



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106572992 A

(43)申请公布日 2017.04.19

(21)申请号 201580030089.9

(74)专利代理机构 北京泛诚知识产权代理有限公司 11298

(22)申请日 2015.04.06

代理人 杨本良 文琦

(30)优先权数据

61/975,865 2014.04.06 US

(51)Int.Cl.

A61K 31/403(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

A61K 31/337(2006.01)

2016.12.06

A61K 31/7068(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2015/024514 2015.04.06

A61P 35/00(2006.01)

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/157172 EN 2015.10.15

(71)申请人 英丘伦有限责任公司

地址 俄罗斯莫斯科

(72)发明人 凯瑟琳·伯克哈特

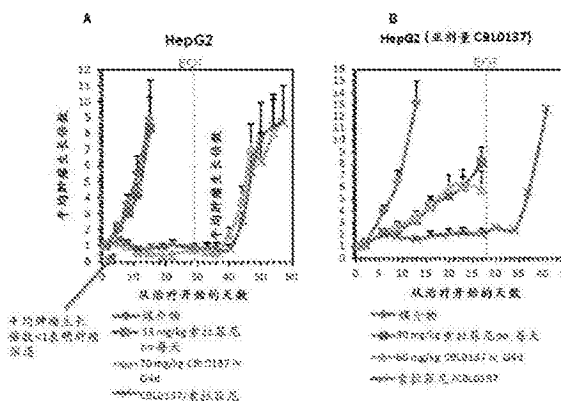
权利要求书2页 说明书31页 附图9页

(54)发明名称

用CURAXINS进行组合治疗

(57)摘要

提供了方法和组合物,所述方法和组合物尤其涉及任选地与多种药剂组合来治疗多种癌症的CBL0137。



1. 一种用于治疗癌症的方法,其包括向用激酶抑制剂化疗剂进行治疗的受试者施用有效量的CBL0137。

2. 一种用于治疗癌症的方法,其包括向有此需要的受试者在施用有效量的激酶抑制剂化疗剂之后施用有效量的CBL0137。

3. 一种用于治疗癌症的方法,其包括向有此需要的受试者共施用有效量的CBL0137和有效量的激酶抑制剂化疗剂。

4. 一种用于治疗癌症的方法,其包括向有此需要的受试者施用有效量的CBL0137和有效量的激酶抑制剂化疗剂的共制剂。

5. 根据上述权利要求中任一项所述的方法,其中所述激酶抑制剂化疗剂选自BI-2356、舒尼替尼、PF-562271、AMG706、达沙替尼、索拉菲尼、GSK461364A、Bez-235和拉帕替尼。

6. 根据上述权利要求中任一项所述的方法,其中所述激酶抑制剂化疗剂是索拉菲尼。

7. 根据上述权利要求中任一项所述的方法,其中所述CBL0137和/或激酶抑制剂化疗剂静脉内和/或经口施用。

8. 根据上述权利要求中任一项所述的方法,其中所述CBL0137和/或激酶抑制剂化疗剂以亚治疗剂量施用。

9. 根据权利要求8所述的方法,其中CBL0137和/或所述激酶抑制剂化疗剂的所述亚治疗剂量小于约50%、或小于约60%、或小于约70%、或小于约80%、或小于约85%、或小于约90%的经批准标签剂量和/或最大耐受剂量(MTD)。

10. 根据上述权利要求中任一项所述的方法,其中增大了CBL0137和激酶抑制剂化疗剂的治疗窗。

11. 根据权利要求10所述的方法,其中所述核苷类似物化疗剂的增大的治疗窗包括以下的一种或多种:增加癌症患者接受激酶抑制剂化疗剂维持疗法的可能性;增加癌症患者接受所述激酶抑制剂化疗剂的完整方案的可能性;增加癌症患者接受超过所述激酶抑制剂化疗剂的完整方案的可能性;以及增加所述激酶抑制剂化疗剂治疗的剂量或长度。

12. 根据上述权利要求中任一项所述的方法,其中CBL0137与所述激酶抑制剂化疗剂的组合产生了协同效应。

13. 根据上述权利要求中任一项所述的方法,其中CBL0137与所述激酶抑制剂化疗剂的组合产生了协同的肿瘤生长减缓效应。

14. 根据上述权利要求中任一项所述的方法,其中CBL0137与所述激酶抑制剂化疗剂的组合产生NF- κ B基因的协同表达降低。

15. 根据上述权利要求中任一项所述的方法,其中CBL0137与所述激酶抑制剂化疗剂的组合产生TNF和IL-8中的一种或多种的表达的基本上完全消除。

16. 根据上述权利要求中任一项所述的方法,其中所述癌症是肝癌。

17. 根据权利要求16所述的方法,其中所述肝癌是肝细胞癌(HCC)。

18. 根据权利要求16或17中任一项所述的方法,其中所述癌症是原发肿瘤或继发肿瘤。

19. 一种用于治疗癌症的方法,其包括向用核苷类似物化疗剂进行治疗的受试者施用有效量的CBL0137。

20. 一种用于治疗癌症的方法,其包括向有此需要的受试者在施用有效量的核苷类似物化疗剂之后施用有效量的CBL0137。

21. 一种用于治疗癌症的方法,其包括向有此需要的受试者共施用有效量的CBL0137和有效量的核苷类似物化疗剂。

22. 一种用于治疗癌症的方法,其包括向有此需要的受试者施用有效量的CBL0137和有效量的核苷类似物化疗剂的共制剂。

23. 根据权利要求19-22中的任一项所述方法,其中所述核苷类似物化疗剂选自吉西他滨、卡培他滨、5-氟尿嘧啶、5'-脱氧-5-氟鸟苷、BOF-A2、替加氟、UFT、S-1、阿糖胞苷、地西他滨、克拉屈滨、氟达拉滨和氟达拉滨。

24. 根据权利要求19-23中的任一项所述方法,其中所述核苷类似物化疗剂是吉西他滨。

25. 根据权利要求19-24中的任一项所述方法,其中所述CBL0137和/或核苷类似物化疗剂静脉内和/或经口施用。

26. 根据权利要求19-25中的任一项所述方法,其中所述CBL0137和/或核苷类似物化疗剂以亚治疗剂量施用。

27. 根据权利要求26所述的方法,其中CBL0137和/或所述核苷类似物化疗剂的所述亚治疗剂量小于约50%、或小于约60%、或小于约70%、或小于约80%、或小于约85%、或小于约90%的经批准标签剂量和/或最大耐受剂量(MTD)。

28. 根据权利要求19-27中的任一项所述方法,其中增大了CBL0137和核苷类似物化疗剂的治疗窗。

29. 根据权利要求28所述的方法,其中所述核苷类似物化疗剂的增大的治疗窗包括以下的一种或多种:增加癌症患者接受所述核苷类似物化疗剂维持疗法的可能性;增加癌症患者接受所述核苷类似物化疗剂的完整方案的可能性;增加癌症患者接受超过所述核苷类似物化疗剂的完整方案的可能性;以及增加所述核苷类似物化疗剂治疗的剂量或长度。

30. 根据权利要求19-29中的任一项所述方法,其中CBL0137与所述核苷类似物化疗剂的组合产生了协同效应。

31. 根据权利要求19-30中的任一项所述方法,其中CBL0137与所述核苷类似物化疗剂的组合产生了协同的肿瘤生长减缓效应。

32. 根据权利要求19-31中的任一项所述方法,其中CBL0137产生控制吉西他滨敏感性/抗性的基因的减少。

33. 根据权利要求32所述方法,其中CBL0137产生胞苷脱氨酶和核糖核苷酸还原酶亚基中的一种或多种的减少。

34. 根据权利要求19-33中的任一项所述方法,其中所述癌症是胰腺癌。

35. 根据权利要求34所述方法,其中所述胰腺癌是胰腺导管腺癌(PDAC)。

36. 根据权利要求19-33中的任一项所述方法,其中所述癌症是肺癌。

37. 根据权利要求36所述方法,其中所述肺癌是非小细胞肺癌。

38. 根据权利要求19-37中的任一项所述方法,其中所述癌症是原发肿瘤或继发肿瘤。

用CURAXINS进行组合治疗

[0001] 优先权

[0002] 本申请要求2014年4月6日提交的美国临时申请No.61/975,865的优先权,其全部内容通过引用并入本文。

发明领域

[0003] 本发明部分地涉及用于治疗多种癌症的包括用CBL0137和多种组合药剂治疗的方法和组合物。

[0004] 背景

[0005] 许多癌症治疗受到对于多种肿瘤无效以及相关地有效剂量与副作用之间的平衡问题的阻碍。事实上,癌症治疗中常见的是使用多种治疗剂治疗,尤其是在单一疗法提供的临床效果令人失望时。

[0006] 因此,需要另外的用于治疗多种癌症的改善常用癌症治疗的临床效果的方法。

[0007] 发明概述

[0008] 因此,本发明提供了引起更有效的癌症治疗的组合物和方法,其通过例如提高肿瘤缩小效应和/或通过允许减少剂量而不能损失治疗益处来降低治疗的副作用,从而提高多种抗癌剂的效力。在多个方面,本发明组合物和方法提供了对患者有益的协同效应。在多个方面,本发明组合物和方法允许剂量减少而不损失临床效果,因此降低了副作用并且改善了患者生活质量。

[0009] 在一些方面,本发明提供了一种用于治疗癌症的方法,其包括向用激酶抑制剂或核苷类似物化疗剂进行治疗的受试者施用有效量的CBL0137组合物。在一些方面,本发明提供了一种用于治疗癌症的方法,包括向有此需要的受试者相继地或同时地施用有效量的BL0137以及施用有效量的激酶抑制剂或核苷类似物化疗剂。在其它方面,本发明提供了CBL0137和激酶抑制剂或核苷类似物化疗剂的共制剂(co-formulation)的组合物和抗癌用途。在另一些方面,提供了CBL0137,其用于与激酶抑制剂或核苷类似物化疗剂一起治疗多种癌症,或者与激酶抑制剂或核苷类似物化疗剂一起制造用于治疗多种癌症的药物。

[0010] 在多个实施方案中,核苷类似物化疗剂是吉西他滨(gemcitabine)。在多个实施方案中,激酶抑制剂化疗剂是索拉菲尼(sorafenib)。

[0011] 在多个实施方案中,施用CBL0137和/或激酶抑制剂或核苷类似物化疗剂使得能够用亚治疗剂量的CBL0137和/或激酶抑制剂或核苷类似物化疗剂来治疗受试者。在多个实施方案中,药剂的组合提供了协同效应和/或降低了患者的治疗副作用。例如,在多个实施方案中,例如CBL0137与吉西他滨和/或索拉菲尼的使用相对于任何单独药剂提供了更有效的抗癌治疗(例如,降低肿瘤生长)。

[0012] 附图简述

[0013] 图1示出了具有HepG2肿瘤的裸小鼠组的Kaplan-Meier存活曲线。图A示出了用(从左到右标记)媒介物(第一条线)或者CBL0137(第三条线)、索拉菲尼(第二条线)或CBL0137+索拉菲尼(第四条线)的不同方案治疗的具有肿瘤的裸小鼠(HepG2研究)的存活曲线。图B示

出了用(从左到右标记)媒介物(第一条线)或者CBL0137(第二条线)、索拉菲尼(第三条线)或CBL0137+索拉菲尼(第四条线)的不同方案治疗的具有肿瘤的裸小鼠(HepG2(亚剂量CBL0137)研究)的存活曲线。

[0014] 图2示出了具有Hep3B肿瘤的裸小鼠组的Kaplan-Meier存活曲线。具体地,图A示出了用(从左到右标记)媒介物(第一条线)或者CBL0137(第二条线)、索拉菲尼(第四条线)或CBL0137+索拉菲尼(第三条线)的不同方案治疗的具有肿瘤的裸小鼠(Hep3B研究)的存活曲线。图B示出了用(从左到右标记)媒介物(第一条线)或者CBL0137(第二条线)、索拉菲尼(第三条线)或CBL0137+索拉菲尼(第四条线)的不同方案治疗的具有肿瘤的裸小鼠(Hep3B(亚剂量CBL0137)研究)的存活曲线。

[0015] 图3示出了具有HepG2肿瘤的裸小鼠组中肿瘤体积的平均倍数变化。图A示出了用媒介物或者CBL0137、索拉菲尼或CBL0137+索拉菲的不同方案治疗的具有肿瘤的裸小鼠的肿瘤体积(HepG2研究)的平均倍数变化。图B示出了用媒介物或者CBL0137、索拉菲尼或CBL0137+索拉菲尼的不同方案治疗的具有肿瘤的裸小鼠的肿瘤体积(HepG2(亚剂量CBL0137)研究)的平均倍数变化。EOT代表治疗结束。通过将每个个体肿瘤(每只小鼠2个肿瘤)在第X天的肿瘤体积归一化为第1天的肿瘤体积,然后对每个组所有肿瘤的归一化值取平均值来计算平均肿瘤生长倍数。对于每个组,给出了具有足够数目的测量值来代表所述组的时间点的数据(即,组中动物总数的 $\geq 50\%$ 的测量值,以防止数据偏差)。误差线表示平均值的标准误差。

[0016] 图4示出了具有Hep3B肿瘤的裸小鼠组中肿瘤体积的平均倍数变化。图A示出了用媒介物或者CBL0137、索拉菲尼或CBL0137+索拉菲的不同方案治疗的具有肿瘤的裸小鼠的肿瘤体积(Hep3B研究)的平均倍数变化。EOT代表治疗结束。图B示出了用媒介物或者CBL0137、索拉菲尼或CBL0137+索拉菲的不同方案治疗的具有肿瘤的裸小鼠的肿瘤体积(Hep3B(亚剂量CBL0137)研究)的平均倍数变化。通过将每个个体肿瘤(每只小鼠2个肿瘤)在第X天的肿瘤体积归一化为第1天的肿瘤体积,然后对每个组所有肿瘤的归一化值取平均值来计算平均肿瘤生长倍数。对于每个组,给出了具有足够数目的测量值来代表所述组的时间点的数据(即,组中动物总数的 $\geq 50\%$ 的测量值,以防止数据偏差)。误差线表示平均值的标准误差。

[0017] 图5示出了2h和24h后用媒介物、CBL0137、索拉菲尼或CBL0137+索拉菲治疗的具有HepG2或Hep3B肿瘤的裸小鼠的蛋白质印记分析。具体地,蛋白质印迹监测spt16、SSRP1、p53、p21、P-ERK、ERK、Mc1-1和GAPDH(对照)的表达。图A对应于来自HepG2研究的具有肿瘤的裸小鼠,而图B对应于来自Hep3B研究的具有肿瘤的裸小鼠。

[0018] 图6示出了CBL0137、索拉菲尼或CBL0137+索拉菲尼治疗对于具有HepG2或Hep3B肿瘤的裸小鼠的NF- κ B靶基因表达的影响。具体地,图A和B分别对应于用DMSO、CBL0137、索拉菲尼、CBL0137+索拉菲尼、DMSO+TNF、CBL0137+TNF、索拉菲尼+TNF或者CBL0137+索拉菲尼+TNF治疗后具有HepG2肿瘤的小鼠中IL-8和TNF的表达。图C和D分别对应于用DMSO、CBL0137、索拉菲尼、CBL0137+索拉菲尼、DMSO+TNF、CBL0137+TNF、索拉菲尼+TNF或者CBL0137+索拉菲尼+TNF治疗后具有Hep3B肿瘤的小鼠中IL-8和TNF的表达。

[0019] 图7示出了具有PDA肿瘤的SCID小鼠组的Kaplan-Meier存活曲线。具体地,图A示出了用(从左到右标记)媒介物(第一条线)或者CBL0137(第二条线)、吉西他滨(第七条线)或

CBL0137+吉西他滨(第十条线)的不同方案治疗的具有肿瘤的SCID小鼠(PDA#13756研究)的存活曲线。图B示出了用(从左到右标记)媒介物(第一条线)或者CBL0137(第二条线)、吉西他滨(第四条线)或CBL0137+吉西他滨(第九条线)的不同方案治疗的具有肿瘤的SCID小鼠的存活曲线。

[0020] 图8示出了具有H1975NSCLC肿瘤的裸小鼠组的Kaplan-Meier存活曲线。具体地,图A示出了用(从左到右标记)媒介物(第一条线)或者CBL0137(第二条线)、吉西他滨(第三条线)或CBL0137+吉西他滨(第四条线)的不同方案治疗的具有肿瘤的裸小鼠(H1975NSCLC研究1)的存活曲线。图B示出了用(从左到右标记)媒介物(第三条线)或者CBL0137(第六条线)、吉西他滨(第四条线)或CBL0137+吉西他滨(第五条线)的不同方案治疗的具有肿瘤的裸小鼠(H1975NSCLC研究2)的存活曲线。

[0021] 图9示出了具有PDA肿瘤的SCID小鼠组中肿瘤体积的平均倍数变化。具体地,图A示出了用(从左到右标记)媒介物(第一条线)或者CBL0137(第二条线)、吉西他滨(第三条线)或CBL0137+吉西他滨(第四条线)的不同方案治疗的具有肿瘤的SCID小鼠的肿瘤体积的平均倍数变化。图B示出了用(从左到右标记)媒介物(第一条线)或者CBL0137(第二条线)、吉西他滨(第三条线)或CBL0137+吉西他滨(第四条线)的不同方案治疗的具有肿瘤的SCID小鼠的肿瘤体积(PDA#13590研究)的平均倍数变化。EOT代表治疗结束。通过将每个个体肿瘤(每只小鼠2个肿瘤)在第X天的肿瘤体积归一化为第1天的肿瘤体积,然后对每个组所有肿瘤的归一化值取平均值来计算平均肿瘤生长倍数。对于每个组,给出了具有足够数目的测量值来代表所述组的时间点的数据(即,组中动物总数的 $\geq 50\%$ 的测量值,以防止数据偏差)。误差线表示平均值的标准误差。

[0022] 图10示出了具有H1975NSCLC肿瘤的裸小鼠组中肿瘤体积的平均倍数变化。具体地,图A示出了用媒介物或者CBL0137、吉西他滨或CBL0137+吉西他滨的不同方案治疗的具有肿瘤的裸小鼠的肿瘤体积的平均倍数变化。图B示出了用媒介物或者CBL0137、吉西他滨或CBL0137+吉西他滨治疗的不同方案治疗的具有肿瘤的裸小鼠的肿瘤体积(H1975NSCLC研究2)的平均倍数变化。EOT代表治疗结束。通过将每个个体肿瘤(每只小鼠2个肿瘤)在第X天的肿瘤体积归一化至第1天的肿瘤体积,然后对每个组所有肿瘤的归一化值取平均值来计算平均肿瘤生长倍数。对于每个组,给出了具有足够数目的测量值来代表所述组的时间点的数据(即,组中动物总数的 $\geq 50\%$ 的测量值,以防止数据偏差)。误差线表示平均值的标准误差。

[0023] 图11示出了体外MiaPaca2和BxPC3PDA以及H1975NSCLC和A549NSCLC细胞中CBL0137和吉西他滨活性相关标记的蛋白质印记分析。具体地,图A对应于MiaPaca2PDA,图B对应于BxPC3PDA,图C对应于H1975NSCLC,并且图D对应于A549NSCLC。

[0024] 图12示出了CBL0137 \pm 吉西他滨(或作为对照的DMSO)对体外PDA和NSCLC(H1975和A549)细胞系中CDA和dCK表达的影响。具体地,图A对应于H1975CDA,图B对应于H1975dCK,图C对应于A549CDA,图D对应于A549dCK,图E对应于MiaPaca2CDA,并且图F对应于MiaPaca2dCK。

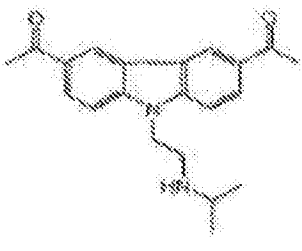
[0025] 发明详述

[0026] 本发明部分地基于以下发现:当与多种药剂,包括激酶抑制剂(例如,索拉菲尼)或核苷类似物化疗剂(例如,吉西他滨)组合使用时,CBL0137可具有协同效应,因而扩大了这

些治疗的效力治疗窗(包括允许施用亚治疗剂量)。因此,本发明提供了改善的癌症治疗方法。

[0027] 在一些方面,本发明提供了一种治疗癌症的方法,包括向用激酶抑制剂化疗剂进行治疗的受试者施用有效量的CBL0137。在一些方面,本发明提供了一种治疗癌症的方法,包括向有此需要的受试者相继地或同时地施用有效量的BL0137以及施用有效量的激酶抑制剂化疗剂。在其它方面,本发明提供了CBL0137和激酶抑制剂化疗剂的共制剂的组合物和抗癌用途。在另一些方面,提供了CBL0137和激酶抑制剂化疗剂,其用于治疗多种癌症,或者制造用于治疗多种癌症的药物。

[0028] CBL0137也称为Cuarxin-137,在国际专利公开号WO 2010/042445中进行了描述,其内容通过引用整体并入本文。CBL0137的结构表示如下:



[0029]

