



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104813167 B

(45)授权公告日 2019.04.09

(21)申请号 201380061709.6

(72)发明人 谢燕玲 U·霍克 A·汉纳

(22)申请日 2013.11.27

M·A·埃尔顿

(65)同一申请的已公布的文献号

(74)专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

申请公布号 CN 104813167 A

利商标事务所 11038

(43)申请公布日 2015.07.29

代理人 袁志明

(30)优先权数据

(51)Int.CI.

61/730,900 2012.11.28 US

G01N 33/574(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2015.05.27

(56)对比文件

CN 102164617 A,2011.08.24,

(86)PCT国际申请的申请数据

CN 102164617 A,2011.08.24,

PCT/US2013/072205 2013.11.27

CN 101420963 A,2009.04.29,权利要求1-

26,说明书第4-12页.

(87)PCT国际申请的公布数据

审查员 张绚

W02014/085571 EN 2014.06.05

(73)专利权人 尼克塔治疗公司

权利要求书5页 说明书17页 附图10页

地址 美国加利福尼亚

(54)发明名称

用于评估和预测用一种长效拓扑异构酶I抑制剂进行乳腺癌治疗的疗效的方法

(57)摘要

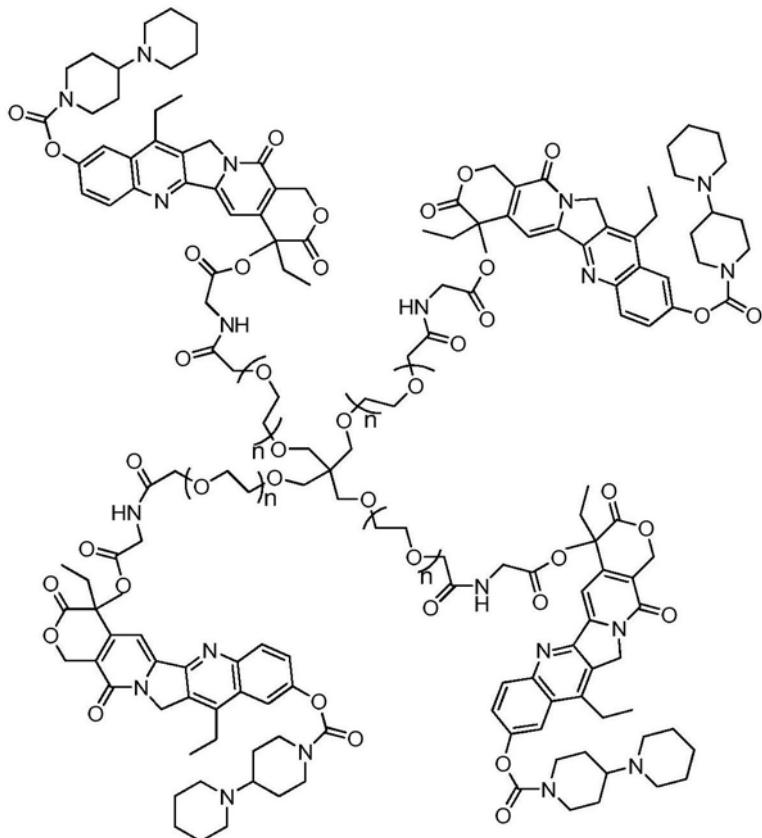
提供了一种治疗患有癌症诸如乳腺癌的个体的方法,该方法是通过如下进行的:向该个体给予一种长效拓扑异构酶I抑制剂,例如SN-38或伊立替康,并且将该个体中的至少一种肿瘤标记,例如CA27.29的水平与该癌症对用该长效拓扑异构酶I抑制剂进行的治疗的响应相关联,从而提供一种用于预测和评估该治疗的治疗效果的方法。

1. 用于确定受试者的体液样品中肿瘤标记物CA27.29的水平的试剂在制备用于评估患有转移性乳腺癌的受试者对用长效拓扑异构酶-I抑制剂进行的治疗的响应的方法中的试剂中的用途,所述方法包括:

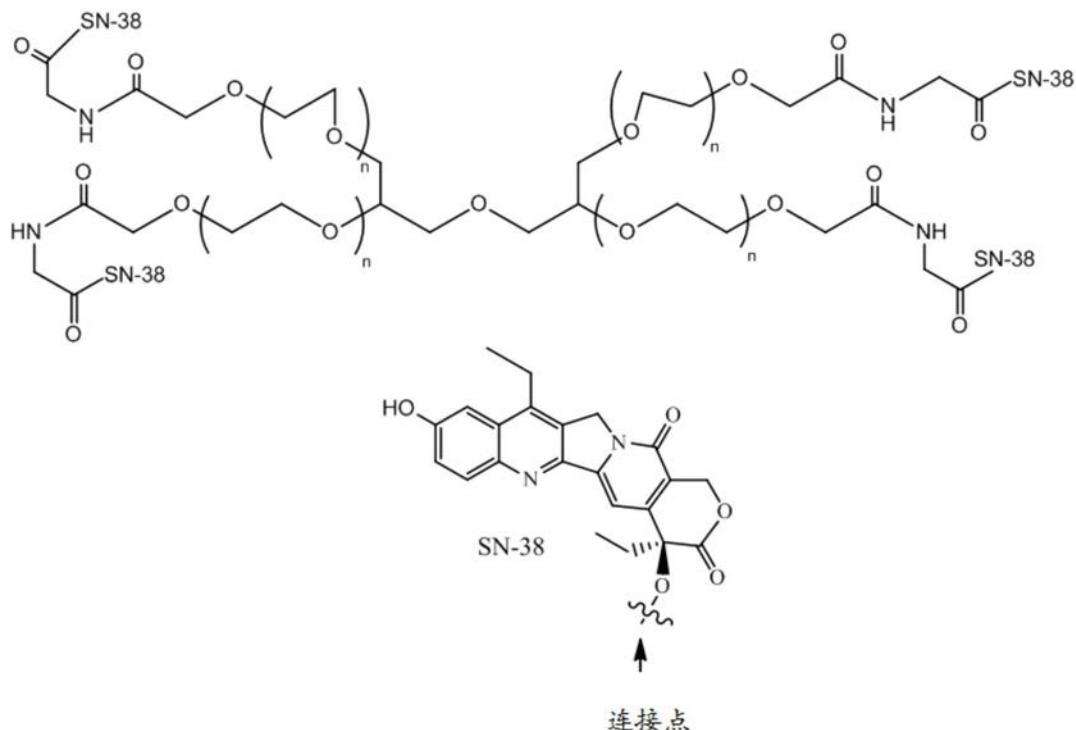
(i) 确定受试者的体液样品中的肿瘤标记物水平,以提供该肿瘤标记物的参考水平,其中所述的体液样品选自血液、血浆和血清,所述的肿瘤标记物是CA27.29,

(ii) 经至少2周的持续时间通过按照给定的给药方案给予一个剂量的长效拓扑异构酶-I抑制剂来治疗所述受试者,

其中所述的长效拓扑异构酶-I抑制剂选自具有如下结构的伊立替康的基于季戊四醇的多臂聚合物缀合物:



其中各n是从40至500的一个整数,以及  
具有如下结构的聚乙二醇-SN-38缀合物:



其中各n是从28至341的一个正整数，

以及上述缀合物的药学上可接受的盐；

(iii) 在步骤(ii)中所述的治疗后以及在首次给予所述的长效拓扑异构酶-I抑制剂后6周内，确定该受试者的体液样品中所述肿瘤标记物的水平，其中所述体液与步骤(i)中的相同，以及

(iv) 将步骤(iii)中所述肿瘤标记物的水平与转移性乳腺癌对使用该长效拓扑异构酶-I抑制剂的治疗的响应相关联，其中倘若步骤(iii)中的肿瘤标记物的水平未改变或自步骤(i)中的参考水平降低，则确定为正响应于治疗，并且倘若步骤(iii)中所述肿瘤标记物的水平自步骤(i)的参考水平增加，则确定为负响应于治疗。

2. 权利要求1的用途，其中由所述的治疗步骤导致的转移性乳腺癌向SN-38的暴露与受试者中CA27.29肿瘤标记物的水平和该治疗方案的有效性相关联。

3. 权利要求1的用途，其中所述的长效拓扑异构酶-I抑制剂是具有权利要求1中所示结构的伊立替康的基于季戊四醇的多臂聚合物缀合物，其中各n为约113，或为约226。

4. 权利要求1的用途，其中在步骤(i)中，CA27.29肿瘤标记物的水平是在用该长效拓扑异构酶-I抑制剂治疗之前确定的。

5. 权利要求1~4中任一项的用途，其中步骤(i)和(iii)中的体液样品是血清。

6. 权利要求1~4中任一项的用途，其中将步骤(i)中CA27.29肿瘤标记物的参考水平升高到正常基线水平之上。

7. 权利要求6的用途，其中CA27.29肿瘤标记物的参考水平大于38U/ml。

8. 权利要求1~4中任一项的用途，其中所述治疗的持续时间是至少3周。

9. 权利要求8的用途，其中所述治疗的持续时间是至少6周。

10. 权利要求9的用途，其中所述治疗的持续时间是至少12周。

11. 权利要求1~4中任一项的用途，其中所述肿瘤标记物的水平是通过免疫测定法确

定的。

12. 权利要求1~4中任一项的用途,其中到第6周CA27.29肿瘤标记物的水平降低至少25%表明与受试者中至少4个月的无进展生存期正相关。

13. 权利要求1~4中任一项的用途,其中在用所述的长效拓扑异构酶抑制剂I治疗之后,任选地重复步骤(iii)。

14. 权利要求1~4中任一项的用途,其中在治疗终止之后,任选地重复步骤(iii)。

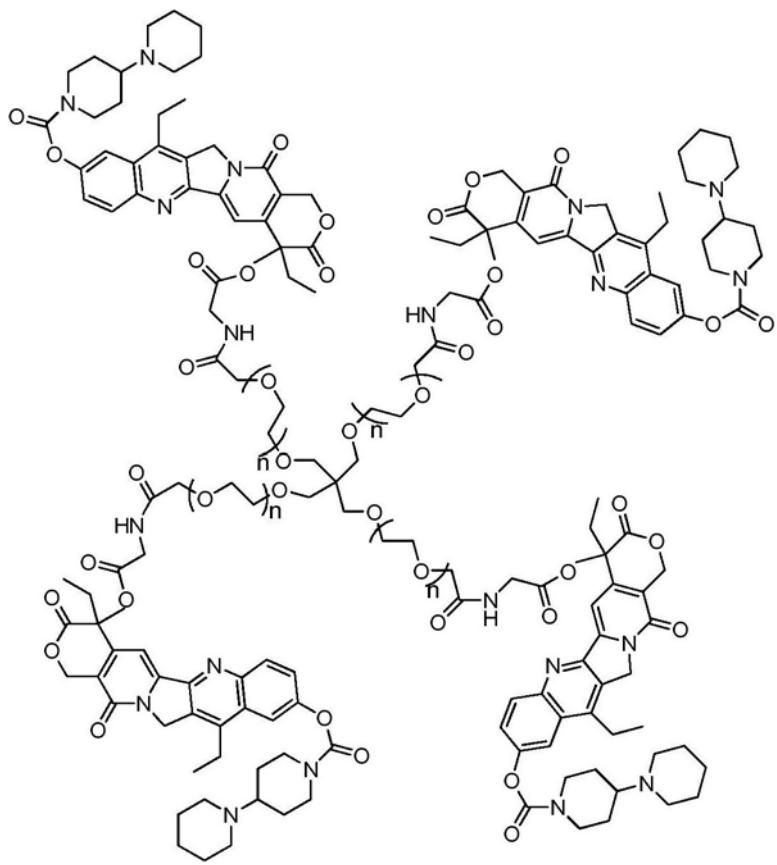
15. 权利要求1~4中任一项的用途,其中倘若步骤(iv)中确定为负响应于治疗,则改变步骤(ii)中所述的剂量。

16. 权利要求1~4中任一项的用途,其中倘若步骤(iv)中确定为负响应于治疗,则改变步骤(ii)中所述的给药方案。

17. 权利要求1~4中任一项的用途,其中倘若步骤(iv)中确定为负响应于治疗,则改变步骤(ii)中所述的剂量和给药方案二者。

18. 权利要求1~4中任一项的用途,其中在进行所述的方法之前,所述的受试者对转移性乳腺癌的基于紫杉烷的治疗无响应。

19. 权利要求1、2或4的用途,其中所述的长效拓扑异构酶-I抑制剂是具有如下结构的伊立替康的基于季戊四醇的多臂聚合物缀合物:



其中各n是从40至500的一个整数,或其药学上可接受的盐。

20. 权利要求19的用途,其中步骤(ii),每14天给予所述的长效拓扑异构酶-I抑制剂。

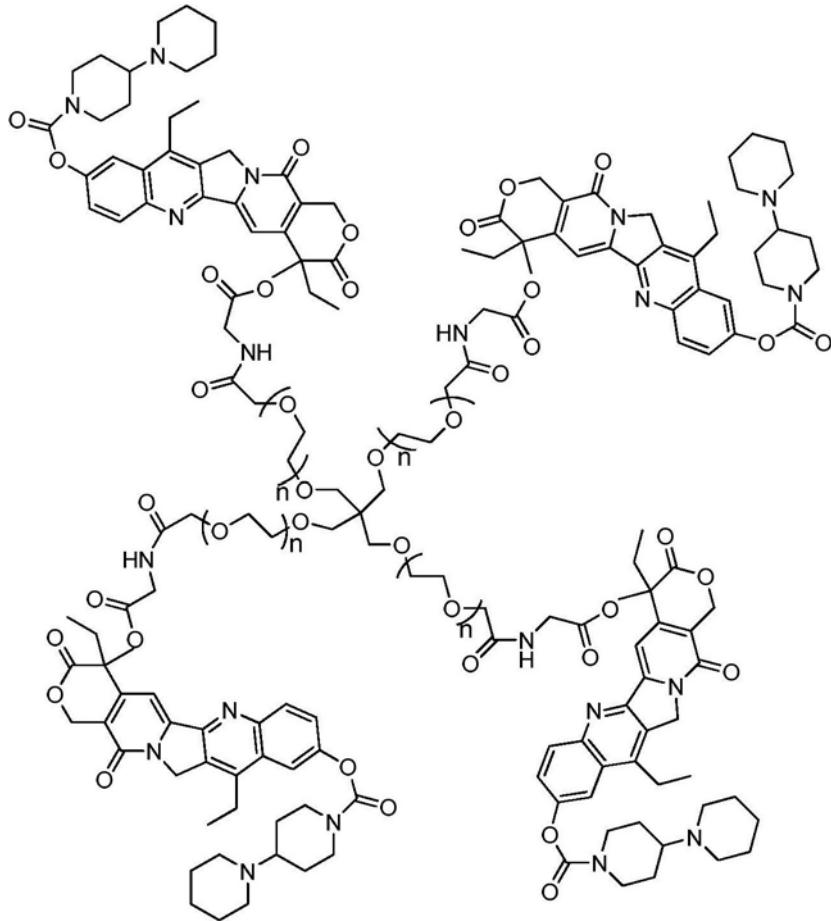
21. 权利要求19的用途,其中步骤(ii),每21天给予所述的长效拓扑异构酶-I抑制剂。

