



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110536702 A

(43)申请公布日 2019.12.03

(21)申请号 201880023110.6

(22)申请日 2018.02.01

(30)优先权数据

62/454113 2017.02.03 US

62/563991 2017.09.27 US

62/587886 2017.11.17 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2019.09.29

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2018/016361 2018.02.01

(87)PCT国际申请的公布数据

W02018/144680 EN 2018.08.09

(71)申请人 人工智能治疗公司

地址 美国康涅狄格州

(72)发明人 N.比哈里 M.赫尔南德斯

S.兰德雷特 T.徐 J.M.罗思伯格

H.利钦斯坦

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

代理人 罗文锋 梅黎

(51)Int.Cl.

A61K 45/06(2006.01)

A61K 31/395(2006.01)

A61K 31/416(2006.01)

A61K 31/437(2006.01)

A61K 31/444(2006.01)

A61K 31/496(2006.01)

A61K 31/52(2006.01)

A61K 31/635(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

A61P 35/02(2006.01)

权利要求书3页 说明书29页 附图17页

(54)发明名称

使用HSP90抑制剂治疗癌症的方法

(57)摘要

本公开还提供与用于治疗癌症的HSP90抑制剂和BCL-2途径抑制剂的组合疗法相关的组合物和方法。本公开还提供同单独和与其他治疗剂组合的“低剂量”HSP90抑制剂在癌症治疗中的用途相关的组合物和方法。

1. 一种用于在需要它的受试者中治疗癌症的方法,所述方法包括给予所述受试者一定量的HSP90抑制剂和BCL-2途径抑制剂,任选地其中所述HSP90抑制剂的量为亚治疗量。

2. 一种包含一定量的HSP90抑制剂和BCL-2途径抑制剂及药学上可接受的载体或赋形剂的用于在需要它的受试者中治疗癌症的药物组合物,任选地其中所述HSP90抑制剂的量为亚治疗量。

3. 一种包含一定量的HSP90抑制剂的药物组合物,其与包含BCL-2途径抑制剂的第二药物组合物组合使用,用于在需要它的受试者中治疗癌症,任选地其中所述HSP90抑制剂的量为亚治疗量。

4. 一种用于在需要它的受试者中治疗癌症的方法,所述方法包括确定所述癌症的生物样品中的BCL-2表达并给予患有癌症的受试者一定量的HSP90抑制剂和BCL-2途径抑制剂,所述癌症特征为基于所述癌症的所述生物样品中的BCL-2表达对BCL-2表达为阳性,任选地其中所述HSP90抑制剂和所述BCL-2途径抑制剂以相同剂型或以不同剂型给予,任选地其中所述HSP90抑制剂的量为亚治疗量。

5. 权利要求1-3中任何一项的方法或组合物,其中所述癌症特征为基于所述癌症的生物样品中的BCL-2表达对BCL-2表达为阳性。

6. 权利要求4或5的方法或组合物,其中特征为BCL-2表达为阳性的所述癌症为其中来自所述癌症的生物样品表达BCL-2的水平为非癌组织的参考样品中的BCL-2表达的至少两倍的癌症。

7. 权利要求6的方法或组合物,其中所述BCL-2表达为蛋白质表达或基因表达。

8. 权利要求1-7中任何一项的方法或组合物,其中所述HSP90抑制剂的亚治疗量低于推荐的2期HSP90抑制剂的剂量的90%、75%、50%或25%。

9. 权利要求1-8中任何一项的方法,其中所述癌症为选自白血病、淋巴瘤和骨髓瘤的造血或淋巴瘤。

10. 权利要求9的方法,其中所述癌症为选自急性成淋巴细胞性白血病(ALL)、急性髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性髓性白血病(CML)和急性单核细胞白血病的白血病。

11. 权利要求10的方法,其中所述癌症为AML。

12. 权利要求9的方法,其中所述癌症为选自霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤的淋巴瘤。

13. 权利要求12的方法,其中所述癌症为非霍奇金B细胞淋巴瘤,优选地选自弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、伯基特淋巴瘤、成淋巴细胞性淋巴瘤和套细胞淋巴瘤,并且最优选地选自弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)和套细胞淋巴瘤。

14. 权利要求9的方法,其中所述癌症为骨髓瘤。

15. 权利要求1-14中任何一项的方法,其中所述HSP90抑制剂选自嘌呤样抑制剂、间苯二酚衍生物、格尔德霉素衍生物、吡唑并吡啶衍生物、二氢吡唑酮衍生物和托烷衍生物。

16. 权利要求15的方法,其中所述HSP90抑制剂选自MPC-0767、AT-13387、坦螺旋霉素、TAS-116、SNX-5422和XL-888及其药学上可接受的盐。

17. 权利要求16的方法,其中所述HSP90抑制剂为MPC-0767或坦螺旋霉素及其药学上可接受的盐。

18. 权利要求1-14中任何一项的方法,其中所述HSP90抑制剂选自HSP-990、CNF-2024、PF0498473、坦螺旋霉素、STA-9090、MPC-3100、CUDC-305、XL-888、TAS-116及其药学上可接受的盐。

19. 权利要求1-14中任何一项的方法,其中所述HSP90抑制剂选自坦螺旋霉素、阿螺旋霉素、IPI-504、AUY922、AT-13387、吉尼替彼、KW-2478、CNF2024、MPC3100、BIIB028、SNX5422、PU-H71、MPC-0767及其药学上可接受的盐。

20. 权利要求1-19中任何一项的方法,其中所述BCL-2途径抑制剂选自ABT-737、AT-101(棉酚)、APG-1252、A1155463、A1210477、纳维克拉、奥巴克拉、塞布妥克、维特克拉、S 55746、WEHI-539、AMG-176、MIK665和S641315。

21. 权利要求20的方法,其中所述BCL-2途径抑制剂为BCL2、BCLXL或MCL1的抑制剂。

22. 权利要求20的方法,其中所述BCL-2途径抑制剂选自AMG-176、MIK665和S641315。

23. 权利要求20的方法,其中所述BCL-2途径抑制剂选自ABT-737、纳维克拉和维特克拉。

24. 权利要求20的方法,其中所述BCL-2途径抑制剂为维特克拉。

25. 一种用于在需要它的受试者中治疗表达BCL-2的造血或淋巴瘤的方法,所述方法包括给予所述受试者一定量的HSP90抑制剂和BCL-2途径抑制剂。

26. 权利要求25的方法,其中所述BCL-2途径抑制剂选自ABT-737、AT-101(棉酚)、APG-1252、A1155463、A1210477、纳维克拉、奥巴克拉、塞布妥克、维特克拉、S 55746、WEHI-539、AMG-176、MIK665和S641315。

27. 权利要求26的方法,其中所述BCL-2途径抑制剂为维特克拉。

28. 权利要求25-27中任何一项的方法,其中所述HSP90抑制剂选自嘌呤样抑制剂、间苯二酚衍生物、格尔德霉素衍生物、吡唑并吡啶衍生物、二氢吡唑酮衍生物和托烷衍生物。

29. 权利要求28的方法,其中所述HSP90抑制剂选自MPC-0767、AT-13387、坦螺旋霉素、TAS-116、SNX-5422和XL-888。

30. 权利要求29的方法,其中所述HSP90抑制剂为MPC-0767或坦螺旋霉素。

31. 权利要求29或30的方法,其中所述HSP90抑制剂的量为亚治疗量。

32. 权利要求25-31中任何一项的方法,其中所述癌症为选自白血病、淋巴瘤和骨髓瘤的造血或淋巴瘤。

33. 权利要求32的方法,其中所述癌症为选自急性成淋巴细胞性白血病(ALL)、急性髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性髓性白血病(CML)和急性单核细胞白血病的白血病。

34. 权利要求33的方法,其中所述癌症为AML。

35. 权利要求32的方法,其中所述癌症为选自霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤的淋巴瘤。

36. 权利要求35的方法,其中所述癌症为非霍奇金B细胞淋巴瘤,优选地选自弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、伯基特淋巴瘤、成淋巴细胞性淋巴瘤和套细胞淋巴瘤,并且最优选地选自弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)和套细胞淋巴瘤。

37. 权利要求32的方法,其中所述癌症为骨髓瘤。

38. 权利要求25-37中任何一项的方法,所述方法进一步包括确定在所述癌症的生物样

品中表达的BCL-2的量。

39. 权利要求1或4-38中任何一项的方法,其中所述受试者为人。

## 使用HSP90抑制剂治疗癌症的方法

### 发明领域

[0001] 本发明涉及HSP90抑制剂用于调节免疫系统以治疗癌症的用途及其与BCL-2抑制剂组合用于治疗癌症的用途。

### [0002] 发明背景

十多年前发现了利用免疫系统有效识别并随后根除肿瘤细胞的方法。只有通过最新一代的检查点抗体,特别是那些靶向程序性细胞死亡蛋白(PD-1)/程序性死亡配体1(PD-L1)的抗体,才有可能转化为临床成功。PD-1为在活化的B细胞、T细胞和髓样细胞上表达的细胞表面抑制性分子。1999年,发现了B7-H1(PD-L1)蛋白(Dong等人,1999),并且显示出其在体外抑制T细胞反应(Dong等人,2002)。随后的研究表明,PD-L1为PD-1的配体,并且PD-1/PD-L1相互作用为抑制T细胞反应的关键介质(Freeman等人,2000)。因此,使用针对PD-1或PD-L1的治疗性抗体恢复T细胞反应(Francisco等人,2009),并且导致改善的临床结果(Brahmer等人,2010)。

[0003] 活化的T细胞分泌干扰素- $\gamma$ 作为其免疫调节功能的一部分,但肿瘤细胞通常可通过上调PD-L1和增加细胞表面表达来拉拢干扰素反应(Dong等人,2002)。PD-L1的增加的表达与T细胞上的PD-1结合并抑制其抗肿瘤(细胞溶解)功能。值得注意的是,有效破坏PD-1/PD-L1相互作用的靶向PD-1或PD-L1的单克隆抗体,已被食品和药物管理局(FDA)批准用于多种适应症。然而,还没有批准也影响这种相互作用的小分子抑制剂。

[0004] 热休克蛋白(HSP)为一类伴侣蛋白,其参与多种细胞过程,比如温度升高、外部应激和营养剥夺。它们作为伴侣蛋白的基本作用是在这种应激下稳定蛋白质,但也促进客户蛋白的正确折叠。HSP内有几种蛋白质成员,包括HSP27、HSP70和HSP90。HSP90为细胞内最丰富的家族成员之一,并且由于包括各种致癌基因(包括BCR-ABL、BRAF、FLT3、JAK2等)在内的其客户蛋白而显著地参与癌症(Shrestha等人,2016)。事实上,HSP90抑制剂已被用于许多临床前研究,以证明肿瘤细胞如何严重依赖于异常的促存活途径以及它们的使用如何导致抑制肿瘤生长。在这种临床前环境中,HSP90抑制剂已在多种癌症中显示出活性,包括乳腺癌、结直肠癌、胃肠癌、白血病、淋巴瘤、黑色素瘤、多发性骨髓瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌和肾癌。

[0005] 已在与各种癌症相关的临床前和早期临床研究中测试了HSP90抑制剂,所述癌症包括乳腺癌、结直肠癌、胃肠癌、白血病、淋巴瘤、黑色素瘤、多发性骨髓瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌和肾癌。在临床试验中研究了至少18种HSP90抑制剂,包括BIIB021、IPI-493、MPC-3100、Debio0932、DS-2248、HSP990、XL888、SNX5422、TAS-116、BIIB028、IPI-504、KW-2478、阿螺旋霉素、坦螺旋霉素(tanespimycin)、AT-13387、AUY922、PU-H71和吉尼替彼(ganetespib)。参见综述Bhat等人, *J. Med. Chem.* 2014 57:8718-8728; Neckers和Workman *Clin. Cancer Res.* 2012, 18, 64。

[0006] 由于每种药物的不同化学性质以及它们如何配制(口服或静脉内),因此没有设定的剂量或时间表用于给予。然而,应用于其他治疗方法(比如化学疗法或靶向剂)的常见范例为在1期试验中以增加的剂量(剂量递增)测试每种药物以确定安全性并最终确定最大耐

受剂量,从而确定推荐的2期剂量(RP2D)。一旦达到,然后在较大的一组患者以确定的RP2D在2期试验中测试药物以确定药物是否有效。

[0007] 相对于已确定的RP2D,HSP90抑制剂是否可在较低剂量下有效,尚未得到解决。尽管已在1、2和3各期临床试验中进行了尝试,但没有HSP90抑制剂已被批准用于临床使用。鉴于依赖于HSP90的客户蛋白的数量和这些蛋白调控的细胞过程的数量,毒性问题仍然是一种可能。因此,所使用的临床剂量尽管具有直接影响肿瘤细胞的倾向,但也可能对免疫系统产生负面影响。这反过来可减轻任何免疫介导的抗肿瘤活性。应该研究努力减少可能对免疫系统产生负面影响的HSP90抑制剂的剂量,同时使用足够的剂量来保留HSP90的抗肿瘤活性,其形成本申请的基础。

[0008] 新出现的证据表明HSP90也可能影响肿瘤免疫。一些非临床研究表明,高HSP90抑制剂剂量可抑制可能对肿瘤清除重要的免疫系统的各种组分(Bae等人, *J. Immunol.* 2007 178: 7730; Bae等人, *J. Immunol.* 2013 190:1360; Tukajet *al.*, *J. Inflammation* 2014 11:10)。另外,许多肿瘤细胞在其表面表达检查点抑制剂蛋白死亡配体1 (PD-L1),其可抑制局部细胞毒性T细胞活性。例如,在患者AML细胞上发现PD-L1表达,其随着疾病进展和在复发期间增加(Salih等人, *Exp. Hematol.* 2006 34:888; Chen等人, *Cancer Biol. Ther.* 2008 7:622; Berthon等人, *Cancer Immunol. Immunother* 2010 59:1839),并且与总体存活较差相关(Brodaska等人, *Blood* 2016 128:5229)。IFN- $\gamma$ 可诱导AML肿瘤细胞上的PD-L1细胞表面表达,已知IFN- $\gamma$ 在免疫活性肿瘤微环境中表达(Berthon *et al.*, *Cancer Immunol. Immunother* 2010 59:1839; Kronig等人, *Eur. J. Hematol.* 2013 92:195)。

[0009] 持续需要用于治疗癌症(包括治疗目前疗法难治的癌症或者治疗之后复发的那些癌症)的改进的治疗和药物组合。本发明使用HSP90抑制剂,并且特别是其与BCL-2途径抑制剂的组合,解决这种需要。

[0010] 发明概述

本公开提供与HSP90抑制剂用于在需要这种治疗的受试者,优选人类受试者中治疗癌症的用途相关的组合物和方法。所述方法通常涉及药物组合物中的低剂量HSP90抑制剂单独或与其他疗法和/或活性剂组合用于治疗癌症的用途。所述方法通常进一步涉及HSP90抑制剂与BCL-2途径抑制剂组合的用途。如下文更详细描述的那样,本文所述的组合物和方法部分地基于以下发现:HSP90抑制剂为作为逃避免疫反应的机制在多种类型的癌细胞中激活的干扰素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )信号转导途径的有效抑制剂。这种先前未报道的HSP90的免疫调节活性发生在相对低的非细胞毒性剂量下。另外,本文所述的组合物和方法部分地基于发现HSP90抑制剂与BCL-2途径抑制剂之间在癌症中的协同活性。

[0011] 本公开提供用于在需要它的受试者中治疗癌症的方法,所述方法包括给予受试者一定量的HSP90抑制剂和BCL-2途径抑制剂,任选地其中HSP90抑制剂的量为亚治疗量。本公开还提供用于治疗癌症的相关药物组合物,包括用于在需要它的受试者中治疗癌症的包含一定量的HSP90抑制剂和BCL-2途径抑制剂及药学上可接受的载体或赋形剂的药物组合物,任选地其中HSP90抑制剂的量为亚治疗量;和包含一定量HSP90抑制剂的药物组合物,其与包含BCL-2途径抑制剂的第二药物组合物组合使用,用于在需要它的受试者中治疗癌症,任选地其中HSP90抑制剂的量为亚治疗量。

[0012] 在实施方案中,本公开还提供用于在需要它的受试者中治疗癌症的方法,所述方法包括确定癌症生物样品中的BCL-2表达并给予患有癌症的受试者一定量的HSP90抑制剂和BCL-2途径抑制剂,所述癌症特征为基于癌症生物样品中的BCL-2表达为阳性,任选地其中HSP90抑制剂和BCL-2途径抑制剂以相同剂型或以不同剂型给予,任选地其中HSP90抑制剂的量为亚治疗量。

[0013] 根据前述方法和用途,癌症可进一步特征为基于癌症生物样品中的BCL-2表达为阳性。在实施方案中,特征为对BCL-2表达为阳性的癌症为其中来自癌症的生物样品表达BCL-2的水平为参考样品(例如非癌细胞或组织的样品)中的BCL-2表达的至少两倍的癌症。根据前述方法,BCL-2表达可为蛋白表达或基因表达。

[0014] 根据前述方法和用途的实施方案,HSP90抑制剂的亚治疗量为推荐的2期HSP90抑制剂的剂量的不到90%、不到75%、不到50%或不到25%。

[0015] 根据前述方法和用途的实施方案,癌症为选自白血病、淋巴瘤和骨髓瘤的造血或淋巴瘤。在实施方案中,癌症为选自急性成淋巴细胞性白血病(ALL)、急性髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性髓性白血病(CML)和急性单核细胞白血病的白血病。在实施方案中,癌症为AML。在实施方案中,癌症为选自霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤的淋巴瘤。在实施方案中,癌症为非霍奇金B细胞淋巴瘤,优选地选自弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、伯基特淋巴瘤、成淋巴细胞性淋巴瘤和套细胞淋巴瘤,并且最优选地选自弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)和套细胞淋巴瘤。在实施方案中,癌症为骨髓瘤。

[0016] 根据前述方法和用途的实施方案,HSP90抑制剂选自嘌呤样抑制剂、间苯二酚衍生物、格尔德霉素衍生物、吡唑并吡啶衍生物、二氢吡唑酮衍生物和托烷衍生物。在实施方案中,HSP90抑制剂选自MPC-0767、AT-13387、坦螺旋霉素、TAS-116、SNX-5422和XL-888及其药学上可接受的盐。在实施方案中,HSP90抑制剂为MPC-0767或坦螺旋霉素及其药学上可接受的盐。在实施方案中,HSP90抑制剂选自HSP-990、CNF-2024、PF0498473、坦螺旋霉素、STA-9090、MPC-3100、CUDC-305、XL-888、TAS-116及其药学上可接受的盐。在实施方案中,HSP90抑制剂选自:坦螺旋霉素、阿螺旋霉素、IPI-504、AUY922、AT-13387、吉尼替彼、KW-2478、CNF2024、MPC3100、BIIB028、SNX5422、PU-H71、MPC-0767及其药学上可接受的盐。

[0017] 根据前述方法和用途的实施方案,BCL-2途径抑制剂选自ABT-737、AT-101(棉酚)、APG-1252、A1155463、A1210477、纳维克拉(navitoclax)、奥巴克拉(obatoclax)、塞布妥克(sabutoclax)、维特克拉(venetoclax)、S 55746、WEHI-539、AMG-176、MIK665和S641315。在实施方案中,BCL-2途径抑制剂为BCL2、BCLXL或MCL1的抑制剂。在实施方案中,BCL-2途径抑制剂选自AMG-176、MIK665和S641315。在实施方案中,BCL-2途径抑制剂选自ABT-737、纳维克拉和维特克拉。在实施方案中,BCL-2途径抑制剂为维特克拉。

[0018] 本公开还提供用于在需要它的受试者中治疗表达BCL-2的造血或淋巴瘤的方法,所述方法包括给予受试者一定量的HSP90抑制剂和BCL-2途径抑制剂。在实施方案中,BCL-2途径抑制剂选自ABT-737、AT-101(棉酚)、APG-1252、A1155463、A1210477、纳维克拉、奥巴克拉、塞布妥克、维特克拉、S 55746、WEHI-539、AMG-176、MIK665和S641315。在实施方案中,BCL-2途径抑制剂为维特克拉。在实施方案中,HSP90抑制剂选自嘌呤样抑制剂、间苯二酚衍生物、格尔德霉素衍生物、吡唑并吡啶衍生物、二氢吡唑酮衍生物和托烷衍生物。在实施方案中,HSP90抑制剂选自MPC-0767、AT-13387、坦螺旋霉素、TAS-116、SNX-5422和XL-888。在

实施方案中,HSP90抑制剂为MPC-0767或坦螺旋霉素。

[0019] 在用于治疗表达BCL-2的造血或淋巴瘤的方法的进一步实施方案中,HSP90抑制剂的量为亚治疗量。

[0020] 在用于治疗表达BCL-2的造血或淋巴瘤的方法的进一步实施方案中,癌症为选自白血病、淋巴瘤和骨髓瘤的造血或淋巴瘤。在实施方案中,癌症为选自急性成淋巴细胞性白血病(ALL)、急性髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性髓性白血病(CML)和急性单核细胞白血病的白血病。在实施方案中,癌症为AML。在实施方案中,癌症为选自霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤的淋巴瘤。在实施方案中,癌症为非霍奇金B细胞淋巴瘤,优选地选自弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、伯基特淋巴瘤、成淋巴细胞性淋巴瘤和套细胞淋巴瘤,并且最优选地选自弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)和套细胞淋巴瘤。在实施方案中,癌症为骨髓瘤。

[0021] 在用于治疗表达BCL-2的造血或淋巴瘤的方法的进一步实施方案中,所述方法包括确定在癌症生物样品中表达的BCL-2的量。

[0022] 根据任何前述方法和用途,受试者可为人。

[0023] 在进一步的实施方案中,本公开提供包含HSP90抑制剂和药学上可接受的载体或赋形剂的用于在需要它的受试者中治疗癌症的药物组合物,其中所述组合物包含低于推荐的2期HSP90抑制剂的剂量的75%的量的HSP90抑制剂。

[0024] 在实施方案中,本公开提供用于在需要它的受试者中治疗癌症的方法,所述方法包括给予受试者包含一定量的HSP90抑制剂和药学上可接受的载体或赋形剂的药物组合物,其中HSP90抑制剂的量为推荐的2期HSP90抑制剂的剂量的不到90%或不到75%。在实施方案中,HSP90抑制剂的治疗有效量为有效抑制受试者癌细胞中的IFN- $\gamma$ 信号传导的量。