[0030] 在多个实施方案中,激酶抑制剂化疗剂抑制一种或多种酪氨酸蛋白激酶(例如,VEGFR、PDGFR)、Raf激酶(例如,C-Raf、B-Raf)和细胞内丝氨酸/苏氨酸激酶(例如,C-Raf、野生型B-Raf和突变B-Raf)。在多个实施方案中,激酶抑制剂化疗剂是抗血管生成的。在多个实施方案中,激酶抑制剂化疗剂选自BI-2356、舒尼替尼(Sutent)、PF-562271、AMG706、达沙替尼、索拉菲尼、GSK461364A、Bez-235和拉帕替尼(Lapatinib)(参见Nature Reviews Cancer 9,28-39(2009年1月),其内容通过引用并入本文)。在一个特定实施方案中,激酶抑制剂化疗剂是索拉菲尼(例如,NEXAVAR)。

[0031] 在多个实施方案中,当在用激酶抑制剂化疗剂(例如,索拉菲尼)进行治疗的患者使用或者当作为与激酶抑制剂化疗剂(例如,索拉菲尼)的共制剂或与其共施用(例如,相继地或同时地)时,CBL0137增大激酶抑制剂化疗剂(例如,索拉菲尼)和/或CBL0137的治疗窗。

[0032] 例如,这样的施用可允许施用亚治疗剂量的任何药剂,在多个实施方案中,CBL0137和/或激酶抑制剂化疗剂的亚治疗剂量小于约50%、或小于约60%、或小于约70%、或小于约80%、或小于约85%、或小于约90%的经批准标签剂量和/或最大耐受剂量(MTD)。在多个实施方案,亚治疗剂量的使用不会明显影响任何药剂或药剂组合的治疗益处的程度。例如,对于索拉菲尼,治疗可以包括每天两次400mg,并且在一些实施方案中,亚治疗剂量包括每天约400mg,或每天约480mg,或每天约560mg,或每天约640mg,或每天约680mg,或每天约720mg。本发明允许每天或每天两次施用。在一些实施方案中,本发明允许每天摄取全剂量并且避免每天两次施用的患者依从性问题。另外,一些患者由于副作用而需要索拉菲尼的剂量减少(例如,减少到每天一次400mg,减少到每隔一天400mg)。在一些实施方案中,本发明方法防止了这种剂量减少的需要。

[0033] 另外,在多个实施方案中,当在用激酶抑制剂化疗剂(例如,索拉菲尼)进行治疗的患者使用或者当作为激酶抑制剂化疗剂(例如,索拉菲尼)的共制剂或与其共施用(例如,相继地或同时地)时,CBL0137允许剂量减少,其相应提供了副作用的降低。例如,可

降低或消除索拉菲尼以下一种或多种副作用：淋巴细胞减少、低磷酸盐血症(hypophosphataemia)、出血、高血压、腹泻、皮疹、脱发、手足综合征、瘙痒、红斑、淀粉酶增加、脂肪酶增加、疲劳、疼痛、恶心、呕吐、白血球减少、中性白细胞减少、贫血、血小板减少、厌食、体重减轻、低血钙、低血钾、抑郁、外周感觉神经病、耳鸣、充血性心力衰竭、心肌梗死、心肌缺血、声音嘶哑、便秘、口腔炎、消化不良、吞咽困难、干性皮肤、剥脱性皮炎、痤疮、皮肤脱屑、关节痛、肌痛、肾衰竭、蛋白尿、勃起功能障碍、衰弱、发烧和流感样疾病。

[0034] 在多个实施方案中,CBL0137和/或激酶抑制剂化疗剂(例如,索拉菲尼)的增大的治疗窗包括以下的一种或多种:增加癌症患者接受CBL0137和/或激酶抑制剂化疗剂(例如,索拉菲尼)维持疗法的可能性;增加癌症患者接受CBL0137和/或激酶抑制剂化疗剂(例如,索拉菲尼)的完整方案的可能性;增加癌症患者接受超过CBL0137和/或激酶抑制剂化疗剂(例如,索拉菲尼)的完整方案的可能性;以及增加CBL0137和/或激酶抑制剂化疗剂(例如,索拉菲尼)治疗的剂量或长度。

[0035] 在多个实施方案中,CBL0137与激酶抑制剂化疗剂(例如,索拉菲尼)的组合产生了协同效应。在一些实施方案中,协同效应是肿瘤生长减缓效应,或者降低NF- κ B基因,或者降低或基本上完全消除TNF和IL-8中的一种或多种的表达。

[0036] 在一些实施方案中,本文所述的多种癌症(包括原发肿瘤或继发肿瘤)可用CBL0137单一疗法(包括但不限于在用另一药剂(例如,索拉菲尼)进行治疗的患者的情况下的单一疗法)或者用与激酶抑制剂化疗剂(例如,索拉菲尼)的组合疗法进行治疗。

[0037] 在一些实施方案中,癌症是肝癌。在一些实施方案中,肝癌是肝细胞癌(HCC)。

[0038] 在多个实施方案中,本文所述的肝癌是原发肝癌。在多个实施方案中,原发肝癌是肝细胞癌(HCC)、胆管癌、血管肉瘤和肝胚细胞瘤中的一种。在多个实施方案中,本发明包括与肝癌的以下一种或多种危险因素有关的原发肝癌的治疗:肝硬化、高酒精消耗(包括酗酒)、非酒精性脂肪肝病、肝炎病毒感染、吸烟、低免疫力、家族史、糖尿病、胆囊切除、X射线辐射或CT扫描、高体重、萎叶咀嚼物消耗和黄曲霉素消耗。

[0039] 在一些实施方案中,肝癌是继发肝癌。在多个实施方案中,继发肝癌起源于通常转移到肝脏的一种或多种原发癌症,包括例如结肠癌、肺癌、胃癌、胰腺癌、乳腺癌、胆道癌、食道癌、卵巢癌、前列腺癌、肾癌和黑色素瘤。

[0040] 在多个实施方案中,本文所述的肝癌具有一种或多种肝癌组织标记,其选自例如:GPC3;GPC3+热休克蛋白70+谷氨酰胺合成酶;端粒酶;增殖细胞核抗原标记指数;Ki-67;MIB-1E-钙粘蛋白和 β -连环蛋白。在多个实施方案中,本文所述的肝癌具有一种或多种肝癌血清标记,其选自例如:AFP;AFP-伴刀豆球蛋白A;AFP-LCA结合;等电聚焦中的HCC特异性AFP带(单唾液酸化AFP);AFP凝集素亲和亚组(LCA反应性LCA-L3;血球凝集性植物凝集素-E4反应性AFP-P4和P5);循环游离AFP-IgM复合物;维生素K缺乏产生的DCP/凝血素或拮抗II;GPC-3的可溶性NH2片段,硫酸肝素蛋白聚糖;高尔基体蛋白73;异- γ GTP;铁蛋白;变体碱性磷酸酶; α 1-抗胰蛋白酶; α 1-酸性糖蛋白;骨桥蛋白;醛缩酶A;5[引物]-核苷酸磷酸二酯酶;CK18、CK19、TPA、TPS;循环游离鳞状细胞癌抗原-IgM复合物; α -岩藻糖基转移酶; α -L-岩藻糖苷酶;转化生长因子 β 1;细胞间细胞粘附分子1;抗p53抗体;白细胞介素8;白细胞介素6;胰岛素样生长因子II;端粒酶或端粒酶逆转录酶mRNA;血管内皮生长因子;变体野生型雌激素受体;维生素B12-结合蛋白;神经降压素;游离核酸;循环无细胞血清DNA;后生异常,

例如p16超甲基化;和血浆蛋白酶体。

[0041] 在多个实施方案中,本文所述的肝癌具有一种或多种肝癌肿瘤细胞标记,其选自例如:通过AFP mRNA的RT-PCR检测的外周血中的循环肿瘤细胞。在多个实施方案中,本文所述的肝癌具有一种或多种肝癌遗传标记,其选自例如:血浆谷氨酸盐羧基-肽酶磷脂酶A2G13和G7以及其他cDNA微阵列得到的编码蛋白质;黑色素瘤抗原基因1、3;X染色体上的滑膜肉瘤1、3、4、5;肌质钙结合蛋白1;纽约食管鳞状细胞癌1;和循环甲基化DNA (ras结合结构域家族1A)。

[0042] 在一些实施方案中,肝癌表达甲胎蛋白。在一些实施方案中,限定了本发明的肝癌的标记的进一步细节存在于例如Sturgeon等, *Use of Tumor Markers in Liver, Bladder, Cervical, and Gastric Cancers* American Association for Clinical Chemistry, Inc. (2010) 中,其内容通过引用并入本文。

[0043] 在多个实施方案中,本文所述的肝癌被分类为局部可切除、局部不可切除、晚期和复发中的一种或多种。在多个实施方案中,本文所述的肝癌用AJCC (TNM) 阶段系统分类。使用罗马数字I至IV (1-4) 标记阶段。一些阶段进一步再分成A和B或甚至C。对于大多数,数字越小,癌症扩散得越少。更大的数字,例如阶段IV (4) 意味着更晚期的癌症。

[0044] 在多个实施方案中,CBL0137和/或激酶抑制剂化疗剂静脉内和/或经口施用。

[0045] 在一些方面,本发明提供了一种治疗癌症的方法,包括向用核苷类似物化疗剂进行治疗的受试者施用有效量的CBL0137。在一些方面,本发明提供了一种治疗癌症的方法,包括向有此需要的受试者相继地或同时地施用有效量的BL0137以及施用有效量的核苷类似物化疗剂。在其它方面,本发明提供了CBL0137和核苷类似物化疗剂的共制剂的组合物和抗癌用途。在另一些方面,提供了CBL0137和核苷类似物化疗剂,其用于治疗多种癌症,或者制造用于治疗多种癌症的药物。

[0046] 在多个实施方案中,核苷类似物化疗剂选自:吉西他滨、卡培他滨、5-氟尿嘧啶、5'-脱氧-5-氟鸟苷、BOF-A2、替加氟、UFT、S-1、阿糖胞苷 (cytarabine)、地西他滨 (decitabine)、克拉屈滨 (cladribine)、氯法拉宾 (clofarabine) 和氟达拉滨 (fludarabine)。在一个特定实施方案中,核苷类似物化疗剂是吉西他滨 (例如, GEMZAR)。

[0047] 在多个实施方案中,当在用核苷类似物化疗剂 (例如,吉西他滨) 进行治疗的患者使用或者当作为核苷类似物化疗剂 (例如,吉西他滨) 的共制剂或与其共施用 (例如,相继地或同时地) 时,CBL0137增大核苷类似物化疗剂 (例如,吉西他滨) 和/或CBL0137的治疗窗。例如,这样的施用可允许施用亚治疗剂量的任何药剂。在多个实施方案中,CBL0137和/或核苷类似物化疗剂 (例如,吉西他滨) 的亚治疗剂量小于约50%、或小于约60%、或小于约70%、或小于约80%、或小于约85%、或小于约90%的经批准标签剂量和/或最大耐受剂量 (MTD)。在多个实施方案中,亚治疗剂量的使用不会明显影响任何药剂或药剂组合的治疗益处的程度。例如,对于吉西他滨,治疗可以包括约1-1.2g/m²体表面积,和在一些实施方案中,亚治疗剂量包括约0.5-0.6g/m²、或约0.64-0.72g/m²、或约0.7-0.84g/m²、或约0.8-0.96g/m²、或约0.85-1.02g/m²或约0.9-1.08g/m²。

[0048] 另外,在多个实施方案中,当在用核苷类似物化疗剂 (例如,吉西他滨) 进行治疗的患者使用或者当作为核苷类似物化疗剂 (例如,吉西他滨) 的共制剂或与其共施用 (例如,相继地或同时地) 时,CBL0137允许剂量减少,其相应提供了副作用的降低。例如,可

降低或消除吉西他滨的以下一种或多种副作用：流感样症状（例如，肌肉疼痛、发烧、头痛、发冷和疲劳）、发烧（例如，第一次给药的6-12小时内）、疲劳、恶心、呕吐、食欲不振、皮疹、过敏反应、腹泻、衰弱、脱发、口疮、入睡困难和呼吸短促）。

[0049] 在多个实施方案中，CBL0137和/或核苷类似物化疗剂（例如，吉西他滨）的增大的治疗窗包括以下的一种或多种：增加癌症患者接受CBL0137和/或核苷类似物化疗剂（例如，吉西他滨）维持疗法的可能性；增加癌症患者接受CBL0137和/或核苷类似物化疗剂（例如，吉西他滨）的完整方案的可能性；增加癌症患者接受超过CBL0137和/或核苷类似物化疗剂（例如，吉西他滨）的完整方案的可能性；以及增加CBL0137和/或核苷类似物化疗剂（例如，吉西他滨）治疗的剂量或长度。

[0050] 例如，胰腺癌的常用吉西他滨方案是开始每周注射（例如，在30分钟的时期内IV）一次，长达7周，然后1周不治疗。之后，每周给药一次持续3周，然后停用1星期。通常使用约4个周期。

[0051] 在一些实施方案中，用于胰腺癌的辅助性化学治疗和化学放射治疗的治疗推荐是每周经过30分钟IV 1000mg/m²吉西他滨，持续3周，或者在吉西他滨1-2周之后开始同时的化学放射治疗：辐射期间通过泵持续IV输注5-氟尿嘧啶（FU）250mg/m²/天，或者放射治疗1.8Gy/天至总共50.4Gy；然后在化学放射治疗3-5周之后：每周经过30分钟IV吉西他滨1000mg/m²；每28天，3个周期。以上方案之前可以是卡培他滨800-900mg/m²PO BID加辐射5-6周。

[0052] 在一些实施方案中，用于局部晚期不可切除疾病的治疗推荐是新辅助治疗：每周经过30分钟IV吉西他滨1000mg/m²，持续3周；每28天和/或在第1-3天和29-31天5-FU 500mg/m²/天IV浓注（bolus），并且同时放射治疗40Gy。

[0053] 在一些实施方案中，用于转移性疾病的治疗推荐为：在每28天的周期的第1、8和15天，经30-40分钟紫杉醇蛋白质结合125mg/m²加IV吉西他滨1000mg/m²，或者每周经30分钟IV吉西他滨1000mg/m²，持续7周，然后停用1周，然后每周一次持续3周；每28天，或者在第1和15天经30分钟IV吉西他滨1000mg/m²，加上在第1和15天经1小时IV顺铂50mg/m²；每28天，或者每周IV吉西他滨1000mg/m²持续7周，加上在第1-56天每天埃罗替尼100mgPO，然后停用1周；然后每28天在第1、8和15天IV吉西他滨1000mg/m²，加上在第1-28天每天埃罗替尼100mgPO，直至4个周期，或者每周IV吉西他滨1000mg/m²，持续3周；每28天；加上每周卡培他滨1660mg/m²/天，持续3周；每28天。

[0054] 本发明方法可打开治疗窗，使得可以完成全部方案，或者增加剂量，缩短或消除不治疗的时期，或者减少或增加周期数。另外，CBL0137可补充或代替本文所述的方案中的任何药剂。

[0055] 对于肺癌，常用的吉西他滨方案是注射（例如，在30分钟的时期IV）3周，停用1周。非小细胞肺癌的I阶段或II阶段（目标是完成4个周期）的辅助化学治疗的可接受化疗方案是每21天，在第1天IV顺铂75mg/m²，加上在第1和8天吉西他滨1250mg/m²。此外，可使用奥沙利铂和吉西他滨（Gem/Ox）。

[0056] 本发明方法可打开治疗窗，使得可以完成全部方案，或者增加剂量，缩短或消除不治疗的时期，或者减少或增加周期数。另外，CBL0137可补充或代替本文所述的方案中的任何药剂。

[0057] 在多个实施方案中,CBL0137和核苷类似物化疗剂的组合产生了协同效应。在一些实施方案中,效应是协同的肿瘤生长减缓效应。在一些实施方案中(例如,在胰腺癌或肺癌的治疗中),CBL0137导致控制吉西他滨敏感性/抗性的基因减少,例如,胞苷脱氨酶和核糖核苷酸还原酶亚基中的一种或多种减少。

[0058] 在一些实施方案中,如本文所述的各种癌症(包括原发肿瘤或继发肿瘤)可用CBL0137单一疗法(包括但不限于在用另一药剂(例如,吉西他滨)进行治疗的患者的情况下的单一疗法)或者与核苷类似物化疗剂(例如,吉西他滨)的组合疗法治疗。

[0059] 在一些实施方案中,癌症是胰腺癌。在一些实施方案中,胰腺癌是胰腺导管腺癌(PDAC)。

[0060] 在一些实施方案中,胰腺癌是外分泌胰腺癌。例如,癌症可以是导管腺癌并且任选地可以通过显微镜检查时中等至低分化腺结构表征。癌症的病因可以是例如以下中的一种或多种:KRAS突变、CDKN2A突变/缺失、TP53突变、SMAD4缺失/突变和SWI/SNF突变/缺失。癌症可以包括一种或多种癌前病变(例如,胰腺上皮内瘤样病变、导管内乳头状粘液赘生物和黏蛋白囊肿赘生物)。外分泌胰腺癌还可以是粘液性、腺鳞状癌、印戒细胞癌、肝样癌、胶质癌、未分化癌和具有破骨细胞样巨细胞的未分化癌。

[0061] 另外,本发明提供用于胰腺囊性赘生物和胰腺神经内分泌瘤(例如,胰腺内分泌肿瘤(PET)和胰腺神经内分泌肿瘤(PNET))和胰腺神经内分泌癌(PNEC)。

[0062] 在一些实施方案中,癌症是肺癌。在一些实施方案中,肺癌是非小细胞肺癌。

[0063] 根据肿瘤的微观外貌,肺癌大致分为两种类型:小细胞肺癌(SCLC)和非小细胞肺癌(NSCLC)。SCLC是侵袭性的,生长迅速并且与吸烟强烈相关。SCLC迅速转移到体内的许多部位,并且通常是在其已经广泛扩散之后发现。NSCLC是最常见的肺癌,并且具有通过肿瘤中存在的细胞类型命名的三种主要类型:腺癌、鳞状细胞癌和大细胞癌。还提供了支气管类癌。

[0064] 在多个实施方案中,CBL0137和/或核苷类似物化疗剂静脉内和/或经口施用。

[0065] 在多个实施方案中,本发明药剂可用作辅助治疗。辅助治疗是除主治疗或主要治疗之外给予的治疗。在多个实施方案中,患者进行一种或多种主治疗或主要治疗。CBL0137(和/或另外药剂,例如激酶抑制剂化疗剂(例如,索拉菲尼)和/或核苷类似物化疗剂(例如,吉西他滨))可结合主治疗或主要治疗施用。例如,CBL0137(和/或另外药剂,例如激酶抑制剂化疗剂(例如,索拉菲尼)和/或核苷类似物化疗剂(例如,吉西他滨))可以辅助原发肿瘤的切除。

[0066] 另外,在多个实施方案中,本发明药剂可用作新辅助治疗。新辅助治疗是指在主治疗或主要治疗之前给予的治疗,通常为患者进行主治疗或主要治疗做准备。例如,在一些实施方案中,本发明药剂的治疗可以减轻疾病的严重程度并且使得其可更适于主治疗或主要治疗。在一个特定实施方案中,CBL0137(和/或另外药剂,例如激酶抑制剂化疗剂(例如,索拉菲尼)和/或核苷类似物化疗剂(例如,吉西他滨))用于治疗患者以允许随后切除(例如,手术切除)。

[0067] 在多个实施方案中,提供了另外的组合药剂,包括但不限于:烷基化剂,例如塞替派和CYTOXAN环磷酰胺;烷基磺酸酯,例如白消安、英丙舒凡和哌泊舒凡;氮丙啶类,例如苯佐替派(benzodopa)、卡波醌、美妥替哌(meturedopa)和乌瑞替派(uredopa);乙撑亚胺类和