22. 权利要求19的用途,其中在第6周CA27.29的水平降低大于或等于25%表示12个月

的中位无进展生存期。

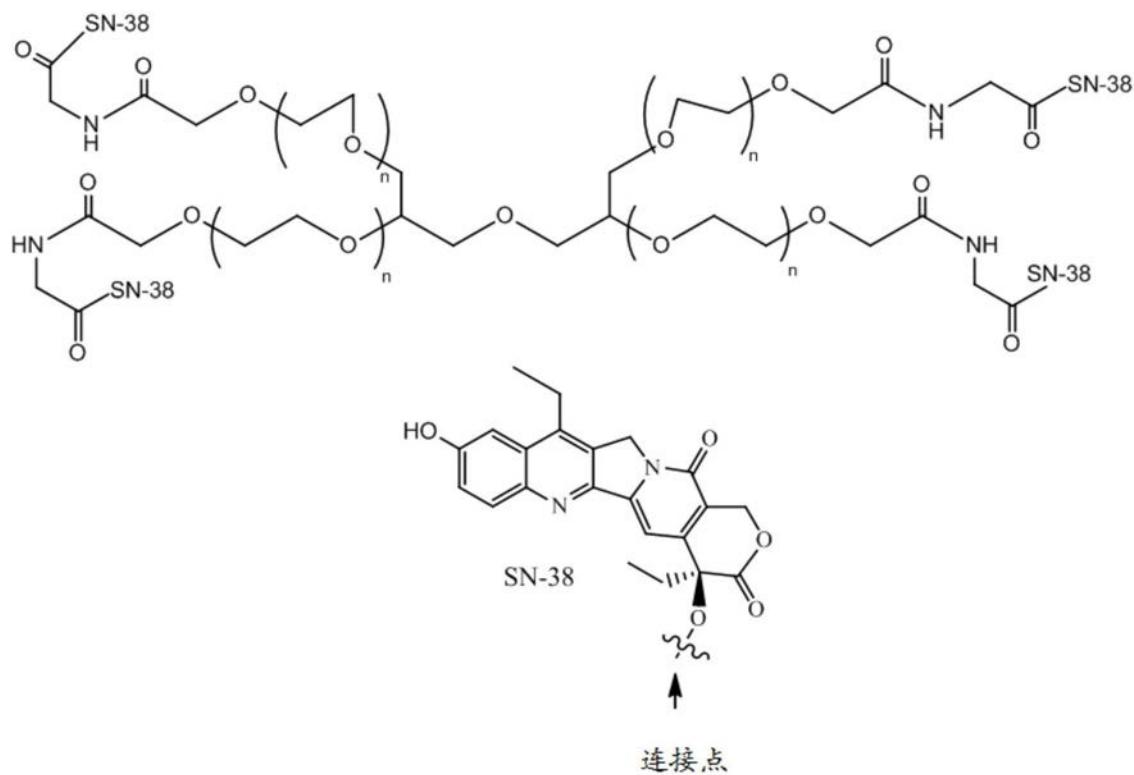
23. 权利要求19的用途,其中由所述治疗步骤导致的转移性乳腺癌向SN-38的暴露与受试者中CA27.29的水平和治疗的有效性相关联。

24. 用于确定受试者体液中的CA27.29肿瘤标记物的水平的试剂在制备用于预测在被诊断患有转移性乳腺癌的受试者中用长效拓扑异构酶-I抑制剂进行治疗的疗效的试剂中的用途,其中所述的体液选自血液、血清和血浆,并且所述长效拓扑异构酶-I抑制剂选自具有如下结构的伊立替康的基于季戊四醇的多臂聚合物缀合物:



,

其中各n是从40至500的一个整数,以及  
具有如下结构的聚乙二醇-SN-38缀合物:



其中各n是从28至341的一个正整数，  
以及上述缀合物的药学上可接受的盐。

## 用于评估和预测用一种长效拓扑异构酶I抑制剂进行乳腺癌治疗的疗效的方法

[0001] 相关申请的交叉参考

[0002] 本申请要求了2012年11月28日提交的美国临时专利申请号61/730,900在35U.S.C. §119(e)下的优先权权益,该申请的披露内容通过引用以其全文结合在此。

### 发明领域

[0003] 本发明涉及(除其他之外)癌症化疗领域。更具体来说,本发明涉及对患有癌症诸如乳腺癌的个体的治疗,该治疗是通过如下进行的:向该个体给予一种长效拓扑异构酶I抑制剂,并且将该个体中一种或多种肿瘤标记的水平与该癌症对用该长效拓扑异构酶I抑制剂进行的治疗的响应相关联,从而提供一种用于预测和评估该治疗的治疗效果的方法。

[0004] 发明背景

[0005] 拓扑异构酶I是在细胞增殖中起重要和关键作用的一种酶。因而,通过抑制这种酶,高度增殖性细胞被优先靶向并且不能增殖。因此,这种酶是极具吸引力的一个化疗剂靶标,尤其在人类癌症中。

[0006] 拓扑异构酶I在复制和转录期间催化DNA的解螺旋。参见波米尔(Pommier)等人(1998),《生物化学与生物物理学学报》(Biochim.Biophys.Acta.)1400(1-3):83-105以及王(Wang)(1996),《生物化学年鉴》(Annu.Rev.Biochem.),65:635-92。拓扑异构酶I的活性是通过磷酸化作用(主要是丝氨酸残基上的)调节的(特曼(Turman)等人(1993)《生化医学和生物代谢学》(Biochem.Med.Metab.Biol.),50(2):210-25;科代罗尼(Coderoni)等人(1990),《国际生物化学杂志》(Int.J.Biochem.)22(7):737-46;凯萨曼(Kaiserman)等人(1988),《生物化学》(Biochemistry),27(9):3216-22;塞缪尔斯(Samuels)等人(1992)《生物化学杂志》(J.Biol.Chem.)267(16):1156-62],并且对于该酶和DNA之间的起始复合物形成似乎是必须的(科代罗尼(Coderoni)等人(1990),《国际生物化学杂志》(Int.J.Biochem.)22(7):737-46)。

[0007] 待鉴定的第一拓扑异构酶I抑制剂是喜树碱类。喜树碱(常缩写为“CPT”)是一种首先从喜树(蓝果树科)的木材和树皮中分离的植物性毒素生物碱。该化合物具有一个五环环系统,该五环环系统在内酯环E中具有一个不对称中心,具有20S构型。该五环环系统包含吡咯并[3,4-b]喹啉(环A、B和C)、共轭的吡啶酮(环D)以及具有一个20-羟基基团的六元内酯(环E)。由于它在水中的不溶性,喜树碱最初是以一种水溶性羧酸盐的形式(内酯环打开以形成钠盐)进行临幊上评估的。为试图解决与喜树碱和其许多衍生物相关的弱的水溶解性,已经针对衍生A-环和/或B-环或酯化20-羟基以改进水溶性同时维持细胞毒性活性进行了许多合成工作。例如,托泊替康(9-二甲基氨基甲基-10-羟基CPT)、10-羟基-7-乙基-喜树碱(还被称为SN-38,一种来源于伊立替康的水解的代谢物)和伊立替康(7-乙基-10[4-(1-哌啶基)-1-哌啶基]羧氧基CPT)(另外被称为CPT-11)是在临幊上已经显示有用的活性的水溶性CPT衍生物。最近,已经研发了诸如前述的长效形式的拓扑异构酶I抑制剂。参见例如美国专利号8,263,062和7,744,861,赵(Zhao,H.)等人,《生物共轭化学》(Bioconjugate Chem.)

2008, 19, 849–859, 以及萨普拉 (Sapra, P.) 等人,《血液学》(Haematologica), 2009; 94 (10), 1456–1459。此类长效的拓扑异构酶I抑制剂已经被证明对一系列人类异种移植肿瘤 (包括乳腺癌) 是有效的 (佩尔松 (Persson, H.) 等人, 关于分子靶标和癌症治疗的AACR-NCI-EORTC 国际会议 (AACR-NCI-EORTC Intl Conference on Molecular Targets and Cancer Therapeutics), 2007年10月22–26日, 加州旧金山 (S.F.CA.) 海报号C10)。

[0008] 越来越多的被诊断患有乳腺癌的患者接受初步全身性治疗, 随后进行手术。在某些癌症 (诸如乳腺癌) 中, 监测患者对治疗的响应是疗法的一个必要成分, 因为响应的程度可以提供与无病和总体存活期相关的重要预兆信息。基于残余瘤的程度和肿瘤组织内的退行性改变, 组织病理学提供了对治疗疗效的准确评估。然而, 仅20%的乳腺癌患者实现病理的完全响应, 这一个事实使得用于在早期治疗期间监测治疗有效性的方法成为必要 (艾薇尔 (Avril, N.) 等人,《核医学杂志》(The Journal of Nuclear Medicine), 50 (5) 增刊, 2009 年5月, 55S–63S)。归因于缓和性治疗选择的数目, 对无效治疗的早期鉴别在患有转移性乳腺癌的患者中也可能是有用的。用于在治疗早期评估疗效的常用方法包括MRI (核磁共振成像), MRI是昂贵的并且需要高度专业化的设备和训练有素的专家两者, 以及基于辐射的方法, 诸如CT (计算机轴位体层摄影术) 扫描。用于在治疗乳腺癌期间预测治疗有效性的新的和改进的方法, 尤其是那些高效、方便、和具成本效益的方法, 可以帮助个体化和定制治疗, 并且避免无效的化疗。

[0009] 因此, 仍需要提供 (除其他之外) 用于评估和预测乳腺癌治疗方案的疗效的方法, 特别是在经受用长效拓扑异构酶-I抑制剂进行的治疗的患者中。

[0010] 本发明力图解决这些和本领域中的其他需要。

#### [0011] 发明概述

[0012] 在一个方面, 本发明针对一种用于评估对使用长效拓扑异构酶-I抑制剂进行治疗的响应的方法。

[0013] 更具体来说, 在此提供了一种用于在被诊断患有乳腺癌的受试者中评估对使用长效拓扑异构酶-I抑制剂进行治疗的响应的方法, 其中该方法包括以下步骤: (i) 确定受试者体液样品中的肿瘤标记物水平, 以提供该肿瘤标记物的参考水平, 其中该肿瘤标记物选自例如CA27.29、CA15-3和癌胚抗原CEA, (ii) 经至少2周的持续时间通过按照给定的给药方案给予一个剂量的长效拓扑异构酶I抑制剂来治疗该受试者 (iii) 在步骤(ii) 的治疗后, 确定该受试者体液样品中的肿瘤标记物水平, 其中该体液与步骤(i) 中的相同, (iv) 将步骤(iii) 中的肿瘤标记物的水平与乳腺癌对用该长效拓扑异构酶I抑制剂进行治疗的响应相关联, 其中倘若步骤(iii) 中的肿瘤标记物的水平未改变或自步骤(i) 中的参考水平降低, 则确定为正响应于治疗, 并且倘若步骤(iii) 中的肿瘤标记物水平自步骤(i) 的参考水平增加, 则确定为负响应于治疗。

[0014] 在一个具体实施例中, 该肿瘤标记物是CA27.29。

[0015] 在涉及前述方法和相关实施例的一个另外的实施例中, 乳腺癌向起因于该治疗步骤的SN-38的暴露与受试者中的肿瘤标记物的水平和治疗方案的有效性相关。

[0016] 根据又另一个方面, 本发明针对选自例如CA27.29、CA15-3和CEA的肿瘤标记物在选自血液、血清和血浆的体液中的水平用于在被诊断患有乳腺癌的受试者中预测用长效拓扑异构酶-I抑制剂 (诸如长效伊立替康和长效SN-38) 进行的治疗的疗效的用途。

[0017] 在又一个另外的方面,在此提供了选自例如CA27.29、CA15-3和CEA的肿瘤标记物在选自血液、血清和血浆的体液中的水平用于预测乳腺癌向多个水平的SN-38的暴露的用途,该暴露起因于在被诊断患有乳腺癌的受试者中使用长效拓扑异构酶-I抑制剂(诸如长效伊立替康和长效SN-38)进行的乳腺癌治疗,并且乳腺癌向SN-38的暴露与治疗的疗效相关。

[0018] 在一个涉及前述方法和用途的实施例中,单独地使用该肿瘤标记物用于确定乳腺癌对用长效拓扑异构酶I抑制剂进行的治疗的响应。

[0019] 在一个涉及如下方法的实施例中,所述方法是用于在被诊断患有乳腺癌的受试者中评估对用长效拓扑异构酶-I抑制剂进行的治疗的响应,将在步骤(i)中的肿瘤标记物的参考水平升高到正常基线水平之上。在一个或多个相关实施例中,该肿瘤标记物是CA27.29并且CA27.29的参考水平大于38U/mL。在又另外的一个或多个实施例中,该肿瘤标记物是CA15-3并且CA15-3的参考水平大于30U/mL。在又一个另外的实施例中,该肿瘤标记物是CEA,并且CEA的参考水平大于大约4ng/mL。

[0020] 在又另一个涉及前述方法的实施例中,该治疗的持续时间选自以下之一:至少3周、至少6周、以及至少12周。

[0021] 在又一个另外的实施例中,该肿瘤标记物的水平通过免疫测定来确定。

[0022] 在该方法的又一个另外的实施例中,该肿瘤标记物的水平在第6周降低至少25%显示了与受试者中至少4个月的无进展生存期正相关。

[0023] 在该方法的又一个另外的实施例中,在用该长效拓扑异构酶抑制剂I治疗之后,或在治疗终止之后,任选地重复步骤(iii)。

[0024] 在该方法的又一个另外的实施例中,倘若步骤(iv)中确定为负响应于治疗,则改变步骤(ii)中的剂量或给药方案或两者。

[0025] 在一个另外的涉及前述方面和本发明的用途的实施例以及相关的实施例中,该受试者具有转移性乳腺癌。

[0026] 在又一个另外的涉及前述方面和本发明的用途的实施例以及相关的实施例中,该受试者未能响应针对乳腺癌进行的先前化学疗法治疗。在一个涉及前述内容的实施例中,该受试者未能响应用紫杉烷(诸如多西他赛或紫杉醇)进行的先前化学疗法治疗。在又另一个涉及前述内容的实施例中,该受试者未能响应用铂基化疗剂(诸如顺铂)进行的先前化学疗法治疗。

