



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111587115 A

(43)申请公布日 2020.08.25

(21)申请号 201980008227.1

(22)申请日 2019.01.11

(30)优先权数据

62/617,095 2018.01.12 US

62/674,483 2018.05.21 US

62/700,147 2018.07.18 US

62/711,421 2018.07.27 US

62/711,423 2018.07.27 US

62/716,788 2018.08.09 US

62/716,796 2018.08.09 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2020.07.13

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2019/013314 2019.01.11

(87)PCT国际申请的公布数据

W02019/140271 EN 2019.07.18

(71)申请人 普罗林科斯有限责任公司

地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 D·V·圣 S·方丹

(74)专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司 31100

代理人 陶家蓉 张佳鑫

(51)Int.Cl.

A61K 31/70(2006.01)

A61K 31/44(2006.01)

A61K 31/335(2006.01)

A61K 31/50(2006.01)

C08F 8/00(2006.01)

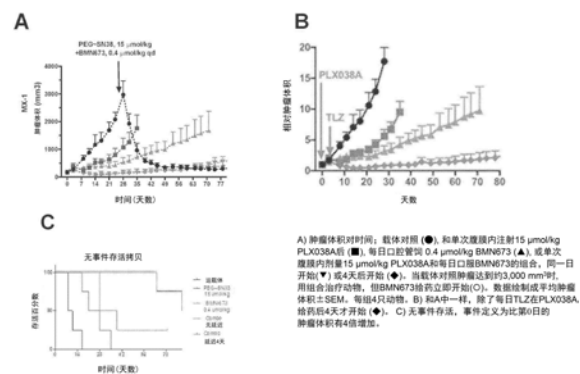
权利要求书1页 说明书6页 附图4页

(54)发明名称

协同癌症治疗

(57)摘要

拓扑异构酶I抑制剂通过在原位经历 β 消除的接头与大分子连接的偶联物,联合携癌对象中一种或多种经评估的DNA损伤反应(DDR)缺陷,细胞周期检查点抑制剂和/或DDR抑制剂,为携癌对象提供改善的结果。



1. 一种治疗需要治疗的对象内癌症的方法,所述对象已被诊断在DNA损伤反应(DDR)中具有一种或多种缺陷,该方法包括对所述对象施用有效量的拓扑异构酶I抑制剂与大分子通过以 β -消除机制提供解偶联的接头连接的偶联物。

2. 如权利要求1所述的方法,其包括对所述对象施用有效量的DDR抑制剂和所述偶联物的组合。

3. 如权利要求1所述的方法,其包括对所述对象施用有效量的细胞周期检查点抑制剂和所述偶联物的组合。

4. 如权利要求1所述的方法,还包括诊断所述对象中所述缺陷是否存在。

5. 如权利要求1所述的方法,其中拓扑异构酶I抑制剂是SN-38。

6. 如权利要求5所述的方法,其中大分子是聚乙二醇(PEG)。

7. 如权利要求5所述的方法,其中偶联物是PLX038。

8. 如权利要求1-7任一所述的方法,其中对象中的DDR缺陷是同源重组修复(HRR)或单链断裂修复中的缺陷,或缺陷在肿瘤阻遏基因中。

9. 如权利要求2所述的方法,其中DDR抑制剂是HRR修复或单链断裂修复抑制剂。

10. 如权利要求3所述的方法,其中细胞周期检查点抑制剂是CHK1,CHK2或Wee1激酶抑制剂。

11. 一种治疗需要治疗的对象体内癌症的方法,该方法包括对所述对象施用有效量的拓扑异构酶I抑制剂,其通过以 β -消除机制提供解偶联的接头与大分子连接,并组合有效量的DDR抑制剂。

12. 如权利要求11所述的方法,其中抑制剂是HRR修复或单链断裂修复抑制剂。

13. 一种治疗需要治疗的对象体内癌症的方法,该方法包括对所述对象施用有效量的拓扑异构酶I抑制剂,其通过以 β -消除机制提供解偶联的接头与大分子连接,并组合有效量的细胞周期检查点抑制剂。

14. 如权利要求13所述的方法,其中细胞周期检查点抑制剂是CHK1,CHK2或Wee1激酶抑制剂。

15. 如权利要求11-14任一所述的方法,其中拓扑异构酶I抑制剂是SN-38。

16. 如权利要求15所述的方法,其中大分子是聚乙二醇(PEG)。

17. 如权利要求15所述的方法,其中偶联物是PLX038。

协同癌症治疗

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求以下优先权：2018年1月12日提交的美国临时申请号62/617,095, 2018年5月21日提交的美国临时申请号62/674,483, 2018年7月27日提交的美国临时申请号62/711,421, 2018年8月9日提交的美国临时申请号62/716,788, 2018年8月9日提交的美国临时申请号62/716,796, 2018年7月18日提交的美国临时申请号62/700,147, 和2017年7月27日提交的美国临时申请号62/711,423, 其公开内容在此完整引入以供参考。

