



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102056607 B

(45) 授权公告日 2014. 07. 30

(21) 申请号 200880129775. 1

(22) 申请日 2008. 04. 17

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2010. 12. 10

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2008/005104 2008. 04. 17

(87) PCT国际申请的公布数据
W02009/128805 EN 2009. 10. 22

(73) 专利权人 约翰·霍普金斯大学
地址 美国马里兰州

(72) 发明人 A·希梅诺 M·M·伊达尔戈

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理
有限公司 11262

代理人 王玮玮 郑霞

(51) Int. Cl.
A61K 31/425 (2006. 01)

(56) 对比文件
US 20060128777 A1, 2006. 06. 15, 说明书第
0030、0031、0058 — 0060、0120 段, 实施例 1.
W0 2008027049 A1, 2008. 03. 06, 权利要求
13、17/21/22, 说明书第 19 页第 9 — 10 行.
US 20060128777 A1, 2006. 06. 15, 说明书第
0030、0031、0058 — 0060、0120 段, 实施例 1.

W0 2008027049 A1, 2008. 03. 06, 权利要求
13、17/21/22, 说明书第 19 页第 9 — 10 行.

Gumireddy K et al. ON01910, a
non-ATP-competitive small molecule
inhibitor of Plk1, is a potent anticancer
agent. 《CANCER CELL》. 2005, 第 7 卷 275-286.

Gumireddy K et al. ON01910, a
non-ATP-competitive small molecule
inhibitor of Plk1, is a potent anticancer
agent. 《CANCER CELL》. 2005, 第 7 卷 275-286.

STREBHARDT K et al. Targeting polo-like
kinase 1 for cancer therapy. 《NATURE
REVIEWS. CANCER》. 2006, 第 6 卷 (第 4
期), 321-330.

STREBHARDT K et al. Targeting polo-like
kinase 1 for cancer therapy. 《NATURE
REVIEWS. CANCER》. 2006, 第 6 卷 (第 4
期), 321-330.

审查员 李钢

权利要求书1页 说明书21页 附图4页

(54) 发明名称

ON01910. NA 促进在抗药性肿瘤中化学治疗剂
的活性

(57) 摘要

本发明包含组合物与方法, 用于治疗易受核
苷酸类似物化学治疗剂治疗影响的癌症, 包含已
有核苷酸类似物抗药性肿瘤发展的癌症, 包含辨
识主体具有易受核苷酸类似物化学治疗剂与有丝
分裂破坏剂/polo-like 激酶 (Plk) 通路抑制剂影
响的癌症; 以及监视主体的癌症至少一现象或症
状减少或稳定化。

1. 一种药物组合物,其包括具有作为有丝分裂破坏剂活性的 polo-like 激酶通路抑制剂和由吉西他滨组成的核苷酸类似物化学治疗剂,其中所述具有作为有丝分裂破坏剂活性的 polo-like 激酶通路抑制剂是 ON01910-Na,其中所述组合物包括药物和生理可接受的载体,以有效量用在逆转或防止具有吉西他滨抗药性胰腺癌的主体中吉西他滨抗药性的药物中。

2. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述药物被配制用于以约 50 毫克 / 平方米 / 周至约 5000 毫克 / 平方米 / 周的剂量的 ON01910-Na 的给予。

3. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述药物被配制用于以约 500 毫克 / 平方米 / 周至约 1500 毫克 / 平方米 / 周的剂量的吉西他滨的给予。

4. 根据权利要求1所述的药物组合物,其在单独给予核苷酸类似物化学治疗剂至主体之后被给予至所述主体。

5. 根据权利要求1所述的药物组合物,其在单独给予具有作为有丝分裂破坏剂活性的 polo-like 激酶通路抑制剂至主体之后被给予至所述主体。

6. 根据权利要求1所述的药物组合物,其在单独给予核苷酸类似物化学治疗剂至主体之前被给予至所述主体。

7. 根据权利要求1所述的药物组合物,其在单独给予具有作为有丝分裂破坏剂活性的 polo-like 激酶通路抑制剂至主体之前被给予至所述主体。

8. 由 ON01910-Na 组成的具有作为有丝分裂破坏剂活性的 polo-like 激酶通路抑制剂和由吉西他滨组成的核苷酸类似物化学治疗剂在制备用于逆转或防止具有吉西他滨抗药性胰腺癌的主体中吉西他滨抗药性的药物的用途。

9. 根据权利要求8所述的用途,其中所述药物被配制用于以约 50 毫克 / 平方米 / 周至约 5000 毫克 / 平方米 / 周的剂量的 ON01910-Na 的给予。

10. 根据权利要求8或9所述的用途,其中所述药物被配制用于以约 500 毫克 / 平方米 / 周至约 1500 毫克 / 平方米 / 周的剂量的吉西他滨的给予。

11. 根据权利要求8所述的用途,其中所述药物被配制用于在之前单独给予核苷酸类似物化学治疗剂至所述主体之后的给予和 / 或在之前单独给予具有作为有丝分裂破坏剂活性的 polo-like 激酶通路抑制剂至所述主体之后的给予。

ON01910. NA 促进在抗药性肿瘤中化学治疗剂的活性

背景技术

[0001] 大范围抗癌的化学治疗剂的作用通常是通过破坏细胞分裂或抑制相对快速分裂细胞的细胞凋零死亡而抑制细胞增生。一种策略是抑制细胞增生,使用核苷酸类似物化学治疗剂,例如克拉屈滨 (cladribine)、克罗拉滨 (clofarabine)、氟达拉滨 (fludarabine)、巯嘌呤 (mercaptopurine)、喷司他丁 (pentostatin)、硫鸟嘌呤 (thioguanine)、卡培他滨 (capecitabine)、阿糖胞苷 (cytarabine)、地西他滨 (decitabine)、氟尿嘧啶 (fluorouracil)、氟尿苷 (floxuridine)、沙帕他滨 (sapacitabine) 与吉西他滨 (gemcitabine)。这些话和物结构类似且典型作用是至少通过干扰 DNA 複製。核苷酸类似物化学治疗剂用于治療或是研究用于治療許多癌症種類,包含恶性血液疾病 (hematological malignancies),例如白血并与淋巴瘤、结直肠癌、胰腺癌、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、基底细胞癌、膀胱癌、肝癌、前列腺癌、胃癌、肾癌、黑素瘤、神经胶质瘤、食道癌、宫颈癌与骨髓增生异常综合症 (myelodysplastic syndrome)。

[0002] 用化学治疗剂的治疗通常造成对于一或多种通过不同机制的化学治疗药物的抗药性发展。例如,癌症中吉西他滨的抗药性是广泛的问题。在肺癌、胰腺癌、膀胱癌、乳腺癌与卵巢癌核准的且在治疗至少肝炎与食道癌的治疗研究中以及淋巴瘤与其它癌症的实验治疗,大部分比例的癌症病人在他们照护的某时点结束接受吉西他滨。虽然这些例子中三分之一的药物核准,但是大部分是不反应且甚至反应最后助长抗药性。

[0003] 吉西他滨的抗药性在胰腺癌特别严重,而对于胰腺癌并没有其它核准的化学治疗法。尽管许多癌症种类的治疗进步,但是胰腺癌仍难以治疗,且长期的存活率低。在 2004 年,美国胰腺癌发生估计为 31,860,预计 31,270 死亡。心要发展的限制之一是缺少适当的临床前模式。

[0004] 整体而言,胰分泌腺 (exocrine pancreas) 癌约 5% 病患在发现癌症之后存活 5 年。甚至具有局部疾病的病患,5 年相对存活率约为 20%。关于具有区域疾病的病患,5 年相对存活率约为 8%。若有扩散,5 年存活率为 2%。虽然吉西他滨被通过用于治疗胰腺癌病患,但是约 75% 至 90% 的病患具有此种治疗的最小效益。在第一线吉西他滨治疗失败后,对于晚期胰腺癌病患,无法提供证据基础的治疗建议。

[0005] 过去这几年来,许多临床试验已经探索用于胰腺癌的新药活性或是与吉西他滨结合的活性。这些研究的结果大部分都为否定。尽管是在第二期研究中的活性数据,目前仍没有单独药剂或是结合策略优于单独使用吉西他滨的研究。这不仅适用于习知药物,也适用于标的药剂,例如基质金属蛋白酶 (matrix metal loproteinase, MMP) 与法尼基转移酶抑制剂 (farnesyl-transferase inhibitors, FTT)。

[0006] 已有研究辨识用于对吉西他滨治疗失败的癌脏癌病患的适当治疗,但结果已被混淆。在一研究中,治疗包含 $65\text{mg}/\text{m}^2$ 的多西紫杉醇 (docetaxel) 与 $160\text{mg}/\text{m}^2$ 的伊立替康 (irinotecan),每 21 天共同投药。在研究因过多毒性而结束之前,有 14 个病患参加。最常见 3/4 级毒性包含中性球低下 / 白血球减少、恶心与呕吐以及腹泻。一半的病患仅接受一个治疗周期,在 36 天治疗失败的中间时间。虽然有三个病患具有稳定疾病至少六个周

期,但是未察觉客观反应。整个群体的整体存活为 134 天,六个月的存活率为 36%。在另一个研究中,具有吉西他滨抗药性的胰腺癌病患是用 S-I 加顺铂 (cisplatin) (CDDP) 治疗以决定反应速率与毒性。参加的 17 个病患中的 5 个 (29.4%) 达到部分反应,并且 2 个病患 (11.8%) 具有稳定疾病。治疗毒性为可接受的。中间存活时间为 10 个月 (范围,20 个月),63.7% 与 31.9% 病患分别在第 6 个月与第 12 个月仍存活。

[0007] 发明概述

[0008] 在一方面,本发明提供一种使用有丝分裂破坏剂 /polo-like 激酶 (Plk) 通路抑制剂的方法,作为在受核苷酸类似物化学治疗剂治疗主体中治疗癌症的药物。此主体包含初始受核苷酸类似物化学治疗剂治疗癌症的主体而后由于发展对于核苷酸化学治疗剂抗药性而化学治疗失败 (亦即发展抗药性肿瘤)。所述使用方法包含制备有丝分裂破坏剂 /Plk 通路抑制剂成为药剂,给予辨识为具有受核苷酸类似物化学治疗剂治疗的癌症种类的主体,以有丝分裂破坏剂 /Plk 通路抑制剂治疗。在一些实施例中,所述主体对于核苷酸类似物化学治疗剂具有抗药性或是已经发展抗药性。所述方法更包含监视所述主体,用于减少或是稳定化癌症的至少一现象或是症状,其中所述药剂造成所述减少或是稳定化癌症的至少一现象或症状。在一实施例中,所述有丝分裂破坏剂 /Plk 通路抑制剂是与所述核苷酸类似物化学治疗剂共同给予。在一方面,所述使用方法包含反转核苷酸类似物化学治疗剂抗药性。