甲基蜜胺类,包括六甲蜜胺(altretamine)、三亚乙基蜜胺、三亚乙基磷酰胺、三亚乙基硫代磷酰胺(triethylenethiophosphoramidate)和三羟甲蜜胺(trimethylolomelamine);乙酸原类(acetogenins)(例如,布拉他辛(bullatacin)和布拉他辛酮);喜树碱(包括合成类似物拓扑替康);苔藓抑素;海绵多烯酮类化合物(callystatin);CC-1065(包括其阿多来新、卡折来新和比折来新合成类似物);隐藻素(例如,隐藻素1和隐藻素8);多拉司他汀(dolastatin);多卡霉素(duocarmycin)(包括合成性类似物KW-2189和CB1-TM1);艾榴素(eleutherobin);水鬼蕉碱(pancratistatin);匍枝珊瑚醇A(sarcodictyin);海绵素(spongistatin);氮芥类,例如苯丁酸氮芥、萘氮芥、cholophosphamide、雌莫司汀、异环磷酰胺、氮芥、盐酸氧氮芥、美法仑、新氮芥、苯芥胆甾醇、泼尼莫司汀、曲磷胺、尿嘧啶氮芥;亚硝基脲类,例如卡莫司汀、氯脲菌素、福莫司汀、洛莫司汀、尼莫司汀和雷莫司汀;抗生素,例如烯二炔类抗生素(例如,刺孢霉素,尤其是刺孢霉素 λ 11和刺孢霉素 Ω 11(参见,例如Agnew,Chem.Intl.Ed.Engl.,33:183-186(1994)));达内霉素(dynemicin),包括达内霉素A;二膦酸盐类,例如氯膦酸盐;埃斯波霉素(esperamicin);以及新制癌菌素发色团和相关的色蛋白烯二炔抗生素发色团)、阿克拉霉素(aclacinomysins)、放线菌素、安曲霉素(anthracycline)、偶氮丝氨酸、博来霉素、放线菌素C、卡柔比星(carubicin)、去甲柔红霉素(caminomycin)、嗜癌霉素(carzinophilin)、色霉素(chromomycin)、放线菌素D、多柔比星、地托比星、6-重氨基-5-氧代-L-正亮氨酸、阿霉素多柔比星(包括吗啉基-多柔比星、氰基吗啉-多柔比星、2-吡咯啉-多柔比星和去氧多柔比星)、表柔比星、依索比星、伊达比星、马塞罗霉素、丝裂霉素类如丝裂霉素C、霉酚酸、诺加霉素、橄榄霉素、培洛霉素、泊非霉素(potfiromycin)、嘌呤霉素、三铁阿霉素、罗多比星、链黑霉素、链佐星、杀结核菌素、乌苯美司、净司他汀、佐柔比星;抗代谢物,例如甲氨蝶呤和5-氟尿嘧啶(5-FU);叶酸类似物,例如二甲叶酸、甲氨蝶呤、蝶罗呤和曲美沙特;嘌呤类似物,例如氟达拉滨、6-巯基嘌呤、硫鸟嘌呤、硫鸟嘌呤;嘧啶类似物,例如安西他滨、阿扎胞苷、6-氮杂尿苷、卡莫氟、阿糖胞苷、双脱氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他滨、氟尿苷;雄激素类,例如卡鲁睾酮、丙酸屈他雄酮、环硫雄醇、美雄烷、睾内酯;抗肾上腺药,例如氨鲁米特、米托坦、曲洛司坦;叶酸补充剂,例如亚叶酸;醋葡萄糖内酯;醛磷酰胺糖苷;氨基乙酰丙酸;嗯尿嘧啶;安吡啶;bestrabucil;比生群;依达曲沙;秋水仙胺;地吡啶;依氟鸟氨酸;依利醋铵;埃坡霉素;依托格鲁;硝酸镓;羟脲;香菇多糖;氯尼达明;美登素类化合物,例如美登素和安丝菌素;米托胍脲;米托蒽醌;莫派达醇;尼曲吡啶(nitraerine);喷司他丁;蛋氨酸(phenamet);吡柔比星;洛索蒽醌;鬼臼酸;2-乙基胍;丙卡巴胍;PSK多糖复合物(JHS Natural Products,Eugene,Oreg);丙亚胺;利索新;西佐喃;锗螺胺;细交链孢菌酮酸;三亚胺脲;2,2',2''-三氯三乙胺;单端孢霉烯族化合物(例如,T-2毒素、疣孢菌素A(verracurin A)、杆孢菌素A和蛇形菌素);乌拉坦;长春地辛;达卡巴嗪;甘露莫司汀;二溴甘露醇;二溴卫矛醇;哌泊溴烷;gacytosine;阿糖胞苷("Ara-C");环磷酰胺;塞替派;紫杉烷类化合物,例如,TAXOL紫杉醇(Bristol-Myers Squibb Oncology,Princeton,N.J.)、ABRAXANETM紫杉醇的无乳浮、白蛋白工程化纳米粒子制剂(American Pharmaceutical Partners,Schaumburg,111.)和TAXOTERE紫杉醇(doxetaxel)(Rhone-Poulenc Rorer,Antony,France);苯丁酸氮芥;吉西他滨;6-巯鸟嘌呤;巯基嘌呤;甲氨蝶呤;铂类似物,例如顺铂、奥沙利铂和卡铂;长春碱;铂;依托泊苷(VP-16);异环磷酰胺;米托蒽醌;长春新碱;NAVELBINE长春瑞滨;诺安托;替尼泊苷;依达曲沙;道诺霉素;氨基

蝶呤;希罗达;伊班膦酸盐;伊立替康(Camptosar,CPT-11)(包括用5-FU和甲酰四氢叶酸的伊立替康治疗方案);拓扑异构酶抑制剂RFS 2000;二氟甲基鸟氨酸(DMFO);维甲类,例如维甲酸;卡培他滨;康普瑞塔卡汀(combretastatin);甲酰四氢叶酸(LV);奥沙利铂,包括奥沙利铂治疗方案(FOLFOX);拉帕替尼(Tykerb);降低细胞增殖的PKC- α 、Raf、H-Ras、EGFR(例如,埃罗替尼(Tarceva))和VEGF-A的抑制剂,以及任意上述药物的药学上可接受的盐、酸或衍生物。此外,治疗方法还可包括使用辐射。此外,治疗方法还可包括使用光动力疗法。

[0068] 如上所述,在多个实施方案中,本发明涉及癌症和/或肿瘤,例如,癌症和/或肿瘤的治疗或预防。本文使用的“癌症”或“肿瘤”是指干扰身体器官或系统的正常功能的不受控制的细胞生长和/或异常提高的细胞存活和/或凋亡抑制。包括良性和恶性癌症、息肉、增生以及休眠肿瘤或微小转移。还包括具有不受免疫系统阻止的异常增殖的细胞(例如,病毒感染的细胞)。患有癌症或肿瘤的受试者是具有存在所述受试者体内的客观上可测量的癌细胞的受试者。从其原始位置迁移并且植入关键器官的癌症可最终通过受影响器官的功能退化导致受试者死亡。造血癌症如白血病能够竞争胜过受试者中的正常造血车间(hematopoietic compartment),从而引起造血障碍(以贫血、血小板减少和中性粒细胞减少的形式),最终造成死亡。

[0069] 癌症可以是原发癌或转移癌。原发癌可以是变得临床上可检测的原始部位的癌细胞区域,并且可以是原发肿瘤。相比之下,转移癌可以是疾病从一个器官或部分转移到非临近的器官或部分。转移癌可以由获得渗透或浸润局部区域的周围正常组织,形成新肿瘤的能力的癌细胞引起,其可以是局部转移。“转移”是指癌症从体内原始部位扩散到其他位置。癌细胞可以脱离原发肿瘤,透入淋巴管和血管,通过血液循环,并且在体内其他位置的正常组织中远端病灶中(转移)生长。转移可以是局部转移或远距离转移。转移是顺序过程,肿瘤细胞视情况脱离原发肿瘤,通过血液游走,并且在远距离部位停止。在新部位,细胞建立血液供应并且可以生长以形成威胁生命的团块。刺激和抑制肿瘤细胞内的分子途径二者均可以调节这种行为,并且肿瘤细胞与远距离部位的宿主细胞之间的相互作用也很重要。可通过单独使用或组合使用核磁共振成像(MRI)扫描、计算机断层(CT)扫描、血液和血小板计数、肝功能研究、胸部X射线和骨扫描以及特定症状的监测来检测转移。

[0070] 癌症也可由获得渗透淋巴管和/或血管壁的能力的癌细胞引起,之后癌细胞能够通过血液循环(因此是循环肿瘤细胞)到体内的其他部位或组织。癌症可起因于诸如淋巴或造血扩散的过程。癌症可由在另一部位停止,再渗透穿过血管或壁,继续繁殖并最终形成另一临床可检测肿瘤的肿瘤细胞引起。癌症可以是这种新肿瘤,其可以是转移(或继发)肿瘤。

[0071] 癌症可由转移的肿瘤细胞引起,所述肿瘤细胞可以是继发肿瘤或转移肿瘤。肿瘤细胞可类似于原始肿瘤中的那些。例如,如果乳腺癌或结肠癌转移到肝脏,则存在于肝脏中的继发肿瘤由异常乳腺细胞或结肠细胞组成,而不是异常肝细胞。因此,肝脏中的肿瘤可以是转移性乳腺癌或转移性结肠癌,而不是肝癌。

[0072] 癌症可来源于任何组织。癌症可来源于黑色素瘤、结肠、乳腺或前列腺,因此分别可由最初的皮肤、结肠、乳腺或前列腺的细胞组成。癌症也可以是恶性血液病,其可以是淋巴瘤。

[0073] 本发明的代表性癌症和/或肿瘤包括但不限于:基底细胞癌;胆道癌;膀胱癌;骨癌;脑和中枢神经系统癌症;乳腺癌;腹膜癌症;子宫颈癌;绒毛膜癌;结肠直肠癌;结缔组织

癌;消化系统癌症;子宫内膜癌;食道癌;眼癌;头颈癌;胃癌(包括胃肠癌);成胶质细胞瘤;肝癌;肝细胞瘤;上皮内肿瘤;肾脏或肾癌;喉癌;白血病;肺癌;肺癌(例如,小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌和肺鳞状细胞癌);黑色素瘤;骨髓瘤;成神经细胞瘤;口腔癌(唇、舌、口和咽);卵巢癌;胰腺癌;前列腺癌;成视网膜细胞瘤;横纹肌肉瘤;直肠癌;呼吸系统癌症;唾液腺癌;肉瘤;皮肤癌;鳞状细胞癌;胃癌;睾丸癌;甲状腺癌;子宫或子宫内膜癌;泌尿系统癌症;外阴癌;淋巴瘤,包括霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤,以及B细胞淋巴瘤(包括低级/滤泡性非霍奇金淋巴瘤(NHL);小淋巴细胞(SL)NHL;中级/滤泡性NHL;中级扩散性NHL;高级成免疫细胞NHL;高级成淋巴细胞NHL;高级小非核裂细胞NHL;大体积疾病NHL;套细胞淋巴瘤;AIDS相关淋巴瘤;以及华氏巨球蛋白血症(Waldenstrom's Macroglobulinemia);慢性淋巴细胞白血病(CLL);急性淋巴细胞白血病(ALL);毛细胞白血病;慢性骨髓细胞白血病;以及其他癌和肉瘤;以及移植后淋巴增生性疾病(PTLD),以及与癍痣病相关的异常血管增生,水肿(例如,与脑肿瘤相关),和Meigs综合征。

[0074] 在一些实施方案中,本文所述的CBL0137(和/或另外药剂,例如激酶抑制剂化疗剂(例如索拉菲尼)和/或核苷类似物化疗剂(例如吉西他滨))包括经修饰的衍生物,即,通过将任何类型的分子共价连接在组合物上以使得共价连接不妨碍组合物的活性。例如但并不限制,衍生物包括尤其通过以下修饰的组合物:糖基化、脂化、乙酰化、聚乙二醇化、磷酸化、酰胺化、通过已知保护/阻断基团的衍生化、蛋白质水解裂解、连接至细胞配体或其他蛋白质等。可通过已知技术进行任何数目的化学修饰,包括但不限于特异性化学裂解、乙酰化、甲酰化、衣霉素(turicamycin)的代谢合成等。另外,衍生物可包含一种或多种非经典氨基酸。

[0075] 在另一些实施方案中,本文所述的CBL0137(和/或另外药剂,例如激酶抑制剂化疗剂(例如索拉菲尼)和/或核苷类似物化疗剂(例如吉西他滨))可以经修饰以添加效应子部分如化学接头,可检测部分如荧光染料、酶、底物、生物发光材料、放射性物质和化学发光部分,或功能部分如链霉亲和素、抗生物素蛋白、生物素、细胞毒素、细胞毒性剂和放射性物质。

[0076] 本文所述的CBL0137(和/或另外药剂,例如激酶抑制剂化疗剂(例如索拉菲尼)和/或核苷类似物化疗剂(例如吉西他滨))可具有充足的可与无机或有机酸反应的碱性官能团,或者可与无机或有机碱反应的羧基,以形成药学上可接受的盐。如本领域中已知的,药学上可接受的酸加成盐由药学上可接受的酸形成。这样的盐包括例如以下中所列举的药学上可接受的盐:Journal of Pharmaceutical Science,66,2-19(1977)和The Handbook of Pharmaceutical Salts;Properties,Selection,and Use.P.H.Stahl和C.G.Wermuth(编辑),Verlag,Zurich(Switzerland)2002,其通过引用整体并入本文。

[0077] 药学上可接受的盐包括但不限于例如硫酸盐、柠檬酸盐、乙酸盐、草酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、硝酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、酸性磷酸盐、异烟酸盐、乳酸盐、水杨酸盐、酸性柠檬酸盐、酒石酸盐、油酸盐、单宁酸盐、泛酸盐、酒石酸氢盐、抗坏血酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、龙胆酸盐、富马酸盐、葡萄糖酸盐、葡萄糖醛酸盐(glucuronate)、蔗糖盐、甲酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐、樟脑磺酸盐、双羟萘酸盐、苯乙酸盐、三氟乙酸盐、丙烯酸盐、氯苯甲酸盐、二硝基苯甲酸盐、羟基苯甲酸盐、甲氧基苯甲酸盐、甲基苯甲酸盐、邻乙酰氧基苯甲酸盐、萘-2-苯甲酸盐、异丁酸盐、苯基丁酸盐、 α -

羟基丁酸盐、丁炔-1,4-二羧酸盐、己炔-1,4-二羧酸盐、癸酸盐、辛酸盐、肉桂酸盐、乙醇酸盐、庚酸盐、马尿酸盐、苹果酸盐、羟基马来酸盐、丙二酸盐、扁桃酸盐、甲磺酸盐、烟酸盐、邻苯二甲酸盐、对苯二甲酸盐、丙炔酸盐、丙酸盐、苯基丙酸盐、癸二酸盐、辛二酸盐、对溴苯磺酸盐、氯苯磺酸盐、乙磺酸盐、2-羟基乙磺酸盐、甲磺酸盐、萘-1-磺酸盐、萘-2-磺酸盐、萘-1,5-磺酸盐、二甲苯磺酸盐和酒石酸盐。

[0078] 术语“药学上可接受的盐”还指本发明组合物具有酸性官能团(例如,羧酸官能团)和碱的盐。合适的碱包括但不限于碱金属如钠、钾和锂的氢氧化物;碱土金属如钙和镁的氢氧化物;其他金属如铝和锌的氢氧化物;氨和有机胺,例如未经取代的或羟基取代的单一、二-或三-烷基胺,二环己胺;三丁基胺;吡啶;N-甲胺N-乙胺;二乙胺;三乙胺;单一、双-或三-(2-OH-低级烷基胺),例如单一、双-或三-(2-羟乙基)胺,2-羟基-叔丁胺或三-(羟甲基)胺、N,N-二-低级烷基-N-(羟基-地烷基)-胺,例如N,N-二甲基-N-(2-羟乙基)胺或三-(2-羟乙基)胺;N-甲基-D-葡糖胺;以及氨基酸,例如精氨酸、赖氨酸等。

[0079] 在一些实施方案中,本文所述的组合物是药学上可接受的盐的形式。

[0080] 另外,本文所述的任何CBL0137(和/或另外药剂,例如激酶抑制剂化疗剂(例如索拉菲尼)和/或核苷类似物化疗剂(例如吉西他滨))可作为包含药学上可接受的载体或媒介物的组合物的组分向受试者施用。这样的组合物可任选地包含适量的药学上可接受的赋形剂以提供用于适当施用的形式。

[0081] 药物赋形剂可以是液体,例如水和油,包括石油、动物、植物或合成来源的那些,例如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。药物赋形剂可以是例如盐水、阿拉伯树胶、明胶、淀粉糊、滑石、角蛋白、硅胶、尿素等。另外,可使用助剂、稳定剂、增稠剂、润滑剂和着色剂。在一个实施方案中,药学上可接受的赋形剂在向受试者施用时可以是无菌的。当本文所述的任何药剂静脉内施用,水是有用的赋形剂。盐水溶液以及葡萄糖和甘油水溶液也可用作液体赋形剂,尤其是用于可注射的溶液。合适的药物赋形剂还包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、大米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、脱脂乳粉、甘油、丙烯、二醇、水、乙醇等。本文所述的任何药剂必要时还可包含少量润湿剂或乳化剂,或者pH缓冲剂。

[0082] 本发明包括本文所述的CBL0137(和/或另外药剂,例如激酶抑制剂化疗剂(例如索拉菲尼)和/或核苷类似物化疗剂(例如吉西他滨)),其可采用溶液、混悬液、乳剂、滴剂、片剂、药丸、丸剂、胶囊、含液体的胶囊、散剂、缓释制剂、栓剂、乳剂、气雾剂、喷雾剂、混悬液或任何其他适于使用的形式。在一个实施方案中,组合物为胶囊的形式(参见,例如,美国专利No.5,698,155)。合适的药物赋形剂的其他实例描述在Remington's Pharmaceutical Sciences 1447-1676(Alfonso R.Gennaro编辑.,第19版,1995)中,其通过引用并入本文。

[0083] 需要时,CBL0137(和/或另外药剂,例如激酶抑制剂化疗剂(例如索拉菲尼)和/或核苷类似物化疗剂(例如吉西他滨))还可包括增溶剂。另外,如本领域中已知的,药剂可以用合适的媒介物或递送装置递送。本文概括的组合疗法可在单个递送媒介物或递送装置中共递送。用于施用的组合物可任选地包含局部麻醉剂(例如,利多卡因)以减轻注射部位的疼痛。

[0084] 本发明的包含CBL0137(和/或另外药剂,例如激酶抑制剂化疗剂(例如索拉菲尼)和/或核苷类似物化疗剂(例如吉西他滨))的制剂可方便地以单位剂型存在,并且可以通过

制药领域任何周知的方法制备。这样的方法一般包括使治疗剂与构成一种或多种辅助成分的载体结合在一起的步骤。通常,制剂如下制备:使治疗剂与液体载体、精细的固体载体或其二者均匀并且紧密结合,然后如果必要的话使产品成型为所需的制剂剂型(例如,湿法或干法制粒、粉末共混等,然后使用本领域中已知的常规方法制锭)。

[0085] 在一个实施方案中,本文所述的任何CBL0137(和/或另外药剂,例如激酶抑制剂化疗剂(例如索拉菲尼)和/或核苷类似物化疗剂(例如吉西他滨))可以根据常规程序配制成适合于本文所述施用方式的组合物。

[0086] 施用途途径包括例如:真皮内、肌肉内、腹膜内、静脉内、皮下、鼻内、硬膜外、经口、舌下、鼻内、脑内、阴道内、透皮、直肠内、通过吸入或局部,特别是耳、鼻、眼或皮肤局部。在一些实施方案中,经口或通过胃肠外注射来进行施用。施用方式可以由医生决定,并且部分地取决于医学病症的部位。在大部分情况下,施用导致本文所述的任何药剂释放到血流中。

[0087] 本文所述的CBL0137(和/或另外药剂,例如激酶抑制剂化疗剂(例如索拉菲尼)和/或核苷类似物化疗剂(例如吉西他滨))可以经口施用。这样的CBL0137(和/或另外药剂,例如激酶抑制剂化疗剂(例如索拉菲尼)和/或核苷类似物化疗剂(例如吉西他滨))也可以通过任何其他便利的途径施用,例如,通过静脉内输注或快速浓注,通过透上皮或粘膜衬里(例如,口腔粘膜、直肠粘膜和肠粘膜等)的吸收,并且可以与另外的生物活性剂一起施用。施用可以是全身的或局部的。多种递送系统如封装在脂质体、微粒、微胶囊、胶囊等是已知的并且可用于施用。

[0088] 在一些特定实施方案中,可能希望向需要治疗的区域局部施用。

[0089] 在一个实施方案中,本文所述的CBL0137(和/或另外药剂,例如激酶抑制剂化疗剂(例如索拉菲尼)和/或核苷类似物化疗剂(例如吉西他滨))根据常规程序配制成适于向人经口施用的组合物。用于经口递送的组合物可以是例如片剂、锭剂、水或油性混悬液、颗粒剂、散剂、乳剂、胶囊、糖浆剂或酞剂的形式。经口施用的组合物可包含一种或多种试剂(例如,甜味剂如果糖、阿斯巴甜或糖精,矫味剂如薄荷、冬青油或樱桃,着色剂;和防腐剂以提供药学上可接受的制剂。另外,在片剂或药丸形式中,组合物可具有包衣以延迟在胃肠道中的崩解和吸收,从而在延长的时期中提供持续作用。包裹渗透活性驱动的本文所述CBL0137(和/或另外药剂,例如激酶抑制剂化疗剂(例如索拉菲尼)和/或核苷类似物化疗剂(例如吉西他滨))的选择性可渗透膜也适于经口施用的组合物。在这些后面的平台中,来自胶囊周围环境的流体被驱动化合物吸收,其膨胀以通过小孔置换药剂或药剂组合物。与立即释放制剂的尖形曲线相比,这些递送平台可提供基本零阶的递送曲线。延时材料如单硬脂酸甘油酯或硬脂酸甘油酯也可能有用。经口组合物可包含标准赋形剂,例如甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素和碳酸镁。在一个实施方案中,赋形剂是药用级。除了活性化合物以外,混悬液可包含助悬剂,例如乙氧基化异硬脂醇、聚氧乙烯山梨醇和脱水山梨醇酯、微晶纤维素、氢氧化铝、膨润土、琼脂、黄芪胶等及其混合物。

[0090] 适于胃肠外施用(例如,静脉内、肌肉内、腹膜内、皮下和关节内注射和输注)的剂型包括例如溶液、混悬液、分散剂、乳剂等。其也可以制备成无菌固体组合物(例如,冻干组合物)的形式,所述组合物可以在临时用前溶解或悬浮在无菌可注射介质中。其可包含例如本领域中已知的混悬剂或分散剂。

