



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113286614 A

(43) 申请公布日 2021.08.20

(21) 申请号 201980077396.0

(22) 申请日 2019.09.26

(30) 优先权数据

62/736,699 2018.09.26 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.05.25

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2019/076116 2019.09.26

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/064971 EN 2020.04.02

(71) 申请人 默克专利股份有限公司

地址 德国达姆施塔特

申请人 辉瑞公司

(72) 发明人 M·阿利姆扎诺夫 P·苏拉尔

F·岑克 H·达门 A·齐默尔曼

A·施罗德 K·塔贾利梅尔

M·法尔克

(74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

72002

代理人 王健

(51) Int.Cl.

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 31/00 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

权利要求书2页 说明书62页

序列表7页 附图16页

(54) 发明名称

用于治疗癌症的PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质的组合

(57) 摘要

本发明涉及用于治疗癌症的组合疗法。特别地,本发明涉及包含PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质的治疗组合。

1. PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质,其用于治疗癌症的方法。
2. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述PD-1拮抗剂是抗PD-L1抗体或其抗原结合片段,其包含重链和轻链,所述重链包含具有SEQ ID NO:1、2和3的氨基酸序列的三个互补决定区,所述轻链包含具有SEQ ID NO:4、5和6的氨基酸序列的三个互补决定区。
3. 根据权利要求1或2所述的化合物,其中所述ATR抑制剂选自化合物1或其药学上可接受的盐、化合物2或其药学上可接受的盐、化合物3或其药学上可接受的盐、化合物4或其药学上可接受的盐、以及化合物5或其药学上可接受的盐。
4. 根据权利要求1至3中任一项所述的化合物,其中所述铂化物质选自顺铂、卡铂和奥沙利铂。
5. 根据权利要求1至4中任一项所述的化合物,其中所述抗PD-L1抗体是avelumab,所述ATR抑制剂是化合物1或其药学上可接受的盐,并且所述铂化物质是卡铂。
6. 根据权利要求1至5中任一项所述的化合物,其中所述癌症选自肺癌、头颈癌、结肠癌、尿路上皮癌、前列腺癌、食道癌、膀胱癌、胃癌、神经内分泌系统癌、间充质癌、乳腺癌、卵巢癌、原发性腹膜癌、输卵管癌、胰腺癌,以及它们的组织学亚型。
7. 根据权利要求1至6中任一项所述的化合物,其中所述癌症是选自卵巢癌、原发性腹膜癌和输卵管癌的PARPi抗性复发性癌。
8. 根据权利要求1至7中任一项所述的化合物,其中所述PD-1拮抗剂是avelumab并且以约1600mg的剂量Q3W施用,所述铂化物质是卡铂并且以约5mg/mL·min的目标AUC的剂量Q3W施用,并且所述ATR抑制剂是化合物1并且以约90mg/m²的剂量Q3W施用。
9. 根据权利要求1至8中任一项所述的化合物,其中所述治疗方法包括先导阶段,在所述先导阶段完成之后任选地跟随有维持阶段。
10. 根据权利要求9所述的化合物,其中所述PD-1拮抗剂、所述ATR抑制剂和所述铂化物质在所述先导阶段期间施用,而在所述维持阶段期间施用所述PD-1拮抗剂但不施用所述ATR抑制剂和所述铂化物质。
11. 一种组合,其包含PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质。
12. 一种药盒,其包含PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质。
13. 一种包含PD-1拮抗剂和药品说明书的药盒,所述药品说明书包括将所述PD-1拮抗剂与铂化物质和ATR抑制剂组合使用以治疗或延缓对象的癌症的进展的说明。
14. 一种包含铂化物质和药品说明书的药盒,所述药品说明书包括将所述铂化物质与PD-1拮抗剂和ATR抑制剂组合使用以治疗或延缓对象的癌症的进展的说明。
15. 一种包含ATR抑制剂和药品说明书的药盒,所述药品说明书包括将所述ATR抑制剂与PD-1拮抗剂和铂化物质组合使用以治疗或延缓对象的癌症的进展的说明。
16. 一种用于广告宣传将PD-1拮抗剂与铂化物质和ATR抑制剂组合的方法,其包括向目标受众推广所述组合用于治疗患有癌症的对象的用途。
17. 一种用于测量对象对用PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质治疗的应答的方法,其包括以下步骤:
 - a. 在用所述PD-1拮抗剂、所述ATR抑制剂和所述铂化物质治疗患有癌症的对象之后,测量所述对象中一种或多种干扰素的表达水平;
 - b. 将所述表达水平与所述一种或多种干扰素的对照表达水平进行比较;其中如果所述

患有癌症的对象中所述一种或多种干扰素的表达水平超过所述一种或多种干扰素表达的对照水平,则所述患有癌症的对象对所述治疗有应答,并且如果所述患有癌症的对象中所述一种或多种干扰素表达的水平未超过所述一种或多种干扰素表达的对照水平,则所述患有癌症的对象对所述治疗无应答。

用于治疗癌症的PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质的组合

技术领域

[0001] 本发明涉及可用于治疗癌症的治疗组合。特别地，本发明涉及治疗组合，其包含PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质(platinating agent)。

背景技术

[0002] T细胞共刺激机制因其增强基于细胞的免疫应答的潜力而在近年来获得显著的治疗关注。抗原递呈细胞(APC)上表达的共刺激分子促进和诱导T细胞促进克隆扩增、细胞因子分泌和效应子功能。在缺乏共刺激的情况下，T细胞可能变得对抗原刺激治疗无反应(refractory)，无法产生有效的免疫应答，并且可能进一步导致耗竭或对外来抗原的耐受(Lenschow et al., Ann.Rev.Immunol. (1996) 14:233)。最近，已经发现T细胞功能障碍或无反应性与抑制性受体程序性死亡-1多肽(PD-1)的诱导和持续表达同时发生。程序性死亡1(PD-1)受体和PD-1配体1和2(分别为PD-L1和PD-L2)在免疫调节中发挥不可或缺的作用。在活化的T细胞上表达的PD-1被PD-L1(也称为B7-H1)活化，而PD-L2被基质细胞、肿瘤细胞或两者表达，这引发T细胞死亡和局部免疫抑制(Dong et al. (1999) Nat Med 5:1365; Freeman et al. (2000) J Exp Med 192:1027)、潜在地为肿瘤进展和生长提供免疫耐受环境。相反，抑制这种相互作用可以增强局部T细胞应答并介导非临床动物模型中的抗肿瘤活性(Iwai et al. (2002) PNAS USA99:12293)。因此，正在针对各种癌症研究目标是PD-1/PD-L1轴的许多单克隆抗体(mAb)药物，并且数百项抗PD-1和抗PD-L1单克隆抗体的临床试验正处于积极发展中。

[0003] 在范围广大的癌症中以高频率表达PD-L1，在某些类型的癌症中该频率高达88%。在许多这些癌症中，包括肺癌、肾癌、胰腺癌和卵巢癌，PD-L1的表达与存活率降低和不佳的预后相关。有趣的是，大多数肿瘤浸润性T淋巴细胞主要表达PD-1，与正常组织和外周血T淋巴细胞中的T淋巴细胞相反，表明PD-1在肿瘤反应性T细胞上的上调可能导致受损的抗肿瘤免疫应答(Ahmadzadeh et al. (2009) Blood 14(8):1537)。这可能是由于PD-L1表达肿瘤细胞介导的PD-L1信号传导与表达PD-1的T细胞相互作用的利用导致T细胞活化减弱和免疫监视逃脱(Keir et al. (2008) Annu.Rev.Immunol. 26:677)。

[0004] 如由铂化物质引起的遗传毒性应激导致了癌细胞中PD-L1表达的上调，这可能限制抗肿瘤免疫。根据几篇报道，通过同时抑制ATR激酶同样逆转PD-L1的上调，该ATR激酶参与DNA双链断裂修复途径(Sato et al. (2017) Nat Commun. Nov 24;8(1):1751; Schaaf et al. AACR, Cancer Res 2016;76(14Suppl):Abstract nr 2223; Teng et al. (2017) Gynecologic Oncology 145(1):37-38)。因此，据信ATR抑制不仅通过抑制DNA修复使癌细胞对铂化物质敏感，而且通过抑制PD-L1表达来恢复抗肿瘤免疫应答。

[0005] 仍然需要开发出用于治疗癌症的新治疗选择。此外，需要比现有疗法功效更高的疗法。本发明的优选组合疗法示出比单独用任一治疗剂治疗更高的功效。

发明内容

[0006] 以下描述的每个实施方案可以与本文描述的与其组合的实施方案不矛盾的任何其他实施方案组合。此外,本文所述的每个实施方案在其范围内设想了本文所述化合物的药学上可接受的盐。因此,短语“或其药学上可接受的盐”隐含在本文所述的所有化合物的描述中。在如下所述方面内的实施方案可以与在相同方面或不同方面内不矛盾的任何其他实施方案组合。

[0007] 尽管现有技术发现由铂化物质诱导的PD-L1上调可以通过用ATR抑制剂同时治疗得以逆转,本发明人惊奇地发现,通过将铂化物质和ATR抑制剂与PD-1途径抑制剂组合施用,组合施用的铂化物质和ATR抑制剂的抗肿瘤活性可进一步增强。

[0008] 不受理论束缚,对增强效应的可能解释包括导致增强的肿瘤抗原呈递/生成的机制或吸引细胞毒性淋巴细胞杀伤肿瘤细胞的细胞因子/趋化因子的诱导。与化疗如铂化物质组合,ATR抑制可以增强细胞杀伤以及损伤相关分子模式(ATP、肌钙网蛋白、HMGB1、HSP70)的暴露,从而导致树突细胞活化和T细胞应答增强,也称为免疫原性细胞死亡。作为复制应激期间DNA损伤应答的关键调节因子,ATR抑制可能导致基因组畸变,这继而可以增加肿瘤细胞的突变负荷,导致新抗原生成。受损的DNA可活化细胞内传感机制,其继而刺激信号级联放大,导致细胞因子释放到肿瘤微环境中,这可潜在地吸引免疫细胞攻击肿瘤细胞。

[0009] 因此,在第一方面,本发明提供了包含PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质的治疗组合。化合物的组合适用于包括向对象施用用于治疗对其有需要的对象的癌症的化合物的方法。同样,化合物适用于在患有恶性肿瘤的对象中抑制肿瘤生长或进展的方法。还提供了化合物在抑制对象中的恶性细胞转移的方法中的用途。还提供了化合物在降低对象中的转移发展和/或转移生长风险的方法中的用途。还提供了化合物在诱导具有恶性细胞的对象的肿瘤消退的方法中的用途。组合治疗在对象中导致客观应答,优选地完全应答或部分应答。还提供了所述化合物的组合用于制备用于上述治疗方法的药物的用途。

[0010] 在一些实施方案中,癌症被鉴定为PD-L1阳性癌性疾病。

[0011] 根据本发明待治疗的特定类型的癌症包括但不限于卵巢癌、腹膜癌、输卵管癌、肺癌、头颈癌、结肠癌、神经内分泌系统癌、尿路上皮癌、前列腺癌、食道癌、膀胱癌、胃癌、间充质癌、乳腺癌、胰腺癌以及它们的组织学亚型。在一些实施方案中,癌症选自小细胞肺癌(SCLC)、非小细胞肺癌(NSCLC)、头颈部鳞状细胞癌(SCCHN)、结直肠癌(CRC)、原发性神经内分泌肿瘤和肉瘤,或选自卵巢癌、原发性腹膜癌和输卵管癌的PARPi抗性复发性癌。在一些优选的实施方案中,癌症是选自卵巢癌、原发性腹膜癌和输卵管癌的PARPi抗性复发性癌。

[0012] 上述三重(triple)组合可以在癌症的一线治疗、二线治疗或更高线治疗(即在对象中的疗法之外)中施用。在一些实施方案中,选择卵巢癌、原发性腹膜癌、输卵管癌、SCLC广泛性疾病(ED)、NSCLC和SCCHN用于一线治疗。在一些实施方案中,癌症对先前的癌症治疗具有抗性或变得具有抗性。本发明的组合疗法还可以用于治疗患有癌症的对象,该患者先前已经用一种或多种化疗进行治疗或者接受过放疗但是以前的此类治疗已经失败。二线或以上治疗的癌症可以是预治疗的复发性转移性NSCLC、不可切除的局部晚期NSCLC、SCLC ED、预治疗的SCLC ED、不适合全身治疗的SCLC、预治疗复发性或转移性SCCHN、符合条件再次放射的复发性SCCHN、预治疗的微卫星状态不稳定低(MSI-L)或微卫星状态稳定(MSS)转

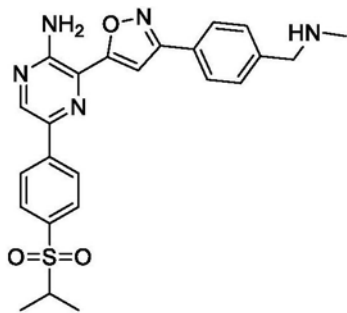
移性结直肠癌 (mCRC)、预治疗的mCRC患者亚组 (即MSI-L或MSS) 以及无法切除或转移性微卫星不稳定高 (MSI-H) 或在先前治疗后有进展并且没有令人满意的替代治疗选择的错配修复缺陷的实体肿瘤。在一些实施方案中,将选自卵巢癌、原发性腹膜癌和输卵管癌的PARPi抗性复发性癌用PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质的组合进行治疗。

[0013] 在一些实施方案中,所述三重组合用于治疗人类对象。

[0014] 在一些实施方案中,PD-1拮抗剂是抗PD-1或抗PD-L1抗体。优选地,PD-1拮抗剂是抗PD-L1抗体,其包含重链和轻链,其中该重链包含三个具有SEQ ID NO:1、2和3的氨基酸序列的互补决定区 (CDR),且该轻链包含三个具有SEQ ID NO:4、5和6的氨基酸序列的互补决定区 (CDR)。抗PD-L1抗体优选包含具有SEQ ID NO:7或8的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的轻链。在一些优选的实施方案中,抗PD-L1抗体是avelumab。

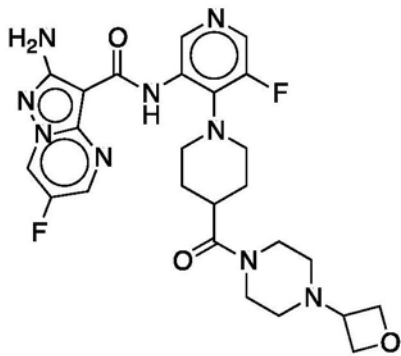
[0015] 在一些实施方案中,抗PD-1或抗PD-L1抗体,优选地avelumab通过静脉内 (例如,作为静脉内输注) 或皮下施用,优选静脉内施用。更优选地,抗体以静脉内输注施用。最优选地,施用抗体50-80分钟,非常优选地作为1小时静脉内输注施用。在一些实施方案中,抗体以每隔一周 (即,每两周,或“Q2W”) 约10mg/kg体重的剂量施用。在一些实施方案中,以800mg的固定给药方案施用抗体,以1小时IV输注Q2W。在另一个实施方案中,抗体以每三周 (“Q3W”) 约20mg/kg体重的剂量施用。在一些实施方案中,以1600mg的固定给药方案施用抗体,以IV输注Q3W。

[0016] 在一些方面,ATR抑制剂由下式之一表示:

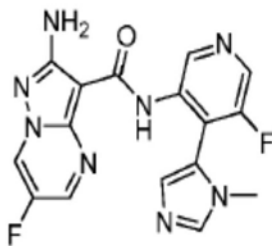


化合物 1,

[0017]



化合物 2,



化合物 3

[0018] 或其药学上可接受的盐。

[0019] 在一些实施方案中,铂化物质选自顺铂、卡铂、奥沙利铂、奈达铂、洛铂、三铂、四硝酸酯、依铂 (heptaplatin)、吡铂、ProLindac (CAS号674289-90-8)、Lipoplatin (脂质体包封形式的顺铂)、aroplatin和沙铂。在一个优选的实施方案中,铂化物质是卡铂、奥沙利铂或顺铂,更优选地卡铂。

[0020] 在其他实施方案中,PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质与放疗 (RT)、另外的化疗 (CT)、或放化疗法 (CRT) 组合使用。

[0021] 在另一方面,本公开提供了一种用于广告宣传将PD-1拮抗剂与ATR抑制剂和铂化物质组合的方法,其包括向目标受众推广该组合用于治疗患有癌症的对象的用途。

[0022] 本文还提供了一种药物组合物,其包含PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质以及至少一种药学上可接受的赋形剂或佐剂。

[0023] 在另一方面,本发明涉及一种包含PD-1拮抗剂和药品说明书的药盒,该药品说明书包括将PD-1拮抗剂与ATR抑制剂和铂化物质组合使用以治疗或延缓对象的癌症的进展的说明。还提供了一种包含ATR抑制剂和药品说明书的药盒,该药品说明书包括将ATR抑制剂

与PD-1拮抗剂和铂化物质组合使用以治疗或延缓对象的癌症的进展的说明。还提供了一种包含铂化物质和药品说明书的药盒,该药品说明书包括将铂化物质与PD-1拮抗剂和ATR抑制剂组合使用以治疗或延缓对象的癌症的进展的说明。

[0024] 在各种实施方案中,治疗组合中的PD-1拮抗剂是avelumab,ATR抑制剂是化合物1至5中的任一种或其药学上可接受的盐,并且铂化物质是卡铂。

附图说明

[0025] 图1显示了avelumab的重链序列。(A) SEQ ID NO:7表示avelumab的全长重链序列。具有SEQ ID NO:1、2和3的氨基酸序列的CDR用下划线标记。(B) SEQ ID NO:8表示没有C-末端赖氨酸的avelumab的重链序列。具有SEQ ID NO:1、2和3的氨基酸序列的CDR用下划线标记。

[0026] 图2(SEQ ID NO:9)显示了avelumab的轻链序列。具有SEQ ID NO:4、5和6的氨基酸序列的CDR用下划线标记。

[0027] 图3示出了两种ATR抑制剂与各种化疗物质(包括铂化物质卡铂、顺铂和奥沙利铂)对35种癌细胞系的细胞生长的组合效应。组合效应被表示为相对于累加的单一疗法效应的BLISS超出量。正BLISS超出量值是协同效应,负BLISS超出量值是拮抗效应。在-0.1与0.1之间的值被认为接近线性组合效应。

[0028] 图4示出了携带MC38建立的肿瘤的雌性C57BL/6小鼠的不同治疗组的相对体重变化(%)。体重变化基于给药第一天(D0)的动物体重来计算。数据点表示组平均体重变化的百分比。误差线表示平均标准误差(SEM)。数据显示直至第17天,之后处死具有大肿瘤的动物,并且研究组的平均值相应地受到影响。

[0029] 图5示出了携带MC38建立的肿瘤的C57BL/6小鼠的不同治疗组的肿瘤生长曲线。数据点表示组平均值,误差线表示平均标准误差(SEM)。数据显示直至第17天,之后处死具有大肿瘤的动物,并且研究组的平均值相应地受到影响。

[0030] 图6示出了携带MC38建立的肿瘤的C57BL/6小鼠的不同治疗组的存活曲线。动物在达到3,000mm³的肿瘤负荷时被施以安乐死。

[0031] 图7示出了携带MC38建立的肿瘤的雌性C57BL/6小鼠的不同治疗组的相对体重变化(%)。体重变化基于给药第一天(D0)的动物体重来计算。数据点表示组平均体重变化的百分比。误差线表示平均标准误差(SEM)。数据显示直至第17天,之后处死具有大肿瘤的动物,并且研究组的平均值相应地受到影响。

[0032] 图8示出了携带MC38建立的肿瘤的C57BL/6小鼠的不同治疗组的肿瘤生长曲线。数据点表示组平均值。误差线表示平均标准误差(SEM)。数据显示直至第17天,之后处死具有大肿瘤的动物,并且研究组的平均值相应地受到影响。

[0033] 图9示出了携带MC38建立的肿瘤的C57BL/6小鼠的不同治疗组的存活曲线。动物在达到3,000mm³的肿瘤负荷时被施以安乐死。

[0034] 图10示出了经MB49再挑战(re-challenge)的雌性C57BL/6小鼠的不同组的相对体重变化(%)。变化基于细胞接种第一天的动物体重来计算。数据点表示组平均体重变化的百分比。误差线表示平均标准误差(SEM)。

[0035] 图11示出了经MB49再挑战的雌性C57BL/6小鼠的不同组的肿瘤生长曲线。数据点

表示组平均值。误差线表示平均标准误差 (SEM)。

[0036] 图12示出了携带MB49建立的肿瘤的C57BL/6小鼠的不同治疗组的存活曲线。动物在达到2,000mm³的肿瘤负荷时被施以安乐死。

[0037] 图13示出在48小时体外 (a) IFN γ 和 (b) α/β 途径的调节——ATRi/卡铂组合治疗相比于媒剂 (vehicle) 或单一物质。

[0038] 图14示出在治疗3天后体内 (a) IFN γ 和 (b) α/β 途径的调节——ATRi/卡铂/avelumab组合治疗相比于单一物质或二重物质。

具体实施方式

[0039] 定义

[0040] 除非上下文另有明确规定,否则“一”、“一个”和“该”包括复数指示物。因此,例如,提及抗体是指一个或多个抗体或至少一个抗体。如此,术语“一(个)”、“一个或多个”以及“至少一(个)”在此处可相互替代使用。

[0041] 当用于修饰数字定义参数(例如,化合物的剂量,或本文所述的组合疗法的治疗时间长度)时,“约”表示参数可以随之变化比该参数的规定数值低10%或高于10%。例如,约10mg/kg的剂量可以在9mg/kg至11mg/kg之间变化。

[0042] 向患者“施用”药物或药物“的施用”(和该短语的语法等同物)是指直接施用,其可以由医学专业人员施用于患者,或者可以是自我施用和/或间接施用,这可能是开处方药的行为。例如,指导患者自行施用或给患者提供药物处方的医生正在将药物施用于患者。

[0043] “抗体”是能够通过位于免疫球蛋白分子的可变区中的至少一个抗原识别位点特异性结合靶,比如碳水化合物、多核苷酸、脂质、多肽等的免疫球蛋白分子。如本文所用,术语“抗体”不仅包含完整的多克隆或单克隆抗体,而且除非另有说明,否则还包含与完整抗体竞争特异性结合的任何抗原结合片段或抗体片段、包含抗原-结合部分(例如,抗体-药物缀合物)的融合蛋白、包含抗原识别位点的免疫球蛋白分子的任何其他修饰构型、具有多表位特异性的抗体组合物,和多特异性抗体(例如,双特异性抗体)。

[0044] 抗体或“抗体片段”的“抗原结合片段”包含完整抗体的一部分(其仍然能够进行抗原结合)和/或完整抗体的可变区。抗原结合片段包括,例如,Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd和Fv片段、结构域抗体(dAb,例如,鲨鱼和骆驼科动物抗体)、包括互补决定区(CDR)的片段、单链可变片段抗体(scFv)、单链抗体分子、由抗体片段、多抗体、微抗体、胞内抗体、双抗体、三抗体、四抗体、v-NAR和bis-scFv、线性抗体形成的多特异性抗体(参见例如,U.S. Patent 5,641,870,实施例2; Zapata et al. (1995) Protein Eng. 8H0:1057),和含有至少一部分免疫球蛋白的多肽,其足以赋予与多肽结合的特异性抗原。木瓜蛋白酶消化抗体产生两个相同的抗原结合片段,称为“Fab”片段,和残留的“Fc”片段,这一名称反映了容易结晶的能力。Fab片段由整个L链以及H链的可变区结构域(VH)和一条重链的第一恒定结构域(CH1)组成。每个Fab片段就抗原结合而言是单价的,即它具有单个抗原结合位点。胃蛋白酶处理抗体产生单个大的F(ab')₂片段,其大致对应于具有不同抗原结合活性的两个二硫键连接的Fab片段,并且仍然能够交联抗原。Fab'片段与Fab片段的不同之处在于在CH1结构域的羧基末端具有一些额外的残基,包括来自抗体较链区的一个或多个半胱氨酸。Fab'-SH是本文中Fab'的名称,其中恒定结构域的半胱氨酸残基带有游离巯基。F(ab')₂抗体片段最初是作为Fab'

片段对产生的,它们之间具有铰链半胱氨酸。抗体片段的其他化学偶联是熟知的。

[0045] “抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”或“ADCC”是指细胞毒性的一种形式,其中分泌的Ig结合到某些细胞毒性细胞(例如,天然杀伤(NK)细胞、中性粒细胞和巨噬细胞)上存在的Fc受体(FcR)上,并使这些细胞毒性效应细胞特异性结合携带抗原的靶细胞,并随后用细胞毒素杀死靶细胞。抗体武装细胞毒性细胞,并且是通过该机制杀死靶细胞所必需的。用于介导ADCC的原代细胞NK细胞仅表达Fc γ RIII,而单核细胞表达Fc γ RI、Fc γ RII和Fc γ RIII。Ravetch和Kinet、AnnuRev.Immunol.9:457-92(1991)的第464页表3总结了造血细胞上的Fc表达。

[0046] “抗PD-L1抗体”或“抗PD-1抗体”是指阻断癌细胞上表达的PD-L1与PD-1结合的抗体。在其中正在治疗人对象的本发明的任何治疗方法、药物和用途中,抗PD-L1抗体特异性结合人PD-L1并阻断人PD-L1与人PD-1的结合,且抗PD-1抗体特异性结合人PD-1并阻断人PD-1与人PD-L1的结合。抗体可以是单克隆抗体、人抗体、人源化抗体或嵌合抗体,并且可以包括人恒定区。在一些实施方案中,人恒定区选自:IgG1、IgG2、IgG3和IgG4恒定区,并且在优选的实施方案中,人恒定区是IgG1或IgG4恒定区。在一些实施方案中,抗原结合片段选自:Fab、Fab'-SH、F(ab')₂、scFv和Fv片段。结合人PD-L1并且可用于本发明的治疗方法、药物和用途的单克隆抗体的实施例描述于WO2007/005874、WO 2010/036959、WO 2010/077634、WO 2010/089411、WO2013/019906、WO2013/079174、WO2014/100079、WO2015/061668和美国专利号8,552,154,8,779,108和8,383,796。在本发明的治疗方法、药物和用途中用作PD-1拮抗剂的特异性抗人PD-L1或抗人PD-1单克隆抗体包括,例如但不限于avelumab(MSB0010718C)、nivolumab(BMS-936558)、pembrolizumab、描述于WO2016/092419的mAb7(也称作RN888或PF-6801591)、atezolizumab、durvalumab、cemiplimab、MPDL3280A(IgG1工程化、抗PD-L1抗体)、BMS-936559(完全人、抗PD-L1、IgG4单克隆抗体)、MEDI4736(工程化IgG1 kappa单克隆抗体、在Fc结构域中具有三重突变以去除抗体-依赖性、细胞介导的细胞毒活性)和分别包含WO2013/019906的SEQ ID NO:24和SEQ ID NO:21的重链和轻链可变区的抗体。

[0047] “ATR抑制剂”或“ATR_i”是指ATR激酶途径的抑制剂,其介导DNA损伤应答。优选地,ATR抑制剂是抑制ATR激酶的酶活性的分子。可用于本发明的治疗方法、药物和用途的ATR抑制剂的实例包括化合物1至5中的任一种或其药学上可接受的盐。另外的ATR抑制剂描述于WO 2013/049726、WO 2013/152298、WO 2013/049859、US-2013-0089625、US-2013-0115312、US-2014-0107093、US-2013-0096139、WO 2011/143426、US-2013-0095193、WO 2014/055756、WO 2011/143419、WO 2011/143422、WO 2011/143425、US-2013-0115311、US-2013-0115312、US-2013-0115313、US-2013-0115314、WO 2011/163527、WO 2012/178123、WO 2012/178124、WO 2012/178125、US-2014-0113005、WO2013/049726、WO 2013/071085、WO 2010/071837、WO 2014/089379、WO 2014/143242、WO 2014/143241、WO 2015/084384、WO 2014/143240、WO 2015/187451、WO 2015/085132、WO 2014/062604、WO 2014/143240、WO 2013/071094、WO 2013/071093、WO 2013/071090、WO 2013/071088、WO 2013/049859、WO 2013/049719、WO 2013/049720、WO 2013/049722、WO 2012/138,938、WO 2011/163527、WO 2011/143,423、WO 2011/143,426、WO 2011/143,399和/或WO 2010/054398。

[0048] “生物标记”通常是指生物分子,以及其指示疾病状态的定量和定性测量。“预后生

物标记”与疾病结果相关,与治疗无关。例如,肿瘤缺氧是一种阴性预后标记-肿瘤缺氧越高、疾病结果为阴性的可能性越高。“预测性生物标记”表示患者是否可能对特定疗法产生积极应答。例如,HER2分析通常用于乳腺癌患者,以确定这些患者是否可能对赫赛汀(曲妥珠单抗、基因泰克)有应答。“应答生物标记”提供对治疗应答的测量,并因此提供治疗是否有效的指示。例如,降低前列腺特异性抗原水平通常表示前列腺癌患者的抗癌疗法正在起作用。当标记用作鉴定或选择本文描述的治疗的患者的基础时,可以在治疗之前和/或治疗期间测量标记,并且所获得的值由临床医生用于评估以下中的任何一种:(a)个人可能或也许的适合性初次接受治疗;(b)个人可能或也许不适合初次接受治疗;(c)对治疗的应答;(d)个人可能或也许适合继续接受治疗;(e)个人可能或也许不适合继续接受治疗;(f)调整剂量;(g)预测临床获益的可能性;或(h)毒性。如本领域技术人员所熟知的,临床环境中生物标记的测量清楚地表明该参数被用作启动、继续、调整和/或停止施用本文描述的治疗的基础。

[0049] “癌症”、“癌性”或“恶性”是指或描述哺乳动物中通常以不受调节的细胞生长为特征的生理状况。癌症的实施例包括但不限于癌、淋巴瘤、白血病、胚细胞瘤和肉瘤。这类癌症的更具体的实施例包括鳞状细胞癌、骨髓瘤、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、神经胶质瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、急性髓性白血病、多发性骨髓瘤、胃肠道(肠道)癌、肾癌症、卵巢癌、肝癌、淋巴母细胞白血病、淋巴细胞白血病、结直肠癌、子宫内膜癌、肾癌、前列腺癌、甲状腺癌、黑色素瘤、软骨肉瘤、神经母细胞瘤、胰腺癌、多形性胶质母细胞瘤、宫颈癌、脑癌、胃癌、膀胱癌、肝细胞瘤(hepatoma)、乳腺癌、结肠癌、尿路上皮癌和头颈癌。