技术领域

[0003] 本发明涉及使用通过经历 β 消除的接头连接大分子的拓扑异构酶I抑制剂治疗癌症。更具体的,其涉及拓扑异构酶I抑制剂治疗患癌对象,其中合适控制药物动力学,所述对象具有DNA损伤反应(DDR)中的基因缺陷和/或所述治疗涉及施用拓扑异构酶I抑制剂联合DDR抑制剂,或联合细胞周期检查点抑制剂。在一些实施方式中,本发明利用癌细胞中的协同致死相互作用,其中DDR必需的基因中的缺陷导致第二种基因成为细胞生存必需。

背景技术

[0004] 已知拓扑异构酶I抑制剂用于治疗各种癌症,因为它们是拓扑异构酶I催化的必需连接步骤的抑制剂,该连接步骤用于解决DNA复制超卷积导致的张力释放造成的单链DNA损伤(DNA复制需要拓扑异构酶I)。拓扑异构酶I抑制剂包括喜树碱及其类似物。许多这样的化合物已被证明和用于治疗各种癌症的化疗。

[0005] 在具有一些基因缺陷的癌细胞中,已观察到施用拓扑异构酶I抑制剂比起不具有这样的缺陷的癌细胞效力增强。例如,在具有哺乳动物肿瘤的BRCA1-缺陷型小鼠中施用一种拓扑异构酶抑制剂SN-38和聚乙二醇的偶联物,不仅BRCA1缺陷和SN-38对拓扑异构酶的抑制组合有效,而且还克服了ABCG2介导的抗性。见例如Zander, S.A.L.等, PLOS One (2012) 7:e45248。此外,已联合施用各种拓扑异构酶抑制剂和额外的作为DDR抑制剂和/或细胞周期检查点抑制剂的抗癌药。见例如Abal, M.等, Oncol. Gene (2004) 23:1737-1744, Wainberg, Z.A.等, Targ Oncol. (2017) 12:775-785; Verschraegen, C.F.等, Cancer (2013) 5:418-429; 和Gray, J.等, Cancer Biol. and Ther. (2012) 13:614-622; Josse, R e.al, Cancer Res (2014) 74:6968-6978; Ma, C.X.等, Breast Cancer Res Treat (2013) 137:483-492。体外研究也显示抑制Werner综合征解旋酶(WRN) (DNA复制和修复中重要的蛋白质)的表达增强伊立替康对癌细胞的作用。见Futami, K.等, Biol Pharm Bull (2007) 30:1958-1961。也在临床实验中测试了细胞检查点抑制剂和各种DNA损伤药物的组合。(见Visconti, R.等, J.Exp.Clin.Cancer Res. (2016) 35:153.)

[0006] 此外,对于不同基因和基因组位置上DNA损伤反应缺陷作图也有广泛认识(见Knijnenburg, T.A.等, Cell Reports (2018) 23:239-254)。

[0007] 将拓扑异构酶I抑制剂包括SN-38与大分子偶联的报道见下:Zhao, H.等, Bioconjugate Chem. (2008) 19:849-859和Koizumi, F.等, Cancer Res. (2006) 66:10048-

10056。本发明中有一组特定偶联物公开于Santi, D.V.等, J. Med. Chem. (2014) 57: 2303-2314。还已知另一种偶联物, 常称作NKTR-102, 是PEG化的伊立替康。

[0008] 本发明提供了用拓扑异构酶I抑制剂治疗肿瘤对象的改良方法, 该方法利用对象内DDR的固有缺陷(与种系突变或其他对象癌细胞中的功能障碍有关)或与导致合成致死率的额外药物组合治疗。

发明内容

[0009] 如上述文献所证, 已知拓扑异构酶I对于DNA复制是必需的, 后者是细胞生长和复制不可或缺的。拓扑异构酶I抑制剂例如伊立替康及其活性代谢物SN-38已被用于通过抑制成功DNA复制治疗癌症。

[0010] 还有报道尝试组合拓扑异构酶I抑制剂和细胞周期检查点抑制剂(中和细胞确定复制是否成功完成的机制)或额外的DNA损伤反应(DDR)抑制剂。还已知对已经确定具有DDR缺陷的癌症施用拓扑异构酶I抑制剂。

[0011] 一些此类尝试涉及与增溶剂例如聚乙二醇(PEG)偶联的拓扑异构酶I抑制剂。然而, 目前提供的该抑制剂的药物动力学并不足以获得成功结果, 这些抑制剂的毒性也仍然有问题。

[0012] 本发明的方案最重要的是在人类对象中进行, 虽然本发明也可用于其他哺乳动物对象, 包括用于测试疾病疗法的实验室模型。方案也可用于牲畜和伴侣动物。

[0013] 现已发现, 提供会通过 β 消除解偶联的拓扑异构酶I抑制剂连接大分子, 或联合细胞周期检查点通路抑制剂和/或DDR抑制剂, 可调节药代动力学, 对DDR缺陷对象提供更有效和更耐受的治疗。本发明的偶联物还可以减少拓扑异构酶I抑制剂和这些额外药剂的协同毒性的剂量给药。

