疗乳腺癌的方法

[0001] 本申请是中国发明专利申请(申请日:2012年8月31日;申请号:201280053368.3(国际申请号:PCT/US2012/053551);发明名称:治疗乳腺癌的方法)的分案申请。

[0002] 交叉参考

[0003] 本申请要求于2011年12月7日提交的美国临时申请61/568,110、于2011年11月12日提交的美国临时申请61/628,999、于2011年9月8日提交的美国临时申请61/532,534和于2011年9月2日提交的美国临时申请61/530,873的优先权,其各自在此全部引入作为参考。

### 发明领域

[0004] 本发明涉及基于给予HDAC抑制剂和芳香化酶抑制剂治疗乳腺癌的方法。

[0005] 发明背景

[0006] 癌症、肿瘤、肿瘤相关的病症以及新生物疾病状态是严重的并通常威胁生命的病症。这些疾病和病症(其特征在于快速增殖的细胞生长)是鉴定对其治疗有效的治疗剂的研究工作的对象。这类药剂可延长患者的生存期、抑制与新生物相关的快速增殖的细胞生长或实现新生物的消退。

[0007] 一般说来,手术和放疗是治疗局部限制性癌症所考虑的首要方式,并可提供最佳的预后。一些癌症的化疗通常导致令人失望的生存率但仍可提供生存益处。例如,在乳腺癌患者中,使用芳香化酶抑制剂化疗方案,如使用来曲唑、阿那曲唑或依西美坦。如果患者不能应答芳香化酶抑制剂治疗,其它常规治疗提供有限的益处。

[0008] 尽管若干芳香化酶抑制剂被批准用于治疗早期和晚期乳腺癌,但如同大多数治疗剂,它们的使用会引起副作用。例如,常见的副作用包括热潮红、血管扩张和恶心。令人担心的是,越来越多的观点认为尽管使用芳香化酶抑制剂治疗肿瘤可最初缩小肿瘤的大小,但是肿瘤的大小最终可能变大,这尤其意味着耐药性的形成。来曲唑,一种广泛使用的芳香化酶抑制剂,可代表用于癌症治疗的治疗剂的类型;它的使用对癌症有影响,但由于其它不完全知道的因素,肿瘤发展成耐药性并进展。

[0009] HDAC抑制剂为一类新兴的通过染色质重塑和基因表达调节促进血液和实体恶性肿瘤分化和凋亡的治疗剂。已确证了若干种HDAC抑制剂,包括苯甲酰胺类(恩替诺特(entinostat))、短链脂肪酸类(即苯丁酸钠);异羟肟酸类(即辛二酰苯胺异羟肟酸(suberoylanilide hydroxamic acid)和曲古抑菌素A(thrichostatin A));含2-氨基-8-氧代-9,10-环氧-癸酰基部分的环肽(即trapoxin A)和无2-氨基-8-氧代-9,10-环氧-癸酰基部分的环四肽(即FK228)。恩替诺特(Syndax Pharmaceuticals, Inc.)是一种苯甲酰胺HDAC抑制剂,其正在多种类型的实体瘤和血液癌症中进行临床研究。恩替诺特可被快速吸收并具有约100小时的半衰期;在给予恩替诺特后,组蛋白乙酰化的变化可持续数周。

[0010] 因此,需要利用治疗组合的协同作用治疗癌症的组合物和/或方法,其中所述治疗组合可增加药物的有效性并减少和/或消除通常与常规治疗相关的副作用。

### 发明内容

[0011] 一项实施方案提供了治疗患者乳腺癌的方法,其包括(i)在给予恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法前测量蛋白质赖氨酸乙酰化水平,(ii)给予恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法,(iii)在给予恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法后测量蛋白质赖氨酸乙酰化水平,(iv)将给予恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法后的蛋白质赖氨酸乙酰化水平与给予恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法前的蛋白质赖氨酸乙酰化水平进行比较,和(v)如果给予恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法后蛋白质赖氨酸乙酰化水平大于给予恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法前蛋白质赖氨酸乙酰化水平,则继续使用恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法治疗。

[0012] 一项实施方案提供治疗患者乳腺癌的方法,其包括(i)给予恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法,和(ii)在所述疗法的疗程中测定与治疗前蛋白质赖氨酸乙酰化的水平比较蛋白质赖氨酸乙酰化水平的变化。

[0013] 一项实施方案提供治疗患者乳腺癌的方法,其包括(i)在给药前测定蛋白质赖氨酸乙酰化水平,(ii)给予恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法,和(iii)在治疗的疗程中测定蛋白质赖氨酸乙酰化水平。

[0014] 另一项实施方案提供的方法中,在约2天治疗、约5天治疗、约7天治疗、约15天治疗或约21天治疗后测定所述疗程中蛋白质赖氨酸乙酰化水平变化。

[0015] 另一项实施方案提供的方法中,所述蛋白质赖氨酸乙酰化水平从选自B细胞、T细胞或单核细胞的组织样品获得。

[0016] 另一项实施方案提供的方法中,所述芳香化酶抑制剂为依西美坦。另一项实施方案提供的方法中,所述芳香化酶抑制剂为阿那曲唑。另一项实施方案提供的方法中,所述芳香化酶抑制剂为来曲唑。另一项实施方案提供的方法中,每日给予所述芳香化酶抑制剂。另一项实施方案提供的方法中,所述芳香化酶抑制剂为依西美坦并每日给予。另一项实施方案提供的方法中,一个28天周期每7天给予恩替诺特。另一项实施方案提供的方法中,所述恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法包括一个28天周期每7天口服给予恩替诺特和每天口服给予依西美坦。

[0017] 另一项实施方案提供的方法中,在疗程中进行多于一次测定蛋白质赖氨酸乙酰化水平的步骤。另一项实施方案提供的方法中,在疗程中进行一次测定蛋白质赖氨酸乙酰化水平的步骤。

[0018] 另一项实施方案提供的方法还包括如果在疗程中蛋白质赖氨酸乙酰化水平增加,则选择该患者以进一步治疗。

[0019] 另一项实施方案提供的方法还包括如果在第一周疗程中蛋白质赖氨酸乙酰化水平增加,则选择该患者以进一步治疗。另一项实施方案提供的方法还包括如果在第一周和第二周疗程中蛋白质赖氨酸乙酰化水平增加,则选择该患者以进一步治疗。

[0020] 一项实施方案提供了选择患者进行进一步恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法的方法,其包括将开始治疗后得到的组织样品中蛋白质赖氨酸乙酰化水平与开始治疗前测定的蛋白质赖氨酸乙酰化水平比较。

[0021] 一项实施方案提供了选择患者进行进一步恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法的方法,其包括将开始治疗后得到的组织样品中蛋白质赖氨酸乙酰化水平与开始治疗前测定的蛋白质赖氨酸乙酰化水平比较,其中开始治疗后蛋白质赖氨酸乙酰化水平增加指示该患

者将会受益于进一步治疗。

[0022] 另一项实施方案提供的方法中,超过一次测定开始治疗后得到的组织样品中蛋白质赖氨酸乙酰化水平。另一项实施方案提供的方法中,开始治疗后蛋白质赖氨酸乙酰化水平增加持续一周。另一项实施方案提供的方法中,在第2、8和15天测定开始治疗后蛋白质赖氨酸乙酰化水平。

[0023] 另一项实施方案提供的方法中,所述增加为约10%至约500%。另一项实施方案提供的方法中,所述增加为约10%至约400%。另一项实施方案提供的方法中,所述增加为约10%至约300%。另一项实施方案提供的方法中,所述增加为约10%至约200%。另一项实施方案提供的方法中,所述增加为约10%至约100%。另一项实施方案提供的方法中,所述增加为约10%、约20%、约30%、约40%、约50%或约60%。另一项实施方案提供的方法中,所述增加为约25%、约50%、约75%、约100%、约125%或约150%。

[0024] 另一项实施方案提供的方法中,所述组织样品选自B细胞、T细胞或单核细胞。

[0025] 另一项实施方案提供的方法中,开始治疗后得到的组织样品是在开始治疗至少2天后获得的。另一项实施方案提供的方法中,所述开始治疗后得到的组织样品是在开始治疗后第2天至第28天之间获得的。另一项实施方案提供的方法中,所述开始治疗后得到的样品是在开始治疗后第2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15天获得的。

[0026] 一项实施方案提供了选择患者进行进一步恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法的方法,其包括将开始治疗后得到的组织样品中蛋白质赖氨酸乙酰化水平与开始治疗前测定的蛋白质赖氨酸乙酰化水平的变化百分比比较,其中开始治疗后蛋白质赖氨酸乙酰化水平降低百分比为约5%至约50%指示该患者将不会受益于进一步治疗。

[0027] 一项实施方案提供了治疗对之前的芳香化酶抑制剂疗法显示耐药性的乳腺癌的方法,所述方法包括向患者给予包含恩替诺特和芳香化酶抑制剂的组合,其中所述患者在之前的芳香化酶抑制剂治疗过程中未显示完全应答、部分应答或大于6个月的病情稳定。

[0028] 另一项实施方案提供的方法中,所述患者在之前作为辅助疗法给予的非甾体芳香化酶抑制剂治疗过程中或结束的6个月内复发。

[0029] 另一项实施方案提供的方法中,所述患者在之前非甾体芳香化酶抑制剂治疗至少3个月后显示疾病进展。

[0030] 另一项实施方案提供的方法中,所述乳腺癌为ER阳性。

[0031] 另一项实施方案提供的方法中,所述与恩替诺特组合给予的芳香化酶抑制剂为来曲唑。另一项实施方案提供的方法中,所述与恩替诺特组合给予的芳香化酶抑制剂为阿那曲唑。另一项实施方案提供的方法中,所述与恩替诺特组合给予的芳香化酶抑制剂为依西美坦。

[0032] 另一项实施方案提供的方法中,以任意顺序依次给予或同时给予恩替诺特和所述芳香化酶抑制剂。另一项实施方案提供的方法中,同时给予恩替诺特和所述芳香化酶抑制剂。另一项实施方案提供的方法中,首先给予所述芳香化酶抑制剂。另一项实施方案提供的方法中,每日给予所述芳香化酶抑制剂并周期性给予恩替诺特。另一项实施方案提供的方法中,每周给予恩替诺特并每日给予所述芳香化酶抑制剂。另一项实施方案提供的方法中,恩替诺特被引入正在进行的芳香化酶抑制剂疗程中。

[0033] 一项实施方案提供了治疗耐芳香化酶抑制剂的乳腺癌的试剂盒,其包括恩替诺特

和芳香化酶抑制剂的组合以及给予该剂型的说明书。

[0034] 另一项实施方案提供所述试剂盒，其中所述试剂盒每7个芳香化酶抑制剂剂型包括1个恩替诺特剂型。另一项实施方案提供的试剂盒中，所述试剂盒每14个芳香化酶抑制剂剂型包括1个恩替诺特剂型。另一项实施方案提供的试剂盒中，所述试剂盒包括4个恩替诺特剂型和28个芳香化酶抑制剂剂型。另一项实施方案提供的试剂盒中，所述试剂盒包括4个恩替诺特剂型和56个芳香化酶抑制剂剂型。

[0035] 另一项实施方案提供的试剂盒中，所述芳香化酶抑制剂为来曲唑。另一项实施方案提供的试剂盒中，所述芳香化酶抑制剂为阿那曲唑。另一项实施方案提供的试剂盒中，所述芳香化酶抑制剂为依西美坦。

[0036] 另一项实施方案提供的方法还包括向受试者给予除恩替诺特和选自来曲唑、阿那曲唑或依西美坦或它们可药用盐、溶剂合物或前药的芳香化酶抑制剂的组合外的一种或多种疗法。

[0037] 另一项实施方案提供的方法中，所述一种或多种疗法包括一种或多种放疗、化疗、高剂量化疗伴随干细胞移植，和单克隆抗体疗法。另一项实施方案提供的方法中，所述放疗包括体内和/或体外放疗。另一项实施方案提供的方法中，所述化疗包括向受试者给予多柔比星、环磷酰胺、紫杉醇、拉帕替尼、卡培他滨、曲妥单抗、贝伐单抗、吉西他滨、艾瑞布林或白蛋白结合型紫杉醇(nab-paclitaxel)中的一种或多种。

[0038] 引入参考

[0039] 本说明提及的所有公开、专利和专利申请均在此引入作为参考，如同每个公开、专利和专利申请均特别地、单独地引入作为参考。

[0040] 附图简述

[0041] 本发明的新特征在所附权利要求中详细叙述。通过参考以下叙述说明性实施方案的详细描述可更好的理解本发明的特征和优点，其中所述说明性实施方案利用了本发明的原理，且其伴随的附图为：

[0042] 图1提供了II期临床试验的总结。

[0043] 图2提供了II期临床试验纳入标准的总结。

[0044] 图3提供了II期临床试验中所纳入的患者群体的总结。

[0045] 图4提供了II期临床试验中所纳入的患者群体的详细分析。

[0046] 图5提供了II期临床试验中无进展生存期的总结。

[0047] 图6提供了II期临床试验中亚组的受益分析。

[0048] 图7提供了II期临床试验中所观测的肿瘤体积的变化和应答类型的分析。

[0049] 图8提供了II期临床试验中总生存期的总结。

[0050] 图9提供了II期临床试验中所观测的不良事件的总结。

[0051] 图10提供了II期临床试验的概括性总结。

[0052] 图11提供了蛋白质赖氨酸乙酰化的介绍。

[0053] 图12提供了验证性II期研究的总结。

[0054] 图13、14和15提供了验证性II期研究的中期结果的总结。

[0055] 图16提供了进行药效学分析以测量II期研究中蛋白质赖氨酸乙酰化变化的总结。

[0056] 图17提供了II期研究中生物标记患者群体和总患者群体的比较。

- [0057] 图18提供了PFS和乙酰化水平变化百分比的比较。
- [0058] 图19提供了II期研究中各治疗组PFS与乙酰化水平变化百分比的比较。
- [0059] 图20提供了当使用B细胞进行分析时,II期研究中PFS与各治疗组乙酰化水平变化百分比的比较。
- [0060] 图21和22提供了不良事件与乙酰化状态的总结。
- [0061] 图23提供了中期生物标记研究的总结。
- [0062] 图24提供了II期研究中主要终点的分析。
- [0063] 图25提供了II期研究的药效学分析部分中给药和样品采集的时间线。
- [0064] 图26提供了各治疗组乙酰化变化对PFS的作图。
- [0065] 图27提供了三种不同组织类型中两个治疗组乙酰化变化的总结。
- [0066] 图28提供了II期研究中各治疗组PFS与乙酰化水平变化百分比的比较。
- [0067] 图29提供了当使用B细胞进行分析时,II期研究中各治疗组PFS与乙酰化水平变化百分比的比较。
- [0068] 图30说明了临床受益与乙酰化水平相关。
- [0069] 图31说明了乙酰化趋势区分对治疗的应答者。
- [0070] 图32说明了维持乙酰化水平是获得有利临床结果的关键;和
- [0071] 图33提供了证明蛋白质赖氨酸乙酰化与更长的无病生存期有关的研究的总结。
- [0072] 本发明涉及如下方面:
- [0073] 1. 治疗患者乳腺癌的方法,其包括(i)在给予恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法前测量蛋白质赖氨酸乙酰化水平,(ii)给予恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法,(iii)在给予恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法后测量蛋白质赖氨酸乙酰化水平,(iv)将给予恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法前的蛋白质赖氨酸乙酰化水平与给予恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法后蛋白质赖氨酸乙酰化水平大于给予恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法前蛋白质赖氨酸乙酰化水平,则继续使用恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法治疗。
- [0074] 2. 治疗患者乳腺癌的方法,其包括(i)给予恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法,和(ii)测定与治疗前蛋白质赖氨酸乙酰化水平比较,在所述疗法的疗程中蛋白质赖氨酸乙酰化水平的变化。
- [0075] 3. 治疗患者乳腺癌的方法,其包括(i)在给药前测定蛋白质赖氨酸乙酰化水平,(ii)给予恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法,和(iii)测定在疗法的疗程中蛋白质赖氨酸乙酰化水平。
- [0076] 4. 项1、2或3的方法,其中在约2天治疗、约5天治疗、约7天治疗、约15天治疗或约21天治疗后测定所述疗程中蛋白质赖氨酸乙酰化水平变化。
- [0077] 5. 项1、2或3的方法,其中所述蛋白质赖氨酸乙酰化水平从选自B细胞、T细胞或单核细胞的组织样品获得。
- [0078] 6. 项1、2或3的方法,其中所述芳香化酶抑制剂为依西美坦。
- [0079] 7. 项1、2或3的方法,其中所述芳香化酶抑制剂为阿那曲唑。
- [0080] 8. 项1、2或3的方法,其中所述芳香化酶抑制剂为来曲唑。
- [0081] 9. 项1、2或3的方法,其中每日给予所述芳香化酶抑制剂。

- [0082] 10. 项1、2或3的方法,其中所述芳香化酶抑制剂为依西美坦,且每日给予。
- [0083] 11. 项1、2或3的方法,其中一个28天周期每7天给予恩替诺特。
- [0084] 12. 项1、2或3的方法,其中所述恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法包括一个28天周期每7天口服给予恩替诺特,和每天口服给予依西美坦。
- [0085] 13. 项1、2或3的方法,其中在疗程中进行多于一次测定蛋白质赖氨酸乙酰化水平的步骤。
- [0086] 14. 项1、2或3的方法,其中在疗程中进行一次测定蛋白质赖氨酸乙酰化水平的步骤。
- [0087] 15. 项1、2或3的方法,其还包括如果在疗程中蛋白质赖氨酸乙酰化水平增加,则选择该患者以进一步治疗。
- [0088] 16. 项1、2或3的方法,其还包括如果在第一周疗程中蛋白质赖氨酸乙酰化水平增加,则选择该患者以进一步治疗。
- [0089] 17. 项1、2或3的方法,其还包括如果在第一周和第二周疗程中蛋白质赖氨酸乙酰化水平增加,则选择该患者以进一步治疗。
- [0090] 18. 选择进行进一步恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法的患者的方法,其包括将开始治疗后得到的组织样品中蛋白质赖氨酸乙酰化水平与开始治疗前测定的蛋白质赖氨酸乙酰化水平比较。
- [0091] 19. 选择进行进一步恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法的患者的方法,其包括将开始治疗后得到的组织样品中蛋白质赖氨酸乙酰化水平与开始治疗前测定的蛋白质赖氨酸乙酰化水平比较,其中开始治疗后蛋白质赖氨酸乙酰化水平增加指示该患者将会受益于进一步治疗。
- [0092] 20. 项18或19的方法,其中多于一次测定开始治疗后得到的组织样品中蛋白质赖氨酸乙酰化水平。
- [0093] 21. 项18或19的方法,其中开始治疗后蛋白质赖氨酸乙酰化水平增加持续一周。
- [0094] 22. 项18或19的方法,其中在第2、8和15天测定开始治疗后蛋白质赖氨酸乙酰化水平。
- [0095] 23. 项18或19的方法,其中所述增加为约10%至约500%。
- [0096] 24. 项18或19的方法,其中所述增加为约10%至约400%。
- [0097] 25. 项18或19的方法,其中所述增加为约10%至约300%。
- [0098] 26. 项18或19的方法,其中所述增加为约10%至约200%。
- [0099] 27. 项18或19的方法,其中所述增加为约10%至约100%。
- [0100] 28. 项18或19的方法,其中所述增加为约10%、约20%、约30%、约40%、约50%或约60%。
- [0101] 29. 项18或19的方法,其中所述组织样品选自B细胞、T细胞或单核细胞。
- [0102] 30. 项18或19的方法,其中所述开始治疗后得到的组织样品是在开始治疗至少2天后获得的。
- [0103] 31. 项18或19的方法,其中所述开始治疗后得到的组织样品是在开始治疗后第2天至第28天之间获得的。
- [0104] 32. 项18或19的方法,其中所述开始治疗后得到的组织样品是在开始治疗后第2、

3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15天获得的。

[0105] 33.选择进行进一步恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法的患者的方法,其包括将开始治疗后得到的组织样品中蛋白质赖氨酸乙酰化水平的变化百分比与开始治疗前测定的蛋白质赖氨酸乙酰化水平比较,其中开始治疗后蛋白质赖氨酸乙酰化水平降低百分比为约5%至约50%指示该患者将不会受益于进一步治疗。

[0106] 34.治疗对之前的芳香化酶抑制剂疗法显示耐药性的乳腺癌的方法,所述方法包括向患者给予包含恩替诺特和芳香化酶抑制剂的组合,其中所述患者在之前的芳香化酶抑制剂治疗过程中未显示完全应答、部分应答或大于6个月的病情稳定。

[0107] 35.项34的方法,其中所述患者在之前作为辅助疗法给予的非甾体芳香化酶抑制剂治疗过程中或结束的6个月内复发。

[0108] 36.项34的方法,其中所述患者在之前非甾体芳香化酶抑制剂治疗至少3个月后显示疾病进展。

[0109] 37.项34的方法,其中所述乳腺癌为ER阳性的。

[0110] 38.项34的方法,其中所述与恩替诺特组合给予的芳香化酶抑制剂为来曲唑。

[0111] 39.项34的方法,其中所述与恩替诺特组合给予的芳香化酶抑制剂为阿那曲唑。

[0112] 40.项34的方法,其中所述与恩替诺特组合给予的芳香化酶抑制剂为依西美坦。

[0113] 41.项34的方法,其中以任意顺序依次给予或同时给予恩替诺特和所述芳香化酶抑制剂。

[0114] 42.项34的方法,其中同时给予恩替诺特和所述芳香化酶抑制剂。

[0115] 43.项34的方法,其中首先给予所述芳香化酶抑制剂。

[0116] 44.项34的方法,其中每日给予所述芳香化酶抑制剂并周期性给予恩替诺特。

[0117] 45.项34的方法,其中每周给予恩替诺特并且每日给予所述所述芳香化酶抑制剂。

[0118] 46.项34的方法,其中恩替诺特被引入正在进行的芳香化酶抑制剂疗程中。

[0119] 47.治疗耐芳香化酶抑制剂乳腺癌的试剂盒,其包括恩替诺特和芳香化酶抑制剂的组合以及给予该剂型的说明书。

[0120] 48.项47的试剂盒,其中所述试剂盒每7个芳香化酶抑制剂剂型包括1个恩替诺特剂型。

[0121] 49.项47的试剂盒,其中所述试剂盒每14个芳香化酶抑制剂剂型包括1个恩替诺特剂型。

[0122] 50.项47的试剂盒,其中所述试剂盒包括4个恩替诺特剂型和28个芳香化酶抑制剂剂型。

[0123] 51.项47的试剂盒,其中所述试剂盒包括4个恩替诺特剂型和56个芳香化酶抑制剂剂型。

[0124] 52.项47的试剂盒,其中所述芳香化酶抑制剂为来曲唑。

[0125] 53.项47的试剂盒,其中所述芳香化酶抑制剂为阿那曲唑。

[0126] 54.项47的试剂盒,其中所述芳香化酶抑制剂为依西美坦。

[0127] 55.项34的方法,其还包括向受试者给予除恩替诺特和选来自曲唑、阿那曲唑或依西美坦或它们的可药用盐、溶剂合物或前药的芳香化酶抑制剂的组合外的一种或多种疗法。

[0128] 56. 项55的方法,其中所述一种或多种疗法包括放疗、化疗、高剂量化疗伴随干细胞移植,和单克隆抗体疗法的一种或多种。

[0129] 57. 项55的方法,其中所述放疗包括内部和/或外部放疗。

[0130] 58. 项55的方法,其中所述化疗包括向受试者给予多柔比星、环磷酰胺、紫杉醇、拉帕替尼、卡培他滨、曲妥单抗、贝伐单抗、吉西他滨、艾瑞布林或白蛋白结合型紫杉醇的一种或多种。