[0009] 在一方面,本发明提供一种方法,用于使用有丝分裂破坏剂 /Plk 通路抑制剂用于制备治疗主体癌症的药剂,所述具有癌症的主体已经先被单独给予核苷酸类似物化学治疗剂,其中所述药剂被制备用于核苷酸类似物化学治疗剂的共同给予,以及所述主体受到核苷酸类似物化学治疗剂与有丝分裂破坏剂 /Plk 通路抑制剂组合的治疗。所述方法更包含监视所述主体,用于减少或稳定化癌症的至少一现象或症状。在一方面,所述方法包含防止核苷酸类似物化学治疗剂抗药性的发展。

[0010] 在一方面,本发明提供一种方法,用于使用有丝分裂破坏剂 /Plk 通路抑制剂用于制备药物,用于治疗使用核苷酸类似物化学治疗剂治疗癌症的主体中的癌症。所述方法包含制备包含所要给予的有丝分裂破坏剂 /Plk 通路抑制剂的药物,选择性地连续给予有丝分裂破坏剂 /Plk 通路抑制剂,以及监视所述主体用于减少或稳定化癌症的至少一现象或症状。在一方面,使用所述药物的所述方法包含防止主体中核苷酸类似物化学治疗剂抗药性。

[0011] 在一方面,本发明包含核苷酸类似物化学治疗剂与有丝分裂破坏剂 /Plk 通路抑制剂的共同给予,以产生化合物的协同作用,因而所述化合物的共同给予的效益大于所述化合物单独给予的相加效益。在一方面,本发明包含制备协同组合物,用于使用作为治疗癌症的药物,包含核苷酸类似物化学治疗剂与有丝分裂破坏剂 /Plk 通路抑制剂。

[0012] 在一方面,本发明包含对于具有受到核苷酸类似物化学治疗剂与 / 或有丝分裂破坏剂 /Plk 通路抑制剂治疗的癌症的主体,给予核苷酸类似物化学治疗剂与有丝分裂破坏剂 /Plk 通路抑制剂的治疗法。在一实施例中,所述疗法包含单独给予核苷酸类似物化学治疗剂,而后共同给予核苷酸类似物化学治疗剂与有丝分裂破坏剂 /Plk 通路抑制剂。在一实施例中,所述疗法包含给予有丝分裂破坏剂 /Plk 通路抑制剂,而后共同给予有丝分裂破坏剂 /Plk 通路抑制剂与核苷酸类似物化学治疗剂。在一实施例中,所述疗法包含共同

给予 P1k 一制剂与核苷酸类似物化学治疗剂,视需要没有先单独给予任一药剂。在一方面,本发明视需要更包含给予其它的化学治疗与 / 或药物。在一方面,本发明视需要更包含在共同给予所述两剂之后,给予化学治疗剂或有丝分裂破坏剂 /P1k 通路抑制剂。

[0013] 在一方面,本发明包含制备药物,含有有丝分裂破坏剂 /P1k 通路抑制剂用于和核苷酸类似物化学治疗剂共同给予,用于治疗对核苷酸类似物化学治疗剂有抗药性的癌症的病患。

[0014] 在一方面,本发明包含制备药物,含有有丝分裂破坏剂 /P1k 通路抑制剂用于和核苷酸类似物化学治疗剂共同给予,用于先前接受过有丝分裂破坏剂 /P1k 通路抑制剂药物治疗的病患,反转癌症对于核苷酸类似物化学治疗剂的抗药性。

[0015] 在一实施例中,本发明包含用于共同给予有丝分裂破坏剂 /P1k 通路抑制剂予核苷酸类似物化学治疗剂的药物,它是包含有丝分裂破坏剂 /P1k 通路抑制剂与核苷酸类似物化学治疗剂的混合物。在一实施例中,用于共同给予有丝分裂破坏剂 /P1k 通路抑制剂予核苷酸类似物化学治疗剂的药物包含以一剂量形式制备各核苷酸类似物化学治疗剂与给予有丝分裂破坏剂 /P1k 通路抑制剂,以使得或便于两者化合物给予至主体。

[0016] 在本发明的实施例中,所述癌症是受到核苷酸类似物治疗剂治疗的癌症。在本发明的实施例中,所述癌症是恶性血液疾病,例如白血并与淋巴瘤、结直肠癌、胰腺癌、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、基底细胞癌、膀胱癌、肝癌、前列腺癌、胃癌、肾癌、黑素瘤、神经胶质瘤、食道癌、宫颈癌与骨髓增生异常综合症。

[0017] 在不同的实施例中,所述有丝分裂破坏剂 /P1k 通路抑制剂是 P1k1 抑制剂。在不同的实施例中,所述有丝分裂破坏剂 /P1k 通路抑制剂是 ON-01910-Na 或是其衍生物。在本发明的实施例中,所述有丝分裂破坏剂 /P1k 通路抑制剂是 ON-01910-Na。在不同的实施例中,有丝分裂破坏剂 /P1k 通路抑制剂是核苷酸制剂。在不同的实施例中,所述核苷酸制剂对准 P1k1,特别是人类 P1k1。在不同的实施例中,所述核苷酸制剂是 siRNA 化合物。

[0018] 在本发明不同的实施例中,所述核苷酸类似物化学治疗剂是克拉屈滨、克罗拉滨、氟达拉滨、巯嘌呤、喷司他丁、硫鸟嘌呤、卡培他滨、阿糖胞苷、地西他滨、氟脲嘧啶、氟尿苷、沙帕他滨或吉西他滨。在不同的实施例中,所述核苷酸类似物化学治疗剂是吉西他滨。

附图说明

[0019] 图 1A 与图 1B 说明在 (A) siRNA P1k1 抑制剂与 (B) ON-01910-N, 小分子 P1k1 抑制剂的存在或不存在下,响应吉西他滨的治疗对于六种吉西他滨抗药性细胞株的生长抑制。

[0020] 图 2 说明在具有对吉西他滨敏感与抗药性肿瘤的老鼠体内实验的结果。(A) 说明体内实验中三者的肿瘤生长图。含有肿瘤的老鼠分为四组,以载体、吉西他滨、ON-01910-Na 与两种药物 (全剂量) 的组合物。(B) 是 A 的柱状图。误差棒代表标准偏差。

[0021] 图 3 说明 (A) ON-01910-Na 与 (B) 核苷酸类似物化学治疗剂克拉屈滨、克罗拉滨、氟达拉滨、巯嘌呤、喷司他丁、硫鸟嘌呤、卡培他滨、阿糖胞苷 (Ara-C)、地西他滨、氟脲嘧啶、氟尿苷、沙帕他滨与吉西他滨的结构。

具体实施方式

[0022] 本发明至少部分是基于发现对吉西他滨敏感的肿瘤已降低 P1k1 的表现,以及对

吉西他滨有抗药性的肿瘤易受到包含针对人类 Plk1 的 ON-01910-Na 与 siRNA 化合物的有丝分裂破坏剂 /Plk 通路抑制剂治疗的影响。再者,在对吉西他滨有抗药性的肿瘤中, Plk1 的抑制使得缓和先前具有抗药性肿瘤的吉西他滨抗药性。通过 Plk1 抑制剂而杀死对吉西他滨有抗药性的肿瘤的敏感性是使用体外 (in vitro) 吉西他滨胰腺肿瘤抗药性细胞株、活体外 (ex vivo) 人类吉西他滨抗药性胰腺肿瘤以及老鼠异种移植模式 (例如体内 (in vivo)) 而决定。

[0023] ON-01910-Na 是小分子,它会破坏 G2/M 细胞周期过渡并且诱导肿瘤细胞的细胞分裂停止,特别是纺锤体的异常会造成细胞的凋零死亡。此效果至少部分是与其作为 Plk1 抑制剂的活性有关。如本案所述, ON-01910-Na 在对吉西他滨有抗药性胰腺癌的体外与体内模式中具有活性。

[0024] “被治疗”或“治疗”一词包含减少或是减轻与所治疗的状态、不适或疾病相关或所引起的至少一症状。例如,治疗可为一或数个疾病的症状减轻或是疾病的完全根除。治疗可包含如下表所示的 CR、PR 或 SD 的客观反应。

[0025] 实体瘤 (solid tumor) 对于治疗的反应可定义为例如使用世界卫生组织 (WHO) 标准或是使用实体瘤组反应评估标准 (RECIST) 一维测量指南。标准如下表所示:

[0026]

	WHO	RECIST
可测量性	可测量的、二维的	可测量的、一维的; 习知方法 ≥ 20 mm; 螺旋 CT ≥ 10 mm; 目标 vs 非目标损害
	非可测量的/可评估的	非可测量的
客观反应		
完全反应(CR)	在四周确认所有已知的损害消失	在四周确认所有已知的损害消失
部分反应(PR)	在四周却认至少减少 50%	在四周却认至少减少 30%
稳定疾病(SD)	未符合 PR 与 PD	未符合 PR 与 PD
发展的疾病(PD)	25%增加; 无 CR、PR 或 SD	25%增加; 无 CR、PR 或 SD
	在增加的疾病或心损害前提供证明	在增加的疾病或心损害前提供证明

[0027] 请见 2003 年 Jpn. J. Clin. Oncol. 33 :533-537 中, Park 等人所发表的测量实体瘤中的反应: RECIST 与 WHO 反应标准的比较, 并入本案作为参考。RECIST 标准中的一维测量包含所有目标损害的最长直径的测量。

[0028] “药物抗药性肿瘤”或“药物抗药性癌症”一词或类似词被理解为在药物存在时或是投药之后, 肿瘤或癌症符合发展疾病 (PD) 标准。在培养中, 抗药性细胞被理解为在药物存在中, 细胞持续增殖。相对于培养中未受处理的控制组细胞, 生长速度至少为 5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%。抗药性可抗单一、特定药物或是抗多重药物同于肿瘤中表现多重抗药物基因 (MDR)。

[0029] “易受药物治疗的肿瘤”或“易受药物治疗的癌症”等被理解为在药物存在时或是在投药后, 符合 CR、PR 或 SD 标准的肿瘤或癌症。在细胞培养中, 易受影响的细胞是响应药物治疗而停止生长 / 分裂或死亡的细胞。易受治疗影响的癌症也可被理解为易受治疗影响的癌症种类, 例如核准以核苷酸类似物化学治疗剂治疗的癌症种类或是研究中从癌症治疗得到好处的癌症种类。例如, 易受核苷酸类似物治疗剂治疗影响的癌症种类包含但不限于恶性血液疾病, 例如白血并与淋巴瘤、结直肠癌、胰腺癌、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、基底细胞癌、膀胱癌、肝癌、前列腺癌、胃癌、肾癌、黑色素瘤、神经胶质瘤、食道癌、宫颈癌与骨髓增生异常综合症。