[0014] 因此在一个方面, 本发明涉及一种在需要治疗的对象中治疗癌症的方法, 所述对象已被鉴定为在DNA损伤反应(DDR)中具有一个或多个缺陷。该方法包括对对象施用有效量的通过接头偶联于大分子的拓扑异构酶I抑制剂, 该接头通过 β 消除机制提供解偶联。

[0015] 在第二个方面, 本发明涉及一种在对象内治疗癌症的方法, 其包括对对象施用有效量的拓扑异构酶I抑制剂, 其通过以 β 消除提供解偶联的接头与大分子连接, 并联合有效量的额外DDR抑制剂。

[0016] 在第三个方面, 本发明涉及一种在对象内治疗癌症的方法, 其包括对对象施用有效量的拓扑异构酶I抑制剂, 其通过以 β 消除提供解偶联的接头与大分子连接, 并联合有效量的细胞周期检查点通路抑制剂。

[0017] 在本发明的第一个方面, 方法还包括诊断对象中缺陷存在的程序; 在施用超过一种药剂(包括发明偶联物)的实施方式中, 超过一种药剂的共同给药可以是同时或以药剂任意顺序进行。共同给药的药剂施用的时间差异可以长至数日。药剂还可任选的以同一组合物施用。

[0018] 上述方法的组合也包括在本发明范围内; 因此, 可对DDR天然具有缺陷的对象提供偶联的拓扑异构酶I抑制剂, 其通过以 β 消除机制提供解偶联的接头与大分子偶联, 并联合额外的DDR抑制剂或检查点通路抑制剂或两者。独立地, 不论对象是否显示DDR的固有缺陷, 本发明的拓扑异构酶I抑制剂偶联物与额外的DDR抑制剂和细胞周期检查点抑制剂的组合

都包括在本发明的范围内。此外,超过一种的DDR抑制剂和/或超过一种的细胞周期检查点抑制剂与拓扑异构酶I抑制剂偶联物的联合使用也在本发明的范围内。

附图说明

[0019] 图1显示了本发明方法的示意图,其中栏A中各种修复或细胞周期检查点可能使得单次用拓扑异构酶I抑制剂处理偏离。当对象具有固有DDR缺陷,例如BRCA基因中的突变,如栏B所示,拓扑异构酶I抑制的效果被增强,这进一步由DNA损伤修复抑制剂例如PARP抑制剂增强,例如在栏C中所述(PPAP是聚ADP核糖聚合酶)。

[0020] 图2显示了各种DDR缺陷对于拓扑异构酶I抑制剂的敏感度的现有技术状态,都涉及与各种基因相关的非种系DDR中的种系。

[0021] 图3A-3C显示了本发明的SN-38偶联物和PARP抑制剂对肿瘤生长和无事件存活的协同效应。

[0022] 图4A-4C显示了BRCA1或BRCA2缺陷对SN-38偶联物治疗小鼠肿瘤的效力的影响。

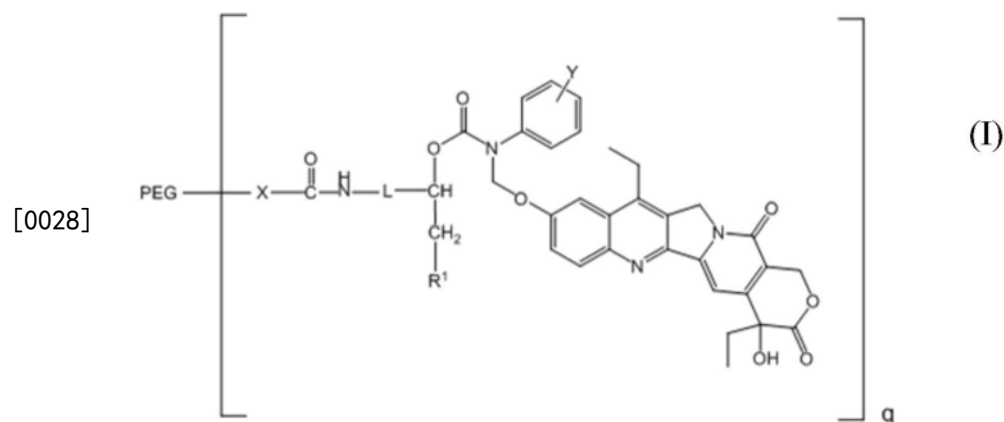
[0023] 本发明的实施方式

[0024] 本发明利用癌细胞中可能具有的DNA损伤反应的协同攻击以影响其成功复制。导致DNA损伤的拓扑异构酶I抑制剂偶联物可与DDR抑制剂或其他干涉DNA损伤修复或复制的抑制剂组合。DDR是极度复杂的过程,涉及各种修复DNA以矫正错误的机制,这些错误通过突变或通过复制过程本身中的错误发生。该反应的一部分也是一种控制机制,涉及细胞周期检查点,其在细胞分裂或产生凋亡前确保DNA正确修复或复制,从而使得携带错误的DNA不被传递到子细胞中。本发明使用特定DDR抑制剂-拓扑异构酶I抑制剂和其他成功复制障碍(包括其他DDR抑制剂和细胞周期检查点通路抑制剂)的组合,包括那些癌细胞本身响应DNA损伤的能力有缺陷的情形。