[0025] 在本文所述的组合物和方法的实施方案中,HSP90抑制剂的量为推荐的2期HSP90抑制剂的剂量的不到50%或不到25%。在实施方案中,HSP90抑制剂选自HSP-990、CNF-2024、PF0498473、坦螺旋霉素、STA-9090、MPC-3100、CUDC-305、XL-888、TAS-116及其药学上可接受的盐。在实施方案中,HSP90抑制剂选自坦螺旋霉素、阿螺旋霉素、IPI-504、AUY922、AT13387、吉尼替彼、KW-2478、CNF2024、MPC3100、BIIB028、SNX5422、PU-H71、MPC-0767及其药学上可接受的盐。

[0026] 在本文所述的组合物和方法的实施方案中,药物组合物包含第二活性药物成分(API)。在实施方案中,第二API选自HDAC抑制剂、ImiD、抗VEGFR抗体、DNA甲基化抑制剂、类固醇激素(拮抗)激动剂、代谢酶抑制剂、蛋白酶体抑制剂、抗CD20抗体、腺苷受体2A拮抗剂、toll受体(拮抗剂(激动剂)和免疫刺激性细胞因子。在实施方案中,第二API选自顺铂、多西他赛、吉西他滨、卡铂、紫杉醇(paclitaxel)、培美曲塞、依托泊苷、表柔比星、多柔比星、环磷酰胺、ddAC、依维莫司、帕比司他(panobinostat)、依西美坦(exemestane)、来曲唑、地西他滨、恩沙替尼(ensartinib)、abemacicib、美雷替尼(merestinib)、吉非替尼(mocetinostat)、氮杂胞苷、etinostat、莫托莫德(motolimod)、依鲁替尼(ibrutinib)、来那度胺、艾代拉里斯(idelalisib)、恩杂鲁胺(enzalutamide)、奥拉帕尼(olaparib)、泼尼松、地塞米松、长春氟宁、伏立诺他(vorinostat)、galunisertib、苯达莫司汀、奥沙利铂、甲酰四氢叶酸(leucovorin)、瓜德希他滨(guadecitabine)、达帕菲尼(dabrafenib)、曲美替尼(trametinib)、维罗非尼(vemurafenib)、达卡巴嗪、阿帕替尼(apatinib)、泊马度胺



(pomalidomide)、卡非佐米(carfilzomib)、索拉非尼、5-氟尿嘧啶、CB-839、CB-1158、GDC-0919、LXH254、AZD4635、AZD9150、PLX3397、LCL161、PBF-509、贝伐珠单抗(bevacizumab)、Sym004、雷莫芦单抗(ramucirumab)、伊匹单抗(ipilimumab)、曲妥珠单抗、替西木单抗(tremelimumab)、奥滨尤妥珠单抗(obinutuzumab)、B-701、乌托米单抗(utumilumab)、利妥昔单抗、贝伐珠单抗、白细胞介素2、NKTR-214、得尼考新(denenicokin)、聚乙二醇化干扰素2A、R07009789、MEDI9447、MK-1248、LY2510924、ARRY-382、MEDI0562、LAG525；NIS793、利丽单抗(lirilumab)、瓦利鲁单抗(varlilumab)、GWN323；JTX-2011；Galunisertib；TSR-022；BMS-986016、雷莫芦单抗(ramucirumab)、乌瑞芦单抗(urelumab)、BMS-986016、REGN3767。

[0027] 在本文所述的组合物和方法的实施方案中，组合物中的第二API选自蛋白激酶抑制剂、PD-1/PDL-1抑制剂、检查点抑制剂、铂基抗肿瘤剂、拓扑异构酶抑制剂、核苷代谢抑制剂、烷化剂、嵌入剂(intercalating agent)、微管蛋白结合剂、DNA修复抑制剂及其组合。在实施方案中，组合物中的第二API为PD-1/PD-L1抑制剂。在实施方案中，PD-1/PD-L1抑制剂选自纳武单抗(nivolumab)、派姆单抗(pembrolizumab)、AMP-514/MEDI-0680、阿特殊单抗(atezolizumab)、德瓦鲁单抗(durvalumab)、阿维鲁单抗(avelumab)、BMS936559、AMP-224、BGB-A317、SHR-1210和JTX-4014。在实施方案中，PD-1/PD-L1抑制剂的量低于推荐的2期PD-1/PD-L1抑制剂的剂量的75%。

[0028] 在本文所述的组合物和方法的实施方案中，组合物中的第二API为CTLA-4抑制剂。在实施方案中，CTLA-4抑制剂选自替西木单抗和伊匹单抗。在实施方案中，组合物中的第二API为检查点抑制剂。在实施方案中，检查点抑制剂选自抗CD27抗体、抗B7-H3抗体、抗KIR抗体、抗LAG-3抗体、抗TIM3抗体、抗OX40抗体、抗4-1BB/CD137抗体、抗CD40抗体、抗TRX518抗体、抗CD73抗体和抗GITR抗体。在实施方案中，检查点抑制剂选自瓦利鲁单抗、MGA217、利丽单抗、BMS-986016、乌瑞芦单抗、MEDI-0562、SEA-CD40、TRX518和MK-4166。在实施方案中，组合物中的第二API为选自以下的DNA修复抑制剂：奥拉帕尼、瑞卡帕布(rucaparib)、尼拉帕尼(niraparib)、他拉唑帕尼(talazoparib)、维利帕尼(veliparib)、CEP-9722和CEP-8983。

[0029] 在本文所述的组合物和方法的实施方案中，癌症选自脑癌、神经胶质瘤、肉瘤、乳腺癌、肺癌、非小细胞肺癌、间皮瘤、阑尾癌、泌尿生殖系统癌症、肾细胞癌、前列腺癌、膀胱癌、睾丸癌、阴茎癌、宫颈癌、卵巢癌、头颈癌、胃肠癌、肝细胞癌、胆囊癌、食管癌、胃癌、结直肠癌、胰腺癌、神经内分泌肿瘤、甲状腺肿瘤、垂体肿瘤、肾上腺肿瘤、T细胞淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、多发性骨髓瘤、B细胞淋巴瘤、白血病和霍奇金淋巴瘤。在实施方案中，癌症选自黑素瘤、霍奇金淋巴瘤、非小细胞肺癌、膀胱癌、非霍奇金淋巴瘤、白血病、T细胞淋巴瘤和肾细胞癌。

[0030] 在本文所述的组合物和方法的实施方案中，癌症选自己显示对PD-1/PD-L1疗法具有临床敏感性的癌症或者利用PD-1/PD-L1途径逃避宿主免疫系统的癌症。在实施方案中，癌症选自黑素瘤、霍奇金淋巴瘤、非小细胞肺癌、膀胱癌、非霍奇金淋巴瘤、白血病、T细胞淋巴瘤和肾细胞癌。

[0031] 在本文所述的组合物和方法的实施方案中，药物组合物包含有效抑制受试者癌细胞中的干扰素- $\gamma$ 信号转导的量的HSP90抑制剂。

[0032] 在实施方案中，受试者为人。

[0033] 在实施方案中，药物组合物适于口服或含服给予。在实施方案中，药物组合物适于

胃肠外给予。

[0034] 附图简述

图1. 在原始筛选中测试的HSP90抑制剂的验证剂量反应曲线。图1A:CNF2024;图1B:PF04928473;图1C:坦螺旋霉素;图1D:HSP-990。用IFN- $\gamma$ 和不同浓度的所示HSP90抑制剂处理SK-MEL-28细胞。在IFN- $\gamma$ 和/或HSP90抑制剂处理之后48小时测定细胞的细胞生存力(方形,左轴为%生存力)和PD-L1表达(圆形,右轴为Z-分数)。一式四份的孔用于测定细胞生存力和PD-L1表达。绘制平均值。插图显示来自用媒介物、媒介物+ IFN- $\gamma$ 、单独的所示HSP90抑制剂或IFN- $\gamma$ +所示HSP90抑制剂处理的SK-MEL-28细胞的蛋白质印迹数据。裂解物用抗PD-L1抗体探测。

[0035] 图2. 另外5种HSP90抑制剂的剂量反应曲线。图2A:STA-9090,图2B:CUDC-305,图2C:MPC-3100,图2D:XL-888和图2E:TAS-116。用IFN- $\gamma$  (50 ng/ml)和用不同浓度的所示HSP90抑制剂处理SK-MEL-28细胞。在IFN- $\gamma$ 和/或HSP抑制剂处理之后48小时测定细胞的细胞生存力(方形,左轴为%生存力)和PD-L1表达(圆形,右轴为Z-分数)。一式四份的孔用于测定细胞生存力和PD-L1表达。绘制平均值。

[0036] 图3. HSP90抑制剂MPC-3100对IFN- $\gamma$ 诱导的PD-L1蛋白表达的影响。用单独的IFN- $\gamma$ 处理或者用鲁索替尼(ruxolitinib) (5000 nM)或MPC-3100 (10-5000 nM)共处理48小时的人HCC-38细胞通过蛋白质印迹分析进行分析,以确定PD-L1的蛋白表达水平。鲁索替尼用作抑制JAK2的阳性对照。 $\beta$ -肌动蛋白用作上样对照。

[0037] 图4. HSP90抑制剂MPC-3100对IFN- $\gamma$ 诱导的PD-L1表面信号的影响。图4A. SK-MEL-28和HCC-38(两者为人类细胞系)用IFN- $\gamma$  (50 ng/ml)、MPC-3100 (500 nM或1000 nM)或组合处理48小时。图4B. EMT-6和B16-F10(两者为鼠细胞系)也用IFN- $\gamma$ 、MPC-3100或组合处理24小时。PD-L1细胞表面信号通过流式细胞术进行分析。实验一式两份进行,并且至少2次独立进行。

[0038] 图5. 用单独的IFN- $\gamma$ 处理或者用鲁索替尼(5000 nM)或MPC-3100 (10-5000 nM)共处理的HCC-38细胞通过蛋白质印迹进行分析以确定HSP70和pSTAT1的蛋白表达水平。 $\beta$ -肌动蛋白用作上样对照。

[0039] 图6. HSP90抑制剂MPC-3100对IFN- $\gamma$ 诱导的IDO蛋白水平的影响。人HCC-38细胞用单独的IFN- $\gamma$ 处理或者用鲁索替尼(5000 nM)或MPC-3100 (100、1000或5000 nM)共处理48小时。裂解物通过蛋白质印迹进行分析以确定IDO的蛋白表达水平。

[0040] 图7. HSP90抑制剂MPC-3100对PD-L1蛋白水平的影响。U87细胞用MPC-3100 (500和1000 nM)处理24小时,并通过蛋白质印迹用所示抗体进行分析。 $\beta$ -肌动蛋白用作上样对照。

[0041] 图8. 跨越HSP90抑制剂I期试验的每剂量组的稳定疾病比率。

[0042] 图9. 跨越HSP90抑制剂I期试验的每剂量组的反应率。

[0043] 图10. 跨越在I期试验中分析的所有HSP90药物以不同% RP2D治疗的具有稳定疾病或临床反应的患者。

[0044] 图11A-F. 用维特克拉与每种以下HSP90抑制剂:A) MPC-0767、B) AT13387、C) 坦螺旋霉素、D) SNX5422、E) XL-888、F) TAS-116的组合处理72小时的代表以下4种不同适应症的EC75细胞系的标准化等效线图:急性髓样白血病(MV-4-11)、弥漫性大B细胞淋巴瘤

(OCI-LY-19)、套细胞淋巴瘤(Z138)和多发性骨髓瘤(KMS-28)。使用CellTiter-Glo评价细胞生存力。每个数据点为每个细胞系的2次独立实验的平均值。虚线表示“可加性线”，藉此线下方的药物组合代表协同相互作用。

[0045] 图12. 测定代表急性髓样白血病、多发性骨髓瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤和套细胞淋巴瘤的细胞系的BCL-2的基础丰度(Y轴),并用虚线显示高/低阈值。如通过CellTiter-Glo评价的72小时处理之后细胞系对维特克拉的敏感性(X轴)通过括号中所示的EC50值表示。在MPC-0767和维特克拉的药物组合处理后,通过黑色(观察到协同作用)或灰色(未观察到协同作用)的条形图显示协同作用的确定。

[0046] 图13A-D:MPC-0767阻断AML细胞中IFN- $\gamma$ 诱导的PD-L1表达。A) PL-21、B) TUR、C) MOLM-14、D) MV-4-11细胞用MPC-0767 (2  $\mu$ M)、IFN- $\gamma$  (50 ng/ml)或IFN- $\gamma$  + MPC-0767处理24小时,之后收获细胞以评价PD-L1细胞表面表达。

[0047] 详述

已证明利用免疫系统在许多癌症中具有临床功效。通过脱离T细胞和肿瘤细胞之间PD-1/PD-L1的抑制性相互作用,检查点抗体疗法已经改变了如何治疗多种癌症的范例。在实施方案中,本公开提供用于在需要它的受试者中治疗或预防癌症的组合物和方法,其中癌症利用PD-1/PD-L1途径来逃避宿主免疫系统。所述方法包括给予受试者有效量的单独或与第二活性药物物质(API)(比如检查点抑制剂)组合的HSP90抑制剂。本文所述的组合物和方法部分地基于发现HSP90抑制剂在低的非细胞毒性剂量下有效阻断肿瘤细胞的干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )信号转导反应。肿瘤细胞利用IFN- $\gamma$ 信号传导诱导PD-L1,这是逃避宿主免疫反应的机制。因此,在实施方案中,本文所述的组合物和方法利用HSP90抑制剂的这种性质来为癌症疗法提供新的治疗和治疗方案。在实施方案中,提供与HSP90抑制剂用于在需要这种治疗的受试者,优选人类受试者中治疗癌症的用途相关的组合物和方法。本公开通常涉及HSP90抑制剂以比先前预期有效的剂量更低的剂量治疗癌症的用途。例如,剂量为推荐的2期HSP90抑制剂的剂量(“RP2D”)的不到90%,或者推荐的2期HSP90抑制剂的剂量的不到75%、或不到50%、或不到25%。在本公开的上下文中,这种剂量也可称为HSP90抑制剂的“亚治疗”剂量,因为它们低于当HSP90抑制剂在癌症治疗中作为单一疗法给予时从先前2期研究中预期治疗有效的剂量。在实施方案中,HSP90抑制剂的“亚治疗剂量”是指在该抑制剂的RP2D的0-25%、25-50%、50-75%或75-90%范围内的剂量。

[0048] 另外,本公开提供同HSP90抑制剂通常与BCL-2信号传导途径抑制剂的协同抗癌活性相关的组合物和方法。如下文更详细描述,6种不同结构类型的HSP90抑制剂(根据分子骨架定义)与BCL-2抑制剂维特克拉协同作用以抑制造血和淋巴瘤中的细胞生存力。另外,癌细胞中的BCL-2表达水平与组合的抗癌活性相关。因此,本公开还提供与基于这些物质的协同抗癌活性的含HSP90抑制剂和BCL-2途径抑制剂的组合疗法相关的组合物和方法,包括通过评价癌细胞的BCL-2表达鉴定可能得益于该组合疗法的癌症的方法。

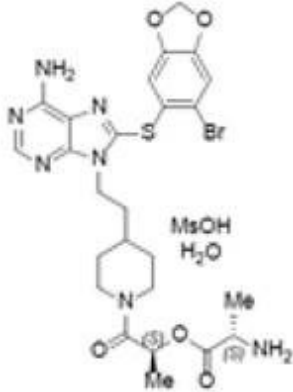
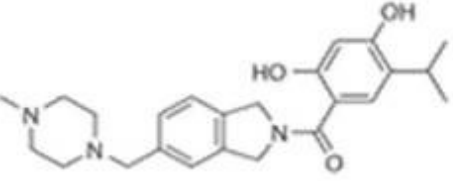
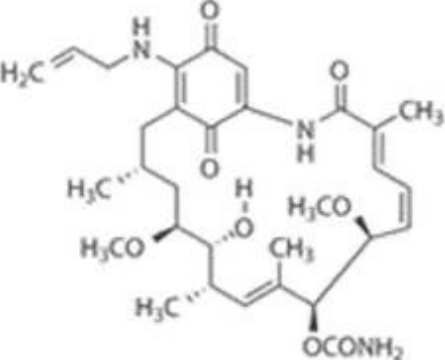
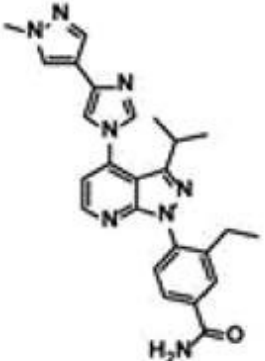
[0049] HSP90抑制剂

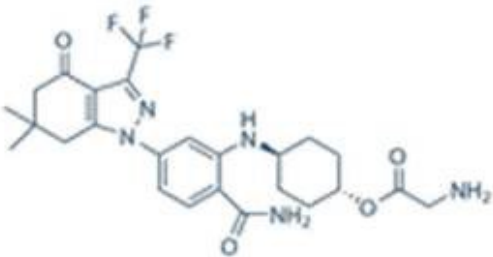
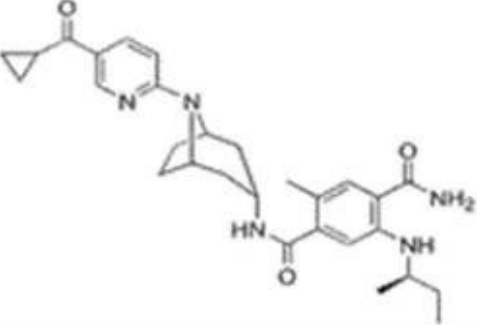
根据本文所述的方法和组合物,HSP90抑制剂可为HSP90的任何抑制剂,例如消除HSP90的ATP酶活性的任何抑制剂。在实施方案中,HSP90抑制剂选自嘌呤样抑制剂(比如MPC-0767)、间苯二酚衍生物(比如AT-13387)、格尔德霉素衍生物(比如坦螺旋霉素)、吡唑并吡啶衍生物(比如TAS-116)、二氢吡唑酮衍生物(比如SNX-5422)和托烷衍生物(比如XL-888)。

以下表1显示这些结构类别的HSP90抑制剂中每一种的代表的化学结构。

[0050] 因此,在实施方案中,HSP90抑制剂可选自AT-13387、AUY922、BIIB028、CNF-2024、CUDC-305、吉尼替彼、HSP-990、IPI-504、KW-2478、MPC-0767、MPC-3100、PF0498473、PU-H71、STA-9090、SNX-5422、TAS-116、XL-888、坦螺旋霉素、阿螺旋霉素及其药学上可接受的盐。

[0051] 表1:六种化学类别中每一种的代表性HSP90抑制剂

HSP90 抑制剂	类别	结构
MPC-0767	嘌呤样	 <p>The structure of MPC-0767 features a purine ring system with an amino group at the 6-position. The 2-position of the purine is linked via a sulfur atom to a 2-bromo-5-(1,3-dioxol-2-yl)phenyl group. The 9-position of the purine is connected to a piperidine ring, which is further substituted with a methyl group and a chiral auxiliary group. The auxiliary group is a chiral auxiliary consisting of a methyl group, a methanesulfonyl (Ms) group, and a methyl group, with stereochemistry indicated by (S) and (R) labels.</p>
AT-13387	间苯二酚衍生物	 <p>The structure of AT-13387 is a derivative of resorcinol. It consists of a central benzene ring with two hydroxyl groups at the 1 and 3 positions. This benzene ring is linked to a piperazine ring via a methylene group. The piperazine ring is also linked to a benzimidazole ring system, which is further substituted with a methyl group and a methylamino group.</p>
坦螺旋霉素	格尔德霉素衍生物	 <p>The structure of Tanshinone is a complex polycyclic molecule. It features a central naphthalene-like core with multiple fused rings. The structure is highly substituted with various functional groups, including methyl groups, methoxy groups, and an amide group. The stereochemistry is indicated with wedged and dashed bonds.</p>
TAS-116	吡唑并吡啶衍生物	 <p>The structure of TAS-116 is a derivative of a pyrazolo[1,5-a]pyridine. It features a fused pyrazole and pyridine ring system. The pyridine ring is substituted with a methyl group and a methylamino group. The pyrazole ring is substituted with a methyl group and a methylamino group. The structure is highly substituted with various functional groups, including methyl groups, methoxy groups, and an amide group.</p>

SNX-5422	二氮唑啉酮衍生物	
XL-888	托烷衍生物	

### 方法

本公开提供基于利用HSP90抑制剂和BCL-2途径抑制剂的组合疗法的癌症治疗的独特治疗方法。与本文所述的含HSP90抑制剂和BCL-2途径抑制剂的组合疗法相关的组合物和方法利用本文所述的这两类治疗剂的协同抗癌活性。还提供鉴定患者用于用HSP90抑制剂和BCL-2途径抑制剂的组合进行的靶向治疗的相关方法。在实施方案中，所述方法包括测量、确定或测定来自患者的癌症活检或生物样品或癌症中的BCL-2表达。BCL-2表达可为蛋白表达或基因表达，并且可根据本领域已知的常规方法测量。例如，可通过包括定量逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)的方法测量基因表达。BCL-2蛋白表达可通过包括例如基于抗体的检测方法的方法测量，所述基于抗体的检测方法例如包括免疫组织化学、免疫细胞化学、酶联免疫吸附测定(ELISA)和流式细胞术的那些方法。

[0052] 本公开还提供用“低剂量”或“亚治疗剂量”的HSP90抑制剂治疗癌症的方法，所述方法基于发明人的以下发现：这种量的HSP90抑制剂有效抑制被多种类型的癌症利用以逃避宿主免疫反应的INF  $\gamma$  信号传导途径。因此，在实施方案中，根据本文所述的方法通过“低剂量”或“亚治疗剂量”的HSP90抑制剂治疗的癌症的特征为其利用PD-1/PD-L1途径来逃避宿主免疫系统。这种癌症的非限制性实例包括黑色素瘤、霍奇金淋巴瘤、非小细胞肺癌、膀胱癌、非霍奇金淋巴瘤、白血病、T细胞淋巴瘤和肾细胞癌。

[0053] 另外，本公开提供基于利用“低剂量”或“亚治疗剂量”的HSP90抑制剂和至少一种另外的治疗剂的组合疗法的癌症治疗的独特治疗方法。在实施方案中，本文所述的组合疗法利用本文所述的HSP90抑制剂的独特免疫调节活性，其在亚治疗剂量的HSP90抑制剂下实现，并且预期当在癌症治疗中与其他治疗剂组合时提供协同效应。