[0050] “化疗”是涉及化疗剂的疗法,该化疗剂是用于治疗癌症的化学化合物。化疗剂的实施例包括烷化剂,比如塞替派和环磷酰胺;烷基磺酸盐,比如白消安、英丙舒凡和哌泊舒凡;氮丙啶,比如苯并二唑(benzodopa)、卡波醌、米特多帕(meturedopa)和uredopa;乙烯亚胺和甲基精胺(methylamelamine),包括六甲蜜胺、三乙撑密胺、三乙烯基磷酰胺、三乙烯基硫代磷酰胺和三羟甲基蜜胺(trimethylolomelamine);多聚乙酰胺(特别是布拉它辛(bullatacin)和布拉它辛酮(bullatacinone)); δ -9-四氢大麻酚(屈大麻酚); β -拉帕醌;拉帕醇;秋水仙碱;桦木酸;苔藓抑素;培美曲塞;callystatin;CC-1065(包括其阿多来新、卡折来新和比折来新合成类似物);足叶草毒素;鬼臼酸;替尼泊苷;念珠藻素(cryptophycin,特别是念珠藻素1和念珠藻素8);多拉司他汀;多卡米星(包括合成类似物KW-2189和CB1-TM1);艾榴素(eleutherobin);水鬼蕉碱(pancratistatin);TLK-286;CDP323,口服 α -4整联蛋白抑制剂;sarcodictyin;软海绵素(spongistatin);氮芥,比如苯丁酸氮芥、萘氮芥、氯磷酰胺(cholophosphamide)、雌莫司汀、异环磷酰胺、氧化氮芥、盐酸氧氮芥、美法仑、新氮芥、苯芥胆甾醇、泼尼莫司汀、氯乙环磷酰胺和尿嘧啶芥末;亚硝基脲类,比如卡莫司汀、氯脲菌素、福莫司汀、洛莫司汀、尼莫司汀和雷尼莫司汀;抗生素,比如烯二炔抗生素(例如,加利车霉素,尤其是加利车霉素 γ II和加利车霉素 Ω II(参见,例如,Nicolaou et al. (1994) *Angew. Chem Intl. Ed. Engl.* 33:183);包括达内霉素(dynemicin) A的达内霉素;埃斯波霉素;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、放线菌素、安曲霉素(authramycin)、偶氮丝氨酸、争光霉素、放线菌素c、carabycin、洋红霉素、嗜癌素、色霉素、更生霉素、道诺霉素、地托比星、6-重氮-5-氧代-L-正亮氨酸、多柔比星(包括吗啉代-多柔比星、氰基吗啉代-多柔比星、2-吡咯基-多柔比星、盐酸多柔比星脂质体注射液

和脱氧大青霉素)、表柔比星、依索比星、伊达比星、麻西罗霉素、丝裂霉素例如丝裂霉素C、霉酚酸、诺拉霉素、橄榄霉素、培洛霉素、potfiromycin、嘌呤霉素、三铁阿霉素、罗多比星、链黑菌素、链脲菌素、杀结核菌素、乌苯美司、净司他丁和佐柔比星;抗代谢产物,比如甲氨蝶呤、吉西他滨、替加氟、卡培他滨、epothilone和5-氟尿嘧啶(5-FU);叶酸类似物,比如二甲叶酸、甲氨蝶呤、蝶罗呤和三甲曲沙;嘌呤类似物,比如氟达拉滨、6-巯基嘌呤、硫咪嘌呤和硫鸟嘌呤;嘧啶类似物,比如安西他滨、阿扎胞苷、6-阿扎胞苷、卡莫氟、阿糖胞苷、双脱氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他滨、氟尿苷和伊马替尼(2-苯基氨基嘧啶衍生物),以及其他c-Kit抑制剂;抗肾上腺素,比如氨鲁米特、米托坦和曲洛司坦;叶酸补充剂,比如如亚叶酸(frolinic acid);醋葡醛内酯;醛磷酰胺糖苷;氨基乙酰丙酸;恩尿嘧啶;安吡啶;bestrabucil;比生群;依达曲沙;defofamine;地美可辛;地吡醌;依氟鸟氨酸;依利醋铵;乙环氧啶;硝酸镓;羟脲;香菇多糖;氯尼达明;美登素生物碱类,比如美登素和安丝菌素;米托蒽脒;米托蒽醌;莫哌达醇;nitraerine;喷司他丁;蛋氨酸芥;吡柔比星;洛索蒽醌;2-ethylhydrazide;丙卡巴肼;PSK多糖复合物(JHS天然产物,Eugene,OR);丙亚胺;根霉素;sizofiran;锗螺胺;细交链孢菌酮酸;三亚胺醌;2,2',2"-三氯乙胺;单端孢霉烯(特别是T-2毒素、verracurin A、杆孢菌素A和蛇形菌素(anguidine));乌拉坦;长春地辛;达卡巴嗪;甘露醇氮芥;二溴甘露醇;二溴卫矛醇;哌血生;gacytosine;阿拉伯糖苷("Ara-C");硫替派;紫杉烷,例如紫杉醇、紫杉醇的白蛋白工程化的纳米颗粒制剂和多西紫杉醇;苯丁酸氮芥;6-硫代鸟嘌呤;巯基嘌呤;氨甲喋呤;铂类似物,比如顺铂和卡铂;长春碱;铂;异环磷酰胺;米托蒽醌;长春新碱;奥沙利铂;甲酰四氢叶酸;长春瑞滨;诺消灵;依达曲沙;道诺霉素;氨基蝶呤;伊班膦酸盐;二氟甲基鸟氨酸(DMFO);类维生素A,比如视黄酸;任何上述药学上可接受的盐、酸或衍生物;以及上述两种或更多种的组合,比如CHOP(环磷酰胺、多柔比星、长春新碱和泼尼松龙组合治疗的缩写),或FOLFOX(奥沙利铂组合5-FU和甲酰四氢叶酸治疗方案的缩写)。

[0051] “临床结果”、“临床参数”、“临床应答”或“临床终点”是指与患者对治疗的反应有关的任何临床观察或测量。临床结果的非限制性实施例包括肿瘤应答(TR)、总体存活(OS)、无进展存活(PFS)、无病存活、肿瘤复发时间(TTR)、肿瘤进展时间(TTP)、相对风险(RR)、毒性或副作用。

[0052] “完全应答”或“完全缓解”是指应答于治疗所有的癌症体征消失。它并非始终指癌症得到治愈。

[0053] 如本文所用,“包含”旨在表示组合物和方法包括所列举的要素,但不排除其他要素。当用于定义组合物和方法时,“基本上由.....组成”应意指排除对组合物或方法具有任何重要意义的其他元素。“由.....组成”是指对于要求保护的组合物和实质方法步骤排除其他成分的多于微量的元素。由这些中的每个过渡术语定义的实施方案均属于本发明的范围。因此,意图是该方法和组合物可以包含另外的步骤和组分(包含)或者可选地包括不重要的步骤和组合物(基本上由.....组成)或者旨在仅包括该方法步骤或组合物(由...组成)。

[0054] “剂”和“剂量”是指用于施用的特定量的活性剂或治疗剂。这些量包括在“剂型”中,其是指适合作为人对象和其他哺乳动物的单位剂量的物理上离散的单位,每个单位含有预定量的活性剂与一种或多种合适的药物赋形剂比如载体结合,经计算可产生所需的起

效、耐受性和治疗效果。

[0055] “增强T细胞功能”意指诱导、引起或刺激T细胞以具有持续或扩增的生物学功能，或更新或重新活化耗尽或失活的T细胞。增强T细胞功能的实例包括：相对于干预前的这种水平增加的来自CD8+T细胞的 γ -干扰素的分泌、增加的增殖、增加的抗原反应性（例如，病毒、病原体或肿瘤清除）。在一个实施方案中，增强水平为至少50%，或者60%、70%、80%、90%、100%、120%、150%、200%。测量这种增强的方式是本领域普通技术人员已知的。

[0056] “Fc”是包含通过二硫化物保持在一起的两条H链的羧基末端部分的片段。抗体的效应子功能由Fc区中的序列确定，该区也被在某些类型的细胞上发现的Fc受体（FcR）识别。

[0057] 本发明抗体的“功能片段”包含完整抗体的一部分，通常包含完整抗体的抗原结合区或可变区或抗体的Fc区，其保留或具有经修饰的FcR结合能力。功能性抗体片段的实例包括线性抗体、单链抗体分子和由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0058] “Fv”是最小的抗体片段，它含有一个完整的抗原识别和抗原结合位点。该片段由紧密、非共价结合的一个重链和一个轻链可变区结构域的二聚体组成。从这两个结构域的折叠中发出六个高变环（3个来自H链且3个来自L链），其为抗原结合提供氨基酸残基并赋予抗体抗原结合特异性。然而，即使单个可变结构域（或仅包含三个对抗原特异的HVR的Fv的一半）也具有识别和结合抗原的能力，尽管其亲和力低于整个结合位点。

[0059] “人抗体”是具有对应于人产生的抗体的氨基酸序列的抗体和/或使用本文公开的制备人抗体的任何技术制备的抗体。人抗体的这种定义特异性地排除了包含非人抗原结合残基的人源化抗体。可以使用本领域已知的各种技术产生人抗体，包括噬菌体展示文库（参见例如，Hoogenboom and Winter (1991), JMB 227:381; Marks et al. (1991) JMB 222:581）。也可用于制备人单克隆抗体的方法是Cole et al. (1985) Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, page 77; Boerner et al. (1991), J. Immunol 147(1):86; van Dijk and van de Winkel (2001) Curr. Opin. Pharmacol 5:368) 中描述的方法。可以通过将抗原施用于转基因动物来制备人抗体，该转基因动物已被修饰以应答于抗原攻击而产生此类抗体，但其内源基因座已被禁用，例如免疫的异种小鼠（xenomice）（参见例如，关于XENOMOUSE技术的U.S. Pat. Nos. 6,075,181; 和6,150,584）。另外参见例如，关于通过人B细胞杂交瘤技术产生的人抗体的Li et al. (2006) PNAS USA, 103:3557。

[0060] “人源化”形式的非人（例如，鼠）抗体是嵌合抗体，其含有源自非人免疫球蛋白的最小序列。在一个实施方案中，人源化抗体是人免疫球蛋白（受体抗体），其中来自接受者HVR的残基被来自非人物种（供体抗体）的HVR的残基替换，非人物种比如小鼠、大鼠、兔或具有所需特异性、亲和力和/或能力的非人灵长类动物。在一些情况下，人免疫球蛋白的框架（“FR”）残基被相应的非人残基取代。此外，人源化抗体可包含在接受者抗体或供体抗体中未发现的残基。可以进行这些修饰以进一步改善抗体性能，比如结合亲和力。通常，人源化抗体将包含基本上全部至少一个，通常是两个可变结构域，其中所有或基本上所有的高变环对应于非人免疫球蛋白序列的那些，并且尽管全部或基本上全部的FR区是人免疫球蛋白序列的那些区，但是FR区可以包括一个或多个改善抗体性能（比如结合亲和力、异构化、免疫原性等）的单个FR残基取代。通常，FR中这些氨基酸取代的数量在H链中不超过6且在L链中不超过3。人源化抗体任选还包含至少一部分免疫球蛋白恒定区（Fc），通常是人免疫球蛋白的恒定区。有关进一步的细节，请参见例如，Jones et al. (1986) Nature 321:522;

Riechmann et al. (1988), Nature 332:323; Presta (1992) Curr. Op. Struct. Biol. 2:593; Vaswani and Hamilton (1998), Ann. Allergy, Asthma & Immunol. 1:105; Harris (1995) Biochem. Soc. Transactions 23:1035; Hurler and Gross (1994) Curr. Op. Biotech. 5:428; and U.S. Pat. Nos. 6,982,321 and 7,087,409.

[0061] “免疫球蛋白”(Ig)与本文的“抗体”可互换使用。基本的4-链抗体单元是由两条相同的轻(L)链和两条相同的重(H)链组成的异四聚体糖蛋白。IgM抗体由5个基本异四聚体单元和另外一个称为J链的多肽组成,并含有10个抗原结合位点,而IgA抗体包含2-5个可以聚合形成与J链相结合的多价组合的基本4-链单元。在IgG的情况下,4-链单元通常为约150,000道尔顿。每个L链通过一个共价二硫键与H链连接,而两个H链通过一个或多个二硫键相互连接,这取决于H链同种型。每个H和L链还具有规则间隔的链内二硫桥。每个H链在N-末端具有可变结构域(VH),随后是 α 和 γ 链中的每一个的三个恒定结构域(CH)和 μ 和 ϵ 同种型的四个CH结构域。每个L链在N末端具有可变结构域(VL),在其另一端具有恒定结构域。VL与VH对齐,而CL与重链的第一恒定区(CH1)对齐。认为特定的氨基酸残基在轻链和重链可变结构域之间形成界面。VH和VL的配对一起形成单个抗原结合位点。关于不同类别抗体的结构和性质,参见例如Basic and Clinical Immunology, 8th Edition, Sties et al. (eds.), Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994, page 71 and Chapter 6。来自任何脊椎动物物种的L链可基于其恒定结构域的氨基酸序列分配为两种明显不同的类型之一,称为 κ 和 λ 。取决于其重链(CH)的恒定结构域的氨基酸序列,可以将免疫球蛋白分配到不同的类别或同种型。有五类免疫球蛋白: IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,具有分别称为 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ 的重链。基于CH序列和功能的相对较小差异将 γ 和 α 类进一步分为亚类,例如,人表达以下亚类: IgG1、IgG2A、IgG2B、IgG3、IgG4、IgA1和IgK1。

[0062] “输注(Infusion)”或“输注(infusing)”是指通过静脉将含药物的溶液引入体内用于治疗目的。通常,这通过静脉输注(IV)袋实现。

[0063] “与……组合”或“与……联合”是指在一种或多种其他化合物以外施用一种化合物的。因此,“与……组合”或“与……联合”是指以任何顺序在施用一种或多种其他化合物以外还施用一种化合物。例如,可在向个体施用一种或多种其他化合物之前、期间或之后施用一种化合物。如本文所用,就施用包含PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质的三重组合而言,术语“组合”意指这些化合物以任何顺序施用给患者。例如,所有化合物可同时或顺序施用。另外,可以同时施用两种化合物,然后顺序施用第三化合物。另外,化合物可以单一或单独的组合物、制剂或单位剂型施用。另外,两种化合物可以单一组合物、制剂或单位剂型施用,而第三种化合物以单独的组合物、制剂或单位剂型施用。应当理解,PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质如根据适当的给药方案在同一天或不同天以任何顺序施用。

[0064] “转移性”癌症是指从身体的一部分(例如,肺)扩散到身体的另一部分的癌症。

[0065] 如本文所用,“单克隆抗体”是指从基本上同质的抗体群体获得的抗体,即除了可能的天然发生的突变和/或可能少量存在的翻译后修饰(例如,异构化和/或酰胺化)之外,包含包含在群体中的各个抗体是相同的。单克隆抗体针对单一抗原位点是高度特异的。与通常包括针对不同决定簇(表位)的不同抗体的多克隆抗体制剂相反,每种单克隆抗体针对抗原上的单一决定簇。除了它们的特异性之外,单克隆抗体的优点还在于它们通过杂交瘤培养合成并且不被其他免疫球蛋白污染。修饰语“单克隆”表示抗体的特征是从基本上同质

的抗体群体获得的,并且不应解释为需要通过任何特定方法产生抗体。例如,根据本发明使用的单克隆抗体可以通过多种技术制备,包括例如杂交瘤方法(例如,Kohler and Milstein(1975)Nature 256:495;Hongo et al.(1995)Hybridoma 14(3):253;Harlow et al.(1988)抗体:实验室手册(Antibodies:A Laboratory Manual)(Cold Spring Harbor Laboratory Press,2nd ed.;Hammerling et al.(1981)In:单克隆抗体和T细胞杂交瘤563(Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563)(Elsevier,N.Y.)、重组DNA方法(recombinant DNA methods)(参见例如,U.S.Patent No.4,816,567)、噬菌体展示技术(phage-display technologies)(参见例如,Clackson et al.(1991)Nature 352:624;Marks et al.(1991)JMB 222:581;Sidhu et al.(2004)JMB 338(2):299;Lee et al.(2004)JMB 340(5):1073;Fellouse(2004)PNAS USA 101(34):12467;and Lee et al.(2004)J.Immunol.Methods 284(1-2):119)和用于在具有部分或全部人免疫球蛋白基因座或编码人免疫球蛋白序列的基因的动物中产生人或人样抗体的技术(and technologies for producing human or human-like antibodies in animals that have parts or all of the human immunoglobulin loci or genes encoding human immunoglobulin sequences)(参见例如,WO 1998/24893;WO1996/34096;WO 1996/33735;WO 1991/10741;Jakobovits et al.(1993)PNAS USA 90:2551;Jakobovits et al.(1993)Nature 362:255;Bruggemann et al.(1993)Year in Immunol.7:33;U.S.Patent Nos.5,545,807;5,545,806;5,569,825;5,625,126;5,633,425;and 5,661,016;Marks et al.(1992)Bio/Technology 10:779;Lonberg et al.(1994)Nature 368:856;Morrison(1994)Nature 368:812;Fishwild et al.(1996)Nature Biotechnol.14:845;Neuberger(1996),Nature Biotechnol.14:826;and Lonberg and Huszar(1995),Intern.Rev.Immunol.13:65-93)。本文中的单克隆抗体特别包括嵌合抗体(免疫球蛋白),其中重链和/或轻链的一部分与衍生自特定物种或属于特定抗体类或亚类的抗体中的相应序列相同或同源,而链的其余部分与衍生自另一物种或属于另一抗体类或亚类以及此类抗体的片段的抗体中的相应序列相同或同源,只要它们表现出所需的生物活性即可。(参见例如,美国专利号4,816,567;Morrison et al.(1984)PNAS USA,81:6851)。

[0066] “客观应答”是指可测量的应答,包括完全应答(CR)或部分应答(PR)。

[0067] “PARPi抗性”肿瘤或癌症是不能或不再能够用PARP抑制剂治疗的肿瘤或癌症。在用PARPi的第一次治疗尝试之前,PARPi抗性可能已经存在。在一些情况下,作为治疗的结果,也可能在用PARPi初步治疗后获得PARPi抗性。

[0068] “部分应答”是指应答于治疗,一种或多种肿瘤或病变的大小或体内癌症的程度的减小。

[0069] “患者”和“对象”在本文中可互换使用,是指需要治疗癌症的哺乳动物。通常,患者是被诊断出患有一种或多种癌症症状或具有患有一种或多种癌症症状风险的人。在某些实施方案中,“患者”或“对象”可以指非人哺乳动物,比如非人灵长类动物、狗、猫、兔、猪、小鼠或大鼠,或用于筛选、表征和评估药物和疗法的动物。

[0070] “PD-1拮抗剂”是指通过阻断PD-1与PD-L1之间的相互作用来抑制PD-1途径的物质。优选地,PD-1拮抗剂是抗体。更优选地,PD-1拮抗剂是抗PD-1或抗PD-L1抗体。最优选地,PD-1拮抗剂是avelumab。

[0071] 如本文所用的“PD-L1表达”是指细胞表面上PD-L1蛋白或细胞或组织内PD-L1mRNA的任何可检测水平的表达。可以在肿瘤组织切片的IHC测定法中通过诊断性PD-L1抗体或通过流式细胞术检测PD-L1蛋白表达。或者,可以使用特异性结合PD-L1的结合剂(例如,抗体片段、亲合体(affibody)等)通过PET成像检测肿瘤细胞的PD-L1蛋白表达。用于检测和测量PD-L1 mRNA表达的技术包括RT-PCR和实时定量RT-PCR。

[0072] 包括“PD-L1阳性”癌性疾病的“PD-L1阳性”癌症是包含其细胞表面存在PD-L1的细胞的癌症。术语“PD-L1阳性”还指在其细胞表面产生足够水平的PD-L1的癌症,使得抗PD-L1抗体具有由所述抗-PD-L1抗体到PD-L1的结合介导的治疗作用。

[0073] “药学上可接受的”表示该物质或组合物必须在化学和/或毒理学上适合于治疗哺乳动物。

[0074] 术语“药学上可接受的佐剂”是指增强机体对抗原的免疫应答的任何和所有物质。药学上可接受的佐剂的非限制性实例为:Alum、弗氏不完全佐剂、MF59、dsRNA的合成类似物诸如聚(I:C)、细菌LPS、细菌鞭毛蛋白、咪唑喹啉、含有特异性CpG基序的寡脱氧核苷酸、细菌细胞壁片断诸如胞壁酰二肽和Quil-A[®]。

[0075] 如本文所用,“药学上可接受的载体”或“药学上可接受的稀释剂”意指与药物施用相容的任何和所有溶剂、分散介质、包衣、抗细菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂。此类介质和物质用于药物活性物质的用途是本领域熟知的。可接受的载体、赋形剂、或稳定剂在所使用的剂量和浓度下对受体是无毒的,并且在不限本发明范围的情况下包括:额外的缓冲剂;防腐剂;助溶剂;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;螯合剂,诸如EDTA;金属复合物(例如Zn-蛋白质复合物);可生物降解聚合物,诸如聚酯;成盐抗衡离子,诸如钠、多羟基糖醇;氨基酸,诸如丙氨酸、甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸、赖氨酸、鸟氨酸、亮氨酸、2-苯丙氨酸、谷氨酸和苏氨酸;有机糖或糖醇,诸如乳糖醇、水苏糖、甘露糖、山梨糖、木糖、核糖、核糖醇、myoinisitose、肌醇、半乳糖、半乳糖醇、甘油、环醇(例如纤维醇)、聚乙二醇;含硫还原剂,诸如尿素、谷胱甘肽、硫辛酸、巯基乙酸钠、硫代甘油、[α]-单硫代甘油和硫代硫酸钠;低分子量蛋白质,诸如人血清白蛋白、牛血清白蛋白、明胶或其他免疫球蛋白;以及亲水性聚合物,诸如聚乙烯吡咯烷酮。其他药学上可接受的载体、赋形剂或稳定剂,诸如Remington's Pharmaceutical Sciences,第16版,Osol, A. 编辑(1980)中描述的那些也可包含在本文所述的药物组合物中,条件是它们不会不利地影响药物组合物的期望特性。

[0076] 分子的“药学上可接受的盐”是指分子的盐形式。药学上可接受的盐可涉及包含另一分子,诸如乙酸根离子、琥珀酸根离子或其他抗衡离子。抗衡离子可为使母体化合物上的电荷稳定的任何有机或无机部分。此外,药学上可接受的盐可在其结构中具有多于一个带电原子。多个带电原子是药学上可接受的盐的一部分的情况可以具有多个抗衡离子。因此,药学上可接受的盐可具有一个或多个带电原子和/或一个或多个抗衡离子。如果本发明的化合物是碱,则所期望的药学上可接受的盐可以通过本领域可用的任何合适的方法制备,例如,用无机酸诸如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、甲磺酸、磷酸等处理自由碱,或用有机酸诸如乙酸、马来酸、琥珀酸、苦杏仁酸、富马酸、丙二酸、丙酮酸、草酸、乙醇酸、水杨酸、吡喃糖苷酸诸如葡萄糖醛酸或半乳糖醛酸、 α 羟基酸诸如柠檬酸或酒石酸、氨基酸诸如天冬氨酸或谷氨酸、芳香酸诸如苯甲酸或肉桂酸、磺酸诸如对甲苯磺酸或乙磺酸等处理自由碱。如果本发明

的化合物是酸,则所期望的药学上可接受的盐可以通过任何适合的方法制备,例如用无机碱或有机碱诸如胺(伯胺、仲胺或叔胺)、碱金属氢氧化物或碱土金属氢氧化物等处理自由酸。合适的盐的例示性实例包括但不限于衍生自氨基酸(诸如甘氨酸和精氨酸)、氨、伯胺、仲胺和叔胺、以及环胺(诸如哌啶、吗啉和哌嗪)的有机盐,以及衍生自钠、钙、钾、镁、锰、铁、铜、锌、铝和锂的无机盐。

[0077] “铂化物质”是尤其与DNA共价结合并交联DNA链的烷化物质,其导致DNA合成和功能的抑制以及转录的抑制。铂化物质可为任何铂基化疗物质。在一些实施方案中,铂化物质选自顺铂、卡铂、奥沙利铂、奈达铂、洛铂、三铂、四硝酸酯、依铂、吡铂、ProLindac (CAS号674289-90-8)、Lipoplatin(脂质体包封形式的顺铂)、aroplatin和沙铂。

[0078] “复发性”癌症是在对初始治疗(比如手术)的应答后在初始部位或远处部位再生的癌症。局部“复发性”癌症是治疗后在与先前治疗的癌症相同的位置复发的癌症。

[0079] 一个症状或者多个症状(和该短语的语法等同物)的“减少”是指降低症状的严重程度或频率,或消除症状。

[0080] “血清”是指可以从凝结的血液中分离出的透明液体。血清不同于血浆含有红细胞和白细胞和血小板的正常未凝固血液的液体部分。血清是既不是血细胞(血清不含白细胞或红细胞)也不是凝血因子的成分。不包含纤维蛋白原的血浆有助于形成血凝块。凝块是血清和血浆之间的差异。

[0081] “单链Fv”(也缩写为“sFv”或“scFv”)是包含连接成单一多肽链的VH和VL抗体结构域的抗体片段。优选地,sFv多肽还包含VH和VL结构域之间的多肽接头,其使sFv能够形成用于抗原结合的所需结构。关于sFv的综述,参见例如Pluckthun(1994),In: The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol.113, Rosenberg and Moore (eds.), Springer-Verlag, New York, pp.269。

[0082] “持续应答”是指在用治疗剂或本文所述的组合疗法停止治疗后的持续治疗效果。在一些实施方案中,持续应答的持续时间至少与治疗持续时间相同,或者比治疗持续时间长至少1.5、2.0、2.5或3倍。

[0083] “全身”治疗是这样的一种治疗,其中药物物质通过血液流动,到达并影响全身的细胞。

[0084] 在本发明的每种情况下,PD-1拮抗剂、ATR抑制剂或铂化物质的“治疗有效量”是指在必要的剂量和时间段内有效的量,必要的剂量和时间段内是指当施用于患有癌症的患者时将具有预期的治疗效果,例如,缓解、改善、减轻或消除患者癌症的一种或多种表现,或治疗癌症患者的任何其他临床结果。通过施用一剂药物可能不一定发生治疗效果,并且可能仅在施用一系列剂的药物后发生。因此,可以在一次或多次施用中施用治疗有效量。这样的治疗有效量可根据比如疾病状态、年龄、性别和个体体重等因素以及PD-1拮抗剂、ATR抑制剂或铂化物质的能力而变化,以在个体中引起期望的应答。治疗有效量也是其中PD-1拮抗剂、ATR抑制剂或铂化物质的治疗有益效果超过任何毒性或有害作用的量。

[0085] “治疗”病症或患者或病症或患者“.....的治疗”是指采取步骤以获得有益或期望的结果,包括临床结果。出于本发明的目的,有益或期望的临床结果包括但不限于缓解、改善癌症的一种或多种症状;疾病程度的减轻;疾病进程的延迟或者减慢;疾病状态的改善、缓解或稳定;或其他有益结果。应理解,提及“治疗”或“.....的治疗”包括预防以及缓解

已确定的病症症状。因此，“治疗”状态、障碍或病症或它们的“治疗包括：(1) 预防或延迟在可能患有或易患该病状、疾病或病症但尚未经历或显示该病状、疾病或临床或亚临床症状的对象中病状、疾病或病症的临床症状的出现，(2) 抑制病状、疾病或病症，即阻滞、减少或延迟疾病的发展或其复发(在维持治疗的情况下)或至少一种临床或其亚临床症状，或(3) 缓解或减轻疾病，即导致病状、疾病或病症或其临床或其亚临床症状中的至少一种的消退。

[0086] 应用于被诊断患有或怀疑患有癌症的对象的“肿瘤”是指任何大小的恶性或潜在恶性新生物或组织块，并且包括原发性肿瘤和继发性新生物。实体瘤是通常不包含囊肿或液体区的异常生长或组织块。不同类型的实体瘤以形成它们的细胞类型命名。实体瘤的实例是肉瘤、癌和淋巴瘤。白血病(血液癌症)通常不形成实体瘤。

[0087] 如本文所用的“单位剂型”是指适合于待治疗的对象的物理上离散的治疗制剂。然而，应该理解，本发明组合物的每日总用量将由主治医师在合理的医学判断范围内决定。任何特定对象或生物体的特定有效剂量水平将取决于多种因素，包括所治疗的病症和病症的严重程度；使用的特定活性剂的活性；使用的具体成分；对象的年龄、体重、一般健康、性别和饮食；施用时间和所用特定活性剂的排泄率；在治疗期；药物和/或与所用特定化合物组合或巧合使用的其他疗法，以及医学领域中熟知的相似因素。

[0088] “可变”是指可变结构域的某些区段在抗体之间的序列差异很大的事实。V区介导抗原结合并确定了特定抗体对其特定抗原的特异性。然而，可变性在整个可变区上不是均匀分布的。相反，它集中在轻链和重链可变结构域中称为高变区(HVR)的三个区段中。可变域的更高度保守的部分称为框架区(FR)。天然重链和轻链的可变结构域各自包含四个FR区，主要采用 β -折叠构型，通过三个HVR连接，其形成连接 β -折叠结构的环，并且在一些情况下形成 β -折叠结构的一部分。每个链中的HVR通过FR区紧密靠近地保持在一起，并且来自另一个链的HVR有助于形成抗体的抗原结合位点(参见Kabat et al. (1991) Sequences of Immunological Interest, 5th edition, National Institute of Health, Bethesda, MD)。恒定结构域不直接参与抗体与抗原的结合，但表现出各种效应物功能，比如抗体参与抗体依赖性细胞毒性。

[0089] 抗体的“可变区”或“可变结构域”是指抗体重链或轻链的氨基末端结构域。重链和轻链的可变结构域可分别称为“ V_H ”和“ V_L ”。这些结构域通常是抗体中变化最大的部分(相对于同一类别的其他抗体)并含有抗原结合位点。

[0090] 如本文所使用的，为方便起见，可以在共同列表中呈现多个项目、结构元素、组成元素和/或材料。但是这些列表应看作列表中的各个部分独立地作为独立和唯一的部分。因此，不应仅基于此类列表中的任何单独部分在共同组中的呈现而没有相反的指示而将此类列表中的任何单独部分理解为事实上等同于同一列表中的任何其他部分。