[0091] 本文所述的CBL0137(和/或另外药剂,例如激酶抑制剂化疗剂(例如索拉菲尼)和/

或核苷类似物化疗剂(例如吉西他滨))的剂量和给药方案可取决于多种参数,包括但不限于被治疗疾病、受试者的总体健康和施用医生的判断。本文所述的任何药剂可以在向有此需要的受试者施用另一治疗剂之前(例如,5分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周或12周之前)、同时或之后(例如,5分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周或12周之后)施用。在多个实施方案中,本文所述的任何药剂如下施用:1分钟间隔、10分钟间隔、30分钟间隔、小于1小时间隔、1小时间隔、1小时至2小时间隔、2小时至3小时间隔、3小时至4小时间隔、4小时至5小时间隔、5小时至6小时间隔、6小时至7小时间隔、7小时至8小时间隔、8小时至9小时间隔、9小时至10小时间隔、10小时至11小时间隔、11小时至12小时间隔、不超过24小时间隔或不超过48小时间隔。

[0092] 与载体材料混合以产生单剂量的本文所述CBL0137(和/或另外药剂,例如激酶抑制剂化疗剂(例如索拉菲尼)和/或核苷类似物化疗剂(例如吉西他滨))的量可根据待治疗受试者和具体施用方式变化。体外或体内测定可用于帮助决定最佳剂量范围。

[0093] 一般地,可用的剂量是本领域技术人员已知的。例如,可以参考Physicians' Desk Reference,第66版,PDR Network;2012版(2011年12月27日)确定剂量,所述文献通过引用整体并入本文。在一些实施方案中,本发明允许患者接受超过参考Physicians' Desk Reference确定的剂量,或低于批准的标签量或MTD。

[0094] 本文所述CBL0137(和/或另外药剂,例如激酶抑制剂化疗剂(例如索拉菲尼)和/或核苷类似物化疗剂(例如吉西他滨))的剂量可取决于多种因素,包括病症的严重程度,是治疗病症还是预防病症,以及待治疗受试者的年龄、体重和健康。此外,特定受试者的药物基因组学(基因型对治疗的药代动力学、药效学或效力曲线的影响)信息可影响使用的剂量。此外,可稍微根据多种因素调节精确的个体剂量,所述因素包括所施用药剂的特定组合、施用时间、施用途径、制剂性质、排泄率、被治疗的特定疾病、疾病的严重程度和疾病的解剖学位置。可预期剂量的一些变化。

[0095] 在一些实施方案中,当向哺乳动物经口施用时,本文所述CBL0137(和/或另外药剂,例如激酶抑制剂化疗剂(例如索拉菲尼)和/或核苷类似物化疗剂(例如吉西他滨))的剂量可以为0.001mg/kg/天至100mg/kg/天,0.01mg/kg/天至50mg/kg/天,或0.1mg/kg/天至10mg/kg/天。当向人经口施用时,本文所述任何药剂的剂量通常为每天0.001mg至1000mg,每天1mg至600mg,或每天5mg至30mg。

[0096] 在一些实施方案中,对于通过胃肠外注射施用本文所述CBL0137(和/或另外药剂,例如激酶抑制剂化疗剂(例如索拉菲尼)和/或核苷类似物化疗剂(例如吉西他滨)),剂量可以是每天0.1mg至250mg,每天1mg至20mg,或每天3mg至5mg。每天可以注射至多四次。一般地,当经口或胃肠外施用时,本文所述任何药剂的剂量通常为每天0.1mg至1500mg,或每天0.5mg至10mg,或每天0.5mg至5mg。每天可以施用至多3000mg的剂量。

[0097] 在另一个实施方案中,递送可以在囊泡中,特别是在脂质体中(参见Langer,1990,Science 249:1527-1533;Treat等,in Liposomes in theTherapy of Infectious Disease and Cancer,Lopez-Berestein和Fidler(编辑),Liss,New York,第353-365页(1989))。

[0098] CBL0137 (和/或另外药剂,例如激酶抑制剂化疗剂(例如索拉菲尼)和/或核苷类似物化疗剂(例如吉西他滨))可通过控释或缓释方式施用,或通过本领域技术人员周知的递送装置施用。实例包括但不限于美国专利No.3,845,770、3,916,899、3,536,809、3,598,123、4,008,719、5,674,533、5,059,595、5,591,767、5,120,548、5,073,543、5,639,476、5,354,556和5,733,556中描述的那些,其各自通过引用整体并入本文。这样的剂型可用于使用例如以下材料提供一种或多种活性成分的控释或缓释以便以不同的比例提供期望的释放特性:羟丙基甲基纤维素、其他聚合物基体、凝胶、可渗透膜、渗透系统、多层包衣、微颗粒、脂质体、微球或其组合。本领域技术人员已知的合适的控释或缓释剂型(包括本文所述那些)可容易选择用于本文所述药剂的活性成分。因此,本发明提供了适于经口施用的单一单位剂型,例如但不限于适于控释或缓释的片剂、胶囊、软胶囊和囊片剂。

[0099] 活性成分的控释或缓释可通过多种条件刺激,包括但不限于pH的变化、温度的变化、通过适当波长的光刺激、酶的浓度或可用性、水的浓度或可用性、或者其他生理条件或化合物。

[0100] 在另一个实施方案中,可使用聚合物材料(参见Medical Applications of Controlled Release,Langer和Wise(编辑),CRC Pres.,Boca Raton,Florida(1974); Controlled Drug Bioavailability,Drug Product Design and Performance,Smolen和Ball(编辑),Wiley,New York(1984);Ranger和Peppas,1983,J.Macromol.Sci.Rev.Macromol.Chem.23:61;还参见Levy等,1985,Science 228:190;During等,1989,Ann.Neurol.25:351;Howard等,1989,J.Neurosurg.71:105)。

[0101] 在另一个实施方案中,控释系统可放置在待治疗的靶区域附近,因此只需要全身剂量的一部分(参见,例如Goodson的Medical Applications of Controlled Release,同上,第2卷,第115-138页(1984))。可使用Langer,1990,Science 249:1527-1533中讨论的其他控释系统。

[0102] 本文所述CBL0137 (和/或另外药剂,例如激酶抑制剂化疗剂(例如索拉菲尼)和/或核苷类似物化疗剂(例如吉西他滨))可独立地每天一至四次或者每个月一至四次或者每年一至六次或者每两年、三年、四年或五年一次施用。施用可持续一天或一个月、两个月、三个月、六个月、一年、两年、三年并且甚至可在受试者的一生中。可能指示慢性长期施用。剂量可以作为单剂量或分成多个剂量施用。一般地,期望剂量应当以设定的间隔施用延长的时期,通常至少数周或数月,但是可能需要数月或数年或更久的更长施用时期。

[0103] 用本文所述CBL0137 (和/或另外药剂,例如激酶抑制剂化疗剂(例如索拉菲尼)和/或核苷类似物化疗剂(例如吉西他滨))的给药方案可根据多种因素选择,包括受试者的类型、物种、年龄、体重、性别和医学病症;待治疗病症的严重程度;施用途径;受试者的肾或肝功能;个体的药物基因组(pharmacogenomic)组成;以及所使用的本发明的特定化合物。本文所述CBL0137 (和/或另外药剂,例如激酶抑制剂化疗剂(例如索拉菲尼)和/或核苷类似物化疗剂(例如吉西他滨))可以单个日剂量施用,或者总日剂量可以每天二、三或四次分剂量施用。此外,本文所述CBL0137 (和/或另外药剂,例如激酶抑制剂化疗剂(例如索拉菲尼)和/或核苷类似物化疗剂(例如吉西他滨))可以在整个给药方案中连续施用而没有间隔。

[0104] 在一些实施方案中,受试者和/或动物是哺乳动物,例如人、小鼠、大鼠、豚鼠、狗、猫、马、牛、猪、兔、绵羊,或非人灵长类动物如猴、黑猩猩或狒狒。在另一些实施方案中,受试

者和/或动物是非哺乳动物,例如斑马鱼。在一些实施方案中,受试者和/或动物可包含荧光素标记的细胞(用例如GFP)。在一些实施方案中,受试者和/或动物是包含荧光细胞的转基因动物。

[0105] 在一些实施方案中,受试者和/或动物是人。在一些实施方案中,人是儿童。在另一些实施方案中,人是成人。在另一些实施方案中,人是老年人。在另一些实施方案中,人可称为患者。

[0106] 在某些实施方案中,人的年龄为约0个月至约6个月、约6至约12个月、约6至约18个月、约18至约36个月、约1至约5岁、约5至约10岁、约10至约15岁、约15至约20岁、约20至约25岁、约25至约30岁、约30至约35岁、约35至约40岁、约40至约45岁、约45至约50岁、约50至约55岁、约55至约60岁、约60至约65岁、约65至约70岁、约70至约75岁、约75至约80岁、约80至约85岁、约85至约90岁、约90至约95岁或者约95至约100岁。

[0107] 在其它实施方案中,受试者是非人动物,因此本发明涉及兽医应用。在一个特定实施方案中,非人动物是家庭宠物。在另一个特定实施方案中,非人动物是家畜。

[0108] 本发明提供了可简化本文所述任何药剂的施用的试剂盒。本发明的示例性试剂盒包含单位剂型的本文所述任何组合物。在一个实施方案中,单位剂型是容器,例如预填充的注射器,其可以是无菌的,含有本文所述任何药剂以及药学上可接受的载体、稀释剂、赋形剂或媒介物。试剂盒还包括标签或者指导使用本文所述任何药剂的打印的说明书。试剂盒还可包括眼睑镜(lid speculum)、局部麻醉药和清洁剂用于局部施用。试剂盒还可包含一种或多种另外的本文所述药剂。在一个实施方案中,试剂盒包含容器,所述容器含有有效量的本发明组合物和有效量的另一种组合物,如本文所述的那些。在一个实施方案中,试剂盒包含CBL0137和激酶抑制剂化疗剂如索拉菲尼和/或核苷类似物化疗剂如吉西他滨。

[0109] 将通过以下非限制性实例进一步说明本发明。

实施例

[0110] 材料和方法

[0111] 动物:获得40只雌性无胸腺裸小鼠用于各肝细胞癌(HCC)研究(HepG2、HepG2(亚剂量CBL0137)、Hep3B和Hep3B(亚剂量CBL0137),并且分到由每组10只动物(2笼,每笼5只小鼠)组成的治疗组中。对于HepG2(亚剂量CBL0137)研究,媒介物治疗的对照组1由9只动物组成(1笼5只小鼠,1笼4只小鼠)。由Roswell Park Cancer Institute的LAR获得50只雌性SCID小鼠用于各胰腺癌研究,并且分到由每组5只动物(喂养在1个笼中)组成的治疗组中。获得70和60只雌性无胸腺裸小鼠用于各H1975非小细胞肺癌异种移植研究,并且分到由每组10只动物(2笼,每笼5只小鼠)组成的治疗组中。

[0112] 肿瘤:HepG2HCC肿瘤块由BBL动物小组的技术人员提供(80块)。Hep3B HCC肿瘤块由BBL动物研究中心的技术人员提供(80块)。PDA#13590和#13756肿瘤块由BBL动物研究中心的技术人员提供(100块)。H1975和A549NSCLC肿瘤细胞由BBL的技术人员提供(8-9mL, 5×10^7 细胞/ml)。

[0113] HepG2试验材料的描述:非坏死HepG2肿瘤的2mm × 2mm的块(2代肿瘤,收获时约600-700mm³(HepG2研究);1代肿瘤,收获时约500-900mm³(HepG2(亚剂量CBL0137)研究)在裸小鼠中繁殖,最初来自人HepG2肝细胞癌细胞(ATCC)。

[0114] Hep3B试验材料的描述:非坏死Hep3B肿瘤的2mm×2mm的块(1代肿瘤,收获时约600-700mm³(Hep3B研究);9代肿瘤,收获时约800mm³(Hep3B(亚剂量CBL0137)研究)在裸小鼠中繁殖,最初来自人Hep3B肝细胞癌细胞(ATCC)。

[0115] PDA试验材料的描述:非坏死的来自患者的DA#13590或#13756肿瘤的2mm×2mm的块(6代肿瘤,收获时约600-700mm³) 在SCID小鼠中繁殖。

[0116] H1975NSCLS试验材料的描述:H1975NSCLC细胞系(最初来自ATCC) 悬液与Matrigel 1:1混合为5×10⁷细胞/ml(每100μl注射递送5×10⁶细胞) 并且在接种前保持在冰上。

[0117] 所有肿瘤块新鲜收获,在生物安全柜中无菌操作,并且在植入小鼠之前放置在无菌的RPMI+10%FBS培养基或D-PBS中。块在收获后立即植入。

[0118] 试剂和药物:Captisol,由Cydex提供(目录号-Captisol;批次-NC-04A-05033;储藏条件-2-5℃);无氯化钙或氯化镁的D-PBS,1×,由Media Core,Cleveland Clinic Foundation (CCF) 提供(目录号-121-500p,储藏条件-2-5℃,使用期间保持在冰上);CBL0137,由Aptuit提供(目录号-CBL0137;批次-10-106-88-30;储藏条件-室温干燥器中);吉西他滨盐酸盐,由LC Laboratories提供(目录号-G-4177;批次-GMC-103;储藏条件--20℃);索拉菲尼,由LCLaboratories提供(目录号-S-8502;批次-BSF-105;储藏条件--20℃);RPMI1640,由Media Core,CCF提供(目录号-CCF,12-500p储藏条件-4℃,使用期间保持在冰上);胎牛血清(FBS),由Atlanta Biologicals提供(目录号-S11050;批次-A1031;储藏条件--20℃);氯化钠(NaCl,注射用0.9%),由Baxter Healthcare Corp.或Hospira,Inc.提供(批次-P220525 (Baxter) 或64-106-JT (Hospira),储藏条件-室温);Matrigel,由Fisher Scientific提供(目录号-CB354248 (BD12483);批次-37399;储藏条件--20℃);以及二甲基亚砷(DMSO),由Sigma-Aldrich提供(目录号-34869-100ml;批次-SHBB7695V;储藏条件-室温)。

[0119] 药物和试剂的制备:分四批制备用于HCC和PDA研究的给药溶液(研究的治疗阶段每周一批) 以确保整个研究中使用新鲜溶液。在HepG2研究的每个溶液制备日中,35ml 1.9mg/ml索拉菲尼在5%DMSO-200mg/ml Captisol中制备,并且12ml 8.8mg/ml CBL0137在100mg/ml Captisol中制备。所有药物的给药溶液和媒介物对照溶液(100mg/ml Captisol和5%DMSO-200mg/ml Captisol) 均无菌过滤。

[0120] 对于HepG2(亚剂量CBL0137) 研究,36ml 3.75mg/ml索拉菲尼在5%DMSO-200mg/ml Captisol中制备,并且13ml 7.5mg/ml CBL0137在100mg/ml Captisol中制备。对用于iv施用的溶液(CBL0137的给药溶液和100mg/ml Captisol媒介物对照溶液) 无菌过滤。

[0121] 对于Hep3B研究,34.2ml 3.75mg/ml索拉菲尼在5%DMSO-200mg/ml Captisol中制备,并且14ml 7.5mg/ml CBL0137在100mg/ml Captisol中制备。对用于iv施用的溶液(CBL0137的给药溶液和100mg/ml Captisol媒介物对照溶液) 无菌过滤。

[0122] 对于Hep3B(亚剂量CBL0137) 研究,给药溶液分两批制备(研究的两周治疗阶段各一批)。对于前两周给药,14ml 6.25mg/ml CBL0137在100mg/ml Captisol中制备,68.4ml 3.75mg/ml索拉菲尼在5%DMSO-200mg/ml Captisol中制备。对于后两周给药,14ml 6.25mg/ml CBL0137在100mg/ml Captisol中制备,并且68.4ml 3.75mg/ml索拉菲尼在5%DMSO-200mg/ml Captisol中制备。

[0123] 对于PDA研究,吉西他滨和CBL0137的溶液制备为在超纯水(Milli-Q water) 中制

备的12ml 5.0mg/ml吉西他滨和在150mg/ml Captisol中制备的7ml 10.0mg/ml CBL0137并且无菌过滤。

[0124] 所有上文制备的溶液在其使用周中均储存在4℃。

[0125] 对于NSCLC研究,溶液分两批制备(每2周一批)以确保在整个研究中使用新鲜溶液。对于H1975NSCLC研究1,溶液为:分别为100mg/ml Captisol中的4.4mg/ml和8.8mg/ml CBL0137的10ml的两管,以及分别为无菌水中的5.0mg/ml和2.5mg/ml吉西他滨的10ml的两管。对于H1975NSCLC研究2,溶液为150mg/ml Captisol中的11.25mg/ml CBL0137的16ml的一管,以及分别为无菌水中的1.0mg/ml吉西他滨的25ml的两管。

[0126] 肿瘤块的制备和皮下植入:HepG2肿瘤(HepG2研究的2代,HepG2(亚剂量CLB0137)研究的1代)或Hep3B肿瘤(Hep3B研究的1代,Hep3B(亚剂量CLB0137研究的9代)在无胸腺裸小鼠中繁殖并且当达到约500-900mm³时在对小鼠实施安乐死后收获。PDA肿瘤(6代)在SCID小鼠(两侧腹)中繁殖当达到约600-700mm³大小时在对小鼠实施安乐死后收获。将收获的肿瘤转移到含有RPMI+10%FBS培养基或D-PBS加青霉素/链霉素的无菌培养皿中。添加足够的培养基以浸泡肿瘤,以确保移植材料的存活。使用无菌手术刀将肿瘤切成2mm×2mm立方体。小心操作以尽可能确保块的大小形状均匀。在制备后立即将肿瘤块植入到受体小鼠中。

[0127] 肿瘤细胞的制备和接种:接种前一天晚上,将Matrigel放在冰箱中的冰上以解冻。在开始细胞收获之前,将一定量的吸量管、管和尖端(tip)放在冰箱中以使得其在用于Matrigel时是冰冷的。1ml注射器和1/2" 23G针也预冷。该步骤对于防止Matrigel过早凝固是必要的,其在室温或更高(即,37℃)会变成固体。

[0128] 在临肿瘤接种前在PBS中制备H1975细胞悬液。从四十个150mm直径的皿中收获16代的H1975细胞并且在PBS(5.87ml)中稀释至 10×10^7 个细胞/ml。临接种前,使用预冷尖端和管将4.5ml这种细胞悬液与等体积Matrigel(1:1)混合成9ml的总体积。细胞悬液保持在冰上。细胞的最终浓度为 5×10^7 个细胞/ml。

[0129] 在小鼠接种之前,通过将管颠倒数次将肿瘤细胞-Matrigel混合物仔细混合。向预冷的1ml注射器中填充肿瘤细胞-Matrigel混合物,然后将预冷的1/2" 23G带帽的针连接到注射器端部以进行注射。将封闭的经填充注射器颠倒数次,然后将100μl细胞-Matrigel混合物皮下接种到每只小鼠的左侧腹。

[0130] 对于接种,将小鼠用异氟醚(100%O₂中3-4%诱导,1-2%维持)麻醉以有助于适当的皮下接种。

[0131] 肿瘤大小测量:通过数显卡尺在两个维度测量肿瘤大小(mm):取彼此垂直的最大长度(l)和最大宽度(w)。根据以下公式使用测量值计算肿瘤体积:肿瘤体积=(l×w²)/2(w<l)。通过该公式获得的值也等于以mg为单位的肿瘤质量。在肿瘤植入后2天开始,在治疗开始前每2-3天测量肿瘤,然后每周两次(例如,在第1天(D1,治疗开始的天)、D4、D8、D11、D15、D18、D22、D25、D29、D32、D36、D39、D43、D46、D50、D53和D57)。当肿瘤大小接近肿瘤大小终点时更频繁收集肿瘤测量值,以防止超过按计划测量之间的终点。

[0132] 试验物品和对照物品的施用:当每个治疗组的平均肿瘤大小为约45-200mm³时,向小鼠施用指定的溶液。

[0133] HepG2研究的小鼠用CBL0137和/或索拉菲尼根据以下方案治疗:1)媒介物;2) 15mg/kg索拉菲尼经口(po)每天;3) 70mg/kg CBL0137静脉内每四天(Q4d);或者4) 70mg/kg

CBL0137iv Q4d+15mg/kg索拉菲尼po每天。HepG2(亚剂量CBL0137)研究的小鼠用如下治疗:1) 媒介物对照;2) 30mg/kg索拉菲尼经口(po)每天;3) 60mg/kg CBL0137静脉内(iv)每四天(Q4d);或者4) 60mg/kgCBL0137iv Q4d+30mg/kg索拉菲尼po每天。Hep3B研究的小鼠用如下治疗:1) 媒介物,2) 30mg/kg索拉菲尼po每天,3) 60mg/kg CBL0137iv Q4d,或者4) 60mg/kg CBL0137iv Q4d+30mg/kg索拉菲尼po每天。Hep3B(亚剂量CBL0137)研究的小鼠用如下治疗:1) 媒介物;2) 30mg/kg索拉菲尼经口(po)每天;3) 50mg/kg CBL0137静脉内(iv)每四天(Q4d);或者4) 50mg/kg CBL0137iv Q4d+30mg/kg索拉菲尼po每天。阴性对照组(组1)用于递送CBL0137的媒介物(100mg/ml Captisol)和用于递送索拉菲尼的媒介物(5%DMSO-200mg/ml Captisol)的组合使用与相应药物相同的递送途径和方案治疗4周。CBL0137的Q4d给药在研究的D1、D5、D9、D13、D17、D21、D25和D29进行,索拉菲尼的每日给药在D1-D28进行。对于仅接受一种药物(CBL0137或索拉菲尼)而不是两种的组,所不施用的药物的媒介物使用相应递送途径和方案照常施用以作为模拟施用。经口或静脉内施用的给药溶液的体积为8ml/kg体重。静脉内注射通过尾静脉进行。药物的施用缓慢进行,而不向注射器施加力。