[0054] 本公开考虑用HSP90抑制剂治疗癌症的单一疗法和组合疗法两者。以下讨论组合疗法。在单一疗法的情况下，在实施方案中，HSP90抑制剂以“低剂量”或“亚治疗剂量”给予，

“低剂量”或“亚治疗剂量”的特征为HSP90抑制剂的量低于推荐的2期HSP90抑制剂的剂量的约75%。术语“低剂量”和“亚治疗剂量”在提及用于本文所述方法的HSP90抑制剂的量时在本文可互换使用。

[0055] 在本文所述的方法的实施方案中,需要治疗的受试者可为患有表达BCL-2的癌症,优选以包含非癌细胞或组织的参照样品的至少两倍高表达BCL-2的癌症的受试者。

[0056] 在本文所述的方法的实施方案中,需要治疗的受试者可为患有利用PD-1/PD-L1途径以逃避宿主免疫系统的癌症的受试者。

[0057] 在本文所述的方法的实施方案中,需要治疗的受试者可为患有对用“护理标准”或一线治疗剂进行的治疗无反应或难治或在所述治疗之后已复发的癌症的受试者。在本上下文中,术语“无反应”和“难治的”可互换使用,并且将受试者对治疗的反应称为临床上不足的,例如以稳定或减少一种或多种实体肿瘤的大小、减缓肿瘤进展、预防、减少或降低新肿瘤转移的发生率、或者减轻与癌症相关的一种或多种症状。对特定药物治疗难治的癌症也可描述为耐药性癌症。在针对癌症的标准疗法中,难治性癌症包括尽管积极治疗仍在进展中的疾病,而“复发”癌症包括在没有任何现有疗法的情况下进展,但在成功的初始治疗后的癌症。因此,在实施方案中,受试者为已经历一种或多种先前的使用一种或多种“护理标准”治疗剂进行的治疗方案的受试者。在这种情况下,受试者的癌症可认为是难治的或复发的。

[0058] 根据本文所述的方法,“受试者”包括哺乳动物。哺乳动物可为例如任何哺乳动物,例如人、灵长类动物、小鼠、大鼠、狗、猫、牛、马、山羊、骆驼、绵羊或猪。优选地,受试者为人。术语“患者”是指人类受试者。

[0059] 在实施方案中,根据本文所述的方法治疗的癌症选自脑癌、神经胶质瘤、肉瘤、乳腺癌、肺癌、非小细胞肺癌、间皮瘤、阑尾癌、泌尿生殖系统癌症、肾细胞癌、前列腺癌、膀胱癌、睾丸癌、阴茎癌、宫颈癌、卵巢癌、头颈癌、胃肠癌、肝细胞癌、胆囊癌、食管癌、胃癌、结肠直肠癌、胰腺癌、神经内分泌肿瘤、甲状腺肿瘤、垂体肿瘤、肾上腺肿瘤、T细胞淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、多发性骨髓瘤、B细胞淋巴瘤、白血病和霍奇金淋巴瘤。

[0060] 在实施方案中,癌症选自表达BCL-2的癌症,优选以参考非癌组织至少两倍高表达BCL-2的癌症。

[0061] 在实施方案中,癌症为选自白血病、淋巴瘤和骨髓瘤的造血或淋巴癌。在实施方案中,癌症为选自急性成淋巴细胞性白血病(ALL)、急性髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性髓性白血病(CML)和急性单核细胞白血病的白血病。在实施方案中,癌症为AML。在实施方案中,癌症为选自霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤的淋巴瘤。在实施方案中,癌症为非霍奇金B细胞淋巴瘤,优选地选自弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、伯基特淋巴瘤、成淋巴细胞性淋巴瘤和套细胞淋巴瘤,并且最优选地选自弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)和套细胞淋巴瘤。在实施方案中,癌症为骨髓瘤。

[0062] 本文使用的“组合疗法”或“协同疗法”包括给予治疗有效量的HSP90抑制剂作为治疗方案的一部分,所述治疗方案旨在由HSP90抑制剂和至少一种另外的“活性药物成分”(“API”)的共同作用提供有益效果。“组合疗法”并非旨在包括给予两种或更多种治疗化合物作为单独的单一治疗方案的一部分,所述单一治疗方案偶然和任意地产生无意或没有预测到的有益效果。

[0063] 优选地,给予本文所讨论的包含HSP90抑制剂与一种或多种另外的API (比如BCL-2途径抑制剂) 的组合物在所治疗的受试者提供协同反应。在本上下文中,术语“协同”是指组合的效力比任一单独的单一疗法的加性效应更加有效。本公开的组合疗法的协同效应可允许使用与其在组合外的剂量和/或频率相比较,较低剂量(例如本文所述的低剂量的HSP90抑制剂)和/或较低频率给予组合中的至少一种物质。组合的另外有益效果可表现在避免或减少与单独使用组合中的任一疗法(也称为单一疗法)相关的不良或不需要的副作用。

[0064] 在组合疗法的情况下,HSP90抑制剂组合物的给予可与一种或多种另外的活性剂(比如BCL-2途径抑制剂)的给予同时或依序进行。在另一个实施方案中,组合疗法的不同组分的给予可以不同的频率进行。

[0065] 可配制另外的API以在单一剂型中与HSP90抑制剂组合物共同给予。另外的API也可与包含HSP90抑制剂的剂型分开给予。当另外的活性剂与HSP90抑制剂分开给予时,其可通过相同或不同的给予途径,和/或在相同或不同的时间给予。

[0066] 在实施方案中,至少一种另外的API可为BCL-2途径抑制剂、蛋白激酶抑制剂、PD-1/PDL-1抑制剂、检查点抑制剂、铂基抗肿瘤剂、拓扑异构酶抑制剂、核苷代谢抑制剂、烷化剂、嵌入剂、微管蛋白结合剂、DNA修复抑制剂及其组合。在实施方案中,至少一种另外的API为BCL-2途径抑制剂或PD-1/PD-L1抑制剂。在实施方案中,亚治疗量的HSP90抑制剂与BCL-2途径抑制剂或PD-1/PD-L1抑制剂一起给予。

[0067] 在实施方案中,至少一种另外的API为PD-1/PD-L1抑制剂。在实施方案中,PD-1/PD-L1抑制剂选自AMP-224、AMP-514/MEDI-0680、阿特珠单抗(MPDL3280A)、阿维鲁单抗(MSB0010718C)、BGB-A317、BMS936559、赛米单抗(cemiplimab)(REGN2810)、德瓦鲁单抗(MEDI-4736)、JTX-4014、纳武单抗(BMS-936558)、派姆单抗(Keytruda, MK-3475)、GLS-010和SHR-1210。

[0068] 在实施方案中,至少一种另外的API为BCL-2途径抑制剂。在实施方案中,BCL-2途径抑制剂选自ABT-737、AT-101(棉酚)、APG-1252、A1155463、A1210477、纳维克拉、奥巴克拉、塞布妥克、维特克拉、S 55746和WEHI-539。在实施方案中,BCL-2途径抑制剂为BCL2、BCLXL或MCL1的抑制剂。在实施方案中,BCL-2途径抑制剂选自AMG-176、MIK665和S641315。在实施方案中,BCL-2途径抑制剂选自ABT-737、纳维克拉和维特克拉。在实施方案中,BCL-2途径抑制剂为维特克拉。

[0069] 在实施方案中,至少一种另外的API为CTLA-4抑制剂。在实施方案中,CTLA-4抑制剂选自替西木单抗和伊匹单抗。

[0070] 在实施方案中,至少一种另外的API为检查点抑制剂。用这些化合物治疗通过靶向用作免疫反应的检查和平衡的分子来起作用。通过阻断这些抑制性分子或者激活刺激性分子,这些治疗旨在释放或增强预先存在的抗癌免疫反应。在实施方案中,检查点抑制剂可选自抗体,比如抗CD27抗体、抗B7-H3抗体、抗KIR抗体、抗LAG-3抗体、抗-4-1BB/CD137抗体、抗GITR抗体(例如TRX518、MK-4166)、派姆单抗(Keytruda™, PD-1抗体)、MPDL3280A(PD-L1抗体)、瓦利鲁单抗(CDX-1127, 抗CD27抗体)、MGA217(靶向B7-H3的抗体)、利丽单抗(KIR抗体)、BMS-986016(LAG-3抗体)、乌瑞芦单抗(4-1BB/CD137抗体)、抗TIM3抗体、MEDI-0562(OX40抗体)、SEA-CD40(抗CD40抗体)、替西木单抗(抗CTLA4抗体)、抗OX40抗体和抗



CD73抗体。在实施方案中,检查点抑制剂选自CD73的小分子抑制剂(如例如*Cancer Immunol Res* 2016; 4 (11 Suppl): Abstract nr PR10中所述)。在实施方案中,检查点抑制剂选自瓦利鲁单抗、MGA217、利丽单抗、BMS-986016、乌瑞芦单抗、MEDI-0562、SEA-CD40、TRX518或MK-4166。在实施方案中,至少一种另外的API为DNA修复抑制剂。在实施方案中,DNA修复抑制剂选自奥拉帕尼、瑞卡帕布、尼拉帕尼、他拉唑帕尼、维利帕尼、CEP-9722和CEP-8983。

[0071] 在实施方案中,至少一种另外的API为选自奥拉帕尼、瑞卡帕布、尼拉帕尼、他拉唑帕尼、维利帕尼、CEP-9722和CEP-8983的DNA修复抑制剂。

[0072] 在实施方案中,至少一种另外的API为VEGF抑制剂。在实施方案中,VEGF抑制剂选自舒尼替尼、帕唑帕尼(pazopanib)、贝伐珠单抗、索拉非尼、卡博替尼(cabozantinib)和阿西替尼(axitinib)。

[0073] 在实施方案中,至少一种另外的API选自ddAC、帕比司他、依西美坦、来曲唑、恩沙替尼(ensartinib)、美雷替尼、mocetinostat、etinostat、莫托莫德、依鲁替尼、来那度胺、艾达拉里斯、恩杂鲁胺、泼尼松、地塞米松、长春氟宁、伏立诺他、galunisertib、苯达莫司汀、奥沙利铂、甲酰四氢叶酸、瓜德希他滨、曲美替尼、维罗非尼、达卡巴嗪、阿帕替尼、泊马度胺、卡非佐米、索拉非尼、5-氟尿嘧啶、CB-839、CB-1158、GDC-0919、LXH254、AZD4635、AZD9150、PLX3397、LCL161、PBF-509、Sym004、曲妥珠单抗、奥滨尤妥珠单抗、B-701、乌托米单抗、利妥昔单抗、NKTR-214、聚乙二醇化干扰素2A、R07009789、MEDI9447、MK-1248、LY2510924、ARRY-382、MEDI0562、LAG525、NIS793、GWN323、JTX-2011、TSR-022和REGN3767。

[0074] 在实施方案中,至少一种另外的API针对靶向疗法,其中治疗靶向癌症的特定基因、蛋白或有助于癌症生长和存活的组织环境。这种类型的治疗阻止癌细胞的生长和扩散,同时限制对健康细胞的损害。在实施方案中,至少一种另外的API针对抗血管生成疗法,其中治疗集中于停止血管生成,血管生成为制造新血管的过程。由于肿瘤需要通过血管传递的营养物来生长和扩散,抗血管生成疗法的目标为“饿死”肿瘤。已显示一种抗血管生成药物贝伐珠单抗(Avastin)减缓具有转移性肾癌的人的肿瘤生长。贝伐珠单抗与干扰素的组合减缓肿瘤生长和扩散。

[0075] 在实施方案中,至少一种另外的API针对免疫疗法,也称为生物疗法,其旨在增强身体抵抗癌症的自然防御。其使用由身体或实验室中制造的材料来改善、靶向或恢复免疫系统功能。例如,白细胞介素-2 (IL-2) 以及AM0010和白细胞介素-15为已用于治疗肾癌的药物。它们为由白细胞产生的称为细胞因子的细胞激素,并且在免疫系统功能(包括肿瘤细胞的破坏)方面很重要。 $\alpha$ -干扰素为另一种类型的用于治疗已经扩散的肾癌的免疫疗法。干扰素似乎改变癌细胞表面的蛋白并减缓其生长。与化学疗法组合的用于晚期肾癌患者的IL-2和 $\alpha$ -干扰素的许多组合疗法比单独的IL-2或干扰素更加有效。

[0076] 在实施方案中,至少一种另外的API为癌症疫苗,其旨在引发针对肿瘤特异性或肿瘤相关抗原的免疫反应,鼓动免疫系统攻击携带这些抗原的癌细胞。在实施方案中,癌症疫苗为AGS-003、DCVax、NY-ESO-1或源自患者癌细胞的个性化疫苗。

[0077] 在实施方案中,至少一种另外的API为免疫刺激剂比如重组蛋白,其用于激活免疫系统以攻击癌细胞。在实施方案中,免疫刺激剂为得尼考新(重组IL-21)。

[0078] 在实施方案中,至少一种另外的API为调节免疫系统以促进癌细胞消除的小分子。在实施方案中,小分子为艾卡噪司他(epacadostat)或那伏莫德(navoximod)(两者为IDO

抑制剂)或PLX3397 (CSF-1R的抑制剂)。

[0079] 在实施方案中,至少一种另外的API选自泰素(taxol)、长春新碱、多柔比星、伊达比星(idarubicin)、替西罗莫司(temsirolimus)、卡铂、奥法木单抗(ofatumumab)、利妥昔单抗及其组合。

[0080] 在实施方案中,至少一种另外的API选自苯丁酸氮芥、异环磷酰胺、多柔比星、美沙拉嗪、沙利度胺、来那度胺、替西罗莫司、依维莫司、氟达拉滨、阿糖胞苷、米托蒽醌、福他替尼(fostamatinib)、紫杉醇、多西他赛、奥法木单抗、利妥昔单抗、地塞米松、泼尼松、CAL-101、替伊莫单抗(ibritumomab)、托西莫单抗(tositumomab)、硼替佐米、喷司他丁(pentostatin)、内皮抑素(endostatin)或其组合。

[0081] 在实施方案中,至少一种另外的API可为患者自身的免疫细胞,其已从患者体内取出、经基因修饰或用化学品处理以增强其活性,然后以提高免疫系统的抗癌反应为目标重新引入到患者体内。

[0082] “组合疗法”还包括给予与非药物治疗(例如手术或放射治疗)进一步组合的本文所述的HSP90抑制剂。当组合疗法进一步包括非药物治疗时,非药物治疗可在任何合适的时间进行,只要实现来自治疗性化合物和非药物治疗的组合的共同作用的有益效果即可。例如,在适当的情况下,当非药物治疗暂时从治疗性化合物的给予中去除(可能数天或甚至数周)时仍获得有益效果。

[0083] 非药物治疗可选自化学疗法、放射疗法、激素疗法、抗雌激素疗法、基因疗法、手术(例如根治性肾切除术、部分肾切除术、腹腔镜和机器人手术)、射频消融和冷冻消融。例如,非药物治疗为去除卵巢(例如以降低体内雌激素水平)、胸腔穿刺(例如以从胸腔移除液体)、腹腔穿刺(例如以从腹部移除液体)、手术以移除或缩小血管平滑肌脂肪瘤、肺移植(并且任选地用抗生素以防止由于移植引起的感染)、或氧疗法(例如通过含有放置于两个鼻孔中的两个小塑料管或叉的鼻插管、通过适合鼻子和嘴巴的面罩、或通过经由颈部前面插入气管的小管,也称为经气管氧疗法)。

[0084] 在实施方案中,HSP90抑制剂的量为亚治疗量,和癌症选自非小细胞肺癌(NSCLC),和至少一种另外的API选自顺铂/多西他赛、贝伐珠单抗、吉西他滨、卡铂、(白蛋白结合型)紫杉醇、培美曲塞(pemetrexed)、依托泊苷、Sym004 (抗EGFR)、吉非替尼、mocetinostat、PLX3397、etinostat、AZD4635 (A2aR拮抗剂)、替西木单抗、伊匹单抗和PBF-509 (A2AR拮抗剂)。

[0085] 在实施方案中,HSP90抑制剂的量为亚治疗量,和癌症选自实体肿瘤,和至少一种另外的API选自雷莫芦单抗、abemacicib、美雷替尼、R07009789 (抗CD40)、MEDI9447 (抗CD73)、MK-1248 (抗GITR)、奥拉帕尼、西地尼布(cediranib)、5FU、甲酰四氢叶酸、奥沙利铂、依鲁替尼、LY2510924 (CXCR4拮抗剂)、ARRY-382 (CSFR1i)、MEDI0562 (抗OX40)、LAG525 (抗LAG3)、NIS793、利丽单抗(抗KIR)、NKTR-214 (选择性IL-2);瓦利鲁单抗(抗CD27)、IL-21 (得尼考新);GWN323 (抗GITR);JTX-2011 (抗ICOS)、galunisertib;TSR-022 (抗TIM3);BMS-986016 (抗LAG3)、REGN3767 (抗LAG3);GDC-0919 (IDO抑制剂)、CB-1158 (精氨酸酶抑制剂)和AZD4635 (A2aR拮抗剂)。

[0086] 在实施方案中,HSP90抑制剂的量为亚治疗量,和癌症选自间皮瘤、结直肠癌、尿路上皮癌、胃癌和肝癌,和至少一种另外的API选自替西木单抗和伊匹单抗。

[0087] 在实施方案中, HSP90抑制剂的量为亚治疗量, 和癌症选自乳腺癌, 和至少一种另外的API选自白蛋白结合型紫杉醇、表柔比星、多柔比星、环磷酰胺、ddAC、依维莫司、帕比司他、LCL161 (IAP抑制剂)、抗雌激素疗法(依西美坦)、来曲唑、地西他滨和曲妥珠单抗。

[0088] 在实施方案中, HSP90抑制剂的量为亚治疗量, 和癌症为ALK阳性癌症, 比如ALK阳性肺癌, 包括一些形式的NSCLC, 和至少一种另外的API选自恩莎替尼(ensartinib)。

[0089] 在实施方案中, HSP90抑制剂的量为亚治疗量, 和癌症为尿路上皮癌, 和至少一种另外的API选自吉西他滨/卡铂、多西他赛、紫杉醇、长春氟宁、B-701 (抗FGFR3) 和伏立诺他。

[0090] 在实施方案中, HSP90抑制剂的量为亚治疗量, 和癌症为卵巢癌, 和至少一种另外的API选自多表位抗叶酸疫苗、莫托莫德、卡铂和紫杉醇。

[0091] 在实施方案中, HSP90抑制剂的量为亚治疗量, 和癌症为肾细胞癌(RCC), 和至少一种另外的API选自etinostat、贝伐珠单抗、IL-2、伏立诺他和CB-839 (谷氨酰胺酶抑制剂)。

[0092] 在实施方案中, HSP90抑制剂的量为亚治疗量, 和癌症为胰腺癌, 和至少一种另外的API为galunisertib。

[0093] 在实施方案中, HSP90抑制剂的量为亚治疗量, 和癌症为胃癌, 和至少一种另外的API选自曲妥珠单抗、卡培他滨(capecitabine)、顺铂、马吉妥昔单抗(margetuximab) 和阿帕替尼。

[0094] 在实施方案中, HSP90抑制剂的量为亚治疗量, 和癌症为肝癌, 和至少一种另外的API选自阿帕替尼和索拉非尼。

[0095] 在实施方案中, HSP90抑制剂的量为亚治疗量, 和癌症为骨髓增生异常综合征(MDS), 和至少一种另外的API选自氮杂胞苷、替西木单抗和etinostat。

[0096] 在实施方案中, HSP90抑制剂的量为亚治疗量, 和癌症为慢性淋巴细胞白血病(CLL), 和至少一种另外的API选自奥滨尤妥珠单抗、依鲁替尼、来那度胺、利妥昔单抗和苯达莫司汀。

[0097] 在实施方案中, HSP90抑制剂的量为亚治疗量, 和癌症为转移性结直肠癌或前列腺癌, 和至少一种另外的API选自西普鲁塞-T (sipuleucel-T)、恩杂鲁胺、奥拉帕尼、多西他赛、泼尼松和地塞米松。

[0098] 在实施方案中, HSP90抑制剂的量为亚治疗量, 和癌症为弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL), 和至少一种另外的API选自KTE-19、AZD9150 (STAT3抑制剂)、乌托米单抗、利妥昔单抗、氮杂胞苷、苯达莫司汀、吉西他滨、奥沙利铂和R-CHOP。

[0099] 在实施方案中, HSP90抑制剂的量为亚治疗量, 和癌症为成胶质细胞瘤, 和至少一种另外的API选自乌瑞芦单抗(抗4-1BB) 和BMS 986016 (抗LAG-3)。

[0100] 在实施方案中, HSP90抑制剂的量为亚治疗量, 和癌症为多发性骨髓瘤(MM), 和至少一种另外的API自来那度胺、地塞米松、卡非佐米、达雷木单抗(daratumumab) (抗CD38) 和泊马度胺。

[0101] 在实施方案中, HSP90抑制剂的量为亚治疗量, 和癌症为胃肠癌或胸癌, 和至少一种另外的API为雷莫芦单抗(抗VEGFR2)。

[0102] 在实施方案中, HSP90抑制剂的量为亚治疗量, 和癌症为头颈癌, 和至少一种另外的API选自顺铂/卡铂、5FU、西妥昔单抗(cetuximab) 和SD-101 (抗TLR9)。