[0091] 本文中按一定的范围格式表达或呈现浓度、数量和其他数字数据。应该理解，这种范围格式仅仅是为了方便和简洁而使用，因此应该灵活地解释为不仅包括明确列举作为范围限制的数值，还包括包含在该范围内的所有单个数值或子范围，就好像每个数值和子范围被明确地列举一样。作为说明，“约1至约5”的数值范围应该被解释为不仅包括明确列举的约1至约5的值，而且还包括在所指示的范围内的单个值和子范围。因此，包含在该数值范围内的是单个值，比如2、3和4以及子范围，比如来自1-3、2-4和3-5等，以及单独地1、2、3、4和5。此相同的原则适用于作为最小值或最大值的单一数值。此外，不管范围的宽度或所描

述的特征如何,如此的解释都应适用。

[0092] 缩写

[0093] 本说明书中使用的一些缩写包括:

- [0094] ADCC: 抗体依赖性细胞介导的细胞毒性
- [0095] ATR: 运动失调性毛细血管扩张症和RAD3相关蛋白
- [0096] BID: 每日两次
- [0097] CDR: 互补决定区
- [0098] CRC: 结直肠癌
- [0099] CRT: 放化疗
- [0100] CT: 化疗
- [0101] DNA: 脱氧核糖核酸
- [0102] DSB: 双链断裂
- [0103] Ig: 免疫球蛋白
- [0104] IHC: 免疫组织化学
- [0105] IV: 静脉内
- [0106] mCRC: 转移性结直肠癌
- [0107] MSI-H: 微卫星状态不稳定地高
- [0108] MSI-L: 微卫星状态不稳定地低
- [0109] MSS: 微卫星状态稳定
- [0110] NK: 自然杀伤细胞
- [0111] NSCLC: 非小细胞肺癌
- [0112] OS: 总体存活
- [0113] PARPi: 聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)的抑制剂
- [0114] PD-1: 程序性死亡1
- [0115] PD-L1: 程序性死亡配体1
- [0116] PFS: 无进展存活
- [0117] QD: 每日一次
- [0118] QID: 每日四次
- [0119] Q2W: 每两周
- [0120] Q3W: 每三周
- [0121] RNA: 核糖核酸
- [0122] RR: 相对风险
- [0123] RT: 放疗
- [0124] SCCHN: 头颈部鳞状细胞癌
- [0125] SCLC: 小细胞肺癌
- [0126] SoC: 护理标准
- [0127] TID: 每日三次
- [0128] TR: 肿瘤应答
- [0129] TTP: 肿瘤进展时间

[0130] TTR: 肿瘤复发时间

[0131] 描述性实施方案

[0132] 不受任何理论的束缚,本发明人设想了用铂化物质和ATR抑制剂治疗肿瘤使肿瘤对PD-1拮抗剂诸如抗PD-L1抗体的治疗敏感,该抗PD-L1抗体包含重链和轻链,所述重链包含具有SEQ ID NO:1、2和3的氨基酸序列的三个互补决定区,所述轻链包含具有SEQ ID NO:4、5和6的氨基酸序列的三个互补决定区。抑制PD-1与PD-L1之间的相互作用增强T细胞应答并介导临床抗肿瘤活性。PD-1是由活化T细胞表达的关键免疫检查点受体,其介导免疫抑制并且主要在外周组织中发挥功能,在该处T细胞可能遇到由肿瘤细胞、基质细胞或这两者表达的免疫抑制性PD-1配体PD-L1 (B7-H1) 和PD-L2 (B7-DC)。

[0133] 本发明部分地源于对PD-1拮抗剂、铂化物质和ATR抑制剂的组合益处的发现。令人惊奇地,本发明的三重组合显示要优于仅采用铂化物质和ATR抑制剂的组合治疗。例如,三重组合还提高了小鼠肿瘤模型中的存活。增效作用可为累加的,或其可为协同的。组合疗法的增效作用至少是累加的。本发明人已示出该组合的增效作用在小鼠模型中是协同的(参见例如图6)。此外,初始结果表明该组合疗法是良好耐受的(参见图4、7、10)。

[0134] 因此,在一个方面,本发明提供了PD-1拮抗剂、铂化物质和ATR抑制剂,其用于治疗对其有需要的对象的癌症的方法,该方法包括向对象施用PD-1拮抗剂、铂化物质和ATR抑制剂。相似地,本发明提供了组合在用于治疗对其有需要的对象的癌症的方法中的用途,该方法包括向对象施用PD-1拮抗剂、铂化物质和ATR抑制剂。相似地,本发明提供了PD-1拮抗剂、铂化物质和ATR抑制剂用于制备用于治疗对其有需要的对象的癌症的药物的用途,包括向对象施用PD-1拮抗剂、铂化物质和ATR抑制剂。同样,本发明提供了这三种化合物中的任一种用于制备用于治疗对其有需要的对象的癌症的药物的用途,包括向对象施用所有三种化合物。

[0135] 应理解,在本发明的所有实施方案中,应用治疗有效量的PD-1拮抗剂、铂化物质和ATR抑制剂。

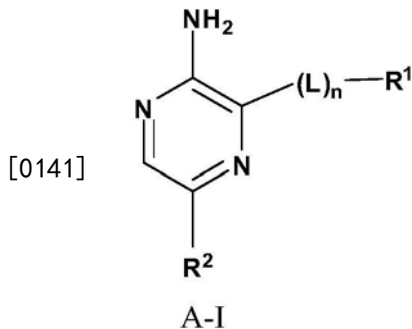
[0136] 在一个优选的实施方案中,PD-1拮抗剂是抗PD-L1抗体,更优选地是以下抗PD-L1抗体,其包含重链和轻链,所述重链包含具有SEQ ID NO:1、2和3的氨基酸序列的三个互补决定区,所述轻链包含具有SEQ ID NO:4、5和6的氨基酸序列的三个互补决定区。

[0137] 在一个实施方案中,抗PD-L1抗体是单克隆抗体。在一个实施方案中,抗PD-L1抗体发挥抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)。在一个实施方案中,抗PD-L1抗体是人或人源化抗体。在一个实施方案中,抗PD-L1抗体是分离的抗体。在各种实施方案中,抗PD-L1抗体的特征在于如上定义的一种或多种前述特征的组合。

[0138] 在各种实施方案中,抗PD-L1抗体是avelumab。Avelumab(以前称为MSB0010718C)是免疫球蛋白(Ig)G1同种型的完全人单克隆抗体(参见例如,WO 2013/079174)。Avelumab选择性地结合PD-L1并竞争性地阻断其与PD-1的相互作用。作用机制依赖于抑制PD-1/PD-L1相互作用和基于自然杀伤(NK)的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)(参见例如,Boyerinas et al. (2015) Cancer Immunol Res 3:1148)。与靶向T细胞的抗PD-1抗体相比,avelumab靶向肿瘤细胞,并因此预计其副作用较少,包括较低的自身免疫相关安全性风险,因为PD-L1的阻断会导致PD-L2/PD-1途径完整以促进外周自身耐受(参见例如,Latchman et al. (2001) Nat Immunol 2(3):261)。

[0139] 已在W02013/079174中描述Avelumab、其序列及其许多性质,其中其被指定为具有根据SEQ ID NO:32和33的重链和轻链序列的A09-246-2,如该专利申请的图1 (SEQ ID NO:7) 和图2 (SEQ ID NO:9) 中所示。然而,经常观察到,在抗体产生过程中,重链的C-末端赖氨酸(K) 被切除。该修饰对抗体-抗原结合没有影响。因此,在一些实施方案中,不存在avelumab重链序列的C末端赖氨酸(K)。没有C-末端赖氨酸的avelumab的重链序列在图1B (SEQ ID NO:8) 中示出,而图1A (SEQ ID NO:7) 示出avelumab的全长重链序列。此外,比如W02013/079174中所示,avelumab的性质之一是其发挥抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC) 的能力,从而通过诱导其裂解而不显示任何显著毒性而直接作用于携带PD-L1的肿瘤细胞。在优选的实施方案中,抗PD-L1抗体是avelumab,具有图1A或1B (SEQ ID NO:7或8) 和图2 (SEQ ID NO:9) 所示的重链和轻链序列,或其抗原结合片段。

[0140] 在一些方面,ATR抑制剂是由式A-I表示的化合物:



[0142] 或其药学上可接受的盐,

[0143] 其中:

[0144] R^1 为具有0-4个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-6元单环芳基或杂芳基环,其中所述单环芳基或杂芳基环任选地稠合至另一个环以形成具有0-6个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的8-10元双环芳基或杂芳基环;每个 R^1 任选地被1-5个 J^1 基团取代;

[0145] R^2 为具有0-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-6元单环芳基或杂芳基环,其中所述单环芳基或杂芳基环任选地稠合至另一个环以形成具有0-4个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的8-10元双环芳基或杂芳基环;每个 R^2 任选地被1-5个 J^2 基团取代;

[0146] L为-C(O)NH-或-C(O)N(C₁₋₆烷基)-;

[0147] n为0或1;

[0148] 每个 J^1 和 J^2 独立地为卤素、-CN、-NO₂、-V¹-R或-(V²)_m-Q;

[0149] V¹ 为C₁₋₁₀ 脂肪族链,其中0-3个亚甲基单元任选且独立地被O、NR^{''}、S、C(O)、S(O)或S(O)₂ 替代;V¹ 任选地被1-6次出现(occurrence)的 J^{V^1} 取代;

[0150] V² 为C₁₋₁₀ 脂肪族链,其中0-3个亚甲基单元任选且独立地被O、NR^{''}、S、C(O)、S(O)或S(O)₂ 替代;V² 任选地被1-6次出现的 J^{V^2} 取代;

[0151] m为0或1;

[0152] Q为具有0-4个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的3-8元饱和或不饱和单环,或具有0-6个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的9-10元饱和或不饱和双环;每个Q任选地被0-5个 J^Q 取代;

[0153] 每个 J^{V^1} 或 J^{V^2} 独立地为卤素、CN、NH₂、NO₂、C₁₋₄ 脂肪族基、NH(C₁₋₄ 脂肪族基)、N(C₁₋₄ 脂肪族基)₂、OH、O(C₁₋₄ 脂肪族基)、CO₂H、CO₂(C₁₋₄ 脂肪族基)、C(O)NH₂、C(O)NH(C₁₋₄ 脂肪族基)、C

(O) N(C₁₋₄脂肪族基)₂、NHCO(C₁₋₄脂肪族基)、N(C₁₋₄脂肪族基)CO(C₁₋₄脂肪族基)、SO₂(C₁₋₄脂肪族基)、NHSO₂(C₁₋₄脂肪族基)、或N(C₁₋₄脂肪族基)SO₂(C₁₋₄脂肪族基),其中所述C₁₋₄脂肪族基任选地被卤素取代;

[0154] R为H或C₁₋₆脂肪族基、其中所述C₁₋₆脂肪族基任选地被1-4次出现的NH₂、NH(C₁₋₄脂肪族基)、N(C₁₋₄脂肪族基)₂、卤素、C₁₋₄脂肪族基、OH、O(C₁₋₄脂肪族基)、NO₂、CN、CO₂H、CO₂(C₁₋₄脂肪族基)、CO(C₁₋₄脂肪族基)、O(卤代C₁₋₄脂肪族基)、或卤代C₁₋₄脂肪族基取代;

[0155] 每个J^Q独立地为卤素、氧代基、CN、NO₂、X-R、或-(X)_p-Q⁴;

[0156] p为0或1;

[0157] X为C₁₋₁₀脂肪族基,其中所述C₁₋₆脂肪族基的1-3个亚甲基单元任选地被-NR、-O-、-S-、C(O)、S(O)₂、或S(O)替代;其中X任选且独立地被1-4次出现的NH₂、NH(C₁₋₄脂肪族基)、N(C₁₋₄脂肪族基)₂、卤素、C₁₋₄脂肪族基、OH、O(C₁₋₄脂肪族基)、NO₂、CN、CO(C₁₋₄脂肪族基)、CO₂H、CO₂(C₁₋₄脂肪族基)、C(O)NH₂、C(O)NH(C₁₋₄脂肪族基)、C(O)N(C₁₋₄脂肪族基)₂、SO(C₁₋₄脂肪族基)、SO₂(C₁₋₄脂肪族基)、SO₂NH(C₁₋₄脂肪族基)、SO₂N(C₁₋₄脂肪族基)₂、NHC(O)(C₁₋₄脂肪族基)、N(C₁₋₄脂肪族基)C(O)(C₁₋₄脂肪族基)取代,其中所述C₁₋₄脂肪族基任选地被1-3次出现的卤素取代;

[0158] Q⁴为具有0-4个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的3-8元饱和或不饱和单环,或具有0-6个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的8-10元饱和或不饱和双环;每个Q⁴任选地被1-5个J^{Q4}取代;

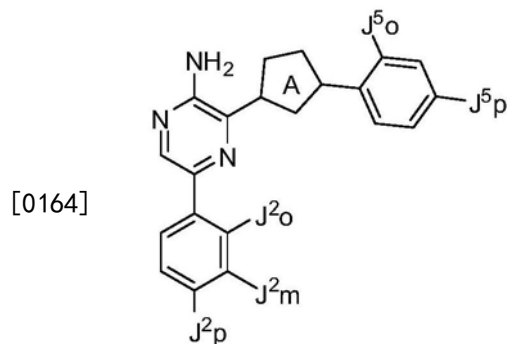
[0159] J^{Q4}为卤素、CN、或C₁₋₄烷基,其中至多2个亚甲基单元任选地被O、NR*、S、C(O)、S(O)、或S(O)₂替代;

[0160] R为H或C₁₋₄烷基,其中所述C₁₋₄烷基任选地被1-4个卤素取代;

[0161] R'和R*各自独立地为H、C₁₋₄烷基,或不存在;其中所述C₁₋₄烷基任选地被1-4个卤素取代。

[0162] 在一些实施方案中,L为-C(O)NH-;并且R¹和R²为苯基。

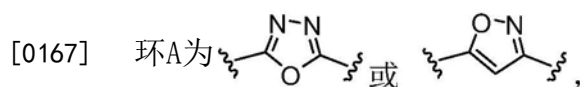
[0163] 在另一个实施方案中,ATR抑制剂是由式A-I-a表示的化合物:



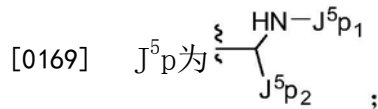
A-I-a

[0165] 或其药用盐,

[0166] 其中:



[0168] J^{5o}为H、F、Cl、C₁₋₄脂肪族基、O(C₁₋₃脂肪族基)、或OH;



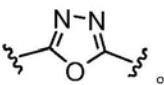
[0170] $J^5_{p_1}$ 为 H、C₁₋₄ 脂肪族基、氧杂环丁烷基、四氢呋喃基、四氢吡喃基；其中 $J^5_{p_1}$ 任选地被 1-2 次出现的 OH 或卤素取代；

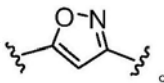
[0171] $J^5_{p_2}$ 为 H、甲基、乙基、CH₂F、CF₃、或 CH₂OH；

[0172] J^2_o 为 H、CN、或 SO₂CH₃；

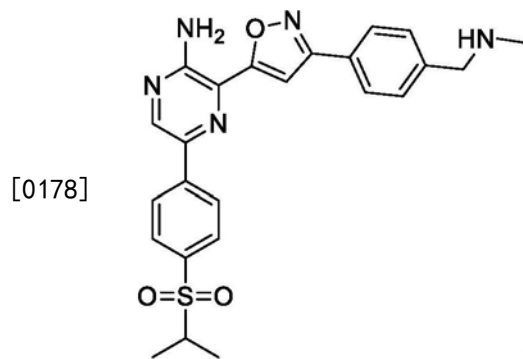
[0173] J^2_m 为 H、F、Cl、或甲基；

[0174] J^2_p 为 -SO₂ (C₁₋₆ 烷基)、-SO₂ (C₃₋₆ 环烷基)、-SO₂ (4-6 元杂环基)、-SO₂ (C₁₋₄ 烷基) N (C₁₋₄ 烷基)₂、或 -SO₂ (C₁₋₄ 烷基) - (4-6 元杂环基)，其中所述杂环基含有 1 个选自氧、氮和硫的杂原子；并且其中所述 J^2_p 任选地被 1-3 次出现的卤素、OH、或 O (C₁₋₄ 烷基) 取代。

[0175] 在一些实施方案中，环 A 为 。

[0176] 在其他实施方案中，环 A 为 。

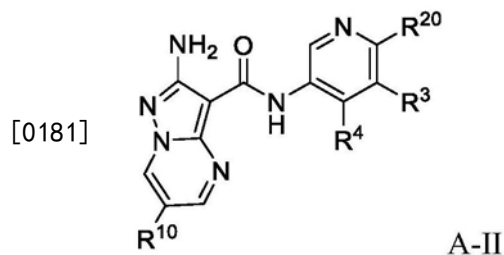
[0177] 在一些优选的实施方案中，ATR 抑制剂是由下式表示的化合物 (化合物 1)：



化合物 1

[0179] 或其药学上可接受的盐。化合物 1 也称为 3-[3-(4-甲基氨基甲基-苯基)-异恶唑-5-基]-5-[4-(丙烷-2-磺酰基)-苯基]-吡嗪-2-基胺 (3-[3-(4-Methylaminomethylphenyl)-isoxazol-5-yl]-5-[4-(propane-2-sulfonyl)-phenyl]-pyrazin-2-ylamine)。

[0180] 在另一方面，ATR 抑制剂由式 A-II 表示：



[0182] 或其药用盐或衍生物，

[0183] 其中：

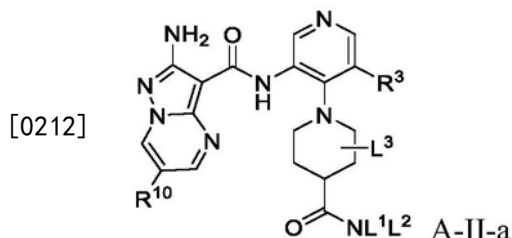
[0184] R¹⁰ 选自氟、氯、或 -C (J¹⁰)₂CN；

[0185] J¹⁰ 独立地为 H 或 C₁₋₂ 烷基；或者

[0186] 两次出现的 J¹⁰ 与它们所连接的碳原子一起形成 3-4 元任选取代的碳环；

- [0187] R^{20} 为H、卤素、-CN、 NH_2 、任选地被0-3次出现的氟取代的 C_{1-2} 烷基；或 C_{1-3} 脂肪族链，其中脂肪族链的至多两个亚甲基单元任选地被-O-、- NR^a -、-C(O)-、或-S(O)_z替代；
- [0188] R^3 为H、卤素、任选地被1-3次出现的卤素取代的 C_{1-4} 烷基、 C_{3-4} 环烷基、-CN、或 C_{1-3} 脂肪族链，其中脂肪族链的至多两个亚甲基单元任选地被-O-、- NR^a -、-C(O)-、或-S(O)_z替代；
- [0189] R^4 为 Q^1 或 C_{1-10} 脂肪族链，其中脂肪族链的至多四个亚甲基单元任选地被-O-、- NR^a -、-C(O)-、或-S(O)_z替代；每个 R^4 任选地被0-5次出现的 J^{Q1} 取代；或者
- [0190] R^3 和 R^4 与它们所键合的原子一起形成具有0-2个选自氧、氮和硫的杂原子的5-6元芳族或非芳族环；由 R^3 和 R^4 形成的环任选地被0-3次出现的 J^Z 取代；
- [0191] Q^1 为3-7元完全饱和的、部分不饱和的、或芳族单环、具有0-3个选自氧、氮和硫的杂原子的3-7元环；或具有0-5个选自氧、氮和硫的杂原子的7-12元完全饱和的、部分不饱和的、或芳族双环；
- [0192] J^Z 独立地为 C_{1-6} 脂肪族基、=O、卤素、或→O；
- [0193] J^{Q1} 独立地为-CN、卤素、=O、 Q^2 、或 C_{1-8} 脂肪族链，其中脂肪族链的至多三个亚甲基单元任选地被-O-、- NR^a -、-C(O)-、或-S(O)_z替代；每次出现的 J^{Q1} 任选地被0-3次出现的 J^R 取代；或者
- [0194] 在同一原子上两次出现的 J^{Q1} 与它们所连接的原子一起形成具有0-2个选自氧、氮和硫的杂原子的3-6元环；其中由两次出现的 J^{Q1} 形成的环任选地被0-3次出现的 J^X 取代；或者
- [0195] 两次出现的 J^{Q1} 与 Q^1 一起形成6-10元饱和或部分不饱和的桥环体系；
- [0196] Q^2 独立地选自具有0-3个选自氧、氮、或硫的杂原子的3-7元完全饱和的、部分不饱和的、或芳族单环；或具有0-5个选自氧、氮、或硫的杂原子的7-12元完全饱和的、部分不饱和的、或芳族双环；
- [0197] J^R 独立地为-CN、卤素、=O、→O、 Q^3 、或 C_{1-6} 脂肪族链，其中脂肪族链的至多三个亚甲基单元任选地被-O-、- NR^a -、-C(O)-或-S(O)_z替代；每个 J^R 任选地被0-3次出现的 J^T 取代；或者
- [0198] 在同一原子上两次出现的 J^R 与它们所连接的原子一起形成具有0-2个选自氧、氮、或硫的杂原子的3-6元环；其中由两次出现的 J^R 形成的环任选地被0-3次出现的 J^X 取代；或者
- [0199] 两次出现的 J^R 与 Q^2 一起形成6-10元饱和或部分不饱和的桥环体系；
- [0200] Q^3 为具有0-3个选自氧、氮和硫的杂原子的3-7元完全饱和的、部分不饱和的、或芳族单环；或具有0-5个选自氧、氮和硫的杂原子的7-12元完全饱和的、部分不饱和的、或芳族双环；
- [0201] J^X 独立地为-CN、=O、卤素、或 C_{1-4} 脂肪族链，其中脂肪族链的至多两个亚甲基单元任选地被-O-、- NR^a -、-C(O)-、或-S(O)_z替代；
- [0202] J^T 独立地为卤素、-CN、→O；=O、-OH、 C_{1-6} 脂肪族链，其中脂肪族链的至多两个亚甲基单元任选地被-O-、- NR^a -、-C(O)-、或-S(O)_z替代；或具有0-2个选自氧、氮和硫的杂原子的3-6元非芳族环；每次出现的 J^T 任选地被0-3次出现的 J^M 取代；或者
- [0203] 在同一原子上两次出现的 J^T 与它们所连接的原子一起形成具有0-2个选自氧、氮和硫的杂原子的3-6元环；或者
- [0204] 两次出现的 J^T 与 Q^3 一起形成6-10元饱和或部分不饱和的桥环体系；

- [0205] J^M 独立地为卤素或 C_{1-6} 脂肪族基；
 [0206] z 为0、1或2；并且
 [0207] R^a 独立地为H或 C_{1-4} 脂肪族基。
 [0208] 在一些实施方案中， R^{10} 和 R^3 为氟。
 [0209] 在其他实施方案中， R^4 为 Q^1 。
 [0210] 在另一些实施方案中， Q^1 独立地为哌啶基和咪唑基。
 [0211] 在另一个实施方案中，ATR抑制剂由式A-II-a表示：



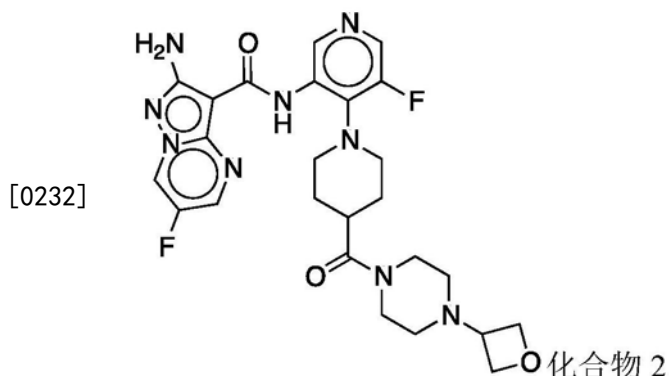
- [0213] 或其药学上可接受的盐或前药，
 [0214] 其中：
 [0215] R^{10} 为氟、氯、或 $-C(J^{10})_2CN$ ；
 [0216] J^{10} 独立地为H或 C_{1-2} 烷基；或者
 [0217] 两次出现的 J^{10} 与它们所连接的碳原子一起形成任选地取代的3-4元碳环环；
 [0218] R^3 为H；氯；氟；任选地被1-3次出现的卤素取代的 C_{1-4} 烷基； C_{3-4} 环烷基； $-CN$ ；或 C_{1-3} 脂肪族链，其中脂肪族链的至多两个亚甲基单元任选地被 $-O-$ 、 $-NR^a-$ 、 $-C(O)-$ 、或 $-S(O)_z$ 替代；
 [0219] L^1 为H；具有0-2个选自氧、氮和硫的杂原子的3-7元芳族或非芳族环；或 C_{1-6} 脂肪族链，其中脂肪族链的至多两个亚甲基单元任选地被 $-O-$ 、 $-NR^a-$ 、 $-C(O)-$ 、或 $-S(O)_z$ 替代；每个 L^1 任选地被 C_{1-4} 脂肪族基取代； $-CN$ ；卤素； $-OH$ ；或具有0-2个选自氧、氮和硫的杂原子的3-6元非芳族环；
 [0220] L^2 为H；具有0-2个选自氧、氮和硫的杂原子的3-7元芳族或非芳族环；或 C_{1-6} 脂肪族链，其中脂肪族链的至多两个亚甲基单元任选地被 $-O-$ 、 $-NR^a-$ 、 $-C(O)-$ 、或 $-S(O)_z$ 替代；每个 L^2 任选地被 C_{1-4} 脂肪族基取代； $-CN$ ；卤素； $-OH$ ；或具有0-2个选自氧、氮和硫的杂原子的3-6元非芳族环；或者
 [0221] L^1 和 L^2 与它们所连接的氮一起形成环D；环D任选地被0-5次出现的 J^G 取代；
 [0222] L^3 为H、 C_{1-3} 脂肪族基、或 CN ；
 [0223] 环D为具有1-2个选自氧、氮和硫的杂原子的3-7元杂环基环；或具有1-5个选自氧、氮和硫的杂原子的7-12元完全饱和或部分不饱和的双环；
 [0224] J^G 独立地为卤素； $-CN$ ； $-N(R^o)_2$ ； $\rightarrow O$ ；3-6元碳环基；具有1-2个选自氧、氮和硫的杂原子的3-6元杂环基；或 C_{1-4} 烷基链，其中烷基链的至多两个亚甲基单元任选地被 $-O-$ 、 $-NR^a-$ 、 $-C(O)-$ 、或 $-S(O)_z$ 替代；每个 J^G 任选地被0-2次出现的 J^K 取代；
 [0225] 在同一原子上两次出现的 J^G 与它们所连接的原子一起形成具有0-2个选自氧、氮和硫的杂原子的3-6元环；或者
 [0226] 两次出现的 J^G 与环D一起形成6-10元饱和或部分不饱和的桥环体系；
 [0227] J^K 为具有0-2个选自氧、氮和硫的杂原子的3-7元芳族或非芳族环；

[0228] z为0、1、或2;并且

[0229] R^a和R^o独立地为H或C₁₋₄烷基。

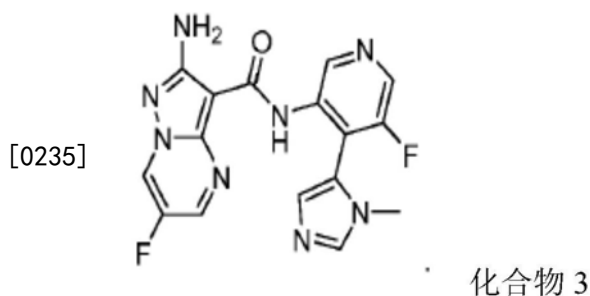
[0230] 在另一个实施方案中,R¹⁰和R³为氟。

[0231] 在其他优选的实施方案中,ATR抑制剂是由下式表示的化合物(化合物2):



[0233] 或其药学上可接受的盐。化合物2也称为2-氨基-6-氟-N-(5-氟-4-{4-[4-(氧杂环丁烷-3-基)哌啶-1-羰基]哌啶-1-基}吡啶-3-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺(2-amino-6-fluoro-N-(5-fluoro-4-{4-[4-(oxetan-3-yl)piperazine-1-carbonyl]piperidin-1-yl}pyridin-3-yl)pyrazolo[1,5-a]pyrimidine-3-carboxamide)。

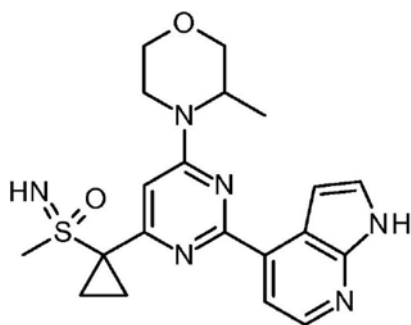
[0234] 在一些优选的实施方案中,ATR抑制剂是由下式表示的化合物(化合物3):



[0236] 或其药学上可接受的盐。化合物3也称为2-氨基-6-氟-N-[5-氟-4-(1-甲基-1H-咪唑-5-基)吡啶-3-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺(2-Amino-6-fluoro-N-[5-fluoro-4-(1-methyl-1H-imidazol-5-yl)pyridin-3-yl]pyrazolo[1,5-a]pyrimidine-3-carboxamide)。

[0237] 另一种优选的ATR抑制剂是AZD6738(其也称为ceralasertib(CAS登记号1352226-88-0))或其药学上可接受的盐。其具有化学式4-{4-[(3R)-3-甲基吗啉-4-基]-6-[1-(S-甲基磺酰亚胺酰基)环丙基]嘧啶-2-基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(4-{4-[(3R)-3-methylmorpholin-4-yl]-6-[1-(S-methylsulfonimidoyl)cyclopropyl]pyrimidin-2-yl}-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridine)并且由下式表示(化合物4):

[0238]

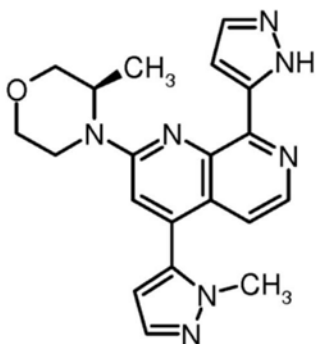


化合物 4

[0239] 或其药学上可接受的盐。

[0240] 另一种优选的ATR抑制剂具有化学式2-[(3R)-3-甲基吗啉-4-基]-4-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-8-(1H-吡唑-5-基)-1,7-萘啶(2-[(3R)-3-methylmorpholin-4-yl]-4-(1-methyl-1H-pyrazol-5-yl)-8-(1H-pyrazol-5-yl)-1,7-naphthyridine)并且由下式表示(化合物5)：