[0131] 发明详述

[0132] 本文提供了基于给予HDAC抑制剂和芳香化酶抑制剂治疗癌症的方法。所述方法还可包括的治疗中,所述组合由一种或多种治疗剂或疗法补充。所述治疗方法可基于治疗中观测的蛋白质赖氨酸乙酰化水平掺合患者选择。

[0133] 为便于理解本文所述的内容,很多术语定义如下。

[0134] 如本文所用,“异常的细胞生长”指的是不依赖于正常调节机制(例如,丧失接触抑制)的细胞生长,包括正常细胞的异常生长和异常细胞的生长。

[0135] 如本文所述,“瘤形成”是异常的、未调节的和紊乱的细胞增殖,其通过自发生长和体细胞突变区别于正常细胞。随着赘生细胞生长和分裂,它们将它们的基因突变和增殖特性传递给后代细胞。赘生物或肿瘤是赘生细胞细胞的蓄积。在一些实施方案中,所述赘生物可为良性的或恶性的。

[0136] 如本文所用,“转移”指的是肿瘤细胞通过淋巴管或血管扩散。转移还指肿瘤细胞通过直接蔓延迁移穿过浆膜腔或蛛网膜下空间或其它空间。通过转移过程,肿瘤细胞迁移至身体的其它区域,在远离初始出现位点的区域形成新生物。

[0137] 如本文所讨论的,“血管发生”在肿瘤形成和转移中是显著的。已发现血管生成因子与若干实体瘤如横纹肌肉瘤、视网膜母细胞瘤、尤因肉瘤、神经母细胞瘤和骨肉瘤相关。在无血液供给提供养分并除去细胞废物的情况下,肿瘤无法扩张。血管发生重要的肿瘤包括实体瘤,如肾细胞癌、肝细胞癌,和良性肿瘤如听神经瘤和神经纤维瘤。血管发生与血液肿瘤如白血病相关。据信血管发生在引起白血病的骨髓异常中起作用。阻止血管发生可使癌性肿瘤的生长和由于肿瘤出现导致的对受试者的损伤停止。

[0138] 术语“受试者”指的是动物,包括但不限于,灵长类(例如,人)、牛、绵羊、山羊、马、狗、猫、兔、大鼠或小鼠。术语“受试者”和“患者”在本文提及例如哺乳动物受试者如人受试者时可互换使用。

[0139] 术语“治疗”意指包括减轻或消除病症、疾病或病状;或一种或多种与所述病症、疾病或病状相关的症状;或减轻或根除所述病症或疾病或病状本身的病因。

[0140] 术语“治疗有效量”指的是当给予时,足以预防所治疗的病症、疾病或病状的一种或多种症状发展或减轻一定程度的化合物的量。术语“治疗有效量”还指的是足以引出研究者、兽医、医生或临床医师所寻找的细胞、组织、系统、动物或人的生物学或医学应答的化合物的量。

[0141] 术语“药学可接受的载体”、“药学可接受的赋形剂”、“生理学可接受的载体”或“生理学可接受的赋形剂”指的是药学可接受的材料、组合物或媒介物,如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂或包封材料。每种组分从与药物制剂的其它成分相容的意义上来说必须是“药学上可接受的”。它还必须适用于与人和动物的组织或器官接触而无过度的毒性、

刺激、变应性应答、免疫原性或其它问题或并发症，并与合理的受益/风险比相称。参见 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition; Lippincott Williams&Wilkins: Philadelphia, PA, 2005; Handbook of Pharmaceutical Excipients, 5th Edition; Rowe et al., Eds., The Pharmaceutical Press and the American Pharmaceutical Association: 2005; and Handbook of Pharmaceutical Additives, 3rd Edition; Ash and Ash Eds., Gower Publishing Company: 2007; Pharmaceutical Preformulation and Formulation, Gibson Ed., CRC Press LLC: Boca Raton, FL, 2004)。

[0142] 术语“药物组合物”指的是本文所公开的化合物与其它化学组分如稀释剂或载体的混合物。所述药物组合物促进了向生物体给予所述化合物。本领域中存在的多种给予化合物的技术包括但不限于，口服、注射、气雾剂、胃肠外和局部给予。药物组合物还可通过将化合物与无机酸或有机酸如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸、甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸、水杨酸等反应获得。

[0143] 治疗乳腺癌的方法

[0144] 一项实施方案提供了治疗患者乳腺癌的方法，其包括 (i) 在给予恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法前测量蛋白质赖氨酸乙酰化水平，(ii) 给予恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法，(iii) 在给予恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法后测量蛋白质赖氨酸乙酰化水平，(iv) 将给予恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法后的蛋白质赖氨酸乙酰化水平与给予恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法前的蛋白质赖氨酸乙酰化水平进行比较，和(v) 如果给予恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法后蛋白质赖氨酸乙酰化水平大于给予恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法前蛋白质赖氨酸乙酰化水平，则继续使用恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法治疗。

[0145] 一项实施方案提供治疗患者乳腺癌的方法，其包括 (i) 给予恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法，和(ii) 在所述疗法的疗程中测定与治疗前蛋白质赖氨酸乙酰化的水平比较蛋白质赖氨酸乙酰化水平的变化。

[0146] 一项实施方案提供治疗患者乳腺癌的方法，其包括 (i) 在给药前测定蛋白质赖氨酸乙酰化水平，(ii) 给予恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法，和(iii) 在疗法的疗程中测定蛋白质赖氨酸乙酰化水平。

[0147] 另一项实施方案提供的方法中，在约2天治疗、约5天治疗、约7天治疗、约15天治疗或约21天治疗后测定所述疗程中蛋白质赖氨酸乙酰化水平变化。

[0148] 另一项实施方案提供的方法中，所述蛋白质赖氨酸乙酰化水平从选自B细胞、T细胞或单核细胞的组织样品获得。

[0149] 另一项实施方案提供的方法中，所述芳香化酶抑制剂为依西美坦。另一项实施方案提供的方法中，所述芳香化酶抑制剂为阿那曲唑。另一项实施方案提供的方法中，所述芳香化酶抑制剂为来曲唑。另一项实施方案提供的方法中，每日给予所述芳香化酶抑制剂。另一项实施方案提供的方法中，所述芳香化酶抑制剂为依西美坦并每日给予。另一项实施方案提供的方法中，一个28天周期每7天给予恩替诺特。另一项实施方案提供的方法中，所述恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法包括一个28天周期每7天口服恩替诺特和每天口服依西美坦。

[0150] 另一项实施方案提供的方法中，在疗程中进行多于一次测定蛋白质赖氨酸乙酰化

水平的步骤。另一项实施方案提供的方法中，在疗程中进行一次测定蛋白质赖氨酸乙酰化水平的步骤。

[0151] 另一项实施方案提供的方法还包括如果在疗程中蛋白质赖氨酸乙酰化水平增加，则选择该患者以进一步治疗。

[0152] 另一项实施方案提供的方法还包括如果在第一周疗程中蛋白质赖氨酸乙酰化水平增加，则选择该患者以进一步治疗。另一项实施方案提供的方法还包括如果在第一周和第二周疗程中蛋白质赖氨酸乙酰化水平增加，则选择该患者以进一步治疗。

[0153] 一项实施方案提供了选择患者进行进一步恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法的方法，其包括将开始治疗后得到的组织样品中蛋白质赖氨酸乙酰化水平与开始治疗前测定的蛋白质赖氨酸乙酰化水平比较。

[0154] 一项实施方案提供了选择患者进行进一步恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法的方法，其包括将开始治疗后得到的组织样品中蛋白质赖氨酸乙酰化水平与开始治疗前测定的蛋白质赖氨酸乙酰化水平比较，其中开始治疗后蛋白质赖氨酸乙酰化水平增加指示该患者将会受益于进一步治疗。

[0155] 另一项实施方案提供的方法中，多于一次测定开始治疗后得到的组织样品中蛋白质赖氨酸乙酰化水平。另一项实施方案提供的方法中，开始治疗后蛋白质赖氨酸乙酰化水平增加持续一周。另一项实施方案提供的方法中，在第2、8和15天测定开始治疗后蛋白质赖氨酸乙酰化水平。

[0156] 另一项实施方案提供的方法中，所述增加为约10%至约500%。另一项实施方案提供的方法中，所述增加为约10%至约400%。另一项实施方案提供的方法中，所述增加为约10%至约300%。另一项实施方案提供的方法中，所述增加为约10%至约200%。另一项实施方案提供的方法中，所述增加为约10%至约100%。另一项实施方案提供的方法中，所述增加为约10%、约20%、约30%、约40%、约50%或约60%。另一项实施方案提供的方法中，所述增加为约25%、约50%、约75%、约100%、约125%或约150%。

[0157] 另一项实施方案提供的方法中，所述组织样品选自B细胞、T细胞或单核细胞。

[0158] 另一项实施方案提供的方法中，所述开始治疗后得到的组织样品是在开始治疗至少2天后获得的。另一项实施方案提供的方法中，所述开始治疗后得到的组织样品是在开始治疗后第2天至第28天之间获得的。另一项实施方案提供的方法中，所述开始治疗后得到的组织样品是在开始治疗后第2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15天获得的。

[0159] 一项实施方案提供了选择患者进行进一步恩替诺特-芳香化酶抑制剂组合疗法的方法，其包括将开始治疗后得到的组织样品中蛋白质赖氨酸乙酰化水平的变化百分比与开始治疗前测定的蛋白质赖氨酸乙酰化水平比较，其中开始治疗后蛋白质赖氨酸乙酰化水平降低百分比为约5%至约50%指示该患者将不会受益于进一步治疗。

[0160] 一项实施方案提供了治疗对之前的芳香化酶抑制剂疗法显示耐药性的乳腺癌的方法，所述方法包括向患者给予包含恩替诺特和芳香化酶抑制剂的组合，其中所述患者在之前的芳香化酶抑制剂治疗过程中未显示完全应答、部分应答或大于6个月的病情稳定。

[0161] 另一项实施方案提供的方法中，所述患者在之前作为辅助疗法给予的非甾体芳香化酶抑制剂治疗过程中或结束的6个月内复发。

[0162] 另一项实施方案提供的方法中，所述患者在之前非甾体芳香化酶抑制剂治疗至少

3个月后显示疾病进展。

[0163] 另一项实施方案提供的方法中,所述乳腺癌为ER阳性。

[0164] 另一项实施方案提供的方法中,所述与恩替诺特组合给予的芳香化酶抑制剂为来曲唑。另一项实施方案提供的方法中,所述与恩替诺特组合给予的芳香化酶抑制剂为阿那曲唑。另一项实施方案提供的方法中,所述与恩替诺特组合给予的芳香化酶抑制剂为依西美坦。

[0165] 另一项实施方案提供的方法中,以任意顺序依次给予或同时给予恩替诺特和所述芳香化酶抑制剂。另一项实施方案提供的方法中,同时给予恩替诺特和所述芳香化酶抑制剂。另一项实施方案提供的方法中,首先给予所述芳香化酶抑制剂。另一项实施方案提供的方法中,每日给予所述芳香化酶抑制剂并周期性给予恩替诺特。另一项实施方案提供的方法中,每周给予恩替诺特并每日给予所述芳香化酶抑制剂。另一项实施方案提供的方法中,恩替诺特被引入正在进行的芳香化酶抑制剂疗程中。

[0166] 一项实施方案提供了治疗耐芳香化酶抑制剂乳腺癌的试剂盒,其包括恩替诺特和芳香化酶抑制剂的组合以及给予该剂型的说明书。

[0167] 另一项实施方案提供的试剂盒中,所述试剂盒每7个芳香化酶抑制剂剂型包括1个恩替诺特剂型。另一项实施方案提供的试剂盒中,所述试剂盒每14个芳香化酶抑制剂剂型包括1个恩替诺特剂型。另一项实施方案提供的试剂盒中,所述试剂盒包括4个恩替诺特剂型和28个芳香化酶抑制剂剂型。另一项实施方案提供的试剂盒中,所述试剂盒包括4个恩替诺特剂型和56个芳香化酶抑制剂剂型。

[0168] 另一项实施方案提供的试剂盒中,所述芳香化酶抑制剂为来曲唑。另一项实施方案提供的试剂盒中,所述芳香化酶抑制剂为阿那曲唑。另一项实施方案提供的试剂盒中,所述芳香化酶抑制剂为依西美坦。

[0169] 另一项实施方案提供的方法还包括向受试者给予除恩替诺特和选自来曲唑、阿那曲唑或依西美坦或它们的可药用盐、溶剂合物或前药的芳香化酶抑制剂的组合外的一种或多种疗法。

[0170] 另一项实施方案提供的方法中,所述一种或多种疗法包括一种或多种放疗、化疗、高剂量化疗伴随干细胞移植,和单克隆抗体疗法。另一项实施方案提供的方法中,所述放疗包括内部和/或外部放疗。另一项实施方案提供的方法中,所述化疗包括向受试者给予多柔比星、环磷酰胺、紫杉醇、拉帕替尼、卡培他滨、曲妥单抗、贝伐单抗、吉西他滨、艾瑞布林或白蛋白结合型紫杉醇(nab-paclitaxel)中的一种或多种。

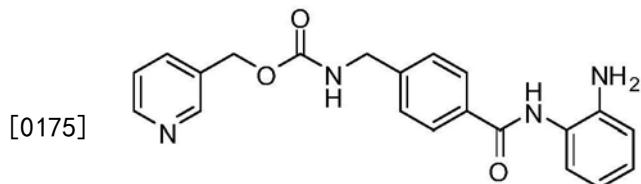
[0171] 组蛋白脱乙酰基酶

[0172] HDAC是包含至少18种酶的家族,其分为3类(第I、II和III类)。第I类HDAC包括但不限于HDAC 1、2、3和8。第I类HDAC可在细胞核中找到并且据信与转录控制抑制因子有关。第II类HDAC包括但不限于HDAC 4、5、6、7和9,且可在细胞质和细胞核中找到。据信第III类HDAC是NAD依赖性蛋白质,且包括但不限于Sirtuin家族蛋白质的成员。Sirtuin蛋白质的非限制性实例包括SIRT1-7。如本文所用,术语“选择性HDAC抑制剂”指的是不与全部3类HDAC相互作用的HDAC抑制剂。

[0173] HDAC抑制剂

[0174] HDAC抑制剂可广义地分为泛HDAC抑制剂和选择性HDAC抑制剂。尽管已知HDAC抑制

剂存在巨大的结构差异,但它们共享共同的特征:与酶活性位点相互作用的部分和位于通往该活性位点的通道内部的侧链。这点可参见异羟肟酸类如SAHA,其中据信所述异羟肟酸基(hydroxamate group)与所述活性位点相互作用。在缩肽类的情况下,据信细胞内二硫键的减少产生了连接至4-碳烯基链的游离巯基(其与所述活性位点相互作用)。HDAC抑制剂之间的区别在于它们与HDAC通道的边缘(其位于通往该活性位点的通道的相反端)相互作用的方式。据信,这种HDAC抑制剂和通道边缘的相互作用解释(至少部分地解释)了泛HDAC抑制剂如SAHA和选择性HDAC抑制剂如缩肽类之间所观测到的一些HDAC选择性的差异。特别优选的HDAC抑制剂为恩替诺特。恩替诺特的化学名为N-(2-氨基苯基)-4-[N-(吡啶-3-基)甲氧基羰基氨基-甲基]-苯甲酰胺,并且其化学结构如下所示。



恩替诺特的化学结构

[0176] 芳香化酶

[0177] 雌激素是一种雌性性激素并且在机体中具有很多功能。已发现约80%的乳腺癌肿瘤过度表达雌激素受体并对雌激素的存在积极应答。在绝经后的女性中,卵巢雌激素产生降低且血浆雌激素水平通常低于绝经前的女性。

[0178] 绝经后女性雌激素的残存来源是从雄激素合成雌激素,其由芳香化酶催化。抑制芳香化酶活性将导致雌激素水平降低,从而降低对雌激素的存在积极应答的乳腺癌肿瘤的生长。

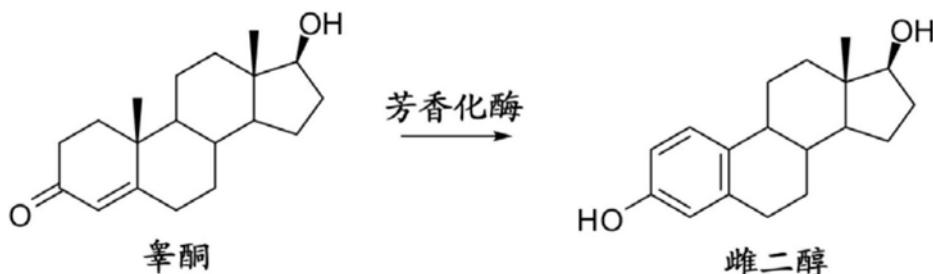
[0179] 芳香化酶是细胞色素P450家族的酶,且为CYP19基因的产物。芳香化酶的化学功能是将睾酮转化成雌二醇和将雄烯二酮转化成雌酮。

[0180] 芳香化酶抑制剂

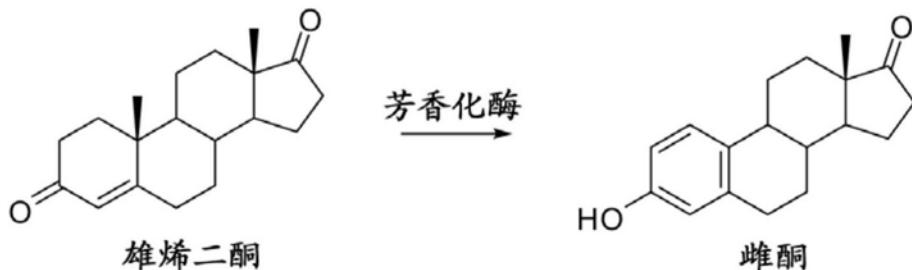
[0181] 芳香化酶抑制剂通过阻断芳香化酶将雄激素转化成雌激素而降低机体的雌激素。对于早期乳腺癌的治疗,可使用一些芳香化酶抑制剂作为辅助疗法代替他莫昔芬或在使用2年或2年以上他莫昔芬后使用芳香化酶抑制剂。对于转移性乳腺癌的治疗,正在临床试验中测试芳香化酶抑制剂以将其与他莫昔芬的激素疗法比较。

[0182] 如本文所述,“芳香化酶抑制剂”为抑制芳香化酶活性的分子。本领域的技术人员使用方法如标准药理学测试操作(其测量 $1,2^{-3}\text{H}$ -雄烯二酮向雌酮转化的抑制)可容易地鉴别作为芳香化酶抑制剂的化合物。

[0183] 简而言之,通过Thompson和Siiteri所述的方法从人类胎盘制备了微粒体部分(J.Biol.Chem., Vol. 249, p. 5364 (1974))。所获得的微粒体制剂是冻干的并在-40°C保存。将所述人类胎盘微粒体加入至 $1,2^{-3}\text{H}$ -雄烯二酮并在37°C孵育20分钟。通过丢失进入孵育培养基的 $^3\text{H}_2\text{O}$ 检测该标记底物芳香化的量。通过氯仿萃取移出底物,随后吸附至悬浮液中的炭。通过离心法除去炭并在液体闪烁计数器中计数该无甾体培养基。通过在加入微粒体之前将组合物加入该孵育培养基测试组合物的芳香化酶抑制活性。在有或无该组合物条件下获得的相对cpm用于计算雄烯二酮芳香化成雌酮的百分比抑制。可根据雄烯二酮至雌酮的芳香化降低至对照值的50%时的测试化合物的浓度图解测定IC<sub>50</sub>值。



[0184]

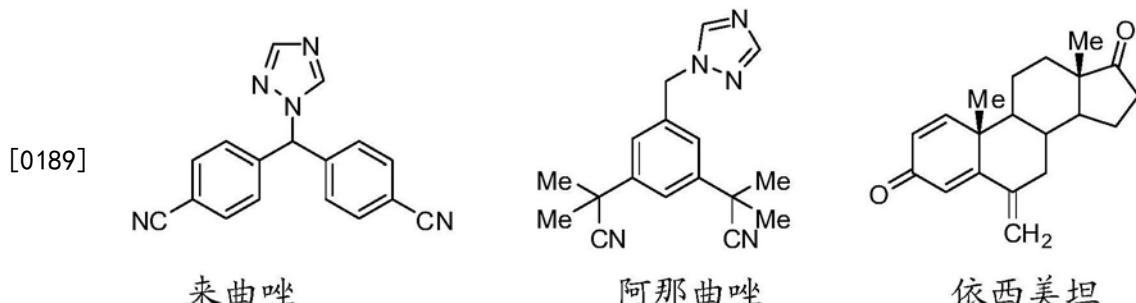


[0185] 皮下脂肪是主要的芳香化酶活性位点,且已经表明血浆雌激素水平与体重指数相关(Longcope et al, Metabolism 1986, 35, 235-7)。已经表明在绝经期,血浆雌激素水平从约110pg/mL降至低很多的水平,约7pg/mL。然而,已发现,在绝经期后的女性中,瘤内雌二醇的浓度约为血浆中雌二醇浓度的10倍,这可能是由于肿瘤内芳香化酶活性所致。

[0186] 抑制芳香化酶作为乳腺癌的治疗选择已被研究并获得一些成功。目前三类芳香化酶抑制剂被批准在美国上市用于治疗绝经后女性中各个时期的乳腺癌。来曲唑(Femara®)适用于若干治疗选择,包括之前经他莫昔芬治疗5年的绝经后女性的早期乳腺癌的延伸辅助治疗、激素受体阳性(或未知)的绝经后女性局部晚期或转移性乳腺癌的治疗和抗雌激素疗法后疾病进展的绝经后女性的晚期乳腺癌治疗。

[0187] 阿那曲唑(Arimidex®)适用于若干治疗选择,包括激素受体(+)的绝经后女性早期乳腺癌的辅助治疗、激素受体(+) (或未知)的绝经后女性局部晚期或转移性乳腺癌和他莫昔芬疗法后疾病进展的绝经后女性的晚期乳腺癌的一线治疗。

[0188] 依西美坦(阿诺新(Aromasin)®)适用于若干治疗选择,包括已接受他莫昔芬治疗2-3年的雌激素受体(+)的绝经后女性早期乳腺癌和他莫昔芬疗法后疾病进展的绝经后女性晚期乳腺癌的辅助治疗。



[0190] 这些药物可分为两类:(第1类)依西美坦基于甾体化学结构和(第2类)来曲唑和阿那曲唑基于非甾体化学结构。临床试验表明在治疗晚期ER(+)疾病中来曲唑优于他莫昔芬。在早期疾病中,在降低复发风险方面,使用阿那曲唑辅助疗法似乎要优于他莫昔芬疗法。近期的临床试验结果使得芳香化酶抑制剂代替他莫昔芬成为乳腺癌治疗的护理标准。

[0191] 乳腺癌

[0192] 今天,在美国的女性中,乳腺癌仍是最常见的诊断癌症。1/8的美国女性有发展乳腺癌的危险。年龄、家族史、饮食和遗传因素均被鉴定为乳腺癌的危险因素。乳腺癌是女性的第二大死因。

[0193] HER2/neu阳性乳腺癌

[0194] 与HER2/neu过度表达相关的癌症包括乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、前列腺癌、胃癌、唾液腺癌、胰腺癌、结直肠癌、口腔癌或非小细胞肺癌。乳腺癌已成为抗HER2/neu治疗的焦点。

[0195] 大约25–30%的乳腺癌具有HER2/neu基因扩增或其蛋白质产物的过度表达。乳腺癌中该受体的过度表达与增加的疾病复发和较差的预后相关。

[0196] 激素阳性癌症

[0197] 很多乳腺癌需要雌激素以生长。在绝经女性中,雌激素的主要来源是通过雄激素转化成雌激素。如上所述,该过程通过芳香化酶进行。

[0198] 三阴性乳腺癌

[0199] 在治疗三阴性乳腺癌(其中该癌症为雌激素受体阴性、孕酮受体阴性和HER2阴性)中,本文所述的组合物和疗法可与其它治疗剂组合。这类药剂包括,仅举例说明,西妥昔单抗、紫杉醇、多西紫杉醇、紫杉烷制剂,例如Abraxane®(ABI-007)、紫杉醇-聚氧乙烯蓖麻油、聚谷氨酸紫杉醇和紫杉醇注射乳剂(PIE)。当伴随HER2过度表达的癌症存在但由于试验中用于量化HER2表达的技术限制未检测到时,这些组合可能是有利的。