[0103] 在实施方案中, HSP90抑制剂的量为亚治疗量, 癌症为急性髓样白血病(AML), 和至少一种另外的API选自氮杂胞苷、克莱拉尼(crenolanib)、阿糖胞苷、柔红霉素(daunorubicin)、依托泊苷、吉特替尼(gilteritinib)、瓜德希他滨、伊达比星、米哌妥林(midostaurin)、米托蒽醌、奎扎替尼(quizartinib)、索拉非尼、坦度替尼(tandutinib)和维特克拉。在实施方案中, 至少一种另外的API选自克莱拉尼、阿糖胞苷、柔红霉素、吉特替尼、索拉非尼和维特克拉。在实施方案中, 至少一种另外的API为维特克拉。在实施方案中, 至少一种另外的API选自蒽环霉素, 比如柔红霉素、多柔比星、表柔比星、米托蒽醌和伊达比星; 阿糖胞苷; 酪氨酸激酶抑制剂(TKI), 比如米哌妥林、索拉非尼、克莱拉尼、奎扎替尼、坦度替尼、吉特替尼、来他替尼(lestaurtinib)、多韦替尼(dovitinib)、帕克替尼(pacritinib)和XL999; 依托泊苷、氟达拉滨、G-CSF、氮杂胞苷、地西他滨、维特克拉、ABT-737、纳维克拉、奥巴克拉、塞布妥克、S 55746、AT-101 (棉酚)和APG-1252以及任何前述物质的组合。在实施方案中, 至少一种另外的API选自三氧化二砷(trisenox)、cerubidine (盐酸柔红霉素)、clafen(环磷酰胺)、环磷酰胺、阿糖胞苷(tarabine PFS)、cytosar-U (阿糖胞苷)、癌得星(cytoxan) (环磷酰胺)、盐酸柔红霉素(红比霉素(rubidomycin))、盐酸多柔比星、恩西地平甲磺酸盐(enasidenib mesylate)、idamycin (盐酸伊达比星)、盐酸伊达比星idhifa (恩西地平甲磺酸盐)、米哌妥林(Rydapt)、盐酸米托蒽醌、neosar (环磷酰胺)、硫鸟嘌呤(Tabloid)、硫酸长春新碱(vincasar PFS)、氮杂胞苷和地西他滨以及任何前述物质的组合。在实施方案中, 至少一种另外的API为选自AMP-224、AMP-514/ MEDI-0680、阿特珠单抗(MPDL3280A)、阿维鲁单抗(MSB0010718C)、BGB-A317、BMS936559、赛米单抗(REGN2810)、德瓦鲁单抗(MEDI-4736)、JTX-4014、纳武单抗(BMS-936558)、派姆单抗(Keytruda, MK-3475)、GLS-010和SHR-1210的PD-1/PD-L1抑制剂。在实施方案中, 至少一种另外的API为选自ABT-737、AT-101 (棉酚(Gossypol))、APG-1252、A1155463、A1210477、纳维克拉、奥巴克拉、塞布妥克、维特克拉、S 55746和WEHI-539的BCL-2途径抑制剂。在实施方案中, BCL-2途径抑制剂为BCL2、BCLXL或MCL1的抑制剂。在实施方案中, BCL-2途径抑制剂选自AMG-176、MIK665和S641315。在实施方案中, BCL-2途径抑制剂选自ABT-737、纳维克拉和维特克拉。

[0104] 在实施方案中, HSP90抑制剂的量为亚治疗量, 和癌症为黑素瘤, 和至少一种另外的API自达帕菲尼、曲美替尼、PLX3397 (CSF-R1抑制剂)、维罗非尼、IFN $\alpha$ 2B、达卡巴嗪、卡铂、紫杉醇和SD-101 (抗TLR9)。

[0105] 在实施方案中, HSP90抑制剂的量为亚治疗量, 和癌症为非霍奇金淋巴瘤, 和至少一种另外的API选自JCAR014。

[0106] 在实施方案中, HSP90抑制剂的量为亚治疗量, 癌症为肾癌, 和抗癌剂可选自VEGF抑制剂(比如舒尼替尼、帕唑帕尼、贝伐珠单抗、索拉非尼、卡博替尼和阿西替尼)或 mTOR抑制剂(比如依维莫司或替西罗莫司)。

[0107] 通常, 当给予两种不同的API时, 一种被认为是主要药物和另一种为主要药物的辅助性药物。在本文所述的方法的实施方案中, HSP90抑制剂可为治疗方案中的主要或辅助性药物。在实施方案中, 在给予治疗方案中的主要药物之前(例如5分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周或12周之前)、同时或之后(例如5分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小

时、4小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周或12周之后)给予辅助性药物。

[0108] 在本文所述方法的上下文中,给予受试者的HSP90抑制剂的量为治疗有效量。术语“治疗有效量”是指足以治疗、改善所治疗的疾病或障碍的症状、降低其严重性或减少其持续时间或者增强或改善另一种疗法的治疗效果,或足以在受试者呈现出可检测的治疗效果的量。在实施方案中,本文所述方法中的治疗有效量的HSP90抑制剂为会被认为是“亚治疗的”或低于基于HSP90抑制剂的2期临床研究预期有效的剂量的剂量。在实施方案中,HSP90抑制剂的亚治疗剂量为低于推荐的2期HSP90抑制剂的剂量的75%、或低于推荐的2期HSP90抑制剂的剂量的50%、或低于其25%的剂量。在一个实施方案中,HSP90抑制剂的治疗有效量为有效抑制受试者的癌细胞中的IFN- $\gamma$ 信号传导的量。在实施方案中,所述方法包括单独或者与一种或多种另外的API组合给予亚治疗剂量的HSP90抑制剂。

[0109] 本文使用的“治疗”(“treatment”、“treating”或“treat”)描述用于对抗疾病、病症或障碍的目的的患者的管理和护理,并且包括单独作为单一疗法(例如使用低剂量HSP90)或与本文所述的至少一种另外的API组合给予HSP90抑制剂,以减轻疾病、病症或障碍的症状或并发症,或者消除疾病、病症或障碍。

[0110] 在实施方案中,包括用HSP90抑制剂的单一疗法和与一种或多种另外的API的组合疗法两者,HSP90抑制剂的给予导致消除所治疗的癌症的症状或并发症,然而不需要消除癌症。在一个实施方案中,症状的严重性降低。在癌症的情况下,这种症状可能包括严重性或进展的临床标志物,包括肿瘤分泌生长因子、降解细胞外基质、变得血管化、失去与并置组织的粘连或转移的程度,以及转移的数量和肿瘤大小和/或体积的减小。

[0111] 根据本文所述的方法治疗癌症可导致肿瘤大小的减小。肿瘤大小的减小也可称为“肿瘤消退”。优选地,在治疗之后,肿瘤大小相对于其治疗之前的大小减小5%或更多;更优选地,肿瘤大小减小10%或更多;更优选地,减小20%或更多;更优选地,减小30%或更多;更优选地,减小40%或更多;甚至更优选地,减小50%或更多;和最优选地,减小大于75%或更多。肿瘤的大小可通过任何可重现的测量方法进行测量。肿瘤的大小可测量为肿瘤的直径。

[0112] 根据本文所述的方法治疗癌症可导致肿瘤体积的减小。优选地,在治疗之后,肿瘤体积相对于其治疗之前的大小减小5%或更多;更优选地,肿瘤体积减小10%或更多;更优选地,减小20%或更多;更优选地,减小30%或更多;更优选地,减小40%或更多;甚至更优选地,减小50%或更多;和最优选地,减小大于75%或更多。肿瘤体积可通过任何可重现的测量方法进行测量。

[0113] 根据本文所述的方法治疗癌症可导致肿瘤数量的减少。优选地,在治疗之后,肿瘤数量相对于治疗之前的数量减少5%或更多;更优选地,肿瘤数量减少10%或更多;更优选地,减少20%或更多;更优选地,减少30%或更多;更优选地,减少40%或更多;甚至更优选地,减少50%或更多;和最优选地,减少大于75%。肿瘤的数量可通过任何可重复的测量方法进行测量。肿瘤的数量可通过计数肉眼或以指定的放大倍数可见的肿瘤进行测量。优选地,指定的放大倍数为2x、3x、4x、5x、10x或50x。对于血液学癌症,计数可为血液样品中与癌症(例如淋巴瘤或白血病细胞)相关的细胞的数量。

[0114] 根据本文所述的方法治疗癌症可导致远离原发性肿瘤部位的其他组织或器官中的转移病灶的数量减少。优选地,在治疗之后,转移病灶的数量相对于治疗之前的数量减少

5%或更多;更优选地,转移病灶的数量减少10%或更多;更优选地,减少20%或更多;更优选地,减少30%或更多;更优选地,减少40%或更多;甚至更优选地,减少50%或更多;和最优选地,减少大于75%。转移病灶的数量可通过任何可重现的测量方法进行测量。转移病灶的数量可通过计数肉眼或在指定的放大倍数下可见的转移病灶进行测量。优选地,指定的放大倍数为2x、3x、4x、5x、10x或50x。

[0115] 与仅接受载体的群体相比较,根据本文所述的方法治疗癌症可导致受治疗的受试者群体的平均存活时间增加。优选地,平均存活时间增加超过30天;更优选地,超过60天;更优选地,超过90天;和最优选地,超过120天。群体的平均存活时间的增加可通过任何可重现的方法进行测量。例如,群体的平均存活时间的增加可通过计算群体开始治疗后的平均存活长度进行测量。群体的平均存活时间的增加也可例如通过计算群体完成第一轮治疗后的平均存活长度进行测量。

[0116] 与未治疗的受试者群体相比较,根据本文所述的方法治疗癌症可导致受治疗的受试者群体的平均存活时间增加。优选地,平均存活时间增加超过30天;更优选地,超过60天;更优选地,超过90天;和最优选地,超过120天。群体的平均存活时间的增加可通过任何可重现的方法进行测量。例如,群体的平均存活时间的增加可通过计算群体开始治疗后的平均存活长度进行测量。群体的平均存活时间的增加也可例如通过计算群体完成第一轮治疗后的平均存活长度进行测量。

[0117] 与接受用不是HSP90抑制剂的药物进行的单一疗法的群体相比较,根据本文所述的方法治疗癌症可导致受治疗的受试者群体的平均存活时间增加。优选地,平均存活时间增加超过30天;更优选地,超过60天;更优选地,超过90天;和最优选地,超过120天。群体的平均存活时间的增加可通过任何可重现的方法进行测量。例如,群体的平均存活时间的增加可通过计算群体开始治疗后的平均存活长度进行测量。群体的平均存活时间的增加也可例如通过计算群体完成第一轮治疗后的平均存活长度进行测量。

[0118] 与仅接受载体的群体相比较,根据本文所述的方法治疗癌症可导致受治疗的受试者群体的死亡率降低。与未治疗的群体相比较,根据本文所述的方法治疗障碍、疾病或病症可导致受治疗的受试者群体的死亡率降低。与接受用不是HSP90抑制剂的药物进行的单一疗法的群体相比较,根据本文所述的方法治疗障碍、疾病或病症可导致受治疗的受试者群体的死亡率降低。优选地,死亡率降低超过2%;更优选地,超过5%;更优选地,超过10%;和最优选地,超过25%。受治疗的受试者群体的死亡率降低可通过任何可重现的方法进行测量。例如,群体的死亡率降低可通过计算群体开始治疗后每单位时间疾病相关死亡的平均数量进行测量。群体的死亡率降低也可例如通过计算群体完成第一轮治疗后的每单位时间疾病相关死亡的平均数量进行测量。

[0119] 根据本文所述的方法治疗癌症可导致肿瘤生长速率降低。优选地,在治疗之后,肿瘤生长速率相对于治疗之前的数量减少至少5%;更优选地,肿瘤生长速率减少至少10%;更优选地,减少至少20%;更优选地,减少至少30%;更优选地,减少至少40%;更优选地,减少至少50%;甚至更优选地,减少至少50%;和最优选地,减少至少75%。肿瘤生长速率可通过任何可重现的测量方法进行测量。肿瘤生长速率可根据每单位时间肿瘤直径的变化进行测量。在一个实施方案中,在治疗之后,肿瘤生长速率可为约零并且经确定保持相同的大小,例如肿瘤已经停止生长。

[0120] 根据本文所述的方法治疗癌症可导致肿瘤再生长的减少。优选地,在治疗之后,肿瘤再生长小于5%;更优选地,肿瘤再生长小于10%;更优选地,小于20%;更优选地,小于30%;更优选地,小于40%;更优选地,小于50%;甚至更优选地,小于50%;和最优地,小于75%。肿瘤再生长可通过任何可重现的测量方法进行测量。例如,肿瘤再生长通过测量在治疗之后的先前肿瘤缩小之后肿瘤直径的增加进行测量。肿瘤再生长的减少由肿瘤在治疗已经停止之后无法复发来表明。

[0121] 药物组合物和制剂

本公开提供包含单独或与至少一种另外的API比如BCL-2途径抑制剂组合的一定量的HSP90抑制剂的药物组合物。在实施方案中,HSP90抑制剂的量低于推荐的2期HSP90抑制剂的剂量的75%。在实施方案中,HSP90抑制剂的量低于推荐的2期HSP90抑制剂的剂量的75%。根据本文所述的任何实施方案,药物组合物可适于口服、含服或胃肠外给予。在实施方案中,药物组合物可适于肺部给予,例如通过吸入。在实施方案中,药物组合物适于口服给予。在实施方案中,药物组合物适于胃肠外给予。

[0122] 在实施方案中,HSP90抑制剂以单一剂型与至少一种另外的API组合。在实施方案中,至少一种另外的API选自上文结合使用组合疗法的治疗方法所述的药物。

[0123] “药物组合物”为呈适合于给予受试者的药学上可接受的形式含有本文所述化合物的制剂。本文使用的短语“药学上可接受的”是指在合理的医学判断范围内适合用于与人和动物的组织接触而没有过度的毒性、刺激、过敏反应或其他问题或并发症,与合理的益处/风险比相称的那些化合物、材料、组合物、载体和/或剂型。

[0124] “药学上可接受的赋形剂”意指可用于制备药物组合物的赋形剂,其通常为安全的、非毒性的且既非生物学上也非在其他方面不合期望的,并且包括兽医用途以及人类药用用途可接受的赋形剂。药学上可接受的赋形剂的实例包括但不限于无菌液体、水、缓冲盐水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇、液体聚乙二醇等)、油类、洗涤剂、助悬剂、碳水化合物(例如葡萄糖、乳糖、蔗糖或葡聚糖)、抗氧化剂(例如抗坏血酸或谷胱甘肽)、螯合剂、低分子量蛋白或其合适的混合物。

[0125] 药物组合物可以散装或以剂量单位形式提供。为了易于给予和剂量的均匀性,尤其有利的是以剂量单位形式配制药物组合物。本文使用的术语“剂量单位形式”是指适合作为用于待治疗的受试者的单位剂量的物理离散单位;每个单位含有经计算产生期望的治疗效果的预定量的活性化合物以及所需要的药用载体。本公开的剂量单位形式的规格由活性化合物的独特特性和待实现的特定治疗效果决定并直接取决于此。剂量单位形式可为安瓿、小瓶、栓剂、糖衣丸、片剂、胶囊剂、IV袋或在气雾剂吸入器上的单一泵。

[0126] 在治疗应用中,在影响所选剂量的其他因素中,剂量根据药物、受体患者的年龄、体重和临床状况、以及给予疗法的临床医生或从业者的经验和判断而变化。通常,剂量应为治疗有效量。剂量可以mg/kg/天的度量单位来提供(所述剂量可针对患者的体重(以kg计)、体表面积(以m<sup>2</sup>计)和年龄(以岁计)来进行调节)。药物组合物的有效量为提供如临床医生或其他合格观察者所注意到的客观可识别的改善的量。例如,减轻障碍、疾病或病症的症状。本文使用的术语“剂量有效方式”是指在受试者或细胞中产生期望的生物效应的药物组合物的量。

[0127] 例如,剂量单位形式可包含1 ng-2 mg、或0.1 mg-2 g、或10 mg-1 g、或50 mg-500

mg、或1 μg-20 mg、或1 μg-10 mg、或0.1 mg-2 mg。

[0128] 药物组合物可采取任何合适的形式(例如液体、气雾剂、溶液剂、吸入剂、雾剂、喷雾剂;或固体、粉剂、软膏剂、糊剂、霜剂、洗剂、凝胶剂、贴剂等等)用于通过任何期望的途径(例如经肺、吸入、鼻内、口服、含服、舌下、胃肠外、皮下、静脉内、肌内、腹膜内、胸膜内、鞘内、透皮、透粘膜、直肠等)给予。例如,本公开的药物组合物可呈用于通过吸入或吹入(经口或鼻)的气雾剂给予的水溶液剂或粉剂的形式、呈用于口服给予的片剂或胶囊剂的形式、呈适合于通过直接注射或通过添加到用于静脉内输注的无菌输注液体中给予的无菌水溶液剂或分散体的形式、或呈用于透皮或透粘膜给予的洗剂、霜剂、泡沫剂、贴剂、混悬剂、溶液剂或栓剂的形式。

[0129] 药物组合物可呈口服可接受的剂型的形式,包括但不限于胶囊剂、片剂、含服形式、糖锭剂、锭剂和呈乳剂、水性混悬剂、分散体或溶液剂形式的口服液体。胶囊剂可含有本公开的化合物与惰性填充剂和/或稀释剂比如药学上可接受的淀粉(例如玉米、马铃薯或木薯淀粉)、糖类、人造甜味剂、粉末状纤维素(比如结晶纤维素和微晶纤维素)、面粉、明胶、树胶等的混合物。在用于口服使用的片剂的情况下,通常使用的载体包括乳糖和玉米淀粉。也可加入润滑剂比如硬脂酸镁。对于呈胶囊剂形式的口服给予,有用的稀释剂包括乳糖和干燥的玉米淀粉。当口服给予水性混悬剂和/或乳剂时,本公开的化合物可悬浮或溶解于油相中,其与乳化剂和/或助悬剂结合。如果需要的话,可加入某些甜味剂和/或矫味剂和/或着色剂。

[0130] 药物组合物可呈片剂的形式。片剂可包含与惰性稀释剂或载体(比如糖或糖醇,例如乳糖、蔗糖、山梨醇或甘露醇)一起的单位剂量的本公开的化合物。片剂可进一步包含非糖衍生的稀释剂比如碳酸钠、磷酸钙、碳酸钙或者纤维素或其衍生物(比如甲基纤维素、乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素)以及淀粉(比如玉米淀粉)。片剂可进一步包含粘合剂和制粒剂比如聚乙烯吡咯烷酮、崩解剂(例如可溶胀的交联聚合物,比如交联的羧甲基纤维素)、润滑剂(例如硬脂酸盐)、防腐剂(例如对羟基苯甲酸酯类)、抗氧化剂(例如BHT)、缓冲剂(例如磷酸盐或枸橼酸盐缓冲剂)和泡腾剂(比如枸橼酸盐/碳酸氢盐混合物)。

[0131] 片剂可为包衣片剂。包衣可为保护膜包衣(例如蜡或涂膜)或旨在控制活性剂释放的包衣,例如延迟释放(在摄取后的预定滞后时间之后释放活性物)或在胃肠道中的特定位置处释放。后者可例如使用肠溶膜包衣(比如以商品名Eudragit®出售的那些)来实现。

[0132] 片剂制剂可通过常规压制、湿法制粒或干法制粒方法,并使用药学上可接受的稀释剂、粘合剂、润滑剂、崩解剂、表面改性剂(包括表面活性剂)、助悬剂或稳定剂来制造,所述试剂包括但不限于硬脂酸镁、硬脂酸、滑石、月桂基硫酸钠、微晶纤维素、羧甲基纤维素钙、聚乙烯吡咯烷酮、明胶、海藻酸、阿拉伯胶、黄原胶、枸橼酸钠、复合硅酸盐、碳酸钙、甘氨酸、糊精、蔗糖、山梨醇、磷酸二钙、硫酸钙、乳糖、高岭土、甘露醇、氯化钠、滑石、干燥淀粉和糖粉。优选的表面改性剂包括非离子和阴离子表面改性剂。表面改性剂的代表性实例包括但不限于泊洛沙姆188、苯扎氯铵、硬脂酸钙、鲸蜡硬脂醇、聚西托醇(cetomacrogol)乳化蜡、脱水山梨醇酯、胶体二氧化硅、磷酸盐、十二烷基硫酸钠、硅酸镁铝和三乙醇胺。

[0133] 药物组合物可呈硬或软明胶胶囊剂的形式。根据该制剂,本公开的化合物可呈固体、半固体或液体形式。

[0134] 药物组合物可呈适合于胃肠外给予的无菌水溶液剂或分散体的形式。本文使用的



术语胃肠外包括皮下、皮内、静脉内、肌内、关节内、动脉内、滑膜内、胸骨内、鞘内、病灶内和颅内注射或输注技术。

[0135] 药物组合物可呈适合于通过直接注射或通过添加到用于静脉内输注的无菌输注液体中给予的无菌水溶液剂或分散体的形式,并且包含溶剂或分散介质,溶剂或分散介质含有水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇和液体聚乙二醇)、其合适的混合物或者一种或多种植物油。作为游离碱或药理学上可接受的盐的本公开的化合物的溶液剂或混悬剂可在适当地混有表面活性剂的水中制备。以下给出合适的表面活性剂的实例。分散体还可例如在甘油、液体聚乙二醇及其在油中的混合物中制备。

[0136] 除了存在于制剂中的任何载体或稀释剂(比如乳糖或甘露醇)之外,用于本公开的方法的药物组合物可进一步包含一种或多种添加剂。一种或多种添加剂可包含一种或多种表面活性剂或者由一种或多种表面活性剂组成。表面活性剂一般地具有一个或多个长脂肪族链比如脂肪酸,这使其能够直接插入到细胞的脂质结构以增强药物渗透和吸收。通常用于表征表面活性剂的相对亲水性和疏水性的经验参数为亲水亲油平衡值(“HLB”值)。具有较低HLB值的表面活性剂更加疏水,且在油中具有更高的溶解性,而具有较高HLB值的表面活性剂更加亲水,且在水溶液中具有更高的溶解性。由此,亲水性表面活性剂通常被认为是具有大于约10的HLB值的那些化合物,和疏水性表面活性剂通常为具有小于约10的HLB值的那些。然而,这些HLB值仅为指导,因为对于许多表面活性剂来说,根据选择用于测定HLB值的经验方法,HLB值可相差多达约8个HLB单位。

[0137] 在用于本公开的组合物表面活性剂中有聚乙二醇(PEG)-脂肪酸和PEG-脂肪酸单酯和二酯、PEG甘油酯、醇-油酯交换产物、聚甘油脂肪酸、丙二醇脂肪酸酯、甾醇和甾醇衍生物、聚乙二醇脱水山梨醇脂肪酸酯、聚乙二醇烷基醚、糖及其衍生物、聚乙二醇烷基酚、聚氧乙烯-聚氧丙烯(POE-POP)嵌段共聚物、脱水山梨醇脂肪酸酯、离子表面活性剂、脂溶性维生素及其盐、水溶性维生素及其两亲性衍生物、氨基酸及其盐、以及有机酸及其酯和酐。