[0025] 本发明利用拓扑异构酶I抑制剂与大分子通过接头偶联的偶联物,该接头通过 β 消除机制解偶联。合适的拓扑异构酶I抑制剂通常是喜树碱及其类似物,包括伊立替康(也称作CPT-11)及其活性代谢物SN-38,以及托泊替康、9-氨基-喜树碱及其水溶性类似物例如GI 147211和GI 149893。

[0026] 在一些实施方式中,大分子是线性或分枝或多臂的聚乙二醇。

[0027] 特别优选的是式(I)的偶联物



[0029] 其中,

[0030] PEG是线性或分枝的,当q是2-8时是多臂的聚乙二醇;

[0031] X是 $(\text{CH}_2)_m$,其中 $m=1-6$;

[0032] L是 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_p(\text{CH}_2)_r$,其中 $r=1-10$ 且 $p=0-10$;

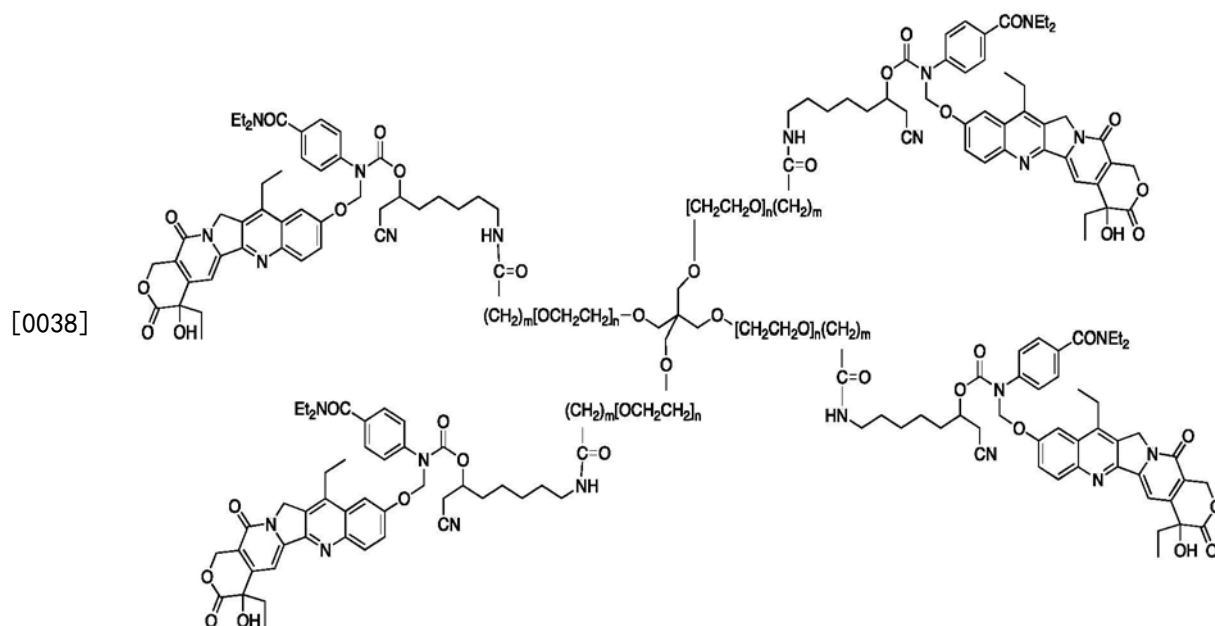
[0033] R^1 是CN或 SO_2NR^2_2 ,其中各 R^2 分别独立地是烷基、芳基、杂芳基、烷基烯基、烷基芳基或烷基杂芳基,或两个 R^2 合起来能形成环;

[0034] Y是 COR^3 或 SO_2R^3 ,其中 $\text{R}^3=\text{OH}$,烷氧基,或 NR^4_2 ,其中各 R^4 分别独立地是烷基,取代的烷基,或两个 R^4 合起来能形成环;和

[0035] q是1-8。

[0036] 特别是该偶联物可具有平均分子量为30,000-50,000Da的PEG,和/或其中 $q=4$,和/或其中 $\text{R}^1=\text{CN}$ 或 SO_2NR^2_2 其中各 R^2 是烷基。

[0037] 偶联物可具有式:



[0039] 其中 $m=1-6$, n 是200-250。

[0040] 特别是偶联物可以是PLX038,它是上式化合物其中 m 是1而 n 是约225。

[0041] 本发明有用的偶联物一般以标准药物配方联合一种或多种药学可接受的赋形剂提供,在一些情况下pH是4.0-6.0之间。可在例如Remington Pharmaceutical Sciences,最新版,Mack Publishing Company,Easton,Pennsylvania中找到标准配方。

