



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109195593 A

(43)申请公布日 2019.01.11

(21)申请号 201780029779.1

(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所

(22)申请日 2017.03.13

11247

(30)优先权数据

62/308,529 2016.03.15 US

代理人 张建 黄革生

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.11.14

(51)Int.Cl.

A61K 31/12(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2017/055784 2017.03.13

A61K 31/135(2006.01)

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/157825 EN 2017.09.21

A61K 31/19(2006.01)

(71)申请人 奥莱松基因组股份有限公司

地址 西班牙马德里

A61K 31/282(2006.01)

(72)发明人 M·德马里奥 W·皮尔塞尔

F·麦克 T·梅斯 S·鲁纳迪

A61K 31/337(2006.01)

A61K 31/4045(2006.01)

A61K 31/4745(2006.01)

A61K 31/475(2006.01)

A61K 31/495(2006.01)

A61K 31/519(2006.01)

A61K 31/555(2006.01)

A61K 31/704(2006.01)

A61K 31/7068(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

权利要求书3页 说明书65页 附图13页

(54)发明名称

用于治疗实体瘤的LSD1抑制剂的组合

(57)摘要

本发明涉及LSD1抑制剂与一种或多种另外的活性药物成分或其药学上可接受的盐的治疗组合。该组合特别地用于治疗肿瘤疾病,例如癌症,特别是小细胞肺癌(SCLC)。

1. 治疗组合,其包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和抑制剂或其药学上可接受的盐和一种或多种活性药物成分,其选自BCL2抑制剂、BET抑制剂、EZH2抑制剂、DOT1L抑制剂、Chk抑制剂、DNA烷化剂、HDAC抑制剂、拓扑异构酶抑制剂、抗有丝分裂药、Aurora激酶抑制剂及其药学上可接受的盐。

2. 治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种或多种活性药物成分,其选自ABT-199、ABT-263、ABT-737、ABT-888、ACY-1215、贝林司他、苯达莫司汀、BGJ398、BMS-906024、卡铂、CGK 733、顺铂、CPI-169、CPI-203、多西他赛、多柔比星、EPZ-004777、EPZ005687、EPZ-5676、EPZ-6438、厄洛替尼、依托泊苷、FLI 06、氟尿嘧啶、GDC-0449、吉西他滨、GSK126、GSK1324726A、GSK343、GSK-J1、GSK1210151A、伊立替康、(+)-JQ1、拉帕替尼、LDE225、LY2603618、LY-3039478、甲萘醌、甲氨蝶呤、MK-0752、MLN8237、MS 436、Nutlin-3A、奥巴克拉、OTX015、紫杉醇、帕比司他、培美曲塞、PF-04217903、PF-3084014、SAHA、SGC 0946、SNDX-275、Taladegib、替莫唑胺、托泊替康、TW-37、长春新碱及其药学上可接受的盐。

3. 根据权利要求1或2的治疗组合,其包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种BCL2抑制剂或其药学上可接受的盐。

4. 根据权利要求1或2的治疗组合,其包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种BCL2抑制剂,其选自ABT-199、ABT-263、ABT-737、奥巴克拉、TW-37及其药学上可接受的盐。

5. 根据权利要求1或2的治疗组合,其包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种BET抑制剂或其药学上可接受的盐。

6. 根据权利要求1或2的治疗组合,其包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种BET抑制剂,其选自CPI-203、GSK1324726A、GSK1210151A、(+)-JQ1、MS 436、OTX015及其药学上可接受的盐。

7. 根据权利要求1或2的治疗组合,其包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种EZH2抑制剂或其药学上可接受的盐。

8. 根据权利要求1或2的治疗组合,其包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种EZH2抑制剂,其选自CPI-169、EPZ005687、EPZ-6438、GSK126、GSK343及其药学上可接受的盐。

9. 根据权利要求1或2的治疗组合,其包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种DOT1L抑制剂或其药学上可接受的盐。

10. 根据权利要求1或2的治疗组合,其包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种DOT1L抑制剂,其选自EPZ-004777、EPZ-5676、SGC 0946及其药学上可接受的盐。

11. 根据权利要求1或2的治疗组合,其包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种Chk抑制剂或其药学上可接受的盐。

12. 根据权利要求1或2的治疗组合,其包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种Chk抑制剂,其选自LY2603618及其药学上可接受的盐。

13. 根据权利要求1或2的治疗组合,其包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种DNA烷化剂或其药学上可接受的盐。

14. 根据权利要求1或2的治疗组合,其包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种DNA烷化剂,其选自苯达莫司汀、卡铂、顺铂、替莫唑胺及其药学上可接受的盐。

15. 根据权利要求1或2的治疗组合,其包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种

HDAC抑制剂或其药学上可接受的盐。

16. 根据权利要求1或2的治疗组合,其包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种HDAC抑制剂,其选自ACY-1215、贝林司他、帕比司他、SAHA、SNDX-275及其药学上可接受的盐。

17. 根据权利要求1或2的治疗组合,其包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种拓扑异构酶抑制剂或其药学上可接受的盐。

18. 根据权利要求1或2的治疗组合,其包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种拓扑异构酶抑制剂,其选自依托泊昔、伊立替康、托泊替康及其药学上可接受的盐。

19. 根据权利要求1或2的治疗组合,其包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种Aurora激酶抑制剂或其药学上可接受的盐。

20. 根据权利要求1或2的治疗组合,其包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种Aurora激酶抑制剂,其选自MLN8237及其药学上可接受的盐。

21. 根据权利要求1或2的治疗组合,其包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种抗有丝分裂药或其药学上可接受的盐。

22. 根据权利要求1或2的治疗组合,其包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种抗有丝分裂药,其选自多西他赛、紫杉醇、长春新碱及其药学上可接受的盐。

23. 根据权利要求1或2的治疗组合,其包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐、拓扑异构酶抑制剂或其药学上可接受的盐和DNA烷化剂或其药学上可接受的盐。

24. 根据权利要求1或2的治疗组合,其包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐、依托泊昔或其药学上可接受的盐和卡铂或其药学上可接受的盐。

25. 根据权利要求1-24任一项的治疗组合,其中LSD1抑制剂选自:

4-[[4-[[[(1R,2S)-2-苯基环丙基]氨基]甲基]-1-哌啶基]甲基]-苯甲酸(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺、

(R)-1-(4-(((反式)-2-苯基环丙基)氨基)环己基)吡咯烷-3-胺、

4-(氨基甲基)-N-((反式)-2-苯基环丙基)环己胺、

N1-((反式)-2-苯基环丙基)环己烷-1,3-二胺、

N1-((反式)-2-苯基环丙基)环丁烷-1,3-二胺、

N1-((反式)-2-苯基环丙基)-2,3-二氢-1H-茚-1,3-二胺、

N1-甲基-N4-((反式)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺、

N1-((反式)-2-(4-溴苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、

N1-(2-(邻甲苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、

N1-(2-(4-甲氧基苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、

N1-(2-(2-氟苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、

N1-(2-(萘-2-基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、

N-(4'-((反式)-2-((4-氨基环己基)氨基)环丙基)-[1,1'-联苯]-3-基)-2-氰基苯磺酰胺、

N1-((反式)-2-(4-(吡啶-3-基甲氧基)苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、

及其药学上可接受的盐。

26. 根据权利要求1-25任一项的治疗组合,其中LSD1抑制剂是(反式)-NI-((1R,2S)-2-

苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺或其药学上可接受的盐。

27. 药物组合物,其包含根据权利要求1-26任一项的治疗组合和一种或多种药学上可接受的赋形剂。

28. 制品,其包含根据权利要求1-26任一项的用于治疗肿瘤疾病的治疗组合。

29. 根据权利要求1-26任一项的治疗组合,其用作治疗活性物质。

30. 根据权利要求1-26任一项的治疗组合,其用于治疗肿瘤疾病。

31. 用于治疗肿瘤疾病的方法,该方法包括对人或动物施用有效量的根据权利要求1-26任一项的治疗组合。

32. 用于治疗肿瘤疾病的方法,该方法包含通过施用LSD1抑制剂致敏然后对人或动物施用有效量的根据权利要求1-26任一项的治疗组合。

33. 用于治疗肿瘤疾病的方法,该方法包含通过施用(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺或其药学上可接受的盐致敏,然后对人或动物施用有效量的根据权利要求1-26任一项的治疗组合。

34. 根据权利要求1-26任一项的治疗组合在治疗肿瘤疾病中的用途。

35. 根据权利要求1-26任一项的治疗组合在制备用于治疗肿瘤疾病的药物中的用途。

36. 权利要求28的制品、用于根据权利要求29或30的治疗组合、权利要求31-33的方法或权利要求34或35的用途,其中所述肿瘤疾病是癌症。

37. 权利要求28的制品、用于根据权利要求29或30的治疗组合、权利要求31-33的方法或权利要求34或35的用途,其中所述肿瘤疾病是乳腺癌、前列腺癌、宫颈癌、卵巢癌、胃癌、结肠直肠癌、胰腺癌、肝癌、脑癌、神经内分泌癌、肺癌、肾癌、血液系统恶性肿瘤、黑色素瘤和肉瘤。