[0138] 本公开还提供包含用于本公开方法的药物组合物的包装和试剂盒。试剂盒可包含一个或多个选自瓶、小瓶、安瓿、泡罩包装和注射器的容器。试剂盒可进一步包括一个或多个用于治疗 and/或预防本公开的疾病、病症或障碍的用法说明、一个或多个注射器、一个或多个涂药器或者适合于重构本公开的药物组合物的无菌溶液。

[0139] 除非另外说明,本文使用的所有百分比和比率为按重量计。本公开的其他特征和优点从不同实施例显而易见。所提供的实施例说明可用于实践本公开的不同组分和方法学。实施例不限制要求保护的公开。基于本公开,技术人员可鉴定和采用可用于实践本公开的其他组分和方法学。

[0140] 在实施方案中,本公开提供以下内容。

[0141] 1. 一种包含HSP90抑制剂和药学上可接受的载体或赋形剂的用于在需要它的受试者中治疗癌症的药物组合物,其中所述组合物包含低于推荐的2期HSP90抑制剂的剂量的75%的量的HSP90抑制剂。

[0142] 2. 一种用于在需要它的受试者中治疗癌症的方法,所述方法包括给予所述受试者包含一定量的HSP90抑制剂和药学上可接受的载体或赋形剂的药物组合物,其中所述HSP90抑制剂的所述量低于推荐的2期HSP90抑制剂的剂量的75%。

[0143] 3. 权利要求1或2的方法,其中所述HSP90抑制剂的所述量低于推荐的2期HSP90抑

制剂的剂量的50%或25%。

[0144] 4. 权利要求1-3中任何一项的方法,其中所述HSP90抑制剂选自HSP-990、CNF-2024、PF0498473、坦螺旋霉素、STA-9090、MPC-3100、CUDC-305、XL-888、TAS-116及其药学上可接受的盐。

[0145] 5. 权利要求1-3中任何一项的方法,其中所述HSP90抑制剂选自坦螺旋霉素、阿螺旋霉素、IPI-504、AUY922、AT13387、吉尼替彼、KW-2478、CNF2024、MPC3100、BIIB028、SNX5422、PU-H71、MPC-0767及其药学上可接受的盐。

[0146] 6. 权利要求1-5中任何一项的方法,其中所述药物组合物包含第二活性药物成分(API)。

[0147] 7. 权利要求6的方法,其中所述第二API选自HDAC抑制剂、ImiD、抗VEGFR抗体、DNA甲基化抑制剂、类固醇激素(拮抗)激动剂、代谢酶抑制剂、蛋白酶体抑制剂、抗CD20抗体、腺苷受体2A拮抗剂、toll受体(拮抗剂(激动剂)、免疫刺激性细胞因子及其组合。

[0148] 8. 权利要求6的方法,其中所述第二API选自顺铂、多西他赛、吉西他滨、卡铂、紫杉醇、培美曲塞、依托泊苷、表柔比星、多柔比星、环磷酰胺、ddAC、依维莫司、帕比司他、依西美坦、来曲唑、地西他滨、恩沙替尼(ensartinib)、abemacicib、美雷替尼、吉非替尼、mocetinostat、氮杂胞苷、etinostat、莫托莫德、依鲁替尼、来那度胺、艾代拉里斯、恩杂鲁胺、奥拉帕尼、泼尼松、地塞米松、长春氟宁、伏立诺他、galunisertib、苯达莫司汀、奥沙利铂、甲酰四氢叶酸、瓜德希他滨、达帕菲尼、曲美替尼、维罗非尼、达卡巴嗪、阿帕替尼、泊马度胺、卡非佐米、索拉非尼、5-氟尿嘧啶、CB-839、CB-1158、GDC-0919、LXH254、AZD4635、AZD9150、PLX3397、LCL161、PBF-509、贝伐珠单抗、Sym004、雷莫芦单抗、伊匹单抗、曲妥珠单抗、替西木单抗、奥滨尤妥珠单抗、B-701、乌托米单抗、利妥昔单抗、贝伐珠单抗、白细胞介素2、NKTR-214、得尼考新、聚乙二醇化干扰素2A、R07009789、MEDI9447、MK-1248、LY2510924、ARRY-382、MEDI0562、LAG525;NIS793、利丽单抗、瓦利鲁单抗、GWN323;JTX-2011;Galunisertib;TSR-022;BMS-986016、雷莫芦单抗、乌瑞芦单抗、BMS-986016和REGN3767。

[0149] 9. 权利要求6的方法,其中所述组合物中的第二API选自蛋白激酶抑制剂、PD-1/PDL-1抑制剂、检查点抑制剂、铂基抗肿瘤剂、拓扑异构酶抑制剂、核苷代谢抑制剂、烷化剂、嵌入剂、微管蛋白结合剂、DNA修复抑制剂及其组合。

[0150] 10. 权利要求9的方法,其中所述组合物中的第二API为PD-1/PD-L1抑制剂。

[0151] 11. 权利要求10的方法,其中所述PD-1/PD-L1抑制剂选自纳武单抗、派姆单抗、AMP-514/MEDI-0680、阿特殊单抗、德瓦鲁单抗、阿维鲁单抗、BMS936559、AMP-224、BGB-A317、SHR-1210和JTX-4014。

[0152] 12. 权利要求10或11的方法,其中所述PD-1/PD-L1抑制剂的量低于推荐的2期PD-1/PD-L1抑制剂的剂量的75%。

[0153] 13. 权利要求6的方法,其中所述组合物中的第二API为CTLA-4抑制剂。

[0154] 14. 权利要求13的方法,其中所述CTLA-4抑制剂选自替西木单抗和伊匹单抗。

[0155] 15. 权利要求9的方法,其中所述组合物中的第二API为检查点抑制剂。

[0156] 16. 权利要求15的方法,其中所述检查点抑制剂选自抗CD27抗体、抗B7-H3抗体、抗KIR抗体、抗LAG-3抗体、抗TIM3抗体、抗OX40抗体、抗4-1BB/CD137抗体、抗CD40抗体、抗

TRX518抗体、抗CD73抗体和抗GITR抗体。

[0157] 17. 权利要求15的方法,其中所述检查点抑制剂选自瓦利鲁单抗、MGA217、利利单抗、BMS-986016、乌瑞芦单抗、MEDI-0562、SEA-CD40、TRX518和MK-4166。

[0158] 18. 权利要求9的方法,其中所述组合物中的第二API为选自奥拉帕尼、瑞卡帕布、尼拉帕尼、他拉唑帕尼、维利帕尼、CEP-9722和CEP-8983的DNA修复抑制剂。

[0159] 19. 权利要求1-18中任何一项的方法,其中所述癌症选自脑癌、神经胶质瘤、肉瘤、乳腺癌、肺癌、非小细胞肺癌、间皮瘤、阑尾癌、泌尿生殖系统癌症、肾细胞癌、前列腺癌、膀胱癌、睾丸癌、阴茎癌、宫颈癌、卵巢癌、头颈癌、胃肠癌、肝细胞癌、胆囊癌、食管癌、胃癌、结直肠癌、胰腺癌、神经内分泌肿瘤、甲状腺肿瘤、垂体肿瘤、肾上腺肿瘤、T细胞淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、多发性骨髓瘤、B细胞淋巴瘤、白血病和霍奇金淋巴瘤。

[0160] 20. 权利要求19的方法,其中所述癌症选自黑素瘤、霍奇金淋巴瘤、非小细胞肺癌、膀胱癌、非霍奇金淋巴瘤、白血病、T细胞淋巴瘤和肾细胞癌。

[0161] 21. 权利要求10、11或12的方法,其中所述癌症选自黑素瘤、霍奇金淋巴瘤、非小细胞肺癌、膀胱癌、非霍奇金淋巴瘤、白血病、T细胞淋巴瘤和肾细胞癌。

[0162] 22. 权利要求1-21中任何一项的方法,其中所述药物组合物包含有效抑制所述受试者癌细胞中的干扰素- $\gamma$  信号转导的量的HSP90抑制剂。

[0163] 23. 权利要求1-22中任何一项的方法,其中所述受试者为人。

[0164] 24. 权利要求1-23中任何一项的方法,其中所述药物组合物适于口服或含服给予。

[0165] 25. 权利要求1-23中任何一项的方法,其中所述药物组合物适于胃肠外给予。

## 实施例

[0166] 实施例1-用以鉴定PD-L1细胞表面表达的小分子抑制剂的筛选

使用SK-MEL-28细胞(黑素瘤细胞系;ATCC<sup>®</sup> HTB-72<sup>™</sup>)进行高含量筛选以鉴定减少干扰素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) (Shenandoah Biotechnology)诱导的PD-L1表达的小分子。

[0167] 细胞在含有10% FBS (Sigma)和2 mM L-谷氨酰胺的MEM (Corning)中扩繁。制备冷冻的细胞原液以直接用于高通量筛选(HTS)测定。收获细胞,沉淀,并以后以 $1 \times 10^7$ 个细胞/ml的浓度重悬于95% FBS & 5% DMSO中。将1 ml等分试样以1度/分钟的速率冷冻至-80 $^{\circ}$ C。然后将这些原液转移至蒸汽相液氮中进行长期储存。

[0168] 对于筛选,将冷冻的细胞小瓶用在37 $^{\circ}$ C水浴中的连续搅动快速解冻,然后在室温下重悬于测定培养基中,并以1000 rpm离心5分钟。将得到的沉淀重悬于适当的体积中,并使用自动细胞计数器计数并相应地稀释。

[0169] 使用约2500种单独药物(2000种批准的药物,500种未批准的药物)的手动组织的库,使用ECHO 550液体处理器(Labcyte)将来自来源板的药物转移至目标板(384孔测定板-Corning # 3712)。使用Multidrop<sup>™</sup> Combi试剂分配器(Thermofisher)将用IFN-g (最终浓度50 ng/ml)处理的SK-MEL-28细胞(在30  $\mu$ L培养基中每孔1750个细胞)加入到这些预先格式化的板中。药物的最终浓度为40、480和5000 nM。板左侧和板右侧的外部2列(第1、2、23、24列)用作阳性和阴性对照,并且分别用和不用IFN- $\gamma$ 处理。将板以800 rpm离心1分钟,之后在37 $^{\circ}$ C下于5% CO<sub>2</sub>增湿温育箱中温育。

[0170] 44小时后,根据制造商的方案,使用alamarBlue™细胞生存力试剂(Thermofisher)测定细胞生存力。简而言之,向每孔中加入3 μL alamarBlue™试剂,并将板再温育4小时。在Victor<sup>3</sup>V读板器(Perkin Elmer)上读取板。通过比较药物处理的细胞和未处理的对照细胞(设定为100%),将每种药物的生存力表示为百分比。

[0171] 在评价生存力之后,然后制备板进行免疫染色。简而言之,向每孔中加入16%多聚甲醛(Electron Microscopy Sciences)至最终浓度为4%,在室温下持续10分钟。此后,吸出固定物并用PBS洗涤细胞3次。使用封闭溶液(PBS中的1%牛血清白蛋白)封闭细胞30分钟。此后,吸出封闭试剂并加入免疫染色试剂。免疫染色试剂由在封闭缓冲液中稀释的生物素缀合的PD-L1抗体(eBioscience)组成。将板密封并在4℃下保持过夜。第二天,板用PBS洗涤3次,随后加入在封闭缓冲液中稀释的链霉亲和素-荧光素酶融合蛋白(Invivogen),在室温下持续1小时。在该步骤之后,板用PBS洗涤3次。最终洗涤之后,吸出PBS并每孔加入30 μL的QUANTI-Luc™(Invivogen)。立即在读板器(Victor<sup>3</sup>V读板器,0.1s)上读取板,并测量荧光素酶活性。

[0172] 将对应于药物筛选板的原始PD-L1强度(荧光素酶读出)针对仅含有经IFN-γ处理的孔的空白板标准化,并将所得比率用于计算Z-分数。

[0173] 考虑到每个药物板中的空白校正的PD-L1强度和对照+ IFN-γ处理的孔,根据以下公式计算每种药物的Z-分数:

$$Z\text{分数} = \frac{I^{\text{药物}} - \text{平均值}(I^{+\text{IFN}})}{\text{sd}(I^{+\text{IFN}})}$$

其中 $I^{\text{药物}}$ 为每种药物的空白校正的PD-L1强度。因此,对于那些相对于IFN-γ处理的孔降低PD-L1水平的药物,Z分数值将是负的。

[0174] 为了比较跨越不同板测试的不同药物剂量的PD-L1影响,我们定义了相对Z分数,其考虑药物Z分数和对应于未经IFN-γ处理的对照孔的Z分数的分布。

$$\text{相对Z分数} = \frac{Z\text{分数}^{\text{药物}}}{\text{平均值}(Z\text{分数}^{-\text{IFN}})}$$

[0175] 相对Z分数为相对于基线PD-L1信号的药物PD-L1水平影响的量度。

[0176] 一旦我们计算了筛选中测试的所有药物和所有浓度的相对Z分数,我们应用如下3个过滤标准来缩减药物清单并选择高可信度命中:

#1选择对于测试的3种浓度具有相对Z分数 $\leq -1 + \text{sd}(Z\text{分数}^{-\text{IFN}-\gamma})$ 和生存力百分比 $> 75\%$ 的药物。这使得在40 nM的10种药物、在480 nM的27种药物和在5000 nM的196种药物(在总共4126种药物中)。

[0177] #2选择在5000 nM的药物,其显示命中百分比 $> 50\%$ 。这导致在5000 nM的110种药物(在#1中获得196种中)。

[0178] #3选择显示剂量反应相对Z分数的药物。这导致47种药物。

[0179] 为了总结初筛的结果,47种药物减少了IFN-γ诱导的PD-L1表达。值得注意的是,这些包括JAK2的小分子抑制剂,其先前已显示可消除PD-L1表达(Green等人,2010)。

[0180] 在初筛中鉴定的47种药物中,我们将重点放在HSP90抑制剂类药物,因为在我们的

~2500种药物库中有4种靶向HSP90的单个小分子抑制剂(HSP-990、CNF-2024、PF0498473和坦螺旋霉素),并且所有4种在初筛中被鉴定为命中。

[0181] 使用与以上使用的相同实验方案(在384孔板中使用SK-MEL-28细胞+/- IFN- $\gamma$ )验证这4种HSP90抑制剂,对初始测定设计的唯一的例外是为每种药物现在以10点剂量反应测定进行测试,其中测试的药物浓度为9.8-5000 nM (2倍连续稀释)。将细胞一式四份接种并处理。如上所述,在4种HSP90抑制剂处理48小时之后和在收获细胞以测试PD-L1信号之前评价生存力。

[0182] 在该第二测定中,通过确认IFN- $\gamma$  诱导的PD-L1信号被阻断来验证所有4种HSP90药物(HSP-990、CNF-2024、PF0498473和坦螺旋霉素) (图1)。

[0183] 因此,这些发现有助于证实我们已经揭示了抑制HSP90和消除IFN- $\gamma$  诱导的PD-L1表达之间的机制联系。

[0184] 先前的研究指出抑制HSP90可降低JAK2水平,并且表明JAK2可能是HSP90的客户蛋白(Marubayashi等人, 2010) (Proia等人, 2011)。然而,迄今为止,尚未得出HSP90抑制和PD-L1表达的直接联系。本文报道的结果表明,HSP90抑制剂可通过针对其中篡夺PD-1/PD-L1轴以逃避免疫监视的情况调节免疫反应而具有治疗效果。如本文所述,可利用该机制提供使用单独或与其他活性剂组合的低剂量HSP90抑制剂进行癌症治疗的新方法。

[0185] 当比较HSP90抑制剂发挥其对PD-L1的免疫调节作用的浓度与发挥其抗增殖作用的浓度时,很明显HSP90抑制剂对抑制IFN- $\gamma$  诱导的PD-L1表达的作用发生在远低于抗增殖活性所需的浓度的浓度下(参见图1)。

[0186] 因此,我们试图通过测试我们~2500种药物库中不存在的另外的HSP90抑制剂来扩展我们的HTS筛选的初步发现。测试STA-9090、MPC-3100、CUDC-305、XL-888和TAS-116抑制IFN- $\gamma$  诱导的PD-L1表达的能力。如图2所示,5种另外测试的HSP90抑制剂显示出相同的趋势——抑制IFN- $\gamma$  诱导的PD-L1表达所需的浓度(红线)远低于影响细胞增殖所需的浓度,因为在最高测试浓度(1000 nM)下生存力仍高于80%。

[0187] 为了证实我们的发现适用于其他细胞类型,使用另外的人乳腺癌细胞系HCC-38。用IFN- $\gamma$  (50 ng/ml)处理HCC-38细胞,并用10、100、1000和5000 nM的MPC-3100共处理48小时。如图3所示,IFN- $\gamma$  诱导的PD-L1表达被在100 nM的MPC-3100降低,并且在1000 nM下被完全消除。

[0188] 考虑到以推荐的2期剂量给药的患者血浆中MPC-3100的最大浓度( $C_{max}$ ,几何平均值)为~13  $\mu$ M,MPC-3100对PD-L1引发免疫调节活性的浓度为至多1/10。

[0189] 为了验证MPC-3100对消除IFN- $\gamma$  诱导的PD-L1表达(如通过测量总细胞内蛋白的蛋白质印迹检测的)的活性导致细胞表面表达降低,进行流式细胞术。使用两种人类细胞系(SK-MEL-28和HCC-38细胞)和使用两种鼠细胞系(B16-F10 (黑素瘤细胞系)和EMT-6 (乳腺癌细胞系))。用IFN- $\gamma$  (50 ng/ml)处理所有细胞系,并用所示浓度的MPC-3100共处理48小时。如图4所示,所有测试的细胞系均显示MPC-3100有效抑制IFN- $\gamma$  诱导的PD-L1的细胞表面表达。

[0190] 由于IFN- $\gamma$  刺激其靶基因比如PD-L1的表达(其经由JAK/STAT-1信号传导介导),因此人HCC-38细胞系用于探测IFN- $\gamma$  诱导的PD-L1表达的机制。如图5所示,MPC-3100阻断IFN诱导的p-STAT1,表明这是MPC-3100如何阻断IFN- $\gamma$  诱导的PD-L1表达的机制。同样,发

生这种情况的浓度为推荐的2期药物的剂量的C<sub>max</sub>至多1/10。

[0191] 与以上发现一致,药物鲁索替尼(一种JAK2抑制剂)也通过其对JAK2的抑制活性来阻断IFN- $\gamma$ 诱导的PD-L1表达,如通过p-STAT的抑制测量的。

[0192] 大量研究表明,使细胞暴露于HSP90抑制剂导致体外和体内的HSP70表达的自相矛盾的增加。如图5所示,用MPC-3100处理的HCC-38细胞也显示出HSP70表达的增加。

[0193] 基于这些发现,我们测试了吡啶胺2,3-双加氧酶(IDO,另一种与免疫抑制有关的IFN- $\gamma$ 诱导的蛋白(Curti等人,2009))是否可被HSP90抑制剂阻断。如所预期的,仅用IFN- $\gamma$ 处理的HCC-38细胞诱导IDO的表达。然而,当HCC-38细胞用IFN- $\gamma$ 和MPC-3100(1000 nM或5000 nM)共处理时,IDO表达被抑制(图6)。

[0194] 总之,这些发现确立,HSP90抑制剂通过阻断STAT-1信号传导,可有效地阻断IFN- $\gamma$ 诱导的PD-L1和IDO表达。尽管HSP90抑制剂显示出抗增殖活性,但对消除IFN- $\gamma$ 诱导的PD-L1表达的作用发生在非细胞毒性的浓度下。这一发现在不同细胞类型以及不同物种得到证实,表明这一现象应可广泛转化。此外,这些发现表明MPC-3100在不降低细胞生存力并且还处于亚细胞毒性浓度的浓度下具有阻断IFN- $\gamma$ 介导的信号传导的生物活性。

[0195] 除了PD-L1表达受IFN- $\gamma$ 以可诱导方式调控之外,一些研究表明基因扰动可导致PD-L1的组成型表达(Parsa等人,2007)。事实上,具有PTEN突变的神经胶质瘤细胞系显示出Akt的过度活化,导致组成型PD-L1表达。与具有野生型PTEN的神经胶质瘤细胞系相比较,PD-L1的水平显著更高(Parsa等人,2007)。

[0196] 为了测试HSP90抑制剂是否有效降低PD-L1的组成型表达,用MPC-3100以500或1000 nM处理U87细胞(人神经胶质瘤)24小时。然后制备裂解物并使用蛋白质印迹分析查询蛋白表达。如图7所示,U87细胞不具有JAK-STAT-1信号传导的基础激活,如缺乏可检测的p-STAT所证实的那样。然而,由于这些细胞含有突变体PTEN,因此存在如pAkt所证实的AKT信号传导的过度活化。此外,正如Parsa等人研究所预期的那样,存在PD-L1的高基础表达。然而,在用MPC-3100处理的U87细胞中,存在pAkt的减少和PD-L1的衰减。这些数据表明,在致癌基因诱导PD-L1表达的条件下,MPC-3100能够阻断抑制PD-L1的表达。此外,PD-L1表达的抑制发生在治疗剂量的~1/10的浓度下。

[0197] 为了观察低剂量的HSP90抑制剂是否表现出比RP2D更高或相似的临床功效,我们对I期临床试验进行了荟萃分析,所述试验包括跨越20个不同试验的12种不同抑制剂(Saif等人,2014; Bauer等人,2013; Siegal等人,2011; Pacey等人,2011; Yong等人,2016; Reddy等人,2013; Isambert等人,2015; Doi等人,2014; Padmanabhan等人,2010; Mahadevan等人,2012; Maddocks等人,2016; Lancet等人,2010; Hong等人,2013; Solit等人,2007; Nowakowski等人,2006; Goldman等人,2013; Kummar等人,2010; Cho等人,2011; Wagner等人,2013; LAM Therapeutics,保密的)。仅分析了对于至少4个治疗周期具有稳定疾病或具有临床反应的患者。将不同试验中测试的剂量相对于每种药物和适应症推荐的2期剂量进行标准化,并计算每个剂量组的剂量百分比(%RP2D)。然后将跨越所有试验具有稳定疾病或临床反应的患者根据治疗其的%RP2D进行分组,以计算跨越所有试验的每剂量组的稳定疾病百分比(%稳定疾病)和反应百分比(%反应)。

[0198] 结果显示,较低剂量的HSP90抑制剂比推荐的2期剂量更多地出现稳定疾病(图8)和临床反应(图9)。这是当HSP90抑制剂为RP2D的0-25%、当HSP90抑制剂为RP2D的25-50%和