[0200] 激素疗法是治疗雌激素受体阳性(ER+)乳腺癌(BC)的主要方法。由于激素药剂的临床活性和总体有利的副作用和耐受性,护理标准通常包括依序使用激素药剂直至耐药性的的发展和/或内脏危象必须转变成化疗。在绝经后女性中,芳香化酶抑制剂(AI)是一类优选的抗雌激素疗法,其通过阻断内源性雌激素合成起作用。依西美坦是一种可逆性地与芳香化酶结合并使其失活的甾体芳香化酶抑制剂,其有效性已在经非甾体芳香化酶抑制剂,NSAI;即来曲唑或阿那曲唑治疗后进展的转移性癌症中得到证明(Chia S,Gradishar W, Mauriac L, et al:Double-blind,randomized placebo controlled trial of fulvestrant compared with exemestane after prior nonsteroidal aromatase inhibitor therapy in postmenopausal women with hormone receptor-positive, advanced breast cancer:results from EFECT.J Clin Oncol 26:1664–1670,2008)。

[0201] 晚期乳腺癌中对激素疗法耐药性的形成提出了重大挑战。推定的耐药性机制包括雌激素非依赖性生长、对低雌激素浓度的超敏感性、细胞周期蛋白D1过表达、组成性核因子κB(NFKB)激活、生长因子信号转导通路的上调和雌激素受体α(ERα)表达的下调。这些通路和机制为治疗性干预提供了潜在的靶点。恩替诺特是一种新型的、口服的组蛋白脱乙酰基酶(HDAC)抑制剂,其对第1类HDAC具有高特异性并具有独特的药理学特点,允许每周给药。HDAC抑制导致肿瘤和外周血液细胞中蛋白质赖氨酸乙酰化水平升高,其可作为活性的潜在的药效学标记物的替代物。恩替诺特对第1类HDAC的特异性使其区别于美国食品药品监督管理局(FDA)批准的HDAC抑制剂(HDACi) vorinstat(Zolinza®)和romidepsin(Istodax®)。在临床前,已证明恩替诺特可抑制ERα阳性肿瘤生长并由于雌激素非依赖性生长因子信号转导通路的下调而恢复激素敏感性,使ERα水平正常化并增加芳香化酶水平。(Sabnis GJ,

Goloubeva O, Chumsri S, et al: Functional activation of the estrogen receptor- $\alpha$  and aromatase by the HDAC inhibitor entinostat sensitizes ER-negative tumors to letrozole. *Cancer Res* 71:1893-903, 2011; Sabnis GJ, Kazi A, Goloubeva O, Brodie AMH. HDAC Inhibitor Entinostat Restores Responsiveness of Letrozole Resistant MCF-7Ca Xenografts to AIs through Modulation of Her-2. Presented at the 33rd Annual San Antonio Breast Cancer Symposium, San Antonio, TX, December 8-12, 2010)。本文所述的具体地临床试验结果表明在ER+乳腺癌中组合使用恩替诺特和依西美坦可抑制激素疗法耐药性机制从而使细胞对使用依西美坦的抗雌激素疗法敏感。

[0202] 其它疗法

[0203] 可被有利地采用与本文所公开的疗法组合的可用的其它乳腺癌治疗方法包括但不限于,放疗、化疗、抗体疗法和酪氨酸激酶抑制剂作为辅助疗法。

[0204] 放疗是一种使用高能X射线或其它类型的放射线杀死癌细胞或妨碍其生长的癌症治疗方法。化疗是一种使用药物通过杀死细胞或停止其分裂而停止癌细胞生长的癌症治疗方法。当通过口服或注射使化疗剂进入静脉或肌肉时,所述药物进入血流并可达到遍布全身的癌症细胞(全身化疗)。当直接将化疗剂放置于脊柱、器官或体腔如腹部中时,所述药物主要影响那些区域中的癌症细胞(区域性化疗)。给予化疗的方法取决于所治疗癌症的类型和时期。

[0205] 不同的用于治疗乳腺癌的化疗剂是本领域已知的。用于治疗乳腺癌的细胞毒试剂包括多柔比星、环磷酰胺、甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶、丝裂霉素C、米托蒽醌、紫杉醇、紫杉烷制剂如仅作为举例说明Abraxane® (ABI-007)、紫杉醇-聚氧乙烯蓖麻油、聚谷氨酸紫杉醇和紫杉醇注射乳剂(PIE)、吉西他滨、多西紫杉醇、卡培他滨和表柔比星。

[0206] 其它治疗乳腺癌的化疗包括使用一种或多种以下药剂的治疗方法:苯达莫司汀、卡铂(例如,Paraplatin®)、卡莫司汀(例如,BCNU®)、苯丁酸氮芥(例如,Leukeran®)、顺铂(例如,Platinol®)、环磷酰胺注射液(例如,Cytoxan®)、口服环磷酰胺(例如,Cytoxan®)、达卡巴嗪(例如,DTIC®)、异环磷酰胺(例如,ifex®)、洛莫司汀(例如,CCNU®)、双氯乙基甲胺(mechlorethamine)(例如,氮芥Mustargen®)、美法仑(例如,Alkeran®)、丙卡巴肼(例如,Matulane®)、博来霉素(例如,Blenoxane®)、多柔比星(例如,Adriamycin®、Rubex®)、表柔比星、伊达比星(例如,Idamycin®)、米托蒽醌(例如,Novantrone®)、吉西他滨(例如Gemzar®)、口服巯嘌呤(例如,Purinethol®)、甲氨蝶呤、喷司他丁IV(例如,Nipent®)、口服硫鸟嘌呤(例如,Lanvis®)、口服依托泊苷(例如,VP-16、VePesid®、Etopophos)、依托泊苷IV(例如,VP-16、VePesid®、Etopophos)、长春碱(例如,Velban®)、长春新碱(例如,Oncovin®)、长春瑞滨(例如,Navelbine®)、地塞米松(例如,Decadron®)、甲泼尼龙(例如,Medrol®)和泼尼松(例如,Deltasone®)。

[0207] 单克隆抗体疗法是一种使用在实验室中从单一类型的免疫系统细胞制得的抗体的癌症治疗方法。这些抗体可识别癌细胞上的物质或可帮助癌细胞生长的正常物质。所述抗体依附于这些物质上并杀死这些癌细胞,阻断其生长或阻碍其扩散。单克隆抗体通过输注给予。它们可单独使用或用于直接携带药物、毒素或放射性物质至癌细胞。单克隆抗体也

可与作为辅助疗法的化疗组合使用。

[0208] 曲妥单抗(Herceptin®)是一种阻断生长因子蛋白质HER2(其将生长信号传递给乳腺癌细胞)作用的单克隆抗体。

[0209] 曲妥单抗可作为单一药剂引起临床应答并且当加入晚期HER2阳性乳腺癌的化疗时可改善生存期。然而,一些患者对曲妥单抗并不应答,而且大多数最终形成临床耐药性。天然的和获得的曲妥单抗耐药性的机制知之甚少。已报道了一项利用基于细胞系的方法描述与耐药性相关的遗传和蛋白质改变的研究(D.Tripathy et al Journal of Clinical Oncology, 2005 Vol 23, No 16S, 3121)。这些研究者研究了2种HER2阳性乳腺癌细胞系(BT474和SKBR3),将其在曲妥单抗存在下连续传代直至记录到体外耐药性。耐药细胞系出现在12个月后,并且在无曲妥单抗的条件下展现出3倍更快的生长速率。在曲妥单抗暴露后,在敏感细胞和耐药细胞中观测到G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>停滞(84%相对68%),较少细胞在S期(3%相对14%)。与敏感细胞相比,耐药细胞系对曲妥单抗在基因表达、趋化因子受体CXCR4和有丝分裂检查点调节剂的上调以及PTEN的下调中表现出较少变化。

[0210] 可有利地与本文所公开的组合物和疗法组合的其它示例性治疗方法可包括但不限于,给予以下药剂,其包括但不限于拉帕替尼,单用或与卡培他滨、多西紫杉醇、表柔比星、埃博霉素A、B或D、醋酸戈舍瑞林、紫杉醇、帕米膦酸二钠、贝伐单抗或曲妥单抗组合使用。

[0211] 在一些实施方案中,所述其它疗法包括化疗,所述化疗包括向受试者给予一种或多种以下药剂:多柔比星、环磷酰胺、紫杉醇、拉帕替尼、卡培他滨、曲妥单抗、贝伐单抗、吉西他滨、艾瑞布林或白蛋白结合型紫杉醇。

[0212] 口服制剂

[0213] 含有本文所述活性药物成分的口服制剂可包括任何常规使用的口服形式,包括片剂、胶囊、丸剂、含片、锭剂(lozenges)、锭剂(pastilles)、扁囊剂、微丸、含药口香糖、颗粒、整装散剂、泡腾或非泡腾粉末或颗粒、溶液剂、乳剂、混悬剂、溶液剂、囊剂(wafers)、分散型胶囊(sprinkles)、酏剂、糖浆剂、口腔含服形式(buccal forms)和口服液体。胶囊可含有活性化合物和惰性填充剂和/或稀释剂的混合物,所述惰性填充剂和/或稀释剂如药学可接受的淀粉(例如,玉米淀粉、马铃薯淀粉或木薯淀粉)、糖类、人工甜味剂、粉状纤维素如结晶纤维素和微晶纤维素,面粉、明胶、树胶等。有用的片剂制剂可通过常规压片、湿法制粒或干法制粒方法并利用药学可接受的稀释剂、粘合剂、润滑剂、崩解剂、表面改性剂(包括表面活性剂)、助悬或稳定剂(包括但不限于硬脂酸镁、硬脂酸、滑石、月桂基硫酸钠、微晶纤维素、羧甲基纤维素钙、聚乙烯吡咯烷酮、明胶、海藻酸、阿拉伯胶、黄原胶、枸橼酸钠、硅酸盐复合物、碳酸钙、甘油、糊精、蔗糖、山梨糖醇、磷酸二钙、硫酸钙、乳糖、高岭土、甘露醇、氯化钠、滑石、干淀粉和糖粉)。在一些实施方案中,表面改性剂包括非离子表面改性剂和阴离子表面改性剂。例如,表面改性剂包括但不限于,泊洛沙姆188、苯扎氯铵、硬脂酸钙、十八醇十六醇混合物、聚西托醇乳化蜡、脱水山梨糖醇酯、胶体二氧化硅、磷酸盐、十二烷基硫酸钠、硅酸镁铝和三乙醇胺。本文的口服制剂可利用标准延迟释放制剂或延时释放制剂改变所述活性化合物的吸收。所述口服制剂也可由含活性成分的水或果汁组成,其根据需要可含有适当的增溶剂或乳化剂。

[0214] 口服给药

[0215] 如本文所述,本文所述的组合疗法可同时给予或可以交错方案给予,在化疗过程中在不同于芳香化酶抑制剂的时间给予恩替诺特。给予所述两种化合物之间的时间差异的范围可为若干分钟、小时、天、周或更长时间。因此,术语组合并不必然指在同一时间给药或以单一剂量给药,而是指每一组分均在需要的治疗期中给药。这些药剂也可通过不同的途径给予。通常对于化疗方案,化疗疗程可在数周之后重复并可能依循给予所述两种化合物相同的时间表,或者可能基于患者应答而修改。

[0216] 在其它实施方案中,本文所提供的药物组合物可以以用于口服给药的固体、半固体或液体剂型提供。如本文所用,口服给药也包括口腔、舌和舌下给药。适宜的口服剂型包括但不限于,片剂、胶囊、烷基、含片、锭剂( lozenges)、锭剂(pastilles)、扁囊剂、微丸、含药口香糖、颗粒、整装散剂、泡腾或非泡腾粉末或颗粒、溶液剂、乳剂、混悬剂、溶液剂、囊剂(wafers)、分散型胶囊(sprinkles)、酏剂和糖浆剂。除活性成分外,所述药物组合物可包含一种或多种药学可接受的载体或赋形剂,其包括但不限于,粘合剂、填充剂、稀释剂、崩解剂、润湿剂、润滑剂、助流剂、着色剂、染料泳移抑制剂、甜味剂和矫味剂。

[0217] 粘合剂或制粒机赋予片剂粘着性以确保在压片后片剂仍保持完整。适宜的粘合剂或制粒机包括但不限于,淀粉,如玉米淀粉、马铃薯淀粉和预胶化淀粉(例如,STARCH 1500);明胶;糖类,如蔗糖、葡萄糖、右旋糖、糖蜜和乳糖;天然和合成胶,如阿拉伯胶、海藻酸、海藻酸盐、爱尔兰藓提取物、Panwar胶、印度胶、isabgol husks胶浆、羧甲基纤维素、甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、硅酸镁铝、落叶松阿拉伯半乳糖、西黄蓍胶粉、和古尔胶;纤维素类,如乙基纤维素、醋酸纤维素、羧甲基纤维素钙、羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟基乙基纤维素(HEC)、羟基丙基纤维素(HPC)、羟基丙基甲基纤维素(HPMC);微晶纤维素,如AVICEL-PH-101、AVICEL-PH-103、AVICELRC-581、AVICEL-PH-105(FMC Corp., Marcus Hook, PA);和其混合物。适宜的填充剂包括但不限于,滑石、碳酸钙、微晶纤维素、纤维素粉末、葡萄糖结合剂、高岭土、甘露醇、硅酸、山梨糖醇、淀粉、预胶化淀粉和其混合物。本文所提供的药物组合物中,可存在约50重量%至约99重量%的粘合剂或填充剂。

[0218] 适宜的稀释剂包括但不限于,磷酸二钙、硫酸钙、乳糖、山梨糖醇、蔗糖、肌醇、纤维素、高岭土、甘露醇、氯化钠、干淀粉和糖粉。一些稀释剂,如甘露醇、乳糖、山梨糖醇、蔗糖和肌醇,当以足够量存在时,可赋予一些压缩片剂特性从而允许其在口中通过咀嚼崩解。这类压缩片剂可用作咀嚼片。

[0219] 适宜的崩解剂包括但不限于,琼脂;膨润土;纤维素,如甲基纤维素和羧甲基纤维素;木材制品;天然海绵;阳离子交换树脂;海藻酸;树胶,如古尔胶和硅酸镁铝HV;柑橘渣;交联纤维素,如交联羧甲基纤维素;交联聚合物,如交联聚维酮;交联淀粉;碳酸钙;微晶纤维素,如羟乙酸淀粉钠;波拉克林钾;淀粉,如玉米淀粉、马铃薯淀粉、木薯淀粉和预胶化淀粉;粘土;aligns;和其混合物。本文所提供的药物组合物中崩解剂的量随制剂类型而变化,并且对本领域的普通技术人员而言是容易辨别的。本文所提供的药物组合物可包含约0.5重量%至约15重量%或约1重量%至约5重量%的崩解剂。

[0220] 适宜的润滑剂包括但不限于,硬脂酸钙;硬脂酸镁;矿物油;轻质矿物油;甘油;山梨糖醇;甘露醇;二醇类,如山嵛酸甘油酯(glycerol behenate)和聚乙二醇(PEG);硬脂酸;月桂基硫酸钠;滑石;氢化植物油,包括花生油、棉籽油、葵花籽油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油;硬脂酸锌;油酸乙酯;月桂酸乙酯;琼脂;淀粉;石松子;二氧化硅或硅胶,如

AEROSIL® 200 (W.R. Grace Co., Baltimore, MD) 和 CAB-0-SIL® (Cabot Co. of Boston, MA); 和其混合物。本文所提供的药物组合物可包含约 0.1 重量% 至约 5 重量% 的润滑剂。

[0221] 适宜的助流剂包括胶体二氧化硅, CAB-0-SIL® (Cabot Co. of Boston, MA) 和无石棉滑石。着色剂包括任何批准的、经检验的、水溶性 FD&C 染料, 和悬浮于水合氧化铝上的水不溶性 FD&C 染料, 和色淀以及其混合物。色淀是通过将水溶性染料吸收进入重金属水合氧化物, 其得到不溶形式的染料。矫味剂包括从植物如水果提取的天然香料, 和产生令人愉悦味觉的合成的化合物混合物如薄荷和水杨酸甲酯。甜味剂包括蔗糖、乳糖、甘露醇、糖浆、甘油和人工甜味剂如糖精和阿斯巴甜。适宜的乳化剂包括明胶、阿拉伯胶、黄蓍胶、膨润土和表面活性剂如聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯 (TWEEN® 20)、聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯 80 (TWEEN® 80) 和三乙醇胺油酸酯。助悬和分散剂包括羧甲基纤维素钠、果胶、黄蓍胶、硅酸镁铝、阿拉伯胶、羧甲基纤维素钠、羟基丙基甲基纤维素和聚乙烯吡咯烷酮。防腐剂包括甘油、尼泊金甲酯和尼泊金丙酯、苯甲酸、苯甲酸钠和醇。润湿剂包括丙二醇单硬脂酸酯、失水山梨糖醇单油酸酯、二乙二醇单月桂酸酯和聚氧乙烯月桂基醚。溶剂包括甘油、山梨糖醇、乙醇和糖浆。乳剂中利用的非水性液体的实例包括矿物油和棉籽油。有机酸包括柠檬酸和酒石酸。二氧化碳源包括碳酸氢钠和碳酸钠。

[0222] 应当理解很多载体和赋形剂可起若干作用, 即使在同一制剂中。

[0223] 在其它实施方案中, 本文所提供的药物组合物可以压缩片、模印片、咀嚼锭、速溶片、多重压缩片或肠溶衣片、糖衣片或薄膜衣片提供。肠溶衣片是被可抵抗胃酸作用但溶解或崩解于肠中的物质包被, 从而保护活性成分远离胃的酸性环境的压缩片。肠溶衣包括但不限于脂肪酸、脂肪、水杨酸苯酯、蜡类、虫胶、氨合虫胶和醋酸纤维素酞酸酯。糖衣片是包裹有糖衣的压缩片, 其可有利地掩盖令人不快的味道或气味并保护片剂避免氧化。薄膜衣片是覆盖有水溶性材料的薄层或薄膜的压缩片。薄膜衣片包括但不限于羟基乙基纤维素、羧甲基纤维素钠、聚乙二醇 4000 和醋酸纤维素酞酸酯。薄膜衣赋予了与糖衣相同的共性。多重压缩片是通过多于一个压缩循环制得的压缩片, 其包括分层片剂和压制包衣片或干包衣片。

[0224] 片剂剂型可从粉状、结晶或颗粒形式的活性成分, 单独或与一种或多种本文所述的载体或赋形剂(包括粘合剂、崩解剂、控释聚合物、润滑剂、稀释剂和/或着色剂)组合制得。调味和甜味剂在咀嚼片剂和锭剂的形成中尤其有用。

[0225] 本文所提供的药物组合物可以软胶囊或硬胶囊提供, 其可从明胶、甲基纤维素、淀粉或海藻酸钙制得。所述硬明胶胶囊也称为干填充胶囊 (DFC), 由两部分组成, 一部分塞入另一部分中; 因此完全包封了活性成分。软弹性胶囊 (SEC) 是软的、球形壳, 例如明胶壳, 其通过加入甘油、山梨糖醇或类似的多元醇塑化。软明胶壳可包含防腐剂以预防微生物生长。合适的防腐剂为如本文描述的那些, 包括尼泊金甲酯和尼泊金丙酯, 以及山梨酸。本文提供的液体、半固体和固体剂型可包裹在胶囊中。合适的液体和半固体剂型包括碳酸丙烯酯、植物油或甘油三酯的溶液和混悬剂。包含这样溶液的胶囊可如美国专利 4,328,245、4,409,239 和 4,410,545 中描述的制备。所述胶囊也可如本领域技术人员已知的进行包被, 以改善或维持活性成分的溶出度。

[0226] 在其它实施方案中, 本文提供的药物组合物可以以液体和半固体剂型提供, 其包括乳剂、溶液、混悬剂、酏剂和糖浆剂。乳剂为两相系统, 其中一种液体以小球形式完全分散

在另一种液体中,其可以是水包油型或油包水型。乳剂可包括药学上可接受的非水性液体或溶剂、乳化剂和防腐剂。混悬剂可包括药学上可接受的助悬剂和防腐剂。水性醇溶液可包括药学上可接受的缩醛,例如低级烷基醛的二(低级烷基)缩醛(术语“低级”意指烷基具有1至6个碳原子),如乙醛二乙基缩醛;和具有一个或多个羟基的水可混溶性溶剂,例如丙二醇和乙醇。酏剂是透明的、甜味的水醇溶液。糖浆剂是糖例如蔗糖的浓缩水溶液,并且还可包含防腐剂。对于液体剂型,例如,在聚乙二醇中的溶液可用足量的药学上可接受的液体载体例如水稀释,从而方便地测量以用于给药。

[0227] 其它有用的液体和半固体剂型包括但不限于,包含本文所提供的活性成分和二烷基化单亚烷基二醇或多亚烷基二醇的那些剂型,所述单亚烷基二醇或多亚烷基二醇包括1,2-二甲氧基甲烷、二乙二醇二甲醚、三乙二醇二甲醚、四乙二醇二甲醚、聚乙二醇-350-二甲醚、聚乙二醇-550-二甲醚、聚乙二醇-750-二甲醚,其中350、550和750指的是聚乙二醇的近似平均分子量。这些制剂可进一步包含一种或多种抗氧化剂,例如丁羟甲苯(BHT)、丁羟茴醚(BHA)、没食子酸丙酯、维生素E、氢醌、羟基香豆素、乙醇胺、卵磷脂、脑磷脂、抗坏血酸、苹果酸、山梨糖醇、磷酸、亚硫酸氢盐、焦亚硫酸钠、硫代二丙酸及其酯和二硫代氨基甲酸酯。

[0228] 本文提供的用于口服给药的药物组合物还可以以脂质体、胶束、微球或纳米系统提供。可以如美国专利6,350,458中的描述制备胶束剂型。

[0229] 在其它实施方案中,本文所提供的药物组合物可以以非泡腾或泡腾颗粒剂和粉剂提供以复溶成液体剂型。在非泡腾颗粒剂或粉剂中使用的药学上可接受的载体和赋形剂可以包括稀释剂、甜味剂和润湿剂。在泡腾颗粒剂或粉剂中使用的药学上可接受的载体和赋形剂可以包括有机酸和二氧化碳源。

[0230] 在所有上述剂型中可使用着色剂和矫味剂。

[0231] 本文提供的药物组合物可配制成即释或改良释放剂型,包括延释、缓释、脉冲释放、控释、靶向释放和程序化释放形式。

[0232] 在其它实施方案中,本文所提供的药物组合物可与不会损害所需治疗作用的其它活性成分共同配制,或者与补充所需作用的物质共同配制。

## 实施例

[0233] 实施例1a

[0234] 在患有局部复发或转移性雌激素受体阳性乳腺癌的经非甾体芳香化酶抑制剂治疗进展的绝经后女性中进行的一项II期、随机、双盲依西美坦(有或无恩替诺特)研究。

[0235] 该研究的目的是评估恩替诺特与依西美坦组合在治疗晚期乳腺癌中的安全性和有效性。

[0236] 主要结果测定是比较依西美坦单用和依西美坦加恩替诺特的有效性,其通过自随机化日期测量的无进展生存期(PFS)的持续时间来测定。

[0237] 次要结果测定是比较客观应答率(ORR)和临床受益率(CBR),并评估恩替诺特和依西美坦组合的安全性和耐受性,其通过不良事件和实验室安全性参数测量。

[0238] 研究设计

[0239]