38. 权利要求28的制品、用于根据权利要求29或30的治疗组合、权利要求31-33的方法或权利要求34或35的用途,其中所述肿瘤疾病是实体瘤。

39. 权利要求28的制品、用于根据权利要求29或30的治疗组合、权利要求31-33的方法或权利要求34或35的用途,其中所述肿瘤疾病是小细胞肺癌(SCLC)。

40. 如上文所述的本发明。

用于治疗实体瘤的LSD1抑制剂的组合

发明领域

[0001] 本发明涉及LSD1抑制剂与一种或多种另外的活性药物成分或其药学上可接受的盐的治疗组合。该组合特别地用于治疗肿瘤疾病，例如癌症，特别是小细胞肺癌(SCLC)。

[0002] 发明背景

[0003] 与正常组织相比，受侵害组织中的异常基因表达是许多人类疾病的共同特征。对于癌症和许多神经系统疾病来说特征在于基因表达模式的改变是真实的。基因表达模式在细胞中被控制在多个水平。基因表达的控制可以通过DNA的修饰发生：DNA启动子甲基化与基因表达的抑制相关。几种DNA甲基化的抑制剂被批准用于临床应用，包括重磅炸弹VidazaTM。另一类修饰涉及形成DNA通常与真核细胞中的(盘绕)相关联的蛋白质支架的组蛋白。组蛋白在组织DNA中起至关重要的作用，组蛋白周围DNA的调节卷绕和解卷是控制基因表达的关键-卷曲的DNA典型地不能用于基因转录。已经发现了许多组蛋白修饰，包括组蛋白乙酰化，组蛋白赖氨酸甲基化，组蛋白精氨酸甲基化，组蛋白泛素化和组蛋白SUMO化，其中许多修饰通过细胞转录机制改变对相关DNA的可及性。这些组蛋白标记用于募集参与转录和抑制的各种蛋白质复合物。越来越多的研究正在绘制一个错综复杂的图片，其描绘了组蛋白标记的各种组合如何以细胞类型特异性方式控制基因表达，并且创造了一个新术语来捕捉这一概念：组蛋白代码。

[0004] 典型的组蛋白标记是组蛋白乙酰化。组蛋白乙酰转移酶和组蛋白脱乙酰酶是涉及调节该组蛋白标记的催化机器，尽管通常这些酶是多蛋白复合物的一部分，其含有参与读取和修饰组蛋白标记的其他蛋白质。这些蛋白质复合物的组分通常是细胞类型特异性的，并且通常包含转录调节因子，阻遏物，共抑制因子，与基因表达调节相关的受体(例如，雌激素或雄激素受体)。组蛋白去乙酰化酶抑制剂改变染色质的组蛋白乙酰化谱。因此，已显示组蛋白脱乙酰酶抑制剂如伏林司他(SAHA)，曲古菌素A(TSA)与许多其他物质在各种体外和体内动物模型中改变基因表达。临幊上，组蛋白去乙酰化酶抑制剂已在癌症环境中表现出活性并且正在研究肿瘤适应症以及神经系统病症和其他疾病。

[0005] 涉及调节基因表达的另一种修饰是组蛋白甲基化，包括赖氨酸和精氨酸甲基化。最近已显示组蛋白赖氨酸的甲基化状态在动态调节基因表达中是重要的。

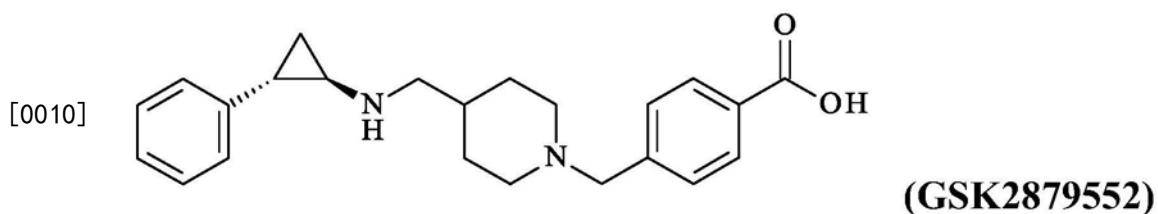
[0006] 一组称为组蛋白赖氨酸甲基转移酶和组蛋白赖氨酸脱甲基酶的酶参与组蛋白赖氨酸修饰。最近发现¹一种称为赖氨酸特异性脱甲基酶-1(LSD1)的特定人组蛋白赖氨酸脱甲基酶参与这种关键的组蛋白修饰。LSD1与多胺氧化酶和单胺氧化酶具有相当程度的结构相似性与氨基酸同一性/同源性，所有这些酶(即MAO-A、MAO-B和LSD1)是黄素依赖性胺氧化酶，其催化氮-氢键和/或氮碳键的氧化。LSD1已被公认为开发治疗癌症、神经系统疾病和其他疾病的新药的有意义的靶标。

[0007] 已知含环丙胺的化合物抑制许多医学上重要的靶标，包括胺氧化酶如单胺氧化酶A(MAO-A或MAOA)，单胺氧化酶B(MAO-B或MAOB)和赖氨酸特异性脱甲基酶-1(LSD1)。已知反苯环丙胺(也称作2-苯基环丙胺)是**Parnate®**的活性成分和环丙胺的最佳实例之一，其抑制所有这些酶。由于MAO-A抑制可能引起不希望的副作用，因此需要鉴定表现出有效的

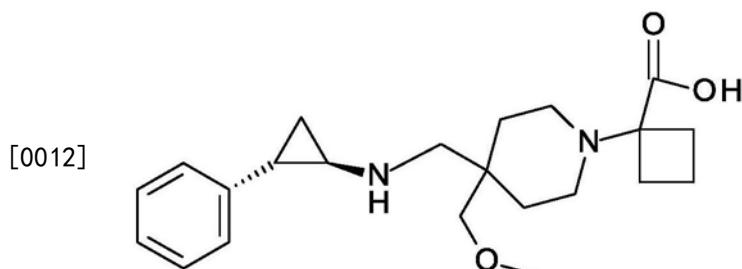
LSD1抑制活性同时没有或具有基本上降低的MAO-A抑制活性的环丙胺衍生物。

[0008] 本领域中已知作为LSD1抑制剂起作用的化合物。LSD1抑制剂及其制备方法例如公开在如下文献中:WO 2011/131697²、WO 2012/135113³、WO 2013/057322⁴、WO 2010/143582⁵、WO 2011/131576⁶、WO 2013/022047⁷、WO 2013/025805⁸、WO 2014/058071⁹、WO 2014/084298¹⁰、WO 2014/085613¹¹、WO 2014/086790¹²、WO 2014/164867¹³、WO 2014/194280¹⁴、WO 2014/205213¹⁵、WO 2015/021128¹⁶、WO 2015/031564¹⁷、WO 2015/089192¹⁸、WO 2015/120281¹⁹、WO 2015/123465²⁰、WO 2015/123437²¹、WO 2015/123424²²、WO 2015/123408²³、WO 2015/134973²⁴、WO 2015/156417²⁵、WO 2015/168466、WO 2015/181380、WO 2015/200843、WO 2016/003917、WO 2016/004105²⁶、WO 2016/007722²⁷、WO 2016/007727²⁸、WO 2016/007731²⁹、WO 2016/007736³⁰、WO 2016/034946³¹、WO 2016/037005³²、CN 105541806³³、WO 2016/123387³⁴、WO 2016/130952³⁵、CN 105924362³⁶、CN 105985265³⁷、WO 2016/161282³⁸、CN 106045862³⁹、CN 106045881⁴⁰、WO 2016/172496⁴¹、WO 2016/177656⁴²、WO 2017/004519⁴³、WO 2017/027678⁴⁴,它们作为引用整体并入本文。

[0009] WO 2012/135113³公开了化合物,例如GSK2879552[CAS注册号1401966-69-5],也称作4-[[4-[[[(1R,2S)-2-苯基环丙基]氨基]甲基]-1-哌啶基]甲基-1-苯甲酸(实施例26,75页;实施例29,81页),为选择性LSD1抑制剂。



[0011] WO 2017/027678⁴⁴公开了1-((4-(甲氧基甲基)-4-(((1R,2S)-2-苯基环丙基氨基)甲基)哌啶-1-基)甲基)环丁烷甲酸的对甲苯磺酸盐。



[0013] LSD1抑制剂及其制备方法例如公开在WO 2013/022047⁷中,特别是实施例1-166(相应EP2743256的44-114页),特别是N-[4-[2-[(环丙基甲基氨基)甲基]环丙基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-甲酰胺(实施例163),其通过引用完整地并入本文。