当HSP90抑制剂为RP2D的50-75%时。当组合所有低于RP2D的75%的剂量时,该观察结果达到统计显著性(Fisher检验P值= 0.005)。对于实体或造血和淋巴瘤观察到类似的趋势(图10),因为无论其肿瘤类型如何均在较低剂量下观察到具有稳定疾病或临床反应的患者。此外,我们的分析表明,观察到的“低剂量临床功效”为HSP90药物类别的共同特征,因为所有分析的HSP90抑制剂在低于RP2D的剂量下均显示出功效(图10)。这表明该应用的前提应适用于临床中使用的任何HSP90抑制剂。

[0199] 这些结果支持这样的假设:当以较低剂量给予时,HSP90抑制剂具有较高的临床功效,因此支持该药物类别在癌症治疗中的免疫-肿瘤学作用。

[0200] 因此,总的来说,在RP2D的0-25%、25-50%、50-75%或75-90%的剂量显示临床活性的HSP90抑制剂所呈现的数据,可作为单一药物转化于临床中,或者可减少与靶向PD-1/PD-L1轴的检查点抗体的组合疗法所需的剂量。这包括靶向PD-1的抗体比如纳武单抗、派姆单抗、AMP-224、BGB-317 (中国)、SHR-1210、JTX-4014、AMP-514/MEDI-0680、GLS-010,或靶向PD-L1的抗体比如阿特珠单抗、德瓦鲁单抗、阿维鲁单抗和BMS936559 (MDX-1105)。鉴于CTLA-4和PD-1/PD-L1免疫疗法之间的协同作用,当与CTLA-4免疫疗法比如替西木单抗和伊匹单抗组合时,较低剂量HSP90抑制剂可为类似有效的。

[0201] 经临床验证显示对PD-1/PD-L1抑制剂具有敏感性的癌症比如黑素瘤、霍奇金淋巴瘤、NSCLC、膀胱癌、肾细胞癌可对较低剂量HSP90抑制剂显示出等同的敏感性。

[0202] 实施例2:来自不同化学类别的HSP90抑制剂各自在其抗癌活性方面与选择性BCL-2抑制剂维特克拉协同作用

使用代表6种不同化学骨架的HSP90抑制剂检测HSP90抑制剂与选择性BCL-2抑制剂维特克拉协同作用的能力。这些包括嘌呤样抑制剂MPC-0767、间苯二酚衍生物AT-13387、格尔德霉素衍生物坦螺旋霉素、吡唑并吡啶衍生物TAS-116、二氢吲唑酮衍生物SNX-5422和托烷衍生物XL888。选择具有这种不同化学骨架的抑制剂增加所得的任何观察结果归因于在靶活性(即HSP90抑制)的可能性,因为预期任何脱靶效应在不同抑制剂分子之间,并且尤其是在基于不同化学骨架的不同抑制剂分子之间变化。

[0203] 我们还试图确定HSP90抑制剂是否在不同癌症类型中与BCL-2抑制剂维特克拉协同作用。为此,我们使用4种不同的癌细胞系,其代表3种类别的造血和淋巴瘤(白血病、淋巴瘤和骨髓瘤)的每一种。对于白血病,我们使用急性髓样白血病(AML)细胞系MV-4-11;对于淋巴瘤,我们使用弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)细胞系OCI-LY-19和套细胞淋巴瘤细胞系Z138;对于骨髓瘤,我们使用多发性骨髓瘤细胞系KMS-28。

[0204] 将细胞用维特克拉与6种HSP90抑制剂的每一种的组合以表2所示的浓度进行处理。

[0205] 表2:测试的细胞系、HSP90抑制剂和药物浓度 (nM)

	MV-4-11	OCI-LY-19	Z138	KMS-28
维特克拉	0.78 - 100	0.78 - 100	0.78 - 100	3.9 - 500
MPC-0767	78 - 10000	78 - 10000	78 - 10000	78 - 10000
坦螺旋霉素	7.8 - 1000	7.8 - 10000	7.8 - 1000	78 - 10000
TAS-116	7.8 - 1000	7.8 - 1000	7.8 - 1000	7.8 - 1000
AT-13387	7.8 - 1000	7.8 - 1000	7.8 - 1000	7.8 - 1000

SNX-5422	7.8 - 1000	7.8 - 1000	7.8 - 1000	7.8 - 1000
XL-888	7.8 - 1000	7.8 - 1000	7.8 - 1000	7.8 - 1000

用所示的药物组合处理72小时之后,使用CellTiter-Glo评价细胞生存力。进行等效线图分析以确定协同相互作用。简而言之,使用标准化的等效线图描绘在75%的剂量效应(EC75)下跨越不同细胞系观察到的药物相互作用。使用R包DRC计算每种单一药物和药物组合的绝对EC75 (Ritz等人, Dose-Response Analysis Using R. PLoS One. 2015. 10 (12):e0146021; R Core Team, A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2017)。接下来,我们将药物组合的EC75相对于相应的单一药物EC75值标准化。在单一药物处理未达到EC75的情况下,然后基于拟合药物反应曲线的预计值使用相对EC75。当相对EC75高于测试的最大浓度时,我们使用测试的最大浓度作为默认值,以允许跨越所有药物和条件的分析。

[0206] 如图11所示,每种HSP90抑制剂在所有细胞系均显示出与维特克拉的协同活性。这在图中通过每个数据点的位置低于可加性线(其在每个曲线中显示为虚线)来证明。

[0207] 这些发现表明HSP90抑制剂通常能够与维特克拉协同作用以抑制造血和淋巴瘤中的细胞生存力。这些数据还表明,协同抗癌活性是由于HSP90的在靶抑制,而不是脱靶效应。

[0208] 实施例3:BCL-2丰度预测多种癌症中MPC-0767与维特克拉之间的协同作用

已显示维特克拉敏感性与其分子靶标BCL-2蛋白的丰度相关(Pan等人, Selective BCL-2 inhibition by ABT-199 causes on-target cell death in acute myeloid leukemia. Cancer Discov. 2014; 4 (3):362-75)。

[0209] 为了测试BCL-2丰度是否预测本文观察到的HSP90抑制剂与维特克拉之间的协同作用,我们使用流式细胞术分析了在基础条件下代表急性髓样白血病(MV-4-11、MOLM-16、TUR和U937)、多发性骨髓瘤(KMS-28)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(OCI-LY-19)和套细胞淋巴瘤(Z138)的细胞系中的BCL-2丰度。

[0210] 同时,代表急性髓样白血病、多发性骨髓瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤和套细胞淋巴瘤的相同细胞系用维特克拉处理72小时,并通过CellTiter-Glo测定细胞生存力。如上所述测定EC<sub>50</sub>值。

[0211] 这些数据显示BCL-2的基础水平与维特克拉敏感性之间的趋势(图12)。我们接下来确定观察到的HSP90抑制剂和维特克拉协同作用是否取决于基础BCL-2水平。每个细胞系用MPC-0767和维特克拉的组合处理,并且72小时后使用CellTiter-Glo测定生存力。如上所述测定协同作用。如图12所示,在具有高BCL-2水平的4种细胞系中的4种中观察到与MPC-0767和维特克拉的协同作用。相反,在具有低BCL-2水平的3种细胞系中未观察到协同作用。这些发现表明,依赖于BCL-2的癌症可能尤其易受用HSP90抑制剂和BCL-2途径抑制剂的组合治疗的影响。

[0212] 实施例4:MPC-0767阻断干扰素诱导的PD-L1表达

从T细胞释放干扰素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )在宿主对感染的免疫反应中起关键作用。然而,这种释放的IFN- $\gamma$ 还提供肿瘤细胞可藉此通过诱导程序性死亡-配体-1 (PD-L1)来逃避免疫系统的机制。

[0213] 为了确定MPC-0767是否能在AML细胞中阻断IFN- $\gamma$ 诱导的PD-L1表达,4种携带WT



FLT3 (n = 2) 或FLT3-ITD (n = 2) 的AML细胞系用单独的人IFN- $\gamma$  (50 ng/ml)、单独的MPC-0767 (2  $\mu$ M) 或组合处理24小时。收获细胞以通过流式细胞术确定PD-L1细胞表面表达。细胞还用生存力染色剂染色以对活细胞进行门控并排除任何死细胞。如图13A-D所示, 所有细胞系响应IFN- $\gamma$  处理诱导PD-L1细胞表面表达(6-25倍)。尽管单独的MPC-0767没有显著降低基础PD-L1细胞表面表达, 但与IFN- $\gamma$  组合时, MPC-0767在所有细胞系中降低了IFN- $\gamma$  诱导的PD-L1细胞表面表达(范围:降低43-83%)。