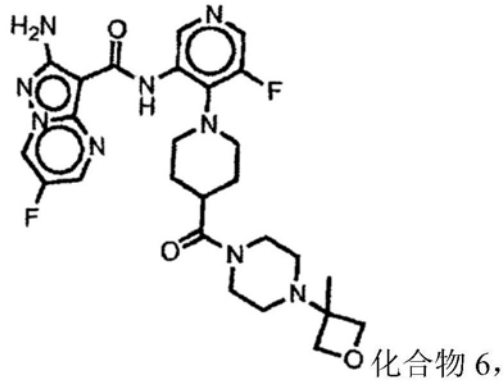
[0241]



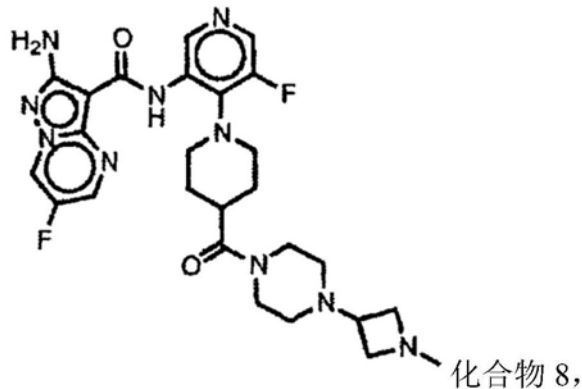
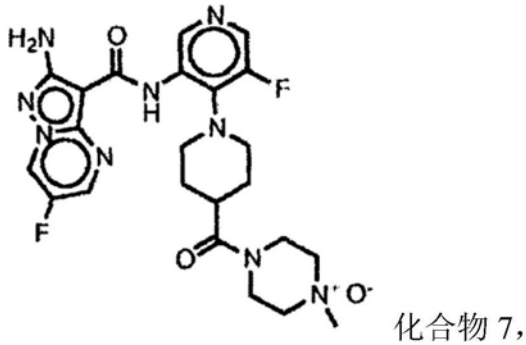
化合物 5

[0242] 或其药学上可接受的盐。

[0243] 在一些实施方案中,ATR抑制剂选自：



[0244]



[0245] 或其药学上可接受的盐。

[0246] 在又一个实施方案中,化合物是ATR抑制剂,其选自以下所述的化合物:WO2013/049726、WO 2013/152298、WO 2013/049859、US-2013-0089625、US-2013-0115312、US-2014-0107093、US-2013-0096139、WO 2011/143426、US-2013-0095193、WO2014/055756、WO 2011/143419、WO 2011/143422、WO 2011/143425、US-2013-0115311、US-2013-0115312、US-2013-0115313、US-2013-0115314、WO 2011/163527、WO 2012/178123、WO 2012/178124、WO 2012/178125、US-2014-0113005、WO2013/049726、WO 2013/071085、WO 2010/071837、WO 2014/089379、WO 2014/143242、WO 2014/143241、WO 2015/084384、WO 2014/143240、WO 2015/187451、WO 2015/085132、WO 2014/062604、WO 2014/143240、WO 2013/071094、WO 2013/071093、WO 2013/071090、WO 2013/071088、WO 2013/049859、WO 2013/049719、WO 2013/049720、WO 2013/049722、WO 2012/138,938、WO 2011/163527、WO 2011/143,423、WO 2011/143,426、WO 2011/143,399和/或WO 2010/054398。

[0247] 在一个方面,铂化物质选自顺铂、卡铂、奥沙利铂、奈达铂、洛铂、三铂、四硝酸酯、依铂、吡铂、ProLindac (CAS号674289-90-8)、Lipoplatin (脂质体包封形式的顺铂)、aroplatin和沙铂。优选地,铂化物质是卡铂。

[0248] 在一个实施方案中,本发明的治疗组合用于治疗人类对象。用治疗组合治疗的主要预期益处是这些人类患者的风险/效益比率的增加。

[0249] 在一个实施方案中,癌症被鉴定为PD-L1阳性癌性疾病。药效学分析显示PD-L1的肿瘤表达可预测治疗有效性。根据本发明,如果癌症细胞中至少0.1%和至少10%,更优选至少0.5%和5%,最优选至少1%的细胞表面存在PD-L1,则优选认为癌症是PD-L1阳性。在一个实施方案中,通过免疫组织化学(IHC)确定PD-L1表达。采用抗PD-L1一抗的免疫组织化学可以在来自经PD-1拮抗剂诸如avelumab、ATR抑制剂和铂化物质治疗的患者的福尔马林固定和石蜡包埋的标本的连续切片上进行。

[0250] 在另一个实施方案中,癌症选自肺癌、头颈癌、结肠癌、尿路上皮癌、前列腺癌、食道癌、膀胱癌、胃癌、神经内分泌系统癌、间充质癌、乳腺癌、卵巢癌、原发性腹膜癌、输卵管癌、胰腺癌,以及它们的组织学亚型(例如腺癌、鳞癌、大细胞癌)。在一些实施方案中,癌症选自小细胞肺癌(SCLC)、非小细胞肺癌(NSCLC)、头颈部鳞状细胞癌(SCCHN)、结直肠癌(CRC)、原发性神经内分泌肿瘤和肉瘤。在一个优选的实施方案中,癌症选自卵巢癌、原发性腹膜癌、输卵管癌,特别是PARPi抗性复发性癌的那些。

[0251] 在各种实施方案中,本发明的治疗组合用作第一、第二、第三或更后的治疗线。治疗线指的是按照患者接受的不同药物或其他疗法的治疗顺序的位置。一线疗法方案是首先给予的治疗,而二线或三线治疗分别在一线疗法后或二线治疗后给予。因此,一线疗法是疾病或病症的首次治疗。在患有癌症的患者中,一线疗法(有时称为初级疗法或初级治疗)可以是手术、化疗、放疗或这些疗法的组合。通常,患者接受随后的化疗方案(二线或三线疗法)或者是因为患者没有显示阳性临床结果,或仅显示对一线或二线疗法的亚临床应答,或显示阳性临床应答但后来经历了复发,有时患有疾病现在对引起早期阳性应答的早期疗法有抵抗力。

[0252] 如果本发明的治疗组合提供的安全性和临床益处得到证实,则PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质的这种组合保证了癌症患者的一线设置。特别地,该组合可成为针对患有选自SCLC广泛性病变(ED)、NSCLC、SCCHN、卵巢癌、原发性腹膜癌和输卵管癌的癌症的患者的新标准治疗。

[0253] 由于ATR抑制剂、铂化物质和PD-1拮抗剂之间的作用模式不同,因此具有增强的免疫相关不良事件的机会较低。在非临床发现中或在公布的临床结果中不存在重叠的免疫特征,使得本发明的组合疗法示出增强的不良事件的风险比在单独施用这些物质中通常观察到的情况低。本发明的PD-1拮抗剂(优选地avelumab)、ATR抑制剂(优选地化合物1或2)以及本发明的铂化物质(优选地卡铂)在各自作为单一试剂的情况下已确认的和潜在的风险也被认为代表组合治疗的潜在风险。

[0254] 优选将本发明的治疗组合应用于后期治疗线,特别是癌症的二线或更高线治疗。如果对象经历至少一轮先前的癌症疗法,则对先前的疗法数量没有限制。该轮先前的癌症治疗是指用例如一种或多种化疗剂、放疗或放化疗法对象的确定的时间表/期,并且该对象的先前治疗失败,该先前治疗已提前完成或终止。一个原因可能是癌症对先前的疗法具有抗性或变得具有抗性。目前用于治疗癌症患者的标准治疗(SoC)通常涉及有毒和旧的化疗方案的施用。SoC与可能干扰生活质量(比如继发性癌症)的强烈不良事件的高风险相关。在一个实施方案中,在患有对单-和/或多-化疗、放疗或放化疗法有抗性的癌症的患者中,PD-

1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质的组合可与SoC化疗一样有效且更好地耐受。

[0255] 在一个优选的实施方案中,PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质在癌症的二线治疗或更高线治疗,更优选地二线治疗中施用。在一些实施方案中,患者在施用基于PARPi的疗法之后但在施用本发明的组合的任何药物之前已经复发或进展。在一些实施方案中,患者先前经历至少一个基于PARPi的疗法周期。在一些实施方案中,患者先前经历至少两个、三个、四个、五个或六个基于PARPi的疗法周期。在一些实施方案中,基于PARPi的疗法在至少一个周期后停止,因为尽管实施基于PARPi的疗法,但疾病有进展。在一些实施方案中,基于PARPi的疗法在至少一个周期后由于毒性而停止,其中毒性与基于PARPi的疗法相关。在一些实施方案中,由于患者对基于PARPi的疗法有抗性,基于PARPi的疗法在至少一个周期后停止。在一个更优选的实施方案中,PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质在选自以下的癌症的二线治疗或更高线治疗中施用:PARPi抗性复发性卵巢癌、PARPi抗性复发性输卵管癌、PARPi抗性复发性原发性腹膜癌、预防治疗的复发转移性NSCLC、不可切除的局部晚期NSCLC、预防治疗的SCLC ED、不适于全身治疗的SCLC、预防治疗的复发(复发性)或转移性SCCHN、符合条件再次放射的复发性SCCHN、预防治疗的微卫星状态不稳定低(MSI-L)或微卫星状态稳定(MSS)转移性结直肠癌(mCRC)。SCLC和SCCHN特别地进行全身预防治疗。MSI-L/MSS mCRC占有mCRC的85%。

[0256] 在组合疗法中采用抗PD-1或抗PD-L1抗体,优选地avelumab的一些实施方案中,给药方案将包括以约1mg/kg、2mg/kg、3mg/kg、4mg/kg、5mg/kg、6mg/kg、7mg/kg、8mg/kg、9mg/kg、10mg/kg、11mg/kg、12mg/kg、13mg/kg、14mg/kg、15mg/kg、16mg/kg、17mg/kg、18mg/kg、19mg/kg、20mg/kg、21mg/kg、22mg/kg、23mg/kg、24mg/kg、25mg/kg、26mg/kg、27mg/kg、28mg/kg、29mg/kg或30mg/kg的剂量,间隔约14天(±2天)或约21天(±2天)或约30天(±2天)在整个治疗过程中施用抗体。在组合疗法中采用抗PD-1或抗PD-L1抗体,优选地avelumab的其他实施方案中,给药方案将包括以约0.005mg/kg至约20mg/kg的剂量施用抗体,其中患者内剂量增加。在其他逐步增加的剂量实施方案中,剂量之间的间隔将逐渐缩短,例如,第一和第二剂量之间约30天(±2天)、第二剂量和第三剂量之间约14天(±2天)。在某些实施方案中,对于第二剂量之后的剂量,施用间隔将为约14天(±2天)。在某些实施方案中,对象将静脉内(IV)输注包含抗PD-1或抗PD-L1抗体(优选avelumab)的药物。在一些实施方案中,组合疗法中采用的PD-1拮抗剂是抗PD-L1抗体avelumab,其以选自下组的剂量静脉内施用:约1mg/kg Q2W(Q2W=每两周一剂)、约2mg/kg Q2W、约3mg/kg Q2W、约5mg/kg Q2W、约10mg/kg Q2W、约1mg/kg Q3W(Q3W=每三周一剂)、约2mg/kg Q3W、约3mg/kg Q3W、约5mg/kg Q3W、约10mg/kg Q3W、和约20mg/kg Q3W。在一些实施方案中,组合疗法中的PD-1拮抗剂是抗PD-L1抗体avelumab,其在液体药物中以选自下组的剂量施用:约1mg/kg Q2W、约2mg/kg Q2W、约3mg/kg Q2W、约5mg/kg Q2W、约10mg/kg Q2W、约1mg/kg Q3W、约2mg/kg Q3W、约3mg/kg Q3W、约5mg/kg Q3W、约10mg/kg Q3W和约20mg/kg Q3W。在一些实施方案中,治疗周期从组合治疗的第一天开始并持续2周。在此类实施方案中,组合疗法优选在患者中达到CR后施用至少12周(治疗6个周期),更优选至少24周,甚至更优选至少2周。

[0257] 在组合疗法中采用抗PD-1或抗PD-L1抗体,优选地avelumab的一些实施方案中,给药方案将包含以约400-800mg固定剂量Q2W的剂量施用抗体。优选地,固定给药方案是400mg、450mg、500mg、550mg、600mg、650mg、700mg、750mg或800mg固定剂量Q2W。更优选地,固

定给药方案是800mg固定剂量Q2W。在组合疗法中采用抗PD-1或抗PD-L1抗体(优选avelumab)的一些更优选的实施方案中,给药方案是以约14天(± 2 天)的间隔静脉内给予800mg的固定剂量。

[0258] 在组合疗法中采用抗PD-1或抗PD-L1抗体,优选地avelumab的一些实施方案中,给药方案将包括以约800-1600mg固定剂量Q3W的剂量施用抗体。优选地,固定给药方案为800mg、900mg、1000mg、1100mg、1200mg、1300mg、1400mg、1500mg或1600mg固定剂量Q3W。更优选地,固定给药方案为1600mg固定剂量Q3W。在组合疗法中采用抗PD-1或抗PD-L1抗体,优选地avelumab的一些更优选的实施方案中,给药方案将为以约21天(± 2 天)的间隔静脉内给予1600mg的固定剂量。

[0259] 在另一个实施方案中,抗PD-1或抗PD-L1抗体,优选地avelumab,将被每两周给予IV(Q2W)。在某些实施方案中,抗-PD-L1抗体以每两周约10mg/kg体重的剂量静脉内施用50-80分钟(Q2W)。在一个更优选的实施方案中,avelumab的剂量为10mg/kg体重,每两周静脉内输注1小时(Q2W)。在某些实施方案中,抗-PD-L1抗体以每两周(Q2W)约800mg的固定剂量静脉内施用50-80分钟。在一个更优选的实施方案中,avelumab剂量为每2周1小时静脉内输注800mg(Q2W)。鉴于输液泵从一个站点到另一个站点的可变性,允许减去10分钟和加20分钟的时间窗口。

[0260] 药代动力学研究表明,10mg/kg剂量的avelumab以可预测的药代动力学特征实现了优异的受体占有率(参见例如,Heery et al. (2015) Proc 2015ASCO Annual Meeting, abstract 3055)。该剂量耐受性良好,并且已观察到抗肿瘤活性的迹象,包括持久的应答。由于施用原因,Avelumab可以在每个周期的预定施用日最多3日之前或最多3天之后施用。药代动力学模拟还表明,相比于10mg/kg Q2W,在800mg Q2W范围内,在可用的体重范围内暴露于avelumab的可变性较小。在人口中位数体重附近,暴露相似。当使用基于体重的剂量时,相对于其他人群低体重对象倾向于略低的暴露量,并且当施加固定剂量时倾向于略高的暴露量。这些暴露差异的影响预计不会对整个人群中的任何重量的人产生临床意义。此外,预计800mg Q2W给药方案导致在所有体重类别的整个Q2W给药间隔内维持avelumab血清浓度 $>95\%$ T0所需的C_{trough} >1 mg/mL。在一个优选的实施方案中,在1小时IV输注Q2W中施用800mg的固定给药方案将用于avelumab。

[0261] 在一些实施方案中,ATR抑制剂经静脉内或口服施用。在一些实施方案中,ATR抑制剂通过连续输注施用。化合物1或其药学上可接受的盐优选地经静脉内施用。化合物2或其药学上可接受的盐、化合物3或其药学上可接受的盐以及化合物4或其药学上可接受的盐优选地口服施用。在一些实施方案中,用于组合疗法的ATR抑制剂可以以约20mg/m²至约300mg/m²、约30mg/m²至约240mg/m²、约40mg/m²至约240mg/m²、约40mg/m²至约180mg/m²、约60mg/m²至约120mg/m²、约80mg/m²至约120mg/m²、约90mg/m²至约120mg/m²、或约80mg/m²至约100mg/m²的剂量施用。在某些实施方案中,ATR抑制剂可以以约40mg/m²至约300mg/m²(例如约240mg/m²)的剂量施用。在某些情况下,ATR抑制剂可以以约60mg/m²至约180mg/m²(例如120mg/m²)的剂量施用。在某些情况下,ATR抑制剂可以以约80mg/m²至约100mg/m²(例如约90mg/m²)的剂量施用。在一些实施方案中,ATR抑制剂可以以约40mg/m²、约60mg/m²、约90mg/m²或约120mg/m²的剂量施用。优选地,治疗组合的ATR抑制剂以约90mg/m²的剂量施用。

[0262] 在一些实施方案中,ATR抑制剂是化合物1或其药学上可接受的盐,并且以约20mg/

m^2 至约300 mg/m^2 、约30 mg/m^2 至约240 mg/m^2 、约40 mg/m^2 至约240 mg/m^2 、约40 mg/m^2 至约180 mg/m^2 、约60 mg/m^2 至约120 mg/m^2 、约80 mg/m^2 至约120 mg/m^2 、约90 mg/m^2 至约120 mg/m^2 、或约80 mg/m^2 至约100 mg/m^2 的剂量施用。在一些实施方案中,化合物1或其药学上可接受的盐以约40 mg/m^2 、约60 mg/m^2 、约90 mg/m^2 或约120 mg/m^2 的剂量,优选地以约90 mg/m^2 的剂量施用。

[0263] 在一些实施方案中,在如本文所述的组合疗法中使用的铂化物质经静脉内施用。在一些实施方案中,铂化物质可以以约3 $mg/mL \cdot min$ 至约7 $mg/mL \cdot min$ 、约3.5 $mg/mL \cdot min$ 至约6 $mg/mL \cdot min$ 、约4 $mg/mL \cdot min$ 至约6 $mg/mL \cdot min$ 、约4 $mg/mL \cdot min$ 至约5.5 $mg/mL \cdot min$ 、或约4 $mg/mL \cdot min$ 至约5 $mg/mL \cdot min$ 的目标AUC施用。在一些实施方案中,铂化物质可以以约3 $mg/mL \cdot min$ 至约6 $mg/mL \cdot min$ 的目标AUC施用。在某些实施方案中,铂化物质可以以约4 $mg/mL \cdot min$ 至约5 $mg/mL \cdot min$ 的目标AUC施用。在某些实施方案中,铂化物质可以以约5 $mg/mL \cdot min$ 的目标AUC施用。如本文所用,术语“目标AUC”是指血浆浓度与时间曲线下的目标面积。术语“AUC”是指血浆浓度与时间曲线下的面积。某些铂化物质,诸如卡铂的剂量可由药品标签信息确定。例如,可以基于数学公式由目标AUC确定卡铂的剂量(以 mg 计),该数学公式基于患者的预先存在的肾功能或肾功能和期望的血小板最低点。基于患者的肾小球滤过率(以 mL/min 计的GFR)和浓度与时间曲线下的卡铂目标面积(以 $mg/mL \cdot min$ 计的AUC),使用以下所示的Calvert公式来计算以毫克计的剂量。GFR可以使用 $^{51}Cr-EDTA$ 清除率测量,或可以使用本领域普通技术人员已知的方法估计。

[0264] 总剂量(mg) = (目标AUC) \times (GFR+25)

[0265] 在一些实施方案中,卡铂以约3 $mg/mL \cdot min$ 至约7 $mg/mL \cdot min$ 、约3.5 $mg/mL \cdot min$ 至约6 $mg/mL \cdot min$ 、或约4 $mg/mL \cdot min$ 至约5 $mg/mL \cdot min$ 的目标AUC经静脉内施用。在一些实施方案中,卡铂以约5 $mg/mL \cdot min$ 的目标AUC每三周经静脉内施用一次。

[0266] 在某些实施方案中,顺铂经静脉内施用。在一些实施方案中,顺铂经由静脉内输注施用约1小时。在某些实施方案中,顺铂以约30 mg/m^2 至约90 mg/m^2 、约40 mg/m^2 至约75 mg/m^2 、或约60 mg/m^2 至约90 mg/m^2 的量经静脉内施用。在一些具体实施方案中,顺铂的剂量为40 mg/m^2 、60 mg/m^2 、或75 mg/m^2 。优选地,顺铂以75 mg/m^2 施用。在某些实施方案中,顺铂在60分钟内以约75 mg/m^2 经由静脉内输注施用。在一些实施方案中,顺铂以约75 mg/m^2 的量每三周施用一次(Q3W)。

[0267] 应当理解,用于如本文所述的组合疗法的PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质的剂量的以上引用范围的所有组合均可为可能的。此外,组合疗法中使用的三种化合物的给药可彼此适应以改善便利性和依从性。

[0268] 例如,在一些实施方案中,铂化物质,优选地卡铂以约3 $mg/mL \cdot min$ 至约6 $mg/mL \cdot min$ (例如约4 $mg/mL \cdot min$ 至约6 $mg/mL \cdot min$ 、约4 $mg/mL \cdot min$ 至约5 $mg/mL \cdot min$ 或约5 $mg/mL \cdot min$)的目标AUC施用,ATR抑制剂,优选地化合物1或其药学上可接受的盐以约20 mg/m^2 至约300 mg/m^2 (例如约40 mg/m^2 至约180 mg/m^2 、约60 mg/m^2 至约100 mg/m^2 、约80 mg/m^2 至约100 mg/m^2 、约40 mg/m^2 、约60 mg/m^2 或约90 mg/m^2)的剂量施用,并且PD-1拮抗剂,优选地avelumab以约400 mg 至约3200 mg (例如约600 mg 至约2500 mg 、约800 mg 至约2000 mg 、约1500 mg 至约1700 mg 、约800 mg 或约1600 mg)的剂量施用。

[0269] 在一些实施方案中,组合疗法采用以约1600 mg 的剂量施用的avelumab,以约5 $mg/mL \cdot min$ 的目标AUC的剂量施用的卡铂,以及以约90 mg/m^2 的剂量施用的化合物1或其药学上

可接受的盐。在一些实施方案中,组合疗法采用以约1600mg的剂量Q3W施用的avelumab,以约5mg/mL·min的目标AUC的剂量Q3W施用的卡铂,以及以约90mg/m²的剂量Q3W施用的化合物1或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,约1600mg剂量的avelumab、约5mg/mL·min目标AUC的剂量的卡铂以及约90mg/m²的剂量的化合物1或其药学上可接受的盐都在每个Q3W周期第1天施用。

[0270] 在一些实施方案中,组合方案包括先导阶段,在先导阶段完成之后任选地跟随有维持阶段。如本文所用,组合治疗包括一个限定的治疗时段(即第一阶段或先导阶段)。在完成此类时段或阶段之后,可以跟随另一限定的治疗时段(即第二阶段或维持阶段)。

[0271] 在某些实施方案中,先导阶段包括采用PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质的组合治疗,而维持阶段包括采用PD-1拮抗剂的单一疗法,更优选地avelumab单一疗法。

[0272] 在一些实施方案中,例如多达六个周期的先导阶段可包括以约1600mg的剂量Q3W施用的avelumab,以约5mg/mL·min的目标AUC的剂量Q3W施用的卡铂,以及以约90mg/m²的剂量Q3W施用的化合物1或其药学上可接受的盐,然后是维持阶段,该维持阶段包括施用800mg avelumab Q2W。

[0273] 在一些实施方案中,avelumab、卡铂以及化合物1或其药学上可接受的盐用于治疗卵巢癌、输卵管癌或原发性腹膜癌,优选地其PARPi抗性复发形式,其中例如多达六个周期的先导阶段可包括以约1600mg的剂量Q3W施用的avelumab,以约5mg/mL·min的目标AUC的剂量Q3W施用的卡铂,以及以约90mg/m²的剂量Q3W施用的化合物1或其药学上可接受的盐,然后是维持阶段,该维持阶段包括施用800mg avelumab Q2W。

[0274] PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质可以按任何顺序施用。例如,所有都可基本上同时或顺序施用。而且,它们中的两种可基本上同时施用,之后顺序施用第三种。PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质按任何顺序以单独的组合物、制剂或单位剂型施用给患者,或者两种或所有三种化合物以一种组合物、制剂或单位剂型一起施用。应当理解,PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质如根据适当的给药方案在同一天或不同天以任何顺序施用。在一些实施方案中,三种化合物在每个治疗周期的连续三天分开地施用。例如,该组合Q3W施用,其中在第1天施用PD-1拮抗剂,在第2天施用ATR抑制剂,并且在第3天施用铂化物质。

[0275] 在一些实施方案中,组合方案包括以下步骤:(a) 在医师的指导或控制下,对象在第一次接受ATR抑制剂和铂化物质之前接受PD-1拮抗剂;以及(b) 在医师的指导或控制下,对象接受ATR抑制剂和铂化物质。

[0276] 在一些实施方案中,组合方案包括以下步骤:(a) 指定对象自行施用PD-1拮抗剂;以及(b) 向对象施用ATR抑制剂和铂化物质。

[0277] 在一些实施方案中,组合方案包括对象在第一次施用ATR抑制剂和铂化物质之前已经接受PD-1拮抗剂之后,向对象施用ATR抑制剂和铂化物质。

[0278] 在一些实施方案中,组合方案包括以下步骤:(a) 在医师的指导或控制下,对象在第一次接受ATR抑制剂之前接受PD-1拮抗剂和铂化物质;以及(b) 在医师的指导或控制下,对象接受ATR抑制剂。

[0279] 在一些实施方案中,组合方案包括以下步骤:(a) 指定对象自行施用ATR抑制剂;以及(b) 向对象施用PD-1拮抗剂和铂化物质。

[0280] 在一些实施方案中,组合方案包括对象在第一次施用PD-1拮抗剂和铂化物质之前

已经接受ATR抑制剂之后,向对象施用PD-1拮抗剂和铂化物质。

[0281] 在一些实施方案中,组合方案包括以下步骤:(a)在医师的指导或控制下,对象在第一次接受PD-1拮抗剂和铂化物质之前接受ATR抑制剂;以及(b)在医师的指导或控制下,对象接受PD-1拮抗剂和铂化物质。

[0282] 在一些实施方案中,组合方案包括以下步骤:(a)向对象施用PD-1拮抗剂和铂化物质;以及(b)指定对象自行施用ATR抑制剂。

[0283] 在一些实施方案中,组合方案包括对象在第一次施用ATR抑制剂之前已经接受PD-1拮抗剂和铂化物质之后,向对象施用ATR抑制剂。

[0284] 可以由治疗医师判断给予被认为是患者健康所必需的并行治疗。在一些实施方案中,PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质与(另外的)化疗(CT)、放疗(RT)、或化疗和放疗(CRT)组合施用。在某些实施方案中,化疗物质选自多柔比星、氟尿嘧啶、蒽环霉素以及它们的组合。

[0285] 在某些实施方案中,患者进一步获得放疗。在某些实施方案中,放疗包含约35-70Gy/20-35分次。在一些实施方案中,放疗以标准分次(每天1.8至2Gy,一周5天)给予至多50-70Gy的总剂量,每天一次。在一个实施方案中,使用立体定向放疗以及伽玛刀。在姑息设定中,也广泛使用其他分次方案,例如5分次的25Gy或10分次的30Gy。对于放疗,治疗的持续时间将是给予放疗时的时间框。这些干预适用于用电子、光子和质子、 α -发射体或其他离子给予的治疗,采用放射性核苷酸(radio-nucleotides)的治疗,例如,用¹³¹I给予患有甲状腺癌的治疗,以及用硼俘获中子疗法治疗的患者。

[0286] 使用有效地治疗或降低以上提供的病症的严重程度的任何量和任何施用途径施用根据本发明的方法的PD-1拮抗剂、ATR抑制剂、铂化物质以及附加的化疗。所需的准确量将根据对象不同而变化,这取决于对象的人种、年龄和一般状况、感染严重程度、特定的物质、其施用模式等。

[0287] 本文还提供了用作药物的PD-1拮抗剂、铂化物质和ATR抑制剂。

[0288] 还提供了包含PD-1拮抗剂、铂化物质和ATR抑制剂的组合。还提供了用作药物的包含PD-1拮抗剂、铂化物质和ATR抑制剂的组合。还提供了用于治疗癌症的包含PD-1拮抗剂、铂化物质和ATR抑制剂的组合。

[0289] 在另一方面,本发明提供了用于广告宣传PD-1拮抗剂、铂化物质和ATR抑制剂的方法,包括向目标受众推广该组合用于治疗患有癌症的对象的用途,所述癌症在一些情况下基于取自对象的样本中的PD-L1表达。推广可通过任何可用的手段进行。在一些实施方案中,推广是通过伴随着本发明的治疗组合的市售制剂的药品说明书进行的。推广也可通过伴随着PD-1拮抗剂、铂化物质、ATR抑制剂或另一种药物的市售制剂的药品说明书进行(当治疗是采用本发明的治疗组合和另一种药物的疗法时)。推广可以通过书面或口头告知医师或健康护理提供者。在一些实施方案中,推广是通过药品说明书进行的,其中药品说明书提供了例如在测量PD-L1表达水平之后接受采用本发明的治疗组合(并且在一些实施方案中与另一种药物组合)的疗法的说明。在一些实施方案中,推广之后是在采用或不采用另一种药物的情况下用本发明的治疗组合治疗患者。在一些实施方案中,药品说明书指示如果患者的癌症样本以高PD-L1生物标记水平为特征,则本发明的治疗组合将用于治疗该患者。在一些实施方案中,药品说明书指示如果患者的癌症样本表达低PD-L1生物标记水平,则本

发明的治疗组合不用于治疗该患者。在一些实施方案中,高PD-L1生物标记水平意味着当患者用本发明的治疗组合治疗时,测量的PD-L1水平与PFS和/或OS增加的可能性相关,反之亦然。在一些实施方案中,关于未经过本发明的治疗组合治疗的患者,PFS和/或OS降低。在一些实施方案中,推广是通过药品说明书进行的,其中药品说明书提供了在首先测量PD-L1水平之后接受采用PD-1拮抗剂、铂化物质和ATR抑制剂的疗法的说明。在一些实施方案中,推广之后是在采用或不采用另一种药物的情况下用PD-1拮抗剂、铂化物质和ATR抑制剂治疗患者。例如,在US 2012/0089541中描述了根据本发明适用的另外广告宣传以及指导或商业方法(对于其他药物和生物标记)。

[0290] 在一些实施方案中,本发明提供了包含PD-1拮抗剂,优选地抗PD-L1抗体,更优选地avelumab的药学上可接受的组合物。在一些实施方案中,本发明提供了包含ATR抑制剂,优选地化合物1至5中的任一种或其药学上可接受的盐的药学上可接受的组合物。在一些实施方案中,本发明提供了包含铂化物质,优选地卡铂的药学上可接受的组合物。在一些实施方案中,本发明提供了包含选自PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质的至少两种化合物的药学上可接受的组合物。在一些实施方案中,本发明提供了包含PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质的药学上可接受的组合物。在所有前述药物组合物中,药物组合物还可包含至少一种药学上可接受的赋形剂或佐剂。