[0014] LSD1抑制剂及其制备方法例如公开在WO 2011/131697²中,特别是实施例1-21(90-103页),其通过引用完整地并入本文。

[0015] LSD1抑制剂及其制备方法例如公开在WO 2013/057322⁴中,特别是实施例1-108(155-191页),其通过引用完整地并入本文。

[0016] WO 2013/057322⁴中所述的具体LSD1抑制剂如表1中所示。

[0017] 表1.WO 2013/057322⁴中公开的具体的LSD1抑制剂。

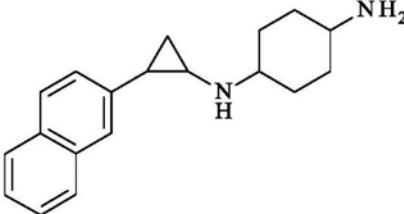
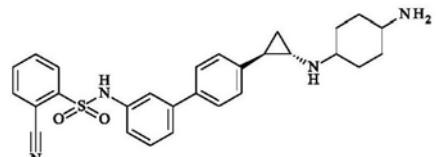
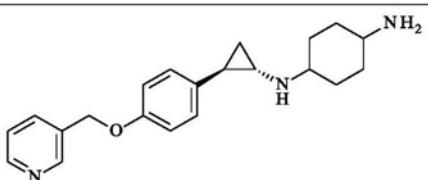
[0018]

WO2013/057322 ⁴ 的实施例编号	物质名称	结构
1	N1-((反式)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺	
5	(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺	
15	(R)-1-(4-((反式)-2-苯基环丙基)氨基)环己基)吡咯烷-3-胺	
17	4-(氨基甲基)-N-((反式)-2-苯基环丙基)环己胺	
18	N1-((反式)-2-苯基环丙基)环己烷-1,3-二胺	

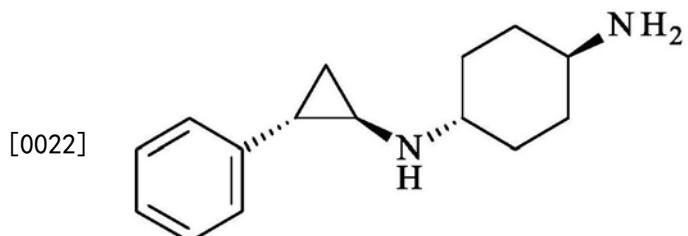
[0019]

WO2013/057322 ⁴ 的实施例编号	物质名称	结构
19	N1-((反式)-2-苯基环丙基)环丁烷-1,3-二胺	
20	N1-((反式)-2-苯基环丙基)-2,3-二氢-1H-茚-1,3-二胺	
22	N1-甲基-N4-((反式)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺	
26	N1-((反式)-2-(4-溴苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺	
27	N1-(2-(邻甲苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺	
29	N1-(2-(4-甲氧基苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺	
31	N1-(2-(2-氟苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺	

[0020]

WO2013/057322 ⁴ 的实施例编号	物质名称	结构
33	N1-(2-(萘-2-基)环丙基) 环己烷-1,4-二胺	
50	N-(4'-(反式)-2-((4-氨基 环己基)氨基)环丙基)-[1,1'-联苯]-3-基)-2- 氰基苯磺酰胺	
56	N1-(反式)-2-(4-(吡啶-3- 基甲氧基)苯基)环丙基) 环己烷-1,4-二胺	

[0021] WO 2013/057322⁴中所述的更具体的LSD1抑制剂是(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺[CAS注册号1431304-21-0]



，

[0023] 其相当于其中的实施例5及其药学上可接受的盐。该化合物也称作ORY-1001。

[0024] 已经确定,可以通过施用LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐与某些另外的具体活性剂的组合实现在体外和体内抑制癌细胞生长中的累加或协同作用。所述组合和方法可以用于治疗肿瘤疾病,例如癌症。

[0025] 因此,本发明提供了用于治疗哺乳动物的肿瘤疾病的组合,其包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种或多种选自表2的活性药物成分或其药学上可接受的盐。

[0026] 表2.适合于与LSD1抑制剂组合的活性药物成分。

[0027]

化合物	INN	作用模式	系统名称	CAS 编号	文献参考
ABT-199	Venetoclax	BCL2 抑制剂	4-[4-[[2-(4-氯苯基)-4,4-二甲基环己-1-烯-1-基]甲基]哌嗪-1-基]-N-[[3-硝基-4-[(四氢-2H-吡喃-4-基)甲基]氨基]苯基]磺酰基]-2-[(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)氨基]苯甲酰胺	1257044-40-8	WO 2010/13858 8 ⁴⁵
ABT-263	Navitoclax	BCL2 抑制剂	4-(4-{{2-(4-氯苯基)-5,5-二甲基-1-环己烯-1-基}甲基}-1-哌嗪基)-N-[(4-{{(2R)-4-(4-吗啉基)-1-(苯基硫烷基)-2-丁基}氨基}-3-[(三氟甲基)磺酰基]苯基)磺酰基]苯甲酰胺	923564-51-6	US 2007/00271 35 ⁴⁶
ABT-737		BCL2 抑制剂	4-[4-[[2-(4-氯苯基)苯基]甲基]哌嗪-1-基]-N-[(2R)-4-(二甲基氨基)-1-苯基硫烷基丁-2-基]氨基]-3-硝基苯基]磺酰基苯甲酰胺	852808-04-9	WO 2005/04959 4 ⁴⁷
ABT-888	Veliparib	PARP 抑制剂	2-((R)-2-甲基吡咯烷-2-基)-1H-苯并咪唑-4-甲酰胺	912444-00-9	US 2006/02292 89 ⁴⁸
ACY-1215	Ricolinostat	HDAC 抑制剂	2-(二苯基氨基)-N-[7-(羟基氨基)-7-氧代庚基]-5-p噁唑甲酰胺	1316214-52-4	WO 2011/09121 3 ⁴⁹
贝林司他	贝林司他	HDAC (泛-HDAC) 抑制剂	(22E)-N-羟基-3-[3-(苯基氨基磺酰基)苯基]丙-2-烯酰胺	866323-14-0	WO 2009/04051 7 ⁵⁰
苯达莫司汀	苯达莫司汀	DNA 烷化剂	4-[5-[双(2-氯乙基)氨基]-1-甲基苯并咪唑-2-基]丁酸	16506-27-7	DD 159877 ⁵¹
BGJ398	Infigratinib	FGFR 激酶抑制剂	3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-(6-((4-(4-乙基哌嗪-1-基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)-1-甲基脲	872511-34-7	WO 2006/00042 0 ⁵²

[0028]

化合物	INN	作用模式	系统名称	CAS 编号	文献参考
BMS-9060 24		Notch 信号传导抑制剂	(2R,3S)-N-[3S]-1-甲基-2-氧代-5-苯基-2,3-二氢-1H-1,4-苯并二吖庚因-3-基]-2,3-双(3,3,3-三氟丙基)琥珀酰胺	1401066-79-2	WO 2012/12935 3 ⁵³
卡铂	卡铂	DNA 烷化剂 (DNA 连接剂)	顺式-二氯络物(环丁烷-1,1-二羧酸-O,O')铂(II)	41575-9 4-4	ES 544159 ⁵⁴
CGK 733		ATM/AT R 激酶抑制剂	<i>a</i> -苯基-N-[2,2,2-三氟-1-[(4-氟-3-硝基苯基)氨基]硫代甲基]氨基]乙基]苯乙酰胺	905973-89-9	WO 2007/01563 2 ⁵⁵
顺铂	顺铂	DNA 烷化剂 (DNA 连接剂)	(SP-4-2)-二氯络物二氯铂(II)	15663-2 7-1	Rosenberg B.等人 ⁵⁶
CPI-169		EZH2 抑制剂 (EZH1/2 抑制剂)	N-[(1,2-二氢-4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-3-吡啶基)甲基]-1-[1-[1-(乙基磺酰基)-4-哌啶基]乙基]-2-甲基-1H-吲哚-3-甲酰胺	1450655-76-1	WO 2013/12010 4 ⁵⁷
CPI-203		BET 抑制剂 (BRD2/3/4 抑制剂)	(6S)-4-(4-氯苯基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二吖庚因-6-乙酰胺	1446144-04-2	WO 2014/13458 3 ⁵⁸
多西他赛	多西他赛	抗有丝分裂药 (TUBB1 稳定剂)	1,7 β ,10 β -三羟基-9-氧代-5 β ,20-环氧紫杉-11-烯-2 α ,4,13 α -三基4-乙酸酯2-苯甲酸酯13-{(2R,3S)-3-[(叔丁氧基羰基)氨基]-2-羟基-3-苯基丙酸酯}	114977-28-5	EP 253738 ⁵⁹
多柔比星	多柔比星	拓扑异构酶抑制剂	(7S,9S)-7-[(2R,4S,5S,6S)-4-氨基-5-羟基-6-甲基噁烷-2-基]氨基-6,9,11-三羟基-9-(2-羟基乙酰基)-4-甲氨基-8,10-二氢-7H-丁省-5,12-二酮	23214-9 2-8	DE 2510866 ⁶⁰

[0029]