[0214] 这些数据表明MPC-0767通过阻断IFN- $\gamma$  诱导的PD-L1表达在AML细胞中显示出免疫调节活性。

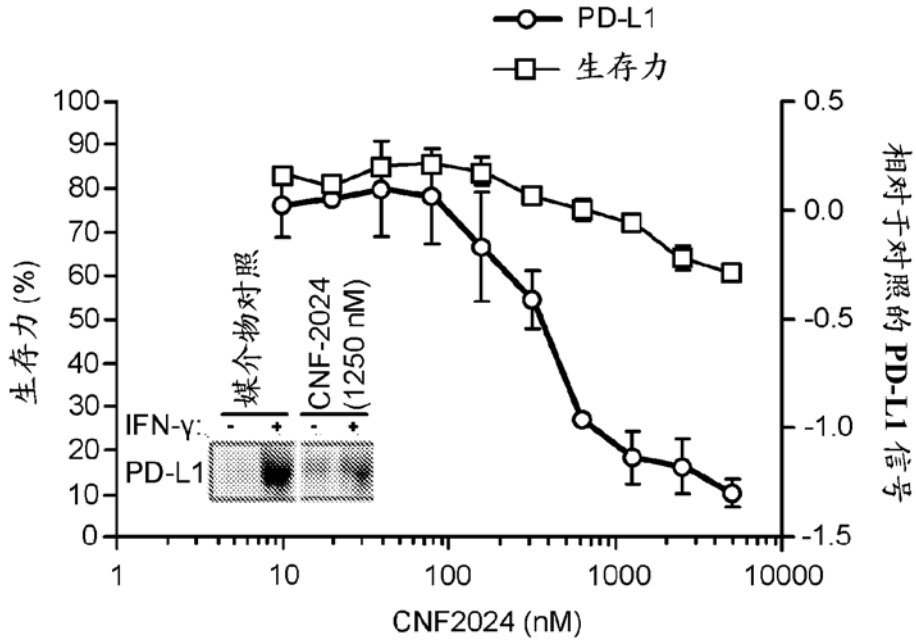


图 1A

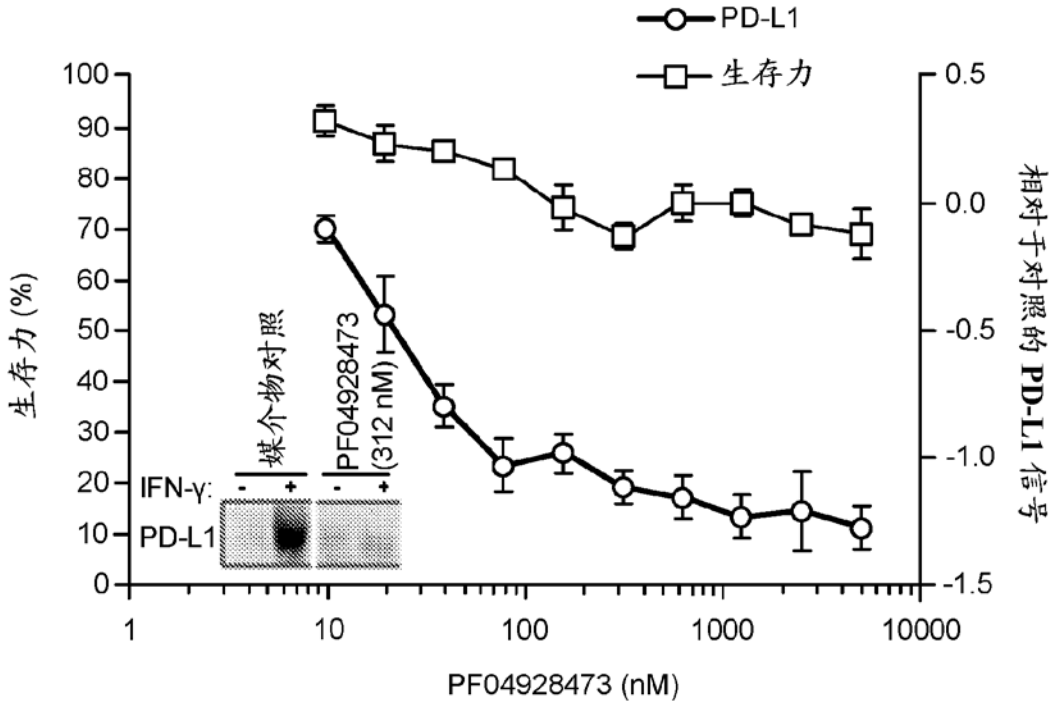


图 1B

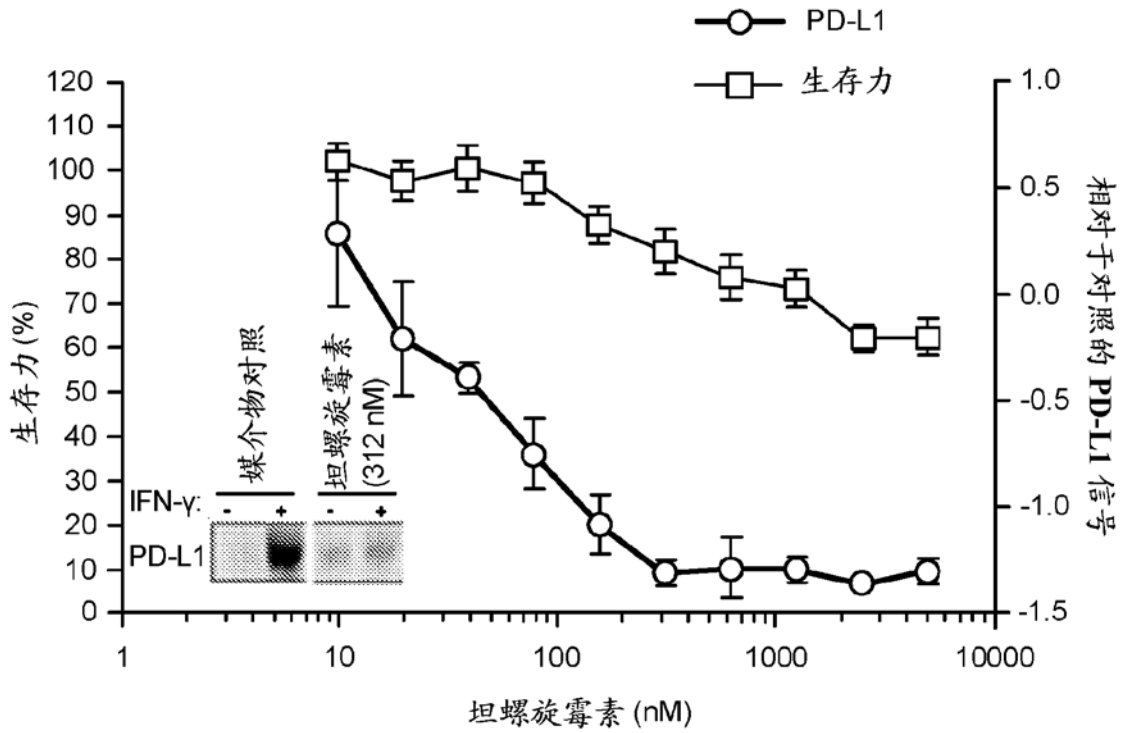


图 1C

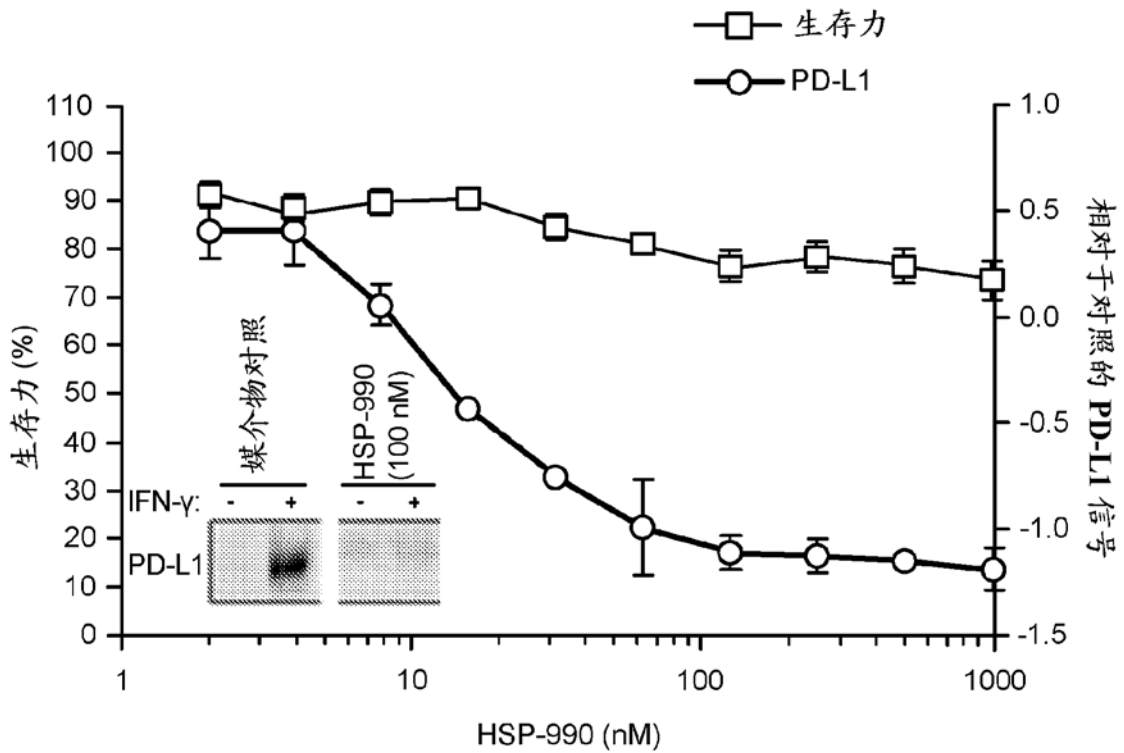


图 1D

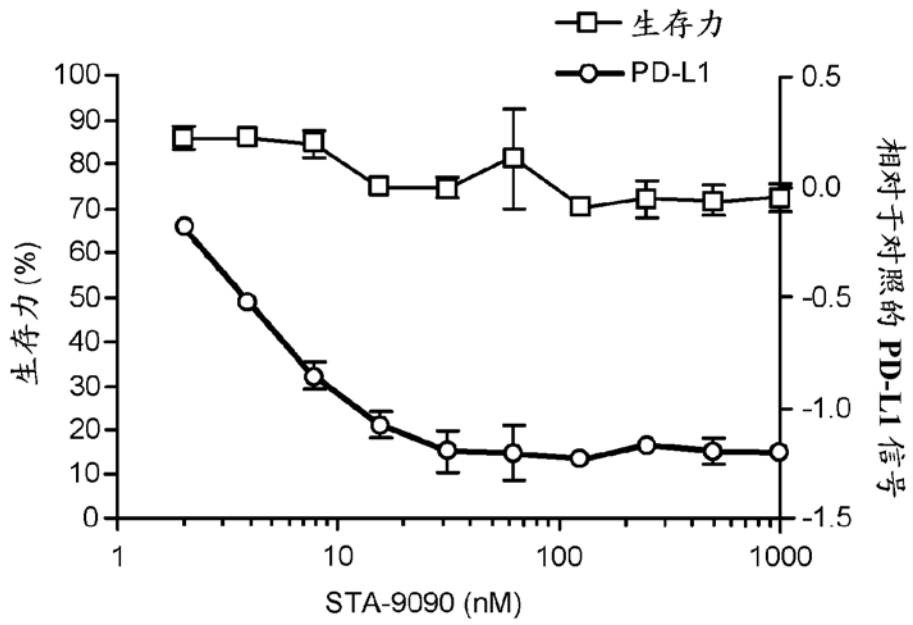


图 2A

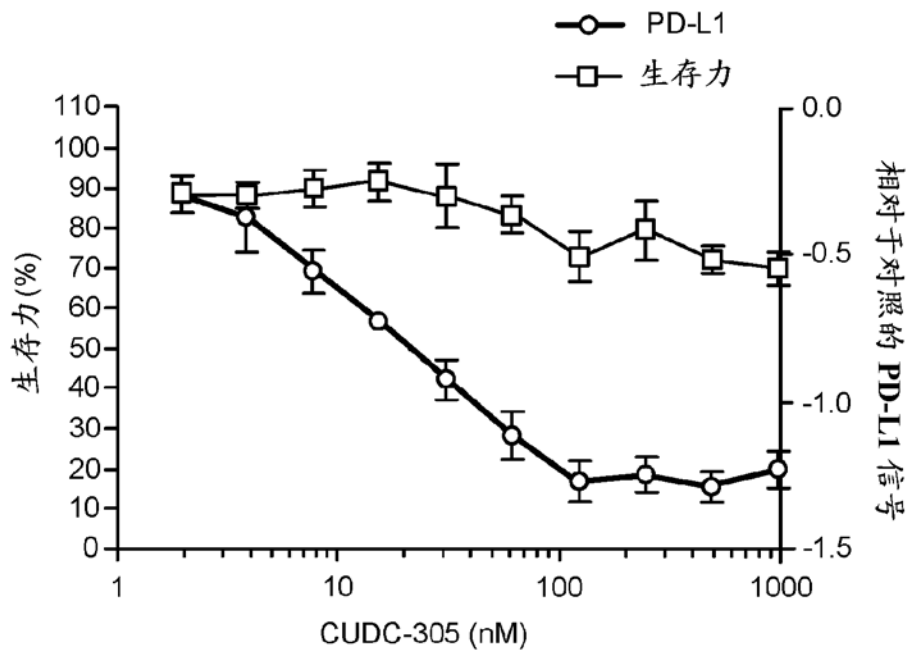


图 2B

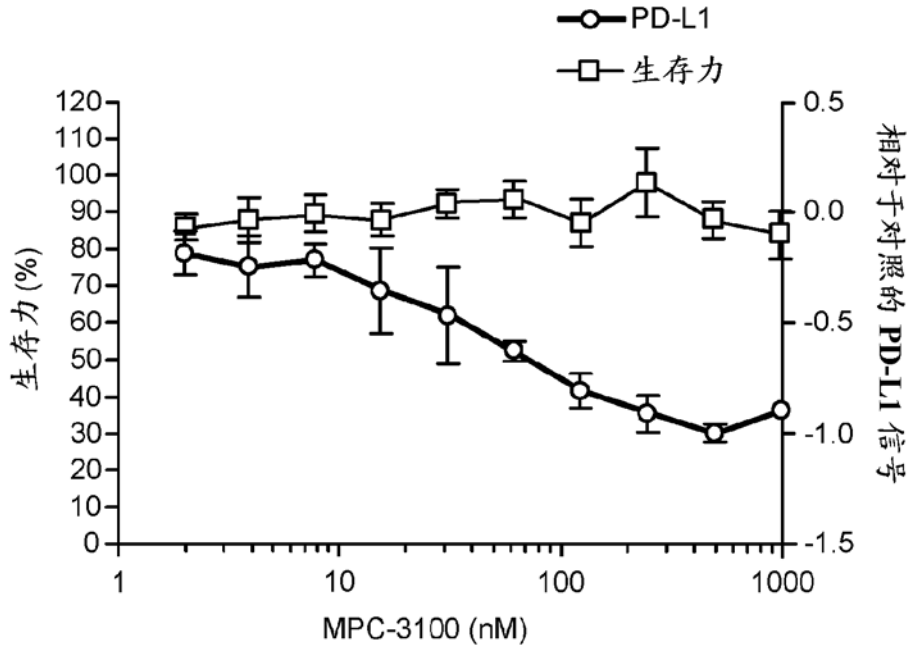


图 2C

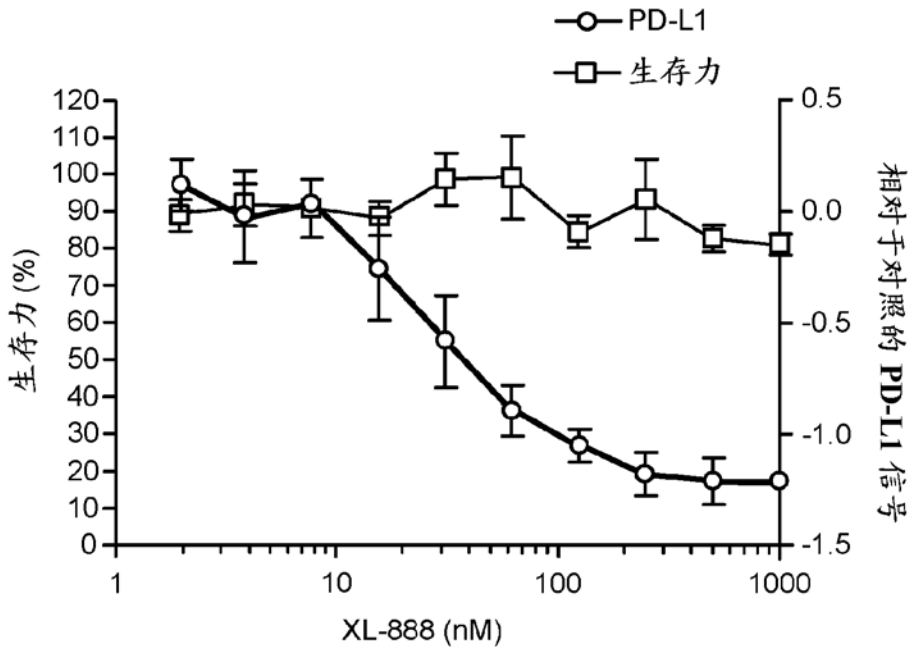


图 2D

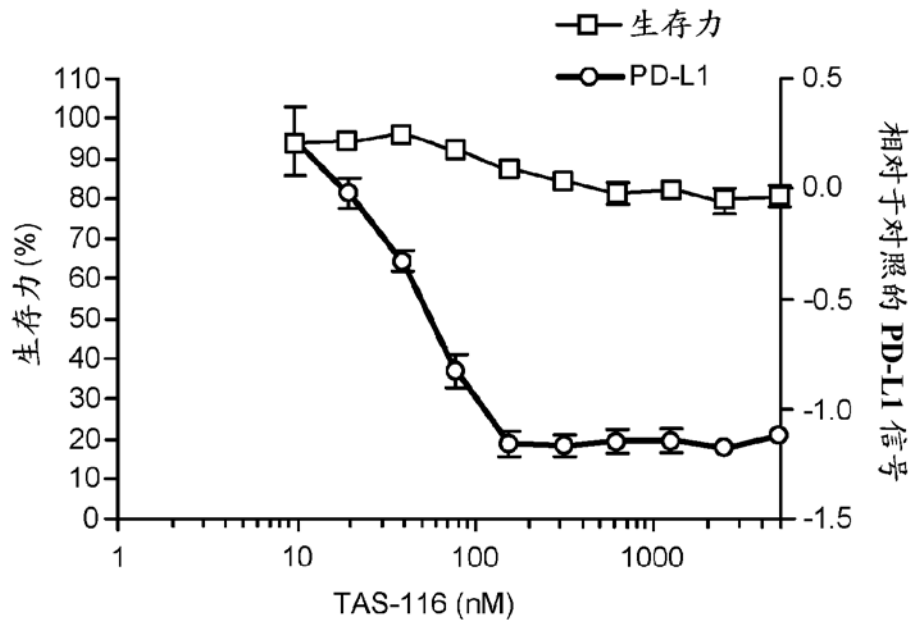


图 2E

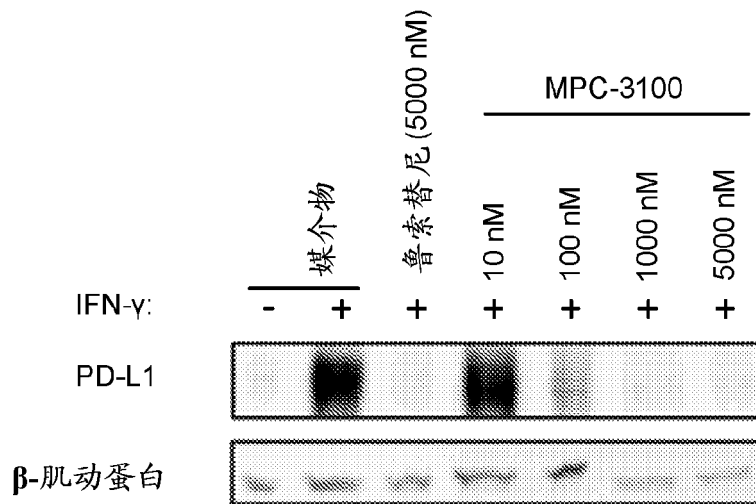


图 3

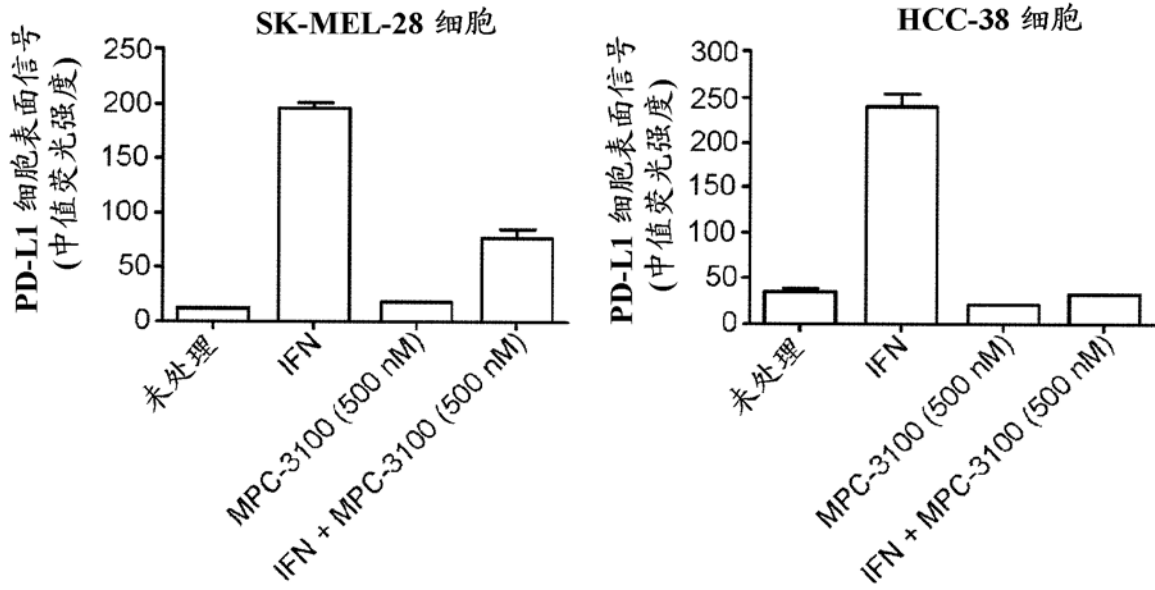


图 4A

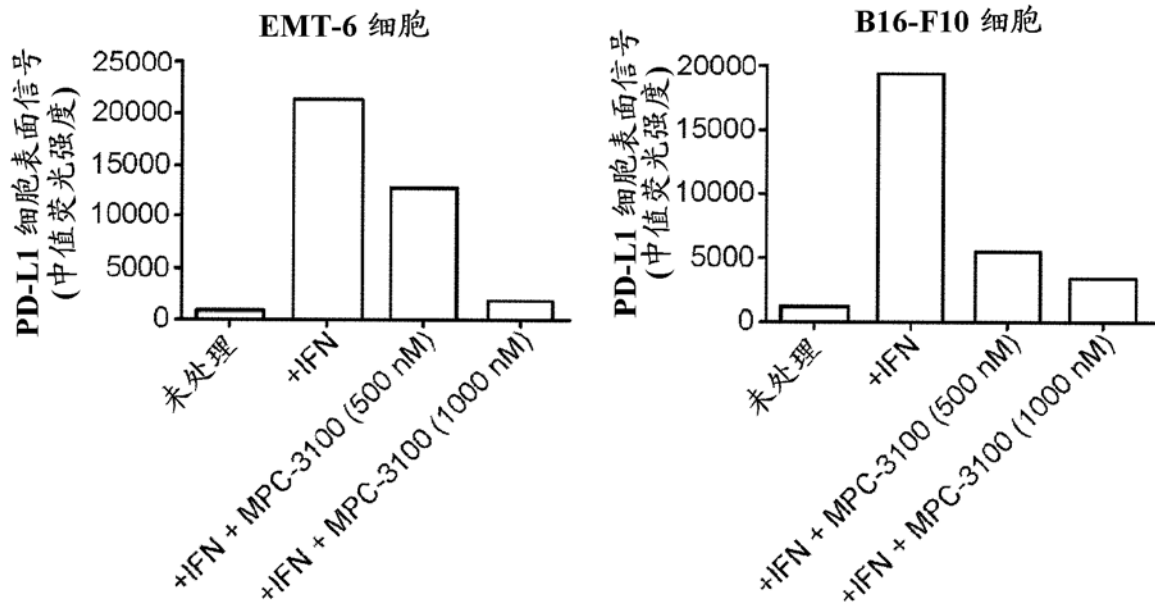


图 4B

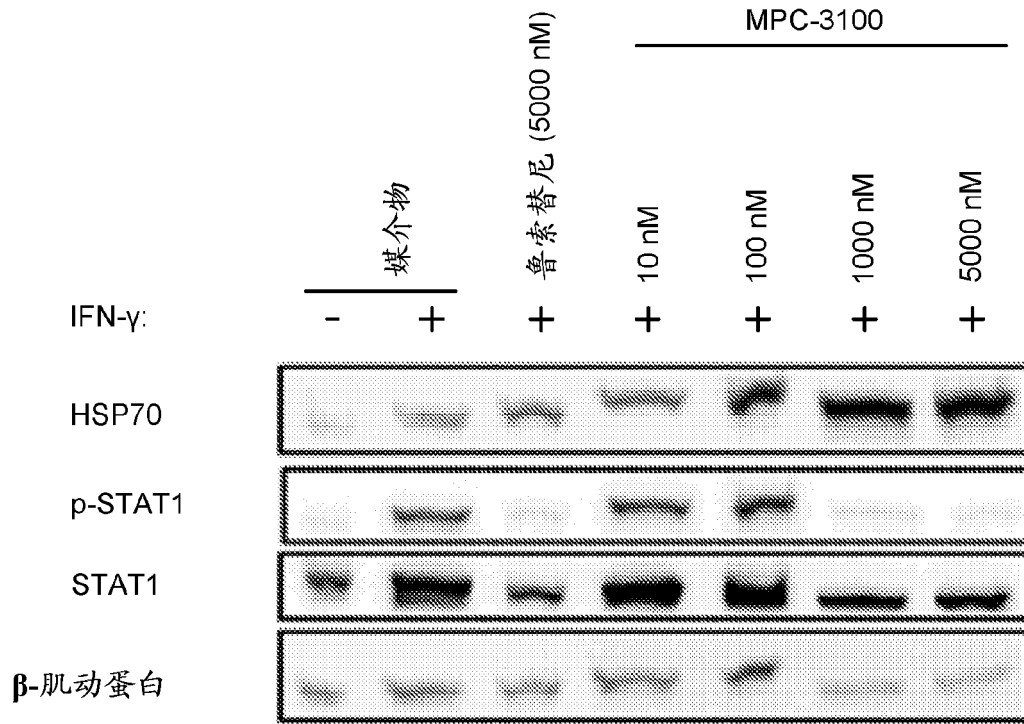


图 5



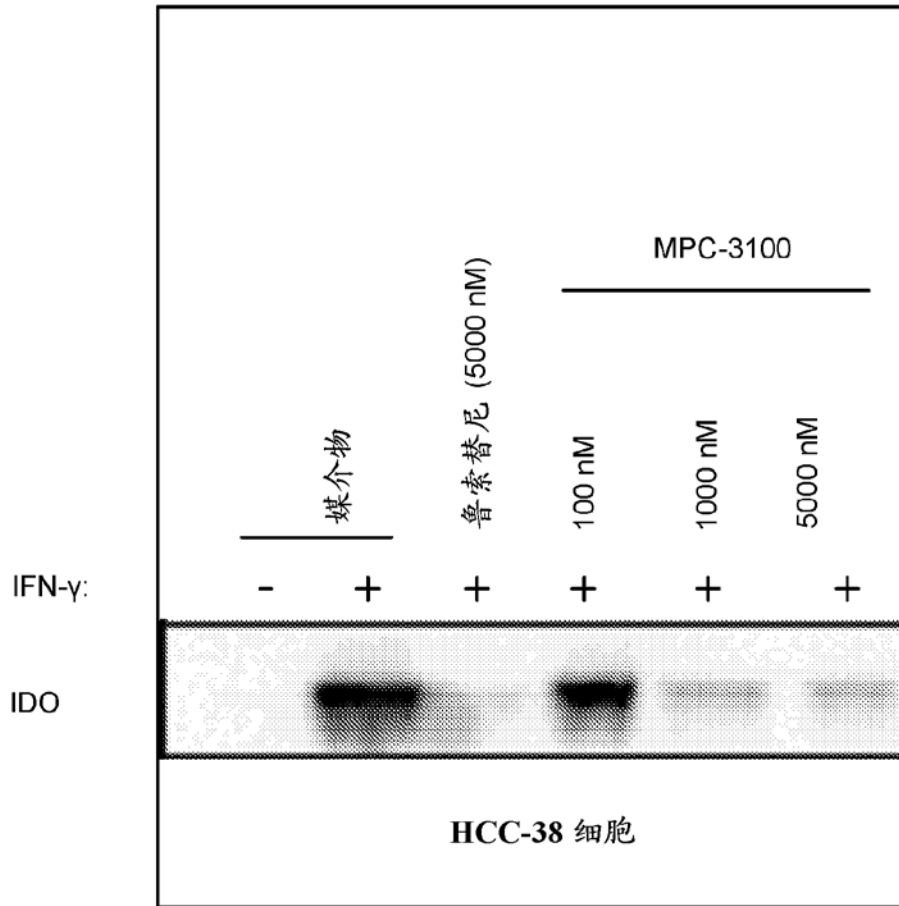