[0030] 易受药物治疗影响的癌症可常成为响应药物治疗而对药物具有抗药性的癌症。

[0031] “主体”一词包含哺乳类, 例如人类、狗、牛、马、猪、绵羊、山羊、猫、鼠、兔、大鼠以及基因转殖的非人类动物。在一些实施例, 所述主体是人类, 例如遭受癌症或是具遭受癌症风险或是可能遭受癌症的人。人类主体可指为病患。

[0032] “癌症”一词包含恶性肿瘤, 特征在于无法调解或无法控制的细胞生长, 例如癌、肉瘤、血癌与淋巴瘤。癌症包含实体瘤与非实体瘤。癌症包含任何器官的癌症, 包含胰腺。“癌症”一词包含原位恶性肿瘤, 例如细胞尚未转移至主体身体中除了原肿瘤位置之外的位置, 以及继发性恶性肿瘤, 例如来自于转移, 细胞转移至不同于原肿瘤位置的继发性位置。

[0033] 本文中, 化合物的“治疗有效量”用语是指当给予至本文所描述的主体时, 需要或足以造成 CR、PR 或 SD 的化合物的量。被理解为各核苷酸类似物化学治疗剂与有丝分裂破坏剂 / P1k 通路抑制剂彼此组合使用的治疗有效量当单独使用时, 可能不足以有效。具有治疗效果的化合物可被指为药物或是药剂。

[0034] “协同组合”一词包含治疗剂的组合, 其中给予药物组合的治疗结果大于加成效果大于预期的药物组合。例如, 在对吉西他滨抗药性 (亦即吉西他滨治疗不包含 CR、PR 或 SD, 亦即没有效果) 的细胞或肿瘤中, 给予吉西他滨与有丝分裂破坏剂 / P1k 通路抑制剂的组合具有的治疗效果大于单独给予有丝分裂破坏剂 / P1k 通路抑制剂。

[0035] 此处“共同给予”一词被理解为将两种或多种药物给予至主体用于治疗单一疾病或状态, 例如癌症, 因而所述两种药物在所述主体中同时存在且 / 或具有活性。共同给予包含制备所要一起给予药物的混合物, 特定载体中或是在特定浓度的药物的制备或配方, 以便利混合物与 / 或顺序给予。药物可被一起包装在相同的小玻璃瓶或药瓶中; 或是在单一容器 (例如盒子) 内分别的药瓶或小玻璃瓶中。所述药物不需要为了一起给予而特别调配。可理解不同的药物具有不同的药物动力学与药效性质, 因而给予计划表可实质地改变。因此, 不需要同时给予。核苷酸类似物化学治疗剂与有丝分裂破坏剂 / P1k 通路抑制剂的共同

给予不会排除其它化学治疗剂或是其它药物的给予。共同给予的范例治疗法如下所示。

[0036] “药物可接受的载体”一词是此领域所了解的,并且包含药物可接受的物质、组合物或工具,适合给予用于本文所描述方法中的化合物至主体,例如哺乳类。所述载体包含液体或是固体填充物、稀释液、赋形剂、溶剂或是胶囊物质,用于携带或传输标的药物从一器官或身体一部分传输至另一器官或是身体的另一部分。每一个载体必须是可“接受的”能与配方中的其它成分兼容并且对于病患无害。可做为药物可接受载体的物质的一些范例包含:糖,例如乳糖、葡萄糖与蔗糖;淀粉,例如玉米淀粉与马铃薯淀粉;纤维素以及其衍生物,例如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素以及醋酸纤维素;黄蓍树胶(powdered tragacanth);麦芽;明胶;滑石;赋形剂,例如可可油与塞剂腊;油,例如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油与大豆油;乙二醇,例如丙烯乙二醇;多元醇,例如甘油、山梨糖醇、甘露糖醇以及聚乙二醇;酯类,例如油酸乙酯与月桂酸乙酯;琼脂;缓冲剂。例如氢氧化镁与氢氧化铝;海藻酸;无致热源的水;等渗盐水;林格氏液(Ringer's solution);乙醇;磷酸盐缓冲溶液;以及其它用于药学配方中的无毒可兼容物质。

[0037] 本发明的化合物

[0038] 本发明的较佳组合物与方法包含使用 P1k1 抑制剂 ON-01910-Na((E)-2,4,6-三甲氧基苯乙烯-3-(羧基甲基氨基)-4-甲氧基苯基砒(图 3A)以及吉西他滨(4-氨基-1-[3,3-二氟-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基]-1H-嘧啶-2-酮,亦为已知的 Gemzar®(图 3B)。

[0039] 本文所使用的“有丝分裂破坏剂/P1k 通路抑制剂”一词包含任何组合物,抑制细胞中 P1k(例如 P1k1、P1k2、P1k3 或 P1k4)的激酶活性或 P1k 活性的,例如通过降低 P1k 的表现,或是直接抑制 P1k 的活性,或是通过抑制 P1k 讯息传递通路的要素,特别是 P1k1;并且具有如有丝分裂破坏剂的活性。在一较佳实施例中,相较于非 P1k 激酶,所述抑制剂抑制优先抑制 P1k 的活性。相较于抑制非 P1k 激酶,P1k 抑制剂在抑制 P1k 激酶活性较佳具有 2 倍、5 倍、10 倍或 20 倍的活性。P1k 抑制剂可对于一或多个 P1k 异形体具有专一性。或者,可通过比较在抑制剂的存在或不存在中 P1k 的激酶活性,而测量 P1k 抑制剂的活性。相对于未处理的对照组,P1k 抑制剂抑制至少 20%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%或至少 90%的 P1k 激酶活性。

[0040] P1k 抑制剂可通过抑制细胞中 P1k 的表现而抑制细胞中 P1k 的活性,例如使用靶向于 P1k 的反股(antisense)或是针对适当种(例如 2008 年 4 月 6 日更新的第三版,人类 P1k1 是 GenBank No. NM_005030;2008 年 2 月 10 日更新的第二版,人类 P1k2 是 GenBank No. NM_006622;2008 年 2 月 11 日更新的第二版,人类 P1k3 是 GenBank No. NM_004073;2006 年 10 月 17 日更新的第一版,人类 P1k4 是 GenBank No. Y13115;所有 GenBank 编号并入本案作为参考)的 P1k 的 siRNA 剂。用于设计、合成、测试与给予反股寡核苷酸与 siRNA 化合物的方法在此技艺中是已知的。例如,请参阅美国专利公开案 2005010728 以及 20070265438,两案皆并入本案作为参考。在定量的细胞或细胞萃取以及相同定义量的未处理细胞或是细胞萃取中,以化合物处理用以降低或是抑制 P1k 的表现,比较二者的 P1k1 活性。可使用任何标准的激酶分析测量抑制,例如本案所揭露的方法或是 PCT 公开案 W003/072062,并入本案作为参考。本案的有丝分裂破坏剂与 P1k 抑制剂亦破坏有丝分裂,可用显微镜、荧光活化的细胞分类或是其他方法观察。

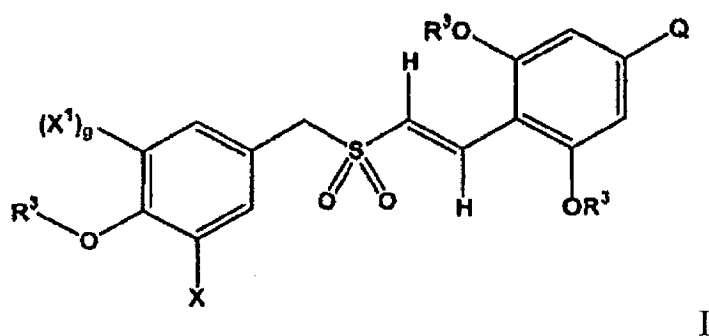
[0041] 有丝分裂破坏剂防止适当有丝分裂的完成,例如通过破坏中心粒 (centrosome) 的分布、细胞质分裂的失败、异常的染色体数目以及在细胞周期检查点不可逆的抑制。相较于未处理的对照组,本发明方法中所使用的有丝分裂抑制剂防止至少约 5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95% 或更多的有丝分裂完成。

[0042] 在本发明的不同实施例中,有丝分裂破坏剂 /P1k 通路抑制剂是小分子。如本案所用,“小分子”一词是指有机化合物,无论天然发生或是人工产生 (例如通过化学合成),具有相对低分子量 (例如低于约 7500、低于约 5000、低于约 1000 分子量或低于约 500 分子量),以及非蛋白质、多肽或核苷酸。典型地,小分子所具有的分子量小于约 1500g/mol。同样地,小分子典型具有多碳-碳键。在一实施例中,小分子不排除包括肽 (酰胺) 键。在另一实施例中,小分子非寡聚物 (oligomeric)。举例的小分子化合物包含但不限于拟胜肽类 (peptidomimetics)、小的有机分子 (例如 1998 年 Cane 等人发表于 Science 282 :63,并入本案作为参考),以及天然的产物萃取库 (natural product extract libraries)。在另一实施例中,所述化合物是小的有机非肽化合物。在另一实施例,小分子非生合成。例如,小分子较佳本身非转录或转译的产物。

[0043] 在本发明的不同实施例中,有丝分裂破坏剂 /P1k 通路抑制剂是核酸治疗剂。如本案所使用,“核酸治疗剂”及类似词是指任何以核苷酸为基础的化合物,包含核苷酸且对于目标基因具有所要的效果。核酸治疗剂可为单-、双-或多股,并且可包括修饰的或是未修饰的核苷酸或是非核苷酸或是不同的混合物,及其组合。本案核酸治疗剂的例子包含但不限于反股核苷酸、dsRNA、siRNA 以及酵素的核苷酸化合物。

[0044] P1k1 抑制剂可包含任何许多的 ON-01910-Na 的衍生物,它能抑制 P1k1 的活性,较佳为专一性地抑制 P1k1 的活性。例如, P1k1 抑制剂包含“ON-01910Na 及其衍生物”,如式 (I) 的化合物:

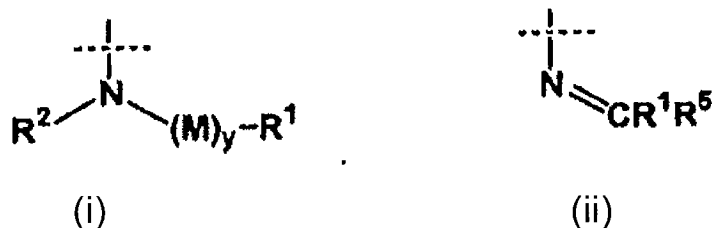
[0045]