[0027] 在涉及前述方法和用途的一个或多个实施例中,该长效拓扑异构酶-I抑制剂包括通过可释放共价附接至一种或多种水溶性聚合物修饰的一种拓扑异构酶-I抑制剂化合物。示例性的长效拓扑异构酶-I抑制剂化合物包含通过可释放共价附接至一种或多种水溶性聚合物修饰的SN-38以及通过可释放性共价附接至一种或多种水溶性聚合物修饰的伊立替康。

[0028] 在涉及前述方法和用途的一个或多个另外的实施例中,附接到该拓扑异构酶-I抑制剂的一种或多种水溶性聚合物选自聚(亚烷基二醇)、聚(烯醇)、聚(乙烯吡咯烷酮)、聚(羟基烷基甲基丙烯酰胺)、聚(羟基烷基甲基丙烯酸酯)、聚(糖)、聚( $\alpha$ -羟酸)、聚(丙烯酸)、聚(乙烯醇)、聚磷腈、聚噁唑啉、聚(N-丙烯酰吗啉)、或其共聚物或三聚物。在一个优选的实施例中,该水溶性聚合物是一种聚(乙二醇)。

[0029] 用于在该方法中使用的说明性的长效拓扑异构酶-I抑制剂化合物包括季戊四醇基-4-臂-(聚乙二醇-1-亚甲基-2氧代-乙烯基氨基乙酸酯-连接的-伊立替康)以及四[(4S)-4,11-二乙基-9-羟基-3,14-二氧代-3,4,12,14-四氢-1H-吡喃并[3',4':6,7]中氮茚并[1,2-b]喹啉-4-基]N,N',N'',N'''-(α,α',α'',α'''-[氧双(丙烷-3,1,2-三基)]四[聚(氧乙烯)])四[氧(1-氧乙烯)]四甘氨酸酯。此外,可以使用前述项的混盐(诸如TFA-HCl混盐)和氢卤盐(例如盐酸盐)。

[0030] 在该方法的又一个另外的实施例和相关的实施例中,在步骤(i)中,该肿瘤标记物的水平是在用长效拓扑异构酶-I抑制剂进行治疗之前确定的。

[0031] 在涉及任何一个或多个前述方面或实施例的又一个另外的实施例中,在步骤(i)和(iii)中的体液样品选自血浆、血清和血液。

[0032] 每个在此描述的本发明的特征意味着同样适用于如在此描述的每一个实施例,除非另外指明。

[0033] 本发明的另外实施例在以下说明和权利要求书中进行阐述。

#### [0034] 附图简要说明

[0035] 图1A和1B显示在给予145mg/m<sup>2</sup>4-臂-PEG-gly-irino-20K q14d(图1A)或q21d(图1B)之后,血清CA27.29特征曲线的变化(%),其中n等于在每个周期之后可获得的CA27.29可评估样品的数目,如在实例2中所描述的。

[0036] 图2A、2B和2C是针对如在实例1中所描述的进行治疗的个体患者随着时间推移的典型CA27.29特征曲线的实例,其中观察值对应于圆圈,并且个体预测的CA27.29水平对应于实线。

[0037] 图3是在针对基于实例3中所描述的模型的q14d和q21d给药方案两者进行的最初治疗后,随着时间推移SN-38浓度(ng/mL)的标绘图,其中实线代表q14d方案并且虚线代表q21d方案。

[0038] 图4A-4D是说明了在对如实例中所描述的每个响应组中的个体患者进行的一种说明性的长效拓扑异构酶-I抑制剂的初始给药之后,血清CA27.29随着时间的推移观察到的以百分比计的变化的标绘图。图4A对应于有RECIST CR或PR情况的患者(n=15);图4B对应于RECIST SD大于或等于6个月的患者(n=5);图4C对应于RECIST SD小于6个月的患者(n=11);并且图4D对应于有RECIST PD情况的患者(n=10)。

[0039] 图5是针对用一种说明性的长效拓扑异构酶-I抑制剂治疗的乳腺癌患者基于RECIST响应标准所观察到的CA27.29的最大减退的标绘图,如在实例1-3中所描述的。

#### [0040] 本发明的详细说明

#### [0041] 定义

[0042] 如在本说明书中所使用的,单数形式“一个(a)”、“一种(an)”和“该”包括复数个指示物,除非上下文中另外明确指明。

[0043] 在描述和要求本发明时,将依据以下所描述的定义使用以下术语。

[0044] “水溶性的、非-肽聚合物”指的是一种聚合物,该聚合物在室温下在水中是至少35%(按重量计)可溶的,优选地大于70%(按重量计)、并且更优选地大于95%(按重量计)可溶的。典型地,一种“水-溶性”聚合物的一种未过滤的水性制剂传输相同溶液在过滤后传输的光的量的至少75%(更优选至少95%)。然而,最优选的是该水溶性聚合物是至少95%

(按重量计)可溶于水的或完全可溶于水的。关于为“非-肽的”，一种聚合物当具有少于35% (按重量计)的氨基酸残基时是非-肽的。

[0045] 术语“单体”、“单体亚单元”和“单体单元”在此可互换使用并且指的是一种聚合物的基本结构单元之一。在均聚物的情况下，一个单一的重复结构单元形成该聚合物。在共聚物的情况下，两个或更多个结构单元重复出现--以一个模式或随机地--以形成该聚合物。与本发明相结合使用的优选的聚合物是均-聚合物。该水-溶性的、非-肽的聚合物包括一个或多个串联附接的单聚体以形成一个单聚体链。

[0046] 如在此使用的“PEG”和“聚乙二醇”意指包括任何水-溶性的聚(环氧乙烷)。除非另外指明，“PEG聚合物”或聚乙二醇是这样一种物质，其中基本上所有的(优选所有的)单体亚单元是环氧乙烷亚单元，但是，该聚合物可以包含不同的封端部分或官能团，例如用于共轭。用于在本发明中使用的PEG聚合物将包括两种以下结构之一：“-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-”或“-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n-1</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-”，取决于末端的一个或多个氧是否被置换(例如在合成转化期间)。如上所述，对于这些PEG聚合物，该变量(n)的范围是从约3到4000，并且整个PEG的末端基团和架构可以变化。

[0047] 关于几何学或整体结构而言的一种“分支的”聚合物指的是具有从一个分支点伸出的两个或更多个聚合物“臂”的聚合物。

[0048] “生理学上可切割的”或“可水解的”或“可降解的”或“可释放的”键是一个相对不稳定的键，其在生理条件下与水反应(即被水解)。键在水中水解的趋势可能不仅取决于在一个给定的分子之内连接两个原子的连接键的一般类型，还取决于附接至这些原子上的取代基。适当的水解不稳定的或弱的连接包括但不限于羧酸酯、磷酸酯、酸酐、缩醛、缩酮、酰氧基烷基醚、亚胺、原酸酯、肽、寡核苷酸、硫酯以及碳酸酯。

[0049] “酶可降解连接键”意指经受一种或多种酶降解的一个连接键。

[0050] 一个“稳定的”连接键或键指的是在水中基本稳定的一个化学键，也就是说在生理条件下经一段延长的时间没有经受任何明显程度的水解。水解稳定的连接键的实例包括但不限于以下：碳-碳键(例如在脂肪链中)、醚、酰胺、聚氨酯、胺等。大体上，一个稳定的连接键是在生理条件下展示小于约1%-2%的每日水解率的一个连接键。代表性的化学键的水解速率可以在大多数标准化学教科书中发现。

[0051] “实质上”或“基本上”表示几乎全部的或完全的，例如一些给定的数量的95%或更大、更优选97%或更大、仍更优选98%或更大、甚至更优选99%或更大、还又更优选99.9%或更大，最优选99.9%或更大。

[0052] “药学上可接受的赋形剂”或“药学上可接受的载体”指的是可以包含在本发明的组合物中的一个组分，对于患者该组分不会引起显著的不良毒理学效应。

[0053] 术语“患者”指的是患有或易发可通过给予如在此所述的本发明的一种化合物来预防或治疗的病症的活体，并且包括人和动物两者。

[0054] 概述

[0055] 如以上所示，本发明针对(除其他之外)对患有癌症诸如乳腺癌的个体进行的治疗，该治疗是通过如下进行的：向该个体给予一种长效拓扑异构酶I抑制剂，并且将该个体中一种或多种肿瘤标记的水平与该癌症对用该长效拓扑异构酶I抑制剂进行的治疗的响应相关联，从而提供一种用于预测和评估该治疗的治疗效果的方法。

[0056] 肿瘤标记是与恶性疾病相关联的物质。它们是由肿瘤细胞(肿瘤来源的)或由响应于肿瘤细胞(肿瘤相关联的)的主体产生的。它们是被释放进入循环的典型物质,并且因此可以被测量到。在2007年,美国临床肿瘤学会(ASCO)公开了对于肿瘤标志物在乳腺癌的预防、筛查、治疗和监视中的使用的更新的建议。该更新基于自1999年公开的综述和数据分析(哈里斯(Harris L)等人,《临床肿瘤学杂志》(J Clin Oncol) 2007,25:5287-5312)。

[0057] 与乳腺癌高度相关的两个生物标记是癌症抗原15-3和27.29,通常被称为CA15.3和CA27-29。两者都来源于MUC1基因。基于2007年由ASCO公开的更新的建议,当前数据(i)不足以建议CA15.3或CA27-29用于筛查、诊断和分期,(ii)不支持将CA15.3或CA27-29用于针对原发性乳腺癌治疗后的复发监测患者,并且(iii)不足以建议将CA15.3或者CA27.29单独地用于监测对治疗的响应。与诊断性成像、病史和体格检查结合,可以在主动治疗期间使用这些肿瘤标记来监测患有转移性疾病的患者。关于乳腺癌中的肿瘤标记物CEA,ASCO(2007)提供了类似的建议。

[0058] 尽管有针对将肿瘤标记CA15.3和CA27.29用于原发性治疗后复发的筛查、诊断、分期和监测的前述建议,并且与ASCO指南(2007)保持一致,该指南声明可以在主动治疗期间与其他检测方法结合使用此类肿瘤标记来监测患有转移性疾病的患者,但在被诊断患有乳腺癌的患者中经使用长效拓扑异构酶-I抑制剂进行的疗程观察到血清CA27.29水平的一个意想不到的和意外的趋势(参见图1A和1B),并且导致开发了将MUC-1抗原的动力学与SN-38暴露、肿瘤大小和RECIST(实体肿瘤的响应评价标准)连接的一个数学模型,从而提供用于在各种临床情境下预测对用长效拓扑异构酶-I抑制剂进行的治疗的响应的方法。虽然绝不希望被理论所束缚,但据信该拓扑异构酶-I抑制剂的长效性质,凭借其改善活性代谢物SN-38的药物代谢动力学,由此在整个给药间隔中对该实体肿瘤提供向SN-38的持续暴露的能力,有助于观察到MUC-1肿瘤标记物浓度与SN-38暴露的相关性。

#### [0059] 方法

[0060] 在此描述的方法涉及给予一种长效的拓扑异构酶I抑制剂。在这方面,本发明不限于任何特定的拓扑异构酶I抑制剂,只要该拓扑异构酶I抑制剂是长效的。当一种拓扑异构酶抑制剂的有效半衰期满足一个或多个以下范围时,该拓扑异构酶I抑制剂是长效的:从约5天至约60天,从约9天至约60天;从约13天至约60天;从约21天至约60天;从约28天至约60天;从约35天至约60天;从约42天至约60;以及从约49天至约60天。用于在该方法中使用的示例性的长效拓扑异构酶-I抑制剂化合物包括长效形式的喜树碱、喜树碱衍生物和代谢物,诸如喜树碱、托泊替康、伊立替康、SN-38、10-羟基喜树碱和11-羟基喜树碱。

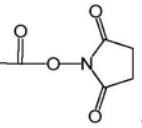
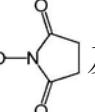
[0061] 关于一种药物(诸如一种拓扑异构酶-I抑制剂)的有效半衰期,一些拓扑异构酶I抑制剂代谢为SN-38,这可是对拓扑异构酶I的抑制活性的主要原因。因此,那些代谢为SN-38的拓扑异构酶I抑制剂常依据SN-38的消除(而不是按照拓扑异构酶I抑制剂自身的消除)描述其半衰期。因此,如在此所使用的,一种拓扑异构酶I抑制剂药物的“有效的”半衰期是拓扑异构酶I的抑制活性的主要原因的实体的半衰期--无论是最初给予的药物还是最初给予的药物的代谢物。举例而言,文献报道了伊立替康的有效半衰期(基于SN-38的消除)是大约两天,然而一种拓扑异构酶-I抑制剂聚合物共轭物的有效半衰期(还是基于SN-38的消除)是大约五天。分别参见例如克赫尔(Kehrer)等人(2000)《临床癌症研究》(Clin.Cancer Res.),6:3451-3458以及詹姆士(Jameson)等人(2013)《临床癌症研究》(Clin.Cancer Res.),19:268-

278。

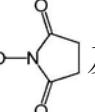
[0062] 长效的拓扑异构酶I抑制剂的示例性和非限制性实例包括通过以下化学式涵盖的化合物：

[0063] C-[CH<sub>2</sub>-O-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-CH<sub>2</sub>-Term]<sub>4</sub>,