组(Arm)	指定干预
<p>1:实验 每天依西美坦(阿诺新) 25 mg 加每周一次恩替诺特 5 mg PO 干预: · 药物: 恩替诺特 · 药物: 依西美坦</p>	<p>药物: 恩替诺特 每周一次 SNDX-275 5mg 片剂 PO  药物: 依西美坦 依西美坦 25mg PO QD 其它名称: 阿诺新(Aromasin)</p>
<p>2:安慰剂对照组 每天依西美坦(阿诺新) 25 mg 加每周一次安慰剂 PO 干预: 药物: 依西美坦</p>	<p>药物: 依西美坦 依西美坦 25mg PO QD 其它名称: 阿诺新(Aromasin)</p>

[0240] 合格标准

[0241] 符合研究的年龄: ≥18岁

[0242] 符合研究的性别:女性

[0243] 接受健康志愿者:否

[0244] 纳入标准:

[0245] • 绝经后女性患者

[0246] • 组织学上或细胞学上确认的ER+乳腺癌

[0247] • 之前经AI治疗后复发或进展的

[0248] • 转移性疾病必须是可测量的

[0249] • 在入选前,在非靶病变处接受姑息放射的患者必须在治疗结束后有两周的清洗期。

[0250] • 患者之前可接受一种化疗作为一线疗法的部分,只要其在之前AI治疗开始前接受的即可。

[0251] • ECOG行为状况:0至1

[0252] • 实验室参数:a) 血红蛋白≥9.0g/dL;血小板≥100.0x 10<sup>9</sup>/L;ANC≥1.5x10<sup>9</sup>/L,未使用造血生长因子;b) 对于该机构,肌酐低于正常值上限的2.5倍;c) 对于该机构,AST和ALT低于正常值上限的2.5倍

[0253] • 能够理解并作出书面知情同意书且顺从研究规程

[0254] 排除标准:

[0255] • 辅助治疗设置中的患者经非甾体AI治疗后少于12个月复发

[0256] • 转移性疾病患者经最近AI治疗少于3个月后疾病进展

- [0257] • 快速进展,威胁生命的转移
  - [0258] • 任何对可测量病变的姑息性放疗
  - [0259] • 此前经SNDX-275或任何其它HDAC抑制剂(包括丙戊酸)治疗
  - [0260] • 对苯甲酰胺类或研究药物的非活性组分过敏
  - [0261] • 对依西美坦的任何活性或非活性成分有过敏史
  - [0262] • 任何妨碍足够的研究治疗依从性的并发医疗病症
  - [0263] • 患者目前正入选(或在研究药物给药前30天内结束)另一项试验药物研究
  - [0264] • 患者目前正接受丙戊酸、Zolinza(伏立诺他)或任何其它的HDAC抑制剂或DNA甲基转移酶抑制剂或任何全身抗癌治疗(除醋酸亮丙瑞林外)治疗
- [0265] 图1提供了指示治疗组给药时间表的II期临床试验的总结。
- [0266] 图2提供了详述可接受的在前治疗的II期临床试验的纳入标准的总结。
- [0267] 图3提供了II期临床试验中所纳入的患者群体的总结。
- [0268] 图4提供了II期临床试验中所纳入的患者群体的详细分析。
- [0269] 图5提供了II期临床试验中无进展生存期的总结。安慰剂组(依西美坦单用)具有2.3个月的中位PFS,治疗组(依西美坦和恩替诺特)具有4.3个月中位PFS。
- [0270] 图6提供了II期临床试验中亚组的受益分析。激素耐药性患者显示最大收益。
- [0271] 图7提供了II期临床试验中所观测的肿瘤体积的变化和应答类型的分析。
- [0272] 图8提供了II期临床试验中观察到的总生存期的总结。
- [0273] 图9提供了II期临床试验中所观测的不良事件的总结。依西美坦和恩替诺特组合可被良好耐受。
- [0274] 图10提供了II期临床试验的概括性总结。
- [0275] 实施例1a中描述的临床试验是依西美坦(有或无恩替诺特)在130名患有局部复发或转移性雌激素受体阳性乳腺癌,经非甾体芳香化酶抑制剂阿那曲唑或来曲唑治疗进展的绝经后女性中进行的一项多中心、随机、双盲、安慰剂对照、II期研究。该研究的主要终点是无进展生存期。其它终点包括客观应答率(ORR)、临床受益率(CBR)、总生存期(OS)和安全性和耐受性。所有患者之前曾接受过激素疗法(之前接受1种疗法(1prior line)42%;之前接受>1种疗法58%),且在晚期乳腺癌的情况下,33%之前曾接受过化疗。该具有良好平衡的组的研究的结果包括如下内容:
- [0276] • 在意向治疗人群中,依西美坦加恩替诺特无进展生存期(前瞻性地定义为单侧 $p < 0.10$ )显著长于依西美坦加安慰剂(分别为4.28个月和2.27个月;风险比(HR)=0.73; $p=0.06$ );
  - [0277] • 在意向治疗人群中,在18个月中位随访期中,依西美坦加恩替诺特总生存期显著长于依西美坦加安慰剂(分别为26.94个月和20.33个月;风险比(HR)=0.56; $p=0.027$ );
  - [0278] • 在有蛋白质乙酰化数据的恩替诺特患者亚组( $n=27$ )中,显示蛋白质赖氨酸高度乙酰化的患者的中位PFS增加至超过6个月;
  - [0279] • 恩替诺特与依西美坦组合可被良好耐受,最常见的不良事件(AE)由疲劳、胃肠道紊乱和血液学异常组成;和
  - [0280] • 依西美坦加恩替诺特和依西美坦加安慰剂的严重AE发生率相似(分别为13%和12%)。

[0281] 该研究表明接受恩替诺特和激素疗法依西美坦的患者在疾病未恶化情况下生存的时间比仅接受依西美坦的患者更长。恩替诺特与依西美坦组合延长了患有雌激素受体阳性的转移性乳腺癌的绝经后女性的无进展生存期,使疾病进展风险降低了27%并且显示改善的总生存期。在评估恩替诺特有效性的药效学测量的患者亚组中,该研究以阳性临床结果表明了蛋白质赖氨酸高度乙酰化的证据。

[0282] 实施例1b

[0283] 在上文实施例1a所述的研究(依西美坦(有或无恩替诺特)在130名患有局部复发或转移性雌激素受体阳性乳腺癌的患者中进行的一项多中心、随机、双盲、安慰剂对照、II期研究)的23个月患者随访期中,依西美坦加恩替诺特患者的中位总生存期达26.9个月,依西美坦加安慰剂为19.8个月。这表示这些患者中降低了42% ( $p=0.04$ ) 的死亡风险。该研究的早期数据表明依西美坦加恩替诺特的无进展生存期(PFS)接近加倍(4.3个月对比 (vs) 2.3个月),并鉴定了中位PFS达8.5个月的患者亚组。

[0284] 结论是在2年的随访期后,经恩替诺特和依西美坦治疗的患者有额外的7个月总生存期的获益。该研究不仅例证了该组合(其结合了极好的安全性和耐受性特点)无进展生存期优势(4.3个月对比 (vs) 2.3个月),而且例证了总生存期益处,并提供了从该疗法获益的证据。

[0285] 23个月随访期的重要数据包括:

[0286] • 总生存期:依西美坦+恩替诺特26.9个月对比 (vs.) 依西美坦+安慰剂19.8个月  
 $HR=0.58$  (95%CI:0.34,0.97)  $p=0.04$ ;

[0287] • 无进展生存期:依西美坦+恩替诺特4.3个月对比 (vs.) 依西美坦+安慰剂2.3个月  
 $HR=0.73$  (95%CI:0.49,1.09)  $p=0.06$ ;单侧显著性前瞻性地定义为 $<0.10$ ;

[0288] • 在蛋白质乙酰化增加的患者亚组中,依西美坦+恩替诺特的无进展生存期为8.5个月,在非乙酰化患者中为2.8个月, $HR=0.32$  (95%CI:0.13,0.79);

[0289] • 激素耐药性患者和激素敏感性患者中改善的无进展生存期趋势的对比;和

[0290] • 依西美坦与恩替诺特组合可被良好耐受,最常见的不良事件由疲劳、胃肠道紊乱和血液学异常组成。

[0291] 实施例1c

[0292] 验证性II期研究

[0293] 主要终点为无进展生存期(PFS)。在第1周期给药前后采集患者亚组的外周血单核细胞以用于评价蛋白质赖氨酸乙酰化(其作为恩替诺特活性的生物标记)(图11)。

[0294] 患者和方法

[0295] 研究设计:这是依西美坦±恩替诺特在经NSAI治疗后进展的局部晚期或转移性BC患者中进行的一项II期、随机、双盲、安慰剂对照研究(图12)。在2008年6月至2010年7月之间,在北美、中欧和俄罗斯的38个机构纳入130名患者。所有患者提供书面知情同意书。患者使用区组随机化方案以1:1的比例随机至依西美坦加恩替诺特组(EE;  $n=64$ )或依西美坦加安慰剂组(EP;  $n=66$ )。随机化通过以下条件分层:1)之前接受NSAI治疗的患者(辅助性/转移性);2)仅骨转移(是/否);和3)地理区域(北美/中欧和俄罗斯)。随机化方案由独立的统计服务提供商准备并维护。方案允许纳入约20%患有非可测量疾病的患者。使用每天一次依西美坦25mg口服(PO),加每周一次恩替诺特5mg或安慰剂口服治疗,直至疾病进展(PD)或

不可接受的毒性。

[0296] 入选条件:尽管接受NSAI治疗,目前正经历疾病复发或进展的具有ER+BC的绝经后女性符合标准。在转移或晚期情况下,患者1)在给予辅助NSAI治疗至少12个月后复发或者2)在给予NSAI治疗至少3个月后进展。如果在最近的NSAI之前给予,则允许在转移情况下给予一种一线化疗。在研究治疗开始前4周内,患者必须具有至少1个可测量的病变(通过常规技术测量 $\geq 20\text{mm}$ 或通过螺旋计算机断层[CT]扫描测量 $\geq 10\text{mm}$ ),或仅具有骨转移,通过磁共振成像(MRI)或正电子发射断层摄影术(PET)-CT确认的阳性骨扫描。额外的要求包括美国东部肿瘤协作组(Eastern Cooperative Oncology Group,ECOG)行为状况为0或1;足够的血液学参数;和肌酐、天冬氨酸转氨酶和丙氨酸转氨酶<正常上限2.5倍。排除之前曾接受氟维司群、依西美坦、恩替诺特或任何其它HDACi治疗的患者。

[0297] 操作和治疗:治疗周期的长度为28天。在第1周期(C1)的第1天(D1)、D8和D15以及所有后续周期的D1评估患者。在C1的D1、D8或D15采集给药前后患者亚组的外周血样本。在C2的D22和随后的每隔一个周期进行患者/疾病应答的评价。在完成研究治疗后,患者进入治疗后随访期以评估总生存期和随后的治疗。随访患者直至死亡、同意退出或由申办者关闭研究。

[0298] 评价:

[0299] 安全性评价:通过不良事件(AE)(使用美国国家癌症研究所不良事件常用术语标准(National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events)3.0版)、心电图、血液学和血清化学、ECOG行为状况和生命体征来评价安全性。

[0300] 有效性评价:使用实体瘤应答评价标准(Response Evaluation Criteria in Solid Tumors,RECIST)1.0版评估疾病。在基线、每隔一个周期持续12个月和随后每三个周期获得对比增强CT扫描。当合适时,还通过骨扫描和临床症状评价PD。

[0301] 终点:主要终点为PFS,定义为从随机化至记载PD或由于任何原因导致的死亡的月份数。次要终点包括总应答(OR;完全应答[CR]+部分应答(PR))和临床受益率(CBR;OR+疾病稳定[SD],持续 $\geq 6$ 个月)。总生存期(OS)为探索性终点。预定义亚组包括NSAI敏感的:在晚期情况下经在前的NSAI疗法具有CR、PR或持续6个月的SD患者或在辅助情况下在完成NSAI至少1年后复发的患者;和NSAI耐药的:所有其它患者。

[0302] 探索性药效学:在C1的D1、D8和D15治疗前后采集的外周血单核细胞(PBMC;CD19+B细胞、CD3+T细胞和CD14+单核细胞)中通过多参数流式细胞术测量蛋白质赖氨酸乙酰化以探索与PFS之间的联系。

[0303] 统计方法:

[0304] Chia等人报道了使用依西美坦治疗晚期BC(其在经NSAI治疗后显示PD或复发)的中位PFS为3.7个月。假定加入恩替诺特至依西美坦将使得中位PFS增加2.3个月(即,从3.7个月至6.0个月),相应的目标风险比(HR)为0.62。对于主要的PFS分析,需要总共77个进展事件以在 $\geq 80\%$ 的Power值的HR、单侧显著性水平为0.10和对数秩检验下检测这类改善。对于85%Power,需要总共92个事件,而对于90%Power需要112个事件。本研究所选择的初始1型和2型错误率和目标治疗作用的大小与Rubenstein等人和Korn等人提议用于II期筛选研究的那些一致(Rubinstein LV,Korn EL,Freidlin B,et al:Design issues of randomized Phase 2 trials and a proposal for Phase 2 screening trials.J Clin

Oncol 23:7199–7206, 2005; Korn EL, Arbuck SG, Pluda JM, et al: Clinical trial designs for cytostatic agents: are new approaches needed? J Clin Oncol 19:265–272, 2001).

[0305] PFS使用Kaplan-Meier方法描述性总结并基于截至2012年3月的116个进展事件报道。使用安慰剂作为计算中的参考,从分层Cox比例风险模型估算HR。使用通过3个随机化因素分层的对数秩检验,进行组间的主要推理比较。对于在记录PD前死亡的患者,死亡率用作PD率。对于开始非方案确定的抗癌疗法、随访丢失或未记录PD的患者,PFS持续时间在最后一次疾病评价处右删截。多变量Cox模型用于测定在解释了患者、疾病和之前治疗相关的因素后是否仍存在单变量模型中恩替诺特治疗引起的PFS和OS风险比降低。使用意向治疗人群(定义为所有随机患者)进行有效性分析。所有报道的p值是单侧的并使用显著性水平为0.10评价。

[0306] 使用安全性人群(所有接受过≥1次恩替诺特/安慰剂给药的患者)进行安全性分析。通过独立的数据安全监测委员会评价安全性。当用于OS的治疗后随访继续时,所有参与的研究者和患者仍不知道所分配的研究治疗。

[0307] 使用Cox比例风险模型在患者亚组中根据一项探索性、析因分析评估PFS与PBMC中蛋白质赖氨酸乙酰化从基线的变化程度之间的联系。为了结果的一致性,在所有3种细胞类型(B细胞、T细胞、单核细胞)中进行分析,以帮助选择最适的细胞类型以用于将来研究的分析。

[0308] 结果:

[0309] 患者特征:总共130名患者被随机化,64名进入EE组,66名进入EP组(图3和12)。除内脏疾病(53%EE对比(vs)67%EP)、自初次BC诊断的中位持续时间(7.9年EE对比4.6年EP)和自晚期BC诊断的中位持续时间(分别为19.5个月对比17.2个月)外,治疗组大体上是均衡的。

[0310] 在随机的130名患者中,85名(EE=45,EP=40)符合NSAI敏感性(1名在辅助NSAI后进展,和84名在转移性NSAI后进展)的研究特定定义(见终点)且45名(EE=19,EP=26)为NSAI耐药性(18名在辅助NSAI治疗后进展,和27名在转移性NSAI治疗后进展)。

[0311] 有效性:在ITT人群中,EE组中位PFS为4.3个月,EP组中位PFS为2.3个月,HR=0.73;95%CI 0.50,1.07;p=0.055(显著性根据预先规定的设计标准)。支持EE的PFS益处在所有预后重要性亚组中是一致的,包括具有获得性耐药性(NSAI-敏感性;HR=0.85;n=85)和原发耐药性(NSAI-耐药性;HR=0.47;n=45)的患者。对于EE组和EP组,OR和CBR是相似的(OR分别为:6.3%和4.6%;CBR分别为:28.1%和25.8%)。中位OS为28.1个月(EE组)和19.8个月(EP);HR 0.59;CI 0.36,0.97;p=0.018,关于死亡率,EE组为42%,EP组为65%。多变量分析指示,当调整基线因素包括内脏疾病和晚期BC诊断的持续时间时,维持了EE组相对EP组更有利的PFS和OS结果。

[0312] 安全性:安全性人群总共有129名患者(EE=63,EP=66)。一名EE组患者在接受治疗之前退出研究。不考虑研究药物的关系,与EP组相比,EE组具有更高的AE率(95%对比85%),3级AE(44%对比23%),4级AE(6%对比3%),引起给药调整的AE(35%对比6%),和引起研究中断的AE(11%对比2%)。引起大多数EE给药调整的AE包括中性粒细胞减少(14%)、血小板减少(14%)和疲劳(6%)。引起EE研究中断的AE包括恶心和呕吐(n=2)、中

性粒细胞减少( $n=1$ )、四肢虚弱加重( $n=1$ )、缺氧和放射性肺炎( $n=1$ )、疲劳( $n=1$ )和粘膜炎( $n=1$ )。在EP组中,1名患者由于疲劳、贫血、血小板减少和白细胞减少中断研究。恩替诺特AE特点与此前的临床经验一致。发生于EE组的最常见(>15%的患者)AE为疲劳、恶心、中性粒细胞减少、外周性水肿、呕吐、贫血、呼吸困难、血小板减少、体重下降、腹泻和疼痛。中性粒细胞减少最常归因于恩替诺特(13/19病例,68%)。严重AE发生率相似(EE=16%,EP=12%)。4名(6%)EE组患者各自经历了4级AE,包括疲劳、白细胞减少、中性粒细胞减少和高钙血症。各治疗组分别发生了一例致死性AE;EE组事件被认为与PD有关。

[0313] 生物标记分析:如图16所示在49名患者(EE=27,EP=22)亚组中获得第1周期治疗前后的样本。基线特征与整个研究人群一致(图17)。在EE组患者中,高度乙酰化与延长的中位PFS相关,所测试的所有细胞类型一致(图18):对于低乙酰化者,8.5个月对比2.7个月(HR=0.32,95%CI 0.13,0.79)(B细胞);对于低乙酰化者,6.6个月对比3.6个月(HR=0.44,95%CI 0.18,1.08)(T细胞);而对于低乙酰化者,6.2个月对比3.6个月(HR=0.50,95%CI 0.21,1.20)(单核细胞)。在用于乙酰化评估的时间点的血浆恩替诺特浓度通常等于分析检测限或低于分析检测限(<0.5ng/mL),以防止恩替诺特浓度和乙酰化状态的相关性。基于最后一次获得的样本测定乙酰化从基线的百分比变化。然后使用基于非模型的方法将乙酰化的变化程度二分为“高”(即,高于中位数或“高度乙酰化者”)亚组和“低”(即,低于中位数)亚组:从基线的变化大于或等于整体分布的第50百分位数(中位数)的患者被分配到“高”组;具有变化小于第50百分位数的患者被分配为“低”组。分析的切入点(第50百分位数)是之前测定的,但不是基于早期研究的发现。

[0314] 发现在恩替诺特高度乙酰化组,无进展生存期最大(图19)。如图20所示,对于B细胞分析,EE组高乙酰化患者的PFS为8.5,而EP组高乙酰化患者为1.9,EE组低乙酰化患者为2.7,而EP组低乙酰化患者为1.8。在T细胞和单核细胞分析中看到相似的结果。

[0315] 图21和22提供了不良事件相对于乙酰化状态的分析。

[0316] 图25提供了恩替诺特和依西美坦的给药时间线和获得用于乙酰化分析样品的时间。图26提供了乙酰化水平变化相对于PFS的分析。图27显示了单核细胞、B细胞和T细胞组织类型的蛋白质赖氨酸乙酰化从治疗前水平的平均百分比变化。图28提供了单核细胞、B细胞和T细胞组织类型治疗组群的PFS的Kaplan-Meier图。发现EE组高乙酰化患者的PFS最大。图29提供了B细胞组织样品治疗组群的PFS的Kaplan-Meier作图,且发现EE组高乙酰化患者的PFS最大。图30提供了PFS相对于EE和EP组群百分比变化的分析。图31提供了就临床结果而言在疗程中乙酰化趋势的分析。在第一次给药后维持或增加乙酰化水平的患者获得更大的临床受益。图32解释了在疗程中维持乙酰化水平是临床受益的关键且其可能在两周治疗后确认应答者。图33提供了发现蛋白质赖氨酸乙酰化与更长的无病生存期有关的总结。

[0317] 综上所述,添加恩替诺特至依西美坦延长经NSAI治疗后进展的患有ER+晚期BC的绝经后女性的PFS和OS。本研究的关键发现是EE组对比EP组观测到的OS获益(28.1个月对比19.8个月;HR 0.59[95%CI 0.36,0.97] $p=0.018$ )。这些结果第一次表明添加表观遗传疗法(epigenetic therapy)(即,恩替诺特)至抗雌激素疗法是一种有效的靶向BC(尤其是激素阳性疾病)耐药性通路的方法。尽管恩替诺特向激素疗法增加了毒性,但它被认为对该患者人群具有可接受的安全性。更重要的是,第一次在患者亚组中证明了HDAC抑制与经恩替诺特诱导的蛋白质赖氨酸乙酰化作用和改善的临床结果有关。

**[0318] 实施例2**

[0319] 背景:尽管存在有希望的临床前数据和广泛的临床测试,尚未证明组蛋白脱乙酰基酶抑制剂(HDACi)作为单一药剂或以组合在实体瘤中有显著的活性。即使在HDACi已经被证明是有效的适应症(或状况)例如皮肤或外周T细胞淋巴瘤中,仍不可能确认那些最可能获益的患者,因为未发现结果与乙酰化之间的相关性。

[0320] 根据ENCORE-301(依西美坦(有和无HDACi恩替诺特)在绝经后乳腺癌患者(n=130)中最近完成的一项随机的、II期安慰剂对照研究)获得的患者样品的药效学(PD)分析,表明HDACi诱导的赖氨酸高度乙酰化与改善的临床结果有关。

[0321] 方法:通过多参数流式细胞术,在第1周期的治疗前、D1、D8和D15从经依西美坦+恩替诺特(EE)或依西美坦+安慰剂(EP)治疗的患者采取的样品中测量循环B细胞(B)、T细胞(T)和单核细胞(M)中蛋白质赖氨酸乙酰化。计算百分比变化并将其与无进展生存期(PFS)结果数据相关联。不依赖于治疗组的高度乙酰化被定义为各细胞类型高于计算的中位百分比变化的百分比变化增加。

[0322] 结果:在49名患者亚组(EE=27;EP=22)中获得治疗前后的样品。观察该亚组的基线特征,表明它们似乎与整个人群一致。EE与EP中所有细胞类型的高乙酰化与延长的中位PFS有关(B:8.54个月对比1.92个月;HR=0.24(95%CI 0.081,0.690);T:6.57个月对比1.77个月;HR=0.24(95%CI 0.087,0.640);M:6.21个月对比1.87个月;HR=0.50(95%CI 0.211,1.203))。总生存期的初步趋势也支持EE高度乙酰化组。用于恩替诺特血浆浓度测量的样品指示用于PD分析的D8和D15时间点的恩替诺特水平通常等于分析检测限或低于分析检测限(<0.5ng/ml),防止产生乙酰化增加和恩替诺特浓度的相关性。在ENCORE-301安全性人群(n=129)中在49名患者生物标记患者亚组中各治疗组间具有10%或更大差异的不良事件的表征,指示在EE组中血小板减少发生率可能与高度乙酰化有关而其它不良事件包括疲劳的发生率似乎与高度乙酰化不相关。