[0046] 其中:

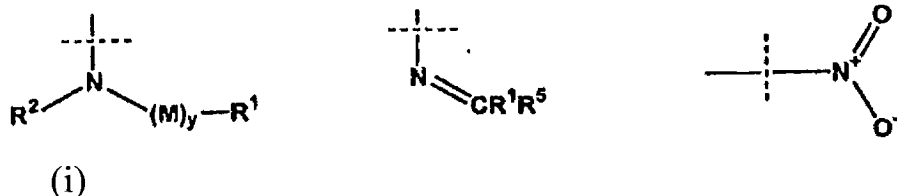
[0047] X 是选自于由如下 (i) 与 (ii) 所组成的群组:

[0048]



[0049] X¹ 是选自于由如下 (i)、(ii) 与 (iii) 所组成的群组:

[0050]



[0051] 其中 X¹ 视需要由一或多个化学保护基保护；

[0052] g 是 0 或；

[0053] 每一个 M 是二价连接官能基，独立选自于由 $-(C_1-C_6)$ 伸烷基 $-(CH_2)_aV-(CH_2)_b-$ 、 $-(CH_2)_dW-(CH_2)_e-$ 与 $-Z-$ 所组成的群组；

[0054] 每一个 y 是独立选自于由 0 与 1 所组成的群组；

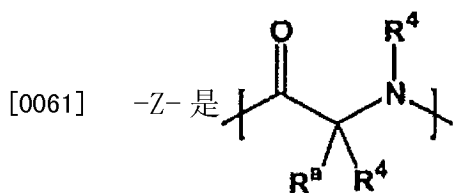
[0055] 每一个 V 是独立选自于由伸芳基、杂伸芳基、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=S)-$ 、 $-S(=O)-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-C(=O)(C_1-C_6)$ 全氟伸烷基 ($-C(=O)(C_1-C_6)$ perfluoroalkylene-)、 $-C(=O)NR^4-$ 、 $-C(=S)NR^4-$ 与 $-SO_2NR^4-$ 所组成的群组；[0056] 每一个 W 是独立选自于由 $-NR^4-$ 、 $-O-$ 与 $-S-$ 所组成的群组；

[0057] 每一个 a 是独立选自于由 0、1、2 与 3 所组成的群组；

[0058] 每一个 b 是独立选自于由 0、1、2 与 3 所组成的群组；

[0059] 每一个 d 是独立选自于由 0、1、2 与 3 所组成的群组；

[0060] 每一个 e 是独立选自于由 0、1、2 与 3 所组成的群组；

[0062] 其中 $-Z-$ 的绝对立体化学是 D 或 L 或是 D 与 L 的混合物；[0063] 每一个 Rᵃ 是独立选自于由 $-H$ 、 $-(C_1-C_6)$ 烷基、 $-(CH_2)_3-NH-C(NH_2)(=NH)$ 、 $-CH_2C(=O)NH_2$ 、 $-CH_2COOH$ 、 $-CH_2SH$ 、 $-(CH_2)_2C(=O)NH_2$ 、 $(CH_2)_2COOH$ 、 $CH_2-(2-咪唑基)$ 、 $-CH(CH_3)-CH_2-CH_3$ 、 $-CH_2CH(CH_3)_2$ 、 $-(CH_2)_4-NH_2$ 、 $-(CH_2)_2-S-CH_3$ 、苯基、 CH_2- 苯基、 $-CH_2-OH$ 、 $-CH(OH)-CH_3$ 、 $-CH_2-(3-吡啶基)$ 、 $-CH_2-(4-羟基苯基)$ 、 $-CH(CH_3)_2$ 与 $-CH_2-CH_3$ 所组成的群组；以及包含化合物其中 Rᵃ 与 R¹ 结合形成 5-、6- 或 7 员的杂环；[0064] 每一个 R¹ 是独立选自于由 $-H$ 、为取代的芳香基、取代的芳香基、取代的杂环、未取代的杂环、 $-CO_2R^5$ 、 $-C(=O)NR^4_2$ 、 $-CR^4R^6R^7$ 、 $-C(=NH)-NR^4_2$ 、 $-(C_1-C_6)$ 全氟烷基、 $-CF_2Cl$ 、 $-P(=O)(OR^4)_2$ 、 $-OP(=O)(OR^4)_2$ 以及具有分子量小于 1000 的单价肽键部分所组成的群组；条件为当 y 是 0 且 R' 是 $-CO_2R^5$ 时，R⁵ 不是 $-H$ ；[0065] 每一个 R² 是独立选自于由 $-H$ 、 $-(C_1-C_6)$ 烷基与芳香基 (C_1-C_3) 烷基所组成的群组，其中 $-R^2$ 与 $-(M)_y-R^1$ 视需要共价连结形成 5-、6- 或 7 员取代或未取代的杂环；[0066] 每一个 R³ 是独立选自于 (C_1-C_6) 烷基；[0067] 每一个 R⁴ 是独立选自于由 $-H$ 与 $-(C_1-C_6)$ 烷基所组成的群组；[0068] 每一个 R⁵ 是独立选自于由 $-H$ 、 $-(C_1-C_6)$ 烷基与 $-(C_1-C_6)$ 酰基所组成的群组；[0069] 每一个 R⁶ 是独立选自于由 $-H$ 、 $-(C_1-C_6)$ 烷基、 $-CO_2R^5$ 、 $-C(=O)R^7$ 、 $-OR^5$ 、 $-OC(=O)$

$(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{R}^5$ 、 $-\text{SR}^4$ 、亚胺基甲二胺 (guanidine)、 $-\text{NR}^4_2$ 、 $-\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OR}^5)_3$ 、苯基、取代的苯基、杂环、取代的杂环与卤素所组成的群组；

[0070] 每一个 R^7 是独立选自于由 $-\text{R}^8$ 、卤素、 $-\text{NR}^4_2$ 与含有两个氮原子的杂环所组成的群组；以及

[0071] Q 是独立选自于由 $-\text{H}$ 、 $-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ 烷氧基、卤素、 $-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ 烷基以及 $-\text{NR}^4_2$ 所组成的群组；

[0072] 其中所述包括 R^1 、 R^2 、 R^a 、 R^6 与 R^7 的取代的芳香基与取代的杂环官能基的取代基或是包含在 R^1 、 R^2 、 R^a 、 R^6 与 R^7 内的取代的芳香基与取代的杂环官能基的取代基是独立选自于由卤素、 (C_1-C_6) 烷基、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{C}=\text{N}$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^5$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{C}_1-\text{C}_3)$ 烷基、 $-\text{OR}^5$ 、 $-(\text{C}_2-\text{C}_6)$ 伸烷基 $-\text{OH}$ 、膦酰基 (phosphonato)、 $-\text{NR}^4_2$ 、 $\text{NHC}(\text{O})(\text{C}_1-\text{C}_6)$ 烷基、胺磺酰基 (sulfamyl)、 $-\text{OC}(\text{O})(\text{C}_1-\text{C}_3)$ 烷基、 $-\text{O}(\text{C}_2-\text{C}_6)$ 伸烷基 $-\text{N}((\text{C}_1-\text{C}_6)$ 烷基) $_2$ 以及 $-\text{CF}_3$ 所组成的群组；条件为：

[0073] (1) 当 R^1 为分子量小于 1000 的单键肽部分且 V 是 $-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{C}(=\text{S})-$ 、 $-\text{S}(\text{O})-$ 或 $-\text{SO}_2-$ ，以及 b 是 0 时；

[0074] 则所述肽部分由肽部分的胺基端或是侧链的胺基而结合至 M，分别形成酰胺、硫代酰胺、亚磺酰胺 (sulfinamide) 或是磺胺 (sulfonamide)；

[0075] (2) 当 R^1 为分子量小于 1000 的单键肽部分且 V 是 $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^4$ 或 $-\text{SO}_2\text{NR}^4$ ，以及 b 是 0 时，

[0076] 则所述肽部分由肽部分的羧基端或是侧链的羧基而结合至 M，分别形成亚酰胺 (imide) 或磺胺；以及

[0077] (3) 当 R^1 为分子量小于 1000 的单键肽部分且 W 是 $-\text{NR}^4-$ 、 $-\text{S}-$ 或 $-\text{O}-$ ，以及 a 是 0 时，

[0078] 则所述肽部分由肽部分的羧基端或是侧链的羧基而结合至 M，分别形成羧酰胺 (carboxamide)、硫代羧酸酯 (carbothioic acid ester) 或是羧酸酯；或是此化合物的盐。

[0079] 在 PCT 公开案 W003/072062 中可见其他 ON01910-Na 衍生物、合成方法与化合物活性。

[0080] 如本案所使用，“核苷酸类似物化学治疗剂”是嘌呤类似物，例如克拉屈滨 (cladribine)、克罗拉滨 (clofarabine)、氟达拉滨 (fludarabine)、巯嘌呤 (mercaptopurine)、喷司他丁 (pentostatin) 以及硫鸟嘌呤 (thioguanine)；或是嘧啶衍生物，例如卡培他滨 (capecitabine)、阿糖胞苷 (cytarabine)、地西他滨 (decitabine)、氟脲嘧啶 (fluorouracil)、氟尿苷 (floxuridine)、沙帕他滨 (sapacitabine) 与吉西他滨 (gemcitabine)。这些化合物结构类似，如图 3 所示，并且典型具有氮连接至糖基，并且至少通过破坏 DNA 合成而作用。这些化合物为此技艺中已知的。

[0081] 剂量与配方

[0082] 本发明的化合物可局部、肠道或是非肠胃给予。局部给予，例如包含但不限于上皮、灌肠、眼滴剂、耳滴剂、鼻内与阴道给予。肠道给予，例如通过嘴（口服）、通过胃喂食管、十二指肠喂食管或是胃造口手术，以及直肠栓剂或灌肠形式。非肠胃道给予包含但不限于静脉内、动脉内、肌肉内、心脏内、皮下、骨内输液（至骨髓）、皮肤内、脑脊髓膜内以及腹膜内。

[0083] 在一较佳实施例中，本发明的化合物是静脉内给予。

[0084] 可利用此技艺中已知任何医药可接受的剂量形式,口服给予在本发明的方法中使用的化合物。所述化合物可被供应为固体剂量形式,例如干粉、颗粒、锭剂或是胶囊,或是液体剂量形式,例如糖浆或是液体悬浮液。所述化合物可单独给予,但是通常与医药载体一起给予。关于剂量形式的有价值论文是雷氏药学大全 (Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing)。