图 6

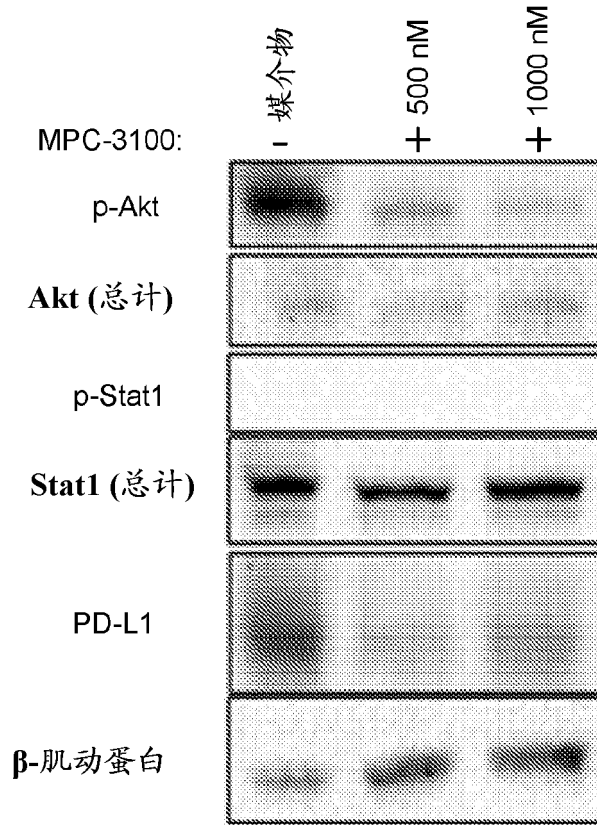


图 7

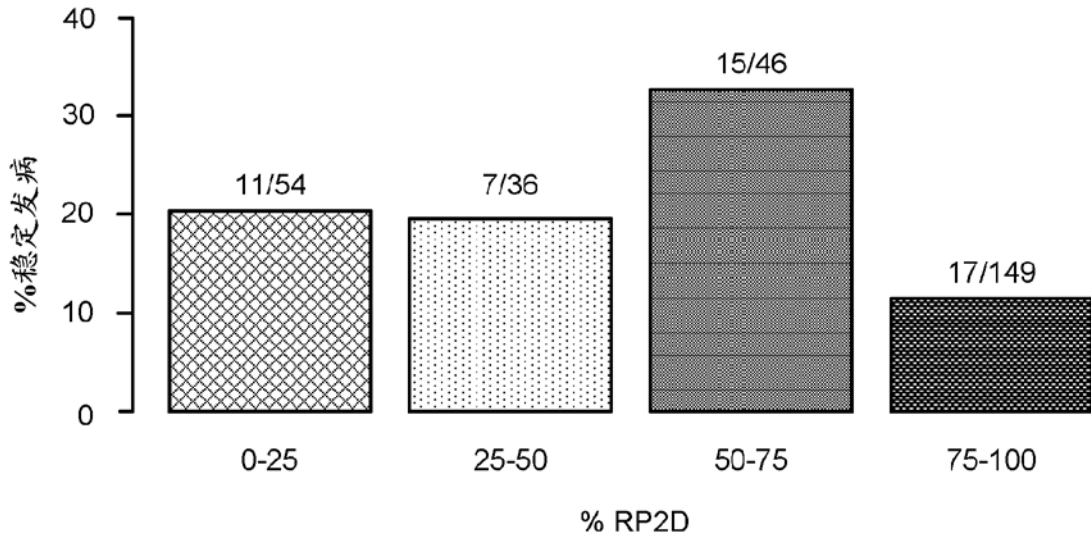


图 8

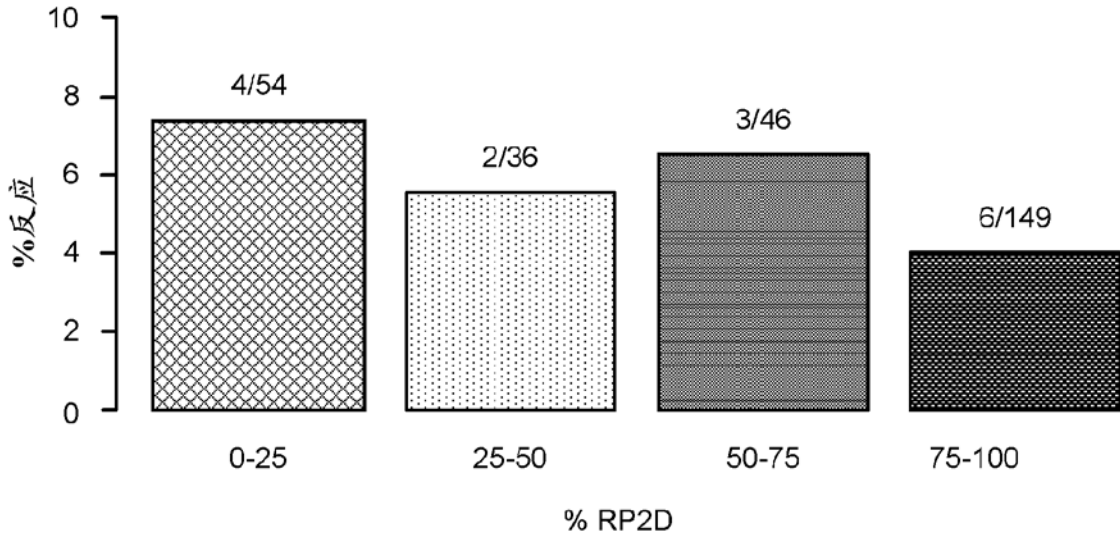


图 9

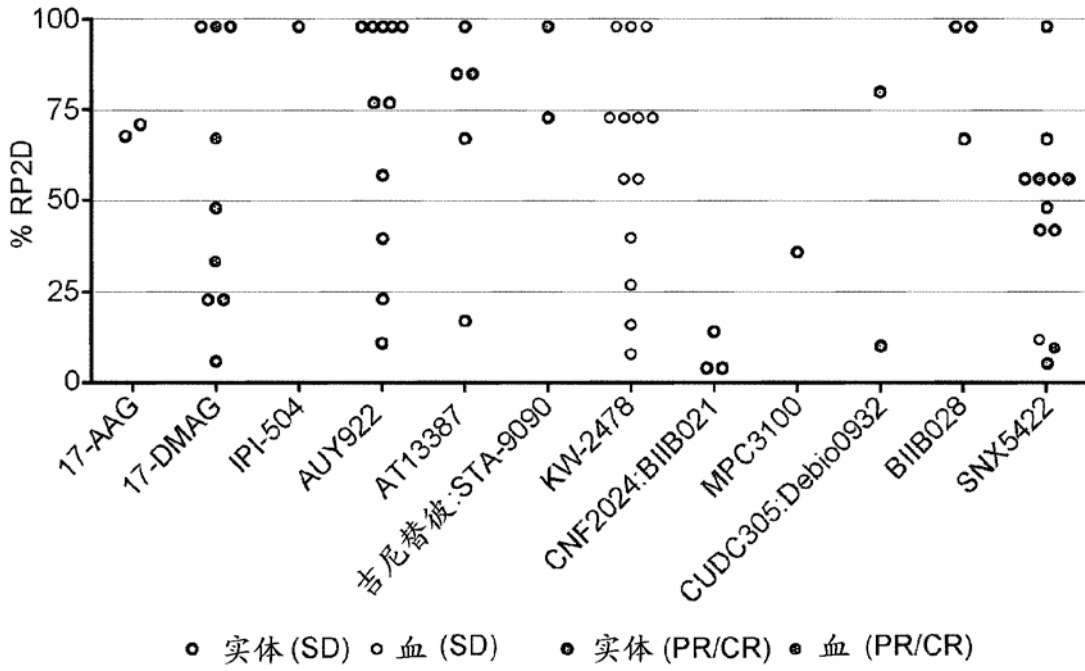


图 10

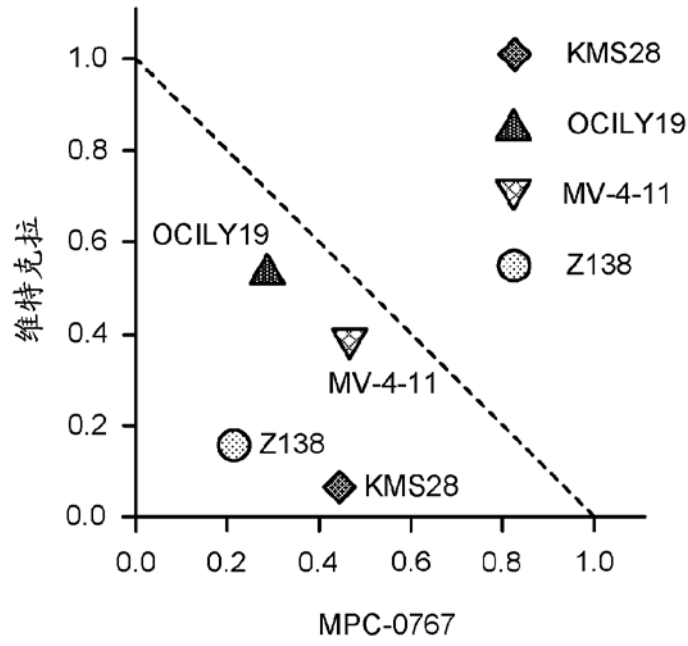


图 11A

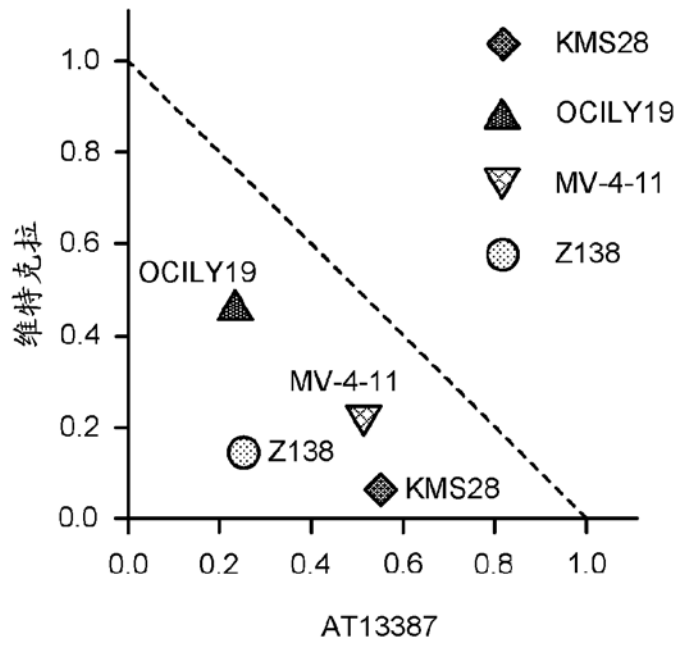


图 11B

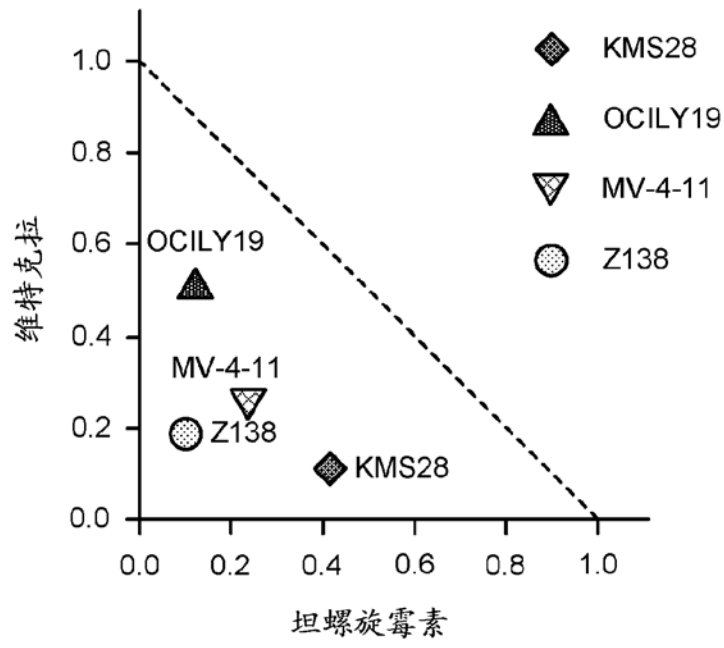


图 11C

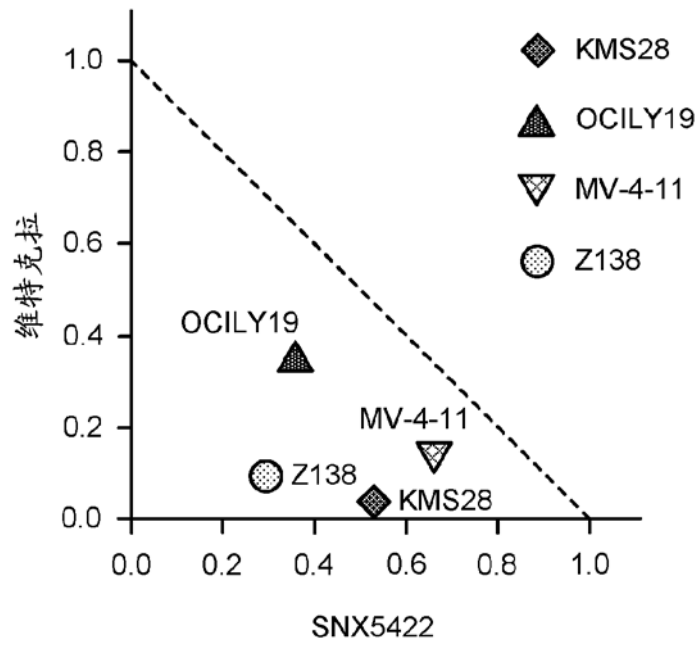


图 11D

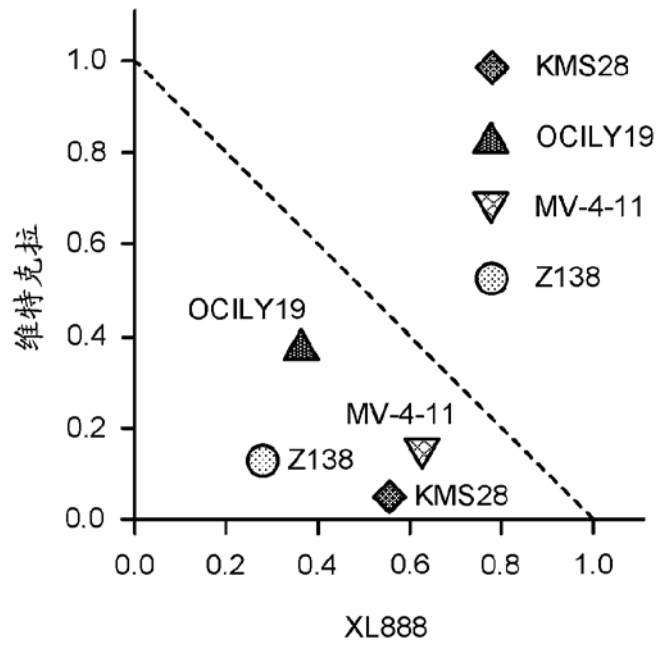


图 11E

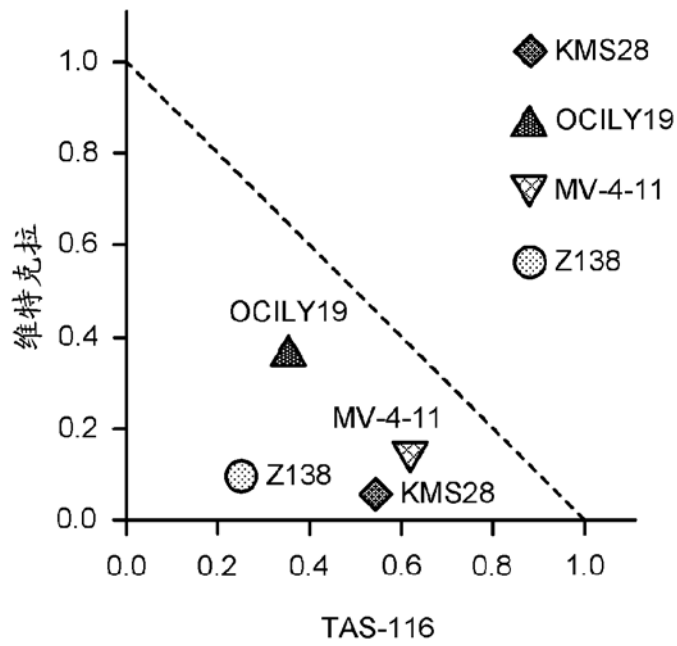


图 11F

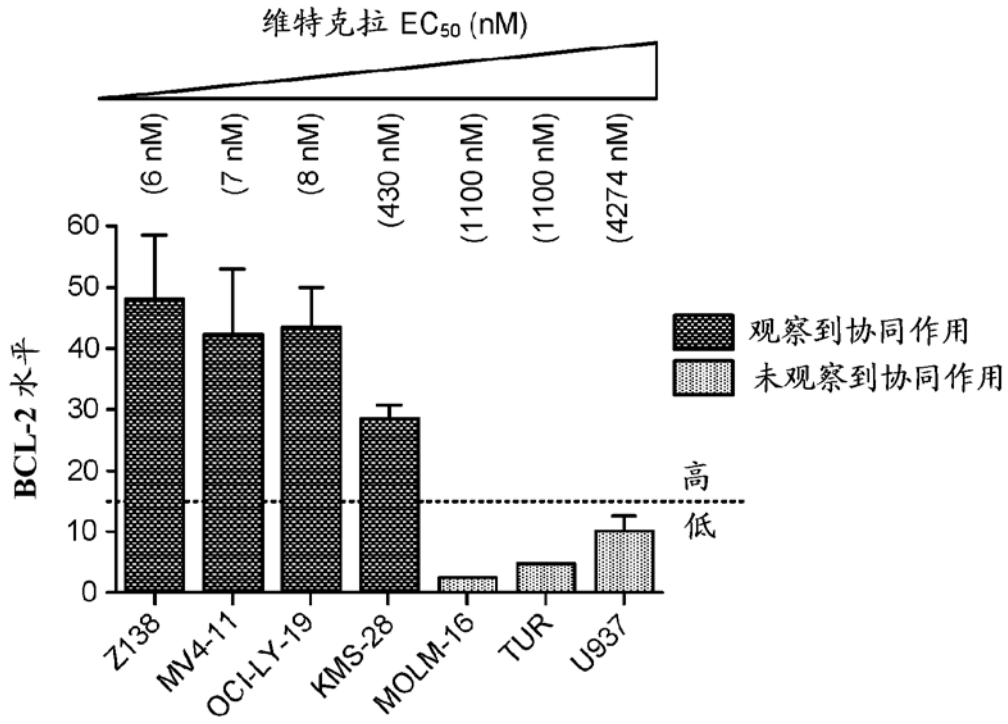


图 12

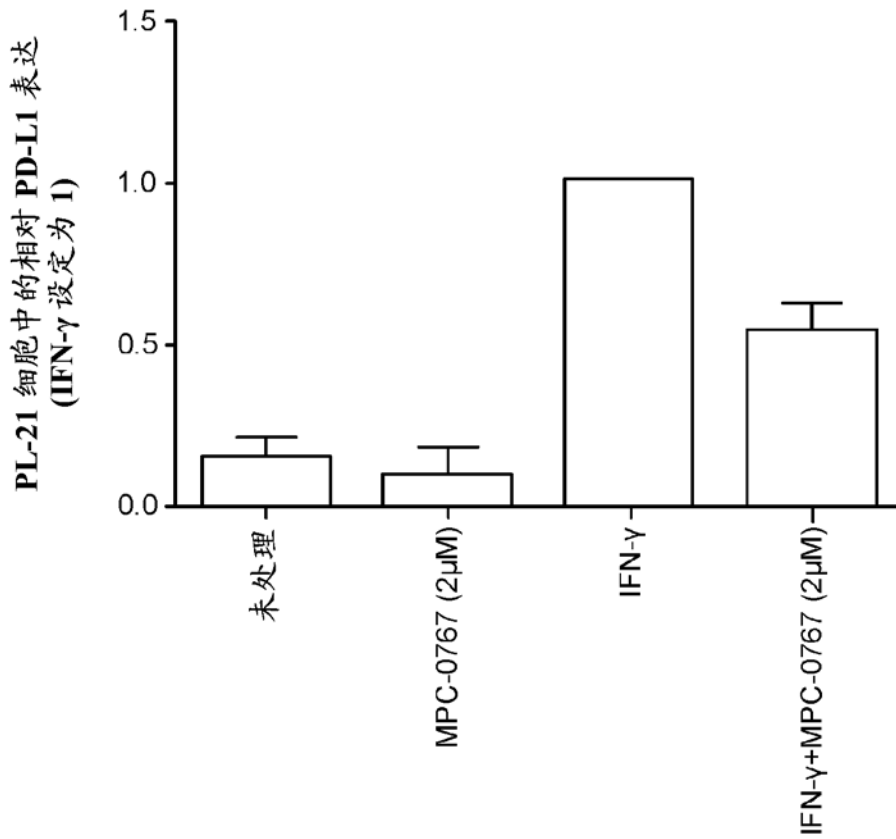


图 13A

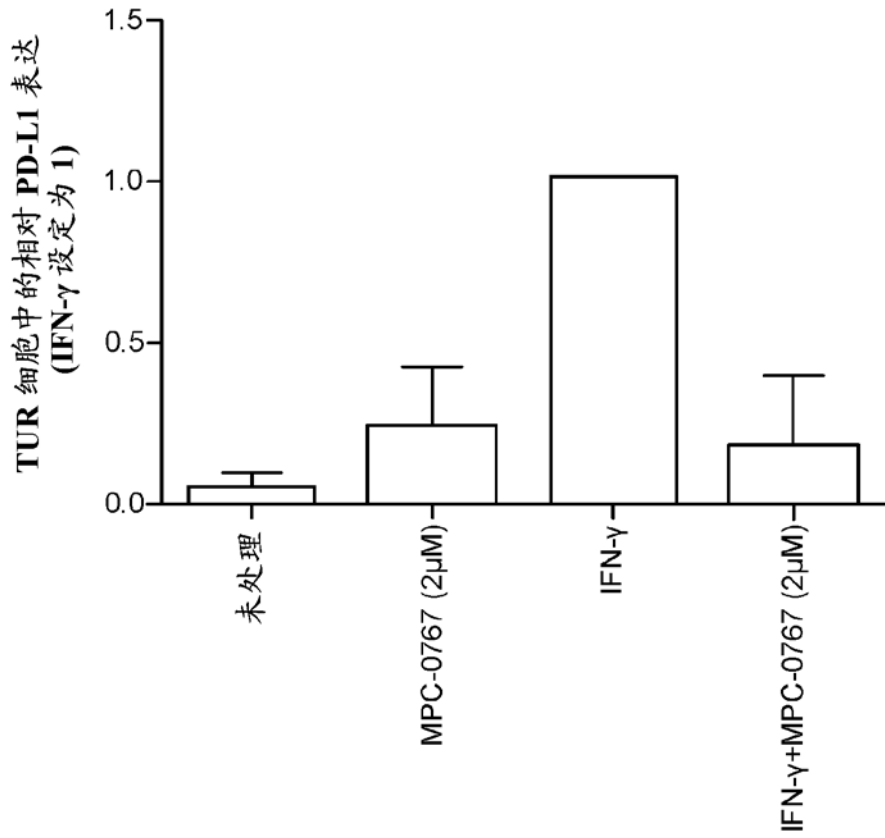


图 13B



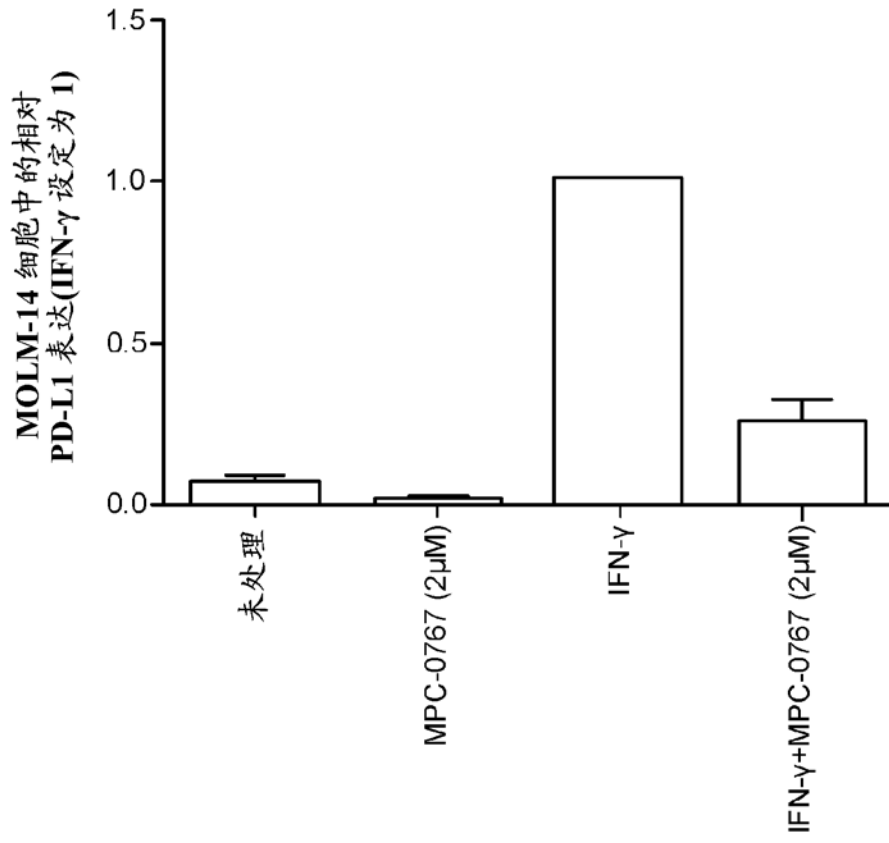


图 13C

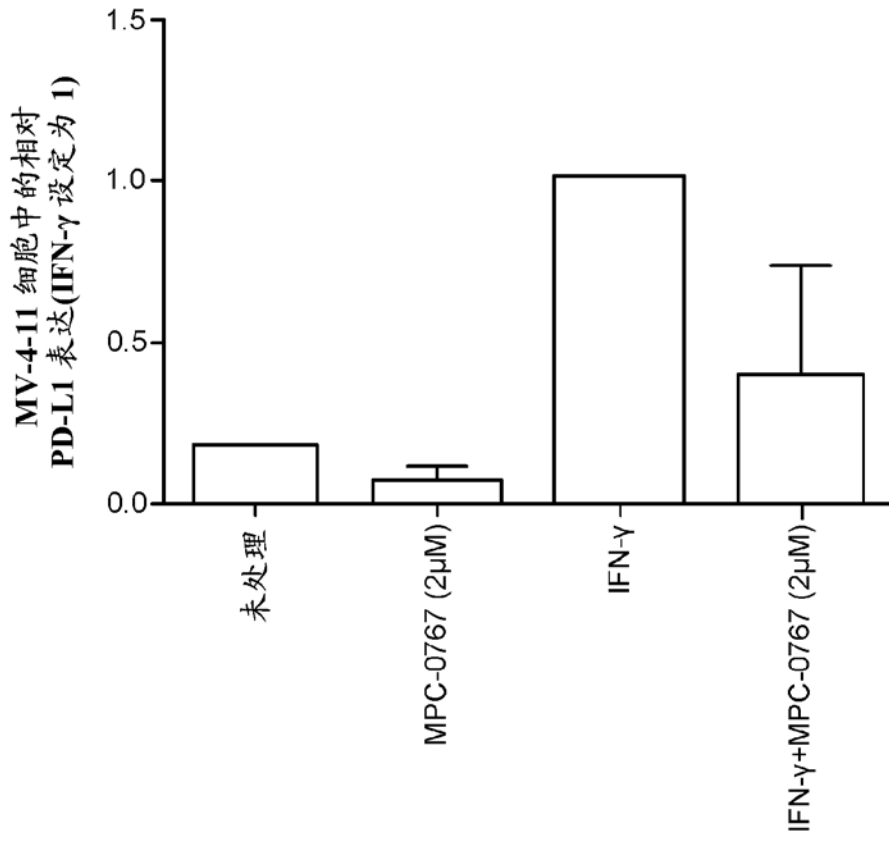


图 13D