[0323] 结论:这些数据第一次提供了HDACi诱导的蛋白质赖氨酸高度乙酰化与临床结果的清楚联系。若干因素可促成成功地证明该联系,包括随机的、对照研究设计,ENCORE-301的正面结果和允许测量总体蛋白质赖氨酸乙酰化变化的敏感性药效学分析。结合ENCORE-301总体正面结果(中位PFS:EE vs EP为4.28个月vs 2.27个月,HR 0.73(95%CI 0.49,1.09);和中位随访18个月的OS:EE vs EP为26.9个月vs 20.3个月,HR 0.56(95%CI 0.31,1.02)),这些数据为表观遗传疗法扩展至实体瘤的潜在突破提供了证据。

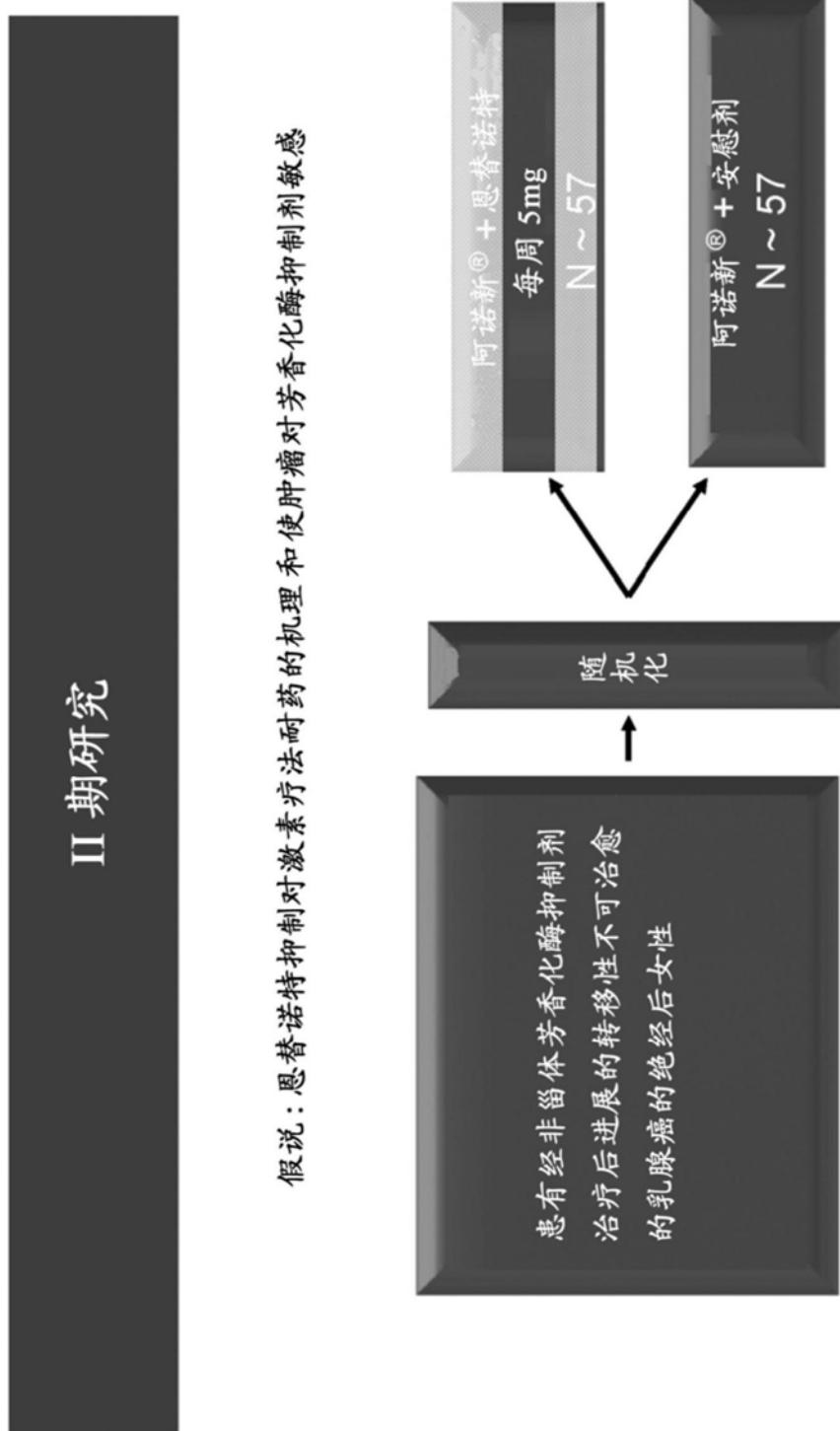


图1

## 关键纳入标准和分层

- 绝经后
- 确认的 ER + 乳腺癌
- 在转移性疾病中允许一种之前的化疗
- 之前经给予非甾体 AI 作为辅助疗法治疗至少 12 个月后复发的
- 或
- 之前经非甾体 AI 治疗至少 3 个月后进展的晚期疾病患者
- 分层以确保至少 80% 患者具有确认的可测量的疾病（以 EFECT 研究为模型）

图2

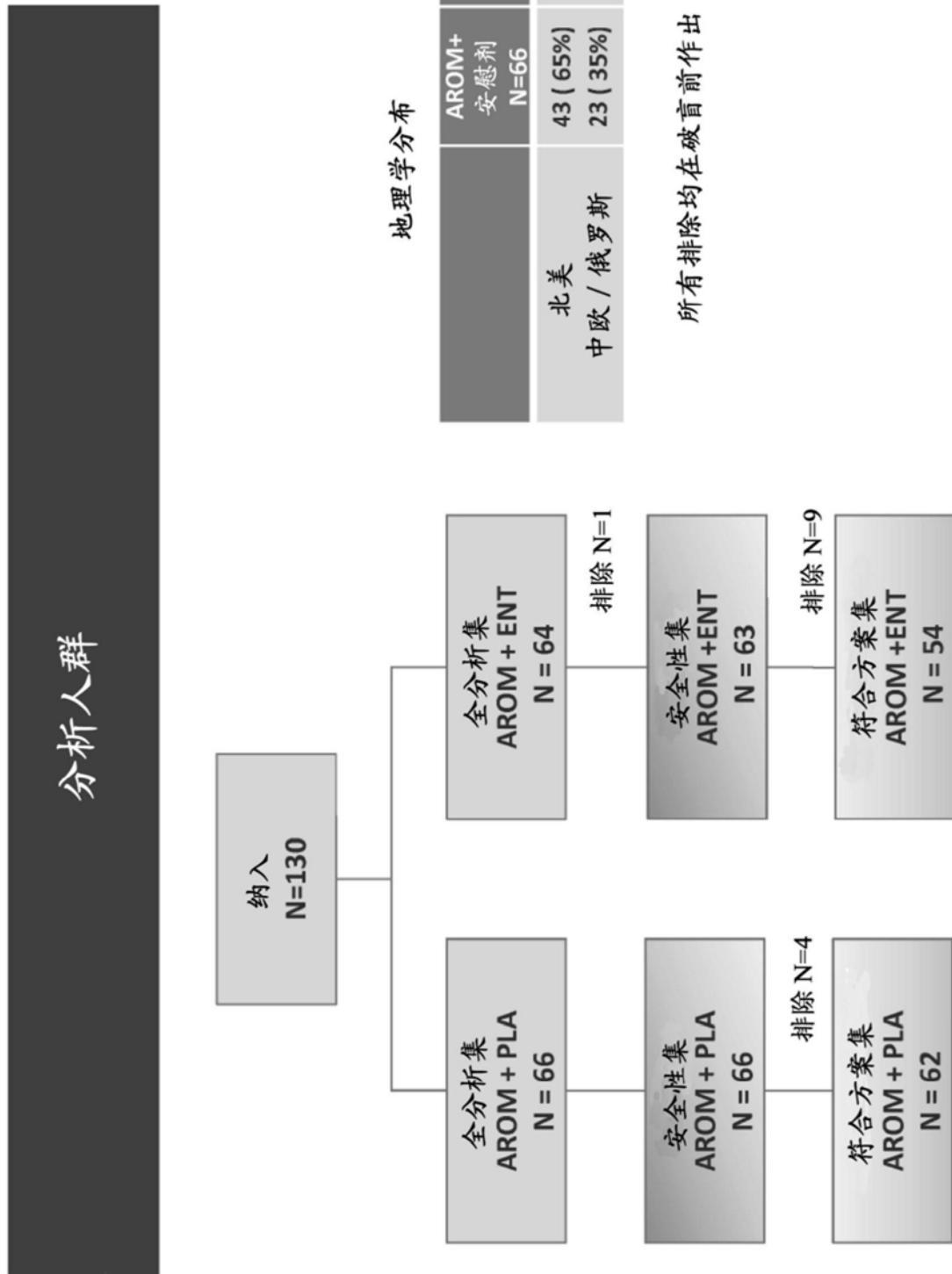


图3

### III 期 EFECT 研究中的患者反映

		EFECT 研究 <sup>1</sup> 阿诺新组 <b>N=342</b>	ENCORE-301 <sup>2</sup> 阿诺新 + 安慰剂 <b>N=66</b>	ENCORE-301 <sup>2</sup> 阿诺新 + 恩替诺特 <b>N=64</b>
年龄(岁)		中位数 <65 ≥65	63 57% 43%	62 61% 39%
转移的位点 <sup>3</sup>		骨 肺 肝 淋巴结	66% 36% 32% 34%	71% 27% 45% 48%
		牵涉内脏	58%	67%
疾病的敏感性 <sup>4</sup>		AI- 敏感性疾病 AI- 耐药性疾病	61% 39%	61% 39%
之前的方法		最后一次 AI 作为辅助疗法 最后一次 AI 用于晚期疾病	14% 86%	14% 86%
		化疗用于晚期疾病	22%	32%
WHO/ECOG 行为状况		0 (正常活动) 1 (限制性活动) 2 (≥50% 时间卧床)	53% 44% 4%	76% 24% -
		可测量的疾病	79%	82%
				81%

<sup>1</sup> Chia et al, JCO 2008; <sup>2</sup> 全血析集 <sup>3</sup> 患者可具有 >1 处转移 <sup>4</sup> 激素敏感性定义为之前(最后一次)使用 AI 治疗 ABC 的过程中 CR、PR、SD>6 个月。所有其它患者, 包括那些接受 AI 作为辅助疗法的所有患者, 定义为 AI 耐药性。

## Hit 1° 终点 - 无进展生存期

意向治疗人群

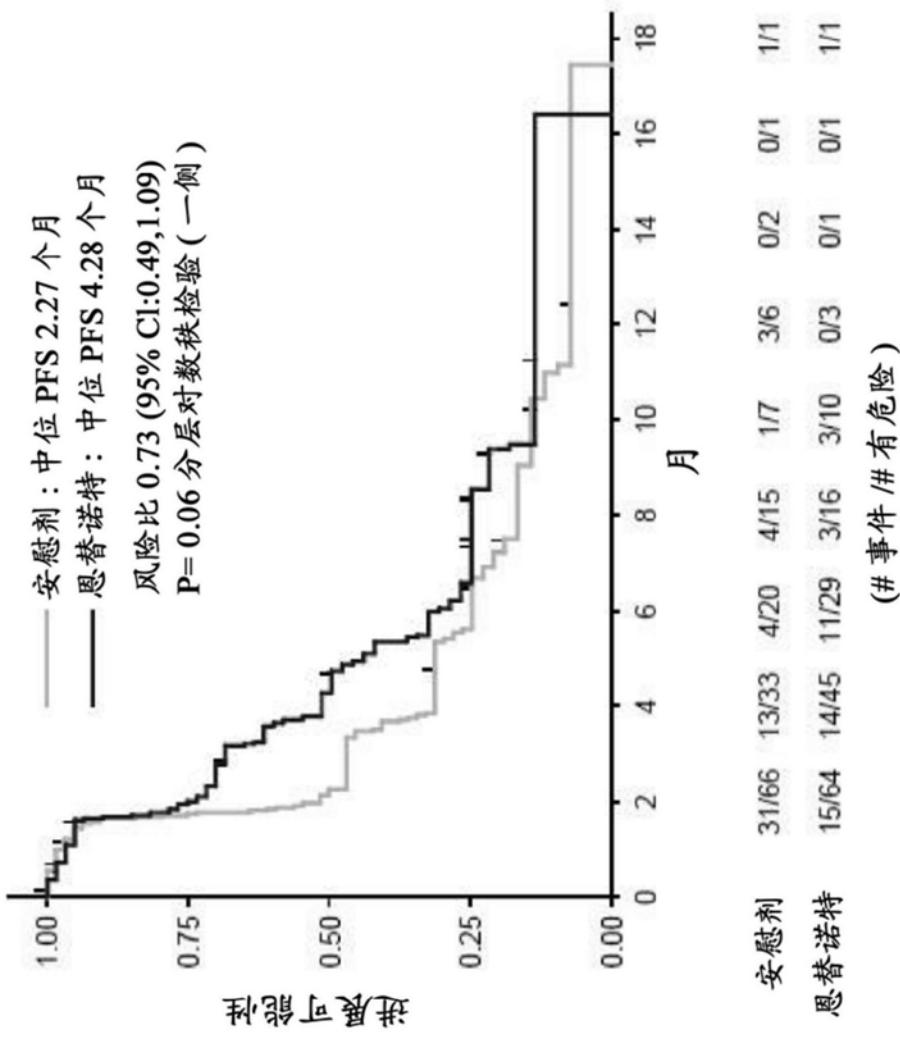


图5

## 激素耐药性患者可能获益最多

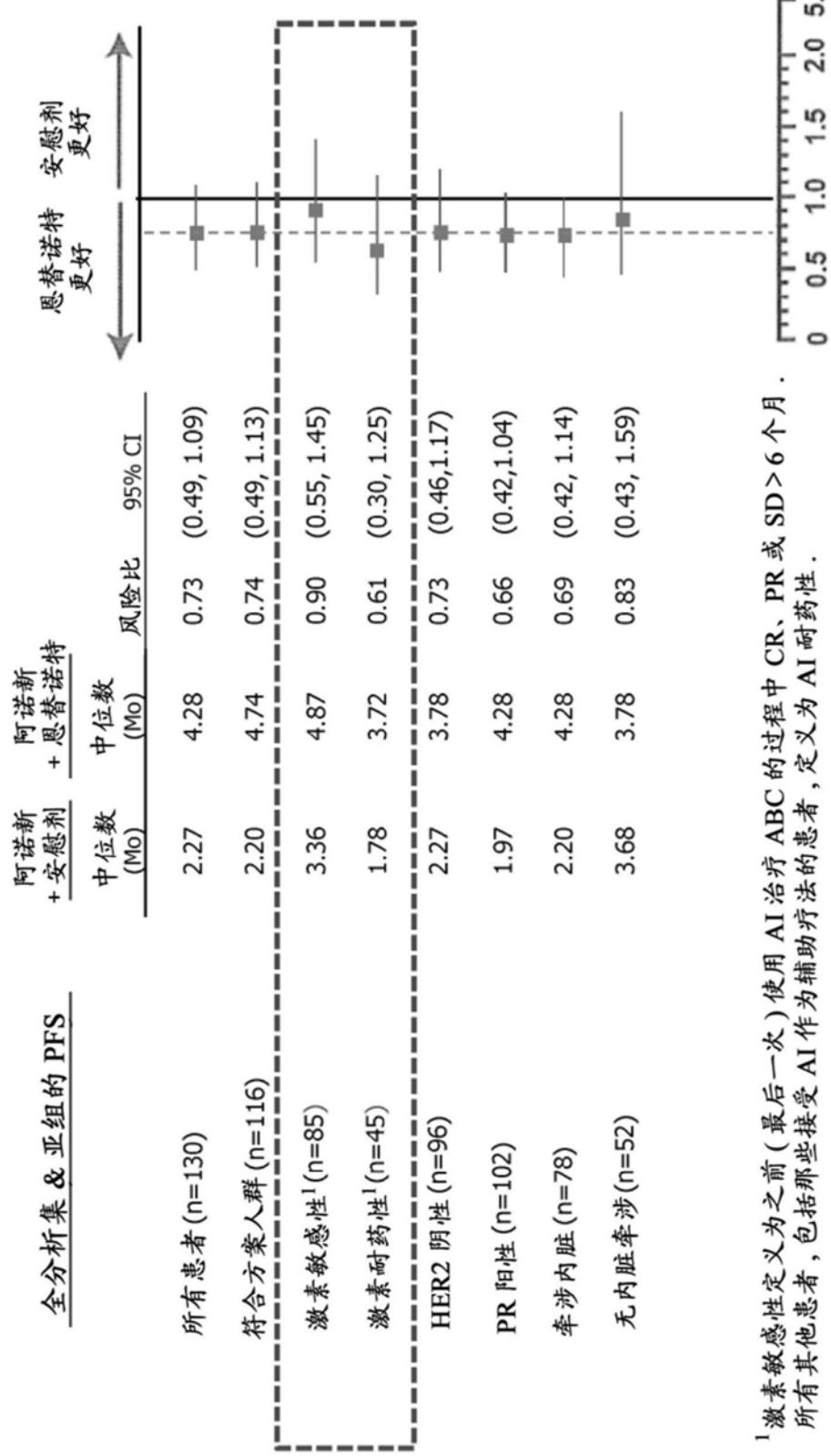


图6

<sup>1</sup> 激素敏感性定义为之前(最后一次)使用AI治疗ABC的过程中CR、PR或SD>6个月。所有其他患者，包括那些接受AI作为辅助疗法的患者，定义为AI耐药性。



治疗组：安慰剂 + 依西美坦

治疗组：恩替诺特 + 依西美坦

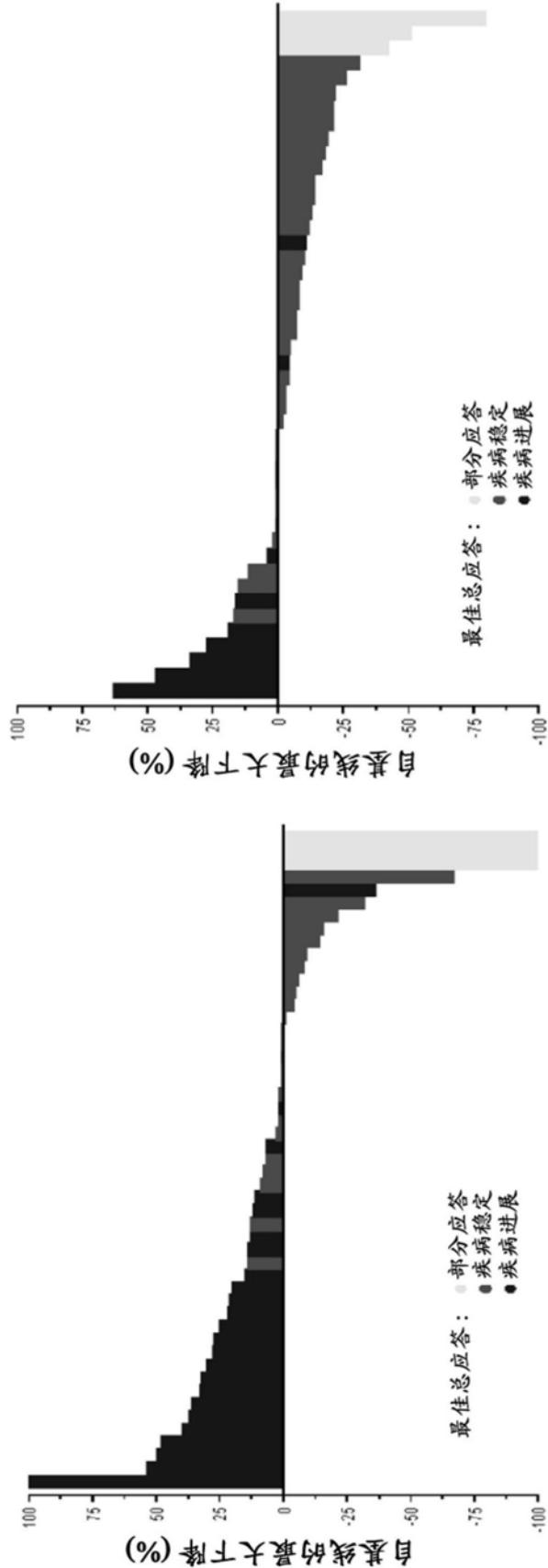


图 7

## 总生存期

### 全分析集

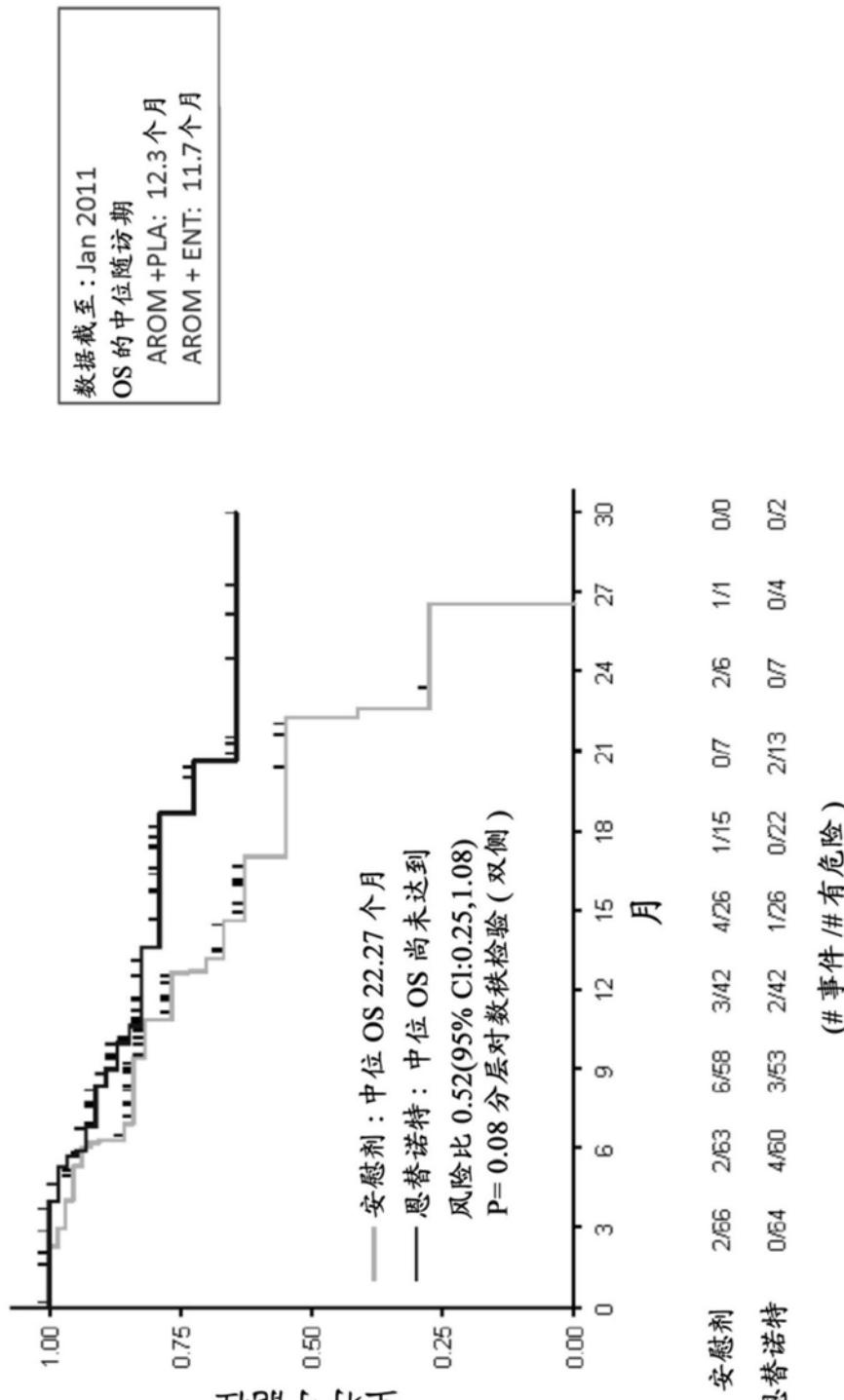


图8

## 最常见的不良事件

阿诺新 + 恩替诺特具有可接受的安全性

不良事件 <sup>1</sup>	AROM + PLA (N=66)			AROM+ ENT (N=63)		
	任何	G3	G4	任何	G3	G4
疲劳	17 ( 26%)	2 3%	-	29 ( 46%)	7 11%	1 2%
恶心	10 ( 15%)	1 2%	-	25 ( 40%)	3 5%	-
体重下降	12 ( 18%)	-	-	11 ( 17%)	-	-
贫血 <sup>2</sup>	8 ( 12%)	1 2%	1 2%	12 ( 19%)	1 2%	-
背痛	11 ( 17%)	1 2%	-	9 ( 14%)	-	-
呼吸困难	7 ( 11%)	-	-	12 ( 19%)	2 3%	-
关节痛	11 ( 17%)	-	-	7 ( 11%)	1 2%	-
腹泻	8 ( 12%)	1 2%	-	10 ( 16%)	-	-
便秘	10 ( 15%)	1 2%	-	6 ( 10%)	-	-
中性粒细胞减少 <sup>2,3</sup>	0 ( 0%)	-	-	16 ( 25%)	7 11%	1 2%
外周性水肿	3 ( 5%)	-	-	13 ( 21%)	-	-
呕吐	3 ( 5%)	-	-	13 ( 21%)	3 5%	-
血小板减少 <sup>2</sup>	4 ( 6%)	-	1 2%	11 ( 17%)	-	-
疼痛	4 ( 6%)	1 2%	-	10 ( 16%)	1 2%	-