[0085] 在本发明的方法中使用的化合物可用口服剂量形式给予,例如锭剂、胶囊(各包含持续释放或是逐渐释放配方)、药片、粉末、颗粒、酏剂(elixirs)、酊剂(tinctures)、悬浮液、糖浆以及乳剂。同样地,也可以使用此技艺人士所熟知的剂量形式,静脉内(大丸药或输液)、腹膜内、皮下或是肌肉内给予形式。

[0086] 在本发明的方法中使用的化合物可用任何使化合物与宿主,例如人类或哺乳类,体内化合物作用处接触的方式给予。可单独给予或是与医药载体一起给予,医药载体的选择是基于所选择的给予通路以及标准的药学实务。

[0087] 当然,由本发明决定的化合物剂量疗法是依已知的因子而改变,例如特定药剂的药物动力特征及其模式与给予通路;物种、年纪、性别、健康、医疗条件以及接受者的体重;症状的本质与程度;同时治疗的种类;治疗频率;给予通路、病患的肾脏与肝功能以及所期待的效果。一般熟知此技艺的医师或是兽医可轻易决定给予主体的化合物有效量。在本发明的方法中使用的化合物可用通过局部使用合适的鼻内载体或是通过皮肤渗透通路,使用熟知此技艺的人士已知的皮肤渗透贴片形式而以鼻内形式给予。

[0088] 在本发明的方法中,本文所描述的化合物可与合适的医药稀释剂、赋形剂或是载体(在本文统称为载体物质)混合而给予,关于给予形式的适合选择,亦即口服锭剂、胶囊、酏剂(elixirs)、糖浆等,并且与习知的医药实务一致。

[0089] 例如,对于锭剂或胶囊形式的口服给予,活性药物成分可与口服、无毒、医药可接受的、钝性载体结合,例如乳糖、淀粉、蔗糖、葡萄糖、甲基纤维素、硬脂酸镁、磷酸二钙、硫酸钙、甘露醇、山梨醇及类似物;对于液体形式的口服给予,口服药物成分可与任何口服、无毒、医药可接受的、钝性载体结合,例如乙醇、甘油、水与类似物。再者,当有需要时,合适的结合剂、润滑剂、分解剂与着色剂亦可并入所述混合物中。合适的结合剂包含淀粉、明胶、天然糖类,例如葡萄糖或是贝塔乳糖、玉米增甜剂、天然与合成的树脂,例如亚拉伯胶、胶黄蓍树胶或是海藻酸钠、羧甲基纤维素、聚乙烯甘油、腊与类似物。这些剂量形式中所使用的润滑剂包含油酸钠、硬脂酸钠、硬脂酸镁、苯甲酸钠、醋酸钠、氯化钠与类似物。分散剂包含但不限于淀粉、甲基纤维素、洋菜、膨润土(bentonite)、三仙胶(xanthan gum)与类似物。

[0090] 在本发明的方法中使用的化合物可用微脂粒传递系统的形式给予,例如单层小微脂粒(small unilamellar vesicles)、单层大微脂粒(large unilamellar vesicles)以及多层微脂粒(multilamellar vesicles)。微脂粒可由不同的磷脂形成,例如胆固醇、硬脂胺或是磷脂酰胆碱。

[0091] 在本发明的方法中使用的化合物亦可与可溶性聚合物结合,成为可命中目标的载体。此聚合物可包含聚乙烯吡咯烷酮(polyvinylpyrrolidone)、吡喃共聚物(pyran copolymer)、聚羟基丙基甲基丙基酰胺-酚(polyhydroxypropylmethacrylamide-phenol)、聚羟基乙基天冬酰胺酚(polyhydroxyethylaspartamidephenol)或是被棕榈酰基取代的聚乙基氧化物聚赖氨酸(polyethyleneoxidepolylysine)。再者,由本发明所决定的化

合物可结合至生物可分解聚合物,用于达到药物的控制释放,例如聚乳酸、聚乙醇酸、聚乳酸与聚乙醇酸的共聚物、聚己内酯 (polyepsilon caprolactone)、聚羟基丁酸、聚原酸酯 (polyorthoester)、聚缩醛、聚二氢吡喃、聚氰基丙烯酸以及水胶的交联或是两性块体共聚物。

[0092] 明胶胶囊可包含活性成分与粉末载体,例如乳糖、淀粉、纤维素衍生物、硬脂酸镁、硬脂酸与类似物。可使用类似的稀释剂,用以形成压缩锭剂。锭剂与胶囊皆可被制造成为持续释放产品,提供在数小时中持续释放医药。压缩锭剂可包被糖包覆或是薄膜包覆,掩盖不好的味道并且将锭剂与空气阻绝,或是肠内包覆而在胃肠道中选择性分解。口服给予的液体形式可包含着色与调味剂,增加病患接受程度。通常,水、合适的油、食盐水、水性的葡萄糖(葡萄糖)以及相关的糖溶液以及甘油,例如丙烯甘油或是聚乙烯甘油,都是适合用于非肠胃溶液的载体。

[0093] 用于非肠胃给予的溶剂较佳包含活性成分的水可溶性盐、合适的稳定剂以及若有需要,缓冲物质。抗氧化剂例如亚硫酸钠、硫酸钠或是抗坏血酸,单独或是结合使用,皆为合适的稳定剂。也可使用柠檬酸及其盐类以及钠 EDTA。除此之外,非肠胃溶液可包含防腐剂,例如氯化苯二甲烃铵 (benzalkonium chloride)、甲基或丙基羟基苯甲酸酯以及氯丁醇。静脉给予的化合物通常是在正常食盐水中投递。

[0094] 此领域中标准参考书雷氏药学大全 (Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing) 描述合适的医药载体。适当载体中的配方是熟知此技艺的人士可理解的。

[0095] 核苷酸类似物化学治疗剂剂量

[0096] 核苷酸类似物化学治疗剂的剂量疗法是此技艺已知的,并且依所治疗癌症的严重性与种类而改变。下表提供化学治疗疗法的一些范例。所有列出的参考内容并入本案作为参考。

[0097]

化学治疗剂	疾病 疗法	参考
克拉屈滨	非霍奇金淋巴瘤 0.14 mg/kg/day x 5 天 每 4 周 x 6	Blum et al., Cancer 107:2817-2825. 2006
	Indolent lymphoproliferative disorders and mantle cell lymphoma	Robak et al., Cancer 107: 1542-1550, 2006
	1. 每 4 周, 第一天 rituxamab 375 mg/m ² , 第 2-6 天, 克拉屈滨 0.12 mg/kg/day	
	2. 每 4 周, 第一天 375 mg/m ² rituxamab, 第 2-4 天 0.12 mg/kg/day 克拉屈滨, 以及第 2-4 天 250 mg/m ² 环磷酰胺	
克罗拉滨	慢性淋巴性白血病 每 4 周, 第 1-5 天 3-4 mg/m ² /day 每 4 周, 第 1-5 天 15 mg/m ² /day	Ghandi et al., Cancer Therapy 12:401 1-4017
氟达拉滨	慢性淋巴性白血病 每 4 周, 第 1-5 天 25 mg/m ² /day 每 4 周, 第 1-5 天 25 mg/m ² /day + 每 4 周, 20 mg/m ² 苯丁酸氮芥片 (chlorambucil)	Rai et al., NEJM 343: 1750- 1757, 2000
巯嘌呤	急性淋巴性白血病 口服 - 75 mg/m ² /day, 0-70 天*	Bostrom et al., Blood 101 : 3809-3817, 2003

[0098]

	IV- 1000 mg/m ² /day, 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, and 70 天*	
喷司他丁	慢性淋巴性白血病 每 21 天, 6 周期, 2 mg/m ² 喷司他丁, 600 mg/m ² 环磷酰胺, 375 mg/m ² rituximab	Kay ay et al. Blood. 109:405-41 1, 2007
硫鸟嘌呤	恶性神经胶质瘤 每 6 小时, 口服硫鸟嘌呤 30 mg/m ² , 共 12 次(0-66 小时); 每 6 小时口服 procarbazine 50 mg/m ² , 共 4 次(60-78 小时); 口服 dibromodulcitol 400 mg/m ² , 1 次(60 小时); 口服 lomustine 110 mg/m ² , 1 次(72 小时); 每 6-7 周, 第 14 与 28 天, 1.4 mg/m ² i.v. vincristine, 6 周期	Levin et al., Neuro-oncology, 2:22-28
卡培他滨	直肠癌 每日 2 次口服卡培他滨 100 mg/m ² , 第 1-14 与 25-38 天+剂量渐增的 oxaliplatin	Rectal cancer Hospers et al., Ann. Surg. Oncol. 14:2773-2779
阿糖胞苷	骨髓性白血病 第 1-5 天连续输液阿糖胞苷 100 mg/m ² 以及第 1-5 天连续输液 idarubicin 5 mg/m ²	von Lilienfeld-Toal et al., Hemtolog 92: 1719-1720
地西他滨	黑素瘤或肾细胞癌 第 1-5 天与第 8-12 天, 皮下给予 0.1-0.3 mg/kg/dose, 3-4 周与-8 周高剂量 IL-2, 每 12 周视需要另加 2 周期	Gollob et al., Clin. Can. Res. 12:4619-4627
氟脲嘧啶	胃癌 每 14 天, 第一天 150 mg/m ² irinotecan d 以及第 1 天与第 2 天	Kim et al., Jpn. J. Clin. Oncol. 37:744-749.