[0291] 示例性的此类药学上可接受的组合物在以下和本文中进一步描述。

[0292] 通常,将PD-1拮抗剂、ATR抑制剂或铂化物质掺入适于施用于对象的药物组合物中,其中该药物组合物包含化合物和药学上可接受的载体。在许多情况下,优选在组合物中包括等渗剂,例如糖、多元醇,比如甘露醇、山梨糖醇或氯化钠。药学上可接受的载体可以进一步包含少量辅助物质,比如润湿剂或乳化剂、防腐剂或缓冲剂,其增强化合物的保存期限或有效性。

[0293] 本发明的组合物可以有多种形式。这些包括例如液体、半固体和固体剂型,比如液体溶液(例如,可注射和可输注溶液)、分散剂或悬浮液、片剂、丸剂、粉末、脂质体和栓剂。该优选形式依赖于施用和疗法应用的所需模式。在一个优选的实施方案中,抗PD-1或抗PD-L1抗体通过静脉内输注或注射施用。在另一个优选的实施方案中,抗PD-1或抗PD-L1抗体通过肌肉内或皮下注射施用。在一个优选的实施方案中,ATR抑制剂通过静脉内输注、注射或口服施用。

[0294] 治疗组合物通常必须在制造和储存条件下是无菌和稳定的。该组合物可被配制成溶液、微乳剂、分散剂、脂质体或适用于高药物浓度的其它有序结构。无菌可注射溶液可通过将活性化合物以所需的量整合入适当的溶剂中以及根据需要与上面列举的成分中的一种或组合,然后过滤灭菌来制备。通常,通过将活性成分整合入无菌媒剂中来制备分散剂,该无菌载体含有基础分散介质和来自上面列举的那些所需的其他成分。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下,优选的制备方法是真空干燥和冷冻干燥,通过该方法从先前无菌过滤的溶液中产生活性成分和任何其他所需成分的粉末。例如,通过使用比如卵磷脂的涂层,通过在分散的情况下保持所需的粒度,以及通过使用表面活性剂,可以保持溶液的适当流动性。通过在组合物中包括延迟吸收的试剂,例如单硬脂酸盐和明胶,可以实现可注射组合物的延长吸收。

[0295] 在一个实施方案中,avelumab是用于IV施用的无菌、透明和无色溶液。avelumab小

瓶的内容物是无热原的并不含抑菌防腐剂。Avelumab配方为20mg/mL溶液,以一次性玻璃瓶供应,用橡胶隔膜塞住,并用铝聚丙烯翻盖(flip-off)密封。出于施用目的,必须用0.9%氯化钠(生理盐水溶液)稀释avelumab。在施用期间使用具有由聚醚砜(PES)制成的同轴的、低蛋白质结合的0.2微米过滤器的管道。

[0296] 在另一方面,提供了一种包含PD-1拮抗剂、铂化物质和ATR抑制剂的药盒。

[0297] 在另一方面,提供了一种包含PD-1拮抗剂和药品说明书的药盒,该药品说明书包括将PD-1拮抗剂与铂化物质和ATR抑制剂组合使用以治疗或延缓对象的癌症的进展的说明。还提供了一种包含铂化物质和药品说明书的药盒,该药品说明书包括将铂化物质与PD-1拮抗剂和ATR抑制剂组合使用以治疗或延缓对象的癌症的进展的说明。还提供了一种包含ATR抑制剂和药品说明书的药盒,该药品说明书包括将ATR抑制剂与PD-1拮抗剂和铂化物质组合使用以治疗或延缓对象的癌症的进展的说明。药盒可以包括第一容器、第二容器、第三容器和药品说明书,其中第一容器包含至少一剂含有PD-1拮抗剂的药物,第二容器包含至少一剂含有ATR抑制剂的药物,第三容器包含至少一剂含有铂化物质的药物,并且药品说明书包括使用该药物治疗对象的癌症的说明。PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质中的两种或所有三种也可包含在单个容器中。容器可以由相同或不同的形状(例如,小瓶、注射器和瓶)和/或材料(例如,塑料或玻璃)构成。药盒还可包含可用于施用药物的其他材料,诸如稀释剂、过滤器、IV袋和管线、针和注射器。说明书可以声明该药物旨在用于治疗患有通过免疫组织化学(IHC)测定测得对PD-L1表达呈阳性的癌症的对象。因此,本公开还提供了一种用于确定本发明的组合是否适用于治疗性治疗癌症患者的药盒,该药盒包括用于在从患者分离的样本中测定PD-L1蛋白水平或其RNA表达水平的工具和使用说明书。在另一方面,药盒还包含PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和/或铂化物质。在本发明的一个方面,高PD-L1水平的测定指示当用本发明的治疗组合治疗患者时,PFS或OS增加。在药盒的一个实施方案中,用于测定PD-L1肽水平的工具是分别与PD-L1特异性结合的抗体。

[0298] 在另一方面,提供生物标记以测量对用PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和/或铂化物质治疗的应答。在一些实施方案中,生物标记测量对用ATR抑制剂和铂化物质治疗的应答。优选地,生物标记测量对用PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质治疗的应答。用PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和/或铂化物质治疗可根据以上公开的治疗方案进行。生物标记优选地为干扰素,更优选地人干扰素。在一些实施方案中,干扰素选自干扰素- α 、干扰素- β 和干扰素- γ 。在一些实施方案中,测量干扰素- α 和干扰素- β 两者。在一些实施方案中,测量干扰素- γ 。干扰素生物标记的表达与治疗应答相关,其中生物标记提高的表达指示患者对治疗有应答。因此,在一些实施方案中,提供了测量对患有癌症的患者用PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和/或铂化物质治疗的应答的方法,其中测量干扰素的表达水平。在一些实施方案中,该方法包括将来自患者的干扰素表达水平与标准值(例如对照对象或组的干扰素表达水平)进行比较的第二步骤,其中患者的干扰素的表达水平高于标准值指示患者对治疗有应答。对于使用PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质的三重组合治疗,对照对象或组的干扰素表达水平可衍生自使用这些化合物中的仅两种(例如ATR抑制剂和铂化物质)、这些化合物中的仅一种治疗的对象或对象组,或优选地,对象或对象组未经治疗。类似地,对于使用两种化合物(例如ATR抑制剂和铂化物质)的治疗,对照对象或对象组仅使用两种化合物中的一种进行治疗,或优选地未经治疗。在一些实施方案中,该方法包括第三步骤,其中比较的结果导致治疗的调整。例

如,可以停止治疗,或者可以调整药物的给药。生物标记的表达水平可通过本领域已知的方法进行测量。例如,可以以蛋白质或mRNA水平来测定表达水平。在某些情况下, RNA表达水平通过RNA测序来测定。

[0299] 其他实施方案:

[0300] 1. PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质,其用作药物。

[0301] 2. PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质,其用于治疗癌症的方法。

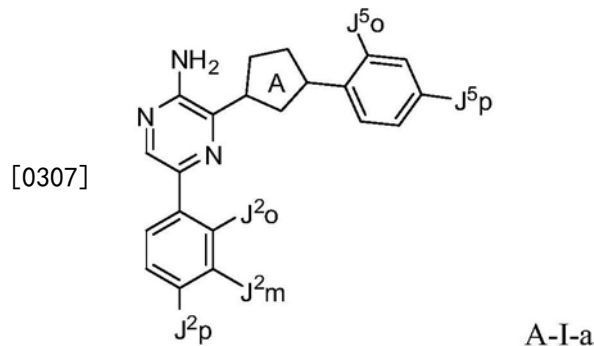
[0302] 3. 根据项目1或2所述的用于所述用途的化合物,其中所述PD-1拮抗剂是抗PD-L1抗体或其抗原结合片段。

[0303] 4. 根据项目1至3中任一项所述的用于所述用途的化合物,其中所述PD-1拮抗剂是抗PD-L1抗体或其抗原结合片段,其包含重链和轻链,所述重链包含具有SEQ ID NO:1、2和3的氨基酸序列的三个互补决定区,所述轻链包含具有SEQ ID NO:4、5和6的氨基酸序列的三个互补决定区。

[0304] 5. 根据项目1至4中任一项所述的用于所述用途的化合物,其中所述PD-1拮抗剂是抗PD-L1抗体或其抗原结合片段,其包含具有SEQ ID NO:7或8的氨基酸序列的重链以及具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的轻链。

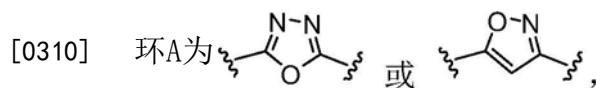
[0305] 6. 根据项目1至5中任一项所述的用于所述用途的化合物,其中所述PD-1拮抗剂是avelumab。

[0306] 7. 根据项目1至6中任一项所述的用于所述用途的化合物,其中所述ATR抑制剂是由式A-I-a表示的化合物:

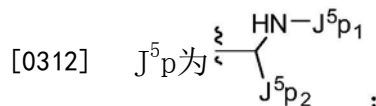


[0308] 或其药用盐,

[0309] 其中:



[0311] J^5_o 为H、F、 C_1 、 C_{1-4} 脂肪族基、O(C_{1-3} 脂肪族基)、或OH;



[0313] $J^5_{p_1}$ 为H、 C_{1-4} 脂肪族基、氧杂环丁烷基、四氢呋喃基、四氢吡喃基;其中 $J^5_{p_1}$ 任选地被1-2次出现的OH或卤素取代;

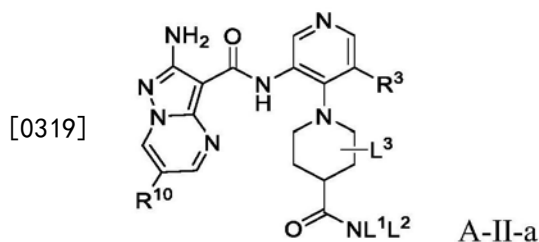
[0314] $J^5_{p_2}$ 为H、甲基、乙基、 CH_2F 、 CF_3 、或 CH_2OH ;

[0315] J^2_o 为H、CN、或 SO_2CH_3 ;

[0316] J^2_m 为H、F、 C_1 、或甲基;

[0317] J^2_p 为 $-SO_2$ (C_{1-6} 烷基)、 $-SO_2$ (C_{3-6} 环烷基)、 $-SO_2$ (4-6元杂环基)、 $-SO_2$ (C_{1-4} 烷基)N(C_{1-4} 烷基)₂、或 $-SO_2$ (C_{1-4} 烷基)-(4-6元杂环基),其中所述杂环基含有1个选自氧、氮和硫的杂原子;并且其中所述 J^2_p 任选地被1-3次出现的卤素、OH、或O(C_{1-4} 烷基)取代;

[0318] 或者其中所述ATR抑制剂是由式A-II-a表示的化合物:



[0320] 或其药学上可接受的盐或前药,

[0321] 其中:

[0322] R^{10} 为氟、氯、或 $-C(J^{10})_2CN$;

[0323] J^{10} 独立地为H或 C_{1-2} 烷基;或者

[0324] 两次出现的 J^1 与它们所连接的碳原子一起形成任选取代的3-4元碳环环;

[0325] R^3 为H;氯;氟;任选地被1-3次出现的卤素取代的 C_{1-4} 烷基; C_{3-4} 环烷基; $-CN$;或 C_{1-3} 脂肪族链,其中脂肪族链的至多两个亚甲基单元任选地被 $-O-$ 、 $-NR^a-$ 、 $-C(O)-$ 、或 $-S(O)_z$ 替代;

[0326] L^1 为H;具有0-2个选自氧、氮和硫的杂原子的3-7元芳族或非芳族环;或 C_{1-6} 脂肪族链,其中脂肪族链的至多两个亚甲基单元任选地被 $-O-$ 、 $-NR^a-$ 、 $-C(O)-$ 、或 $-S(O)_z$ 替代;每个 L^1 任选地被 C_{1-4} 脂肪族基取代; $-CN$;卤素; $-OH$;或具有0-2个选自氧、氮和硫的杂原子的3-6元非芳族环;

[0327] L^2 为H;具有0-2个选自氧、氮和硫的杂原子的3-7元芳族或非芳族环;或 C_{1-6} 脂肪族链,其中脂肪族链的至多两个亚甲基单元任选地被 $-O-$ 、 $-NR^a-$ 、 $-C(O)-$ 、或 $-S(O)_z$ 替代;每个 L^2 任选地被 C_{1-4} 脂肪族基取代; $-CN$;卤素; $-OH$;或具有0-2个选自氧、氮和硫的杂原子的3-6元非芳族环;或者

[0328] L^1 和 L^2 与它们所连接的氮一起形成环D;环D任选地被0-5次出现的 J^6 取代;

[0329] L^3 为H、 C_{1-3} 脂肪族基、或CN;

[0330] 环D为具有1-2个选自氧、氮和硫的杂原子的3-7元杂环基环;或具有1-5个选自氧、氮和硫的杂原子的7-12元完全饱和或部分不饱和的双环;

[0331] J^6 独立地为卤素; $-CN$; $-N(R^\circ)_2$; $\rightarrow O$;3-6元碳环基;具有1-2个选自氧、氮和硫的杂原子的3-6元杂环基;或 C_{1-4} 烷基链,其中烷基链的至多两个亚甲基单元任选地被 $-O-$ 、 $-NR^a-$ 、 $-C(O)-$ 、或 $-S(O)_z$ 替代;每个 J^6 任选地被0-2次出现的 J^k 取代;

[0332] 在同一原子上两次出现的 J^6 与它们所连接的原子一起形成具有0-2个选自氧、氮和硫的杂原子的3-6元环;或者

[0333] 两次出现的 J^6 与环D一起形成6-10元饱和或部分不饱和的桥环体系;

[0334] J^k 为具有0-2个选自氧、氮和硫的杂原子的3-7元芳族或非芳族环;

[0335] z 为0、1、或2;并且

[0336] R^a 和 R° 独立地为H或 C_{1-4} 烷基。

[0337] 8. 根据项目1至7中任一项所述的用于所述用途的化合物,其中所述ATR抑制剂选

自化合物1或其药学上可接受的盐、化合物2或其药学上可接受的盐、化合物3或其药学上可接受的盐、化合物4或其药学上可接受的盐,以及化合物5或其药学上可接受的盐。

[0338] 9. 根据项目1至8中任一项所述的用于所述用途的化合物,其中所述ATR抑制剂是化合物1或其药学上可接受的盐。

[0339] 10. 根据项目1至9中任一项所述的用于所述用途的化合物,其中所述铂化物质选自顺铂、卡铂和奥沙利铂。

[0340] 11. 根据项目10所述的用于所述用途的化合物,其中所述铂化物质是卡铂。

[0341] 12. 根据项目1至11中任一项所述的用于所述用途的化合物,其中所述抗PD-L1抗体是avelumab,所述ATR抑制剂是化合物1或其药学上可接受的盐,并且所述铂化物质是卡铂。

[0342] 13. 根据项目1至12中任一项所述的用于所述用途的化合物,其中所述对象是人。

[0343] 14. 根据项目1至13中任一项所述的用于所述用途的化合物,其中所述癌症选自肺癌、头颈癌、结肠癌、尿路上皮癌、前列腺癌、食道癌、膀胱癌、胃癌、神经内分泌系统癌、间充质癌、乳腺癌、卵巢癌、原发性腹膜癌、输卵管癌、胰腺癌,以及它们的组织学亚型。

[0344] 15. 根据项目1至14中任一项所述的用于所述用途的化合物,其中所述癌症选自PARPi抗性复发性卵巢癌、PARPi抗性复发性原发性腹膜癌、PARPi抗性复发性输卵管癌、小细胞肺癌(SCLC)、非小细胞肺癌(NSCLC)、头颈部鳞状细胞癌(SCCHN)、结直肠癌(CRC)、原发性神经内分泌肿瘤和肉瘤。

[0345] 16. 根据项目1至15中任一项所述的用于所述用途的化合物,其中所述癌症是选自卵巢癌、原发性腹膜癌和输卵管癌的PARPi抗性复发性癌。

[0346] 17. 根据项目1至16中任一项所述的用于所述用途的化合物,其中所述PD-1拮抗剂,优选地avelumab以选自以下的剂量施用:约1mg/kg Q2W、约2mg/kg Q2W、约3mg/kg Q2W、约5mg/kg Q2W、约10mg/kg Q2W、约1mg/kg Q3W、约2mg/kg Q3W、约3mg/kg Q3W、约5mg/kg Q3W、约10mg/kg Q3W和约20mg/kg Q3W。

[0347] 18. 根据项目17所述的用于所述用途的化合物,其中所述PD-1拮抗剂,优选地avelumab以约10mg/kg Q2W或约20mg/kg Q3W的剂量施用。

[0348] 19. 根据项目1至16中任一项所述的用于所述用途的化合物,其中所述PD-1拮抗剂,优选地avelumab以选自以下的固定剂量施用:约400mg Q2W、约450mg Q2W、约500mg Q2W、约550mg Q2W、约600mg Q2W、约650mg Q2W、约700mg Q2W、约750mg Q2W、约800mg Q2W、约800mg Q3W、约900mg Q3W、约1000mg Q3W、约1100mg Q3W、约1200mg Q3W、约1300mg Q3W、约1400mg Q3W、约1500mg Q3W和约1600mg Q3W。

[0349] 20. 根据项目19所述的用于所述用途的化合物,其中所述PD-1拮抗剂,优选地avelumab以约800mg Q2W或约1600mg Q3W的固定剂量施用。

[0350] 21. 根据项目1至20中任一项所述的用于所述用途的化合物,其中所述ATR抑制剂,优选地化合物1或其药学上可接受的盐以选自以下的剂量施用:约20mg/m²至约300mg/m²、约30mg/m²至约240mg/m²、约40mg/m²至约240mg/m²、约40mg/m²至约180mg/m²、约60mg/m²至约120mg/m²、约80mg/m²至约120mg/m²、约90mg/m²至约120mg/m²、以及约80mg/m²至约100mg/m²。

[0351] 22. 根据项目21所述的用于所述用途的化合物,其中所述ATR抑制剂,优选地化合物1或其药学上可接受的盐以约80mg/m²至约100mg/m²的剂量,优选地以约90mg/m²的剂量施

用。

[0352] 23. 根据项目1至22中任一项所述的用于所述用途的化合物,其中所述铂化物质,优选地卡铂以选自以下的目标AUC施用:约3mg/mL·min至约7mg/mL·min、约3.5mg/mL·min至约6mg/mL·min、约4mg/mL·min至约6mg/mL·min、约4mg/mL·min至约5.5mg/mL·min、以及约4mg/mL·min至约5mg/mL·min。

[0353] 24. 根据项目23所述的用于所述用途的化合物,其中所述铂化物质,优选地卡铂以约5mg/mL·min的目标AUC施用。

[0354] 25. 根据项目1至24中任一项所述的用于所述用途的化合物,其中所述PD-1拮抗剂是avelumab并且以约1600mg的剂量Q3W施用,所述铂化物质是卡铂并且以约5mg/mL·min的目标AUC的剂量Q3W施用,并且所述ATR抑制剂是化合物1并且以约90mg/m²的剂量Q3W施用。

[0355] 26. 根据项目1至25中任一项所述的用于所述用途的化合物,其中所述化合物在癌症的二线或更高线治疗中施用。

[0356] 27. 根据项目1至26中任一项所述的用于所述用途的化合物,其中所述癌症对先前疗法有抗性或变得有抗性。

[0357] 28. 根据项目1至27中任一项所述的用于所述用途的化合物,其中所述癌症选自PARPi抗性复发性卵巢癌、PARPi抗性复发性输卵管癌、PARPi抗性复发性原发性腹膜癌、预治疗的复发转移性NSCLC、不可切除的局部晚期NSCLC、预治疗的SCLC ED、不适于全身治疗的SCLC、预治疗的复发或转移性SCCHN、符合条件再次放射的复发性SCCHN和预治疗的微卫星状态不稳定低(MSI-L)或微卫星状态稳定(MSS)转移性结直肠癌(mCRC)。

[0358] 29. 根据项目1至28中任一项所述的用于所述用途的化合物,所述用途还包括向所述对象施用化疗(CT)、放疗(RT)、或化疗和放疗(CRT)。

[0359] 30. 根据项目1至29中任一项所述的用于所述用途的化合物,其中所述治疗方法包括先导阶段,在所述先导阶段完成之后任选地跟随有维持阶段。

[0360] 31. 根据项目30所述的用于所述用途的化合物,其中所述PD-1拮抗剂、所述ATR抑制剂和所述铂化物质在所述先导阶段期间施用,而在所述维持阶段期间施用所述PD-1拮抗剂但不施用所述ATR抑制剂和所述铂化物质。

[0361] 32. 一种用于在对其有需要的对象中治疗癌症的方法,其包括向所述对象以任何顺序施用PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质。

[0362] 33. 根据项目32所述的方法,其中所述PD-1拮抗剂是抗PD-L1抗体或其抗原结合片段。

[0363] 34. 根据项目33所述的方法,其中所述抗PD-L1抗体或其抗原结合片段介导抗体依赖性细胞毒作用。

[0364] 35. 根据项目33或34所述的方法,其中所述抗PD-L1抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链,所述重链包含具有SEQ ID NO:1、2和3的氨基酸序列的三个互补决定区,所述轻链包含具有SEQ ID NO:4、5和6的氨基酸序列的三个互补决定区。

[0365] 36. 根据项目33-35中任一项所述的方法,其中所述抗PD-L1抗体是avelumab。

[0366] 37. 根据项目32-36中任一项所述的方法,其中所述ATR抑制剂选自化合物1或其药学上可接受的盐、化合物2或其药学上可接受的盐、化合物3或其药学上可接受的盐、化合物4或其药学上可接受的盐、以及化合物5或其药学上可接受的盐。

- [0367] 38. 根据项目37所述的方法,其中所述ATR抑制剂是化合物1或其药学上可接受的盐。
- [0368] 39. 根据项目32-38中任一项所述的方法,其中所述铂化物质选自顺铂、卡铂和奥沙利铂。
- [0369] 40. 根据项目39所述的方法,其中所述铂化物质是卡铂。
- [0370] 41. 根据项目32-40中任一项所述的方法,其中所述癌症选自肺癌、头颈癌、结肠癌、尿路上皮癌、前列腺癌、食道癌、膀胱癌、胃癌、神经内分泌系统癌、间充质癌、乳腺癌、卵巢癌、原发性腹膜癌、输卵管癌、胰腺癌,以及它们的组织学亚型。
- [0371] 42. 根据项目32-41中任一项所述的方法,其中所述对象经历至少一轮先前癌症疗法;其中任选地,所述癌症对先前疗法有抗性或变得有抗性。
- [0372] 43. 根据项目42所述的方法,其中所述对象先前接受基于PARPi的疗法,其中任选地,所述对象在接受所述基于PARPi的疗法之后复发或进展。
- [0373] 44. 根据项目43所述的方法,其中所述癌症是选自卵巢癌、原发性腹膜癌和输卵管癌的PARPi抗性复发性癌。
- [0374] 45. 根据项目32-44中任一项所述的方法,其中所述PD-1拮抗剂是avelumab并且以约1600mg的剂量Q3W施用,所述铂化物质是卡铂并且以约5mg/mL·min的目标AUC的剂量Q3W施用,并且所述ATR抑制剂是化合物1或其药学上可接受的盐并且以约90mg/m²的剂量Q3W施用。
- [0375] 46. 根据项目32-45中任一项所述的方法,其还包括向所述对象施用化疗(CT)、放疗(RT)、或化疗和放疗(CRT)。
- [0376] 47. 根据项目32-46中任一项所述的方法,其包括先导阶段,在所述先导阶段完成之后任选地跟随有维持阶段。
- [0377] 48. 根据项目47所述的方法,其中所述PD-1拮抗剂、所述ATR抑制剂和所述铂化物质在所述先导阶段期间施用,而在所述维持阶段期间施用所述PD-1拮抗剂但不施用所述ATR抑制剂和所述铂化物质。
- [0378] 49. 一种药物组合物,其包含PD-1拮抗剂、ATR抑制剂、铂化物质以及至少一种药学上可接受的载体、稀释剂、赋形剂和/或佐剂。
- [0379] 50. 一种组合,其包含PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质。
- [0380] 51. 根据项目49所述的药物组合物或根据项目50所述的组合用于制备用于治疗癌症的药物的用途。
- [0381] 52. 根据项目49所述的组合或根据项目50所述的药物组合物,其用作药物。
- [0382] 53. 一种包含PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质的药盒。
- [0383] 54. 一种包含PD-1拮抗剂和药品说明书的药盒,所述药品说明书包括将所述PD-1拮抗剂与铂化物质和ATR抑制剂组合使用以治疗或延缓对象的癌症的进展的说明。
- [0384] 55. 一种包含铂化物质和药品说明书的药盒,所述药品说明书包括将所述铂化物质与PD-1拮抗剂和ATR抑制剂组合使用以治疗或延缓对象的癌症的进展的说明。
- [0385] 56. 根据项目55所述的药盒,其中所述药盒还包括药品说明书,所述药品说明书包括使用所述PD-1拮抗剂、所述ATR抑制剂和所述铂化物质来治疗或延缓对象的癌症的进展的说明。

[0386] 57. 根据项目56所述的药盒,其包括第一容器、第二容器、第三容器和药品说明书,其中所述第一容器包含至少一剂含有所述PD-1拮抗剂的药物,所述第二容器包含至少一剂含有所述ATR抑制剂的药物,所述第三容器包含至少一剂含有所述铂化物质的药物,并且所述药品说明书包括使用所述药物治疗对象的癌症的说明;其中进一步任选地,所述说明书声明所述药物旨在用于治疗患有优选地通过免疫组织化学测定测得对PD-L1表达呈阳性的癌症的对象。

[0387] 58. 一种包含ATR抑制剂和药品说明书的药盒,所述药品说明书包括将所述ATR抑制剂与PD-1拮抗剂和铂化物质组合使用以治疗或延缓对象的癌症的进展的说明。

[0388] 59. 一种用于广告宣传将PD-1拮抗剂与铂化物质和ATR抑制剂组合的方法,其包括向目标受众推广所述组合用于治疗患有癌症的对象的用途。

[0389] 60. 生物标记用于测量患有癌症的对象对用PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质中的一种或多种治疗的应答的用途。

[0390] 61. 根据项目60所述的用途,其中所述治疗采用ATR抑制剂和铂化物质。

[0391] 62. 根据项目60所述的用途,其中所述治疗采用PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质。

[0392] 63. 根据项目60-62中任一项所述的用途,其中所述生物标记是干扰素。

[0393] 64. 根据项目63所述的用途,其中所述生物标记选自干扰素- α 、干扰素- β 和干扰素- γ 。

[0394] 65. 根据项目63或64所述的用途,其中所述干扰素是人干扰素。

[0395] 66. 根据项目60-65中任一项所述的用途,其中测量所述干扰素的表达水平,并且将其与对照表达水平进行比较。

[0396] 67. 根据项目66所述的用途,其中与所述对照相比提高的表达水平指示所述对象对所述PD-1拮抗剂、所述ATR抑制剂和/或所述铂化物质的治疗有应答。

[0397] 68. 根据项目60和62-67中任一项所述的用途,其中所述PD-1拮抗剂是抗PD-L1抗体或其抗原结合片段。

[0398] 69. 根据项目60和62-68中任一项所述的用途,其中所述PD-1拮抗剂是抗PD-L1抗体或其抗原结合片段,其包含重链和轻链,所述重链包含具有SEQ ID NO:1、2和3的氨基酸序列的三个互补决定区,所述轻链包含具有SEQ ID NO:4、5和6的氨基酸序列的三个互补决定区。

[0399] 70. 根据项目60和62-69中任一项所述的用途,其中所述PD-1拮抗剂是抗PD-L1抗体或其抗原结合片段,其包含具有SEQ ID NO:7或8的氨基酸序列的重链以及具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的轻链。

[0400] 71. 根据项目60和62-70中任一项所述的用途,其中所述PD-1拮抗剂是avelumab。

[0401] 72. 根据项目60-71中任一项所述的用途,其中所述ATR抑制剂选自化合物1或其药学上可接受的盐、化合物2或其药学上可接受的盐、化合物3或其药学上可接受的盐、化合物4或其药学上可接受的盐、以及化合物5或其药学上可接受的盐。

[0402] 73. 根据项目60-72中任一项所述的用途,其中所述ATR抑制剂是化合物1或其药学上可接受的盐。

[0403] 74. 根据项目60-73中任一项所述的用途,其中所述铂化物质选自顺铂、卡铂和奥

沙利铂。

[0404] 75. 根据项目60-74中任一项所述的用途,其中所述铂化物质是卡铂。

[0405] 76. 根据项目60和62-75中任一项所述的用途,其中所述抗PD-L1抗体是avelumab,所述ATR抑制剂是化合物1或其药学上可接受的盐,并且所述铂化物质是卡铂。

[0406] 77. 一种用于测量对象对用PD-1拮抗剂、ATR抑制剂和铂化物质治疗的应答的方法,其包括以下步骤:

[0407] a. 在用所述PD-1拮抗剂、所述ATR抑制剂和所述铂化物质治疗患有癌症的对象之后,测量所述对象中的一种或多种干扰素的表达水平;

[0408] b. 将所述表达水平与所述一种或多种干扰素的对照表达水平进行比较;其中如果所述患有癌症的对象中所述一种或多种干扰素表达的水平超过所述一种或多种干扰素表达的对照水平,则所述患有癌症的对象对所述治疗有应答,并且如果所述患有癌症的对象中所述一种或多种干扰素表达的水平未超过所述一种或多种干扰素表达的对照水平,则所述患有癌症的对象对所述治疗无应答。

[0409] 78. 根据项目77所述的方法,其中所述一种或多种干扰素的对照表达水平是在未经治疗的对象或未经治疗的对象组中测量的干扰素的一种或多种水平。

[0410] 79. 根据项目77或78所述的方法,其中所述方法还包括以下步骤:

[0411] c. 如果所述患有癌症的对象对所述治疗有应答,则继续进行所述治疗,和/或如果所述患有癌症的对象对所述治疗无应答,则停止所述治疗或修饰所述治疗的剂量。

[0412] 80. 根据项目77-79中任一项所述的方法,其中所述一种或多种干扰素选自干扰素- α 、干扰素- β 和干扰素- γ 。

[0413] 81. 根据项目80所述的方法,其中所述一种或多种干扰素是干扰素- α 和干扰素- β 。

[0414] 82. 根据项目80所述的方法,其中所述一种或多种干扰素是干扰素- γ 。

[0415] 83. 根据项目32-48所述的方法,其中在施用所述PD-1拮抗剂、所述ATR抑制剂和所述铂化物质之后,在所述对象中测量一种或多种干扰素的表达水平并与所述一种或多种干扰素的对照表达水平进行比较;其中如果所述对象中所述一种或多种干扰素表达的水平超过所述一种或多种干扰素表达的对照水平,则所述对象对所述治疗有应答,并且如果所述对象中所述一种或多种干扰素表达的水平未超过所述一种或多种干扰素表达的对照水平,则所述对象对所述治疗无应答。