图9

<sup>1</sup>任一组发生 > 15%; 安全性人群; 治疗出现的不良事件; 不管是否是治疗引起的。

<sup>2</sup>由综合的 MedDRA 优选术语组成。

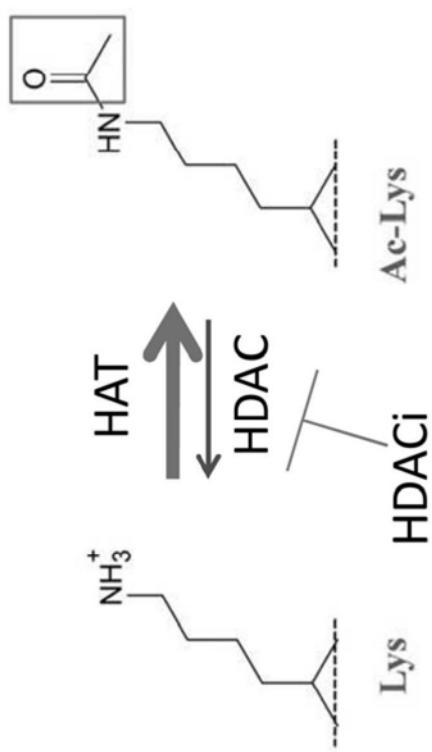
## 总结

- 高质量研究
- 患者人群仿照 EFFECT
- 主要终点符合
- 有利于激素耐药性
- 早期生存数据令人鼓舞
- 大体上被良好耐受

图10

## ENCORE 301- 生物标记引入

- HDAC 抑制剂的作用机制是诱导组蛋白和很多其它蛋白质上的赖氨酸高度乙酰化。



— 目前尚无足够的对照数据证明高度乙酰化可用作临床结果的生物标记

— 我们假设由 HDACi 治疗导致的蛋白质赖氨酸乙酰化自基线增加的 % 越大，其与不具有该增加的患者相比，具有更低的疾病进展风险。

图 11

## ENCORE-301: 验证性 II 期研究

假说：恩替诺特抑制对激素疗法耐药的机理 和使肿瘤对芳香化酶抑制剂敏感

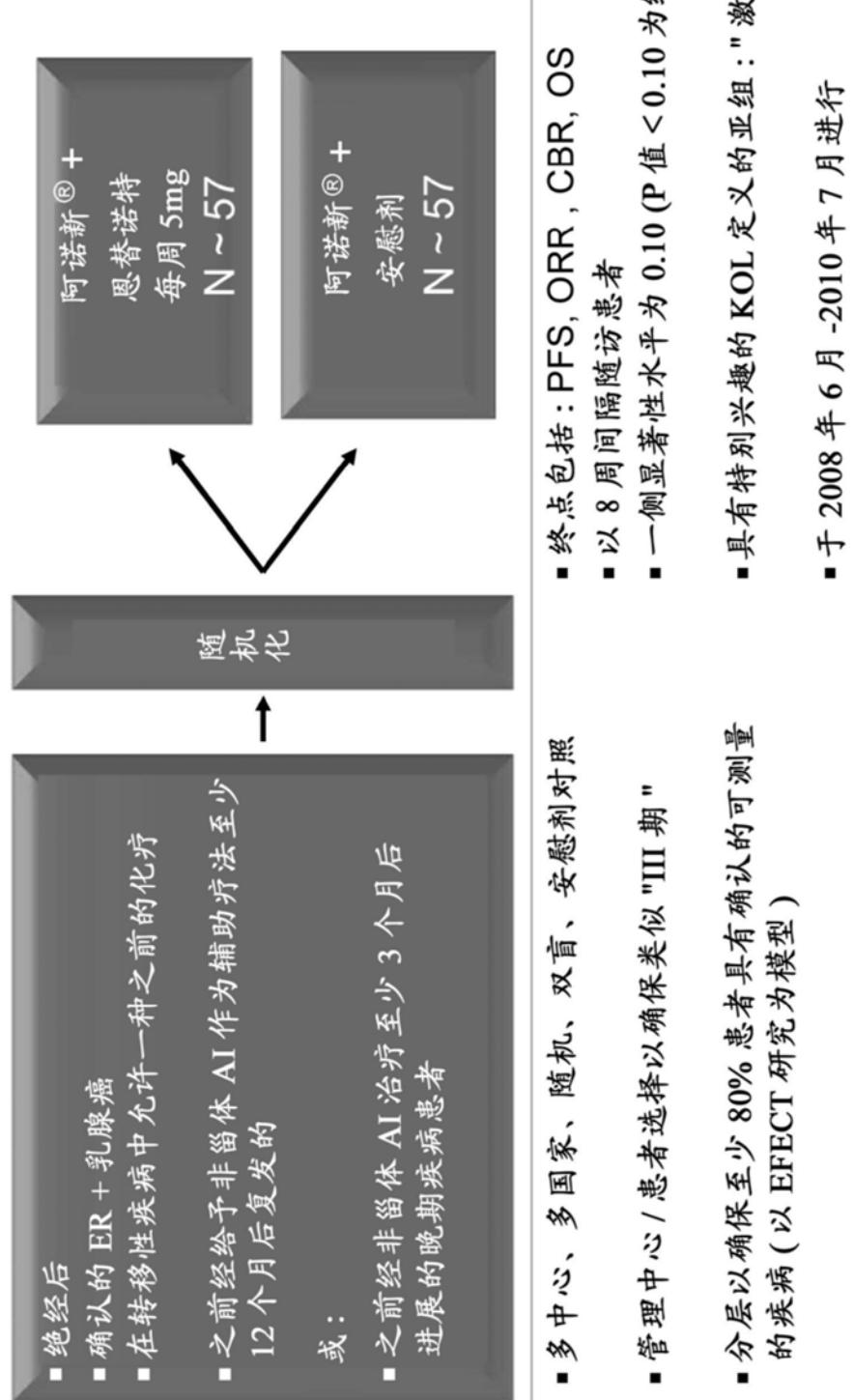


图 12



符合方案人群

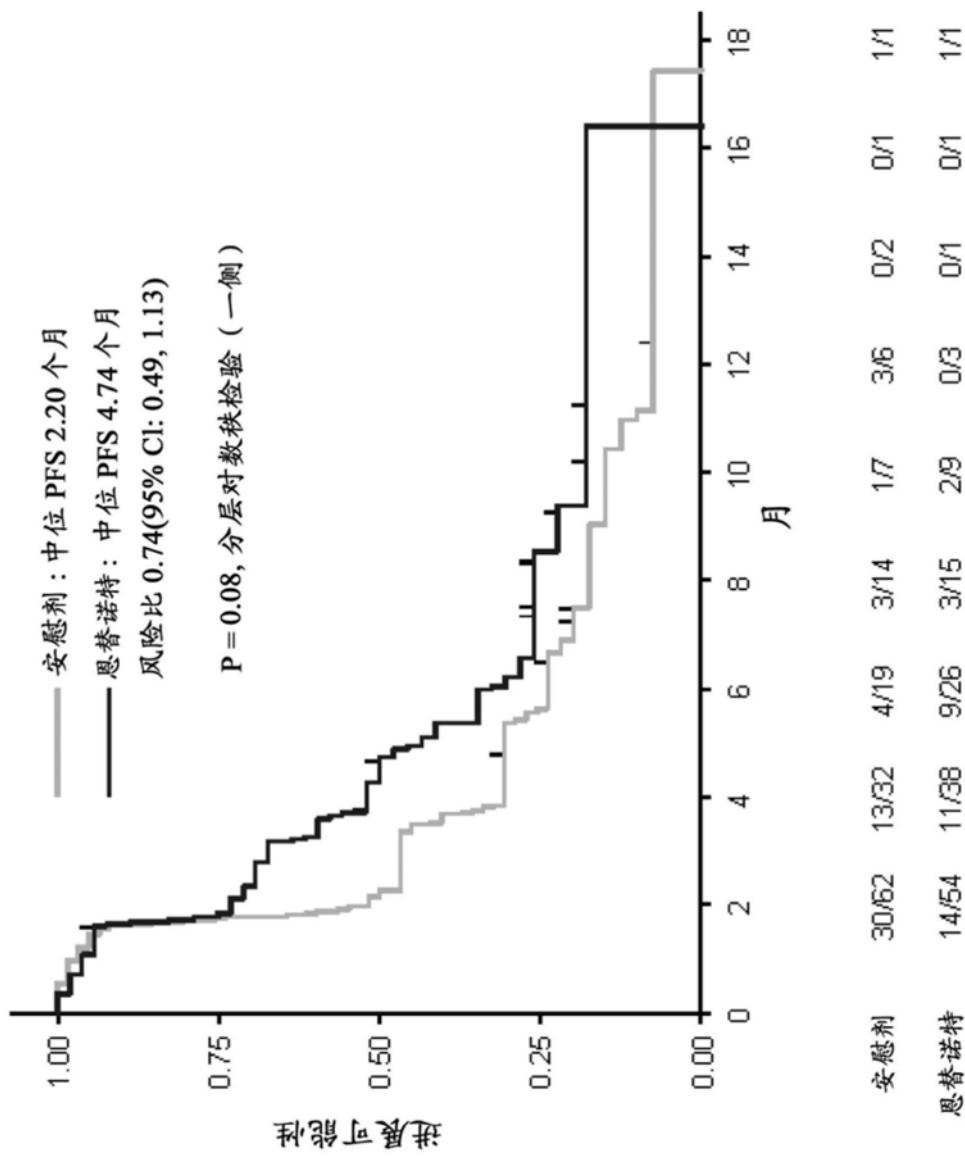
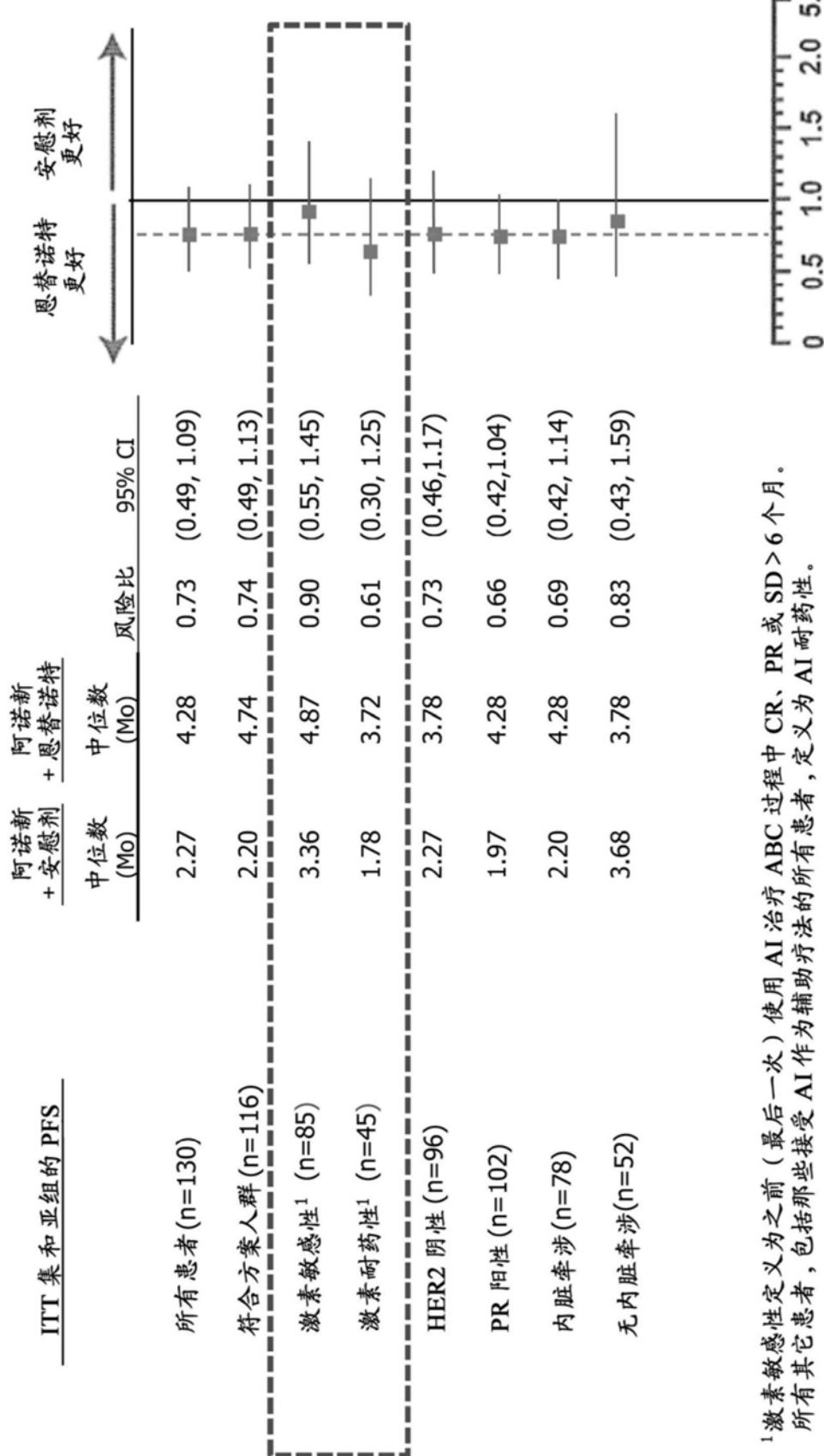


图13

## 激素耐药性患者可能获益最多



<sup>1</sup>激素敏感性定义为之前（最后一次）使用AI治疗ABC过程中CR、PR或SD>6个月。所有其它患者，包括那些接受AI作为辅助疗法的所有患者，定义为AI耐药性。

图 14

## 更新的生存期数据 (ITT)

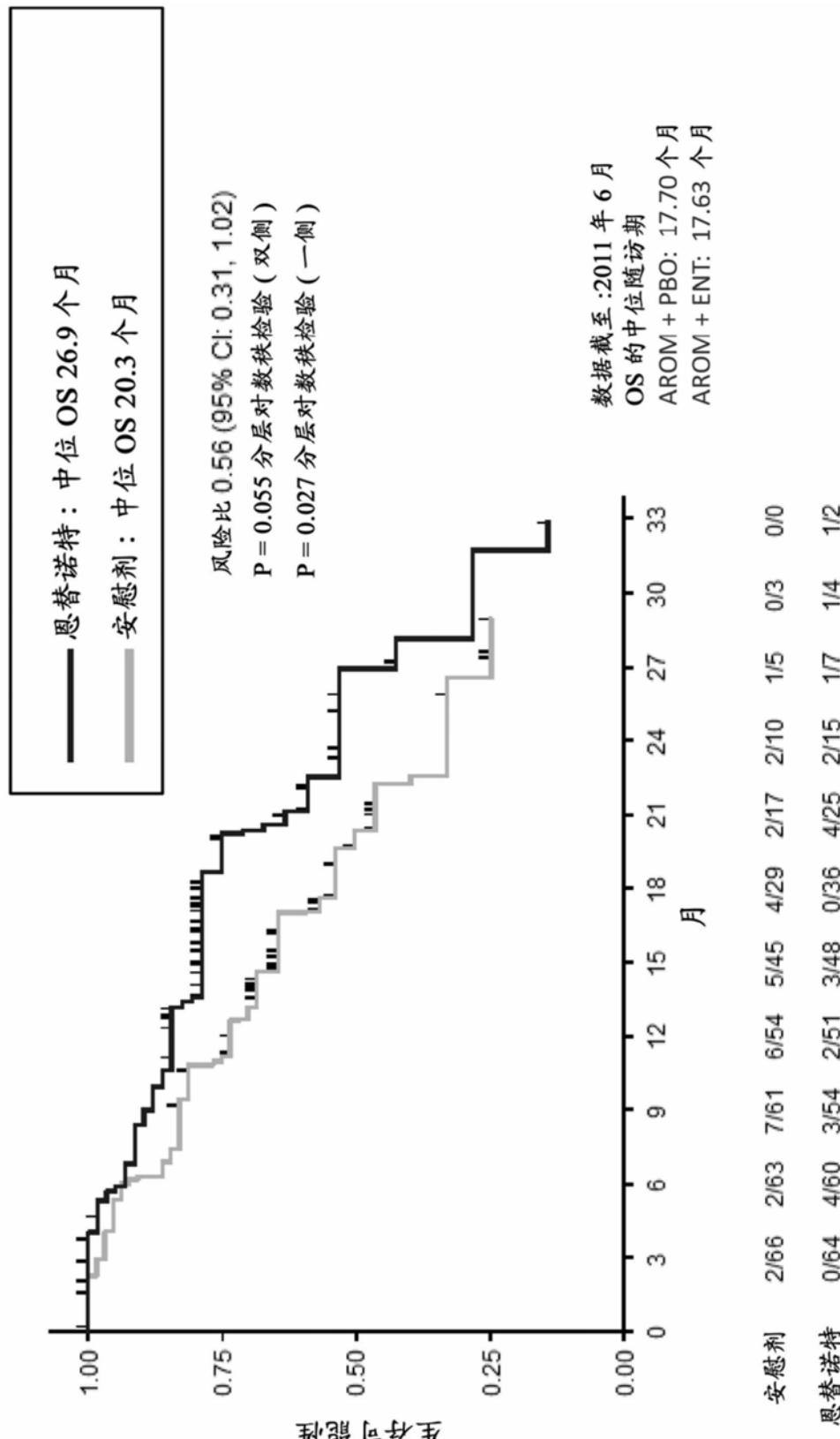


图 15

## 药效学分析

从 ENCORE-301 患者亚组的 PBMC 中测量的蛋白质赖氨酸乙酰化

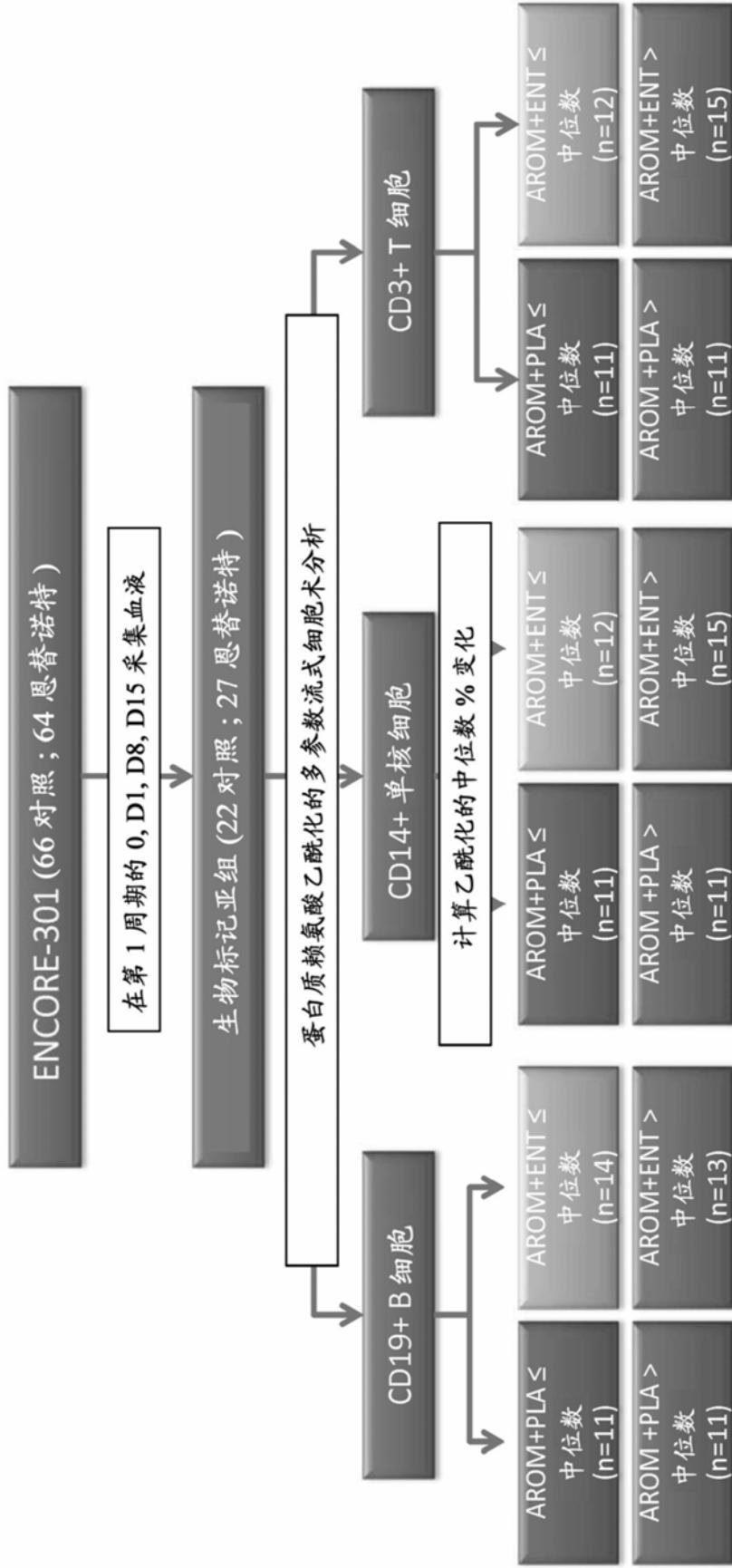
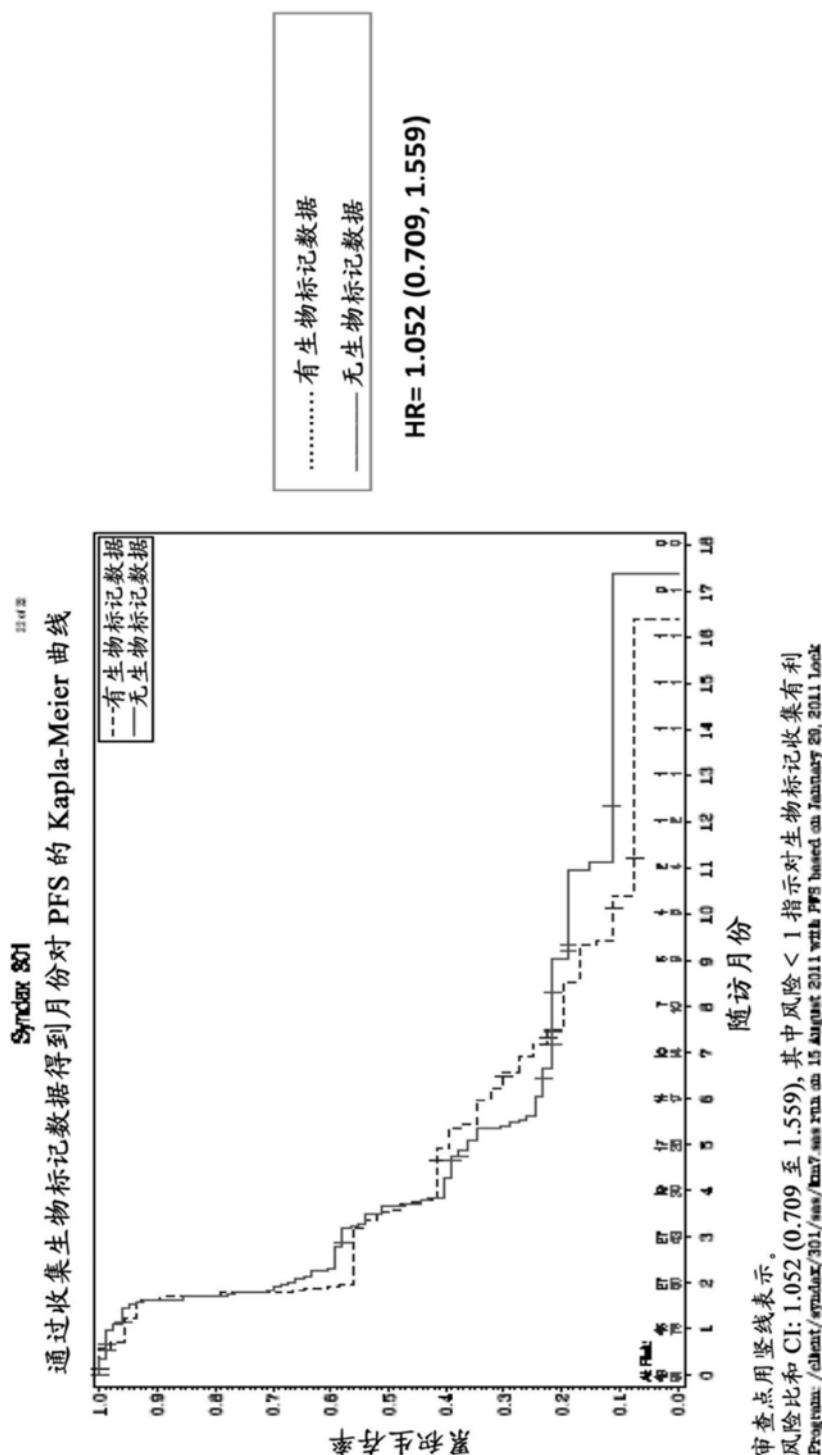