[0099]

	给予 5- FU 20 mg/m ² IdLV 接着 400 mg/m ² (大丸药) and 600 mg/m ² (22 小时连续输液)	
氟尿苷	转移性的直肠癌 十二指肠动脉输液 500 mg FUDR, 50 mg oxaliplatin, 2.5 mg dexamethasone	Xu et al., Ann. Surg. 245:583- 590
沙帕他滨	包含前列腺、乳房与肺的实体瘤 口服 1.5, 12, 20, 25, 30, 50, 67, 90, 120, 160 与 220 mg/m ² /day, 最大耐受剂量 160 mg/m ² /day	Delaunoy et al., Invest New lung Drugs, 24:327-333, 2006

[0100] * 巯嘌呤与文克斯汀 (vincristine)、甲氨蝶呤片 methotrexate 与泼尼松 (prednisone) 或地塞米松 (dexamethazone) 共同给予

[0101] 吉西他滨剂量

[0102] 已经建立许多吉西他滨剂量疗法, 单独使用吉西他滨或是与其他药剂结合用于治疗许多癌症。例如, 剂量范围从 10mg/m²/week 至 1200mg/m²/week 作为单一药剂或是与其他化学治疗剂结合, 用于治疗胆道癌的研究。每个周期剂量的频率与数目会改变 (请参阅例如 Pastorelli et al., Ann. Onco/. 17 :v153-157, 2006, 并入本案作为参考)。给予剂量范围从 800mg/m²/week 至 1000mg/m²/week, 用于研究治疗阶段 IIIB 或 IV 非小细胞肺癌 (请参阅例如 Rocha Lima et al., Ann. Oncol. 15 :410-418, 2004, 并入本案作为参考)。同样的剂量也给予用于研究治疗尿路、复发的霍奇金淋巴瘤、胰腺癌与肾脏癌的末期移行细胞癌。

[0103] 下表说明公开的剂量疗法范例。

[0104] 由 Pastorelli et al, 2006 部分复制末期胆道癌中单一剂量给予。

[0105]

作者	吉西他滨剂量表
Metzger et al.	每 4 周, 1000 mg/m ² /wk x 7 而后 1 x/wk x 3
Valencak et al.	每 4 周, 第 1、8 与 15 天 1200 mg/m ²
Dobrilla-Dintinjana et al.	1000 mg/m ² /wk x 7
Kubika et al.	每 4 周, 10 mg/m ² /wk x 7 the 1/wk x 3
Arroyo et al.	每 4 周, 第 1、8 与 15 天 1000 mg/m ²
Gebbia et al.	每 4 周, 第 1、8 与 15 天 1000 mg/m ²
Penz et al.	每 2 周, 第一天 2200 mg/m ²

[0106] 由 Rocha Lima et al, 2004 部分复制在非小细胞肺炎中紫杉醇 (Dox) 与吉西他滨 (gem) 的结合治疗。

[0107]

研究	治疗法
第 8 天 Dox-第 1 天与第 8 天 gem	
Rebattu et al	每 3 周, 第 8 天 Dox 85 mg/m^2 + 第 1 天与第 8 天 gem 1000 mg/m^2
Amenedo et al	每 3 周, 第 8 天 Dox 85 mg/m^2 + 第 1 天与第 8 天 gem 1000 mg/m^2
Lizon et al.	每 3 周, 第 8 天 Dox 75 mg/m^2 + 第 1 天与第 8 天 gem 1000 mg/m^2
Georgoulis et al.	每 3 周, 第 8 天 Dox 100 mg/m^2 day 8 + 第 1 天与第 8 天 gem 900 mg/m^2 + 第 9-15 天 G-CSF $150 \mu\text{g/m}^2$
第 1 天 Dox-第 1 天与 10 或 15 天 gem	
Hejma et al.	每 3 周, 第 1 天 Dox 80 mg/m^2 + 第 1 天与第 10 天 gem 1000 mg/m^2 + 第 2-8 天 G-CSF $5 \mu\text{g/kg}$
Vewntriglia et al.	每 3 周, 第 1 天 Dox 75 mg/m^2 + 第 1 天与第 15 天 gem 1000 mg/m^2
每周与每两周治疗法	
Popa et al.	每 3 周, 第 1 天与第 8 天 Dox 40 mg/m^2 + 第 1 天与第 8 天 gem 1000 mg/m^2
Menendez et al	每 4 周, 第 1、8、15 天 Dox 36 mg/m^2 days + 第 1、8、15 天 gem 1000 mg/m^2
McKay et al.	Dox 30 mg/m^2 + gem 800 mg/m^2
Syrgios et al.	每 15 天, 第 1 天 Dox 80 mg/m^2 + 第 1 天 gem 1000 mg/m^2
Neubauer et al	每 8 周, 第 1、8、15、22、29、36 天 Dox 36 mg/m^2 + 第 1、8、22 与 29 天 gem 900 mg/m^2

[0108] 在本发明的方法中,吉西他滨给予剂量约 $500\text{mg}/\text{m}^2/\text{week}$ 至约 $1500\text{mg}/\text{m}^2/\text{week}$, 较佳为约 $700\text{mg}/\text{m}^2/\text{week}$ 至约 $1300\text{mg}/\text{m}^2/\text{week}$, 较佳约为 $800\text{mg}/\text{m}^2/\text{week}$ 至约 $1200\text{mg}/\text{m}^2/\text{week}$ 。可能为更高或是较低的剂量。所述剂量可以每周单次给予或是可分为多次剂量。剂量率(给予剂量除以时间)可改变。剂量频率可为每周期 1、2、3 或更多次。所述周期可为 1、2、3、4、5、6、7、8 或更多周。周期数可为 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多周期,或是直达到所要的治疗结果,或是直到剂量受到副作用的限制。

[0109] ON01910 剂量

[0110] 临床实验中已经使用不同剂量与给予方式的 ON01910-Na。在一研究中,剂量范围为 $160\text{--}8740\text{mg}/\text{week}$, 所述每周剂量分为两次剂量,每四周连续三周给予。(每四周连续三周,每周 2 小时输液。剂量范围 $80\text{mg}\text{--}4370\text{mg}$ 。建议用于后续测试的剂量为 3120mg 。)假设身体表面积约为 1.8m^2 , 剂量约为 $90\text{mg}/\text{m}^2/\text{week}$ 至约 $4850\text{mg}/\text{m}^2/\text{week}$ 。

[0111] 在另一研究中,在每周连续进程中,ON01910-Na 的给予为 24 小时输液。剂量范围为 $250\text{mg}/\text{m}^2/\text{week}\text{--}2750\text{mg}/\text{m}^2/\text{week}$ 。

[0112] 在另一研究中,每 2 周 72 小时输液给予 ON01910-Na。剂量范围 $50\text{mg}/\text{m}^2/\text{day}$ 至 $400\text{mg}/\text{m}^2/\text{day}$ (亦即 $75\text{mg}/\text{m}^2/\text{week}$ 至 $600\text{mg}/\text{m}^2/\text{week}$)。

[0113] 在使用大鼠与狗的两个标准毒性动物研究中,决定 ON01910-Na 的安全概况。在大鼠的研究中,单一剂量 300 与 $600\text{mg}/\text{m}^2$ 不会产生毒性,以及 $1200\text{mg}/\text{m}^2$ 仅具有一点毒性(anogenital 染色)。当剂量增加至 $3000\text{mg}/\text{m}^2$ 时,11 只动物中有 9 只死亡。在 7 日重复剂量($1200\text{mg}/\text{m}^2$)中,在剂量期间 13 只大鼠中有 2 只死亡。在 28 日重复剂量中,使用 12 只公鼠与 12 只母鼠的群组,耐受固定每日剂量 $180\text{mg}/\text{m}^2$ and $450\text{mg}/\text{m}^2$ 。四周每周两次剂量 $900\text{mg}/\text{m}^2$ 也能耐受。在狗的研究中,急性单一剂量 2000 与 $4000\text{mg}/\text{m}^2$ 产生肠胃效应(腹泻、肠胃胀气),以及在剂量期间其他不舒服现象(挣扎、发声)。在 7 日重复静脉内剂量,狗亦耐受每日 $1000\text{mg}/\text{m}^2$ 。在 28 日重复剂量中,在 3 只公小猎犬与 3 只母小猎犬组成的群组对于每日静脉内剂量 200 与 $500\text{mg}/\text{m}^2$ 也能耐受 28 天。高剂量群组由 $1000\text{mg}/\text{m}^2$ 开始,没有毒性现象显示。基于剂量渐增研究,此剂量进程的最高无严重毒性剂量约为 1500 至 $2000\text{mg}/\text{m}^2$ 达 28 天。有 6 只狗的另一群组以每周 $1000\text{mg}/\text{m}^2$ 治疗两次达四周,也可耐受所述化合物,没有临床上的问题。在这些毒性验研究中,没有明显的骨髓毒性、神经病变或视心脏毒性证据。结果如下表概述(由 Gumlreddy et al., Cancer Cell, 7 :275-286, 2005 复制,此文并入本案作为参考)。

[0114]

物种	剂量进程 IV 大丸药	MTD mg/m ²	STD/LD ₁₀ mg/m ²	HNST D mg/m ²
大鼠 (rat)	单一剂量	>1200 (无死亡)	<3000 (9/11 死亡)	--
大鼠	7 日重复		1200 (2/13 死亡)	--
大鼠	2 x/ wk, 4 wks		<2100 (5/9 死亡)	--
大鼠	28 日重复	450 (1/36 死亡)	<900 n(11/36 死亡)	--
大鼠	2x/ wk, 4 wk	900 (1/24 死亡)		--
狗	单一剂量	>4000		2000
狗	7 日重复	>1000		>1000
狗	2x/ wk, 4 wks	>1000		
狗	28 日重复	>1000	2500	1500- 2000

[0115] MTD, 最大耐受剂量 ;STD, 严重毒性剂量 ;LD₁₀, 剂量产生 10 % 动物的致命性 ; HNSTD, 最高无严重毒性剂量。

[0116] 在本发明的方法中, ON01910-Na 与其衍生物可给予剂量约为 50mg/m²/week 至约 5000mg/m²/week, 或是约 90mg/m²/week 至约 4850mg/m²/week。可以是更高或较低的剂量率。所述剂量可以每周单一剂量给予或是分为数次剂量。剂量率 (给予剂量除以时间) 可改变。剂量频率可为每周期 1、2、3 或更多次。所述周期可为 1、2、3、4、5、6、7、8 或更多周。周期数可为 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多周期, 或是直到达到所要的治疗结果, 或是直到剂量受到副作用的限制。

[0117] 如上来自 Rocha Lima 的表所示, 给予吉西他滨的进程与剂量作为单一剂量或是结合的化学治疗疗法是类似的。上表或是此技艺中所提供的任何治疗法的吉西他滨剂量可与上述 ON01910-Na 或其衍生物的剂量疗法结合。可理解医师或是熟悉癌症治疗技艺的其他从业人员可改变剂量疗法用于适当的主体, 并且理解其他的剂量疗法是可能的。可理解根据不理想的副作用 (例如嗜中性白血球减少症、感染、恶心), 修饰给予化学治疗剂的特定剂量与时间, 所述副作用常发生在给予化学治疗剂。

[0118] 可理解本案所提供的范围是所述范围内所有值的简化。例如, 范围 1 至 5 被理解为包含由 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49 与 50 所组

成群组的任何数目、数目组合或是次范围。

[0119] 除非特别声明或是由文字中清楚可见,否则本案所使用的“或”一词被理解为包括在内的。

[0120] 除非特别声明或是由文字中清楚可见,否则本案所使用的“一”与“所述”一词被理解为单一或是多个。

[0121] 本案变量的任何定义中,化学官能基的表列描述包含变量作为单一官能基或是所列官能基的结合的定义。本案变数的实施例描述包含任何单一实施例或是任何其他实施例或其部分的结合。