[0042] 本发明基于偶联物的理想性质,该偶联物与内源DDR缺陷或与共同施用的化合物(细胞周期检查点抑制剂或DDR抑制剂)组合具有合适的药代动力学。

[0043] 在一些实施方式中,当偶联物施给对象时提供对拓扑异构酶I抑制剂持续的低剂量接触,其中游离抑制剂的浓度可在每周一次或两次给药之间,或在给药方案期间(例如每两周一次)维持在15-5nM之间。无论如何,偶联物提供对活性药物持续的低剂量接触。

[0044] 对于共同给药的DDR抑制剂和/或细胞周期检查点抑制剂,本领域已经有许多了解,例如上文背景技术中给出的那些。

[0045] 细胞周期检查点包括G1-S,S,和G2/M。这些任一都可以作为靶标与拓扑异构酶I抑制剂偶联物组合和/或与额外的药剂组合,该药剂靶向成功跨越检查点所需的组分。这还能对抗细胞周期检查点控制的内源缺陷背景。

[0046] 合适的细胞周期检查点靶标包括检查点激酶1或2(CHK1或CHK2),共济失调毛细血

管扩张症突变(ATM)激酶,共济失调毛细血管扩张症和Rad3相关(ATR)激酶,Wee1激酶和p53。这些靶标的一份详细抑制剂清单可见W02012/074754。

[0047] 合适的DDR抑制剂包括那些靶向同源重组(HR)的抑制剂,例如聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)抑制剂和/或其他DDR途径,包括HEJ,HR,alt-NHEJ/MMEJ,SSA,ICL,SSB,BER,TLS,NER和MMR的抑制剂。正在开发大量药物以攻克这些靶标,许多已知具有该功能的药剂现在正用于临床。

[0048] 全部引用的文献在此通过引用其全文纳入本文。

[0049] 以下实施例旨在说明,对发明不构成限制。

[0050] 实施例1

[0051] PLX038A和PARP抑制剂他拉唑帕尼(称为BMN673或TLZ)的协同效应

[0052] 小鼠MX-1异种移植物的制备:从Charles River Labs(Frederick,Maryland)获得MX-1细胞系(¹Morton CL,Houghton PJ.人肿瘤异植体在免疫缺陷小鼠中的建立.Nat Protoc.2007;2(2):247-50)。细胞在RPMI-1640,10%FBS和1%2mM L-谷氨酰胺中37℃95%空气/5%CO₂气氛下培养。

[0053] 将来自Taconic Bioscience(Cambridge City,Indiana)的雌性NCr裸鼠(NCrTac:NCr-Foxn1^{nu};约6-7周龄)豢养在UCSF Preclinical Therapeutics Core vivarium(San Francisco,California)。遵照UCSF研究所动物护理和使用委员会进行全部动物研究。通过在雌性NCr裸鼠右侧皮下注射MX-1肿瘤细胞(2x10⁶细胞于100μl无血清培养基1:1混合Matrigel中)建立肿瘤异种移植物。当肿瘤异种移植物在供体小鼠中达到1000-1500mm³,将其切下,切成均匀大小的片段(尺寸约2.5 x 2.5 x 2.5mm),包埋在Matrigel中,通过皮下套管移植重新移植入受体小鼠。

(2MortonCL,Houghton PJ.免疫缺陷小鼠中人肿瘤异种植物的建立,Nat.Proc.20072(2):247-50)

[0054] 给药和肿瘤体积测量:在pH5的等渗乙酸盐中制备PLX038A(1.02mM SN38;0.26mM PLX038A偶联物)溶液,使用前灭菌过滤(0.2μm)。BMN673(52μM)的溶液制备在10%二甲基乙酰胺/5%Solutol HS15/85%1X PBS中,使用前灭菌过滤(0.2μm)。

[0055] 当组平均尺寸达到100-200mm³时,对组(N=4-5/组)给药。小鼠接受运载体,单剂PLX038A(14.7mL/kg腹膜内,15μmol/kg),每日给药的BMN673(7.72mL/kg p.o.,0.4μmol/kg),或PLX038A和BMN673以相同剂量组合。对于接受组合的组,每日BMN673给药与PLX038A给药开始于同一天(图3A)或4天后(图3B)。肿瘤体积(卡尺测量值:0.5x(长x宽²))和体重每周测量两次。当运载体对照肿瘤尺寸达到约3000mm³时,用单剂PLX038A(15μmol/kg)和每日BMN673(0.4μmol/kg)组合治疗小鼠,给药之间没有延迟(图3A)。

[0056] 如图3A和3B所示,对携带MX-1肿瘤的小鼠施用15μmol/kg的PLX038A和每日给药的0.4μmol/kg他拉唑帕尼组合与这些药物单独相比提供了协同效应。不论TLZ的每日给药与PLX038A一同或4天后开始这都如此。对对照施用一次组合立刻减少肿瘤体积(图3A)。

[0057] 如图3C所示,组合相对于PLX038A和TLZ单独协同增强了无事件存活。

[0058] 实施例2

[0059] PLX038A和肿瘤细胞缺陷的协同

[0060] MX-1细胞为BRCA1缺陷型,CAPAN-1细胞以BRCA 2缺陷型(-/-)或无缺陷型(+/-)提供。用携带这些细胞系的肿瘤的小鼠进行实施例1的通用方案。对于携带MX-1肿瘤的小鼠,