图 16

## 生物标记亚组与 ITT 结果

生物标记亚组的结果反映了全部患者人群的结果



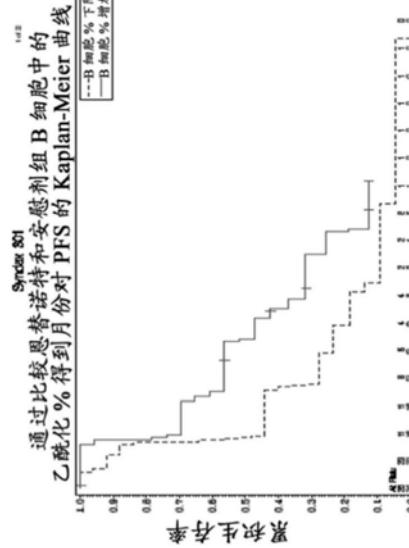
审查点用竖线表示。  
风险比和 CI: 1.052 (0.709 至 1.559), 其中风险 < 1 指示对生物标记收集有利  
Program: /albert/syndax/301/surv/KM7.smn on 15 August 2011 with PFS based on January 20, 2011 look

图 17

## PFS 与蛋白质赖氨酸乙酰化

增加的乙酰化与不依赖治疗的改善的 PFS 相关

### CD19+ B-细胞



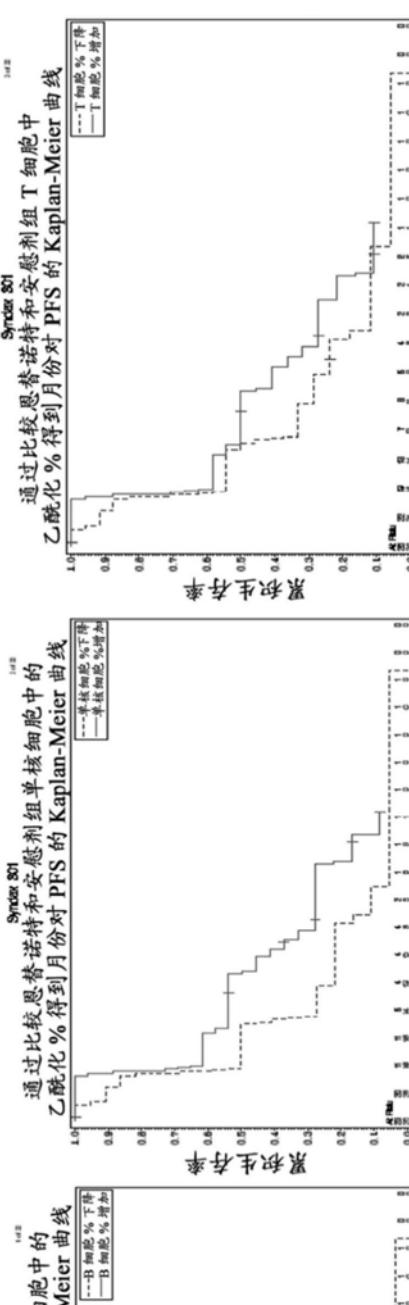
审查点用竖线表示。  
风险比和 CI: 0.556 (0.298 至 1.037), 其中风险 <1 指示相对于下降更有利增加  
PFS。/chart/rmstc/201/ens/PFS survival on 15 August 2011 with PFS based on January 2011 Look  
Prognosis /chart/rmstc/201/ens/PFS survival on 15 August 2011 with PFS based on January 2011 Look

**HR=0.556 (0.298, 1.037)**

**HR=0.609 (0.328, 1.132)**

- ..... % 变化 ≤ 中位数
- % 变化 > 中位数

### CD14+ 单核细胞

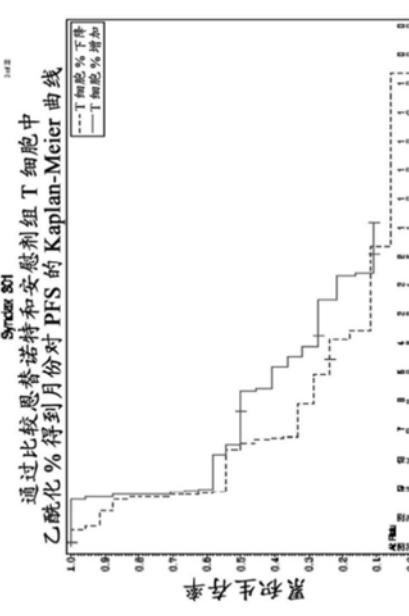


审查点用竖线表示。  
风险比和 CI: 0.609 (0.328 至 1.132), 其中风险 <1 指示相对于下降更有利增加  
PFS。/chart/rmstc/201/ens/PFS survival on 15 August 2011 with PFS based on January 2011 Look  
Prognosis /chart/rmstc/201/ens/PFS survival on 15 August 2011 with PFS based on January 2011 Look

**HR=0.609 (0.328, 1.132)**

**HR=0.750 (0.404,1.390)**

### CD3+ T-细胞



审查点用竖线表示。  
风险比和 CI: 0.750 (0.404 至 1.390), 其中风险 <1 指示相对于下降更有利增加  
PFS。/chart/rmstc/201/ens/PFS survival on 15 August 2011 with PFS based on January 2011 Look  
Prognosis /chart/rmstc/201/ens/PFS survival on 15 August 2011 with PFS based on January 2011 Look

## 恩替诺特高密度乙酰化组的 PFS 最大

通过 HDAC 抑制支持所提出的恩替诺特作用机理

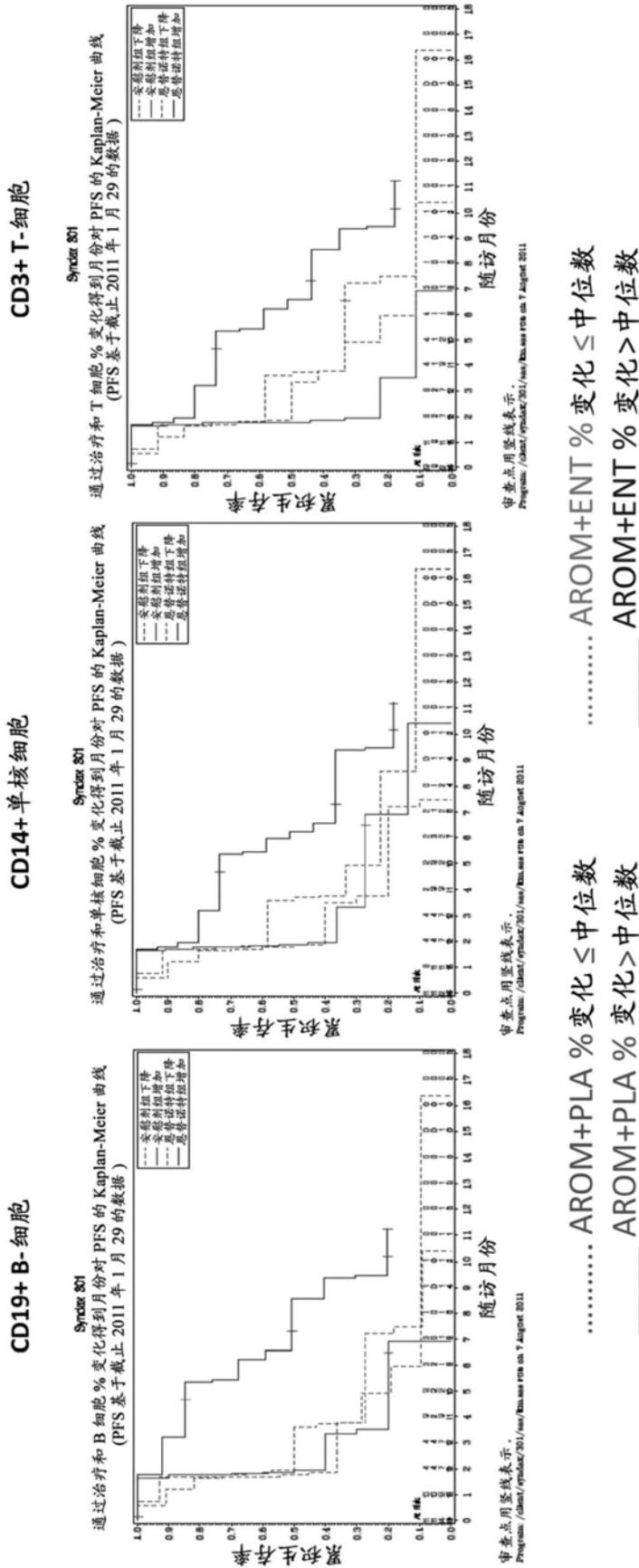


图 19

## AROM + ENT 高度乙酰化的患者 PFS 最大

通过治疗和 B 细胞 % 乙酰化变化得到月份对 PFS 的 Kaplan-Meier 曲线

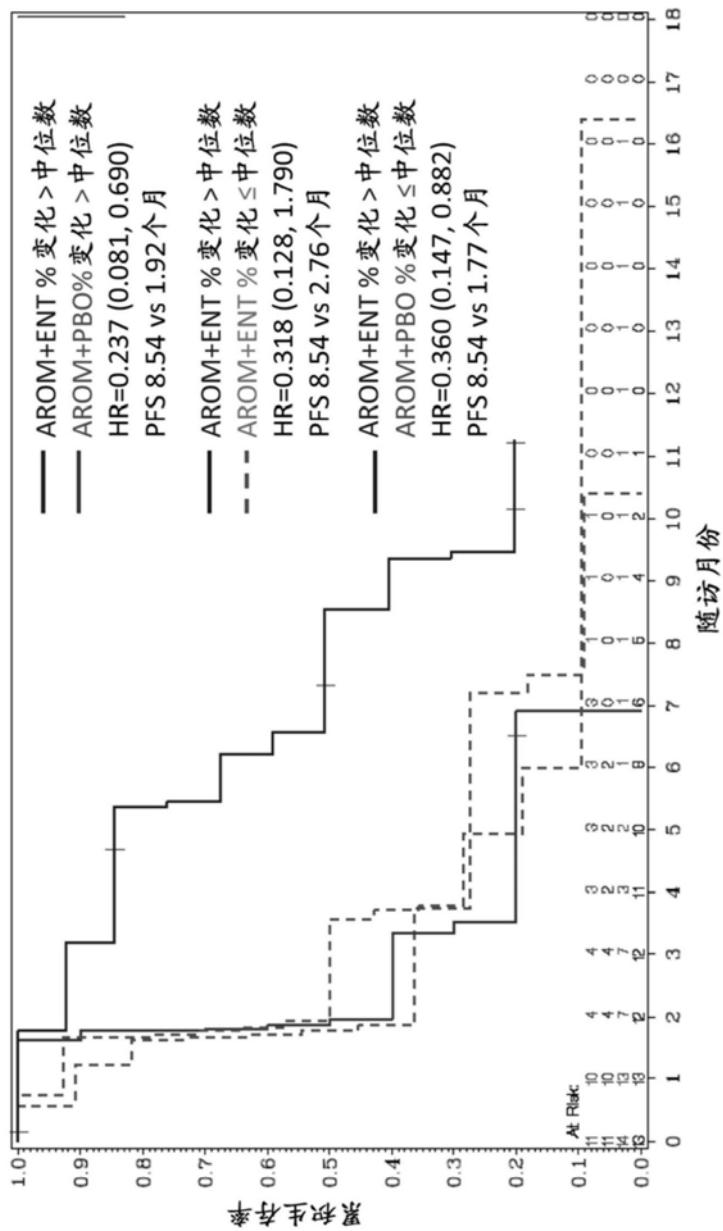


图 20

## AE 与 PD 标记物

在安全性人群中，各治疗组间具有≥10%差异的 AE	AROM+ ENT					
	B- 细胞 (%)		T- 细胞 (%)		单核细胞 (%)	
	下降 N=14	增加 N=13	下降 N=12	增加 N=15	下降 N=12	增加 N=15
疲劳	11 (79%)	9 (69%)	9 (75%)	11 (73%)	9 (75%)	11 (73%)
恶心	9 (64%)	5 (38%)	9 (64%)	5 (38%)	7 (58%)	7 (47%)
中性粒细胞减少组	3 (21%)	5 (38%)	3 (25%)	5 (33%)	4 (33%)	4 (27%)
外周性水肿	3 (21%)	4 (31%)	3 (25%)	4 (27%)	3 (25%)	4 (27%)
呕吐	3 (21%)	2 (15%)	1 ( 8%)	4 (27%)	0	5 (33%)
血小板减少组	1 ( 7%)	6 (46%)	1 ( 8%)	6 (40%)	0	7 (47%)
上述任一	12 (86%)	12 (92%)	10 (83%)	14 (93%)	10 (83%)	14 (93%)

图21

## AE 与 PD 标记物 - 第一个 28 天

在安全性人群中，各治疗组间具有 ≥ 10% 差异的 AE	AROM+ ENT					
	B- 细胞 (%)		T- 细胞 (%)		单核细胞 (%)	
	下降 N=14	增加 N=13	下降 N=12	增加 N=15	下降 N=12	增加 N=15
疲劳	8 (57%)	6 (46%)	6 (50%)	8 (53%)	7 (58%)	7 (47%)
恶心	7 (50%)	2 (15%)	5 (42%)	4 (27%)	4 (33%)	5 (33%)
中性粒细胞减少组	0	1 ( 8%)	0	1 ( 7%)	0	1 ( 7%)
外周性水肿	1 (7%)	1 ( 8%)	1 ( 8%)	1 ( 7%)	1 ( 8%)	1 ( 7%)
呕吐	3 (21%)	1 ( 8%)	1 ( 8%)	3 (20%)	0	4 (27%)
血小板减少组	0 ( 7%)	1 ( 8%)	0	1 (7%)	0	1 ( 7%)
以上任一	10 (71%)	9 (69%)	8 (67%)	11 (73%)	8 (67%)	11 (73%)

图 22

## 总结

- AROM+ENT 高度乙酰化组看到最大治疗作用
- 中位 PFS > 6 个月
- 尽管需要进一步随访，但 OS 趋势与 PFS 获益一致
- 基线特征分析显示无证据表明 AROM+ENT 增加组和 AROM+ENT 下降组间的差异是由两组间的基线不平衡引起的。
- 数据支持 HDACi 的作用机制 - 通过抑制 HDAC 增加蛋白质赖氨酸乙酰化。
- 接受 AROM+ENT 的乳腺癌患者的早期药效学分析可用于选择预期获益最多的患者。