[0122] 从优先权申请案的申请日起,本案所描述任何参考数据、专利、专利申请案与登记编号并入本案作为参考。

[0123] 本发明更进一步由以下范例说明,以下范例并不限制本发明。

[0124] 范例

[0125] 材料与方法

[0126] 体外增生分析

[0127] 对吉西他滨有抗药性的人类胰腺瘤细胞株 813,1005, MP2(可自 ATCC 购得)以及 E3JD13、XPa3 与 XPa4(取得自 JHU 的肿瘤少分裂子代)生长在标准培养条件 RPMI-1640 与 10%胎牛血清以集 1%盘尼西林 / 链霉素中。

[0128] 在 24 槽细胞培养盘中优化 Plk1 siRNA 与转染剂 (Dharmacon RNA technologies, Lafayette, CO), 其中每一槽加入 500 微升的生长培养液与 30,000 个细胞,在 37°C 下隔夜培养。各盘包含无抗生素仅有培养液的槽,各槽含有 0.2%、0.4% 与 0.6% 转染剂 (TR) 至最终体积,以无抗生素培养液确认毒性以及在无抗生素培养液中变化 TR 量加 100nM 与 200nM siRNA 浓度。条件测试 24 与 48 小时。以 RLT 缓冲液 (Qiagen Valencia, CA) 收取细胞。在优化六种细胞中抑制 Plk1 的 siRNA 条件之后,最佳的 TR 浓度、siRNA 与时间分别为 0.4%、200nM 以及 48 小时。

[0129] 使用 RNeasy™ 迷你套组 (Qiagen, Valencia, CA), 从细胞颗粒 (与肿瘤) 萃取总 RNA。使用 iScript cDNA 合成套组 (Bio-Rad, Hercules, CA), 依照制造商指示方式合成 cDNA。使用 iCycler iQ real-time PC 侦测系统 (Bio-Rad) 与 ABI Taqman 探针 (Foster City, CA) 达到 Plk1 与 ubiquitin C (UBC, 作为家务基因) mRNA 的相对定量。重复实验两次,样品分析四次。

[0130] 体外对于吉西他滨的敏感性, ON01910-Na 以及两者的结合 (浓度皆为 1 μ M 反应 72 小时) 以 3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐 (MTT; Sigma, St Louis, MO) 分析。对于在 siRNA 之后以 MTT 为基础的效力研究,将细胞放置于 96 槽盘,以上述条件转染 48 小时,而后暴露至浓度为 1 μ M 的载体或是吉西他滨 72 小时。每一个实验对于每一个药物浓度进行六重复,并且独立进行至少三次。

[0131] 取自异种皮移植的直接胰腺癌

[0132] 在约翰霍普金斯医学研究机构,将切除的胰腺线瘤例行地植入裸鼠 (nude mice), 在 IRB 核准的流程下,从残留的胰腺癌肿瘤获得许多瘤细胞 (neoplastic cells)。简单地说,来自 Whipple 切除切片的肿瘤切片被分割为在含有抗生素的 RPMI 培养液中 2-3mm³ 小块。选择并浸泡非坏死组织的片块在基底膜 (Matrigel)。以异氟醚麻醉,将肿瘤植入购买

自 Harlan (Harlan Laboratories, Washington, DC) 五至六周大的母胸腺小鼠 (nu/nu)。

[0133] 带有肿瘤的老鼠被分为四组 (每一组 $n = 8-10$ 肿瘤)。以吉西他滨 100mg/kg 处理老鼠,每周两次达四周,或是以 ON01910-Na 250mg/kg/day 处理四周,或是两者结合处理。在实验过程中,每四天使用卡尺决定肿瘤的大小。

[0134] 在第 28 天,将动物麻醉,移除肿瘤,使用标准流程以 RT-PCR 进行 P1k1 表现分析。P1k1 表现程度相对于未以药物处理的对照组作为呈现。

[0135] 药物

[0136] 吉西他滨 (Eli Lilly, Indianapolis, IN) 溶解于食盐水中。药物新鲜制备,并且使用时注射体积为 0.2mL/20g 体重。

[0137] 相对的肿瘤生长抑制

[0138] 相对的肿瘤生长抑制 (TGI) 计算为 $TGI = (Ti - T0 / Ci - C0)$, 其中 Ti 与 Ci 分别代表第 28 天治疗组与对照组中肿瘤的大小; T0 与 C0 分别代表在第 0 天治疗组与对照组中肿瘤的大小。实验在第 28 天结束。根据 RECIST 标准,若 $TGI < -30\%$ 与 $TGI > -30\%$, 我们分别定义异种皮移植为对吉西他滨敏感与有抗药性。

[0139] 范例 1-P1k1 的抑制克服胰腺肿瘤细胞株中对于吉西他滨的抗药性

[0140] 六种对吉西他滨有抗药性的细胞株生长培养且以吉西他滨单独处理、靶向于 P1k1 的 siRNA 或是其组合处理 24 小时。细胞继续在培养液中生长三天。决定相对于对照组的细胞生长百分比。

[0141] 同样地,相同的细胞株生长在吉西他滨单独存在、P1k1 单独存在或是两者结合存在,生长培养三天。决定相对于对照组的细胞生长百分比。

[0142] 相对于未处理的对照组,六种细胞株中有三种的生长受到 P1k1siRNA 的抑制 (图 1A), 以及六种细胞株中有两种的生长受到 ON0910-Na 的抑制 (图 1B)。P1k1 抑制剂与吉西他滨结合治疗强烈抑制大部分细胞株的生长。ON01910-Na 与吉西他滨的结合对于抑制三种细胞株 1005、XPa3 与 XPa4 的细胞生长,具有至少明显的加成或是协同效应。这些数据说明 P1k1 抑制剂可有效杀死对吉西他滨有抗药性的细胞,以及 P1k1 抑制剂可以敏感化对吉西他滨有抗药性的细胞而被吉西他滨杀死。

[0143] 范例 2-P1k1 的抑制克服体内胰腺肿瘤对于吉西他滨的抗药性

[0144] 胰腺肿瘤植入老鼠,如上所述。老鼠以吉西他滨单独处理、ON-01910-Na 单独处理或是两者结合处理。在四天间隔之后,测量肿瘤大小。

[0145] 三种胰腺肿瘤说明对于吉西他滨与 ON-01910-Na 的不同的感受性概况 (图 2A)。肿瘤 41 对于吉西他滨与 ON-01910-Na 的治疗敏感,而无实质的肿瘤生长。肿瘤 JH03 对于吉西他滨单独处理敏感,但是对于 ON-01910-Na 则不敏感。然而,在第 28 天,吉西他滨与 ON-01910-Na 的组合比吉西他滨单独处理更有效。肿瘤 28 对于吉西他滨有抗药性,且对于 ON-01910-Na 敏感。注意,吉西他滨与 ON-01910-Na 的组合比两种化合物单独处理更明显有效。

[0146] 在第 28 天,收取肿瘤且分析 P1k1 的表现 (图 2C)。如图所示,以吉西他滨处以后,具有最低 P1k1 表现量的 JH03 肿瘤对于吉西他滨的处理最敏感。

[0147] 这些数据说明对吉西他滨有抗药性的胰腺细胞中,ON-01910-Na 可诱导吉西他滨的敏感化。

[0148] 范例 3- 治疗具有对易受核苷酸类似物化学治疗剂影响的癌症的主体

[0149] 主体被诊断为具有末期胆道癌,且易受吉西他滨治疗的影响。进行手术减少肿瘤负担。开始化学治疗以减少且治疗转移癌症与在原地处任何残留的癌症。每四周,在第 1、8 与 15 天,以 $1000\text{mg}/\text{m}^2$ 剂量给予吉西他滨至主体,进行两个周期。在第三个周期开始时,ON01910 共同给予为 24 小时输液,进行每周连续进程(四周周期的第 1、8、15 与 23 天)。ON01910 的计量为 $1000\text{mg}/\text{m}^2/\text{week}$ 。所述化学治疗法的剩余周期中,所述药物共同给予。

[0150] 范例 4- 通过共同给予靶向于 Plk1 的 siRNA 而防止对吉西他滨抗药性的发展

[0151] 主体被诊断为具有胰腺癌。靶向于 Plk1 的 siRNA 化合物给予至主体,同时以在每一个周期吉西他滨化学治疗的第一剂量(亦即在每四周周期的第一天)处理。相对于给予吉西他滨,siRNA 治疗是长期作用的化合物,可以不常投药。吉西他滨化学治疗持续所要的周期数目。监视主体的疾病进展或退化。

[0152] 范例 5- 利用 ON01910 防止对核苷酸类似物化学治疗剂有抗药性的发展

[0153] 主体被诊断为具有慢性淋巴性白血病,亦受每 28 天每日静脉给予 $25\text{mg}/\text{m}^2$ 氟达拉滨达 5 天上至 12 周期治疗影响的癌症。在第一次给予氟达拉滨至主体的一周前,以 72 小时输液, $100\text{mg}/\text{m}^2/\text{day}$ 的剂量给予 ON01910(总计量 $300\text{mg}/\text{m}^2$)。持续在氟达拉滨化学治疗期间,每隔一周,以相同剂量给予 ON01910。监视主体的疾病进展或退化。