剂量为单剂腹膜内注射137 μ g/kg伊立替康或4,40或120 μ g/kg PLX038A。对于携带CAPAN-1异种移植物的老鼠,剂量为单剂腹膜内注射137 μ g/kg伊立替康或15,40或120 μ g/kg PLX038A。图4A-4C显示了这些剂量对肿瘤体积的结果,其每周测量两次。

[0061] 如图4A所示,全部剂量的PLX038A比起伊立替康在减少肿瘤体积上更有效,40或120 μ g/kg基本停止了肿瘤生长。还显示了施用单剂120 μ g/kg PLX038A的显著结果,而对照肿瘤达到了2000mm³。

[0062] 图4B和4C的比较显示BRCA2缺陷对于用伊立替康或PLX038A疗效的影响-仅最高剂量的PLX038A在缺陷型和非缺陷型细胞中具有相同的效力。在BRCA2缺陷型细胞中所有其他剂量水平的效力都有增加。

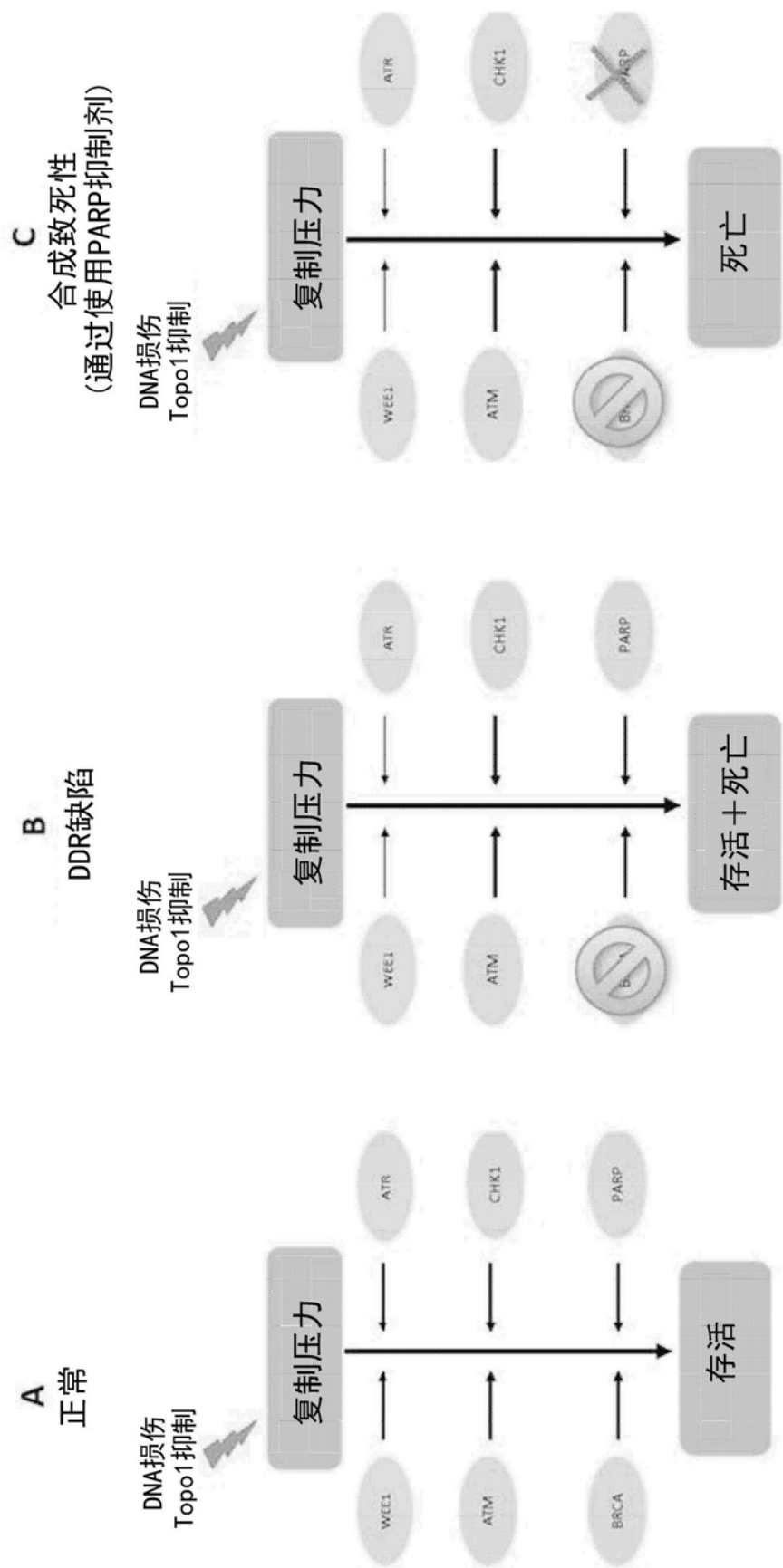


图1

表1 | BRCAness基因中的癌症相关改变

基因	具有体细胞改变的肿瘤类型 (突变, 基因缺失和启动子超甲基化)	具有种系突变的肿瘤类型和综合征
ATM	★ T-PLL、乳癌、GBM、ccRCC、肺腺癌、肉瘤和前列腺、胃、膀胱、结直肠、子宫和胰腺癌	白血病、淋巴瘤、成神经管细胞瘤、胶质瘤和共济失调毛细血管扩张症
ATR	★ 乳腺、结直肠、头颈、胃和子宫癌	口腔癌和家族性皮肤毛细血管扩张症以及癌症综合征
BAP1		间皮瘤和葡萄膜黑色素瘤
BRCA1	★ ccRCC、胆管肉瘤、肝癌和葡萄膜黑色素瘤 TNBC、HGS-OvCa、肺癌、前列腺癌、mCRPC和PDAC	TNBC、HGS-OvCa和PDAC
BRCA2	★ 乳癌、HGS-OvCa、PDAC、前列腺癌、mCRPC、胃、膀胱和肺癌、DLBCL和肉瘤	乳癌、HGS-OvCa、PDAC和白血病
CDK12		
CHEK2 (CHK2)	★ 子宫癌和HGS-OvCa	乳癌
FANCA		AML、白血病和范可尼氏贫血
FANCC	★ HGS-OvCa和肺腺癌	AML、白血病和范可尼氏贫血
FANCD2	★ ccRCC	AML、白血病和范可尼氏贫血
FANCE		AML、白血病和范可尼氏贫血
FANCF	★	AML、白血病和范可尼氏贫血
PALB2	★ 胃癌和HGS-OvCa	Wilms肿瘤、成神经管细胞瘤、AML和范可尼氏贫血、乳癌、PDAC和HGS-OvCa
NBS1 (NBN)		
WRN	胃和子宫癌	Werner综合征
RAD51C	★ HGS-OvCa、mCRPC、肺腺癌和子宫癌	乳癌和HGS-OvCa
RAD51D		乳癌和HGS-OvCa
MRE11A	★ 结直肠癌	
CHEK1 (CHK1)	★ PDAC和肉瘤	
BLM	★	血液综合征
RAD51B		
BRIP1	HGS-OvCa HGS-OvCa	