[0064] 其中在每个情况下n是具有从5至150(例如约113)的值的一个整数;并且在每个情

况下Term选自下组,该组由以下各项组成:-OH、-C(O)OH、 和-NH-CH<sub>2</sub>-C(O)-O-、

Irino,其中Irino是伊立替康的一个残基,并且在此类化合物的一种组合物中,至少90%是

Irino并且剩余的10%选自下组,该组由以下各项组成:-OH、-C(O)OH、 及其药学

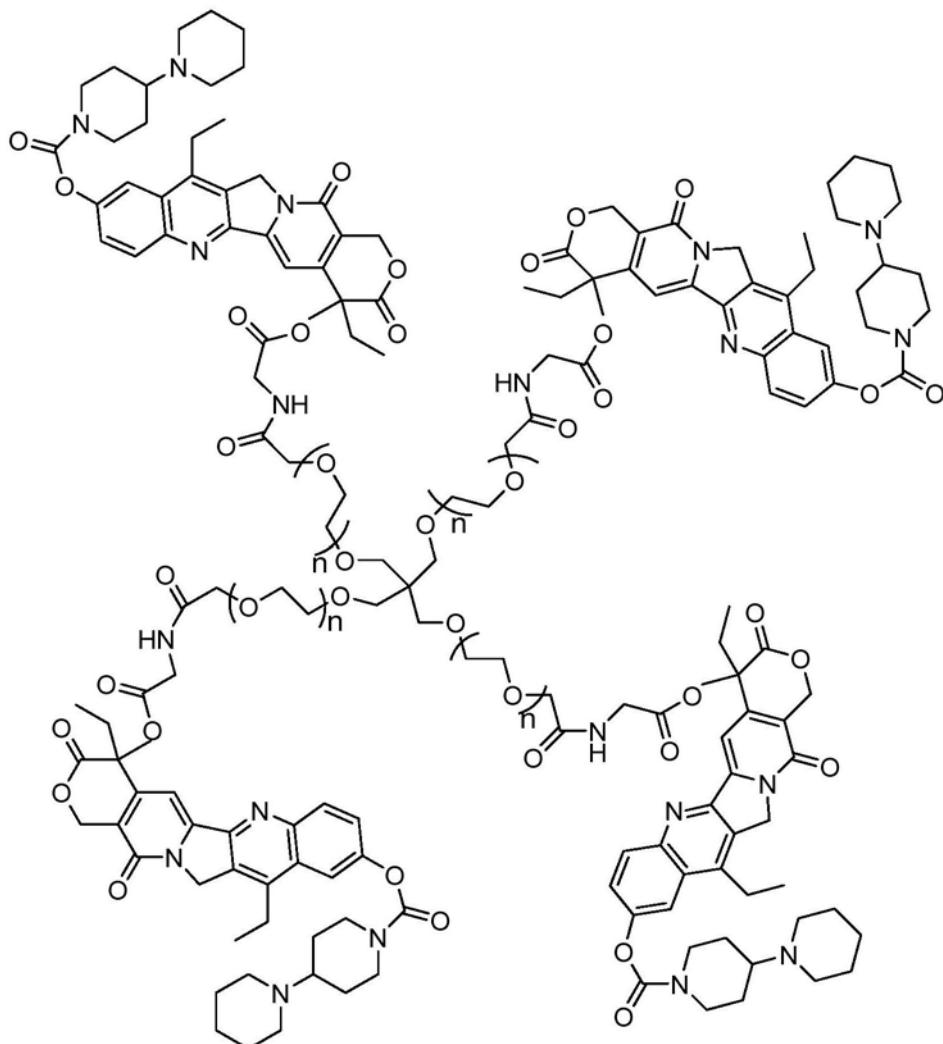
上可接受的盐(包括混盐)。优选地,该伊立替康在其10-、11-或20-环位置上被修饰。这些和其他的化合物和组合物被描述在国际专利申请号W02011/063156中。

[0065] 长效的拓扑异构酶I抑制剂的另外的示例性和非限制性实例包括通过以下化学式涵盖的化合物：

[0066] R(-Q-POLY<sub>1</sub>-CH<sub>2</sub>-C(=O)-NH-CH<sub>2</sub>-C(=O)-O-D)<sub>q</sub>

[0067] 其中R是拥有从3至150个碳原子的有机自由基,Q是一个连接子,其中当R与Q一起形成R(-Q)<sub>q</sub>时,R是一种多元醇或聚硫醇在去除“q”羟基或硫醇质子后,分别形成对于POLY<sub>1</sub>的一个连接点的一个残基;POLY<sub>1</sub>是一种选自下组的水溶性的、非肽聚合物,该组由以下各组组成:聚(亚烷基二醇)、聚(烯醇)、聚(乙烯吡咯烷酮)、聚(羟基烷基-甲基丙烯酰胺)、聚(羟基烷基-甲基丙烯酸酯)、聚( $\alpha$ -羟酸)、聚(丙烯酸)、聚(乙烯醇)、聚磷腈、聚噁唑啉、聚(N-丙烯酰吗啉)及其共聚物或三聚物,D是附接在其10-、11-或20-环位置上的一种喜树碱,并且q具有从3至50的一个值,及其药学上可接受的盐(包括混盐)。

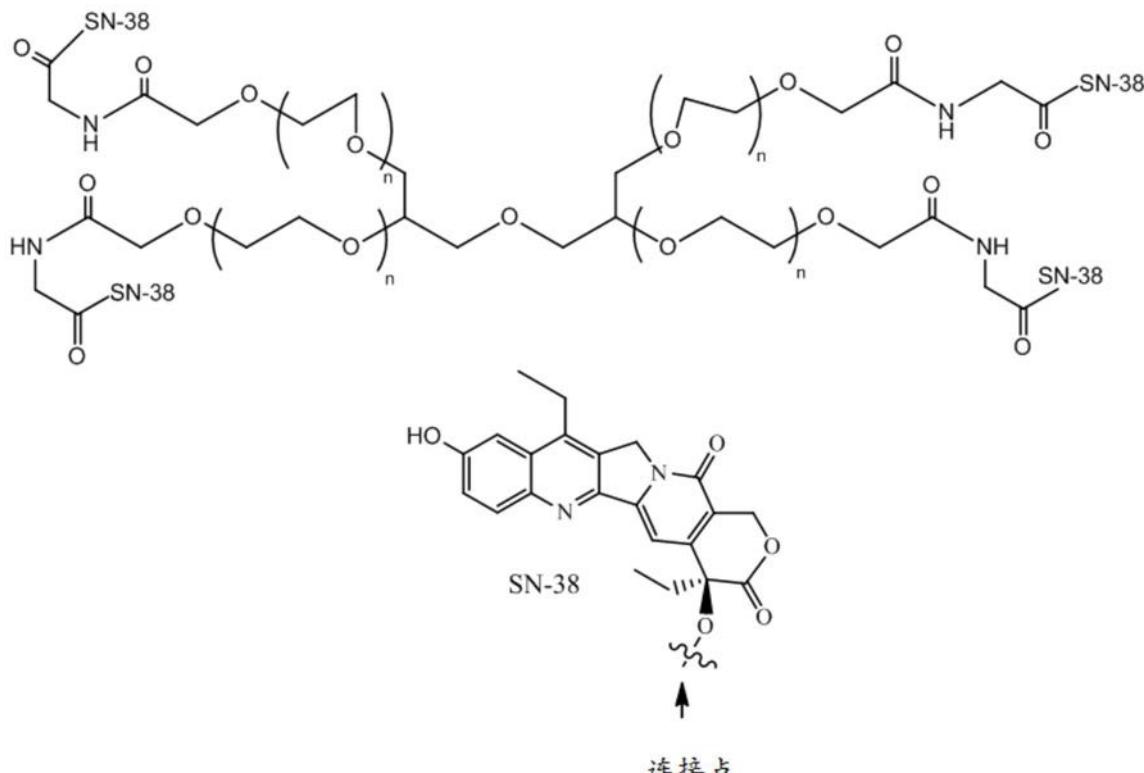
[0068] 例如,以下基于季戊四醇的多臂结构是长效的拓扑异构酶I抑制剂的示例性的和非限制性的化合物;



[0070] 其中每个n是范围从40至约500的一个整数(例如约113和约226),及其药学上可接受的盐(包括混盐)。以上和其他化合物被描述在美国专利号7,744,861中并且被视为是“伊立替康的基于季戊四醇的多臂聚合物共轭物”或一种“PBMAPCI”。

[0071] 长效的拓扑异构酶I抑制剂的另外的示例性和非限制性实例包括通过以下化学式涵盖的化合物:

[0072]



[0073] 其中每个(n)是从约28至约341的一个正整数并且每个SN-38是SN-38的一个残基。这些和其他的化合物被描述于WO 2007/092646, 萨普拉(Sapra)等人《摘要》(Abstract)145, 标题为“一种新型聚(乙二醇)共轭的SN38共轭物在乳腺癌和结直肠癌的异种移植模型中的显著治疗效果(Marked therapeutic efficacy of a novel poly(ethylene-glycol) conjugated SN38conjugate in xenograft models of breast and colorectal cancers)”, 帕特奈克(Patnaik)等人(2009)在AACR-NCI-EORTC上展示的海报(Poster)C221。在一个涉及在此描述的方法和用途的具体实施例中, 该长效的拓扑异构酶抑制剂-I化合物是聚乙二醇化的firtecan pegol(还被称为EZ-2208或四[(4S)-4,11-二乙基-9-羟基-3,14-二氧化-3,4,12,14-四氢-1H-吡喃并[3',4':6,7]中氮茚并[1,2-b]喹啉-4-基]N,N',N'',N'''-(α,α',α'',α''')-[氧双(丙烷-3,1,2-三基)]四[聚(氧乙烯)]四[氧(1-氧代乙烯)]四)甘氨酸酯)。

[0074] 长效的拓扑异构酶I抑制剂的另外的示例性的和非限制性的实例包括拓扑异构酶-I抑制剂, 诸如通过可释放共价附接至一种或多种水溶性聚合物修饰的伊立替康、托泊替康、喜树碱、或SN-38, 这种或这些水溶性聚合物是诸如聚(亚烷基二醇)、聚(烯醇)、聚(乙烯吡咯烷酮)、聚(羟基烷基甲基丙烯酰胺)、聚(羟基烷基甲基丙烯酸酯)、聚(糖)、聚(α-羟酸)、聚(丙烯酸)、聚(乙烯醇)、聚磷腈、聚噁唑啉、聚(N-丙烯酰吗啉)、或其共聚物或三聚物。优选地, 该水溶性聚合物是一种聚(乙二醇)。对于该水溶性聚合物与该拓扑异构酶-I抑制剂的可释放共价附接的说明性的可释放连接键包括羧酸酯、磷酸酯、酸酐、缩醛、缩酮、酰氧基烷基醚、亚胺、原酸酯、肽和寡核苷酸。

[0075] 用于确定一种给定的化合物是否可以充当一种长-效的拓扑异构酶I抑制剂的测定可以由本领域的普通技术人员通过常规的药代动力学实验来确定。

[0076] 根据在此描述的方法, MUC-1抗原肿瘤标记物(诸如CA15-3或CA27.29)的水平是首先被确定的, 以在用长-效拓扑异构酶I抑制剂化合物进行治疗之前提供一个基线值或参考值。该肿瘤标记物的水平可以在一种体液(诸如血液、血清、血浆或尿)中确定。优选地, 该水平在血液、血浆或血清中确定。大体上, 将CA15-3使用基于竞争性结合原理的放射免疫测定或使用ELISA方法的夹心型式以单克隆抗体来定量。用于检测CA15-3的ELISA测试试剂盒可获自振威生物技术公司(GenWay Biotech Inc.)和潘诺米克公司(Panomics)。

[0077] 该CA15-3ELISA测试基于固相酶联免疫吸附测定的原理。该测定系统利用针对完整的CA15-3分子上的不同的抗原决定簇的单克隆抗体并且用于固相固定化(在微量滴定孔上)。与辣根过氧化物酶(HRP)共轭的一种兔抗-CA15-3抗体处于抗体-酶共轭溶液中。允许该测试样品顺序地与这两种抗体反应, 产生夹于该固相和酶联抗体之间的CA15-3分子。在37°C下两个分离的1小时孵育步骤之后, 将这些孔用洗涤缓冲液进行洗涤以去除未结合的标记抗体。添加TMB试剂(3,3',5,5'四甲基-联苯胺)的溶液并且孵育20分钟, 导致一种蓝色颜色的显影。将该显色以添加终止溶液来终止, 从而改变颜色至黄色。CA15-3的浓度直接与该测试样品的颜色强度成正比。通过分光光度计在450nm处测量吸光度。

[0078] CA15.3的检测还可以使用如由舒尔卜(Chourb,S.)等人,《科学研究》(SciRes.), 3(8), 524-528 (2011)所描述的ALYGNSA荧光免疫测定来确定。

[0079] CA15-3的正常水平被认为是小于25U/ml, 因此在被诊断患有乳腺癌的患者中在用长效拓扑异构酶I抑制剂化合物进行的治疗开始之前, CA15-3的参考水平通常将大于25U/ml并且更典型地通常将大于30U/ml。

[0080] 类似地, 一种用于检测CA27.29的ELISA测试试剂盒可获自Antibodies-Online.com。该试剂盒由一个微量滴定板组成, 该微量滴定板预涂覆有对CA27.29特异的抗体。将标准品或样品添加至适当的微量滴定板孔中, 该微量滴定板孔具有一种对CA27.29特异的生物素结合的多克隆抗体制品种。将共轭至辣根过氧化物酶(HRP)的亲和素添加至每个微孔板孔中并且进行孵育。然后向每个孔中添加TMB(3,3',5,5'四甲基-联苯胺)底物溶液, 其中仅仅包含CA27.29、生物素共轭的抗体和酶共轭的亲和素的那些孔展示颜色的变化。该酶-底物反应通过添加硫酸溶液而终止, 并且该颜色变化是通过分光光度计在450nm±2nm的波长处进行测量。然后, 通过将这些样品的O.D.与标准曲线进行比较来确定这些样品中的CA27.29浓度。

[0081] CA27.29的正常水平被认为是小于38U/ml, 因此在被诊断患有乳腺癌的患者中在用长效拓扑异构酶I抑制剂化合物进行的治疗开始之前, CA27.29的参考水平通常将大于38U/ml。

[0082] 根据在此描述的方法, 还可以使用一种肿瘤标记物, 诸如CEA的水平。首先确定CEA的水平以在用该长-效拓扑异构酶I抑制剂治疗之前提供一个基线或参考值。CEA是一种存在于胚胎和胎儿的胃肠道和体液中的180千道尔顿的癌胚糖蛋白。小量的CEA存在于成人的血液中。小于2.5ng/ml的正常CEA浓度见于约97%的健康个体中。用于在本发明的方法中使用, 在被诊断患有乳腺癌的患者中的CEA参考将通常是4ng/ml或更多。典型地通过免疫化学发光分析测定进行CEA的检测。临床环境中的CEA测试的描述提供于例如德尔加多(Delgado,J.)等人,《实验室医学》(Laboratory Medicine) (2001), 第2期, 32, 92-95。该肿瘤标记物的水平可以在一种体液(诸如血液、血清、血浆或尿)中确定。优选地, 该水平在血

液、血浆或血清中确定。

[0083] 根据在此所描述的方法,将该长-效的拓扑异构酶I抑制剂按照给定的给药方案经至少2周的时程给予患者。优选地,该长效的拓扑异构酶I抑制剂以拓扑异构酶I-抑制的(即治疗有效的)量给予患者。本领域普通技术人员可以确定一种给定的拓扑异构酶I抑制剂的足以提供临幊上相关的拓扑异构酶I的抑制的剂量。例如,本领域普通技术人员可以参考文献和/或给予一系列的不断增加的剂量的拓扑异构酶抑制剂并且确定哪个量或哪些量提供临幊上相关的拓扑异构酶I的抑制。