化合物	INN	作用模式	系统名称	CAS 编号	文献参考
EPZ-00477 7		DOT1L 抑制剂	7-[5-脱氧-5-[[3-[[4-(1,1-二甲基乙基)苯基]氨基]羰基]氨基]丙基](1-甲基乙基)氨基]-β-D-呋喃核糖基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺	1338466-77-5	Daigle S.R. 等人 ⁶¹
EPZ005687		EZH2 抑制剂	1-环戊基-N-[(1,2-二氢-4,6-二甲基-2-氧代-3-吡啶基)甲基]-6-[4-(4-吗啉基甲基)苯基]-1H-吲唑-4-甲酰胺	1396772-26-1	WO 2012/118812 ⁶²
EPZ-5676	Pinometostat	DOT1L 抑制剂	5'-脱氧-5'-[[顺式-3-[2-[6-(1,1-二甲基乙基)-1H-苯并咪唑-2-基]乙基]环丁基](1-甲基乙基)氨基]-腺苷	1380288-87-8	WO 2012/075381 ⁶³
EPZ-6438	Tazemetostat	EZH2 抑制剂	N-[(1,2-二氢-4,6-二甲基-2-氧代-3-吡啶基)甲基]-5-[乙基(四氢-2H-吡喃-4-基)氨基]-4-甲基-4'-(4-吗啉基甲基)-[1,1'-联苯]-3-甲酰胺	1403254-99-8	WO 2012/142504 ⁶⁴
厄洛替尼	厄洛替尼	酪氨酸激酶抑制剂	N-(3-乙炔基苯基)-6,7-双(2-甲氧基乙氧基)喹唑啉-4-胺	183321-74-6	WO 9630347 A1
依托泊苷	依托泊苷	拓扑异构酶抑制剂	4'-去甲基-表鬼臼毒素9-[4,6-O-(R)-亚乙基-β-D-吡喃葡萄糖昔], 4'-(二氢磷酸酯)	33419-42-0	CH 514578 ⁶⁵
FLI 06		Notch 信号传导抑制剂	1,4,5,6,7,8-六氢-2,7,7-三甲基-4-(4-硝基苯基)-5-氧代-3-喹啉甲酸环己酯	313967-18-9	WO 2013/178821 ⁶⁶
氟尿嘧啶	氟尿嘧啶	胸苷酸合酶抑制剂	5-氟-1H,3H-嘧啶-2,4-二酮	51-21-8	US 2802005 ⁶⁷
GDC-0449	Vismodegib	Hedgehog 途径抑制剂	2-氟-N-(4-氟-3-吡啶-2-基苯基)-4-甲基磺酰基苯甲酰胺	879085-55-9	WO 2006/028958 ⁶⁸

[0030]

化合物	INN	作用模式	系统名称	CAS 编号	文献参考
吉西他滨	吉西他滨	核苷类似物	4-氯基-1-(2-脱氧-2,2-二氟-β-D-赤型-pentofuranosyl) 嘧啶-2(1H)-酮	95058-8 1-4	GB 2136425 ⁶⁹
GSK126		EZH2 抑制剂	N-[(1,2-二氢-4,6-二甲基-2-氧化-3-吡啶基)甲基]-3-甲基-1-[(1S)-1-甲基丙基]-6-[6-(1-哌嗪基)-3-吡啶基]-1H-吲哚-4-甲酰胺	1346574 -57-9	WO 2011/14032 4 ⁷⁰
GSK13247 26A (I-BET726)		BET 抑制剂 (BRD2/3/ 4 抑制剂)	4-[(2S,4R)-1-乙酰基-4-(4-氯苯基)氨基]-1,2,3,4-四氢-2-甲基-6-喹啉基]-苯甲酸	1300031 -52-0	WO 2011/05484 3 ⁷¹
GSK343		EZH2 抑制剂 (EZH1/2 抑制剂)	N-[(1,2-二氢-6-甲基-2-氧化-4-丙基-3-吡啶基)甲基]-1-(1-甲基乙基)-6-[2-(4-甲基-1-哌嗪基)-4-吡啶基]-1H-吲唑-4-甲酰胺	1346704 -33-3	WO 2011/14032 5 ⁷²
GSK-J1		去甲基化酶抑制剂 (JMJD3/ UTX 抑制剂)	N-[2-(2-吡啶基)-6-(1,2,4,5-四氢-3H-3-苯并吖庚因-3基)-4-嘧啶基]-β-丙氨酸	1373422 -53-7	WO 2012/05239 0 ⁷³
GSK12101 51A (I-BET151)		BET 抑制剂 (BRD2/3/ 4 抑制剂)	7,3,5-二甲基-4-异噁唑基-1,3-二氢-8-甲氧基-1-[1R-1-(2-吡啶基)乙基]-2H-咪唑并[4,5-c]喹啉-2-酮	1300031 -49-5	WO 2011/05484 3 ⁷¹
伊立替康	伊立替康	拓扑异构酶抑制剂	(S)-1H-吡喃o[3',4':6,7]-吲嗪并[1,2-b]喹啉-9-基-[1,4'联哌啶]-1'-甲酸 4,11-二乙基-3,4,12,14-四氢-4-羟基-3,14-二氧代酯	100286- 90-6	US 6121451 ⁷⁴
(+)-JQ1		BET 抑制剂 (BRD2/3/ 4 抑制剂)	(S)-2-(4-(4-氯苯基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二吖庚因-6基)乙酸叔丁酯	1268524 -70-4	WO 2011/14365 1 ⁷⁵

[0031]

化合物	INN	作用模式	系统名称	CAS 编号	文献参考
拉帕替尼	拉帕替尼	酪氨酸激酶抑制剂	N-[3-氯-4-[(3-氟苯基)甲氧基]苯基]-6-[5-(2-甲基磺酰基乙基氨基)甲基]-2-呋喃基]喹唑啉-4-胺	231277-92-2	WO 99/35146 ⁷⁶
LDE225	Sonidegib	Hedgehog 途径抑制剂	N-[6-[(2S,6R)-2,6-二甲基吗啉-4-基]吡啶-3-基]-2-甲基-3-[4-(三氟甲氧基)苯基]苯甲酰胺	956697-53-3	WO 2010/033481 ⁷⁷
LY2603618		Chk 抑制剂	N-[5-溴-4-甲基-2-[(2S)-2-吗啉基甲氧基]苯基]-N'-(5-甲基-2-吡嗪基)-脲	911222-45-2	WO 2006/105262 ⁷⁸
LY-3039478		Notch 信号传导抑制剂	N-[(1S)-2-[(7S)-6,7-二氢-5-(2-羟乙基)-6-氧化-5H-吡啶并[3,2-a][3]苯并吖庚因-7-基]氨基]-1-甲基-2-氧化乙基]-4,4,4-三氟-丁酰胺	1421438-81-4	WO 2013/016081 ⁷⁹
甲萘醌	甲萘醌	1,4-萘醌类似物	2-甲基萘-1,4-二酮	58-27-5	US 2331725 ⁸⁰
甲氨蝶呤	甲氨蝶呤	叶酸抑制剂 (DHFR 抑制剂)	(2S)-2-[(4-[(2,4-二氨基蝶啶-6-基)甲基](甲基)氨基]苯甲酰基)氨基]戊二酸	59-05-2	US 2512572
MK-0752		Notch 信号传导抑制剂 (γ 分泌酶抑制剂)	顺式-4-[(4-氯苯基)磺酰基]-4-(2,5-二氟苯基)-环己烷丙酸	471905-41-6	WO 2002/081435 ⁸¹
MLN8237	Alisertib	Aurora A 激酶抑制剂	4-[(9-氯-7-(2-氟-6-甲氧基苯基)-5H-嘧啶并[5,4-d][2]苯并吖庚因-2-基]氨基]-2-甲氧基-苯甲酸	1028486-01-2	WO 2008/063525 ⁸²
MS 436		BET 抑制剂 (BRD2/3/4 抑制剂)	4-[(1E)-2-(2-氨基-4-羟基-5-甲基苯基)二氮烯基]-N-2-吡啶基-苯磺酰胺	1395084-25-9	WO 2012/116170 ⁸³

[0032]

化合物	INN	作用模式	系统名称	CAS 编号	文献参考
Nutlin-3A	Nutlin-3A	MDM2 抑制剂	2- 味 嗜 酮 , 4-[(4S,5R)-4,5- 双 (4- 氟 苯基)-4,5- 二氢 -2-[4- 甲 氧 基 -2-(1- 甲 基 乙 氧 基) 苯 基]-1H- 吡 啤 -1- 基] 羰 基]-	675576-98-4	US 2005/02828 03 ⁸⁴
奥巴克拉	奥巴克拉	BCL2 抑制剂	2-(2-((3,5- 二甲 基 -1H- 吡 啤 -2- 基) 亚甲 基)-3- 甲 氧 基 -2H- 吡 啤 -5- 基)-1H- 吡 啤	803712-67-6	WO 2004/10632 8 ⁸⁵
OTX015		BET 抑制剂 (BRD2/3/ 4 抑制剂)	(6S)-4-(4- 氟 苯基)-N-(4- 羟 基 苯基)-2,3,9- 三甲 基 -6H- 噻 吩 并 [3,2-f][1,2,4] 三 吡 并 [4,3-a][1,4] 二 吡 庚 因 -6- 乙 酰 胺	202590-98-5	US 5712274 ⁸⁶
紫杉醇	紫杉醇	抗有丝分 裂 药 /TUBB 稳 定剂	苯 甲 酸 (2a,4a,5β,7β,10β,13a)-4, 10- 双 (乙 酰 氧 基)-13-{[(2R,3S)-3-(苯 甲酰基氨基)-2-羟 基 -3- 苯 基 丙 酰 基] 氧 基 }-1,7- 二 羟 基 -9- 氧 代 -5,20- 环 氧 紫 杉 -11- 烯 -2- 基 酯	33069-6 2-4	EP 253739 ⁸⁷
帕比司他	帕比司他	HDAC (泛 -HDAC) 抑制剂	(2E)-N- 羟 基 -3-[4-({[2-(2- 甲 基 -1H- 吡 啤 -3- 基) 乙 基] 氨 基 } 甲 基) 苯 基] 丙 烯 酰 胺	404950- 80-7	WO 2002/02257 7 ⁸⁸
培美曲塞	培美曲塞	叶酸抑制 剂 (TYMS/D HFR/GA RT 抑制 剂)	(2S)-2-{[4-[2-(2- 氨 基 -4- 氧 代 -1,7- 二 氢 吡 啤 并 [2,3-d] 嘧 定 -5- 基) 乙 基] 苯 甲酰 基] 氨 基 } 戊 二 酸	137281- 23-3	EP 432677 ⁸⁹
PF-042179 03		c-Met 抑 制剂	4-[1-(6- 噻 吡 基 甲 基)-1H-1,2,3- 三 吡 并 [4、 5-b] 吡 啤 -6- 基]-1H- 吡 啤 -1- 乙 醇	956905- 27-4	US 2007/02652 72 ⁹⁰