[0416] 84. 根据项目83所述的方法,其中如果所述对象对所述治疗有应答,则在比较所述一种或多种干扰素表达水平之后继续所述治疗,和/或如果所述对象对所述治疗无应答,则在比较所述一种或多种干扰素表达水平之后中断所述治疗,或改变所述治疗的给药。

[0417] 85. 根据项目83或84所述的方法,其中所述一种或多种干扰素选自干扰素- α 、干扰素- β 和干扰素- γ 。

[0418] 86. 根据项目85所述的方法,其中所述一种或多种干扰素是干扰素- α 和干扰素- β 。

[0419] 87. 根据项目85所述的方法,其中所述一种或多种干扰素是干扰素- γ 。

[0420] 本文引用的所有参考文献均以引用的方式并入本发明的公开内容中。

[0421] 应理解,本发明不限于本文所述的特定分子、药物组合物、用途和方法,因为这些物质当然可以变化。还可以理解的是这里所使用的术语只是为了描述特定的实施方案的目的,而不是为了限制在所附的权利要求中所描述本发明的保护范围。在说明书中详细描述

了根据本发明必不可少的技术。未详细描述对应于本领域技术人员公知的已知标准方法的其他技术,或者在引用的参考文献、专利申请或标准文献中更详细地描述了这些技术。如果在申请中没有给出其他提示,则它们仅用作示例,根据本发明它们不被认为是必要的,但是它们可以由其他合适的工具和生物材料代替。

[0422] 尽管与本文描述的那些类似或等同的方法和材料可用于本发明的实践或测试,但下文描述了合适的实施例。在实施例中,使用不含污染活性的标准试剂和缓冲剂(无论何时)。特别地,这些实施例被解释为使得它们不限于明确说明的特征组合,但是只要解决了本发明的技术问题,示例性特征可以不受限制地再次组合。类似地,任何权利要求的特征可以与一个或多个其他权利要求的特征组合。已经概述和详细描述的本发明通过以下实施例进行说明而不受限制。

[0423] 实施例

[0424] 实施例1:

[0425] 独立地测试两种ATR抑制剂ATRi 1(化合物1)和ATRi 2(化合物2)与各种化疗物质(包括铂物质卡铂、顺铂和奥沙利铂)的组合,以分析对细胞生长抑制的组合效应。ATR抑制剂ATRi 1和ATRi 2分别以0.02 μ M和0.4 μ M使用,并且铂物质以递增浓度使用:卡铂:100 μ M,25 μ M,6.25 μ M,1.56 μ M,391nM;顺铂:10 μ M,2.5 μ M,625nM,156nM,39nM;奥沙利铂:25 μ M,6.25 μ M,1.56 μ M,391nM,98nM。用所述组合处理35种不同的癌细胞系。

[0426] 实验条件/处理方案:在标准条件下将细胞接种到96孔微量滴定平板中。使细胞在处理前静置48小时。处理实施120小时,并且通过加入三氯乙酸终止,然后进行Sulforhodamine B染色。组合包括同时添加的两种物质对。

[0427] 化合物的组合效应通过测量它们的细胞生长抑制来确定,与使用与用于这些组合的相同浓度的这些化合物的单一疗法所观察到的抑制相比较。使用BLISS独立模型($E_{1+2} = E_1 + E_2 - E_1 E_2$),将组合效应计算为相比于单一疗法效应的线性组合的超出量。将平均BLISS超出量计算为相比于所有抑制剂浓度的单一疗法效应的线性组合的平均超出量。高于0.1的正BLISS超出量值描述了协同效应,而低于-0.1的BLISS超出量值描述了拮抗效应。对于35种细胞系,两种ATR抑制剂与各种化疗物质(包括所提及的铂物质)的组合的BLISS超出量的量度示于图3中。

[0428] 如图3中所观察,当与铂物质卡铂、顺铂和奥沙利铂组合时,两种ATR抑制剂示出协同的细胞生长抑制。

[0429] 在以下设置中观察到特别强的处理效果:

[0430]

铂物质	ATRi	细胞系	来源	BLISS 超出量
卡铂	ATRi 1	A549	肺	0.121196631
卡铂	ATRi 1	A673	肌肉	0.477068952
卡铂	ATRi 1	BXPC3	胰腺	0.146420188
卡铂	ATRi 1	CALU6	肺	0.163731081
卡铂	ATRi 1	COLO205	结肠	0.147193806
卡铂	ATRi 1	DU145	前列腺	0.373382961
卡铂	ATRi 1	HL-60	血液	0.288214316
卡铂	ATRi 1	LOVO	结肠	0.108299031

[0431]

卡铂	ATRi 1	MCF7	乳房	0.134628294
卡铂	ATRi 1	MDAMB231	乳房	0.356878196
卡铂	ATRi 1	MDAMB435	皮肤	0.35185886
卡铂	ATRi 1	MHHES1	骨	0.126437348
卡铂	ATRi 1	MIAPACA2	胰腺	0.308854247
卡铂	ATRi 1	MV4-11	血液	0.148229027
卡铂	ATRi 1	NCIH460	肺	0.188252583
卡铂	ATRi 1	PANC1	胰腺	0.234922833
卡铂	ATRi 1	PBMC	血液	0.10145506
卡铂	ATRi 1	RDES	骨	0.322748341
卡铂	ATRi 1	SAOS2	骨	0.135893442
卡铂	ATRi 1	SW620	结肠	0.17400545
卡铂	ATRi 1	U2OS	骨	0.450328304
卡铂	ATRi 1	WSU-NHL	血液	0.248508988
卡铂	ATRi 2	A204	肌肉	0.249590261
卡铂	ATRi 2	A375	皮肤	0.17940193
卡铂	ATRi 2	A549	肺	0.175413086
卡铂	ATRi 2	A673	肌肉	0.50494045
卡铂	ATRi 2	ASPC1	胰腺	0.226636349
卡铂	ATRi 2	BXPC3	胰腺	0.283986217
卡铂	ATRi 2	CALU6	肺	0.223137608
卡铂	ATRi 2	COLO205	结肠	0.252726587
卡铂	ATRi 2	DU145	前列腺	0.492974
卡铂	ATRi 2	GRANTA-519	血液	0.151399735
卡铂	ATRi 2	HCT116	结肠	0.118098944
卡铂	ATRi 2	HL-60	血液	0.322629825
卡铂	ATRi 2	HT29	结肠	0.312381037
卡铂	ATRi 2	IGROV1	卵巢	0.217706292
卡铂	ATRi 2	LOVO	结肠	0.301650615
卡铂	ATRi 2	MCF7	乳房	0.130566415

[0432]

卡铂	ATRi 2	MDAMB231	乳房	0.401300128
卡铂	ATRi 2	MDAMB435	皮肤	0.333422413
卡铂	ATRi 2	MIAPACA2	胰腺	0.363426483
卡铂	ATRi 2	MV4-11	血液	0.219553367
卡铂	ATRi 2	NCIH460	肺	0.197141594
卡铂	ATRi 2	PANC1	胰腺	0.236938398
卡铂	ATRi 2	PBMC	血液	0.21450182
卡铂	ATRi 2	RDES	骨	0.386208527
卡铂	ATRi 2	SAOS2	骨	0.216863472
卡铂	ATRi 2	SW620	结肠	0.168742165
卡铂	ATRi 2	U2OS	骨	0.687381648
卡铂	ATRi 2	U87MG	脑	0.234321881
卡铂	ATRi 2	WSU-NHL	血液	0.355193663
顺铂	ATRi 1	A204	肌肉	0.19694654
顺铂	ATRi 1	A375	皮肤	0.124244252
顺铂	ATRi 1	A549	肺	0.153418836
顺铂	ATRi 1	A673	肌肉	0.500829877
顺铂	ATRi 1	BXPC3	胰腺	0.114832942
顺铂	ATRi 1	CALU6	肺	0.19281478
顺铂	ATRi 1	COLO205	结肠	0.247980039
顺铂	ATRi 1	DU145	前列腺	0.489546417
顺铂	ATRi 1	GRANTA-519	血液	0.106528853
顺铂	ATRi 1	HL-60	血液	0.359186244
顺铂	ATRi 1	IGROV1	卵巢	0.128205257
顺铂	ATRi 1	LOVO	结肠	0.133119727
顺铂	ATRi 1	MCF7	乳房	0.214646867
顺铂	ATRi 1	MDAMB231	乳房	0.356521065
顺铂	ATRi 1	MDAMB435	皮肤	0.3829918
顺铂	ATRi 1	MHHES1	骨	0.192779097
顺铂	ATRi 1	MIAPACA2	胰腺	0.413789124

[0433]

顺铂	ATRi 1	MV4-11	血液	0.231201135
顺铂	ATRi 1	NCIH460	肺	0.282144394
顺铂	ATRi 1	PANC1	胰腺	0.197466011
顺铂	ATRi 1	PBMC	血液	0.170744463
顺铂	ATRi 1	RDES	骨	0.382471067
顺铂	ATRi 1	SAOS2	骨	0.178936662
顺铂	ATRi 1	SW620	结肠	0.222950882
顺铂	ATRi 1	U2OS	骨	0.502848671
顺铂	ATRi 1	U87MG	脑	0.146487922
顺铂	ATRi 1	WSU-NHL	血液	0.176223278
顺铂	ATRi 2	A204	肌肉	0.338160004
顺铂	ATRi 2	A375	皮肤	0.266859254
顺铂	ATRi 2	A549	肺	0.243195538
顺铂	ATRi 2	A673	肌肉	0.529955464
顺铂	ATRi 2	ASPC1	胰腺	0.217564753
顺铂	ATRi 2	BXPC3	胰腺	0.264428379
顺铂	ATRi 2	CALU6	肺	0.206811222
顺铂	ATRi 2	COLO205	结肠	0.289788048
顺铂	ATRi 2	DU145	前列腺	0.567171683
顺铂	ATRi 2	GRANTA-519	血液	0.237785072
顺铂	ATRi 2	HCT116	结肠	0.129577463
顺铂	ATRi 2	HL-60	血液	0.332324212
顺铂	ATRi 2	HT29	结肠	0.375966052
顺铂	ATRi 2	IGROV1	卵巢	0.265210007
顺铂	ATRi 2	IMR90	肺	0.150381193
顺铂	ATRi 2	LOVO	结肠	0.363859362
顺铂	ATRi 2	MCF7	乳房	0.229404094
顺铂	ATRi 2	MDAMB231	乳房	0.335689756
顺铂	ATRi 2	MDAMB435	皮肤	0.305382726
顺铂	ATRi 2	MDAMB436	乳房	0.105941911

[0434]

顺铂	ATRI 2	MHHES1	骨	0.142251524
顺铂	ATRI 2	MIAPACA2	胰腺	0.408497284
顺铂	ATRI 2	MV4-11	血液	0.300599435
顺铂	ATRI 2	NCIH460	肺	0.292234633
顺铂	ATRI 2	PANC1	胰腺	0.263966822
顺铂	ATRI 2	PBMC	血液	0.300277861
顺铂	ATRI 2	RAMOS	血液	0.117544179
顺铂	ATRI 2	RDES	骨	0.416759146
顺铂	ATRI 2	SAOS2	骨	0.257010529
顺铂	ATRI 2	SW620	结肠	0.20073269
顺铂	ATRI 2	U2OS	骨	0.710054514
顺铂	ATRI 2	U87MG	脑	0.287615857
顺铂	ATRI 2	WSU-NHL	血液	0.305392445
奥沙利铂	ATRI 1	A673	肌肉	0.398164808
奥沙利铂	ATRI 1	COLO205	结肠	0.168087736
奥沙利铂	ATRI 1	DU145	前列腺	0.439897865
奥沙利铂	ATRI 1	HL-60	血液	0.278503965
奥沙利铂	ATRI 1	HT1080	结缔组织	0.171160855
奥沙利铂	ATRI 1	MDAMB231	乳房	0.188547957
奥沙利铂	ATRI 1	MDAMB435	皮肤	0.212591265
奥沙利铂	ATRI 1	MIAPACA2	胰腺	0.212851831
奥沙利铂	ATRI 1	MV4-11	血液	0.1369089
奥沙利铂	ATRI 1	RDES	骨	0.332767017
奥沙利铂	ATRI 1	U2OS	骨	0.165598744
奥沙利铂	ATRI 1	WSU-NHL	血液	0.18190226
奥沙利铂	ATRI 2	A204	肌肉	0.117462267
奥沙利铂	ATRI 2	A375	皮肤	0.18963669
奥沙利铂	ATRI 2	A549	肺	0.140667935
奥沙利铂	ATRI 2	A673	肌肉	0.462537651
奥沙利铂	ATRI 2	ASPC1	胰腺	0.120760827

[0435]	奥沙利铂	ATRi 2	BXPC3	胰腺	0.217521464
	奥沙利铂	ATRi 2	COLO205	结肠	0.262943622
	奥沙利铂	ATRi 2	DU145	前列腺	0.561849335
	奥沙利铂	ATRi 2	GRANTA-519	血液	0.193546237
	奥沙利铂	ATRi 2	HCT116	结肠	0.106439
	奥沙利铂	ATRi 2	HL-60	血液	0.272291113
	奥沙利铂	ATRi 2	HT29	结肠	0.277891345
	奥沙利铂	ATRi 2	IGROV1	卵巢	0.210629861
	奥沙利铂	ATRi 2	LOVO	结肠	0.256302125
	奥沙利铂	ATRi 2	MCF7	乳房	0.225685532
	奥沙利铂	ATRi 2	MDAMB231	乳房	0.178692882
	奥沙利铂	ATRi 2	MDAMB435	皮肤	0.203776377
	奥沙利铂	ATRi 2	MHHES1	骨	0.151955699
	奥沙利铂	ATRi 2	MIAPACA2	胰腺	0.118755662
	奥沙利铂	ATRi 2	MV4-11	血液	0.127773664
	奥沙利铂	ATRi 2	NCIH460	肺	0.159921419
	奥沙利铂	ATRi 2	PANC1	胰腺	0.100739372
	奥沙利铂	ATRi 2	PBMC	血液	0.23765779
	奥沙利铂	ATRi 2	RDES	骨	0.351486564
	奥沙利铂	ATRi 2	SAOS2	骨	0.116150755
奥沙利铂	ATRi 2	SW620	结肠	0.103447461	
奥沙利铂	ATRi 2	U2OS	骨	0.580457627	
奥沙利铂	ATRi 2	U87MG	脑	0.153359354	
奥沙利铂	ATRi 2	WSU-NHL	血液	0.163869039	

[0436] 实施例2:三重组合处理在小鼠皮下MC38肿瘤模型中的抗肿瘤功效的体内测试

[0437] 本研究的目的是评价在C57BL/6小鼠的皮下MC38结直肠癌同源模型中包含avelumab、铂物质(顺铂或卡铂)和ATRi 1(化合物1)的三重组合处理的体内抗肿瘤功效。

[0438] 细胞培养

[0439] 将MC38肿瘤细胞作为单层培养物在补充有10%热失活胎牛血清、100U/ml青霉素和100μg/ml链霉素的DMEM+2mM谷氨酰胺中在37℃含5%CO₂的空气气氛中体外维持。通过胰蛋白酶-EDTA处理,使肿瘤细胞按常规每周两次传代培养。收获在指数生长期生长的细胞并计数以进行肿瘤接种。

[0440] 肿瘤接种和动物分组

[0441] 每只小鼠在右上肋腹经皮下接种溶于0.1mL的PBS的MC38细胞 (3×10^5 个) 以使肿瘤发展。当平均肿瘤尺寸达到约 80mm^3 时,在肿瘤接种后第7天开始处理。使用基于Excel的随机化软件将动物分组,基于其肿瘤体积实施分层随机分组。每组由10只荷瘤小鼠组成。根据实验设计表2和表6中分别示出的预定方案,将测试的化合物施用给小鼠。

[0442] 测试的化合物(表1)

	测试的化合物	溶剂
	avelumab	PBS
	同种型对照	PBS
[0443]	顺铂	0.9%盐水
	卡铂	0.9%盐水
	ATRi 1	0.5% Methocel K4M Premium/0.25% Tween 20(溶剂, 也称为媒剂)

[0444] 肿瘤测量和终点

[0445] 主要终点是观察肿瘤生长是否可得到延迟或者小鼠是否可得到治愈。使用卡尺在两个维度上每周测量两次肿瘤尺寸,并且使用以下公式以 mm^3 表示体积: $V=0.5a \times b^2$,其中a和b分别是肿瘤的长径和短径。随后用肿瘤尺寸计算T/C值。T/C值(以百分比计)指示抗肿瘤效力;T和C分别是处理组和对照组在给定日的平均体积。使用以下公式计算每组的TGI: $TGI(\%) = [1 - (T_i - T_0) / (V_i - V_0)] \times 100$; T_i 是处理组在给定日的平均肿瘤体积, T_0 是处理组在处理开始日的平均肿瘤体积, V_i 是媒剂对照组在与 T_1 同一天的平均肿瘤体积,并且 V_0 是载体媒剂组在处理开始日的平均肿瘤体积。根据IACUC规定,当动物达到 $3,000\text{mm}^3$ 的肿瘤负荷时,对动物处以安乐死,并且达到该终点的时间用于Kaplan-Meier存活分析。

[0446] 统计学统计

[0447] 对处理开始后第17天的最佳处理时间点获得的数据进行组间肿瘤体积差异的统计学分析。进行单因素方差分析,并且当获得显著的F统计量(处理方差与误差方差的比率)时,使用Games-Howell检验进行组间比较。所有数据均使用SPSS 17.0分析。 $p < 0.05$ 被认为有统计学意义。

[0448] 对处理开始后直到第66天的存活数据进行组间存活率差异的统计学分析。进行Kaplan-Meier检验,所有数据均使用GraphPad Prism 6.0.进行分析,组间比较用对数秩检验进行, $p < 0.05$ 被认为有统计学意义。

[0449] 实验2A:MC38模型中avelumab、顺铂和ATRi 1的三重组合

[0450] 根据上述方法并使用表2中列出的实验设计,测试avelumab、顺铂和ATRi 1的三重组合的抗肿瘤功效。

[0451] 实验设计(表2):

[0452]

组	N ^a	处理	剂量	给药途径	计划表
1	10	同种型对照	400 µg	<i>i.v.</i>	第 3、6、9 天
		0.9%盐水	-	<i>i.p.</i>	第 0、7 天
		媒剂	-	<i>p.o.</i>	第 0、7 天
2	10	avelumab	400 µg	<i>i.v.</i>	第 3、6、9 天
		0.9%盐水	-	<i>i.p.</i>	第 0、7 天
		媒剂	-	<i>p.o.</i>	第 0、7 天
3	10	同种型对照	400 µg	<i>i.v.</i>	第 3、6、9 天
		顺铂	3.5 mg/kg	<i>i.p.</i>	第 0、7 天
		媒剂	-	<i>p.o.</i>	第 0、7 天
4	10	同种型对照	400 µg	<i>i.v.</i>	第 3、6、9 天
		0.9%盐水	-	<i>i.p.</i>	第 0、7 天
		ATRi 1	60 mg/kg	<i>p.o.</i>	第 0、7 天
5	10	avelumab	400 µg	<i>i.v.</i>	第 3、6、9 天
		顺铂	3.5 mg/kg	<i>i.p.</i>	第 0、7 天
		媒剂	-	<i>p.o.</i>	第 0、7 天
6	10	avelumab	400 µg	<i>i.v.</i>	第 3、6、9 天
		0.9%盐水	-	<i>i.p.</i>	第 0、7 天
		ATRi 1	60 mg/kg	<i>p.o.</i>	第 0、7 天

[0453]

7	10	同种型对照	400 µg	<i>i.v.</i>	第 3、6、9 天
		顺铂	3.5 mg/kg	<i>i.p.</i>	第 0、7 天
		ATRi 1	60 mg/kg	<i>p.o.</i>	第 0、7 天
8	10	avelumab	400 µg	<i>i.v.</i>	第 3、6、9 天
		顺铂	3.5 mg/kg	<i>i.p.</i>	第 0、7 天
		ATRi 1	60 mg/kg	<i>p.o.</i>	第 0、7 天

[0454] 备注：

[0455] a.N:每组的动物数目。

[0456] 作为毒性的间接量度,监测体重变化,其结果示于图4中。

[0457] 不同小鼠的肿瘤生长曲线示于图5中,并且第17天的肿瘤生长抑制示于下表3中。

[0458] 肿瘤生长抑制分析(表3)

处理组	第 17 天肿瘤尺寸(mm ³) ^a	T/C (%)	TGI% (%)	p 值 单因素方差分析
1	1725±367	--	--	--
2	1038±250	60.2	41.8	0.773
3	1088±221	63.1	38.7	0.803
4	1534±267	88.9	11.6	1.000
5	380±124	22.0	81.8	0.077
6	1062±274	61.6	40.3	0.823
7	539±123	31.2	72.1	0.139
8	79±46	4.6	100.1	0.026

[0460] 备注:

[0461] a. 平均值±SEM。

[0462] 在处理开始后第17天,媒剂处理的动物的平均肿瘤尺寸达到1,725mm³。以400ug avelumab作为单一物质、3.5mg/kg顺铂作为单一物质且60mg/kg ATRi 1作为单一物质处理具有较小的抗肿瘤活性;第17天肿瘤平均尺寸分别为1,038mm³、1,088mm³和1,534mm³(相比于媒剂组,分别地T/C值=60.2%,63.1%和88.9%;TGI=41.8%,38.7%和11.6%,p=0.773,0.803和1.000)。

[0463] 400ug avelumab和3.5mg/kg顺铂的二重组合处理示出显著的抗肿瘤活性,在第17天平均肿瘤尺寸为380mm³(相比于媒剂组,T/C值=22.0%,TGI=81.8%,p=0.077)。400ug avelumab和60mg/kg ATRi 1的二重组合处理示出较小的抗肿瘤活性,在第17天平均肿瘤尺寸为1,062mm³(相比于媒剂组,T/C值=61.6%,TGI=40.3%,p=0.823)。3.5mg/kg顺铂和60mg/kg ATRi 1的二重组合处理示出显著的抗肿瘤活性,在第17天平均肿瘤尺寸为539mm³(相比于媒剂组,T/C值=31.2%,TGI=72.1%,p=0.139)。400ug avelumab、3.5mg/kg顺铂和60mg/kg ATRi 1的三重组合处理示出最高的抗肿瘤活性,在第17天平均肿瘤尺寸为79mm³(相比于媒剂组,T/C值=4.6%,TGI=100.1%,p=0.026)。

[0464] 存活数据反映在图6以及下表4和5中。

[0465] 基于至多66天的存活数据计算的小鼠皮下MC38结直肠癌同源模型中的三重组合处理的Kaplan-Meier存活分析(表4)

处理组	中位生存期, 天数	对数秩检验的 P 值 ^a	第 66 天无瘤小鼠
1	21.5	-	0/10
2	26	0.0753	0/10
3	28	0.1220	0/10
4	24	0.9640	0/10
5	38.5	0.0002	2/10
6	29.5	0.0272	0/10
7	29.5	0.0010	0/10
8	未达到	<0.0001	7/10

[0467] 备注:

[0468] a. 组间比较用对数秩检验进行(与媒介组比较)。

[0469] 基于至多66天的存活数据的三重组合处理 *v.s.* 每种二重组合处理的Kaplan-Meier存活分析(表5)

处理组	中位生存期, 天数	对数秩检验的 P 值 ^a
5	38.5	0.0150
6	29.5	<0.0001
7	29.5	0.0002
8	未达到	-

[0471] a. 组间比较用对数秩检验进行(与三重组合处理组比较)。

[0472] 与媒介处理组相比,二重组合处理(avelumab+顺铂;avelumab+ATRi 1;顺铂+ATRi 1)和三重组合处理(avelumab+顺铂+ATRi 1)显著地延长了本研究中动物的存活率(相比于媒介组,分别地 $p=0.0002,0.0272,0.0010,<0.0001$)。与各个二重组合处理组(avelumab+顺铂;avelumab+ATRi 1;顺铂+ATRi 1)相比,三重组合处理(avelumab+顺铂+ATRi 1)显著地延长了动物的存活率(与三重组合处理组相比,分别地 $p=0.0150,<0.0001,0.0002$)。

[0473] 概括地说,avelumab、顺铂、ATRi 1组合处理在MC38结直肠癌同源模型中示出高抗肿瘤活性。

[0474] 实验2B:avelumab、卡铂和ATRi 1的三重组合

[0475] 根据上述方法并使用表6中列出的实验设计,测试avelumab、卡铂和ATRi 1的三重组合的抗肿瘤功效。

[0476] 实验设计(表6):

[0477]

组	N ^a	处理	剂量	给药途径	计划表
1	10	同种型对照	400 µg	<i>i.v.</i>	第 3、6、9 天
		0.9%盐水	-	<i>i.p.</i>	第 0、7 天
		媒剂	-	<i>p.o.</i>	第 0、7 天
2	10	avelumab	400 µg	<i>i.v.</i>	第 3、6、9 天
		0.9%盐水	-	<i>i.p.</i>	第 0、7 天
		媒剂	-	<i>p.o.</i>	第 0、7 天
3	10	同种型对照	400 µg	<i>i.v.</i>	第 3、6、9 天
		卡铂	60 mg/kg	<i>i.p.</i>	第 0、7 天
		媒剂	-	<i>p.o.</i>	第 0、7 天
4	10	同种型对照	400 µg	<i>i.v.</i>	第 3、6、9 天
		0.9%盐水	-	<i>i.p.</i>	第 0、7 天
		ATRi 1	60 mg/kg	<i>p.o.</i>	第 0、7 天
5	10	avelumab	400 µg	<i>i.v.</i>	第 3、6、9 天
		卡铂	60 mg/kg	<i>i.p.</i>	第 0、7 天

[0478]

		媒剂	-	<i>p.o.</i>	第 0、7 天
6	10	avelumab	400 µg	<i>i.v.</i>	第 3、6、9 天
		0.9%盐水	-	<i>i.p.</i>	第 0、7 天
		ATRi 1	60 mg/kg	<i>p.o.</i>	第 0、7 天
7	10	同种型对照	400 µg	<i>i.v.</i>	第 3、6、9 天
		卡铂	60 mg/kg	<i>i.p.</i>	第 0、7 天
		ATRi 1	60 mg/kg	<i>p.o.</i>	第 0、7 天
8	10	avelumab	400 µg	<i>i.v.</i>	第 3、6、9 天
		卡铂	60 mg/kg	<i>i.p.</i>	第 0、7 天
		ATRi 1	60 mg/kg	<i>p.o.</i>	第 0、7 天

[0479] 备注：

[0480] a.N:每组的动物数目。

[0481] 作为毒性的间接量度,监测体重变化,其结果示于图7中。

[0482] 不同小鼠的肿瘤生长曲线示于图8中,并且第17天的肿瘤生长抑制示于下表7中。

[0483] 肿瘤生长抑制分析(表7)

处理组	第 17 天肿瘤尺寸(mm ³) ^a	T/C (%)	TGI% (%)	p 值 单因素方差分析
1	1409±334	--	--	--
2	774±153	54.9	47.8	0.674
3	671±160	47.6	55.5	0.521
4	1824±245	129.5	-31.2	0.968
5	284±55	20.2	84.7	0.098
6	769±244	54.6	48.2	0.774
7	149±53	10.6	94.8	0.056
8	115±77	8.2	97.4	0.049

[0485] 备注:

[0486] a. 平均值±SEM。

[0487] 在处理开始后第17天,媒剂处理的动物的平均肿瘤尺寸达到1,409mm³。以400ug avelumab作为单一物质、60mg/kg卡铂作为单一物质且60mg/kg ATRi 1作为单一物质处理具有较小的抗肿瘤活性;第17天平均肿瘤尺寸分别为774mm³、671mm³和1,824mm³(相比于媒剂组,分别地T/C值=54.9%,47.6%和129.5%;TGI=47.8%,55.5%和-31.2%,p=0.674,0.521和0.968)。

[0488] 400ug avelumab和60mg/kg卡铂的二重组合处理示出显著的抗肿瘤活性,在第17天平均肿瘤尺寸为284mm³(相比于媒剂组,T/C值=20.2%,TGI=84.7%,p=0.098)。400ug avelumab和60mg/kg ATRi 1的二重组合处理示出较小的抗肿瘤活性,在第17天平均肿瘤尺寸为769mm³(相比于媒剂组,T/C值=54.6%,TGI=48.2%,p=0.774)。60mg/kg卡铂和60mg/kg ATRi 1的二重组合处理示出显著的抗肿瘤活性,在第17天平均肿瘤尺寸为149mm³(相比于媒剂组,T/C值=10.6%,TGI=94.8%,p=0.056)。400ug avelumab、60mg/kg卡铂和60mg/kg ATRi 1的三重组合处理示出最高的抗肿瘤活性,在第17天平均肿瘤尺寸为115mm³(相比于媒剂组,T/C值=8.2%,TGI=97.4%,p=0.049)。

[0489] 存活数据反映在图9以及下表8和9中。

[0490] 基于至多66天的存活数据计算的小鼠皮下MC38结直肠癌同源模型中的三重组合处理的Kaplan-Meier存活分析(表8)

处理组	中位生存期, 天数	对数秩检验的 P 值 ^a	第 66 天无瘤小鼠
1	22.5		0/10
2	31	0.0196	0/10
3	28	0.0450	0/10
4	21	0.1425	0/10
5	36.5	0.0001	0/10
6	29.5	0.0586	1/10
7	41.5	<0.0001	1/10
8	未达到	<0.0001	7/10

[0492] 备注:

[0493] a. 组间比较用对数秩检验进行 (与媒介组比较)。

[0494] 基于至多66天的存活数据的三重组合处理 v. s. 每种二重组合处理的Kaplan-Meier存活分析 (表9)

处理组	中位生存期, 天数	对数秩检验的 P 值
		^a
5	36.5	0.0008
6	29.5	0.0013
7	41.5	0.0054
8	未达到	-

[0497] a. 组间比较用对数秩检验进行 (与三重组合处理组比较)。

[0498] 与媒介处理组相比, 二重组合处理 (avelumab+卡铂; avelumab+ATRi 1; 卡铂+ATRi 1) 和三重组合处理 (avelumab+卡铂+ATRi 1) 显著地延长了本研究中动物的存活率 (相比于媒介组, 分别地 $p=0.0001, <0.0001, <0.0001$)。与各个二重组合处理组 (avelumab+卡铂; avelumab+ATRi 1; 卡铂+ATRi 1) 相比, 三重组合处理 (avelumab+卡铂+ATRi 1) 显著地延长了动物的存活率 (与三重组合处理组相比, 分别地 $p=0.0008, 0.0013, 0.0054$)。