[0084] 然而,在一个或多个情况下,该拓扑异构酶I-抑制量(尤其关于伊立替康的基于季戊四醇的多臂聚合物共轭物)是通过一个或多个以下范围所包含的量:从约 $1\text{mg}/\text{m}^2$ 至约 $1000\text{mg}/\text{m}^2$ 的体表;从约 $2\text{mg}/\text{m}^2$ 至约 $900\text{mg}/\text{m}^2$ 的体表;从约 $3\text{mg}/\text{m}^2$ 至约 $800\text{mg}/\text{m}^2$ 的体表;从约 $4\text{mg}/\text{m}^2$ 至约 $700\text{mg}/\text{m}^2$ 的体表;从约 $5\text{mg}/\text{m}^2$ 至约 $600\text{mg}/\text{m}^2$ 的体表;从约 $6\text{mg}/\text{m}^2$ 至约 $550\text{mg}/\text{m}^2$ 的体表;从约 $7\text{mg}/\text{m}^2$ 至约 $500\text{mg}/\text{m}^2$ 的体表;从约 $8\text{mg}/\text{m}^2$ 至约 $450\text{mg}/\text{m}^2$ 的体表;从约 $9\text{mg}/\text{m}^2$ 至约 $400\text{mg}/\text{m}^2$ 的体表;从约 $10\text{mg}/\text{m}^2$ 至约 $350\text{mg}/\text{m}^2$ 的体表;从约 $20\text{mg}/\text{m}^2$ 至约 $200\text{mg}/\text{m}^2$ 的体表;从约 $30\text{mg}/\text{m}^2$ 至约 $200\text{mg}/\text{m}^2$ 的体表;从约 $40\text{mg}/\text{m}^2$ 至约 $270\text{mg}/\text{m}^2$ 的体表;以及从约 $50\text{mg}/\text{m}^2$ 至约 $240\text{mg}/\text{m}^2$ 的体表。

[0085] 被给予的实际剂量将依赖于受试者的年龄、体重和总体健康状况以及正在治疗的病症的严重性、护理专家的判断和被给予的具体的长效拓扑异构酶I抑制剂化合物(特别考虑到其相关的毒性)而变化。

[0086] 任何给定的长效拓扑异构酶I抑制剂的单位剂量能以多种给药方案进行给予,取决于临床医生的判断、患者的需求等。该特定的给药方案可以是本领域普通技术人员已知的或可以使用常规的方法实验确定。示例性的给药方案包括但不限于:给予每日五次、每日四次、每日三次、每日两次、每日一次、每周三次、每周两次、每周一次、每月两次、每月一次,及其任何组合。例如,该给药方案可以包括每7天、每10天、每14天、每21天等的给予。一旦临床终点已经被实现,就要停止该组合物的给药。参见例如实例1,其针对给予至具有乳腺癌的患者的伊立替康的基于季戊四醇的多臂聚合物共轭物描述了一个说明性的剂量和给药方案。如可以在实例1中看到的,患者每14天(q14d)或每21天(q21d)被给予 $145\text{mg}/\text{m}^2$ 。如在表1中可看到的,两个给药方案都导致有利的疗效和患者群体之间的耐受性。

[0087] 典型地,通过给予长效的拓扑异构酶I抑制剂化合物(优选聚合物修饰的伊立替康或SN-38,并且甚至更有利的是一种多臂的聚合物修饰的伊立替康或SN-38,即一种多臂的聚(乙二醇)伊立替康或SN-38化合物,其平均具有自3.5-4个经由一个氨基酸(诸如甘氨酸、连接子)附接至该多臂的聚(乙二醇)核心的拓扑异构酶-I抑制剂分子)的治疗持续时间是至少2周、至少3周、至少6周、至少8周、至少12周、至少16周等。

[0088] 在给予至少一个剂量的长效拓扑异构酶I抑制剂化合物之后,确定体液样品(诸如血液、血浆或血清)中的肿瘤标记物的水平(即给药后的水平)。大体上,给药后确定的该肿瘤标记物的水平是使用与针对治疗之前所取的参考样品所使用的相同的体液确定的。大体上,治疗后肿瘤标记物的水平的确定是在给予初始剂量的该长效拓扑异构酶I抑制剂化合物之后1周或给予该初始剂量后10天、或给予该初始剂量后两周、或给予该初始剂量后三周等进行的。然而,尽管优选取给予该初始剂量后至少3-14天(例如3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、或14天)的首次给药后肿瘤标记物水平,该肿瘤标记物的初始剂量后水平可以在该

初始给药后的任一天确定,因为该长效拓扑异构酶-I抑制剂化合物的长效性质允许该化合物有充足的时间在该肿瘤标记物上产生一种治疗的且可测量的效果。经该疗程,可以进行一次或多次另外的肿瘤标记物确定。例如,肿瘤标记物水平可以在给予初始剂量后在1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周和/或16周等或在上述时间点的任何组合处来确定。

[0089] 参见例如图1A和1B,其显示血清CA27.29水平随着该疗程在不同的时间点处的变化百分比。如可以看到的,对于两个示例性治疗方案,CA27.29水平随着时间的推移在两个情况中均显著降低了至少百分二十五。

[0090] 如可以看到的,MUC-1抗原生物标记物CA27.29经该疗程自基线或参考水平的减少与乳腺癌对用长效拓扑异构酶-I抑制剂化合物进行的治疗的响应相关。参见例如实例3和图5。

[0091] 如在实例3中所详述的,基于以上所提到的相关性,一个模型被设计用来预测对于每一患者的血浆SN-38浓度时间特征曲线、用来研究预测的SN-38血浆浓度和血清CA27.29水平之间的关系、用来确定起因于给予长效拓扑异构酶-I抑制剂SN-38的代谢物是否直接抑制CA27.29的产生。当与未修饰的(即短效的)拓扑异构酶-I抑制剂化合物相比时,在本方法中利用的长效拓扑异构酶-I抑制剂化合物(诸如在此所描述的伊立替康的基于季戊四醇的多臂聚合物共轭物以及SN-38的多臂聚合物共轭物)通常提供该实体肿瘤向SN-38的长时间连续暴露。至少部分地由于根据本方法给予的拓扑异构酶-I抑制剂化合物的长效性质,基于说明性的MUC-1抗原CA27.29的水平对与临床结果的相关性成功地进行了建模。如在图2A、2B和2C中所示,肿瘤标记CA27.29(基于该模型)的预测值与它们的观测值密切相关。因此,在此所描述的PK/PD模型准确地描述了MUC-1抗原肿瘤标记(诸如CA27.29),并且进一步地,允许从SN-38PK数据预测长效拓扑异构酶-I抑制剂响应。

[0092] 图4A-4D说明在每个处理组中,针对个体患者在初始给药之后随着时间的推移观察到的CA27.29的血清水平的变化(以百分比计)。显著地,93%的具有RECIST CR(完全响应者)或PR(部分响应者)的患者展示CA27.29的减退。通过RECIST响应观察到的CA27.29最大减退在图5进行标绘。

[0093] 基于上述内容,提供一种方法,其中乳腺癌向SN-38的暴露(起因于对被诊断患有乳腺癌的受试者用长效拓扑异构酶-I抑制剂化合物进行的治疗)与患者中的肿瘤标记物(即CA27.29或CA15-3)的水平以及该治疗方案的疗效相关,从而允许与治疗的临床结果相关的预测。在该方法的一个实施例中,肿瘤标记物的水平在第6周降低至少25%(自参考或基线水平)显示了与患者中至少4个月的无进展生存期正相关。参见例如实例3。

[0094] 取决于经疗程确定的肿瘤标记物的水平以及与治疗疗效相同的相关性,使用一种模型(诸如在此所描述的),剂量、给药方案或两者都可以被调整以实现一种对于患者更有利的临床结果。

[0095] 本发明提供一种方法,该方法对于(除其他之外)治疗患有一种病症的患者是有用的,该病症响应于用一种长效拓扑异构酶-I抑制剂化合物进行的治疗。虽然一般经肠胃外的途径给药,但也考虑其他的给药模式,诸如经肺、经鼻、经颊、经直肠、经舌下以及经皮给药。如在此所使用,术语“肠胃外”包括皮下、静脉内、动脉内、腹腔内、心脏内、鞘内、和肌内注射,连同输注注射。

[0096] 可以使用目前描述的方法(其中将一种长效的拓扑异构酶I抑制剂化合物给予患者)来治疗可以通过这个途径补救或预防的任何病症。示例性的病症是癌症,诸如纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肪肉瘤、软骨肉瘤、成骨肉瘤、脊索瘤、血管肉瘤、内皮肉瘤、淋巴管肉瘤、淋巴管内皮肉瘤、滑膜瘤、间皮瘤、尤因氏瘤、平滑肌肉瘤、横纹肌肉瘤、结肠癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、鳞状细胞癌、基底细胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳头状癌、乳头状腺癌、囊腺癌、髓样癌、支气管癌、肾细胞癌、肝癌、胆管癌、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎性癌、维尔姆斯氏肿瘤、宫颈癌、睾丸癌、肺癌、小细胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、胶质瘤、星形细胞瘤、成神经管细胞瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤、松果体瘤、成血管细胞瘤、听神经瘤、少突神经胶质瘤、脑膜瘤、黑素瘤、成神经细胞瘤、成视网膜细胞瘤和白血病。最通常地,该患者是被诊断患有乳腺癌的一位患者。

[0097] 根据在此描述的该方法进行治疗的受试者可以具有多种类型的乳腺癌的任一种,包括原位导管癌、浸润性导管癌、三阴性乳癌、炎症性乳腺癌、转移性乳腺癌、髓样癌、管癌或黏液癌。该乳腺癌可以是HER2-阳性的。在一个具体实施例中,该患者具有转移性乳腺癌。

[0098] 根据本发明方法治疗的患有乳腺癌的受试者还可以先前已接受用一种或多种化疗剂进行的治疗。例如,该受试者可以具有转移性乳腺癌并且先前已经历用以下项中的一种或多种进行的化疗:紫杉烷药物,诸如多西他赛或紫杉醇;蒽环类,诸如表阿霉素、多柔比星或米托蒽醌;卡培他滨、贝伐单抗或曲妥珠单抗。

[0099] 在此引用的所有文章、书籍、专利、专利公开及其他公开物通过引用以其全部内容结合。倘若本说明书的教导和通过引用结合的本领域之间不一致,以本说明书中的教导和定义的含义为准(特别是关于在此处所附的权利要求书中使用的术语)。例如,其中本申请和通过引用结合的公开物不同地定义了相同术语,该术语的定义将保留在该定义位于的文件的教导之内。

#### [0100] 实验

[0101] 应当理解的是虽然本发明已结合某些优选的和具体的实施例进行描述,但前述的描述以及以下的实例意欲说明但不限制本发明的范围。本发明范围内的其他方面、优点和修饰对本发明所属领域的技术人员来说将是显然的。

[0102] 季戊四醇基-4-臂-(PEG-1-亚甲基-2氧代-乙烯基氨基乙酸盐连接的-伊立替康)-20K("4-臂-PEG-gly-irino-20K")获自尼克塔治疗公司(Nektar Therapeutics)(旧金山,加利福尼亚州)。前述化合物的制备描述在美国专利号8,263,062中。

#### [0103] 实例1

[0104] 对季戊四醇基-4-臂-(PEG-1-亚甲基-2氧代-乙烯基氨基乙酸盐连接的-伊立替康)-20K的两个不同给药方案在患有先前经治疗的转移性乳腺癌的患者中的疗效和安全性的评估

[0105] 将七十位患者招募到该试验(每组n=35)中。平均的患者年龄是54.5岁(范围是33-83岁),ECOG行为状态是40%为零并且60%为1,自首次诊断到给予化学治疗药的平均时间是4.5年(范围是0-19年),并且针对MBC的细胞毒性方案的平均数目是2。所有患者先前已经接受用紫杉烷(76%多西他赛;40%紫杉醇)的治疗;89%已经接受先有的蒽环(63%表柔比星;24%多柔比星并且一个患者用米托蒽醌);并且27%的患者已经接受卡培他滨。十五位(21.4%)患者已经接受先有的贝伐单抗。在患有HER2-阳性疾病的五位患者之间,全部都

已经接受先有的曲妥珠单抗;没有一人已经接受先有的拉帕替尼。

[0106] 将患者1:1随机化为两个治疗组,对不同给药频率的相同剂量进行比较。在第1天,作为一种静脉内输注,以 $145\text{mg}/\text{m}^2$ 每14天(q14d)或每21天(q21d),经90分钟给予4-臂-PEG-gly-irino-20K。患者接受治疗直至疾病出现进展或不可接受的毒性。针对3-4级血液性毒性、3-4级腹泻、及其他2-4级非血液性毒性(除脱发、厌食、衰弱和未经治疗的恶心/呕吐外),将药物剂量减少剂量 $25\text{mg}/\text{m}^2$ 。协议再治疗标准需要在给予下一个剂量之前,将毒性和血液学参数确定为以下等级或水平:腹泻,完全解决;其他血液性毒性,等1级;中性粒细胞 $\geq 1,500/\text{mm}^3$ ;血小板 $\geq 100,000/\text{mm}^3$ ;并且血红蛋白 $\geq 9\text{g}/\text{dL}$ 。

[0107] 在筛查时以及在每个周期第1天获得病史。进行体格检查,并且在筛查时、在每个周期的第1天和治疗结束时分析血清CA27.29、差分全血计数以及血清化学。在筛查时和在每个周期的第1天分析凝血参数。在筛查(在28天之内第1周期的第一天)时及其后大约每6周(直到疾病进展、开始新的癌症疗法或研究结束)进行放射检查(计算机体层摄影术或磁共振成像,对整个研究中的每个损伤使用相同方法)。在治疗末访视后,大约每3个月接触患者以评估进展(在研究上缺乏进展的情况下)、生存期、后续的抗癌疗法的接受以及毒性的解决。

[0108] 通过RECIST版本1.0(席拉塞(Therasse,P.)等人,2000,《全国癌瘤研究所杂志》(Journal of the National Cancer Institute),92(3),205-216)来测量响应,并且根据美国国家癌症研究所对于不良事件的常见术语标准(NCI-CTCAE)版本3.0将毒性进行分级。

[0109] 主要终点是ORR,通过一个第二成像程序以自最初观察到响应始至少28天的所有响应进行确认。次要终点是PFS、总体存活期(OS)、6个月和1年生存期、以及安全性。探索性终点包括CA27.29、UGT1A1和ABCC2多态性自基线的改变,以与挑选的毒性相关联。

[0110] 将用于分析的三个群体定义为:1)意向治疗(ITT),2)可评价的疗效,以及3)安全性。ITT群体是用于所有疗效分析的主要群体并且包括所有随机化的患者。可评价的疗效群体包括所有随机化的患有可测量的疾病的患者,这些患者在研究药物给予后具有至少一次肿瘤评估或在首次药物给予研究的6周内具有疾病进展或死亡。安全群体由所有接受至少一个剂量或部分剂量的化疗剂的患者组成。