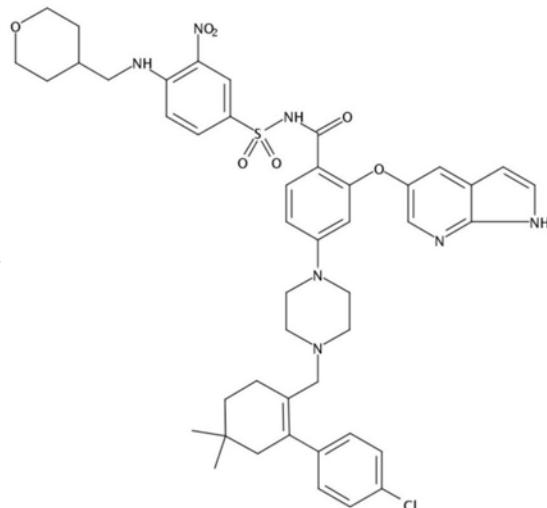
[0033]

化合物	INN	作用模式	系统名称	CAS 编号	文献参考
PF-308401 4		Notch 信号传导抑制剂 (γ 分泌酶抑制剂)	(2S)-2-[(2S)-6,8-二氟-1,2,3,4-四氢-2-基]氨基]-N-[1-[2-[(2,2-二甲基丙基)氨基]-1,1-二甲基乙基]-1H-咪唑-4-基]戊酰胺二氢溴酸盐	865773-15-5	US 2005/02156 10 ⁹¹
SAHA	伏林司他	HDAC 抑制剂	环庚烷异羟肟酸	149647-78-9	WO 93/07148 ⁹²
SGC 0946		DOT1L 抑制剂	1-[3-[[[(2R,3S,4R,5R)-5-(4-氨基-5-溴-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基]甲基](异丙基)氨基]丙基]-3-[4-(2,2-二甲基乙基)苯基]脲	1561178-17-3	Yu 等人 ⁹³
SNDX-275	Entinostat	HDAC 抑制剂	N-[[4-[(2-氨基苯基)氨基]羰基]苯基]甲基]-氨基甲酸 3-吡啶基甲酯	209783-80-2	JP 10152462 ⁹⁴
Taladegib	Taladegib	Hedgehog 途径抑制剂 (smoothened 抑制剂)	4-氟-N-甲基-N-[1-[4-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-1-酞嗪基]-4-哌啶基]-2-(三氟甲基)-苯甲酰胺	1258861-20-9	WO 2010/14791 7 ⁹⁵
替莫唑胺	替莫唑胺	DNA 烷化剂	4-甲基-5-氧化-2,3,4,6,8-五氮杂双环[4.3.0]壬-2,7,9-三烯-9-甲酰胺	85622-9 3-1	DE 3231255 ⁹⁶
托泊替康	托泊替康	拓扑异构酶抑制剂	(S)-10-[(二甲基氨基)甲基]-4-乙基-4,9-二羟基-1H-吡喃并[3',4':6,7]吲哚并[1,2-b]喹啉-3,14(4H,12H)-二酮一盐酸盐	123948-87-8	EP 321122 ⁹⁷
TW-37		BCL2 抑制剂 (BCL2、BCL-xL, MCL-1 抑制剂)	N-[4-[[2-(1,1-二甲基乙基)苯基]磺酰基]苯基]-2,3,4-三羟基-5-[[2-(1-甲基乙基)苯基]甲基]-苯甲酰胺	877877-35-5	WO 2006/02377 8 ⁹⁸

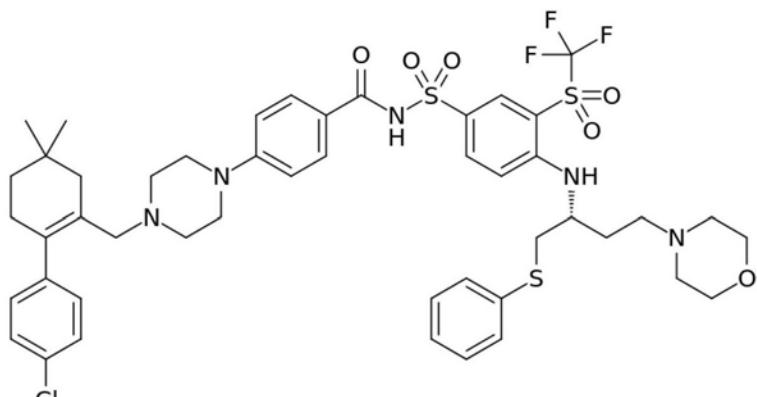
[0034]

化合物	INN	作用模式	系统名称	CAS 编号	文献参考
长春新碱	长春新碱	抗有丝分裂药 (TUBB2 去稳定剂)	4-乙酰氨基-3a-乙基-9-((5S,7S,9S)-5-乙基-5-羟基-9-(甲氧基羰基)-2,4,5,6,7,8,9,10-八氢-1H-3,7-亚甲基[1]氮杂环十一氮杂十一碳烯并[5,4-b]吲哚-9-基)-6-甲酰基-5-羟基-8-甲氧基-3a,3a1,4,5,5a,6,11,12-八氢-1H-吲哚并[8,1-cd]咔唑-5-甲酸(3aR,3a1R,4R,5S,5aR,10bR)-甲酯	57-22-7	BE 624076 ⁹⁹