图 23

### 主要终点符合 - 改善的 PFS (ITT)

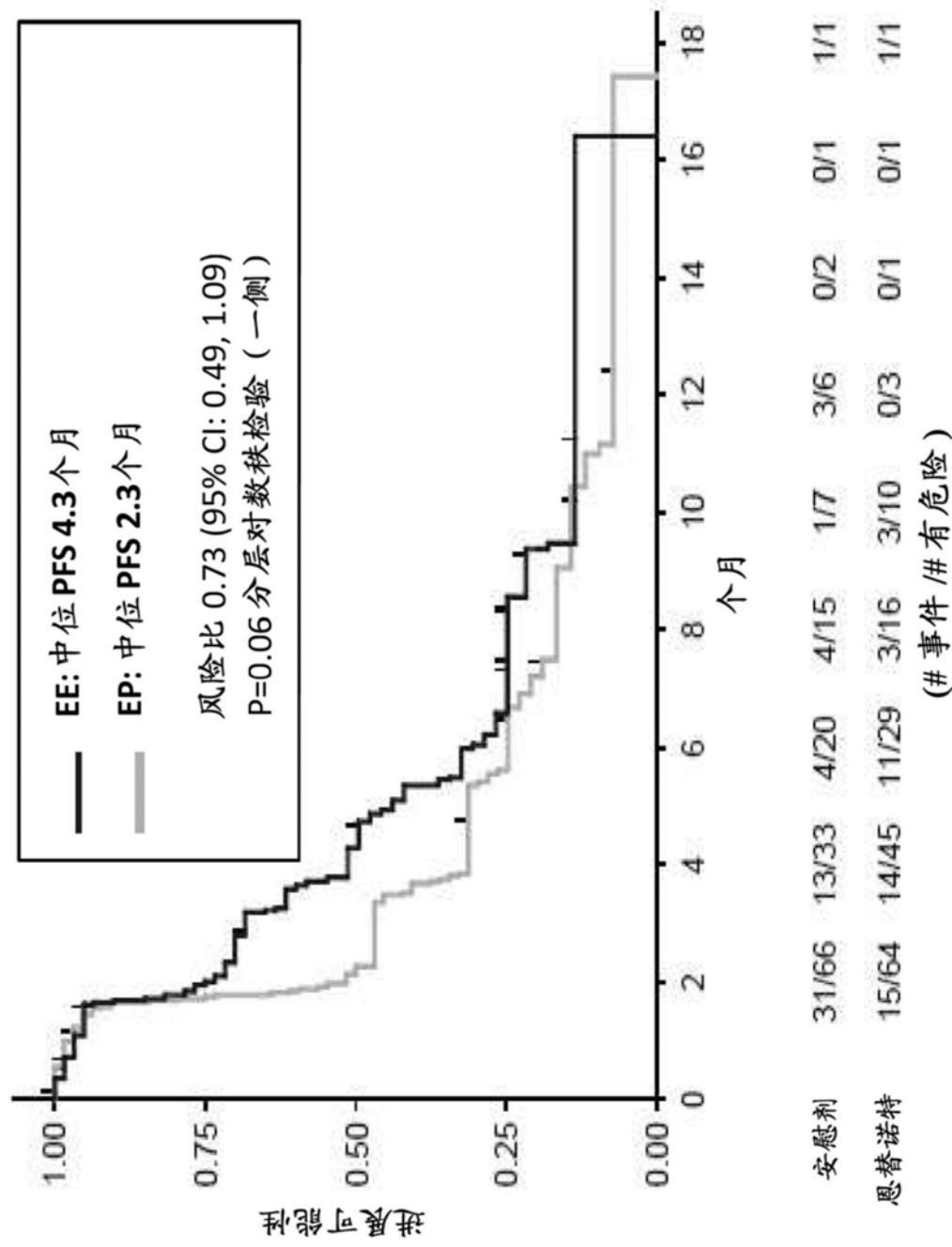


图24

## ENCORE 301 药效学分析

- HDACi 的作用机制是诱导组蛋白和很多其它蛋白质上的赖氨酸高度乙酰化
- 我们假设 HDACi 诱导的高度乙酰化与更低的疾病进展风险相关

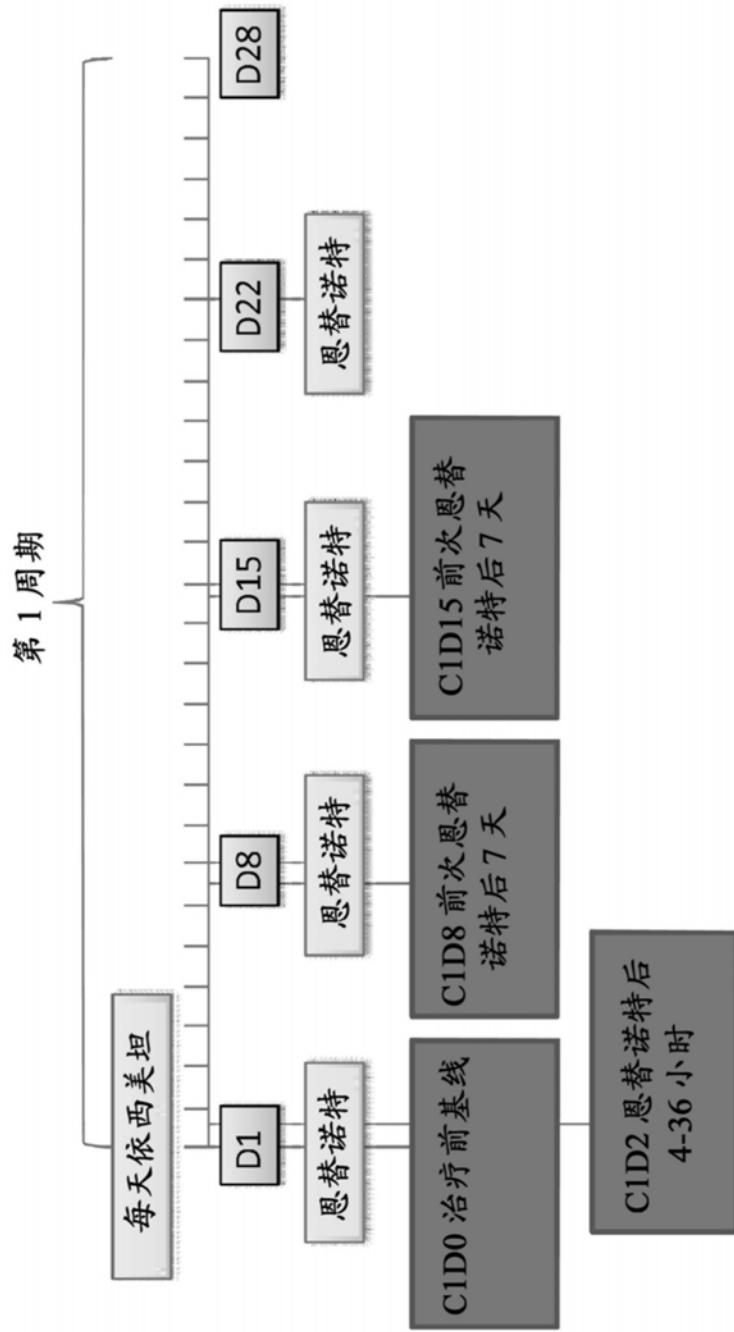


图 25

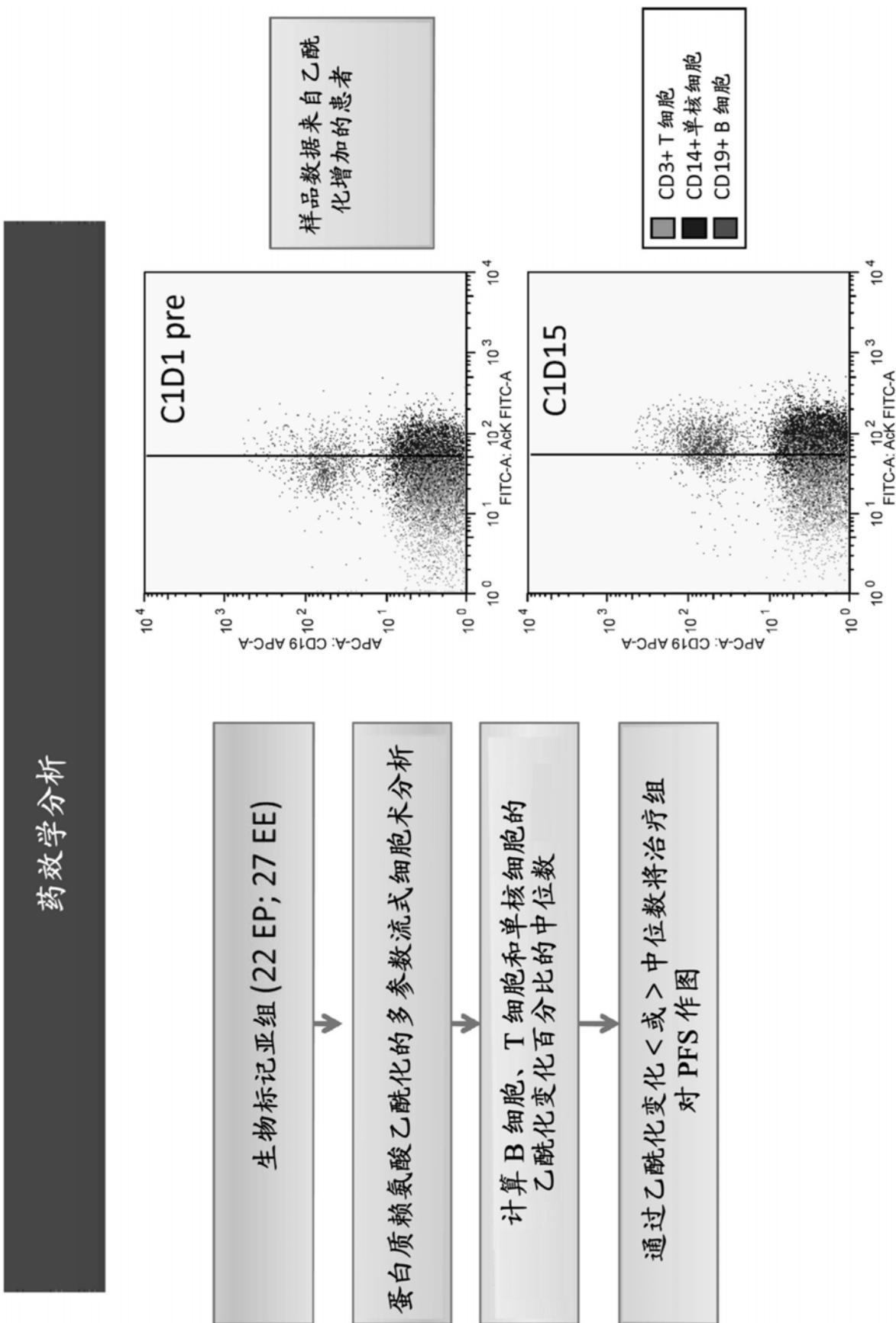


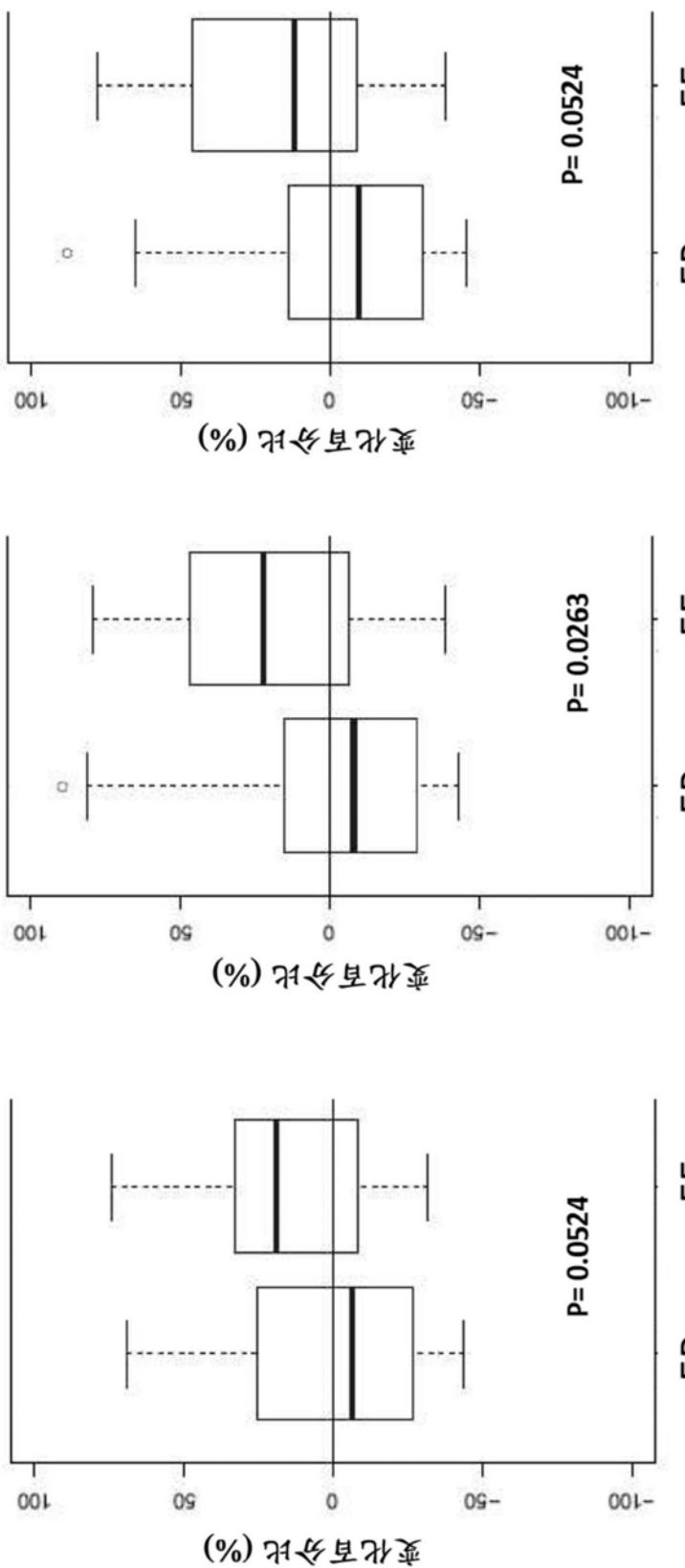
图 26

## ENCORE 301 亚组中乙酰化变化

自治疗前单核细胞平均变化 %

自治疗前 B 细胞平均变化 %

自治疗前 T 细胞平均变化 %



wilcoxon 检验的 P 值用于比较各治疗组

图27

## 恩替诺特高密度乙酰化组 PFS 最大

通过 HDAC 抑制支持所提出的恩替诺特的作用机理

### CD19+ B- 细胞

### CD14+ 单核细胞

### CD3+ T- 细胞

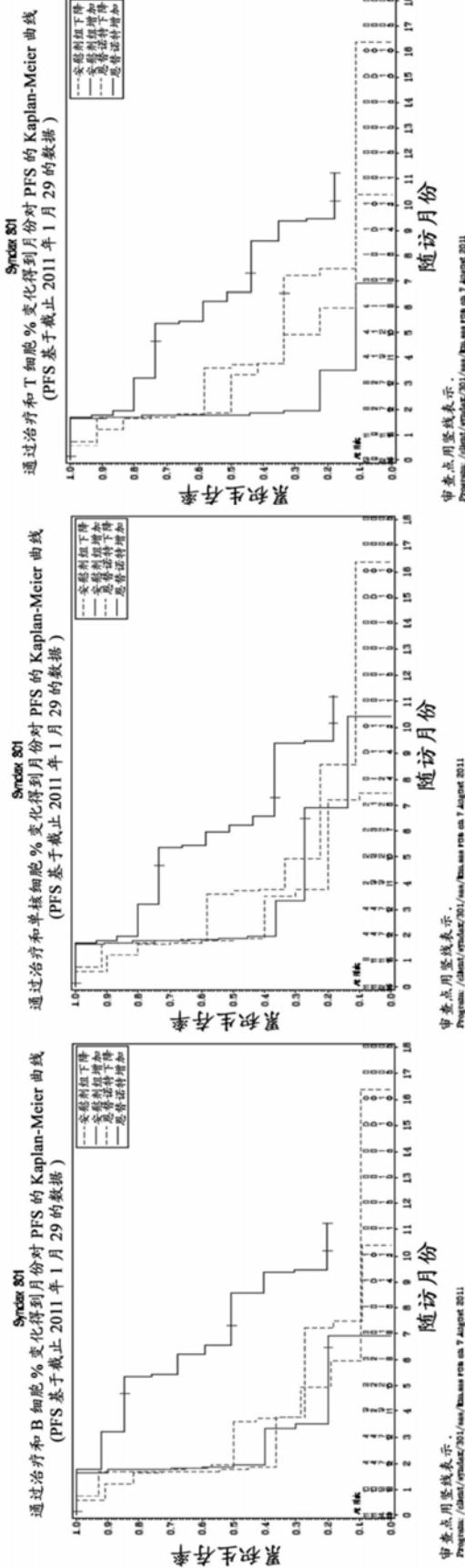
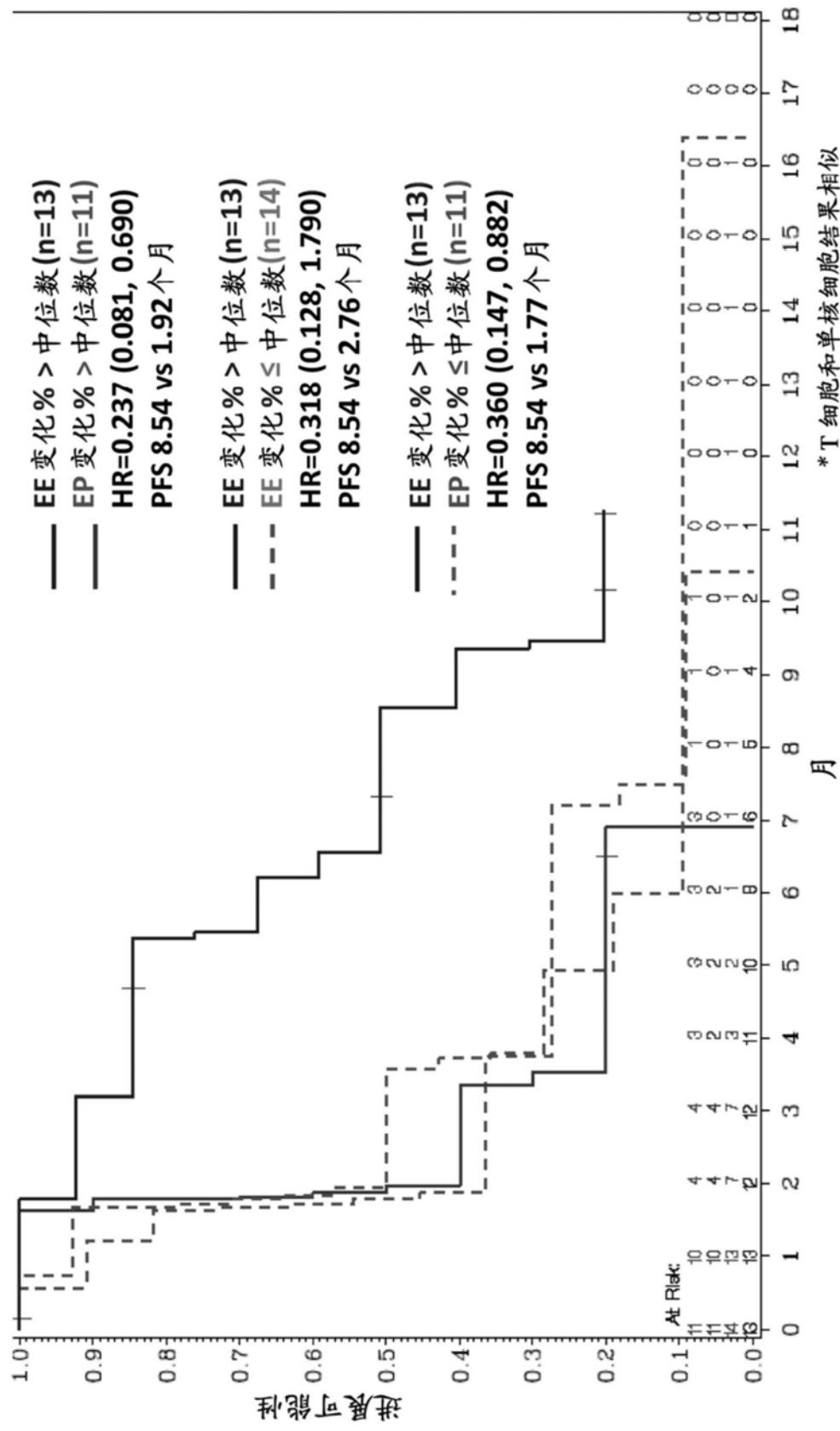


图 28

恩替诺特高  
度乙酰化组 PFS 最大

### 通过治疗和 B 细胞乙酰化百分比变化的 PFS\*



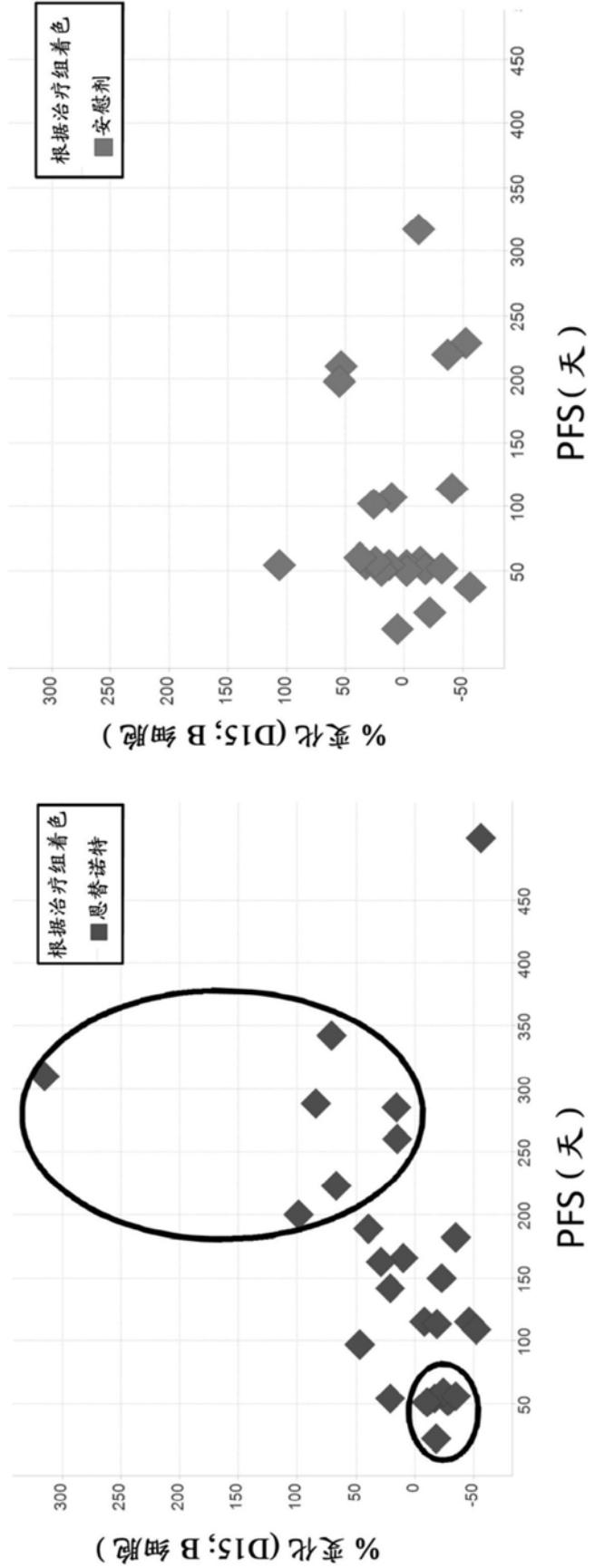
\* T 细胞和单核细胞结果相似

图29

## 与乙酰化水平相关的临床受益

依西美坦 + 恩替诺特

依西美坦 + 安慰剂



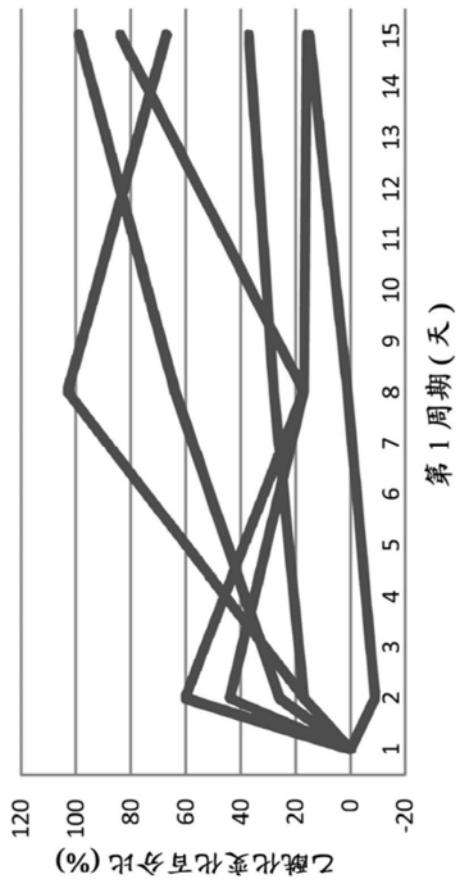
$r = 0.37$   
 $r = 0.63$  排除异常值

$$r = -0.08$$

图 30

## 乙酰化趋势区分应答者

选择的 w/PFS > 6 个月的患者中乙酰化趋势



选择的 w/PFS < 3 个月的患者中乙酰化趋势

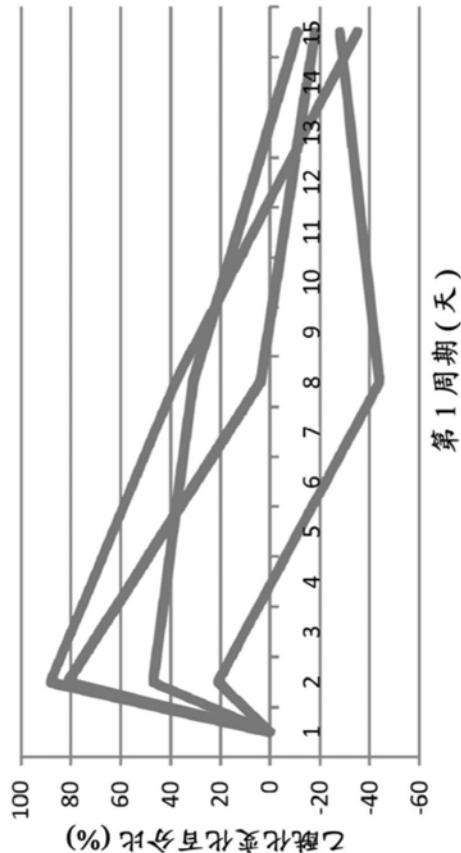


图 31

## 维持乙酰化水平是临床受益的关键

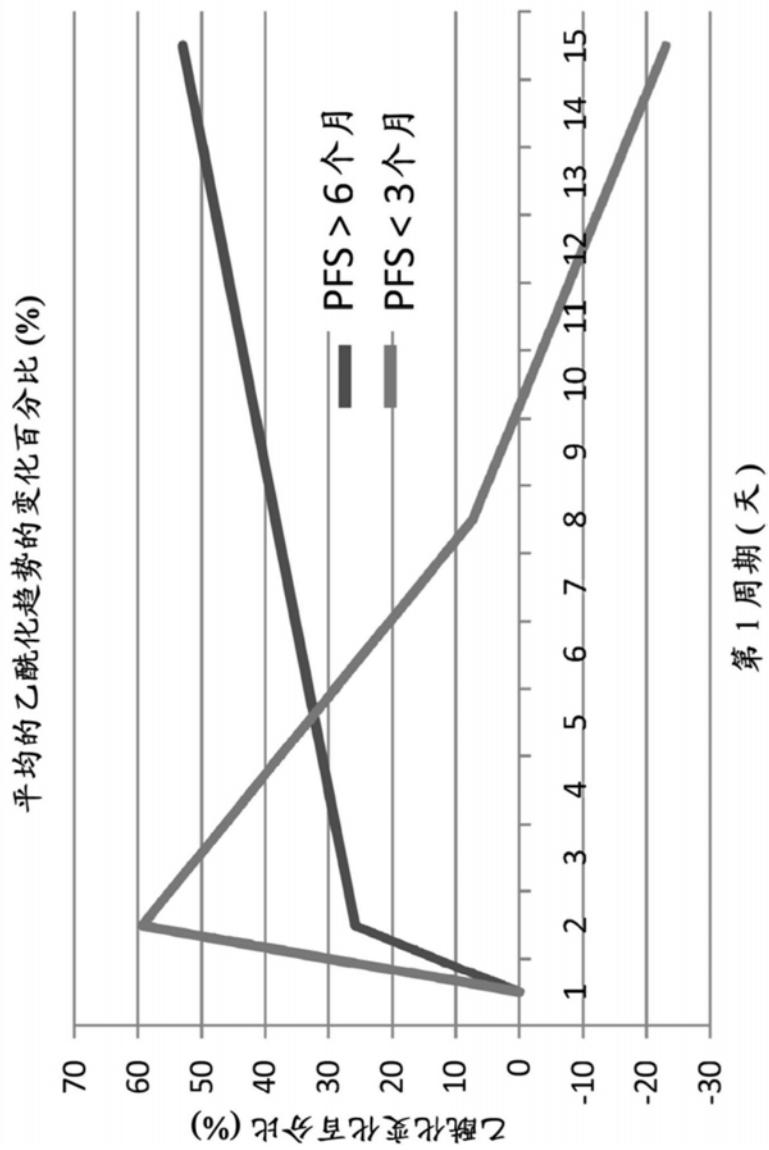


图32

## 促进表观遗传疗法用于乳腺癌

使用表观遗传法治疗乳腺癌的首项阳性对照研究

- 蛋白质赖氨酸乙酰化与更长的无病生存期相关

- 高度乙酰化不伴随毒性增加

- 发现可能与恩替诺特的区别药理学有联系

- 数据表明临床受益可在第一或第二次给药恩替诺特后测定

- 计划在 III 期研究中验证结果

**Abstract:**

Described herein are methods for the treatment of breast cancer in a subject. In particular, methods are provided for the treatment of resistant, metastatic breast cancer with a combination of entinostat and an aromatase inhibitor.