[0111] 针对连续变量使用汇总统计,针对分类变量使用频度计数和百分比。使用精确方法来计算对于ORR的百分九十五置信区间。使用卡普兰-迈耶(Kaplan-Meier)方法分析时间至事件变量。

[0112] 化疗剂4-臂-PEG-gly-irino-20K大幅超过该研究的疗效阈值,当每14天或每21天给予时,产生28.6%的客观响应率(ORR)。参见以下表1。

[0113] 表1

[0114] 患有转移性乳腺癌患者的疗效结果

[0115]

参数	总计
总体响应率 (ORR)	29% (N=66)
无进展生存期 (PFS)	4.6 个月 (在 q21d 中为 5.3 个 月)
总体生存期 (OS)	10.3 个月 (13.1 个月, q21d)
整体最佳 CA27.29 响应 (至少一次观 察到自基线 50%或更好程度的减退)	36% (16/45)

[0116] 实例2

[0117] 在筛查期间的CA27.29生物标记物测量

[0118] 基于在实例1中所描述的研究产生一个分析数据集。自48位患者以可获得筛查值进行的基线CA27.29测量显示在表2中。

[0119] 表2

[0120] 在筛查时的基线CA27.29测量值 (U/mL)

[0121]

	最小	25%四分位 数	中位数	75%四分位 数	最大
q14d (N = 26)	13	38.8	89	149.5	3383
q21d (N = 22)	14	25	61.5	242	669
总计 (N = 48)	13	27	78	184	3383

[0122] 所利用的分析数据集由45位具有至少两次CA27.29测量(首次给药前和首次给药后的)的患者组成。

[0123] 图1A和1B显示在给予145mg/m<sup>2</sup>4-臂-PEG-gly-irino-20K q14d (图1A) 或q21d (图1B) 之后,血清CA27.29特征曲线的变化(%) ,其中n等于在每个周期之后可获得的CA27.29可评价样品的数目。如可以看到的,发现在两种被评估的治疗方案下,该CA27.29生物标记物的水平随着用长效拓扑异构酶I抑制剂进行的治疗的时程会减少。

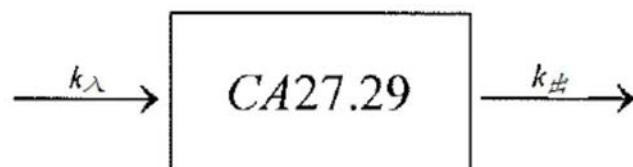
[0124] 实例3

[0125] 将CA27.29的动力学与SN-38暴露、肿瘤大小和RECIST进行连接的数学模型的开发

[0126] 基于给药信息和前述开发的群体PK模型设计了一个模型,以预测针对每个患者的血浆SN-38浓度-时间特征曲线(埃尔登(M.A.Eldon),霍克(U.Hoch.),《临床肿瘤学杂志》(J.Clin Oncol),29:2011(增刊;摘要2598))。该模型的目的是来研究预测的血浆SN-38浓度和血清CA27.29浓度的关系,并且来测试SN-38(间接地)是否抑制CA27.29的产生。

[0127] 该模型基于以下项:

[0128]



CA 27.29产生率的指数增长

$$\frac{d[CA27.29]}{dt} = \overbrace{k_{\lambda} \cdot e^{\beta t}}^{\text{CA 27.29产生率的指数增长}} \cdot \left( 1 - \frac{[C_{SN38}]}{IC50 + [C_{SN38}]} \right) - k_{\text{出}} [CA27.29]$$

[0129] 其中  $k_{\lambda}$  是血清CA27.29的产生率;  $k_{\text{出}}$  是血清CA27.29的消除率;  $[CA27.29]$  是CA27.29的血清浓度(U/mL), 并且  $[C_{SN38}]$  是SN-38浓度(ng/mL)。变量  $e^{\beta t}$  代表CA27.29产生率的指数增长, 同时  $\left( 1 - \frac{[C_{SN38}]}{IC50 + [C_{SN38}]} \right)$  代表抑制效应。

[0130] 该模型的使用提供了以下结果。基于SN-38水平(起因于给予的化疗剂, 4-臂-PEG-gly-irino-20K)和生物标记CA27.29之间的相关性的发现, 成功地对给予长效拓扑异构酶I-抑制剂的响应类型进行了建模。对于一种长效拓扑异构酶I-抑制剂(诸如4-臂-PEG-gly-irino-20K或另一种类似的、经修饰的拓扑异构酶-I抑制剂), 当与未经修饰的药物自身相比较时, 肿瘤向SN-38的暴露被大大地延长。与伊立替康的2天相比, 对于4-臂-PEG-gly-irino-20K, 消除半衰期是50天, 然而, 最大浓度是少五倍至十倍, 导致大大降低的毒性。因此, 由于该化疗剂的长效性质(并且因此延长向其代谢物SN-38的暴露), 对与临床结果的相关性基于CA-27.29的水平成功地建模。

[0131] 将这些CA27.29浓度-时间特征曲线通过独立于响应类型的模型详细地进行描述。将CA27.29的动力学与SN-38暴露、肿瘤大小和RECIST关联, 从而提供在不同临床情境(诸如剂量和/或方案的改变、给药延迟的发生等)下预测对治疗的响应的能力。

[0132] 图2A、2B和2C是针对如在实例1中所描述的进行治疗的个体患者随着时间推移的典型CA27.29特征曲线的实例, 其中观察值对应于圆圈, 并且个体预测的CA27.29水平对应于实线。如可以看到的, 该相关性是显著的。

[0133] CA27.29减退的半衰期被估算为15天, 而SN-38的建模群体平均  $IC_{50}$  为1.6ng/mL。在不存在剂量中断的情况下, 在稳定状态的最小血浆SN-38浓度( $C_{min}$ )分别达到q14d和q21d方案的  $IC_{50}$  的大约94%和55%。

[0134] 图3是在针对q14d和q21d给药方案两者进行的最初治疗后, 随着时间推移SN-38浓度(ng/mL)的标绘图, 其中实线代表q14d方案并且虚线代表q21d方案。

[0135] 针对经该疗程与肿瘤大小的相关性还评估了CA27.29的水平。参见图4A-4D, 其是说明了在对每个响应组中的个体患者进行的初始给药之后, 血清CA27.29随着时间的推移观察到的以百分比计的变化的标绘图。针对CA27.29响应与肿瘤大小的相关性, 四十一位患者进行了治疗前和治疗后肿瘤测量。百分之九十三(14/15)的具有RECIST CR(完全响应)或

PR(部分响应)的患者展现了CA27.29的减退。所有具有RECIST SD(稳定的疾病) $\geq 6$ 个月的患者( $n=5$ )也显现了减退,然而仅55%( $6/11$ )的具有SD $<6$ 个月的患者显示了CA27.29的减退。百分之八十( $8/10$ )的具有RECIST PD(疾病进展)的患者显示了CA27.29自基线的升高。(参见艾森豪威尔(Eisenhauer,E.A.)等人,《欧洲癌症杂志》(European Journal of Cancer),45(2009),228-247针对涉及响应标准的定义,该响应标准用以确定对于目标病灶(诸如以上所使用的那些)的客观肿瘤响应)。CA27.29自基线的较大减退与更好的RECIST响应相关联。

[0136] 图5中标绘了通过RECIST响应观察到的CA27.29的最大减退。对于PR和CR,最大的CA27.29减退的中位数大于50%。对于SD $\geq 6$ 个月,CA27.29的最大减退的中位数也是显著的,但是更小,为30%,而对于SD $<6$ 个月的中位数是可忽略不计的。对于PD,该中位数没有减退,而是增加。

[0137] 基于CA27.29在第6周26%的最小减少对无进展生存期(PFS)的相关因素进行探究。选择在第6周处的减少来避免CA27.29上的假早期升高,这种假早期升高可能在开始的4-6周中发生(基于ASCO建议)。在具有CA27.29上 $\geq 25\%$ 减少的26位患者之中,十二位患者在第6周已经不进展或中断治疗。在第6周( $n=12$ )具有 $\geq 25\%$ 减少的患者具有12个月的中位数PFS,而在第6周具有CA27.29 $<25\%$ 减少( $n=4$ )或升高( $n=13$ )的患者具有6个月的中位数PFS。对1000位接受 $145\text{mg}/\text{m}^2$ q21d的患者的模拟研究预计,在不存在剂量减少/中断的情况下,46%将会实现CA27.29的 $\geq 25\%$ 减少。

[0138] 作为所描述的建模研究的结果,确定:在此所描述的PK/PD模型准确地描述了CA27.29特征曲线,从而提供了从SN-38PK数据预测药物响应的工具,该SN-38数据来源于用一种长效拓扑异构酶-I抑制剂(诸如所描述的说明性化疗剂)进行的治疗性治疗。此外,CA27.29自基线水平的变化可以构建用于长效拓扑异构酶-I抑制剂药物的治疗响应的一个早期标记物。最后,在用 $145\text{mg}/\text{m}^2$ 的4-臂-PEG-gly-irino-20K q21d给药之后,模型预测的CA27.29特征曲线表明,更好耐受性的q21d方案将产生与来自第2阶段研究中所使用的两种方案的那些相一致的临床结果。