[0154] 合并作为参考

[0155] 本案描述的所有参考数据、专利、审查中的专利申请案与公开的专利皆并入本案作为参考。

[0156] 均等物

[0157] 熟知此技艺的人士使用不超过例行实验,会理解或是可确认本发明特定实施例的许多均等物。这些均等物皆包括在以下的权利要求中。

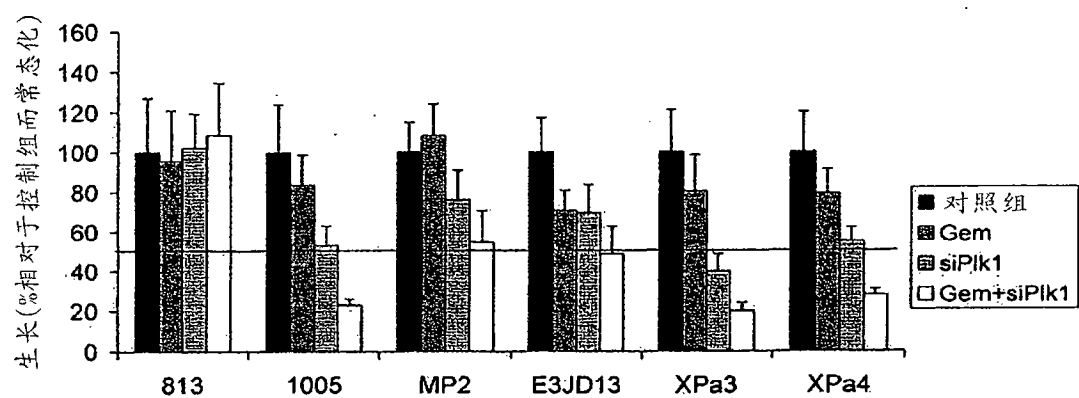


图 1A

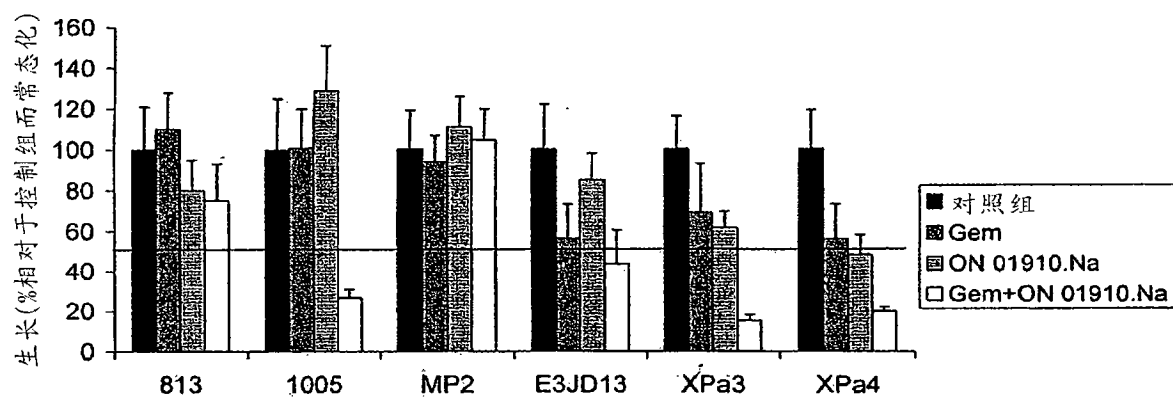


图 1B

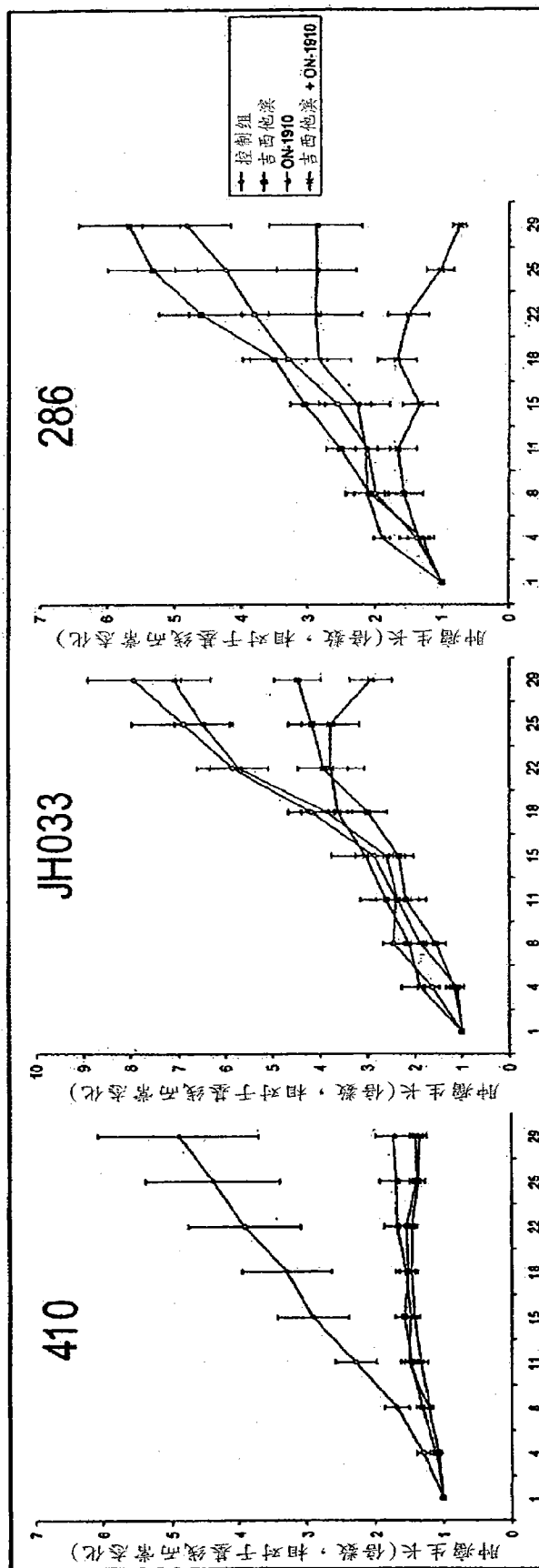


图 2A

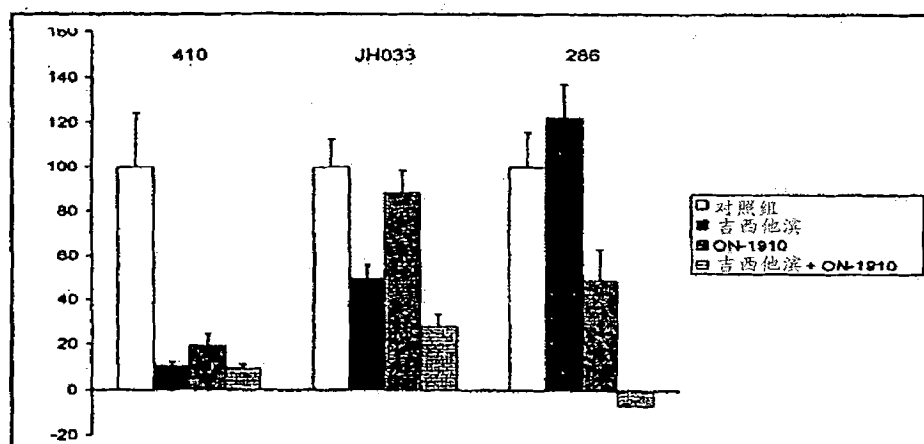


图 2B

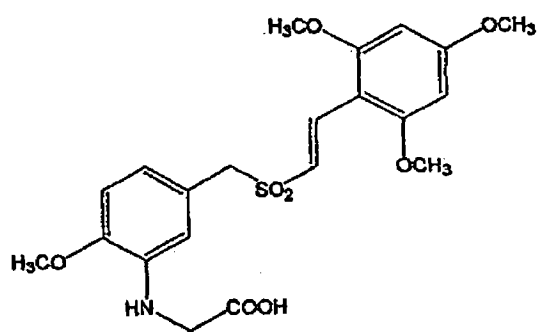


图 3A

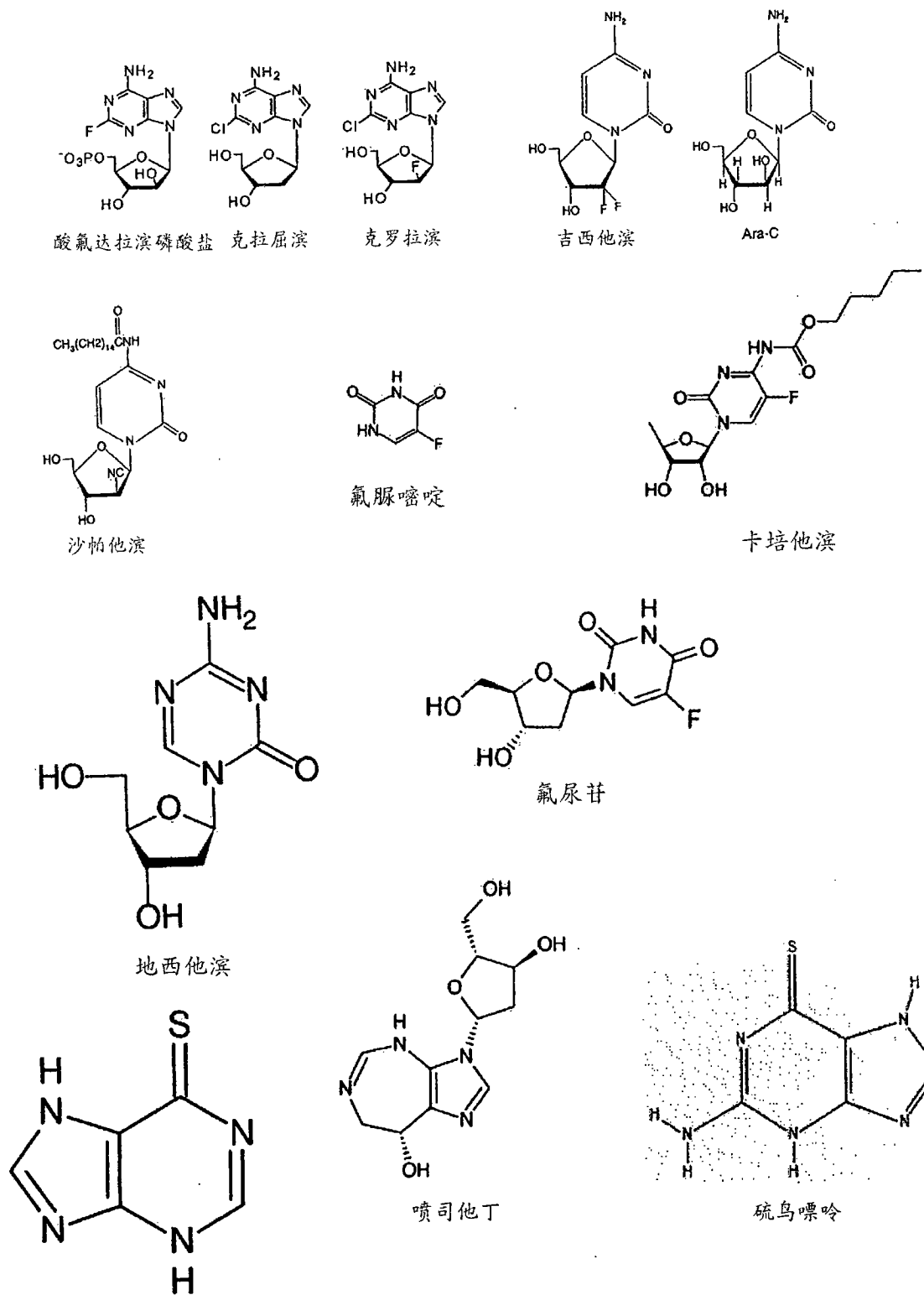


图 3B