★=Topo1i敏感

Lord & Ashworth, NATURE
REVIEWS, CANCER, 2016

图2

10

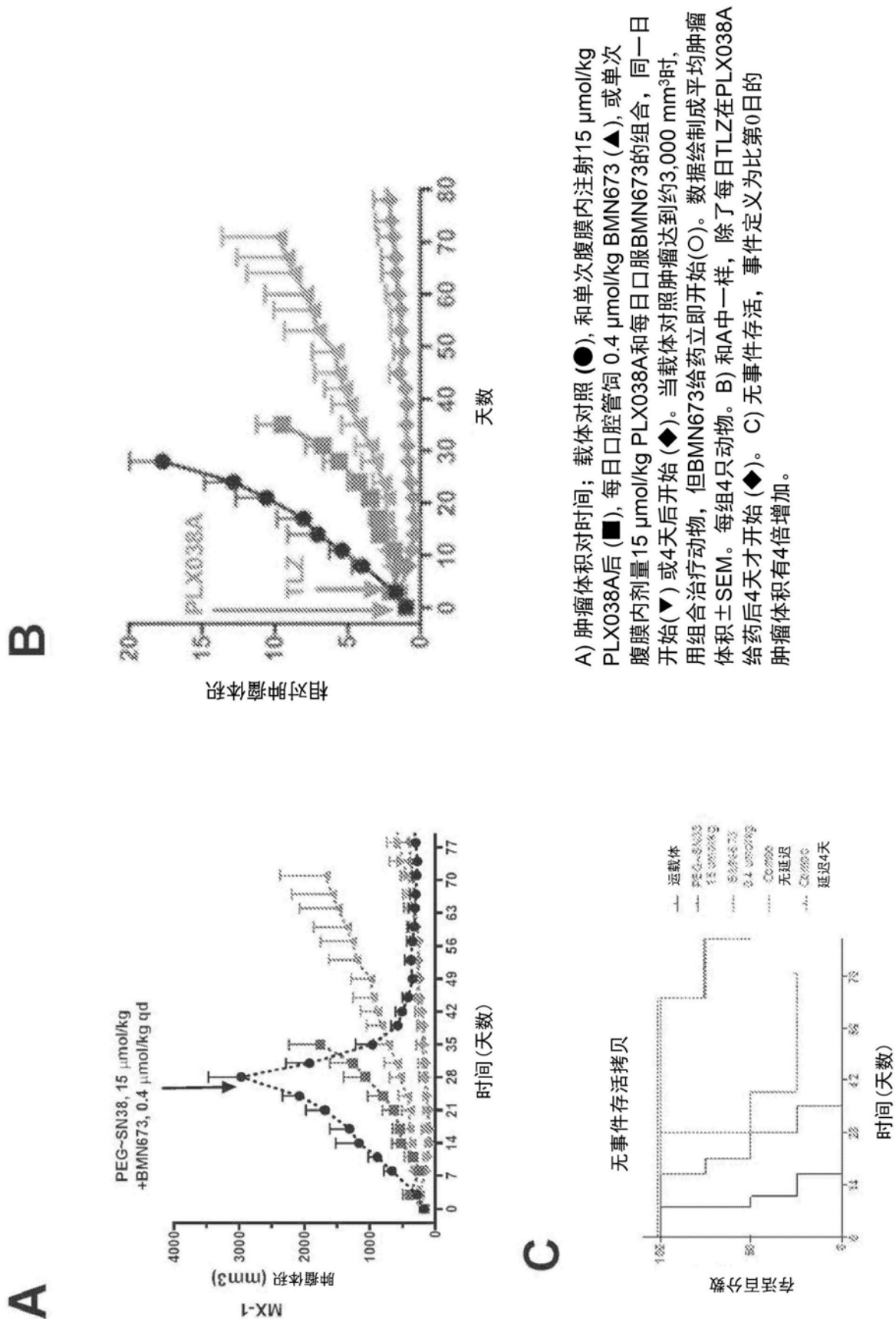


图3

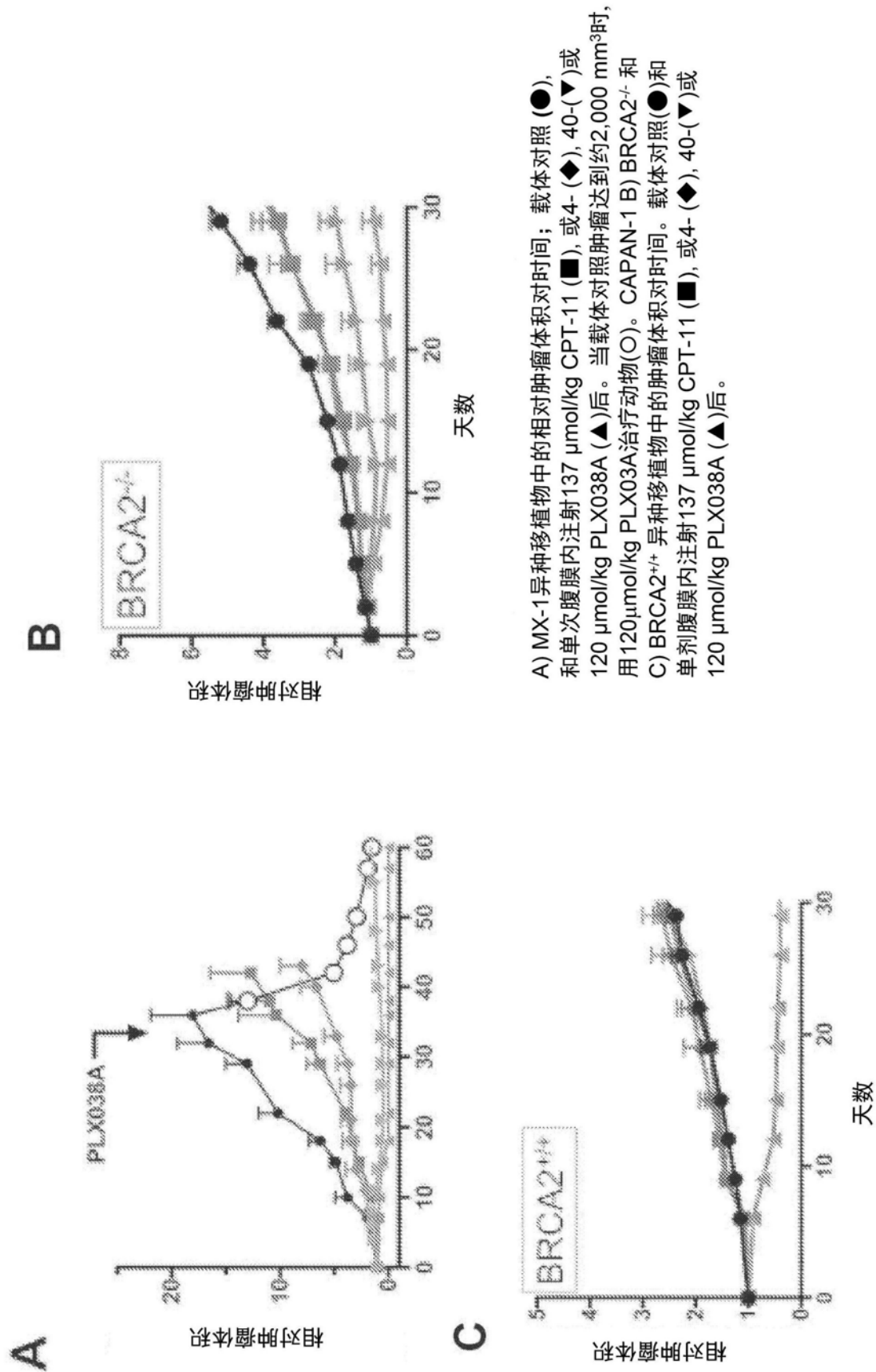


图4