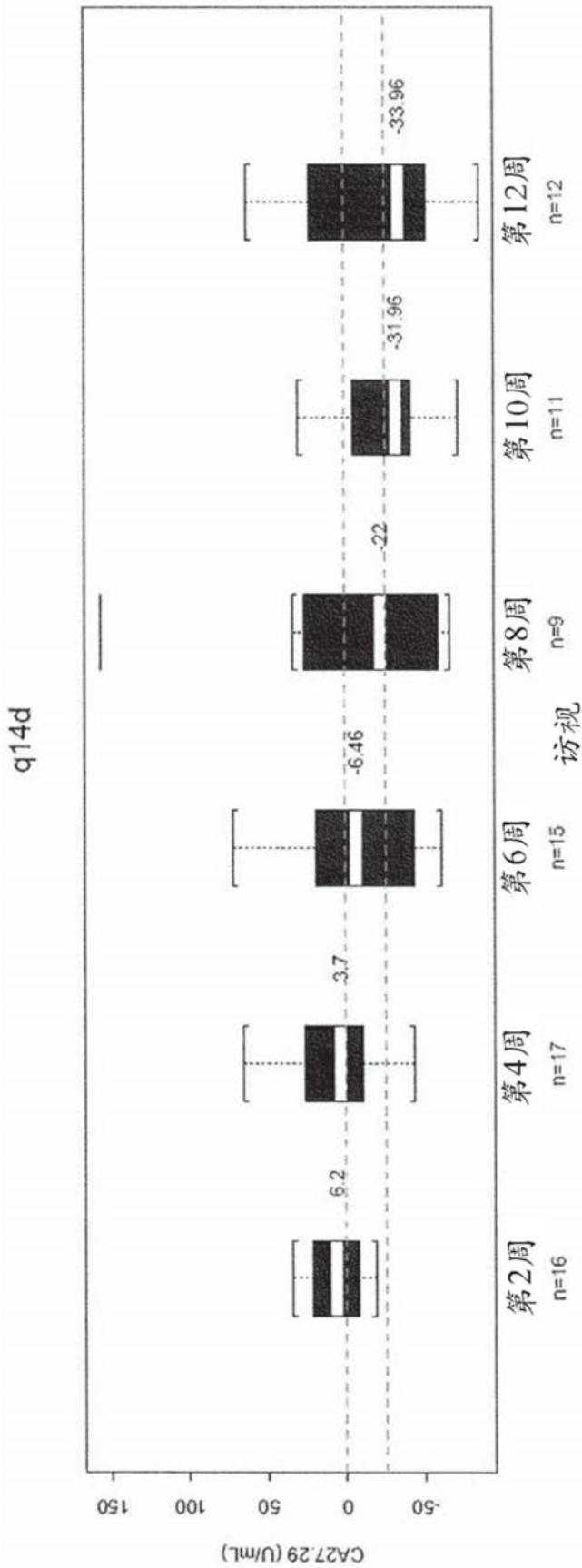


图1A

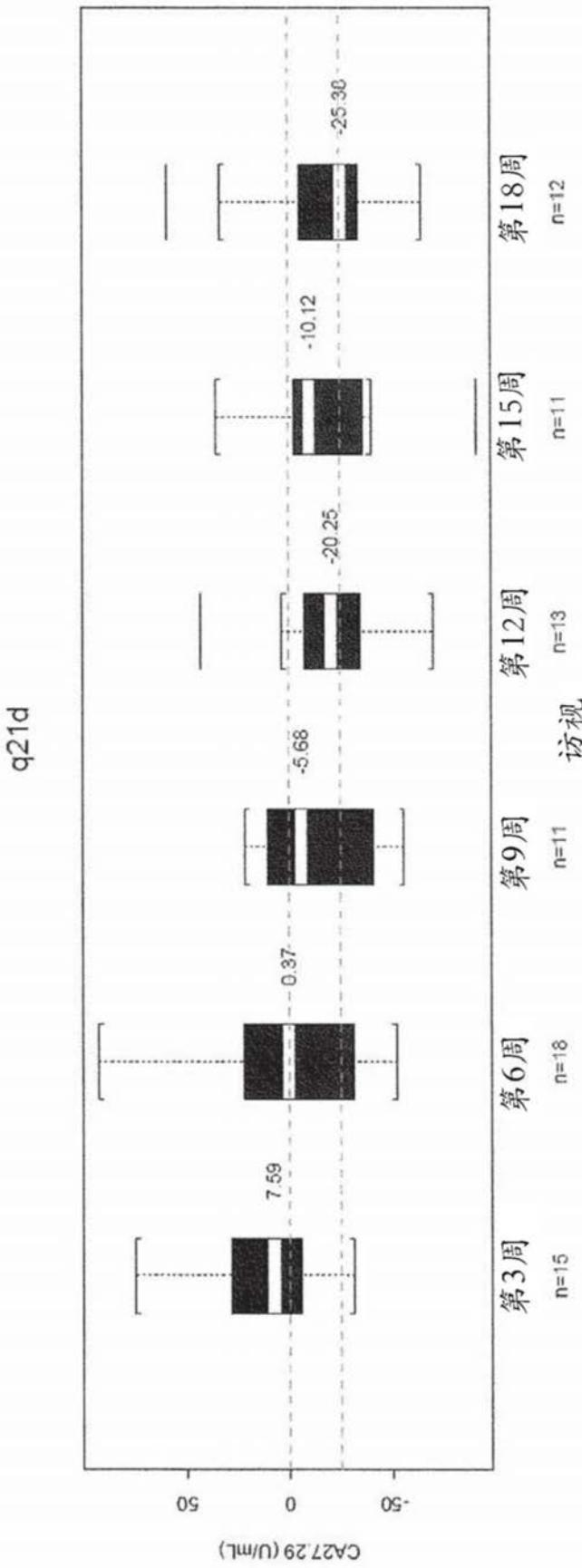


图1B

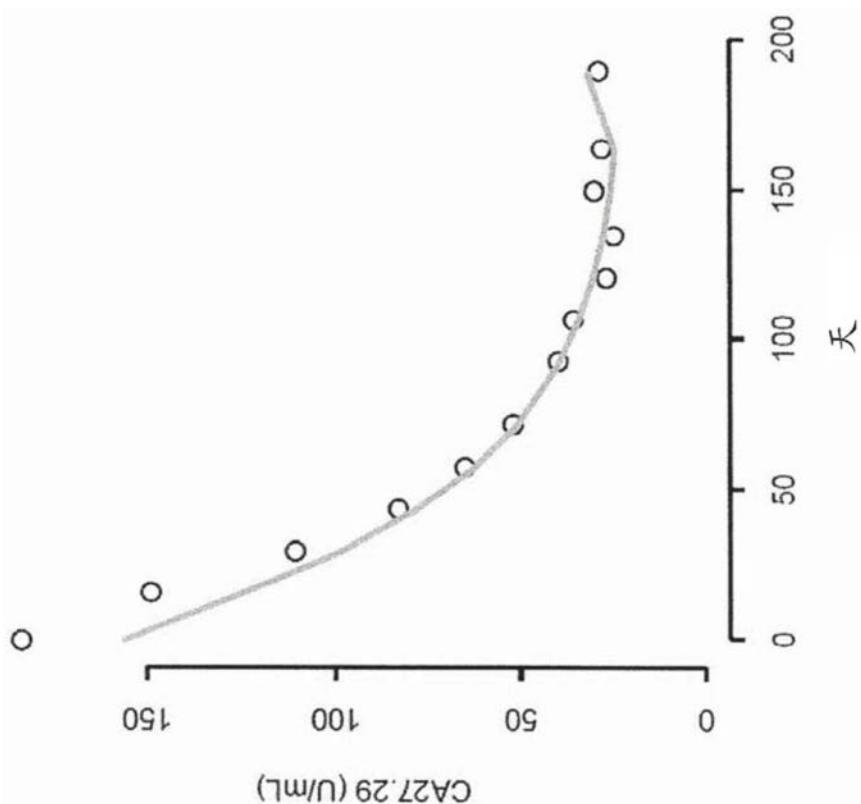


图2A

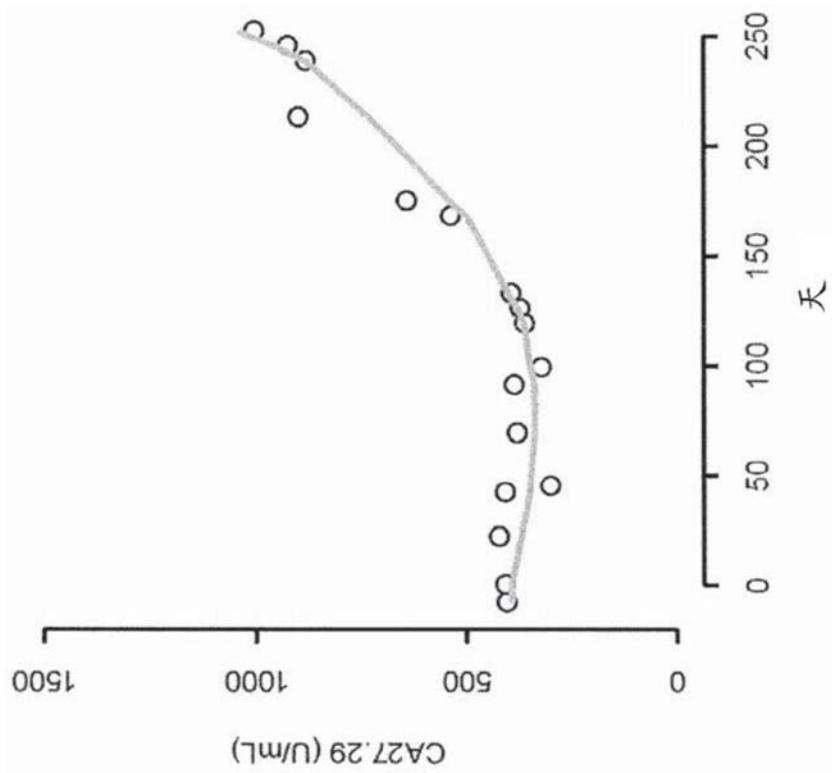


图2B

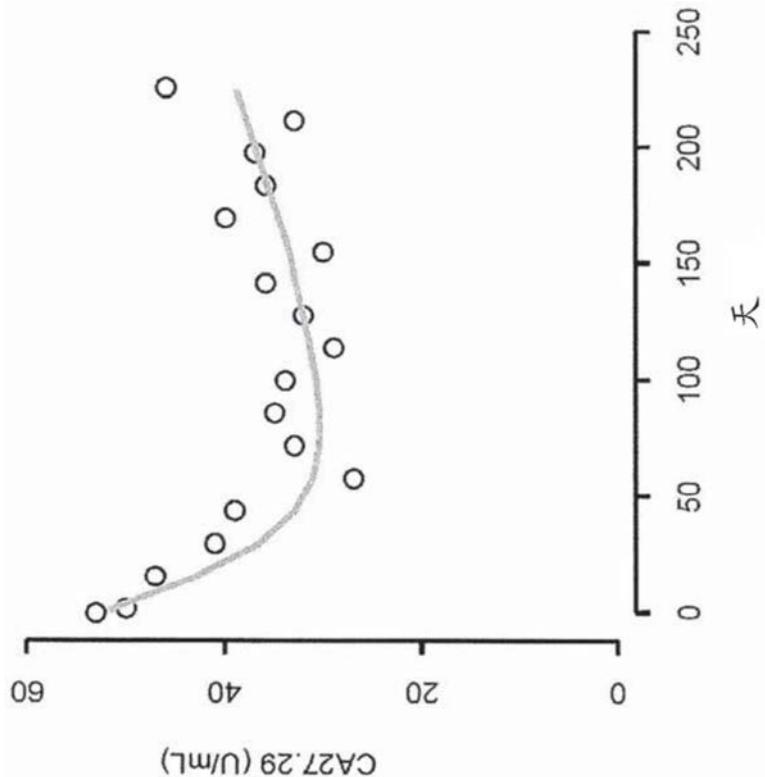


图2C

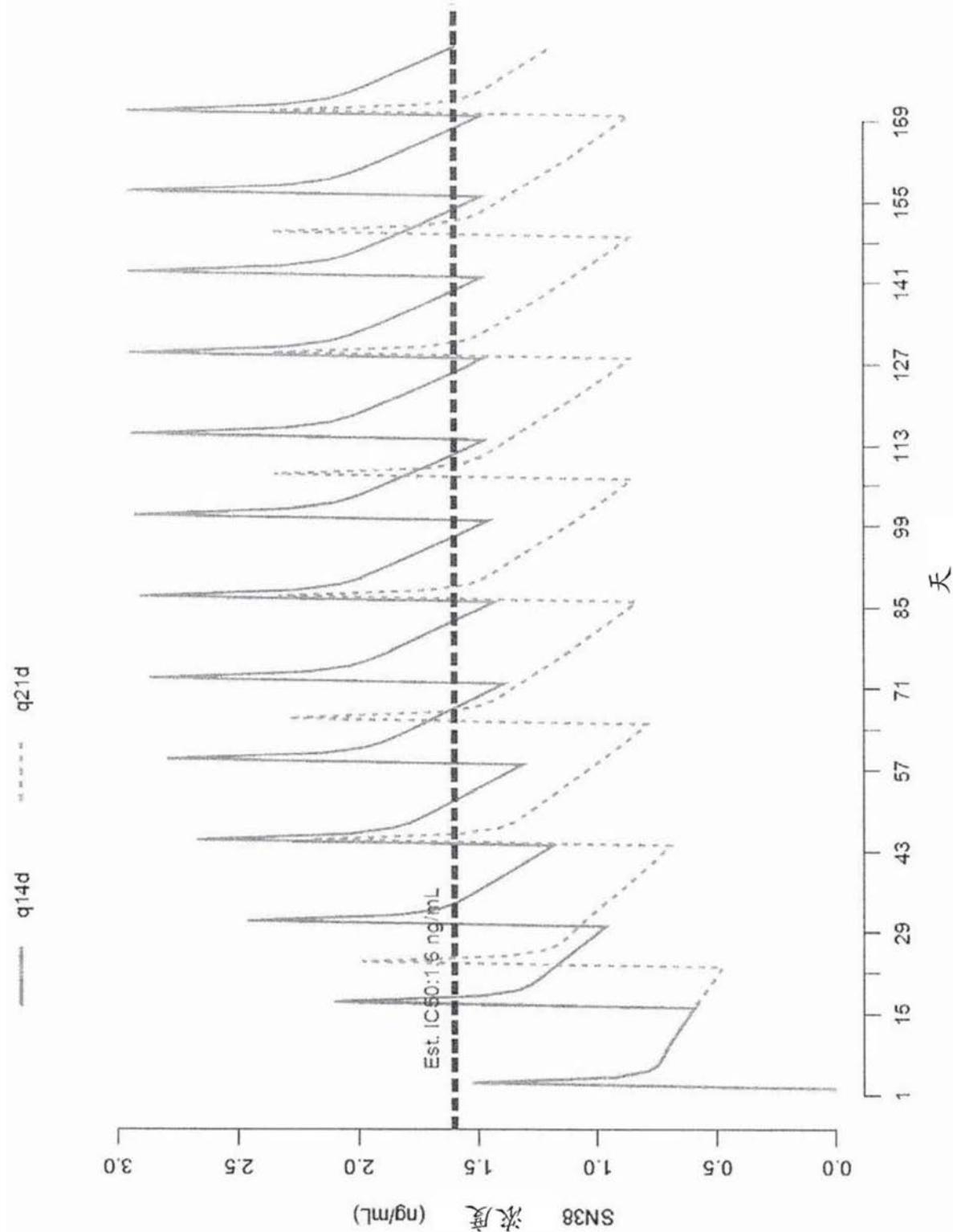


图3

RECIST CR+PR, N=15