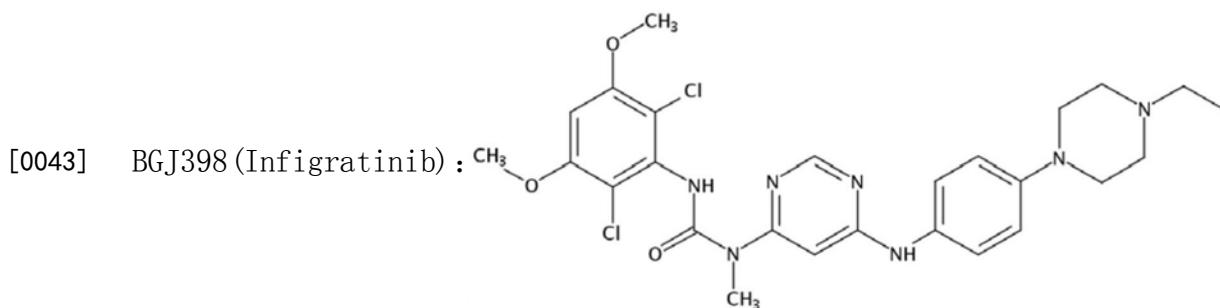
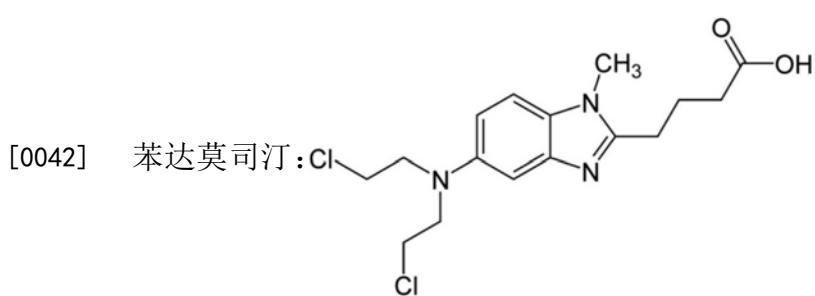
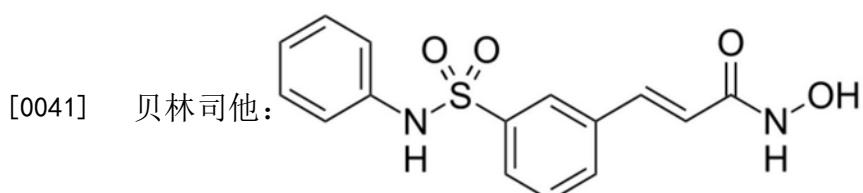
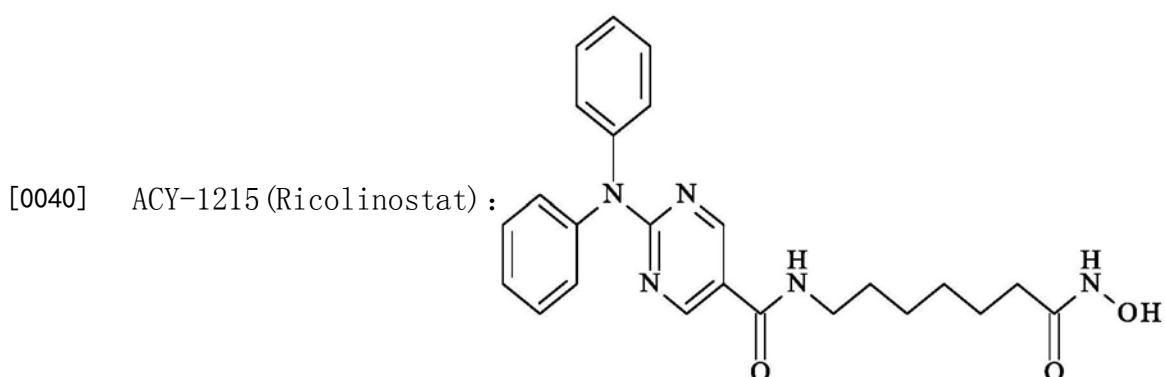
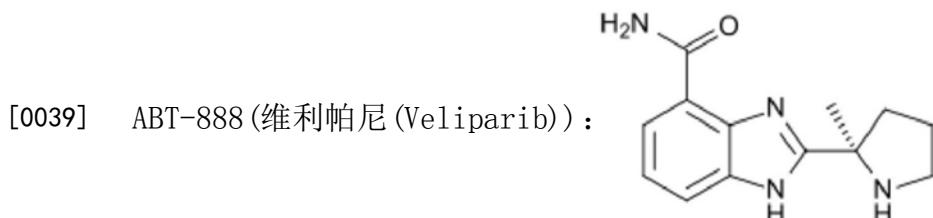
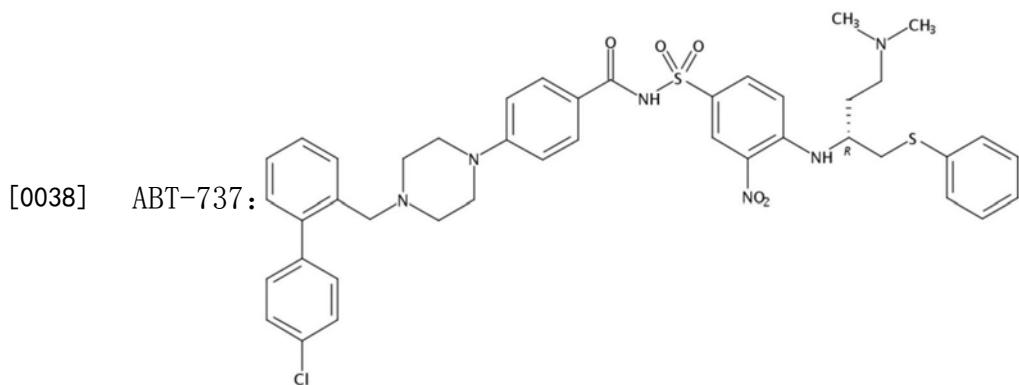
[0035] 表2的化合物的结构如下：

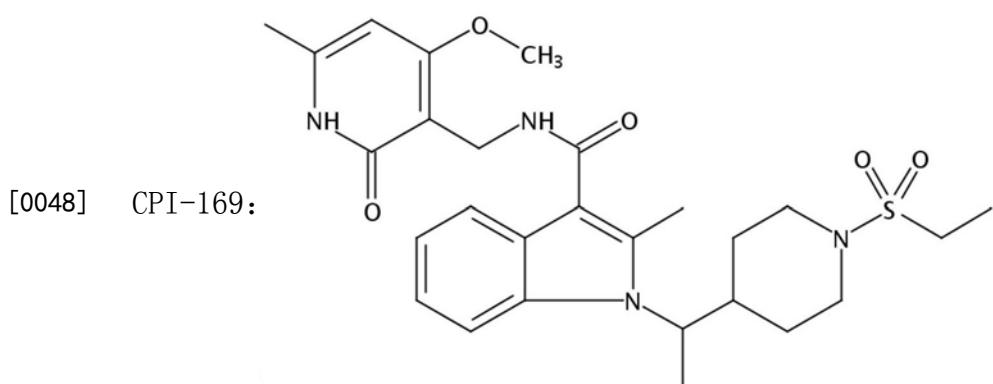
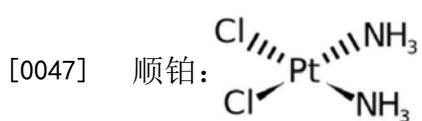
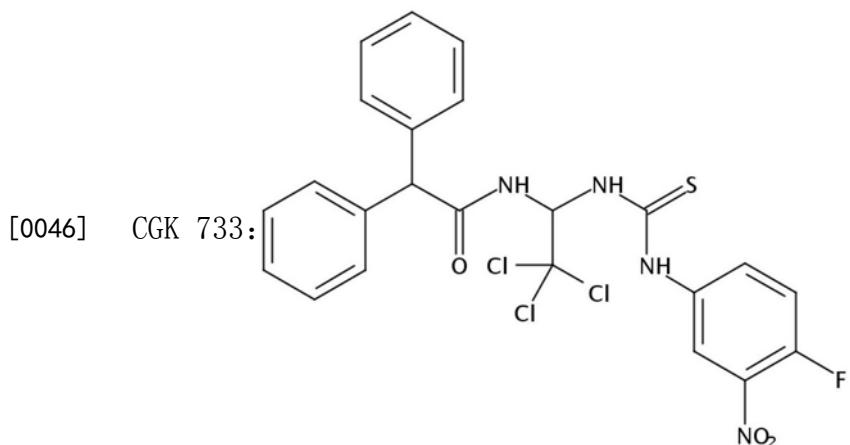
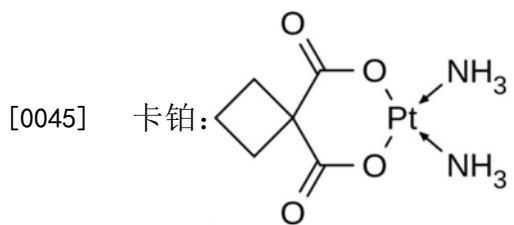
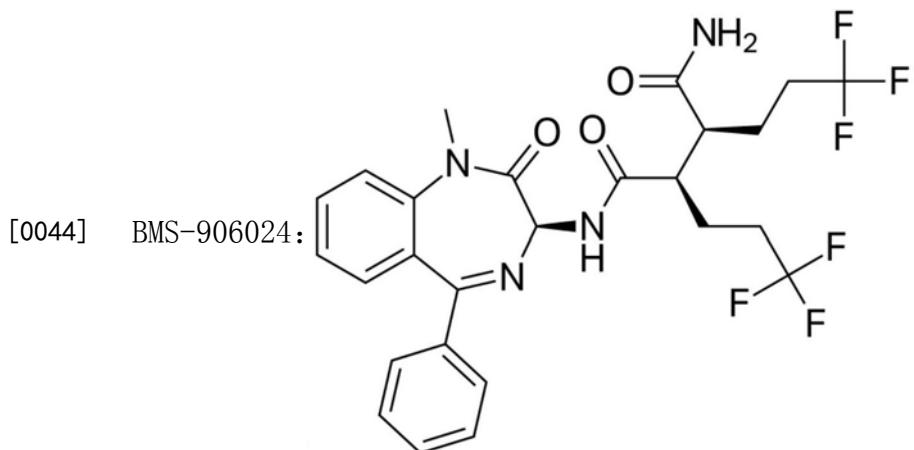


[0036] ABT-199 (维特克拉 (Venetoclax)) :

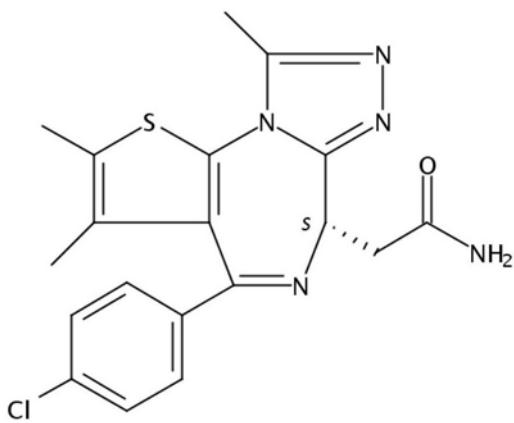


[0037] ABT-263 (Navitoclax) :