[0499] 概括地说, avelumab、卡铂、ATRi 1 组合处理在MC38结直肠癌同源模型中示出高抗肿瘤活性。

[0500] 实施例3:MC38模型中的再挑战 (re-challenge) 研究

[0501] 再挑战研究的目的是测试来自实施例2的功效研究的存活动物是否获得了针对相同肿瘤的保护性免疫力。

[0502] 实施例3A:avelumab、顺铂和ATRi 1的三重组合

[0503] 在本研究中, 在首次MC38接种后第67天, 用 3×10^5 个MC38细胞对来自第5组

(avelumab 400ug+顺铂3.5mg/kg+媒剂) 和第8组 (avelumab 400ug+顺铂3.5mg/kg+ATRi 1 60mg/kg) 的存活动物进行再挑战(表10)。将细胞注入动物的左侧腹。

[0504] 实验设计(表10)

	根据实施例 2A 的处理组	n ^a	细胞系	细胞数/小鼠	注射体 积
[0505]	首次接受试验的小鼠	10	MC38	3×10^5	100 μ l
	5	2		3×10^5	100 μ l
	8	7		3×10^5	100 μ l

[0506] 备注:

[0507] a.N:每组的动物数目。

[0508] 在植入后3周内监测肿瘤生长,肿瘤体积在下表11中示出:

[0509] 肿瘤生长数据(表11)

天数	肿瘤体积(mm ³) ^a		
	未受过处理的小鼠	处理组 5	处理组 8
0	0±0	0±0	0±0
[0510] 7	182±14	0±0	0±0
11	346±49	0±0	0±0
14	740±113	0±0	0±0
18	1337±167	0±0	0±0
21	2162±336	0±0	0±0

[0511] 备注:

[0512] a. 平均值±SEM

[0513] 在肿瘤植入后第21天,首次接受试验的对照小鼠的平均肿瘤尺寸达到2,162mm³。在整个研究期间,在MC38再挑战之后,并未在来自第5组和第8组的完全应答者上发现肿瘤生长。

[0514] 概括地说,存活的动物似乎已经获得了针对相同肿瘤的保护性免疫力。

[0515] 实施例3B:avelumab、卡铂和ATRi 1的三重组合

[0516] 在本研究中,在首次MC38接种后第67天,用 3×10^5 个MC38细胞对来自第6组(avelumab 400ug+0.9%盐水+ATRi 1 60mg/kg)、第7组(同种型对照400ug+卡铂60mg/kg+ATRi 1 60mg/kg)和第8组(avelumab 400ug+卡铂60mg/kg+ATRi 1 60mg/kg)的存活动物进行再挑战(表12)。将细胞注入动物的左侧腹。

[0517] 实验设计(表12)

[0518]	根据实施例 2B 的处理组	n ^a	细胞系	细胞数/小鼠	注射体积
	首次接受试验的小鼠	10	MC38	3×10 ⁵	100 μl
[0519]	6	1		3×10 ⁵	100 μl
	7	1		3×10 ⁵	100 μl
	8	7		3×10 ⁵	100 μl

[0520] 备注:

[0521] a.N:每组的动物数目。

[0522] 在植入后3周内监测肿瘤生长,肿瘤体积在下表13中示出:

[0523] 肿瘤生长数据(表13)

天数	肿瘤体积(mm ³) ^a			
	未受过处理的小鼠	处理组 6	处理组 7	处理组 8
0	0±0	0	0	0±0
[0524] 7	182±14	0	0	0±0
11	346±49	0	0	0±0
14	740±113	0	0	0±0
18	1337±167	0	0	0±0
21	2162±336	0	0	0±0

[0525] 备注:

[0526] a. 平均值±SEM

[0527] 在肿瘤植入后第21天,首次接受试验的对照小鼠的平均肿瘤尺寸达到2,162mm³。在整个研究期间,在MC38再挑战之后,并未在来自第6组、第7组和第8组的完全应答者上发现肿瘤生长。

[0528] 概括地说,存活的动物似乎已经获得了针对相同肿瘤的保护性免疫力。

[0529] 实施例4:三重组合处理在小鼠皮下MB49肿瘤模型中的抗肿瘤功效的体内测试

[0530] 本研究的目的是研究卡铂、ATRi 1(化合物1)和抗PD-L1抗体avelumab在MB49同源肿瘤模型中的治疗功效。

[0531] 肿瘤接种和动物分组

[0532] C57BL/6雌性小鼠为8-9周龄,其中在右侧腹经皮下注射有溶于0.1mL PBS的0.5×10⁶个活MB49肿瘤细胞。将动物随机化,并且当肿瘤达到约100mm³体积时开始疗法(处理第0天)。每组由10只荷瘤小鼠组成。根据实验设计表14中所示的预定方案将测试的化合物施用给小鼠:

[0533] 实验设计(表14):

[0534]

组	N ^a	处理	剂量	给药途径	计划表
1	10	同种型对照	400 µg	<i>i.v.</i>	第 3、6、9 天
		0.9%盐水	-	<i>i.p.</i>	第 0、7 天
		媒剂	-	<i>p.o.</i>	第 0、7 天
2	10	avelumab	400 µg	<i>i.v.</i>	第 3、6、9 天
		0.9%盐水	-	<i>i.p.</i>	第 0、7 天
		媒剂	-	<i>p.o.</i>	第 0、7 天
3	10	同种型对照	400 µg	<i>i.v.</i>	第 3、6、9 天
		卡铂	60 mg/kg	<i>i.p.</i>	第 0、7 天
		媒剂	-	<i>p.o.</i>	第 0、7 天
4	10	同种型对照	400 µg	<i>i.v.</i>	第 3、6、9 天
		0.9%盐水	-	<i>i.p.</i>	第 0、7 天
		ATRi 1	60 mg/kg	<i>p.o.</i>	第 0、7 天
5	10	avelumab	400 µg	<i>i.v.</i>	第 3、6、9 天
		卡铂	60 mg/kg	<i>i.p.</i>	第 0、7 天
		媒剂	-	<i>p.o.</i>	第 0、7 天
6	10	avelumab	400 µg	<i>i.v.</i>	第 3、6、9 天
		0.9%盐水	-	<i>i.p.</i>	第 0、7 天
		ATRi 1	60 mg/kg	<i>p.o.</i>	第 0、7 天
7	10	同种型对照	400 µg	<i>i.v.</i>	第 3、6、9 天
		卡铂	60 mg/kg	<i>i.p.</i>	第 0、7 天
		ATRi 1	60 mg/kg	<i>p.o.</i>	第 0、7 天
8	10	avelumab	400 µg	<i>i.v.</i>	第 3、6、9 天
		卡铂	60 mg/kg	<i>i.p.</i>	第 0、7 天
		ATRi 1	60 mg/kg	<i>p.o.</i>	第 0、7 天

[0535] 将抗体和卡铂溶解于0.9%盐水中,将ATRi 1溶解于0.5%Methocel K4MPremium/0.25%Tween 20(也称为媒剂)。

[0536] 肿瘤测量和终点

[0537] 每周测量肿瘤尺寸两次,使用公式宽度×长度×高度×0.5236确定肿瘤体积。随

后用肿瘤尺寸计算T/C值。

[0538] 另外,每周测量两次体重。当肿瘤体积达到2000mm³时处死小鼠。

[0539] 统计学统计

[0540] 使用来自GraphPad Prism软件包(用于Windows的Prism 5,5.0版本(GraphPad Software Inc.,San Diego,CA))的单因素方差分析(ANOVA)和Bonferroni的多重比较检验、双因素方差分析、非配对t检验和对数秩检验。 $p < 0.05$ 被认为有统计学意义。

[0541] 结果

[0542] 作为毒性的间接量度,监测体重变化,其结果示于图10中。

[0543] 不同小鼠的肿瘤生长曲线示于图11中,并且第18天的肿瘤生长抑制示于下表15中。

[0544] 肿瘤生长抑制分析(表15)

处理组	第 18 天肿瘤尺寸(mm ³) ^a	TGI% (%)	<i>p</i> 值 单因素方差分析
1	2264±256	--	--
2	1378±175	39.1	0.0264
3	1814±212	19.9	0.5195
4	2087±333	7.8	0.99
5	1108±239	51.1	0.0018
6	1385±259	38.8	0.0279
7	1588±276	29.9	0.1405
8	556±79	75.5	0.0001

[0546] 备注:

[0547] a. 平均值±SEM。

[0548] 存活数据反映在图12以及下表16和17中。

[0549] 基于存活数据计算的小鼠皮下MB49模型中的三重组合处理的Kaplan-Meier存活分析(表16)

处理组	中位生存期,天数	对数秩检验的P值 ^a
1	21	-
2	22.5	0.0146
3	21	0.107
4	21	0.2537
5	24	0.002
6	25.5	0.0034
7	24	0.0279
8	31	<0.0001

[0551] 备注:

[0552] a. 组间比较用对数秩检验进行(与媒介组比较)。

[0553] 基于存活数据的三重组合处理 v.s. 每种二重组合处理的Kaplan-Meier存活分析(表17)

处理组	中位生存期, 天数	对数秩检验的 <i>P</i> 值 ^a
5	24	0.0151
6	25.5	0.0081
7	24	0.001
8	31	-

[0555] a. 组间比较用对数秩检验进行(与三重组合处理组比较)。

[0556] 在该研究中,与对照组相比,卡铂单一疗法或ATRi 1单一疗法并未示出任何显著的肿瘤生长抑制效应(基于处理开始后第18天的TGI计算,表15;以及基于Kaplan-Meier存活曲线的分析,表16)。

[0557] 卡铂+ATRi 1的组合在处理开始后第18天示出对肿瘤生长的中度效应(TGI = 29.9% vs 对照组, $p=0.1405$, 表15),导致中位生存期显著增加(24天 vs 对照组21天, $p=0.0279$, 表16)。

[0558] avelumab作为单一疗法示出中度的肿瘤生长抑制效应(TGI = 39.1% vs 对照组, $p=0.0264$),其与对照组相比导致中位生存期增加(22.5 vs 21天, $p=0.0146$)。另外,avelumab与卡铂或与ATRi 1的组合示出了对肿瘤生长的显著效应(分别地,第18天TGI = 51.1%和38.8% vs 对照组, $p=0.0018$ 和 $p=0.0279$, 表15)以及与对照组相比延长的中位生存期(24天和25.5天 vs 21天, 表16)。

[0559] 使用第18天TGI计算(TGI为75.5% vs 相应地29.9%, 51.1%和38.8%)并通过Kaplan-Meier存活曲线分析(中位生存期31天 vs 相应地24天, 24天和25.5天, 表17所示的三重组合 vs 二重组合比较的*P*值),卡铂/ATRi 1/avelumab的三重组合在本研究中示出有效的抗肿瘤效应,并且与任何二重组合(卡铂/ATRi 1、卡铂/avelumab或ATRi 1/avelumab)相比显著更好。

[0560] 概括地说,卡铂、ATRi 1和avelumab的三重组合的肿瘤生长抑制数据显示了优于二重组合处理的益处。

[0561] 实施例5:体外和体内基因表达谱

[0562] 本研究的目的是鉴定处理组与对照组之间不同的基因集合。

[0563] 体外样本制备

[0564] 将MC38小鼠癌细胞用媒介、ATRi (110nM)、卡铂 (10 μ M) 或ATRi (110nM) +卡铂 (10 μ M) 处理24h、48h或72小时。在每次处理结束时(时间点),大部分肿瘤细胞是有活力的,如由Cell Titer-Glo (Promega, 目录号G7573) 所确定。使用Qiagen试剂盒(Qiagen, 目录号74104) 进行RNA提取。

[0565] 体内样本制备

[0566] 细胞培养

[0567] 将MC38肿瘤细胞作为单层培养物在补充有10%热失活胎牛血清、100U/ml青霉素和100 μ g/ml链霉素的DMEM+2mM谷氨酰胺中在37 $^{\circ}$ C含5%CO₂的空气气氛中体外维持。通过胰蛋白酶-EDTA处理,使肿瘤细胞按常规每周两次传代培养。收获在指数生长期生长的细胞并计数以进行肿瘤接种。

[0568] 肿瘤接种和动物分组

[0569] 每只小鼠在右上肋腹经皮下接种溶于0.1mL的PBS的MC38细胞(3×10^5 个)以使肿瘤发展。当平均肿瘤尺寸达到约150mm³(0天)时,使用基于Excel的随机化软件将动物分组,基于其肿瘤体积实施分层随机分组。每组由5只荷瘤小鼠组成。根据实验设计表19中所示的预定方案将测试的化合物施用给小鼠。

[0570] 测试的化合物(表18)

	测试的化合物	溶剂
	avelumab	PBS
[0571]	同种型对照	PBS
	卡铂	0.9%盐水
	ATRi 1	0.5% Methocel K4M Premium/0.25% Tween 20(溶剂, 也称为媒剂)

[0572] 实验设计(表19):

组	每组动物	处理	剂量	给药途径	计划表
1	5	同种型对照	400 μ g	<i>i.v.</i>	第 0 天
		0.9%盐水	-	<i>i.p.</i>	第 1 天
		媒剂	-	<i>p.o.</i>	第 1 天
2	5	avelumab	400 μ g	<i>i.v.</i>	第 0 天
		0.9%盐水	-	<i>i.p.</i>	第 1 天
		媒剂	-	<i>p.o.</i>	第 1 天
3	5	同种型对照	400 μ g	<i>i.v.</i>	第 0 天
		卡铂	60 mg/kg	<i>i.p.</i>	第 1 天
		媒剂	-	<i>p.o.</i>	第 1 天
4	5	avelumab	400 μ g	<i>i.v.</i>	第 0 天
		卡铂	60 mg/kg	<i>i.p.</i>	第 1 天
		媒剂	-	<i>p.o.</i>	第 1 天
5	5	avelumab	400 μ g	<i>i.v.</i>	第 0 天
		卡铂	60 mg/kg	<i>i.p.</i>	第 1 天
		ATRi 1	60 mg/kg	<i>p.o.</i>	第 1 天

[0574] 在随机化后第3天,处死动物并在RNALater缓冲剂中收集肿瘤样本。使用Qiagen试剂盒(Qiagen,目录号74104)进行RNA提取。

[0575] 基因表达的RNAseq生成和分析

[0576] 进行上述体外和体内RNA样本的RNA-Seq。每个样本都有3-5千万个与基因组相匹配的可用读段。将表达谱归一化并用limma-voom方法转化。mSigDB基因集合和免疫标签被用来了解肿瘤标志、经典途径和免疫细胞含量差异的差异。

[0577] 结果

[0578] 在体外,发现与单一物质或媒剂相比,ATRi+卡铂处理强烈地增强干扰素(IFN) γ 和IFN α/β 途径(图13a,b)。该效应在48小时最大。

[0579] 这些途径在第3天和第6天在用avelumab、卡铂和ATRi的单一、二重或三重疗法处理的荷瘤小鼠体内检查。类似地,观察到与媒剂、单一物质或二重处理相比,ATRi+卡铂+avelumab三重组合处理强烈地增强了IFN γ 和IFN α/β 途径(图14a,b)。

[0580] 总之,两个独立的体外和体内研究证明,铂化物质与ATRi药物物质组合时对癌细胞中IFN- γ -相关基因mRNA水平的处理效应极大地且进一步增强。此外,还观察到当两种药物铂化物质+ATRi与抗PDL1 mAb avelumab组合时,IFN- γ -相关基因mRNA水平进一步提高。IFN信号转导的活化与临床结果和对PDx疗法的阳性应答正相关。在本文中,与铂化物质+

avelumab相比,ATRi+铂化物质+avelumab对IFN的强烈正调节极大地支持了在MC38肿瘤模型中观察到的三重组合益处相对于二重组合的潜力。

序列表

<110> 默克专利股份有限公司
 辉瑞公司

<120> 用于治疗癌症的 PD-1 拮抗剂、ATR 抑制剂和铂化物质的组合

<130> P 18/180

<150> US 62/736,699
 <151> 2018-09-26

<160> 9

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> from human Fab library

<400> 1

Ser Tyr Ile Met Met
 1 5

[0001] <210> 2
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> from human Fab library

<400> 2

Ser Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Ile Thr Phe Tyr Ala Asp Thr Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 3
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> from human Fab library

<400> 3

Ile Lys Leu Gly Thr Val Thr Thr Val Asp Tyr
 1 5 10

<210> 4
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>

<223> from human Fab library

<400> 4

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
1 5 10

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> from human Fab library

<400> 5

Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 6

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> from human Fab library

<400> 6

Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Arg Val
1 5 10

[0002]

<210> 7

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> from human Fab library

<400> 7

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ile Met Met Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Ile Thr Phe Tyr Ala Asp Thr Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ile Lys Leu Gly Thr Val Thr Thr Val Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

[0003] Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 8
<211> 449
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> from human Fab library

<400> 8

[0004]

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ile Met Met Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Ile Thr Phe Tyr Ala Asp Thr Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ile Lys Leu Gly Thr Val Thr Thr Val Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270

[0005] Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 9
<211> 216
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> from human Fab library

<400> 9

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

[0006]

Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser
85 90 95

Ser Thr Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110

Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys
145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205

[0007]

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

SEQ ID NO: 7 (avelumab的重链序列)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGITF
YADTVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTVTTVDYWGQGLVTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE
LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图1A

SEQ ID NO: 8 (缺少C末端K的avelumab的重链序列)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGITF
YADTVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTVTTVDYWGQGLVTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE
LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

图1B

SEQ ID NO: 9 (avelumab的轻链序列)

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSG
VSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYCYSSYTSSSTRVFVGTGTKVTVLGQPKANPT
VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYA
ASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