[0134] PDA研究的小鼠用CBL0137和/或吉西他滨根据以下方案治疗:1) 媒介物;2) 40mg/kg吉西他滨ip Q4d持续4周;3) 90mg/kg CBL0137iv 1×/周持续4周;或者4) 40mg/kg吉西他滨ip Q4d持续4周+90mg/kg CBL0137iv 1×/周持续4周。PDA#13756研究的小鼠用CBL0137和/或吉西他滨根据如下方案治疗:1) 媒介物;2) 40mg/kg吉西他滨ip Q4d持续4周;3) 80mg/kg CBL0137iv 1×/周持续4周;或者4) 40mg/kg吉西他滨ip Q4dd持续4周+80mg/kg CBL0137iv1×/周持续4周。吉西他滨的Q4d给药在研究的D1、D5、D9、D13、D17、D21、D25和D29进行,并且CBL0137的1×/周给药在D1、D8、D15和D22进行。阴性对照组(组1)用于递送吉西他滨的媒介物(无菌超纯水)和用于递送CBL0137的媒介物(150mg/ml Captisol)的组合使用与相应药物相同的递送途径和方案治疗4周。ip或iv施用的溶液的体积为8ml/kg小鼠体重。静脉内注射通过尾静脉进行。药物的施用缓慢进行,而不向注射器施加力。

[0135] NSCLC研究1的小鼠用CBL0137和/或吉西他滨根据以下方案治疗:1) 媒介物;2) 70mg/kg CBL0137iv Q4d;3) 40mg/kg吉西他滨ip Q4d;或者4) 70mg/kg CBL0137iv Q4d+40mg/kg吉西他滨ip Q4d。NSCLC研究2的小鼠用CBL0137和/或吉西他滨根据以下方案治疗:1) 媒介物;2) 90mg/kg CBL0137iv 1×/周持续4周;3) 20mg/kg吉西他滨ip Q4d持续4周;或者4) 90mg/kg CBL0137iv 1×/周持续4周+20mg/kg吉西他滨ip Q4d持续4周。对于所有组,Q4d给药在研究的D1、D5、D9、D13、D17、D21、D25和D29进行。对于仅接受一种药物而不是两种的组,所不施用药物的媒介物照常施用作为模拟施用。ip或iv施用的给药溶液的体积为8ml/kg小鼠体重。静脉内注射通过尾静脉进行。药物的施用缓慢进行,而不向注射器施加力。

[0136] 监测和样品收集:在实验期间每天两次监测小鼠的死亡率和发病率。具体地,观察小鼠皮肤、毛皮、运动活性和主要一般行为方式的变化。记录所有异常观察结果,并且为“身体状况”、“姿态”和“活动性”分配半定量得分。4、3、2和1的得分分别分配给正常状况(4)、以及轻微(3)、中等(2)和严重(1)异常状况。将笼子放到层流净化罩中并且打开,以清楚地评估小鼠活动性。如果小鼠表现出严重的毒性迹象(例如,颤动(ruffling)、弓背、低活动性、大于15%体重损失),停止所述小鼠的治疗直到其完全恢复(即,体重恢复到初始体重的10%以内)。

[0137] 数据分析:对于所有研究组,计算第11、13或15天(第X天)的最大肿瘤生长抑制。该时间点是所有比较组中具有足够数量的肿瘤以用于统计分析的最近时间点。对于每个肿瘤,相对于治疗开始的第1天的肿瘤大小计算相对肿瘤大小(即,肿瘤生长倍数)。为了计算每个肿瘤的最大肿瘤生长抑制,使用以下公式: $100 - (\text{药物治疗第X天的肿瘤生长倍数} / \text{媒介物治疗第X天的平均肿瘤生长倍数}) * 100$ 。使用ANOVA分析(GraphPad Prism 5软件)确定组间肿瘤大小的差异,其中“*”是指 $P=0.01-0.05$ (显著),“**”是指 $P=0.001-0.01$ (非常显著),“***”是指 $P<0.001$ (极其显著)。统计学上不显著的差异表示为“ns”。该研究可能无法计算肿瘤倍增时间(dT),因为组3和组4在研究的治疗阶段没有肿瘤倍增。通过从治疗组达到 1000mm^3 大小终点的中值时间减去对照达到 1000mm^3 大小终点的中值时间来计算肿瘤生长延迟(T-C)。对于“达到[肿瘤大小]终点的时间”的计算,应注意每组中的一些肿瘤在研究期间完全没有生长。由于这些肿瘤无论时间怎样明显不能达到终点,将其从“达到终点的时间”的计算中排除。但是,这些肿瘤并不从任何其他分析中排除,因为其在所有组中以近似相等的频率发生。如下计算T/C%: $(\text{第X天T} - \text{第1天T}) / (\text{第X天C} - \text{第1天C}) * 100$,其中T和C表示指定天的经治疗肿瘤的中值肿瘤体积,C是对照肿瘤的中值肿瘤体积。该值代表经治疗肿瘤相对于对照肿瘤的大小。因此,T/C%=40意味着在指定时间点经治疗肿瘤的大小为对照肿瘤大小的40%。使用LogRank测试(GraphPad Prism5软件)分析研究组之间中值存活时间的差异。

[0138] 实施例1:对针对Hep2G或Hep3B肝细胞癌异种移植物的CBL0137-索拉菲尼组合治疗的评估

[0139] 图1的图A中示出了HepG2研究的死亡动力学(kinetics of mortality)。本研究中没有治疗毒性对动物死亡具有任何实质性影响的迹象。相对于媒介物治疗,药物治疗并不造成死亡更早发生或不利地影响(中值存活时间)MST。本研究中死亡和存活动力学结果的差异主要反映了治疗效力,而不是毒性。同样地,对于HepG2(亚剂量CBL0137)研究、Hep3B研究和Hep3B(亚剂量CBL0137)研究观察到了相同的结果,如分别在图1的图B、图2的图A和图2的图B中示出的。

[0140] 具有HepG2肿瘤的小鼠的存活动力学的分析(图1图A)表明,在媒介物治疗组1中观察到的15天的MST并没有随着仅索拉菲尼的治疗改变(组2,MST=15天),但是仅CBL0137或者CBL0137+索拉菲尼的治疗分别使MST增加到54.0天和52.5天。MST的这些差异反映了所应用的治疗对于肿瘤生长的影响,这是因为本研究中的死亡(除了一只小鼠外)是由于肿瘤相关参数,而不是治疗毒性(参见上文)。

[0141] 具有HepG2(亚剂量CBL0137)肿瘤的小鼠的存活动力学的分析(图1图B)表明,MST从媒介物治疗组1中观察到的13天增加到药物治疗组2、3和4中的分别27.5天、23天和38.5天。此外,组合治疗组4中的MST大于任一单一疗法组(组合相较于仅索拉菲尼 $P=0.0204$,组合相较于仅CBL0137 $P=0.0001$)。单药物治疗组2和3之间的差异不明显($P=0.373$)。

[0142] 具有Hep3B肿瘤的小鼠的存活动力学分析(图2图A)表明,在媒介物治疗组中观察到的11天的中值存活时间(MST)被所有受试药物治疗增加($P<0.0001$)。因此,索拉菲尼治疗使MST增加至25天,CBL0137治疗使MST增加至36天,CBL0137+索拉菲尼使MST增加至39.5天。尽管这些MST值反映了三个不同药物治疗组之间其他肿瘤生长参数的差异,但是药物治疗组之间的MST中的差异没有不同。本研究中动物存活的持续时间主要反映了的肿瘤生长至

终点大小的动力学,而不是治疗毒性的发展。

[0143] 在具有Hep3B(亚剂量CBL0137)肿瘤的小鼠的存活动力学的差异中观察到了相同趋势(图2图B)。媒介物治疗小鼠的中值存活时间(MST)为14.5天,相比之下在索拉菲尼、CBL0137和CBL0137+索拉菲尼治疗组中的MST分别为21.5天,17.5天和28天。与媒介物治疗组相比的对数秩分析(Log Rank analysis)表明,CBL0137+索拉菲尼组($P=0.0092$)和索拉菲尼单一疗法组($P=0.013$)的存活时间增加是统计学显著的,但是CBL0137单一疗法组不显著($P=0.2688$)。MST的这些差异反映了药物治疗对肿瘤生长的影响,再一次是因为,本研究中动物的死亡主要是由于肿瘤相关参数,而不是治疗毒性。

[0144] 接下来,通过使用数显卡尺在整个研究过程中对肿瘤测量确定测试的治疗方案的抗肿瘤效力。

[0145] 每个研究组中肿瘤生长的动力学(由每组治疗过程中不同天的肿瘤体积相对于初始体积的平均倍数变化表示)示出在图3(图A和B)和图4(图A和B)中。对于HepG2研究(图3图A),选择第15天用于分析平均肿瘤生长倍数,因为这是所有组中具有足够数据点用于这种分析的最近时间点。在这一天,相对于第1天的肿瘤体积的平均变化为组1(媒介物)9.0倍,组2(仅索拉菲尼)8.4倍,组3(仅CBL0137)0.5倍,组4(CBL0137+索拉菲尼)0.9倍。组3和组4中的平均肿瘤生长倍数低于组1或组2,但是组3和组4本身之间没有差异。这种平均肿瘤生长倍数数据表明,在研究的前15天中,组3和组4中的肿瘤没有生长,而是消退。与该观察一致,两个CBL0137治疗组(组3和4)中的T/C%值为负(分别为-3.5%和-3.3%),而组2中72.6%的T/C%值说明了索拉菲尼单一疗法最小的效力。对于各个肿瘤,CBL0137治疗组3中生长的16个肿瘤中的14个以及CBL0137+索拉菲尼组4中16个肿瘤中的13个在治疗过程中显示出一定程度的消退。相比之下,媒介物治疗组1和索拉菲尼治疗组2中分别为0/16和0/14个生长的肿瘤表现出类似行为。但是大部分消退肿瘤在研究的治疗阶段结束后约2周开始生长,并且组3和组4之间在这个生长时期期间肿瘤生长的总体(每组平均)动力学和程度类似(图3,图A)。

[0146] 在肿瘤生长动力学方面,可能无法计算HepG2研究的肿瘤倍增时间(dT),因为在组3和组4的研究的治疗阶段,没有肿瘤倍增,而是消退。基于治疗组(T)和对照组(C)中达到肿瘤大小终点的中值时间的肿瘤生长延迟(T-C)对于索拉菲尼治疗为5.65天,相比之下CBL0137或CBL0137+索拉菲尼治疗分别为39.4天和39.8天。对于这些计算,排除在研究期间完全没有生长的肿瘤(1-4组分别为4/20、6/20、4/20和4/20),因为其明显不能达到终点。但是,应注意,不从任何其他分析中排除不生长肿瘤,因为其在所有组中以近似相等的频率发生。从第15天平均肿瘤生长倍数(以及第15天的相应%生长抑制)的计算中仅排除媒介物治疗对照组1中的一个另外肿瘤(笼2中的小鼠4),因为直到治疗开始后也没有出现可测量大小,因此没有参考测量来精确评估生长倍数和抑制水平。

[0147] 对于HepG2(亚剂量CBL0137)研究,每个研究组中肿瘤生长的动力学示出在图3的图B中。选择第13天分析平均肿瘤生长倍数,因为这是所有组中具有足够数据点用于这种分析的最近时间点。在这一天,相对于第1天的肿瘤体积的平均变化为组1(媒介物)13.2倍,组2(仅索拉菲尼)3.2倍,组3(仅CBL0137)3.5倍,组4(CBL0137+索拉菲尼)1.6倍。因此,第1天与第13天之间的肿瘤生长抑制为组2 76%,组3 74%,组4 88%。

[0148] 所有三个药物治疗组(组3、4和5)中的平均肿瘤生长倍数低于媒介物治疗组1。第

13天药物治疗组之间的平均肿瘤生长倍数的差异在统计学上不显著,因为肿瘤刚开始生长。在随后时间点(例如,第23天),肿瘤生长的差异更明显,并且组2-4中具有足够的存活小鼠用于分析。在第23天,平均肿瘤生长倍数在索拉菲尼治疗组2和CBL0137治疗组3中分别为6.02倍和6.26倍,相比之下在组合治疗组4中为2.11倍。单一疗法组之间第23天的平均肿瘤生长倍数的差异不明显($P=0.979$),而组合组与任意单一疗法组之间的差异明显(组合相较于单独索拉菲尼 $P=0.0017$,组合相较于单独CBL0137 $P=0.0038$)。

[0149] 还通过计算第13天的T/C%值说明了CBL0137和索拉菲尼(以及甚至更大程度上,CBL0137+索拉菲尼)对抑制肿瘤生长的效力。这些值表明组2、3和4中的肿瘤分别为媒介物治疗组1中肿瘤大小的27.3%、10.2%和4.3%。

[0150] 在肿瘤生长动力学方面,可能无法计算HepG2(亚剂量CBL0137)研究的肿瘤倍增时间(dT),因为在组合治疗组4中肿瘤在研究的治疗阶段结束后才开始生长。基于治疗组(T)和对照组(C)中达到肿瘤大小终点的中值时间的肿瘤生长延迟(T-C)对于索拉菲尼治疗为17天,CBL0137治疗为10天,CBL0137+索拉菲尼治疗为29天。对于这些计算,通过由指数生长曲线外推确定每组达到肿瘤大小终点的中值时间(1-4组分别为12.6天、29.6天、22.5天和41.6天)。与媒介物治疗组1相比,所有三个药物治疗组达到终点的均值时间的增加是统计学显著的。在药物治疗组中,索拉菲尼单一疗法组达到终点的中值时间大于CBL0137单一疗法组($P=0.015$);但是,组合治疗组中达到终点的中值时间甚至更大(组合相较于单独索拉菲尼 $P=0.001$,组合相较于单独CBL0137 $P<0.0001$)。

[0151] 对于Hep3B研究,每个研究组中肿瘤生长的动力学示出在图4图A中。选择第11天分析平均肿瘤生长倍数,因为这是所有组中具有足够数据点用于这种分析的最近时间点。在这一天,相较于第1天的肿瘤体积的平均变化为组1(媒介物)9.08倍,相比之下组2(仅索拉菲尼)2.98倍,组3(仅CBL0137)1.05倍,组4(CBL0137+索拉菲尼)1.35倍。因此,第11天肿瘤生长的抑制为组2 67.2%,组3 88.4%,组4 85.1%。所有三个药物治疗组(组3、4和5)中的平均肿瘤生长倍数低于媒介物治疗组1(对于与组1的每一成对比较, $P<0.0001$)。第11天药物治疗组之间的平均肿瘤生长倍数的差异在统计学上不显著,因为在该时间点肿瘤基本上没有(组2)或完全没有(组3和4)生长。在所有三个药物治疗组中具有足够的存活小鼠用于统计学分析的最近时间点(即,第25天),肿瘤生长的差异更明显:平均肿瘤生长倍数为索拉菲尼治疗组2中8.22倍,CBL0137治疗组3中3.03倍,组合治疗组4中2.21倍。因此,平均来看,与CBL0137单一疗法组($P=0.014$)或组合组($P=0.008$)相比,到第25天时索拉菲尼单一疗法组中肿瘤的生长得更多。相比之下,CBL0137单一疗法组和组合组之间第25天的平均肿瘤生长没有差异($P=0.898$)。

[0152] 还通过计算的第11天的T/C%值说明了索拉菲尼以及在甚至更大程度上CBL0137和CBL0137+索拉菲尼对抑制肿瘤生长的效力。这些值表明组2、3和4中的肿瘤分别为媒介物治疗组1中肿瘤大小的33.4%、-6.4%和2.5%。对于CBL0137治疗组3计算的负T/C%值表明至第11天该组中的肿瘤大小实际上缩小(消退)。

[0153] 在肿瘤生长动力学方面,可能无法计算Hep3B研究的肿瘤倍增时间(dT)(达到肿瘤大小终点的时间)和肿瘤生长延迟(T-C),因为CBL0137治疗组3和CBL0137+索拉菲尼治疗组4中的肿瘤在研究的治疗阶段基本上没有生长(在许多情况下实际上消退,见下文)。

[0154] 尽管第11天和第25天的平均肿瘤生长倍数表明CBL0137治疗组3和组合治疗组4

中的肿瘤小程度生长 (<3倍),但是在研究的治疗阶段,这些组中许多个体肿瘤没有生长,而是消退(肿瘤体积小于第1天治疗开始时)。在治疗期间的一些时间点观察到组3中的11/20个肿瘤以及组4中的8/19个肿瘤消退至初始体积的80%或更小。对于所有这些肿瘤,在开始治疗后并没有立即看到消退,而是在肿瘤稍微生长后出现(例如,在第8天之后或更晚)。大部分这些肿瘤的生长仅短暂抑制,但是另一些基本上没有生长(相比于第1天<2倍生长)或持续表现出消退(相比于第1天<1倍生长),直到对动物实施安乐死。

[0155] 对于Hep3B(亚剂量CBL0137)研究,每个研究组中的肿瘤生长动力学示出在图4图B中。应注意,在CBL0137单一疗法的研究中观察到没有效力可能是(不希望受到理论的约束)由于所使用的次优剂量(50mg/kg,相比于其每四天给药的70mg/kg的MTD)。在HCC和其他肿瘤移植模型中进行的多种其他研究已经证明了每四天静脉内(iv Q4d)施用的70mg//kg CBL0137持续四周(例如,HepG2研究)的强效力。事实上,在Hep3B研究中,60mg/kg CBL0137非常有效,需要降低到50mg/kg用于评估效力。

[0156] 选择第15天用于分析平均肿瘤生长倍数,因为这是所有组中具有足够数据点用于这种分析的最近时间点。在这一天,相对于第1天的肿瘤体积的平均变化为组1(媒介物)21.0倍,相比之下组2(仅索拉菲尼)10.2倍,组3(仅CBL0137)13.0倍,和组4(CBL0137+索拉菲尼)4.3倍。因此,第1天和第15天之间肿瘤生长抑制为组2中51.4%,组3中38.2%,组4中79.6%。与媒介物治疗组1相比,组合治疗组(组4)中第15天的平均肿瘤生长倍数的降低是统计学显著的($P < 0.0053$;表3.2.1)。但是,任一单一疗法组(组2或3)与媒介物组之间的平均肿瘤生长倍数差异是不显著的($P > 0.05$)。

[0157] 肿瘤生长的所有其他参数的分析(dT、达到终点的时间、生长延迟、T/C%)得到了类似结果:在药物治疗组中观察到了抗肿瘤效力增加的趋势,其中CBL0137单一疗法具有超过媒介物治疗的显著有益效果,索拉菲尼单一疗法具有更强有益效果,二CBL0137+索拉菲尼组合具有最强效果。对于能够进行统计学分析的参数(dT和达到终点的中值时间),组合治疗组和媒介物治疗组之间的差异是高度统计学显著的($P < 0.0001$),而任一单药物组与媒介物组之间未达到统计学显著($P > 0.05$);但是索拉菲尼治疗与媒介物治疗组之间达到终点的中值时间的差异接近显著 $P = 0.0534$)。

[0158] 与同媒介物相比CBL0137+索拉菲尼治疗针对Hep3B肿瘤有效的发现一致,尽管单药物不是,但是三个药物治疗组的直接比较表明,一般来说(对于大部分参数),组合比任一单药物都更有效,并且单药物组之间没有统计学差异。对于dT、达到终点的时间以及第15天的%生长抑制也是如此(比较组合与仅CBL0137)。第15天的平均肿瘤生长倍数在组3(仅CBL0137,13.0倍)中最高,然后是组2(仅索拉菲尼,10.2倍),然后是组4(CBL0137+索拉菲尼,4.3倍),但是这些差异没有达到统计学显著。随后在Hep3B(亚剂量CBL0137)研究中,药物治疗组之间平均肿瘤生长的差异更明显,因为单药物治疗组中的肿瘤继续以指数方式生长,而组合治疗组中的那些被抑制。因此,在第19天(所有三个药物治疗组中具有足够存活小鼠用于统计学分析的最近时间点),组2和组3中的平均肿瘤生长倍数分别为19.5倍和21.8倍,相比之下组4中为5.6倍。在该时间点,与任一单一疗法组相比组合治疗组中平均肿瘤生长倍数的降低接近统计学显著(组2与组4相比 $P = 0.0666$,组3与组4相比 $P = 0.0522$)。相对于CBL0137单一疗法组,CBL0137+索拉菲尼组($P = 0.0216$)和索拉菲尼单一疗法组($P = 0.0415$)二者中的MST增加,但是CBL0137+索拉菲尼组与索拉菲尼之间的差异不显著($P =$

0.3819)。

[0159] 总之,不希望受到理论的约束,HepG2结果表明,尽管单独索拉菲尼的治疗对HepG2肿瘤生长没有效果,但是CBL0137的治疗非常有效。向CBL0137方案中添加索拉菲尼并未在研究所使用条件下增强其抗肿瘤效果。对于HepG2(亚剂量CBL0137)研究,不希望受到理论的约束,结果表明测试的索拉菲尼单一疗法和CBL0137单一疗法的方案有效抑制HepG2肿瘤生长,并且表现出类似的效力水平。出人意料地,索拉菲尼和CBL0137方案的组合导致比任一单独药物更强的抗肿瘤效力(协同)。