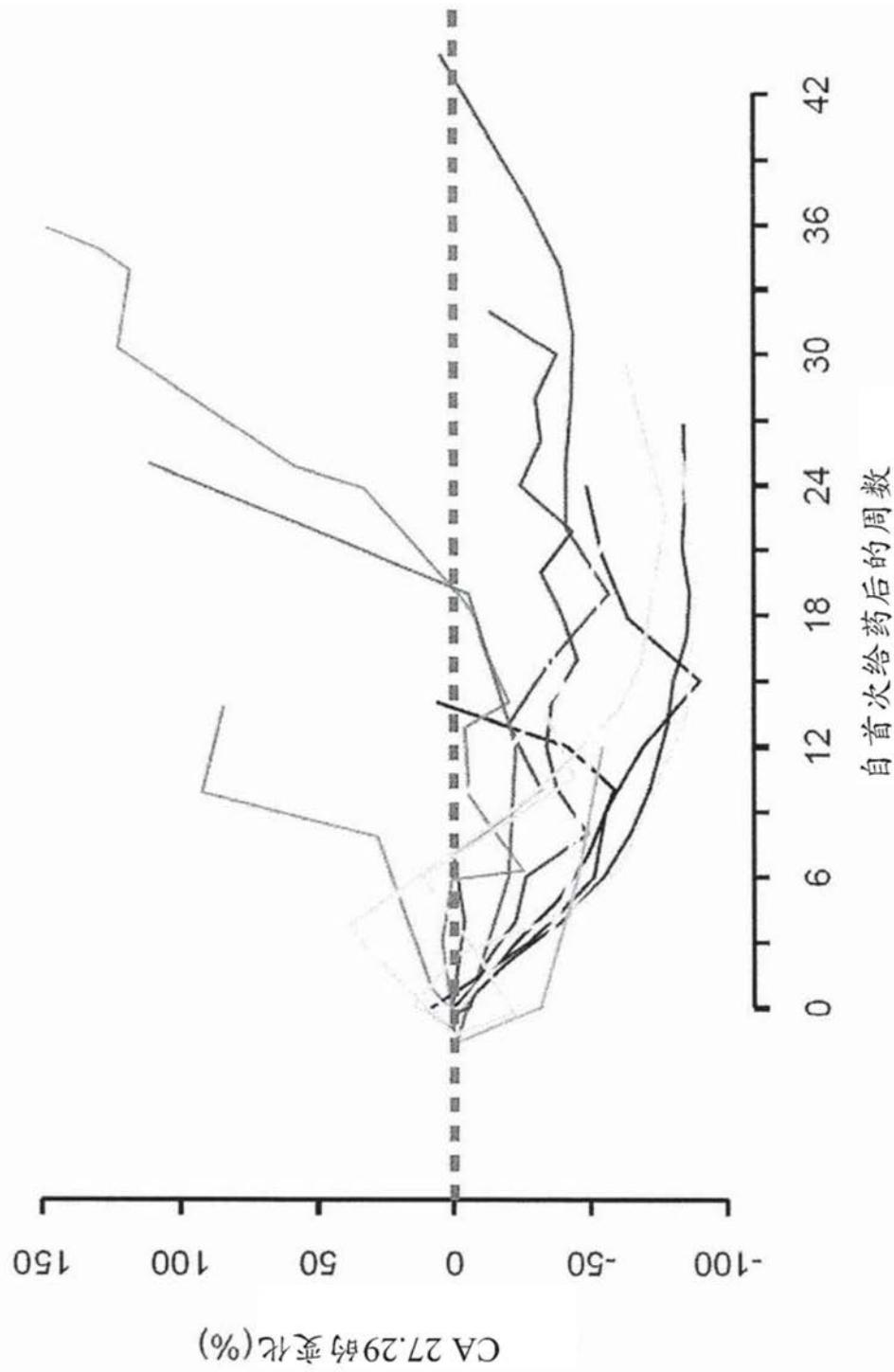


图4A

RECIST SD  $\geq$  6 months, N=5

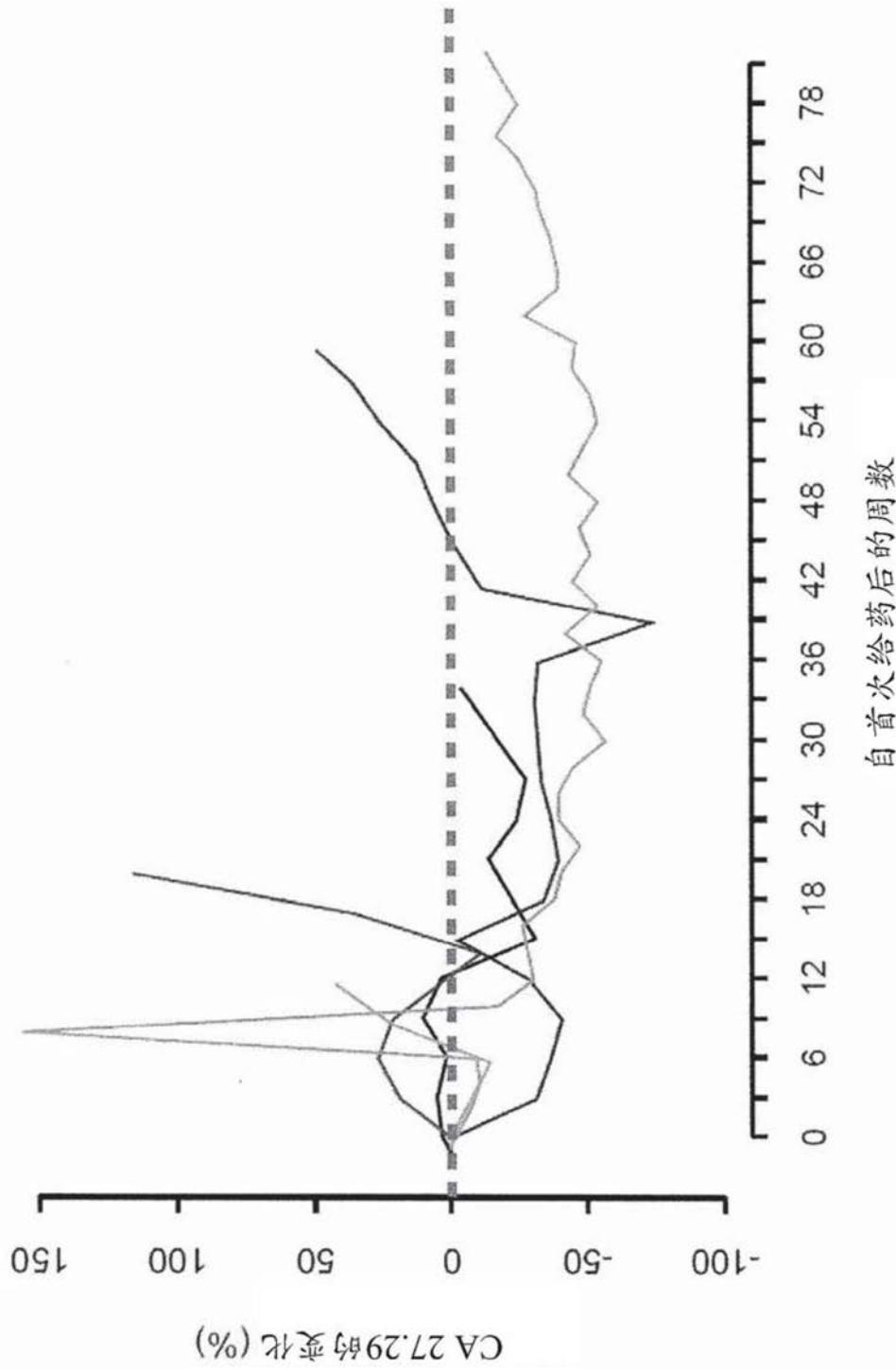


图4B

RECIST SD < 6 months, N=11

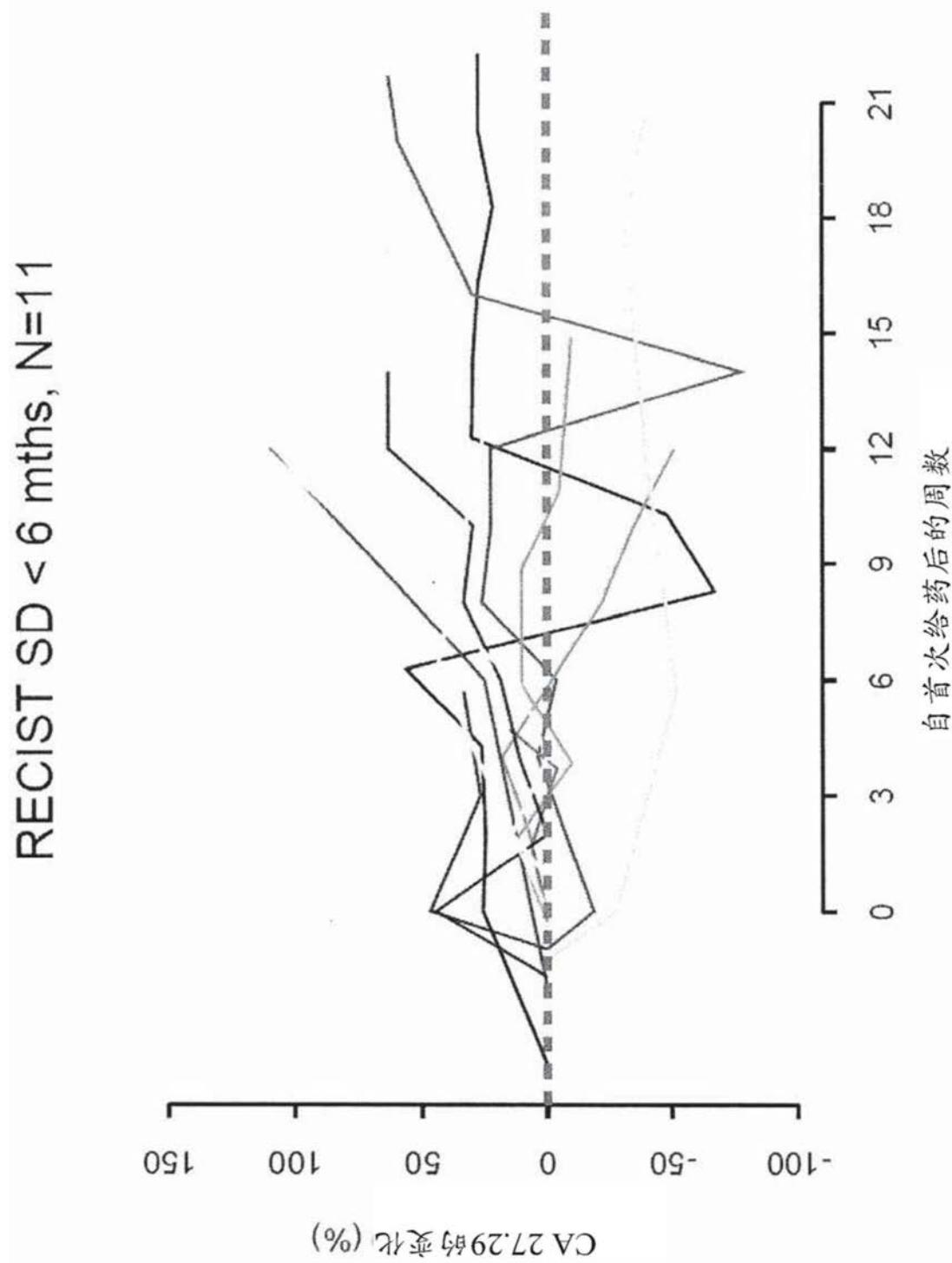


图4C

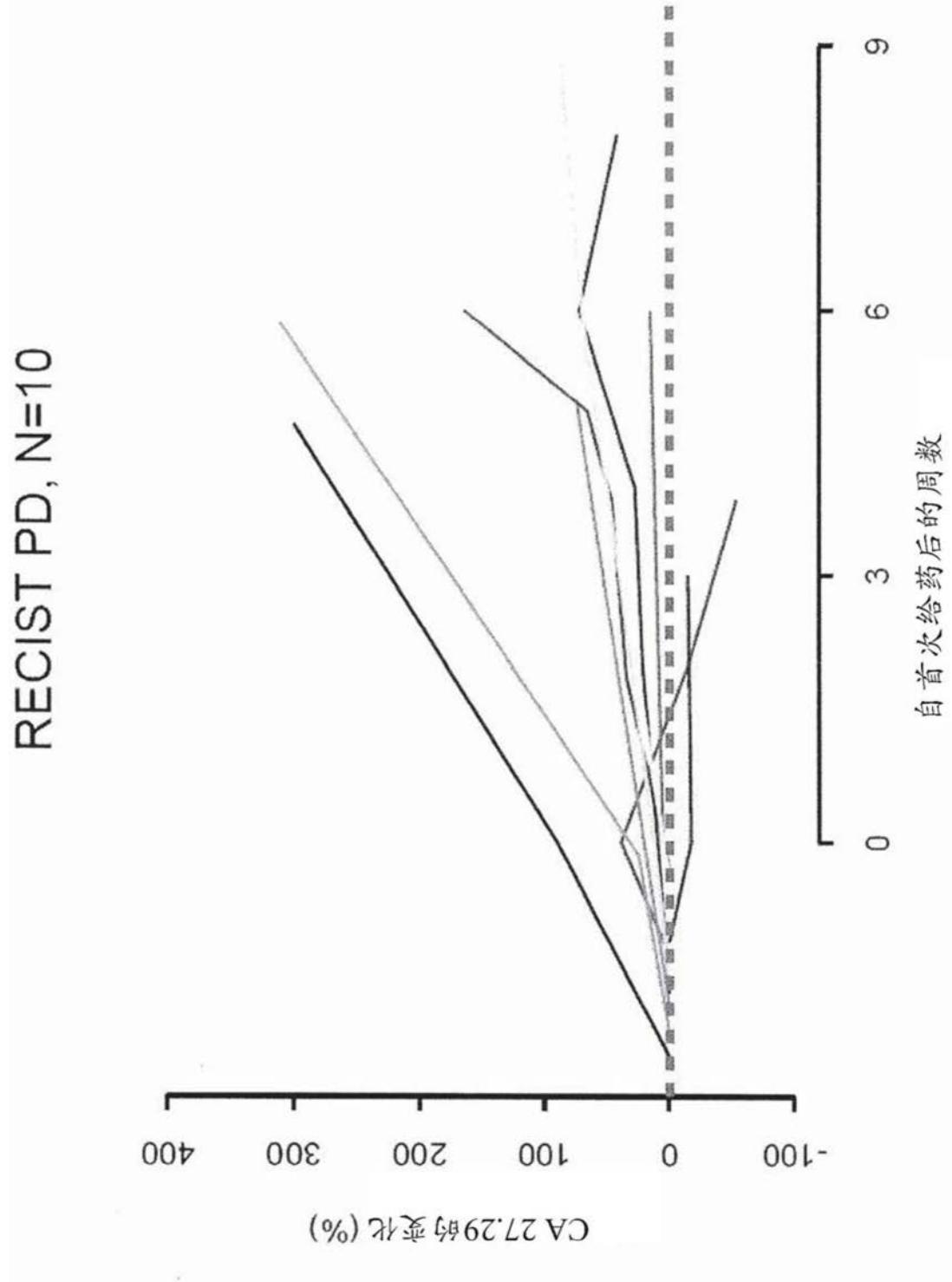


图4D

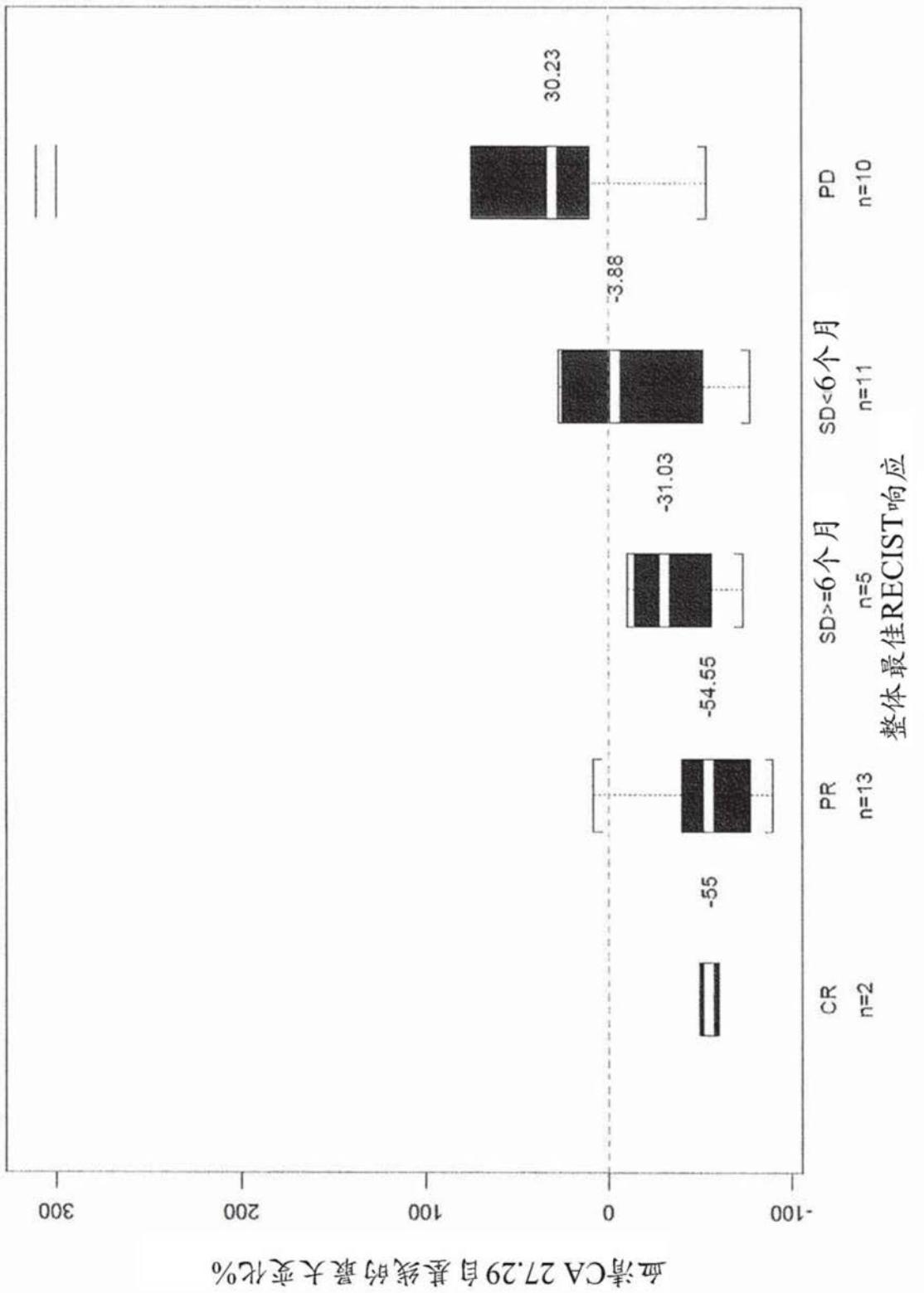


图5