图2

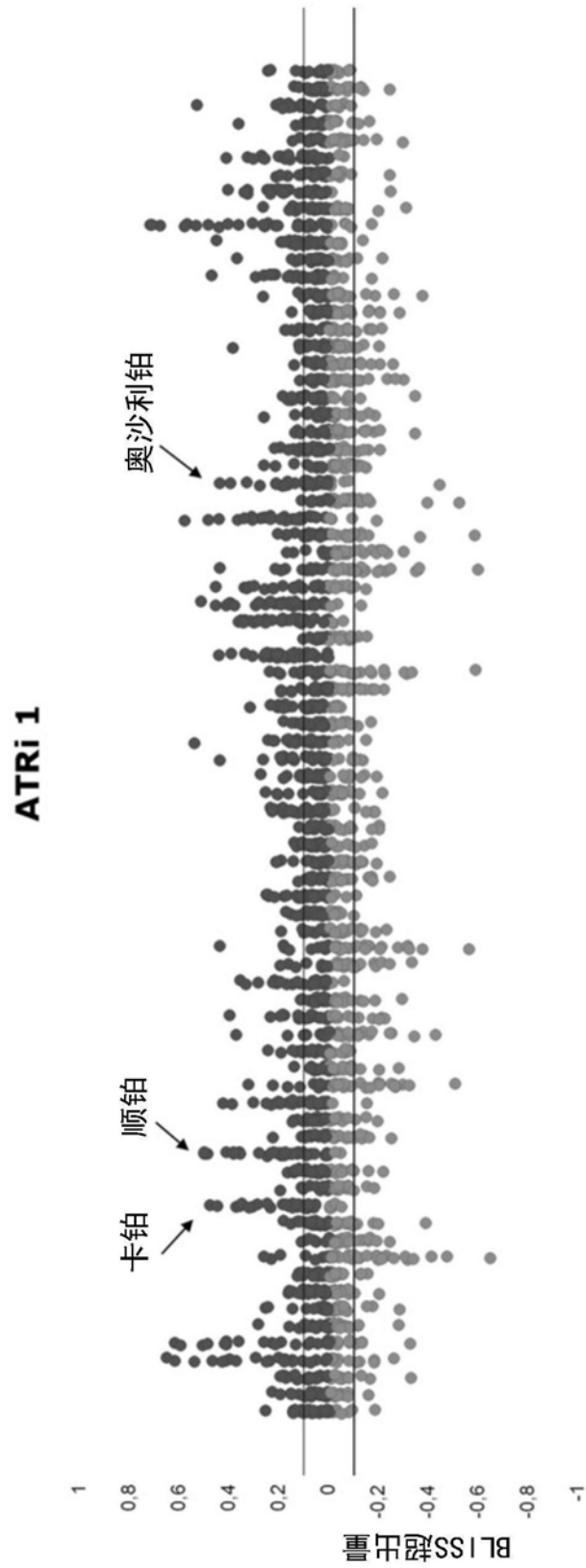


图3A



图3B

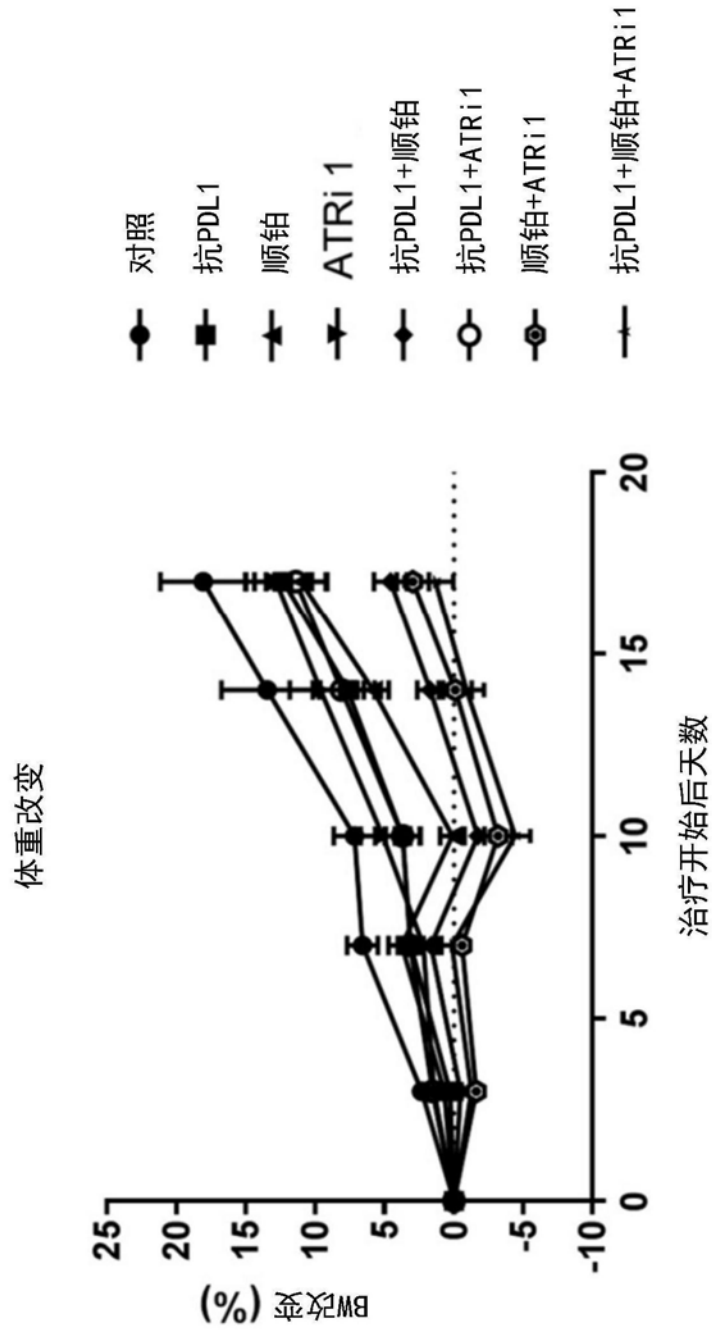


图4

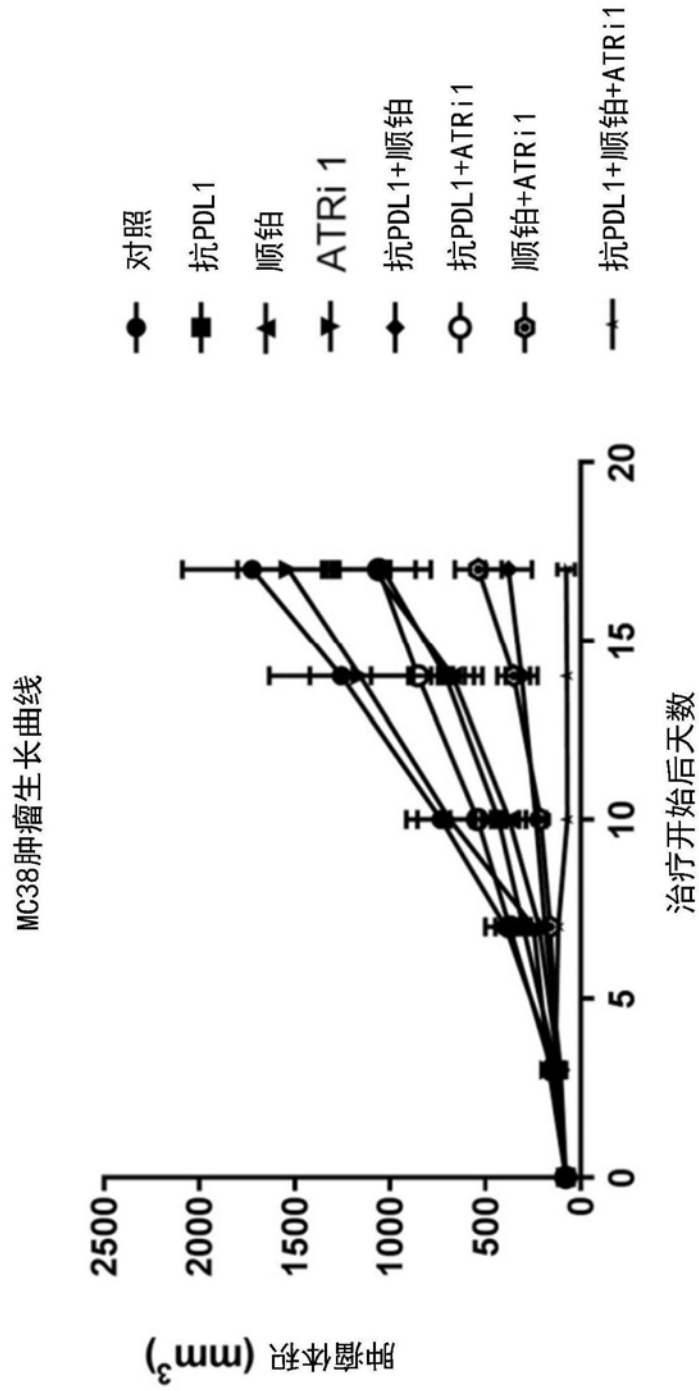


图5

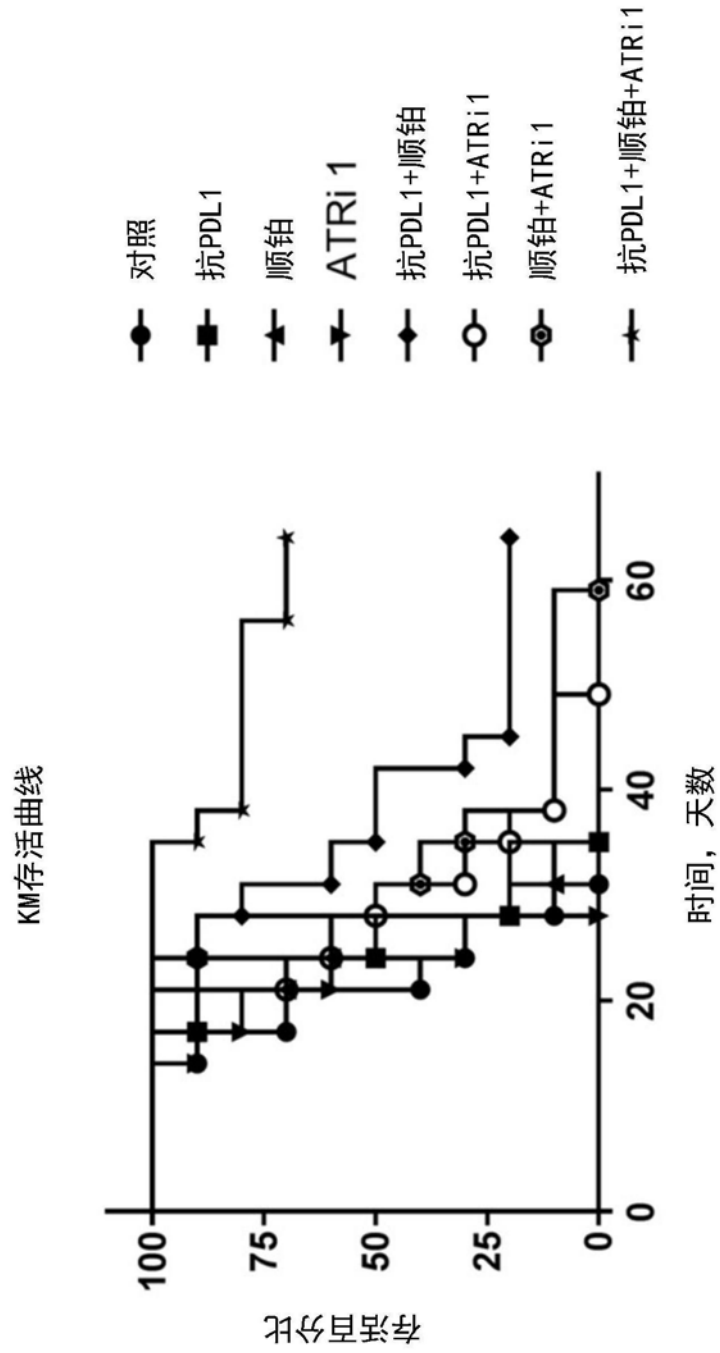


图6

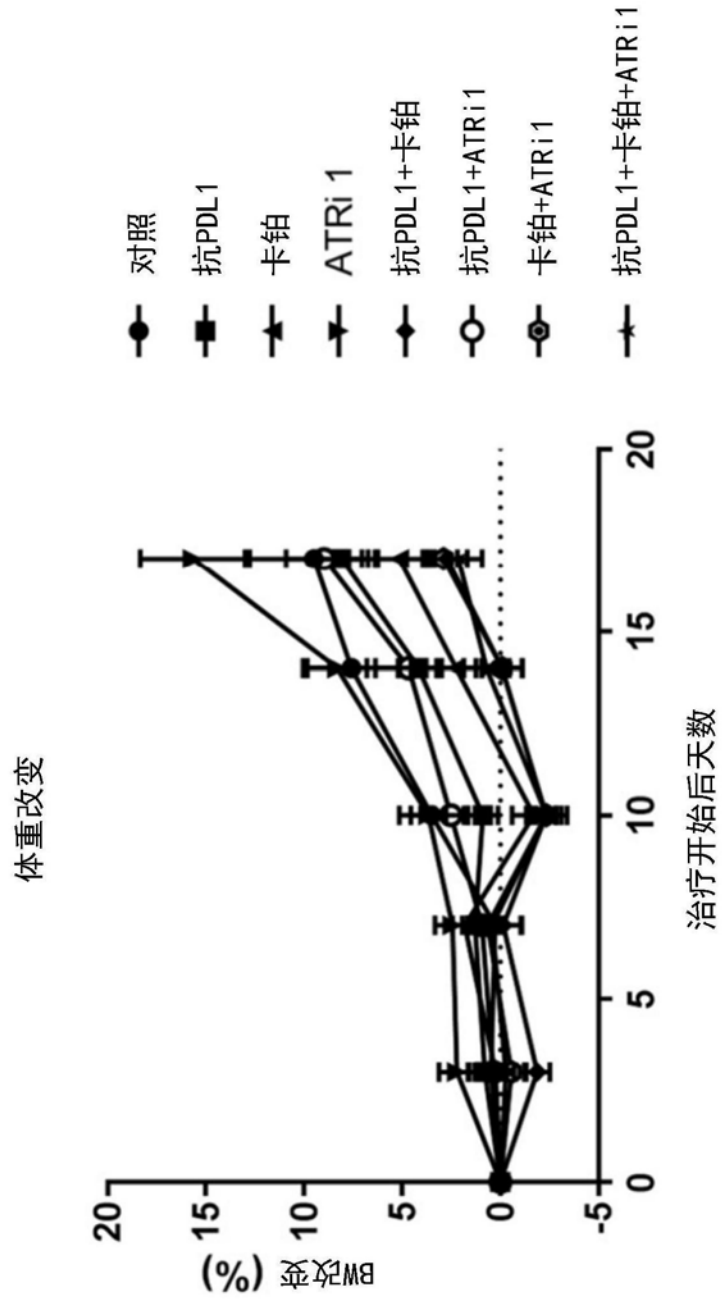


图7

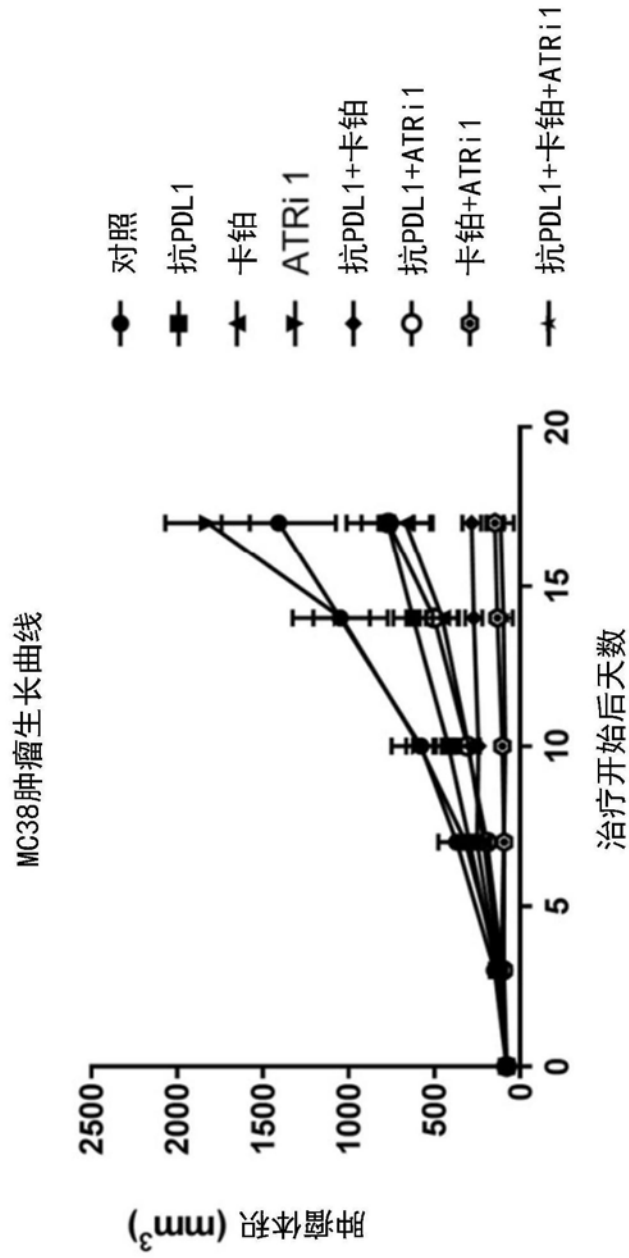


图8

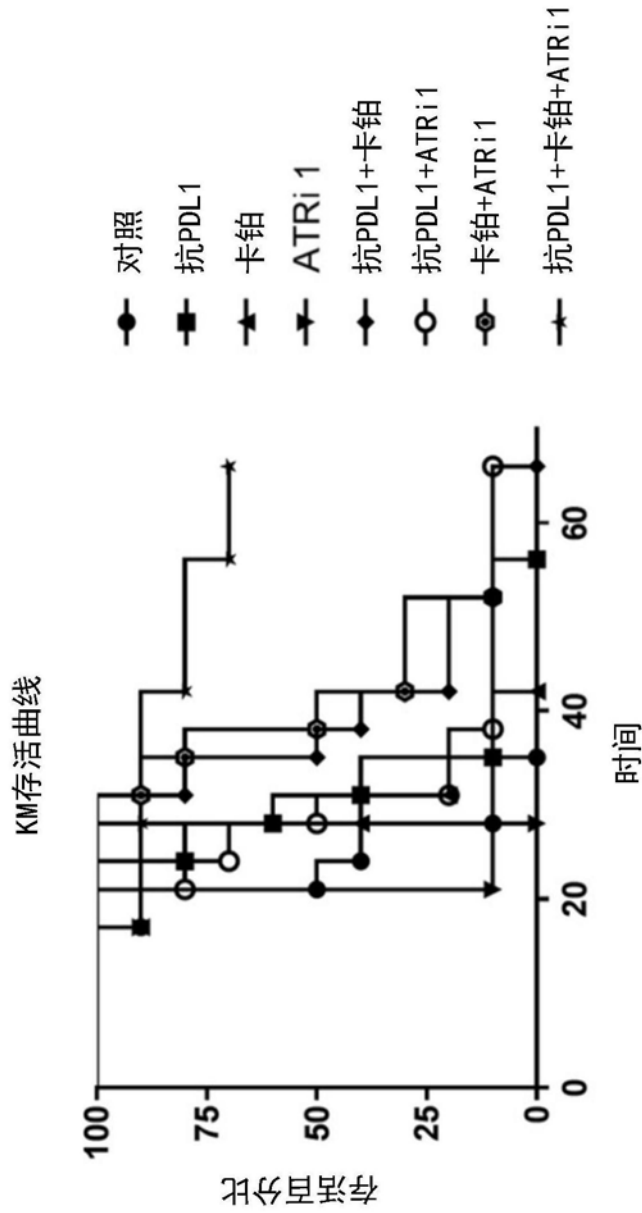


图9

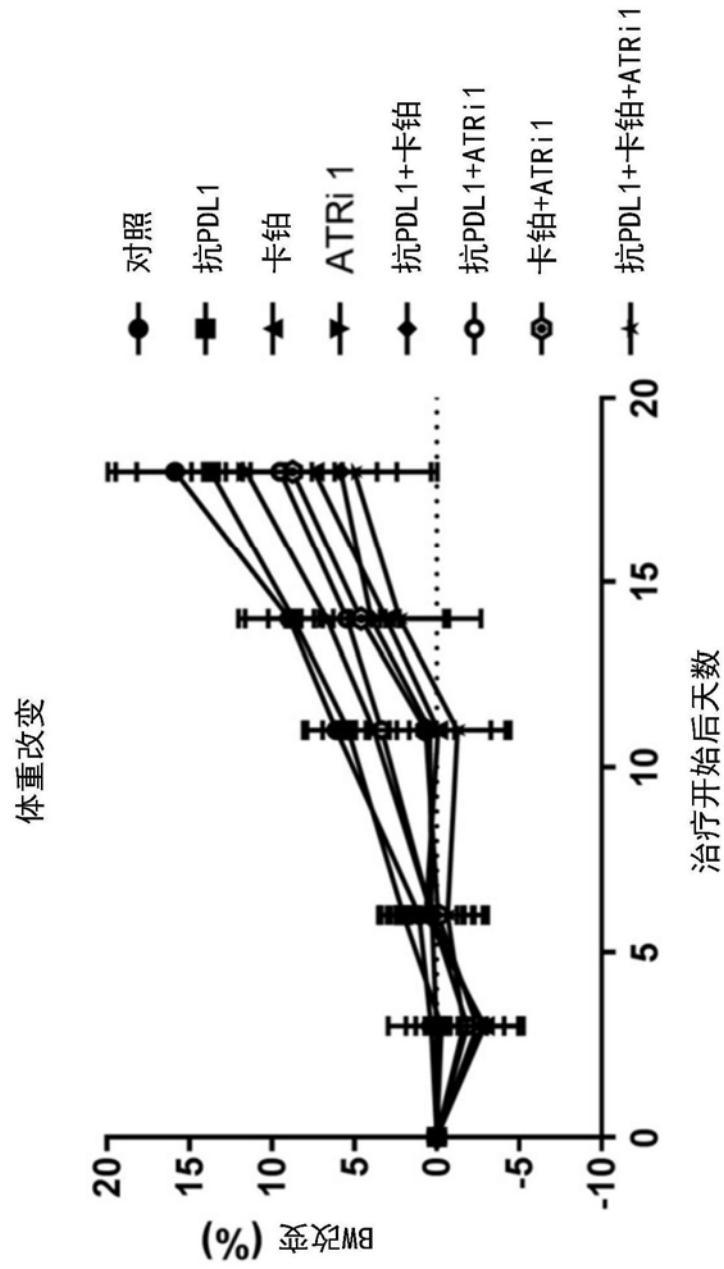


图10

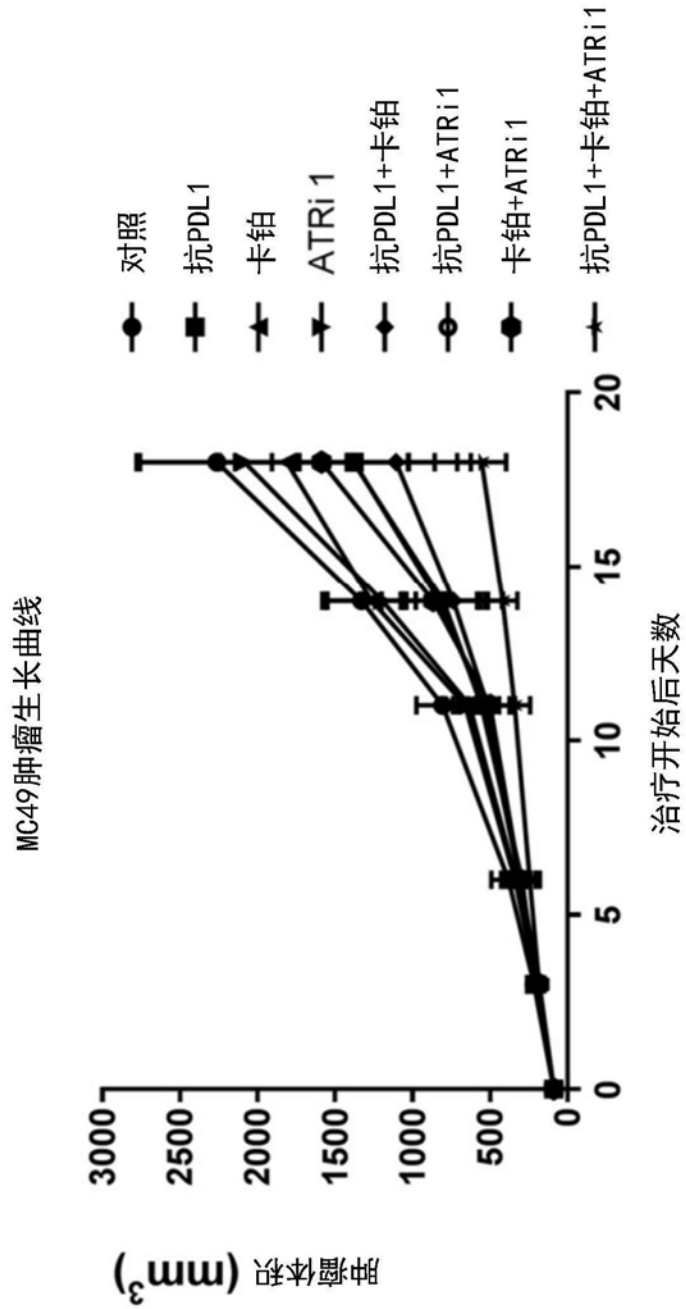


图11

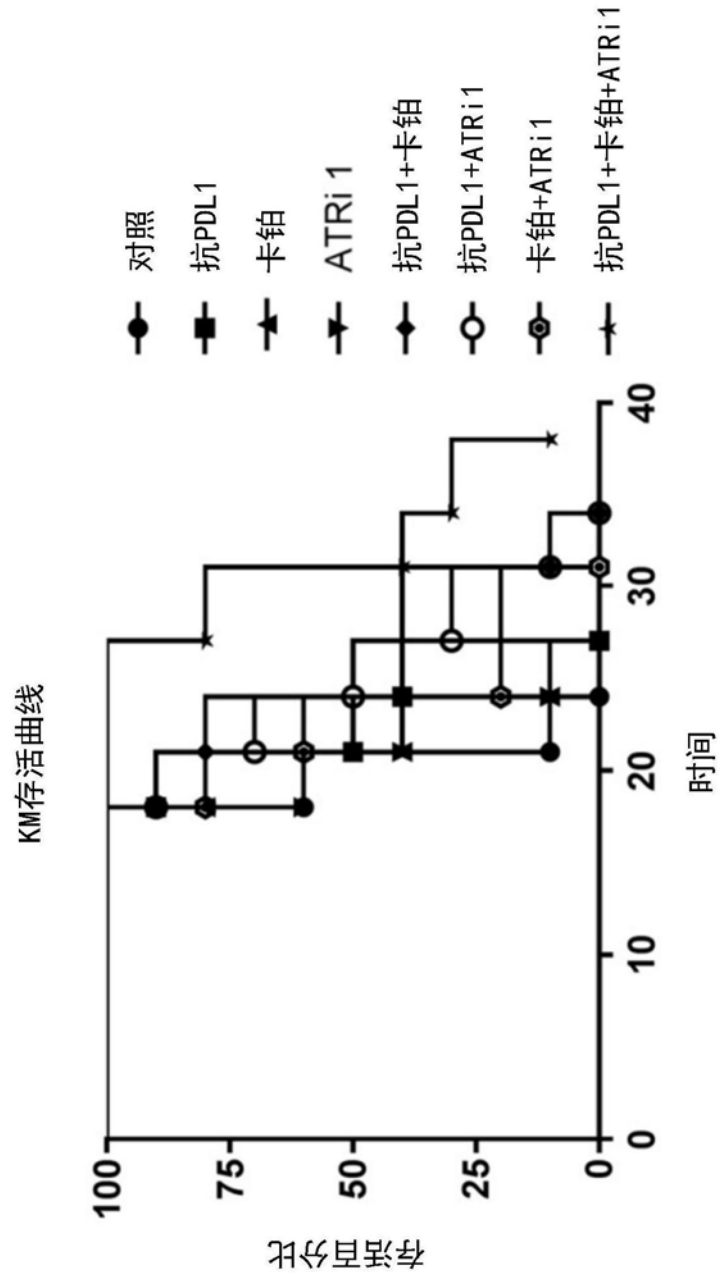


图12

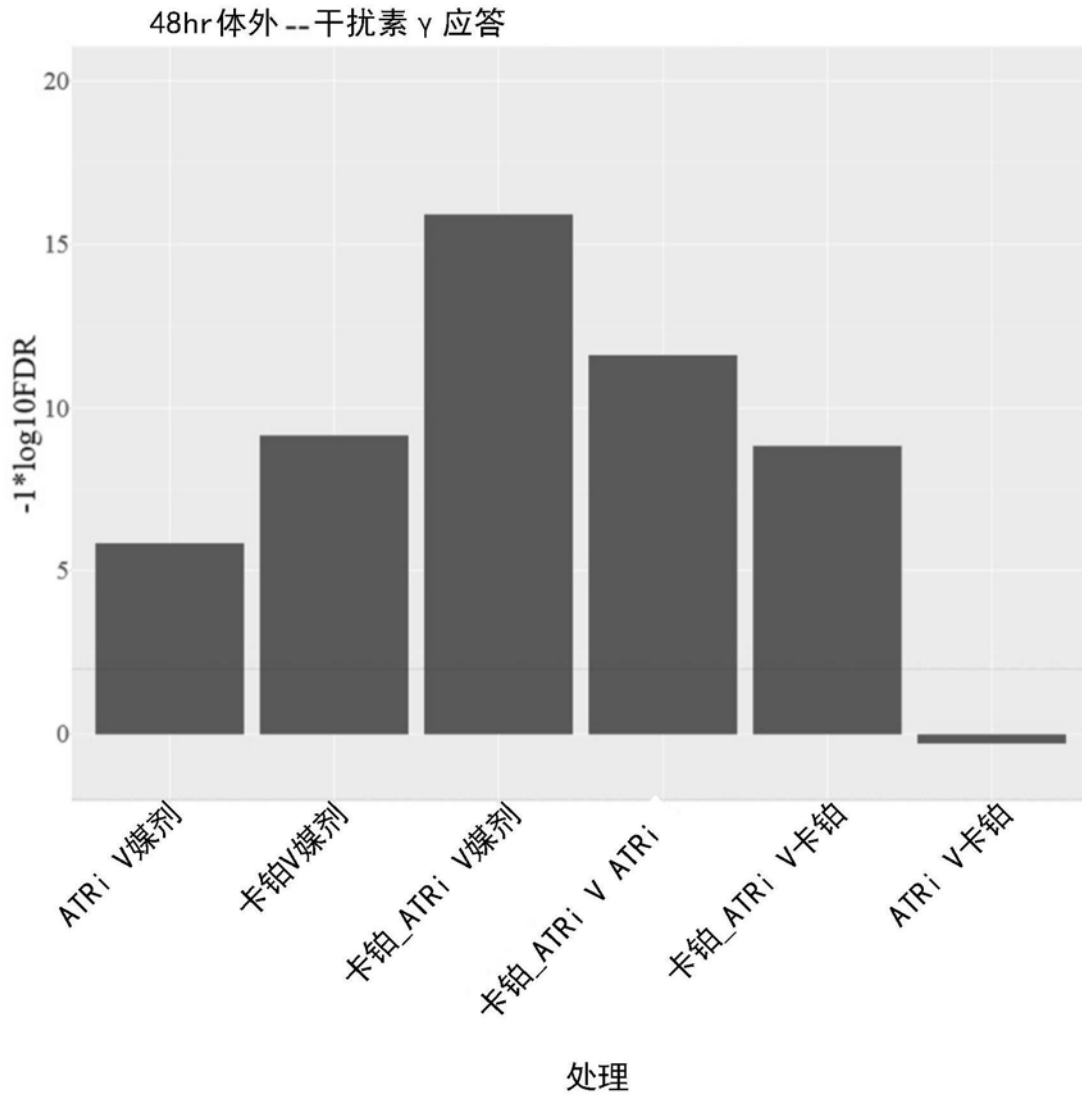


图13a

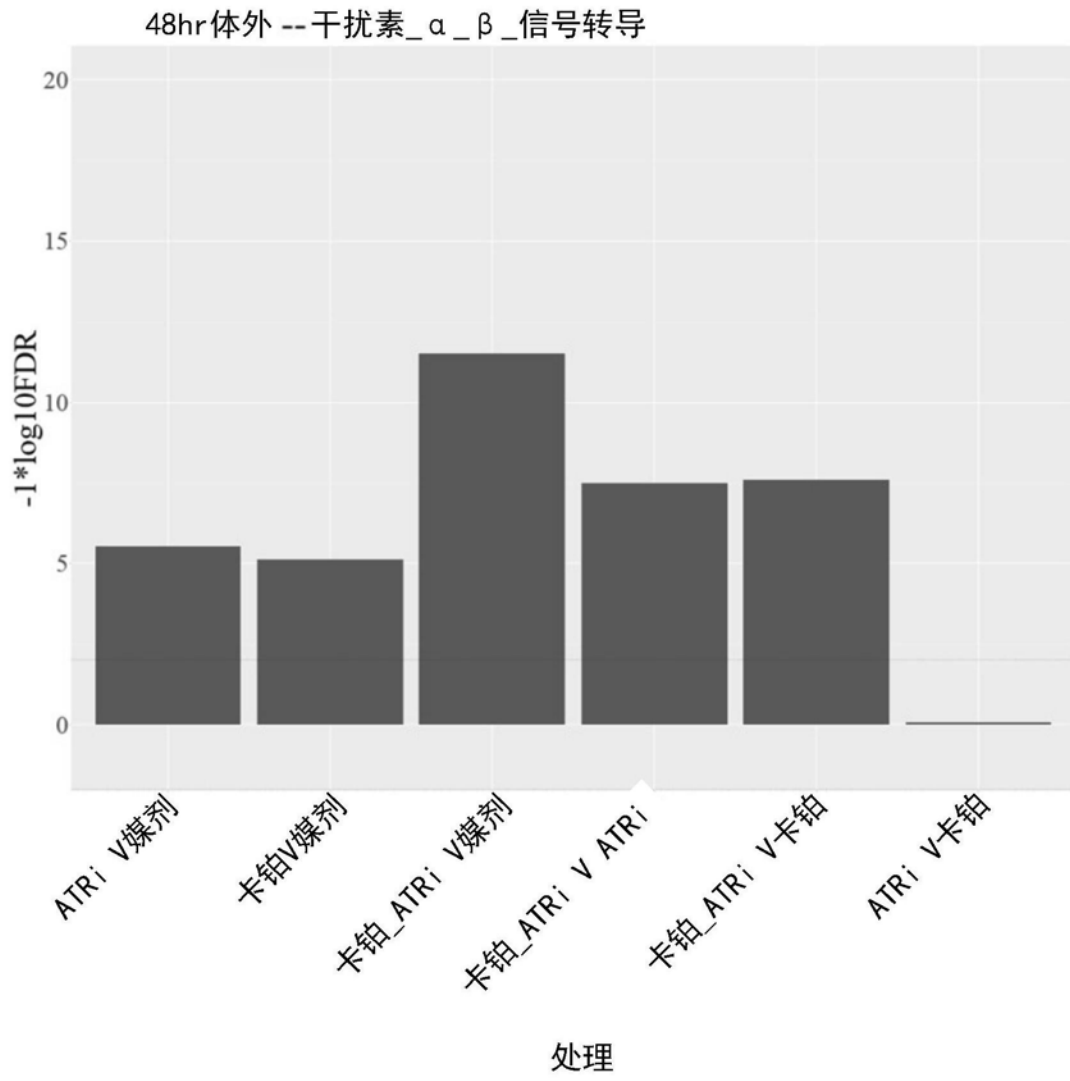


图13b

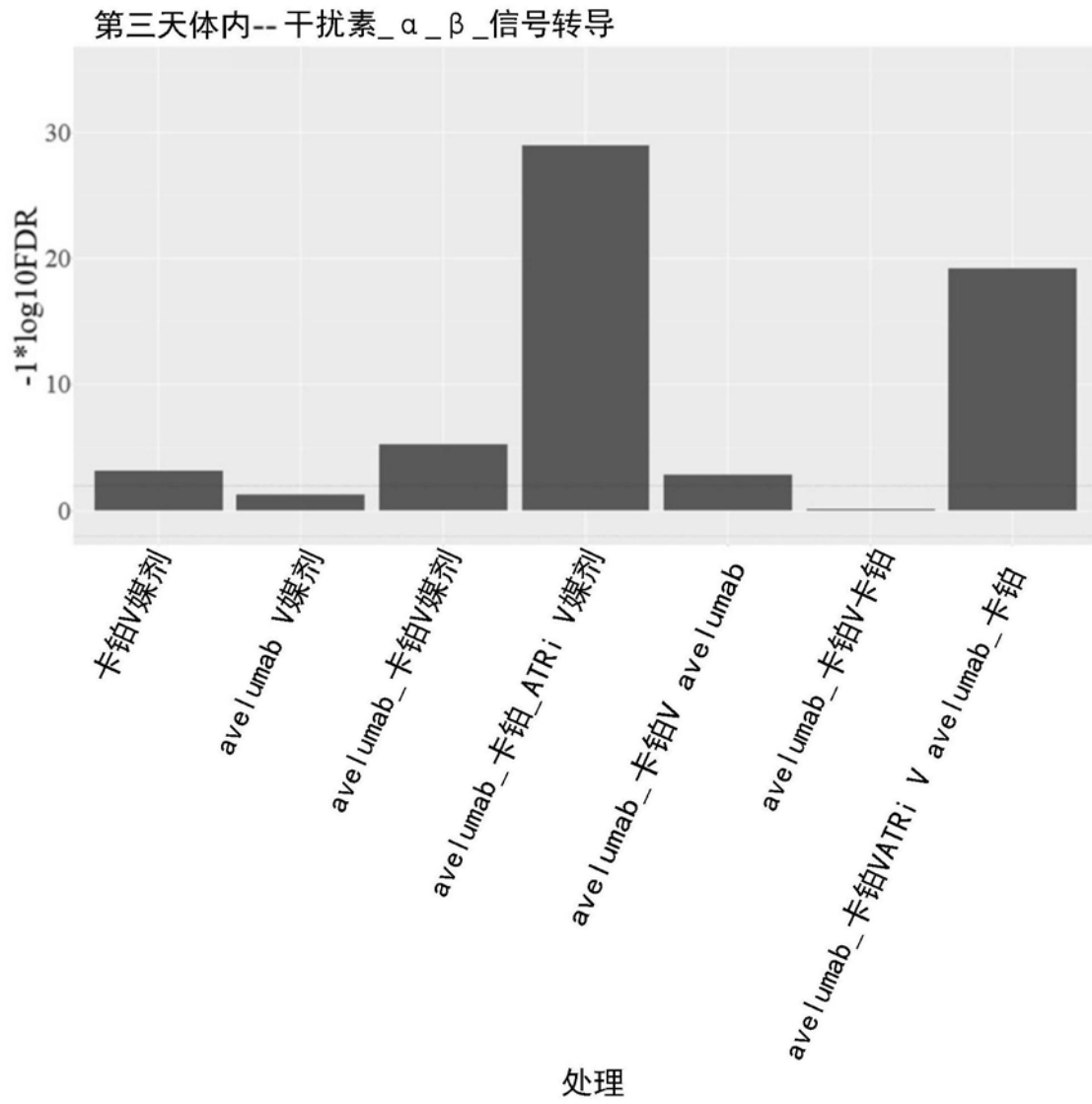


图14a

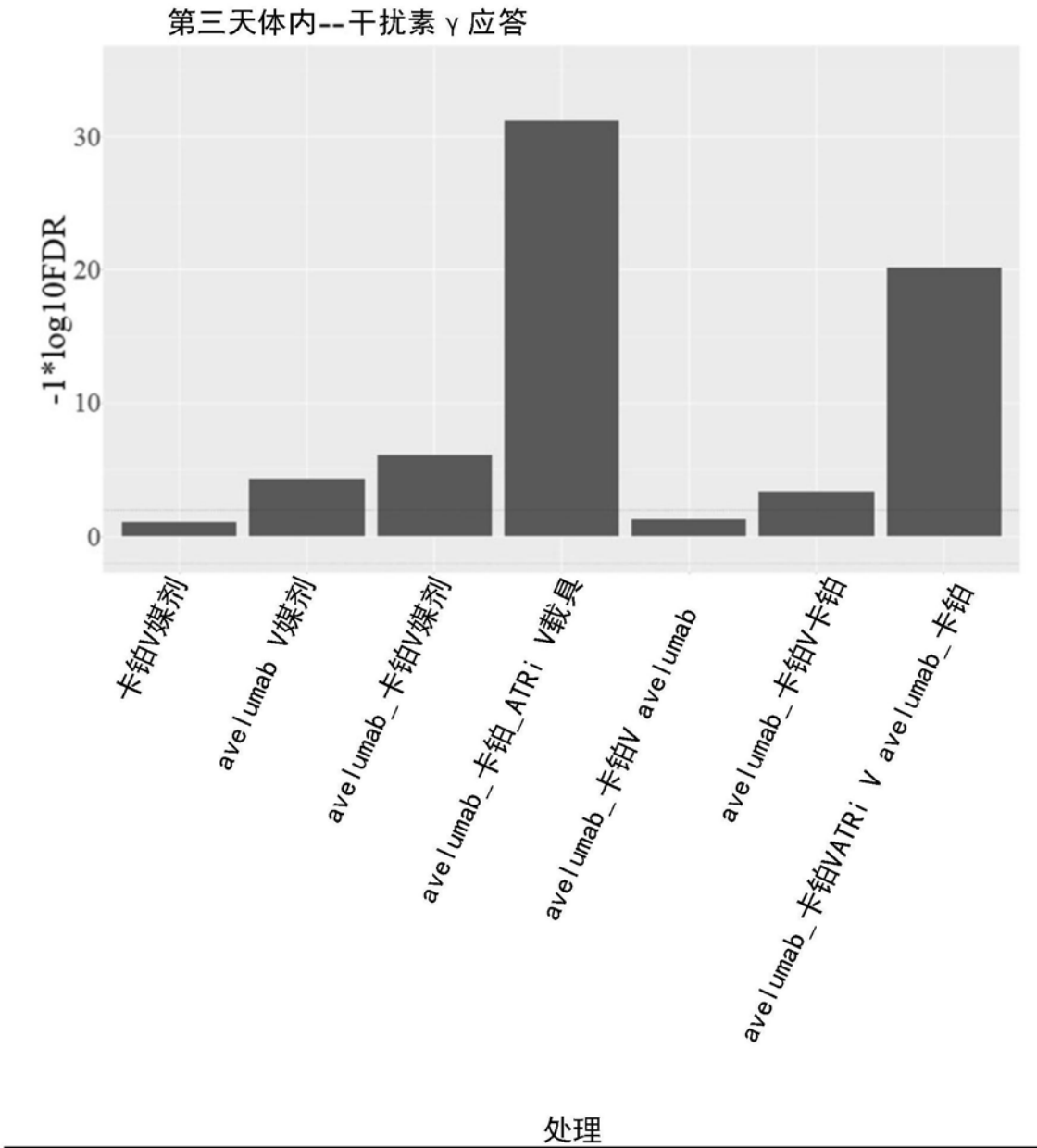


图14b