[0160] 另外,不希望受到理论的约束,Hep3B结果表明所应用的索拉菲尼单一疗法、CBL0137单一疗法和CBL0137+索拉菲尼组合治疗的方案全都对抑制Hep3B异种移植物的生长有效。但是,在该模型中,CBL0137和CBL0137+索拉菲尼作为抗肿瘤剂比索拉菲尼更有效。CBL0137和CBL0137+索拉菲尼提供的肿瘤抑制水平类似,最可能是由于以下的组合效应:(i)所施用剂量的CBL0137的强效力,和(ii)动物体重减轻导致组合治疗组中索拉菲尼给药降低。因此,不可能在Hep3B研究中确定两种药物的组合是否导致增强的抗肿瘤效力。这种情况类似于在HepG2研究中观察到的,其中所施用剂量的CBL0137对HepG2HCC移植物非常有效,因此阻止观察到CBL0137和索拉菲尼组合后的任何另外益处。随后用经调整的药物剂量在HepG2模型中进行的研究(HepG2(亚剂量CBL0137)研究)揭示了与任一单独药物相比CBL0137+索拉菲尼组合增强的效力。不希望受到理论的约束,在用经调整的药物剂量在Hep3B模型中进行的研究(Hep3B(亚剂量CBL0137)研究)中观察到了类似结果。

[0161] 在体外进行与上文类似的小鼠研究以确定CBL0137+索拉菲尼组合治疗在肿瘤抑制中的可能机制。图5(图A和B)示出了在媒介物、CBL0137、索拉菲尼或CBL0137+索拉菲尼治疗2小时和24小时之后,来自具有HepG2和Hep3B肿瘤的小鼠的蛋白质印迹的结果。具体地,蛋白质印迹监测药物治疗对于spt16、SSRP1、p53、p21、P-ERK、ERK、Mc1-1和GAPDH(对照)蛋白质的表达的影响,这些蛋白质大部分参与细胞周期进程和调节。SSRP1/spt16是CBL0137活性的已知靶标,因此,CBL0137造成亚基紧密结合(不可逆),导致2h时表达的降低。已知CBL0137诱导p53和p53靶标p21(仅HepG2,因为Hep3B无p53),但是如在蛋白质印迹中看到的,索拉菲尼阻断这种诱导。已知索拉菲尼阻断P-ERK的磷酸化,并且导致Mc1-1下调。在组合治疗中CBL0137不影响这些。

[0162] 进行另外的体外研究以评估CBL0137+索拉菲尼组合治疗在肿瘤抑制中的可能机制。图6(图A-D)示出了CBL0137、索拉菲尼或CBL0137+索拉菲尼治疗对于具有肿瘤的裸小鼠(HepG2和Hep3B)的NF- κ B靶基因(IL-8和TNF)的表达的影响,如用基因特异性引物和探针使用实时PCR测量的。已知CBL0137抑制NF- κ B。因此,在暴露于药物2h后,NF- κ B靶基因(IL-8和TNF)的表达应降低。这在基础NF- κ B介导的转录和TNF诱导的NF- κ B活性中都观察到。还观察到索拉菲尼影响NF- κ B靶基因的表达,但是小于CBL0137。最后,在CBL0137和索拉菲尼之间观察到了对于NF- κ B基因表达的强协同效应,在两种HCC细胞系中几乎完全消除了IL-8和TNF二者的表达。不希望受到理论的约束,CBL0137和索拉菲尼的组合效应似乎部分是由于对NF- κ B途径的影响。

[0163] 实施例2:对针对胰腺癌(或H1975非小细胞肺癌)异种移植物的CBL0137-吉西他滨组合治疗的评估

[0164] 进行与实施例1类似的小鼠研究以确定CBL0137+吉西他组合治疗对于胰腺癌和非

小细胞肺癌的影响。PDA不同研究组的死亡动力学示出在图7图A中。本研究中没有治疗毒性对动物死亡具有任何实质性影响的迹象。相对于媒介物治疗,药物治疗并不造成死亡更早发生或不利地影响MST。研究中没有小鼠是因为过量的体重损失/发病而实施安乐死的。本研究中的所有死亡是由于肿瘤达到了大小终点,或者在组合治疗动物的情况下,达到研究结束(第89天)。因此,本研究中死亡和存活动力学结果的差异主要反映了治疗效力,而不是毒性,并且将在下文进一步讨论。

[0165] PDA不同研究组的死亡动力学示出在图7图B中。可能无法精确计算双药物组合组的MST,因为这些组中大部分小鼠存活到研究结束(第88天)。本研究中的死亡主要是由于肿瘤生长,而不是由于治疗毒性。另外,本研究中死亡和存活动力学结果的差异主要反映了治疗效力,而不是毒性,并且将在下文进一步讨论。

[0166] NSCLC研究1不同研究组的死亡动力学示出在图8图A中。在研究进程期间,没有笼侧观察表明测试方案(CBL0137单一疗法、吉西他滨单一疗法或CBL0137+吉西他滨组合)的任何毒性。研究中的所有死亡是由于肿瘤达到 2000mm^3 大小终点引起的安乐死。因此,中值存活时间与肿瘤负荷直接相关,并且将在下文讨论。

[0167] NSCLC研究2不同研究组的死亡动力学示出在图8图B中。在四个研究组中(媒介物、CBL0137、吉西他滨和CBL0137+吉西他滨),没有任何动物发病的迹象。相对于媒介物治疗,这些组中的药物治疗并不造成死亡更早发生或严重影响MST。组1和单药物治疗中的所有死亡是由于肿瘤达到了 2000mm^3 的大小终点导致的安乐死。对于CBL0137+吉西他滨中的两只小鼠,注意到在安乐死时肿瘤溃烂,但是也接近大小终点(1547 和 1921mm^3)。研究中的两只小鼠(均来自CBL0137治疗组)存活到了第89天(研究结束)。将这些小鼠中的一只从所有分析中排除,因为其“肿瘤”在验尸后实际被发现是增大的淋巴结而不是肿瘤。其他存活到第89天的小鼠具有接近终点大小(1643mm^3)的肿瘤。因此,MST与肿瘤负荷直接相关,并且将在下文讨论。

[0168] 接下来,通过使用数显卡尺在整个研究过程中对肿瘤测量确定测试的治疗方案的抗肿瘤效力。

[0169] 每个FDA和NSCLC研究的肿瘤生长的动力学(由每组治疗过程中不同天的肿瘤体积相对于初始体积的平均倍数变化表示)示出在图9和10(图A和B)中。

[0170] 具体地,图9图A示出了DA#13756研究的每个研究组中肿瘤生长的动力学。为了将所有药物治疗组与媒介物治疗组相比,评估第15天的肿瘤生长,所有组中具有用于分析的足够数据点的最近时间点。与媒介物治疗1组相比,除CBL0137单一疗法外的所有测试的药物治疗显示出抗肿瘤效力。这种效力由与媒介物对照相比第15天的平均肿瘤生长倍数的降低,以及第15天经治疗肿瘤相对于对照肿瘤的减小的大小(T/C%),以及肿瘤达到大小终点的时间的增加来揭示。对于单独吉西他滨和CBL0137+吉西他滨,第15天的平均肿瘤生长倍数 <1.0 ,表明肿瘤不仅没有生长,而且相对于其在药物治疗开始时的大小缩小。事实上,这些组中的大部分个体肿瘤(分别为8/10和5/6)在第15天消退或消失(没有可测量肿瘤)。应注意到,本研究中CBL0137单一疗法没有效力可能会是由于所选择的剂量。对用于抗肿瘤效力研究的 $1\times$ /周给药方案,CBL0137的最大耐受剂量和最佳剂量为 90mg/kg CBL0137。

[0171] 为了评估不同药物组合的潜在附加/协同效应——这种效应在治疗早期(即,第15天,可与媒介物对照组进行比较的最近时间点)通常是不可辨别的,如果可能,还在第29天

(治疗时期的最后一天) 和第54天 (比较的组中具有用于分析的足够剩余小鼠的最近时间点) 评估肿瘤生长。吉西他滨、CBL0137及其组合的比较表明, 在第15天, 吉西他滨和吉西他滨+CBL0137组二者中的肿瘤生长与CBL0137组相比降低。因此, 相比于CBL0137组中第15天时30.4倍的平均肿瘤生长, 吉西他滨组中肿瘤生长0.55倍 ($P=0.0014$), 吉西他滨+CBL0137组中0.4倍 ($P=0.0075$)。第15天时吉西他滨和吉西他滨+CBL0137对肿瘤生长的影响没有差异 ($P>0.999$)。在第29天, CBL0137组中没有足够肿瘤用于分析, 但是吉西他滨和吉西他滨+CBL0137组中在肿瘤生长方面依然不可区分 (两组中的所有肿瘤均消退)。到第54天, 两组中的肿瘤开始生长, 但是吉西他滨+CBL0137组中的那些比吉西他滨单一疗法组中的那些生长得更慢。因此, 在第54天, 吉西他滨组中的平均肿瘤生长倍数为26.7倍, 而吉西他滨+CBL0137组中仅为2.8倍 ($P=0.009$)。吉西他滨+CBL0137比单药物更高的效力还通过组合治疗组中延长的动物存活时间指示 (78天相较于单独吉西他滨的54天 ($P=0.0153$) 以及相较于单独CBL0137的17天 ($P=0.0017$))。不希望受到理论的约束, 这些结果表明, 即使在其自身没有效果的情况下, CBL0137也增强吉西他滨的效果。

[0172] 图9图B示出了PDA研究的每个研究组中肿瘤生长的动力学。为了将所有药物治疗组与媒介物治疗组相比, 评估第29天的肿瘤生长, 这是治疗时期的最后一天。与媒介物治疗组1相比, 所有测试的药物治疗显示出抗肿瘤效力。这种效力通过与媒介物治疗对照组相比第29天的平均肿瘤生长倍数的降低揭示。平均肿瘤生长倍数的这些降低对应于66.9%至98.1%肿瘤生长抑制。还通过第29天经治疗肿瘤相对于对照肿瘤的更小大小 (T/C%) 以及肿瘤达到大小终点的时间的增加说明了所有测试的药物治疗的肿瘤抑制效果。对于除单独CBL0137以外的所有药物治疗组, 第29天的平均肿瘤生长倍数 <1.0 , 表明平均来看, 肿瘤不仅不没有生长, 而且实际上相对于其在药物治疗开始时的大小缩小。在媒介物组和CBL0137组中, 分别仅有1/9和3/10的个体肿瘤表现出消退。相比之下, 到第29天, 用吉西他滨 (6/6) 和CBL0137+吉西他滨 (8/8) 治疗的组中大部分个体肿瘤消退或消失 (没有可测量肿瘤)。每一测试的单药物方案抑制肿瘤生长的能力还通过与媒介物组相比这些组延长的存活指示。因此, MST从媒介物组中的46天增加到了用吉西他滨和CBL0137治疗的组中的分别76.5天和74天。可能无法评估双药物治疗组中的MST, 因为该组中的大部分动物存活到了研究结束。但是, 即使不计算MST本身, 也通过以下发现支持了组合治疗的强效力: 没有 (0/5) 媒介物治疗动物存活到研究结束, 而吉西他滨+CBL0137中的3/5动物存活到研究结束。

[0173] 为了比较不同药物治疗的相对抗肿瘤效力, 不仅评估第29天 (可与媒介物对照组进行比较的最近时间点) 的肿瘤生长, 还评估了第57天 (治疗期结束后一个月) 和第71天 (比较的组中具有用于分析的足够剩余小鼠的最近时间点) 的肿瘤生长, 此时所有组中的肿瘤再次开始生长并且组间差异更明显。这些分析 (第29天的平均肿瘤生长倍数以及第57天和第71天的平均肿瘤生长) 以及动物存活时间 (MST) 的分析表明, 测试的单药物治疗吉西他滨和CBL0137的抗肿瘤效果没有差异。

[0174] 吉西他滨、CBL0137及其组合的比较表明, 在所有三个分析的时间点 (第29天、57天和71天), 组合组中的平均肿瘤生长倍数较低, 然后是吉西他滨组和CBL0137组。例如, 在组间差异最明显的后一时间点, 第57天的平均肿瘤生长倍数值为: 组合治疗为 0.75 ± 0.13 , 吉西他滨治疗为 7.91 ± 2.7 , CBL0137治疗为 10.95 ± 3.1 ; 第71天的相应平均肿瘤生长倍数值为 2.22 ± 0.94 、 12.98 ± 3.9 和 16.13 ± 5.7 。如上所述, 吉西他滨和CBL0137单一疗法之间平

均肿瘤生长倍数的差异在任何时间点都不明显。吉西他滨组和组合组之间肿瘤生长的差异在第57天和第71天明显(5-10倍)(第71天的差异为 $P=0.072$)。由于CBL0137单一疗法与吉西他滨单一疗法相比稍微更低的效力,CBL0137组和组合组之间肿瘤生长的差异为:D57肿瘤生长倍数 $P=0.0085$,D71肿瘤生长倍数 $P=0.0065$ 。还通过动物存活的差异指示了吉西他滨+CBL0137组合相对于任一单独药物的增强的效力。尽管不能计算和评估组合治疗组(MST(因为大部分动物存活到了研究结束),但是相比于吉西他滨组(1/4动物存活到第88天,MST=76.5天)和CBL0137组(0/5动物存活到第88天,MST=74天),组合组中的存活延长(4/5动物存活到了第88天的研究结束,MST>88天)。不希望受到理论的约束,这些结果表明,尽管CBL0137和吉西他滨二者作为单药剂对于对抗PDA#13590肿瘤生长有效,但是其组合导致增强的效力。尽管与CBL0137单一疗法相比药物组合的有益效果仅仅是统计学显著的,但是该效果与吉西他滨单一疗法相比也是显著的。不希望受到理论的约束,这些结果表明,尽管CBL0137和吉西他滨二者作为单药剂对于对抗PDA#13590肿瘤生长有效,但是其组合导致增强的效力。

[0175] 图10图A示出了H1975NSCLC研究1的每个研究组中肿瘤生长的动力学。选择第22天用于分析平均肿瘤生长倍数,因为这是所有治疗组中具有足够数据点的最近时间。这种分析表明与媒介物治疗相比,所有测试的治疗方案提供了抗肿瘤效力。第22天的平均肿瘤生长倍数从媒介物治疗组1中的15.2降低到单独CBL0137、单独吉西他滨或两者组合的药物治疗组中的分别2.2、2.7和1.4。最有效的方案是CBL0137+吉西他滨组合,然后是CBL0137单一疗法,然后是吉西他滨单一疗法,其分别对应于第22天的肿瘤生长抑制90.8%、85.3%和82.6%。图10的图A中示出的肿瘤生长动力学还指示了随后时间点更大的分离。在第29天(治疗期结束)和第40天重复分析平均肿瘤生长倍数,其中单药物治疗的动物的肿瘤以指数方式生长,而组合治疗的动物没有。这些分析表明,在随后这两个时间点,高剂量的CBL0137+吉西他滨组合在抑制H1975肿瘤生长中比任一作为单一疗法施用的药物更有效。

[0176] 通过评估的肿瘤生长的其他参数确认了所有方案的抗肿瘤效力,包括达到终点的时间、生长延迟、T/C%和中值存活时间(MST)。例如,MST从媒介物对照组1中的22天增加到了CBL0137、吉西他滨或两者组合的药物治疗组中的分别45.5天、51.5天、56天。如上文讨论的,说明研究中小鼠存活动力学的存活曲线示出在图8的图A中。

[0177] 图10的图B示出了H1975NSCLC研究2的每个研究组中肿瘤生长的动力学。对于评估所有测试治疗的抗肿瘤效力,选择第5天用于分析平均肿瘤生长倍数,因为这是所有治疗组中具有足够数据点的最近时间。分析表明与媒介物治疗相比,所有测试的治疗方案提供了显著的抗肿瘤效力。第5天的平均肿瘤生长倍数从媒介物治疗组1中的1.76倍降低到所有其他研究组中的<1.0倍($P<0.0001$)。平均肿瘤生长倍数<1.0表明肿瘤消退,并且事实上,在CBL0137、吉西他滨和两者组合中分别有6/9、9/10和9/10个体肿瘤在第5天时比其在第1天治疗开始时更小(相比于组1中1/9)。还通过MST的增加反映了CBL0137、吉西他滨和CBL0137+吉西他滨治疗的抗肿瘤效力。尽管媒介物治疗组1中的MST为16天,其在CBL0137、吉西他滨和CBL0137+吉西他滨中分别延长到了40天、48.5天和66天(每个药物治疗组与媒介物组相比 $P<0.0001$)。

[0178] 还在第15天(组中具有用于药物治疗组与媒介物组的比较的足够动物的最后一天)和第39天(组中具有用于药物治疗组之间的比较的足够动物的最后一天)进一步分析了

CBL0137、吉西他滨和CBL0137+吉西他滨的效力。CBL0137、吉西他滨和CBL0137+吉西他滨组与媒介物组相比,如在第5天看到的,所有三个药物治疗方案在第15天的平均肿瘤生长倍数降低。因此,CBL0137、吉西他滨和CBL0137+吉西他滨中的平均肿瘤生长倍数分别为0.92倍、0.958倍和0.461倍,相比之下媒介物治疗组1中为8.52倍(每个药物治疗组与媒介物组相比 $P<0.0001$)。这分别对应于CBL0137、吉西他滨和两者组合中第15天89.2%、88.8%和94.6%的肿瘤生长抑制。通过另外的肿瘤生长参数确认了CBL0137、吉西他滨和CBL0137+吉西他滨方案的强效抗肿瘤效力,包括达到终点的时间和生长延迟,以及T/C%。达到终点的中值时间从用媒介物治疗的15.6天增加到了用CBL0137、吉西他滨和CBL0137+吉西他滨治疗中的分别39.5天、47.8天和66.2天(每个药物治疗组与媒介物组相比 $P<0.0001$)。这对应于肿瘤生长延迟(相对于媒介物治疗):CBL0137延迟23.9天,吉西他滨延迟32.2天,CBL0137+吉西他滨延迟50.5天。如上所述,本研究中增加的MST(相对于媒介物治疗)另外指示了CBL0137、吉西他滨和CBL0137+吉西他滨的抗肿瘤效力。

[0179] 进一步分析了CBL0137、吉西他滨或两者的组合以确定CBL0137和吉西他滨的组合是否导致与任一单药物治疗相比增强的效力。在研究后期,特别是在第29天治疗期结束后,两个单药物治疗组的肿瘤开始以更快速率生长,而CBL0137+吉西他滨组中的那些继续被抑制。因此,在第39天(组中具有用于比较的足够存活动物的研究的最后一天),CBL0137+吉西他滨治疗组中的平均肿瘤生长倍数(0.48倍)低于CBL0137治疗组(5.7倍, $P=0.0004$)和吉西他滨治疗组(3.66倍, $P=0.0064$)。这些组达到终点的中值时间值的比较给出了相同结果:CBL0137和吉西他滨组之间没有差异,但是两种药物的组合导致达到终点的中值时间与任一单药物治疗相比增加。同样地,CBL0137和吉西他滨单一疗法组之间的MST没有差异(分别为40和48.5天, $P=0.2087$),而吉西他滨单一疗法与CBL0137+吉西他滨组合组之间具有很大差异(48.5天相较于66天; $P<0.0001$),并且CBL0137单一疗法与CBL0137+吉西他滨组合组之间接近显著(40天相较于66天; $P=0.0603$)。CBL0137单一疗法组中一个具有肿瘤的小鼠存活到了研究结束(第89天)。但是,在研究结束对小鼠实施安乐死时,这只小鼠(来自CBL0137治疗组)中的肿瘤接近大小终点(1643mm^3)。

[0180] 总之,不希望受到理论的约束,PDA研究表明,除了CBL0137单一疗法以外,所有药物治疗(单一疗法以及双药物组合)均有效针对来源于患者的PDA#13756肿瘤移植物。发现吉西他滨+CBL0137的组合比任一单独药物更有效。这种治疗方案导致完全的肿瘤抑制,其在治疗期结束后保持约2周。支持PDA研究的结果,不希望受到任何理论的约束,PDA结果还表明所有药物治疗(单一疗法以及双药物组合)均有效针对来源于患者的PDA肿瘤移植物。测试的单药物方案(吉西他滨和CBL0137)同等有效,CBL0137+吉西他滨双药物方案比作为单一疗法施用的相应药物更有效。

[0181] 另外,不希望受到理论的约束,H1975NSCLC研究1分析表明,CBL0137+吉西他滨的组合在抑制H1975肿瘤生长中比任一作为单一疗法施用的药物更有效。支持这些结果,不希望受到任何理论的约束,H1975NSCLC研究2数据也表明,用CBL0137+吉西他滨的组合治疗产生了比任一单药物更高的效力。通过在研究的治疗阶段结束以后维持肿瘤抑制/消退的能力说明了药物组合的抗肿瘤效果的强度(在研究的第39天,平均肿瘤体积为初始体积的约1/2)。

[0182] 在体外进行与上文类似的小鼠研究以确定CBL0137+吉西他滨组合治疗在肿瘤抑

制中的可能机制。图11(图A-B)示出了用媒介物、2 μ M CBL0137、2-25 μ M吉西他滨或CBL0137+吉西他滨治疗进行治疗的具有PDA和H1975NSCLC肿瘤的小鼠的蛋白质印迹的结果。具体地,蛋白质印迹监测药物治疗对于体外胰腺(MiaPaca2(图11,图A)和BxPC3(图11,图B)以及NSCLC(H1975(图11,图C)和A549(图11,图D)中CBL0137活性标记(SPT16和SSRP1)以及吉西他滨活性标记(ENT1,R1和R2)的表达的影响。细胞被处理2h(SPT16、SSRP1)或24h(ENT1,R1和R2)。接种之后,使用1 \times CCLR加上蛋白酶和磷酸酶抑制剂制备可溶性蛋白裂解物。通过ECL使特定蛋白质带可视化。GAPDH在实验中用负载对照。不希望受到理论的约束,CBL0137或组合治疗不影响ENT1,相反,在组合时CBL0137阻断R1和R2(核糖核苷酸还原酶亚基)的诱导。作为单一治疗,CBL0137也表现为造成R1亚基减少,在PDA中的影响比在NSCLC中更突出。

[0183] 进行另外的体外研究以阐明CBL0137+吉西他滨组合治疗在肿瘤抑制中的可能机制。图12(图A-F)示出了在用2 μ M CBL0137、2-25 μ M吉西他滨或其组合治疗之后,CBL0137 \pm 吉西他滨治疗对于NSCLC和PDA细胞系中CDA和dCK(两种吉西他滨敏感性相关基因)表达的影响。利用用基因特异性引物和探针的实时PCR测量表达。后者用FAM标记。B₂微球蛋白用作对照基因。通过 $\Delta\Delta$ Ct方法确定表达水平。误差线表示平均值的标准误差。不希望受到理论的约束,CBL0137消除H1975NSCLC和MiaPaca2PDA细胞系中CDA(胞苷脱氨酶)的表达,但是不影响dCK(脱氧胞苷激酶)。CBL0137对A549中的CDA没有影响。这种细胞系不太响应于CBL0137,并且在一个移植物试验中耐吉西他滨。

[0184] 总之,不希望受到理论的约束,两种体外实验表明,CBL0137可通过下调参与吉西他滨敏感性/抗性的基因/蛋白质(例如,胞苷脱氨酶和核糖核苷酸还原酶亚基)来增强吉西他滨的抗肿瘤活性。

[0185] 定义

[0186] 以下定义结合本文公开的发明使用。除非另外定义,否则本文使用的所有科技术语具有与本发明所属领域的技术人员的通常理解相同的含义。

[0187] 如本文所用,“一个”、“一种”或“所述”可意指一种或一种以上。

[0188] 另外,当结合参考数字标识使用时,术语“约”意指参考数字标识加上或减去参考数字标识的最多10%。例如,“约50”包括45至55的范围。

[0189] 当结合医学用途使用时,“有效量”是有效提供可测量的治疗、预防、或降低目标疾病(例如,癌症)的发病速度的量。

[0190] 本文提到的所有组成百分比均是总组合物的按重量计,除非另有说明。本文使用的词语“包括”及其变化形式预期非限制性的,使得列表中记载的项并不排除可用于该技术的组合物和方法的其他类似项。同样地,术语“可”和“可以”及其变化形式确定为非限制的,使得实施方案可或可以包含某些元素或特征的记载并不排除不包含那些元素或特征的本技术的其他实施方案。

[0191] 尽管本文使用了开放式术语“包括”作为术语如包含、含有或具有的同义词描述和要求保护本发明,但是本发明或其实施方案也可以可替代性地使用可替代的术语如“由……组成”或“基本上由……组成”来描述。

[0192] 本文使用的词语“优选”和“优选地”指在某些情况下提供具有某些益处的技术的实施方案。但是,在相同或其他条件下其他实施方案也可能是优选的。另外,一个或多个优选实施方案的记载并不意味着其他实施方案不可用,并且并没有意在从技术范围内排除其

他实施方案。

[0193] 获得治疗效果所需的本文所述组合物的量可以根据用于特定目的的常规方法凭经验确定。通常,对于为了治疗目的施用治疗剂(例如CBL0137(和/或本文所述的另外药剂)),以药理学有效剂量给予治疗剂。“药理学有效量”、“药理学有效剂量”、“治疗有效量”或“有效量”是指足以产生期望的生理效果的量或者能够实现期望结果(特别是治疗病症或疾病)的量。本文使用的有效量可包括足以产生以下结果的量:例如延迟病症或疾病的症状的进展、改变病症或疾病的症状的进程(例如,减慢疾病症状的发展)、降低或消除病症或疾病的一种或多种症状或临床表现,以及逆转病症或疾病的症状。例如,向患有癌症的患者施用治疗剂提供了治疗益处,所述治疗益处不仅在于当潜在病症消除或改善时,还在于当患者报道了疾病相关症状的严重程度或持续时间降低,例如肿瘤负荷降低、循环肿瘤细胞减少、无进展生存期延长时。治疗益处还包括停止或减慢原疾病或病症的进展,而不论是否实现改善。

[0194] 有效量、毒性和治疗效果可通过标准药理学方法在细胞培养物或实验动物中确定,例如,确定LD50(使群体中的约50%致死的剂量)和ED50(在群体中的50%中治疗有效的剂量)。剂量可根据所使用的剂型和使用的施用途径改变。毒性效果和治疗效果之间的剂量比率是治疗指数,并且可以表示为比率LD50/ED50。在一些实施方案中,表现出高治疗指数的组合物和方法是优选的。可以通过体外测定,包括例如细胞培养物测定来初步评估治疗有效剂量。另外,可以在动物模型中调制剂量以实现循环血浆浓度范围,所述范围包含在细胞培养物中或在合适的动物模型中确定的IC50。可以例如通过高效液相色谱测量血浆中所述组合物的水平。可以通过合适的生物测定来监测任何特定剂量的效果。可以由医师确定剂量并且必要时调整以适合于观察的治疗效果。

[0195] 在某些实施方案中,效果可导致至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约50%、至少约70%或至少约90%的可量化变化。在一些实施方案中,效果将导致约10%、约20%、约30%、约50%、约70%或甚至约90%或更高的可量化变化。治疗益处也包括停止或减慢原疾病或病症的进展或降低毒性,而不论是否实现改善。

[0196] 在某些实施方案中,治疗癌症的药理学有效量将使症状通常调节至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%或至少约50%。在示例性的实施方案中,这样的调节将导致例如本文所述癌细胞或毒性标记的数目统计学显著的且可量化的变化(例如,血液试验中的某些细胞的数目、血液试验中肝酶的数目等)。

[0197] 等同方案

[0198] 尽管已经结合本发明的特定实施方案描述了本发明,但是将理解的是,可以进行进一步的修改并且本申请旨在涵盖通常遵循本发明的原理的并且包括了相对于本发明的偏离的本发明的任何变化、用途或改编,所述偏离在本发明所属领域已知或在惯常实践的范围内并且适于本文给出的基本特征且遵循所附权利要求的范围。

[0199] 本领域技术人员将承认或能够仅使用常规实验确定本文具体描述的特定实施方案的众多等同方案。这些等同方案旨在涵盖于以下权利要求的范围内。

[0200] 通过引用并入

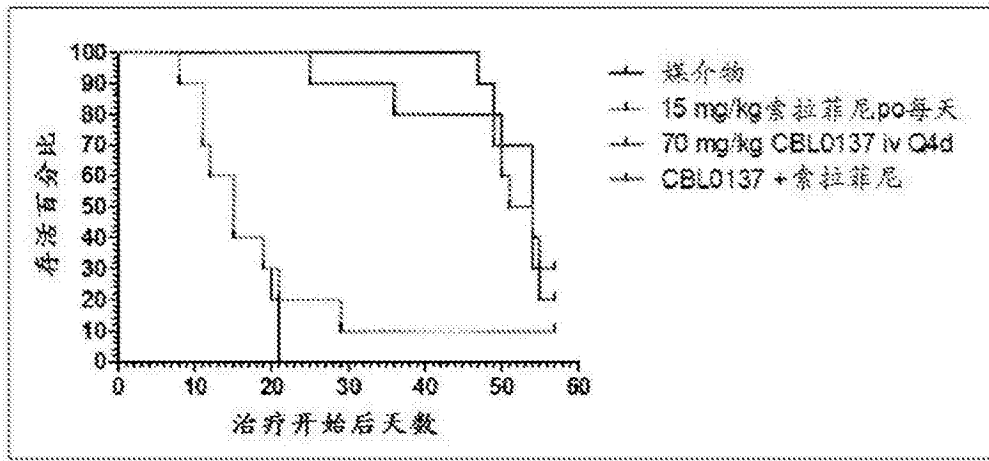
[0201] 本文引用的所有专利和出版物均通过引用整体并入本文。

[0202] 提供本文讨论的出版物仅因为其公开内容早于本申请的申请日。本文没有内容可

以解释为承认本发明没有权利凭借在先发明而早于这些出版物。

[0203] 本文使用的所有小标题仅仅是为了组织结构,而不是意在以任何方式限制本公开。任何单独部分的内容可同样地适用于所有部分。

A



B

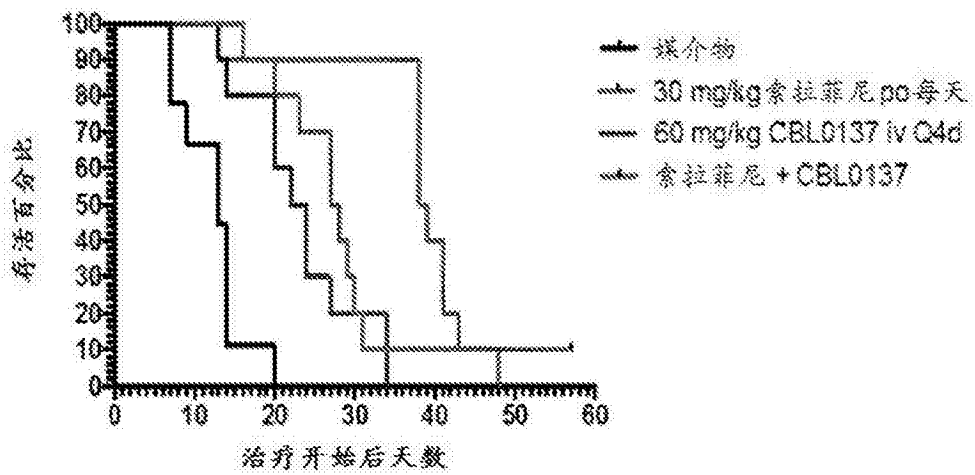
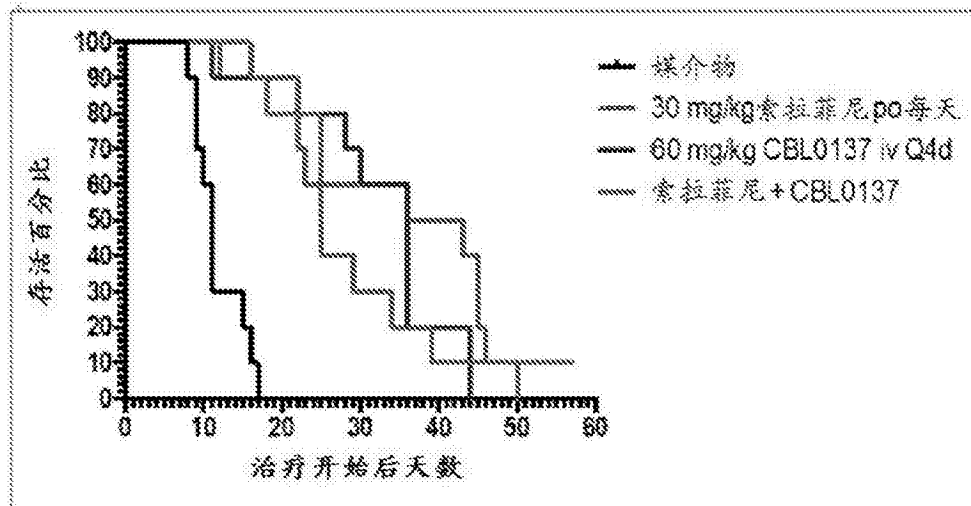


图1

A



B

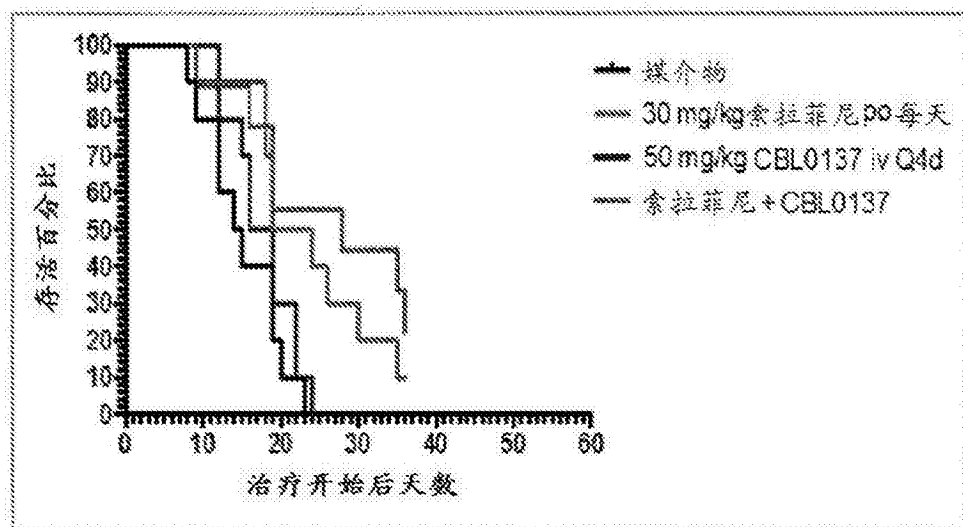


图2

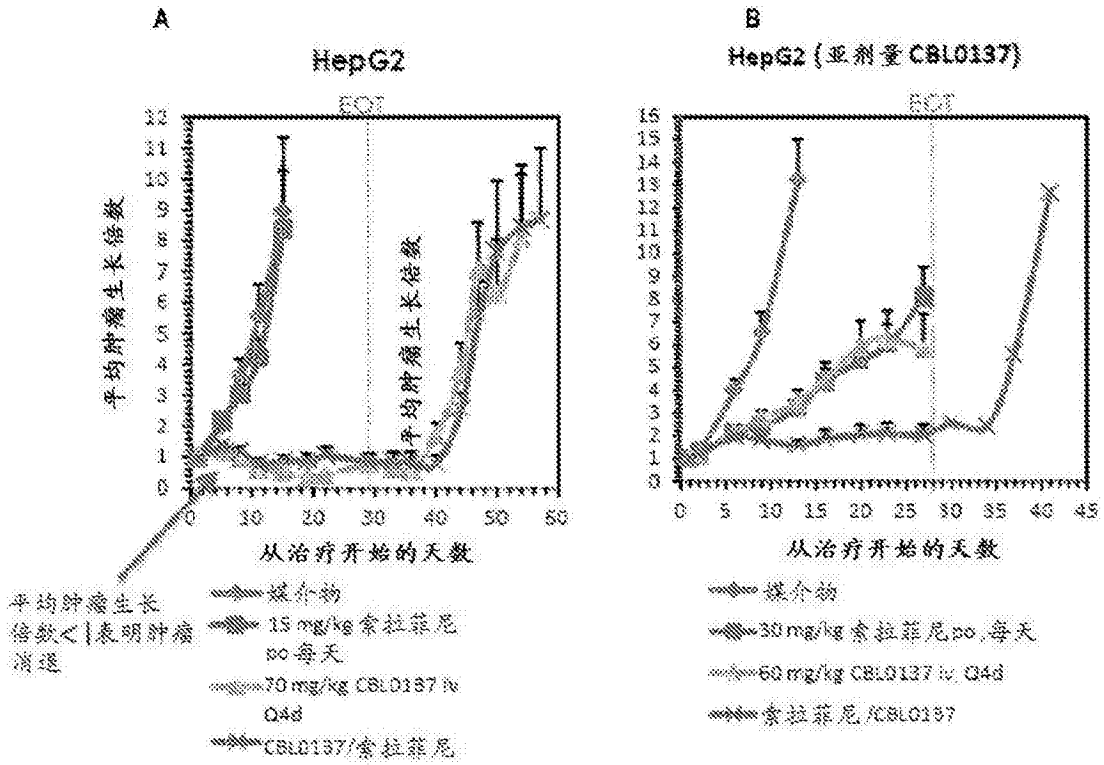


图3

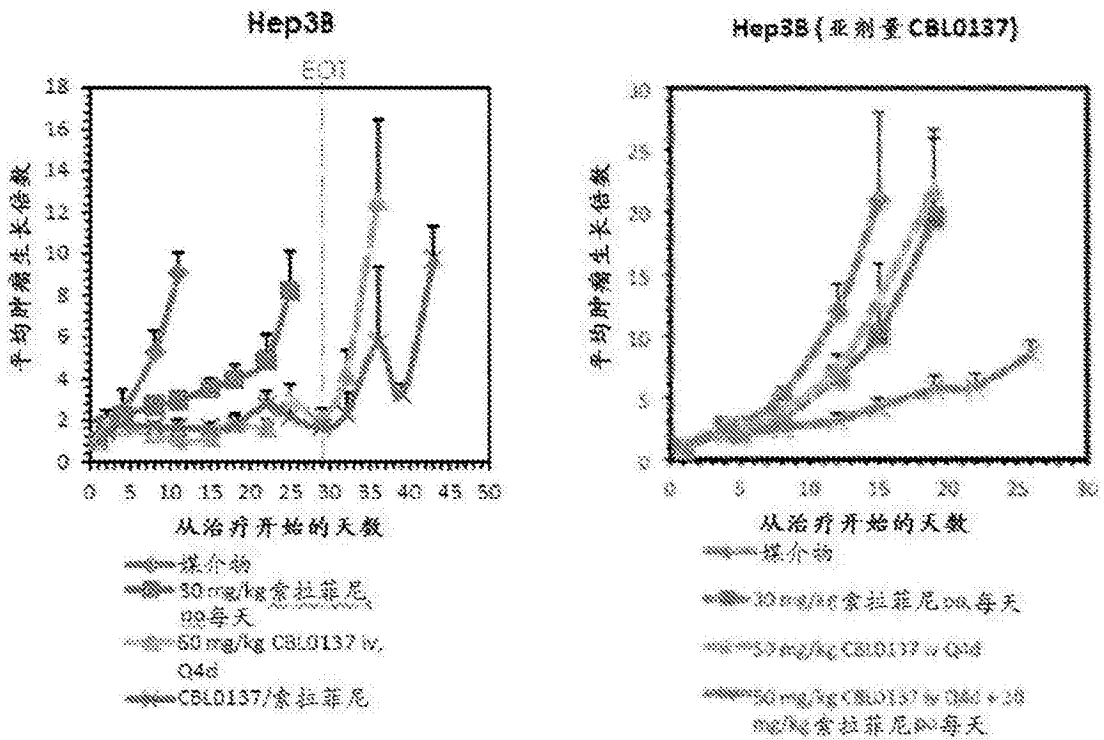


图4

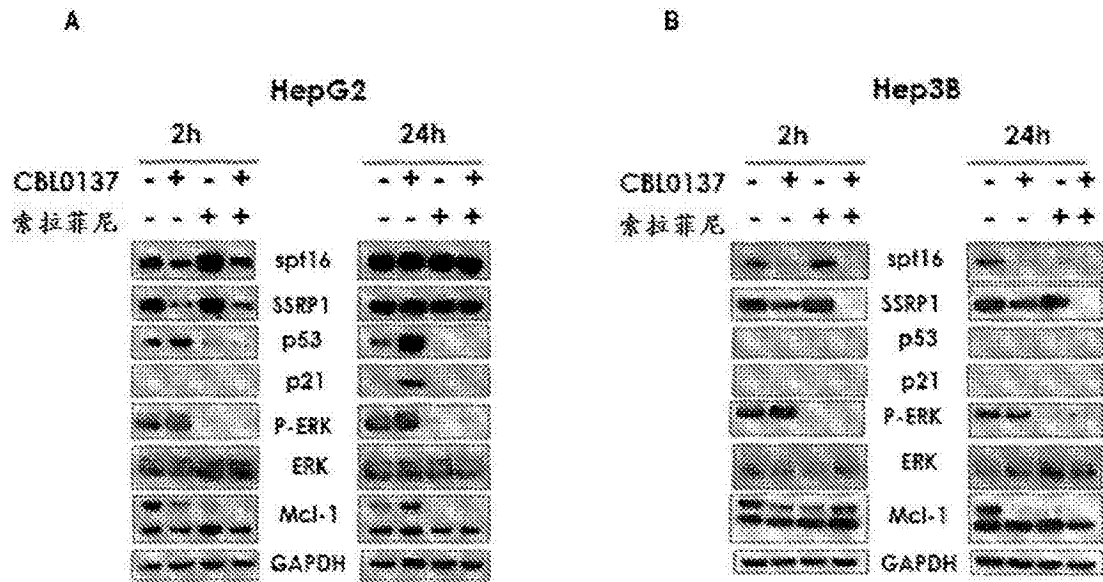


图5

对NF- κ B靶基因的影响

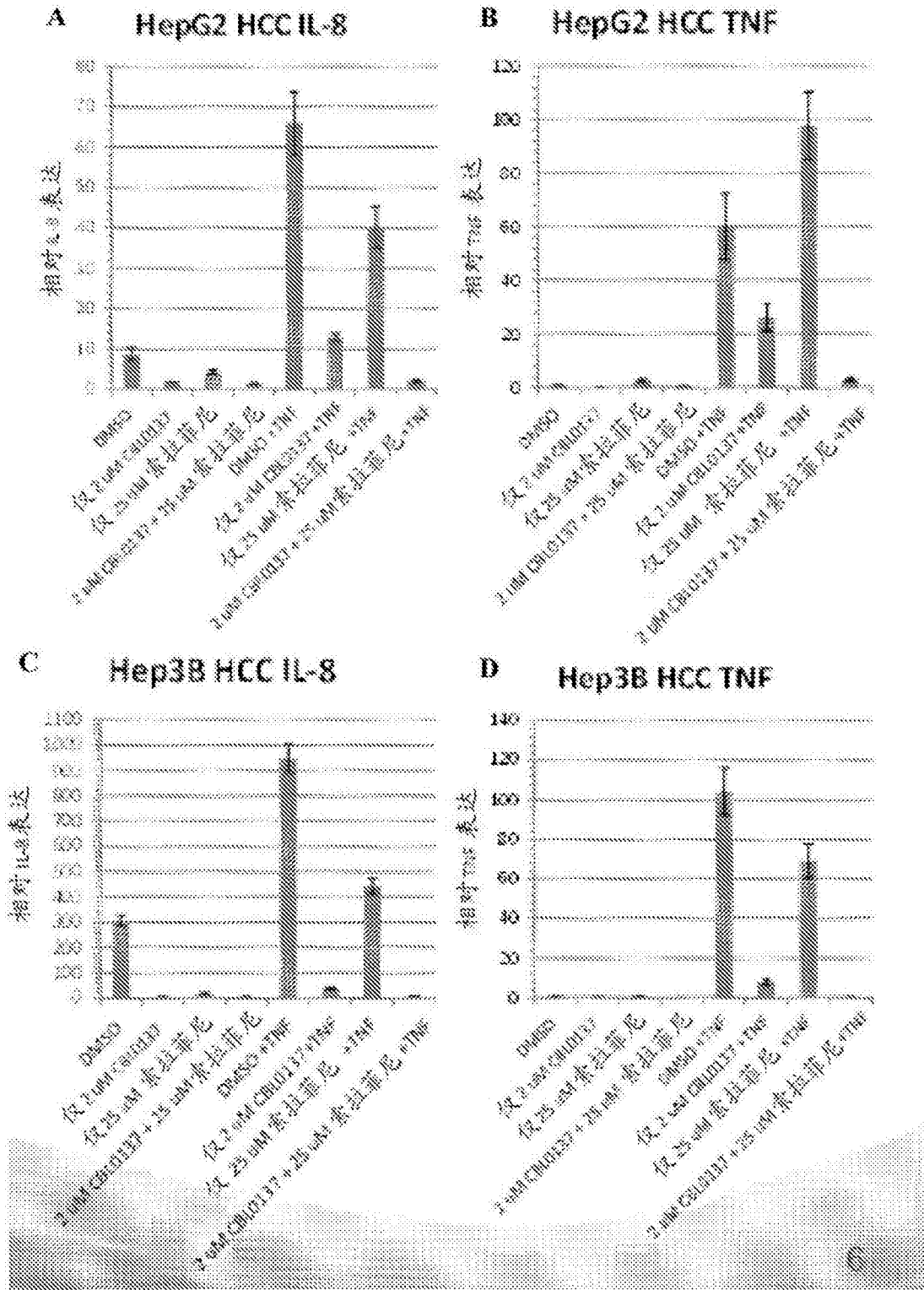


图6

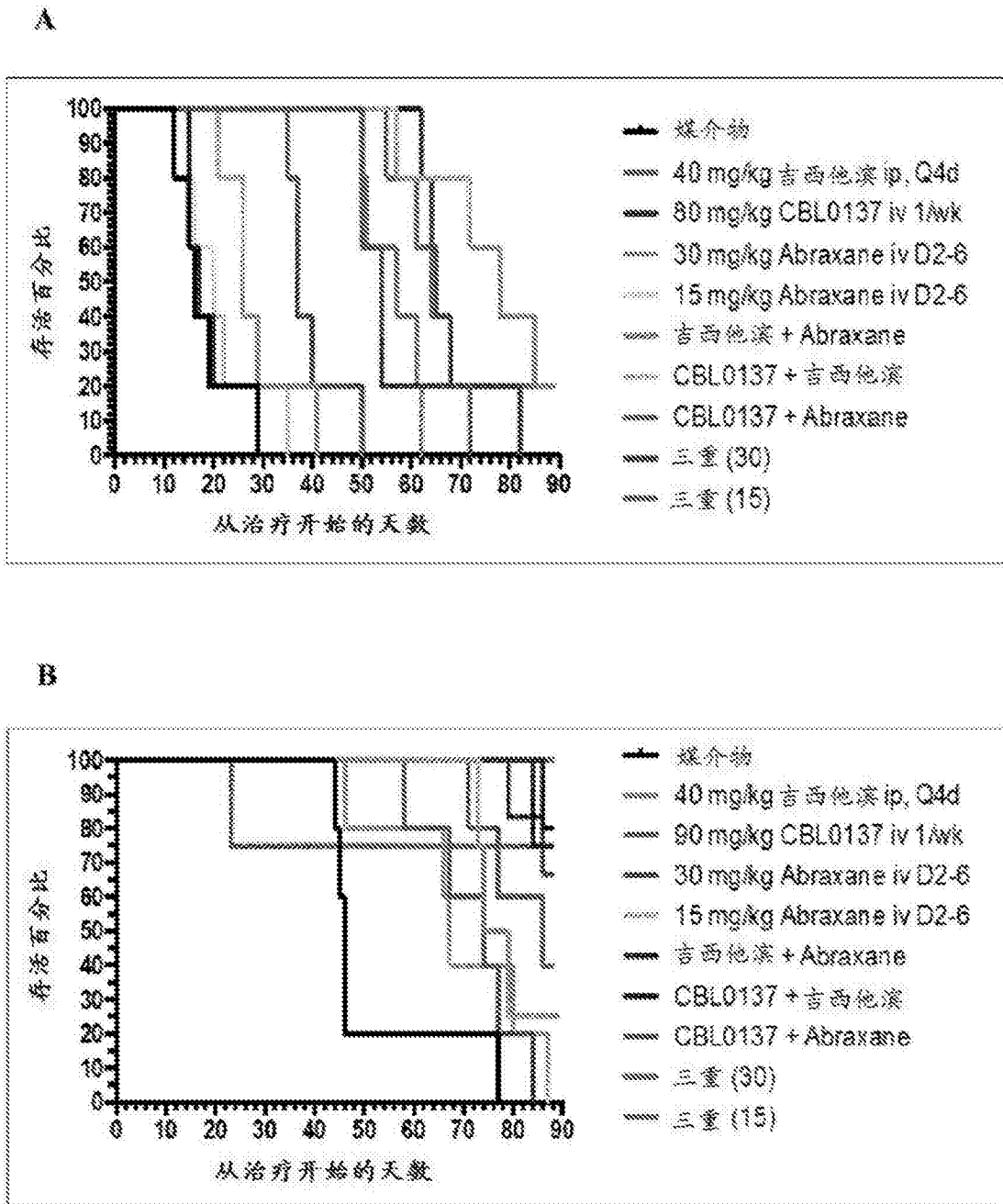


图7

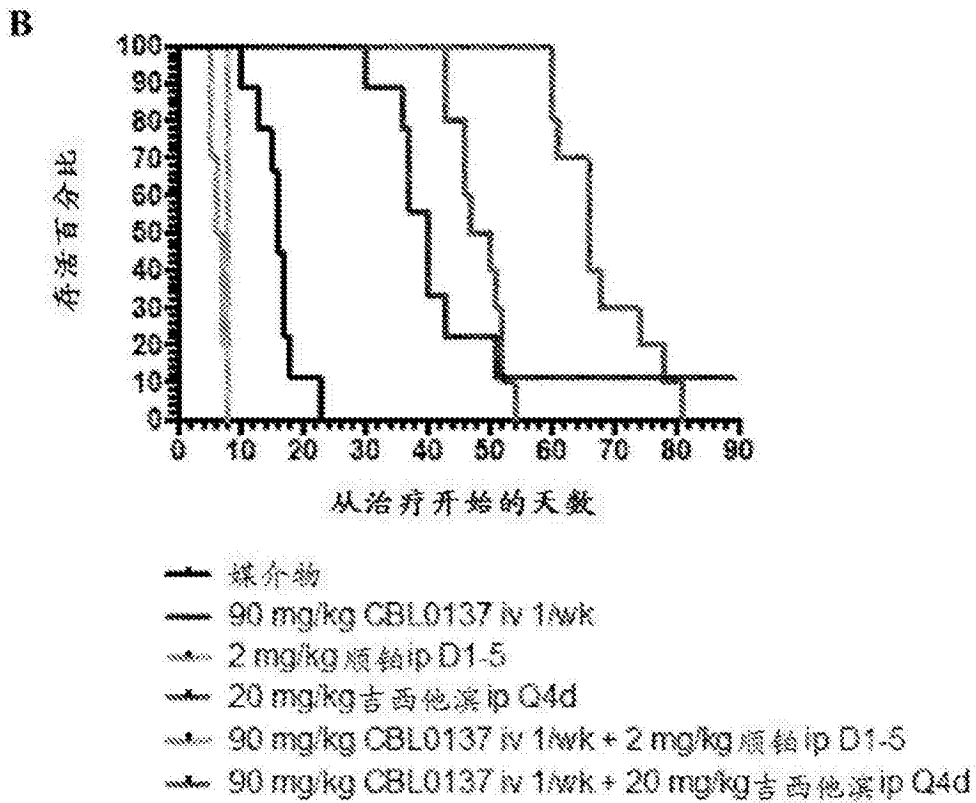
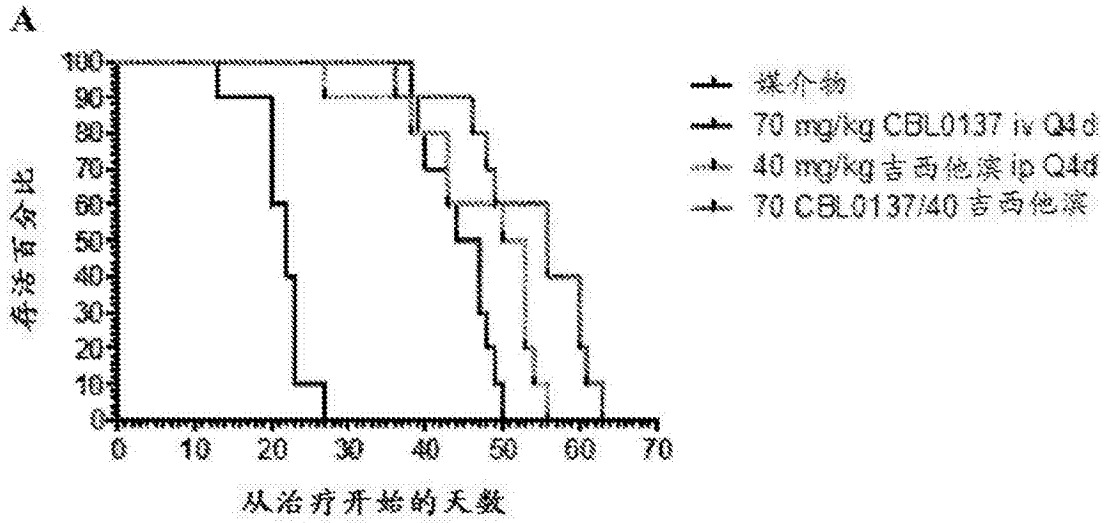


图8

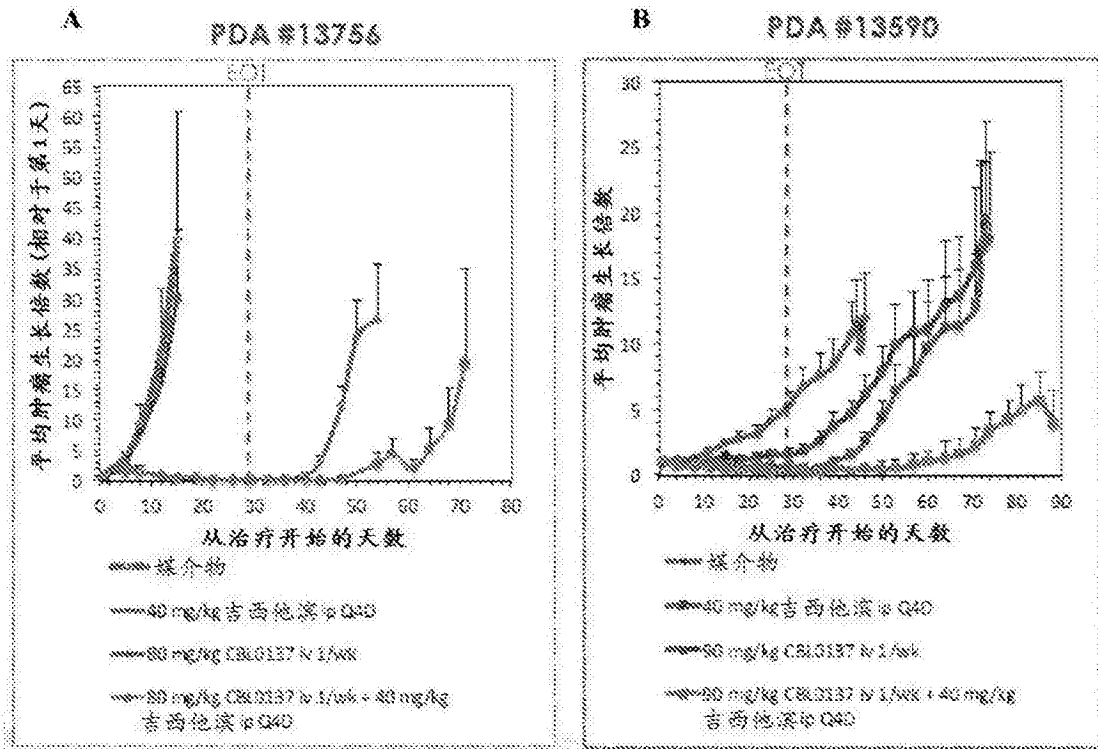


图9

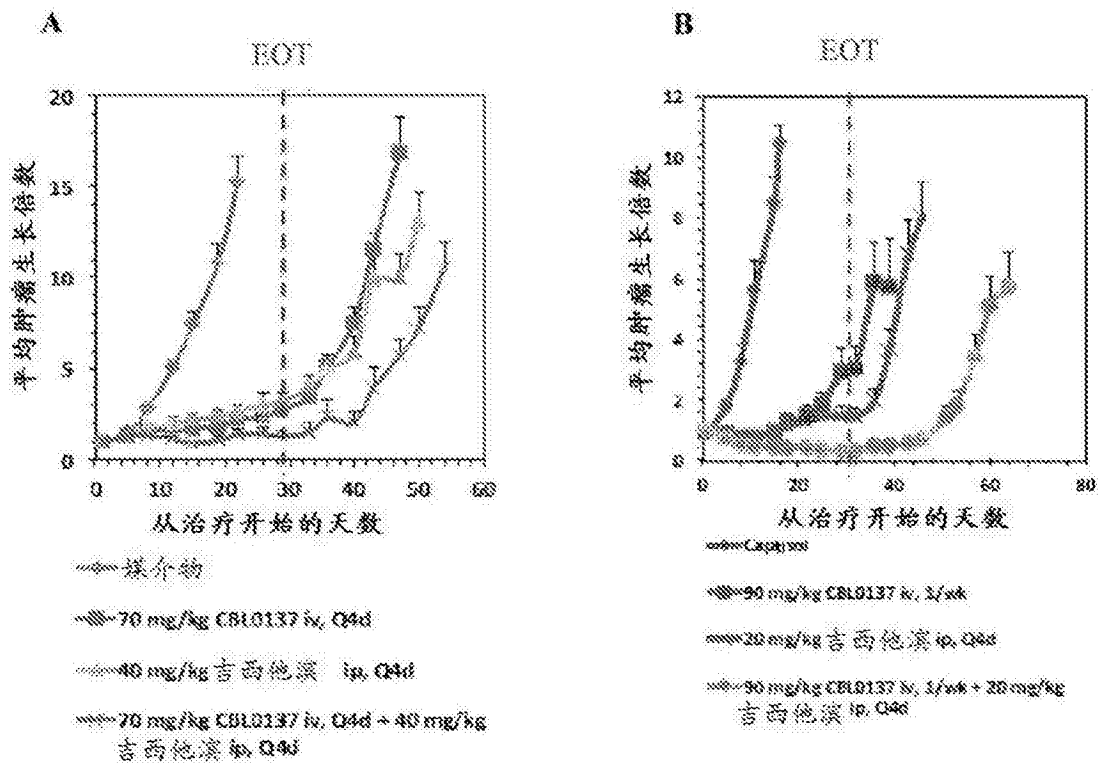


图10

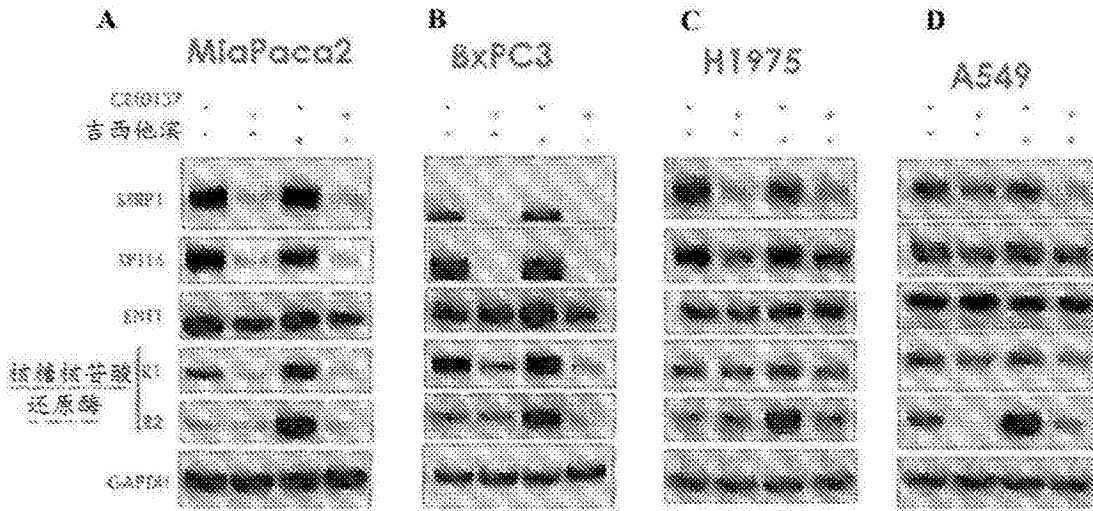


图11

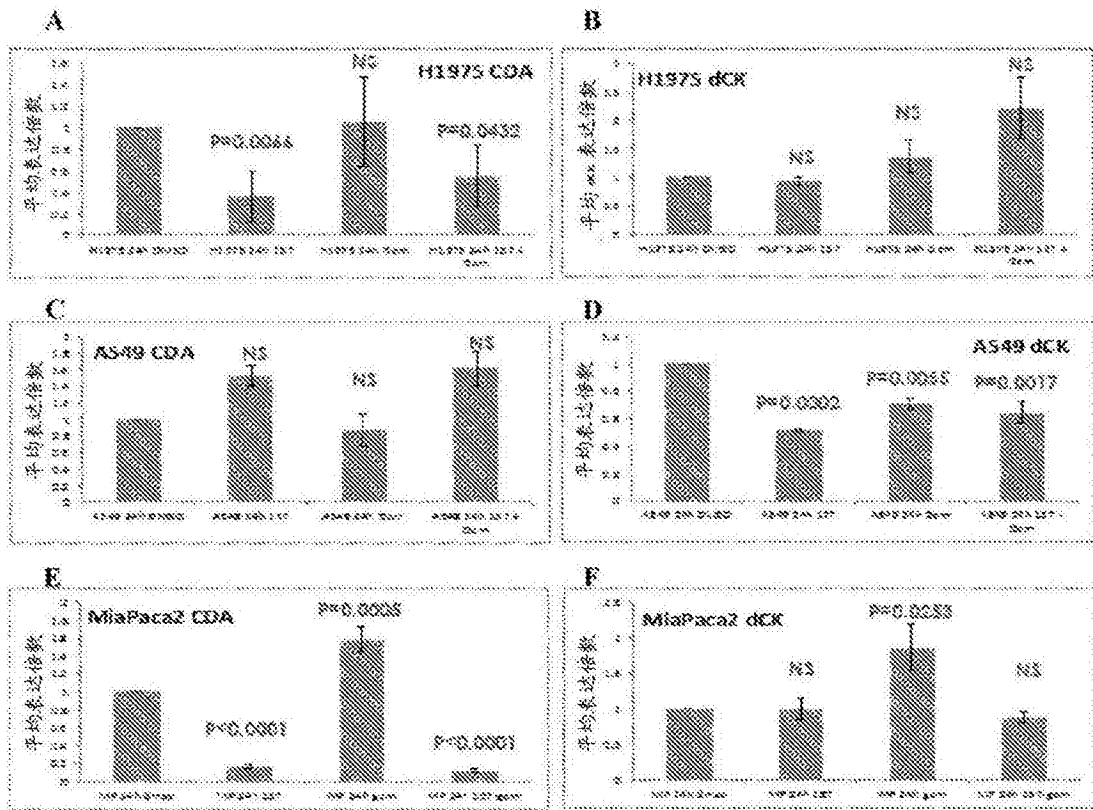


图12