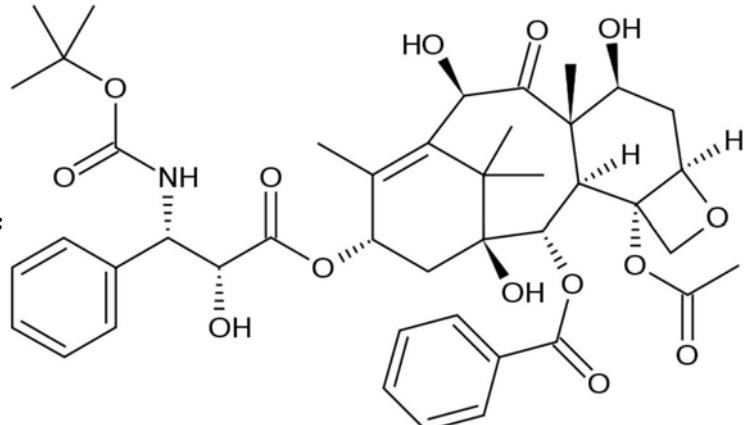




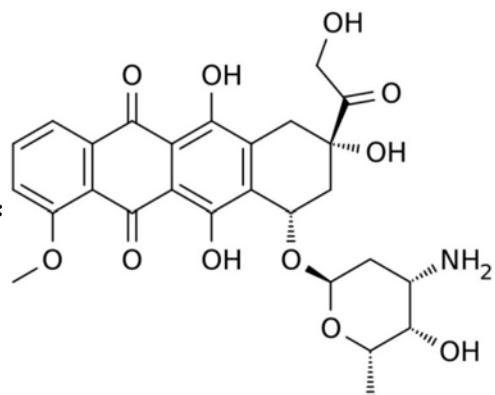
[0049] CPI-203:



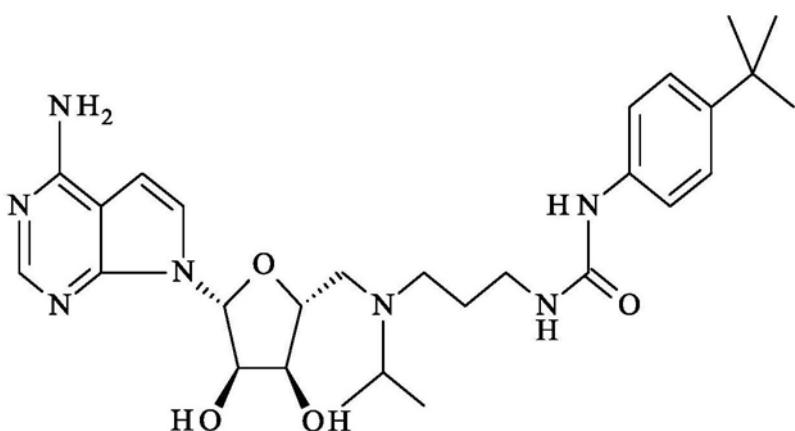
[0050] 多西他赛:

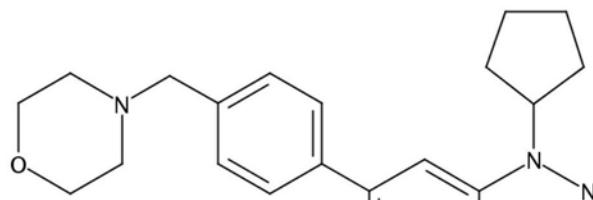


[0051] 多柔比星:

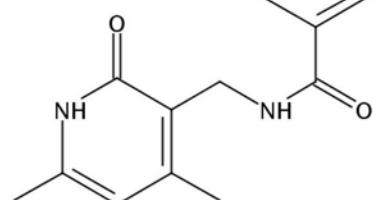


[0052] EPZ-004777:

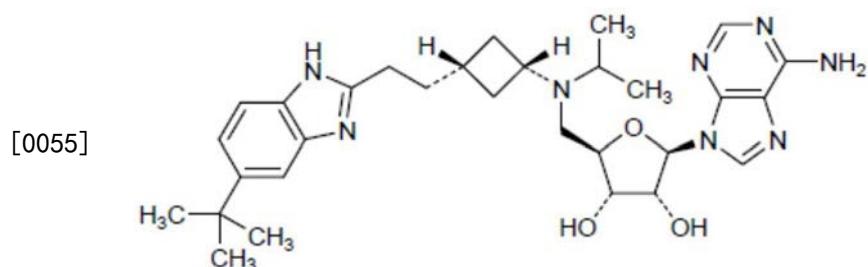




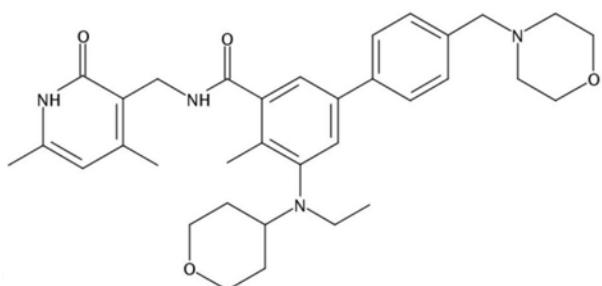
[0053] EPZ005687:



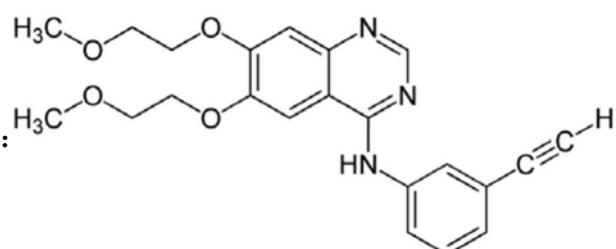
[0054] EPZ-5676 (Pinometostat) :

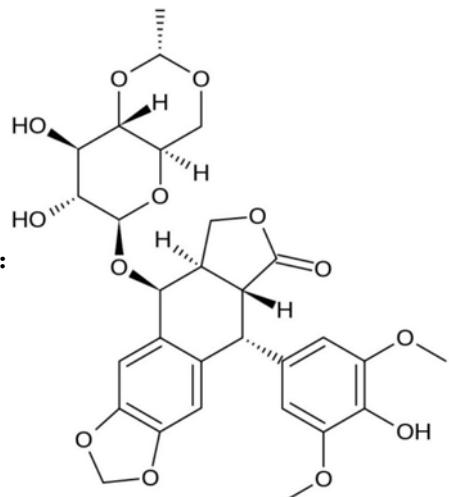


[0055] EPZ-6438 (Tazemetostat) :

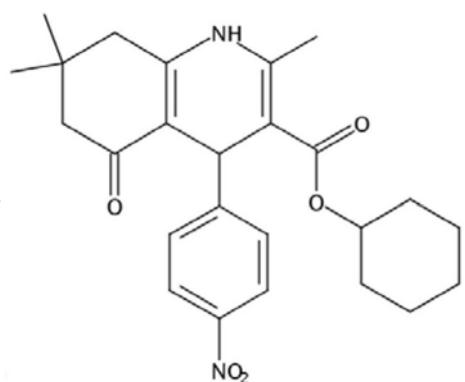


[0056] 厄洛替尼:

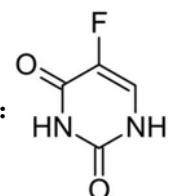




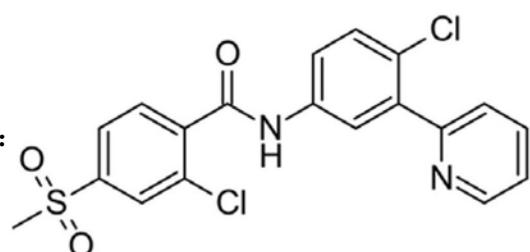
[0058] 依托泊昔:



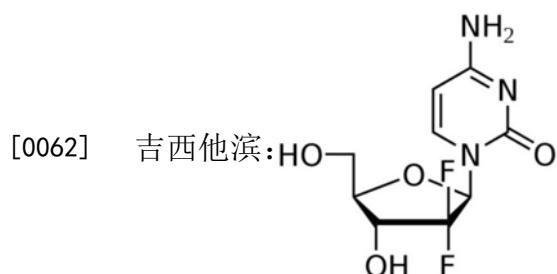
[0059] FLI06:



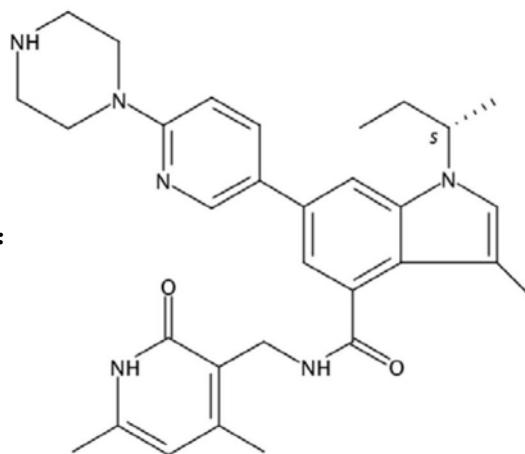
[0060] 氟尿嘧啶:



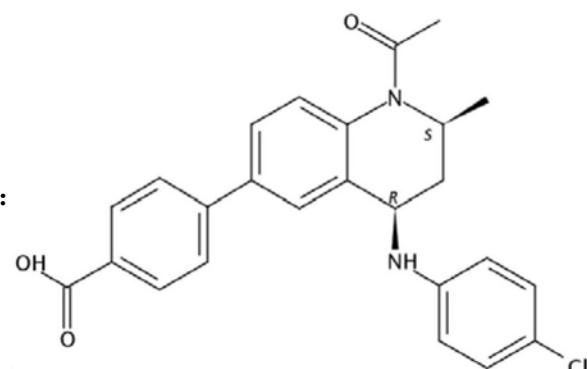
[0061] GDC-0449 (Vismodegib):



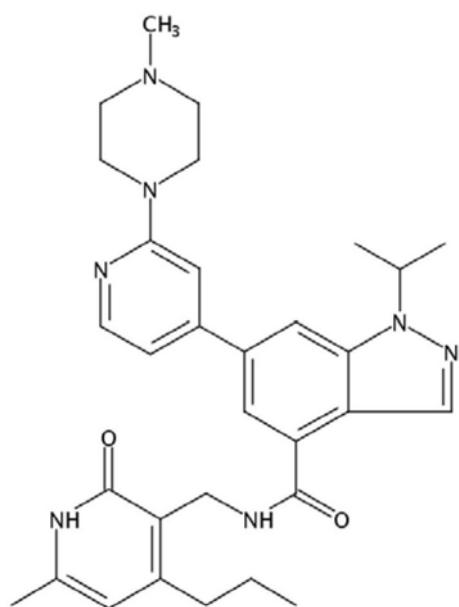
[0062] 吉西他滨:



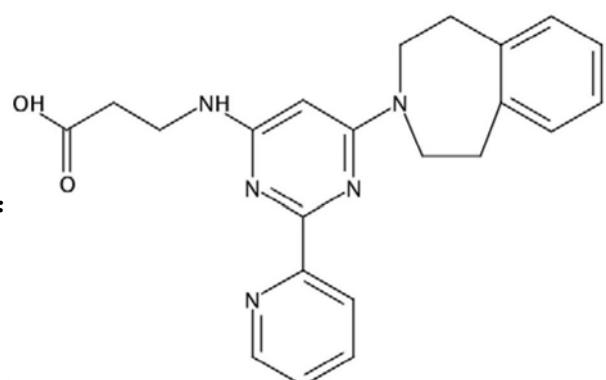
[0063] GSK126:



[0064] GSK1324726A (I-BET726) :

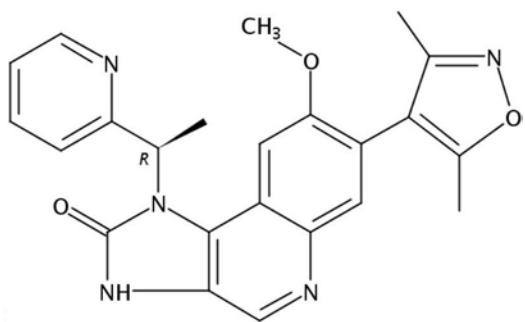


[0065] GSK343:

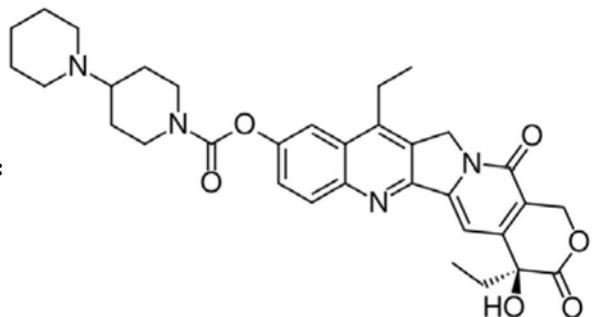


[0066] GSK-J1:

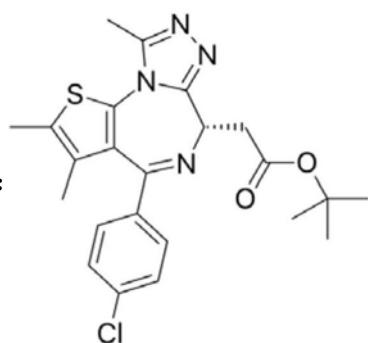
[0067] GSK1210151A (I-BET151) :



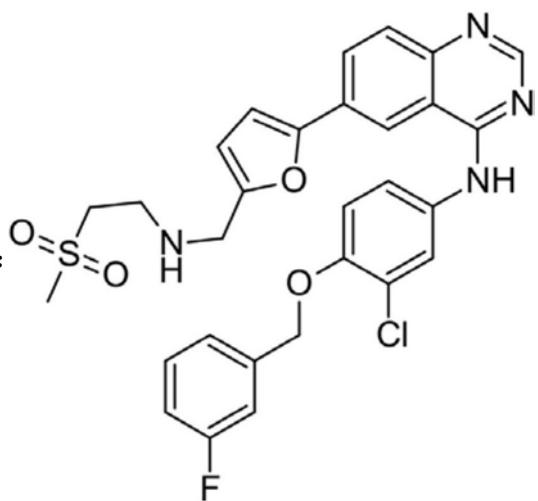
[0068] 伊立替康:

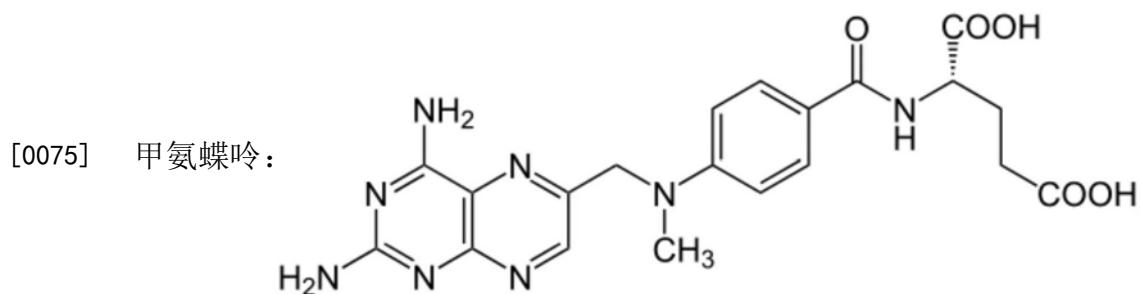
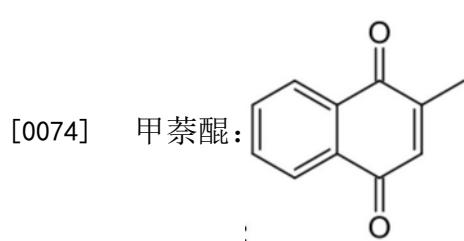
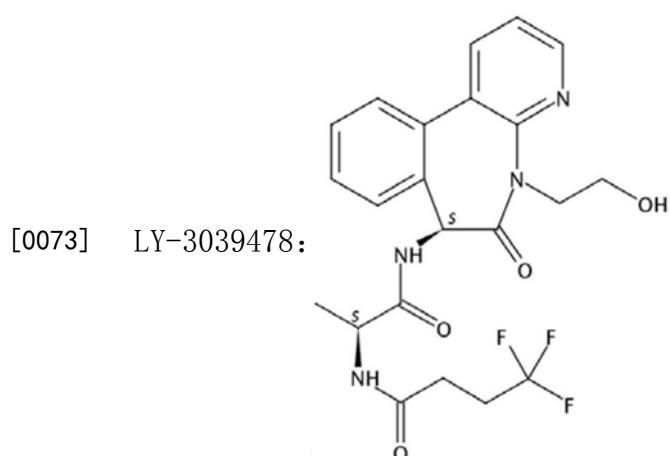
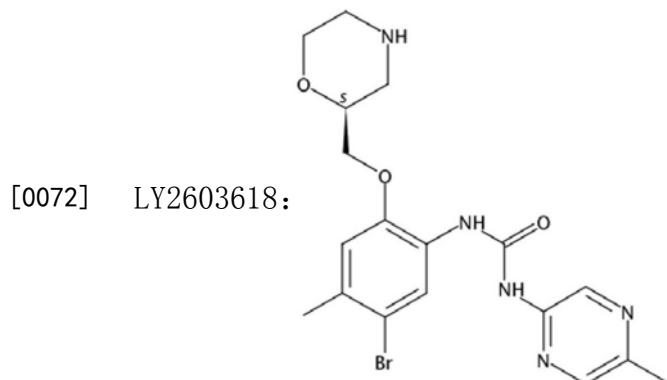
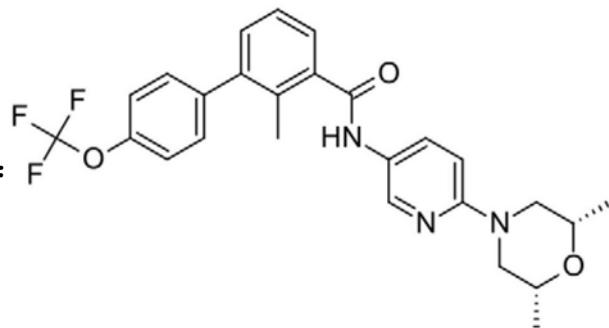


[0069] (+)-JQ1:

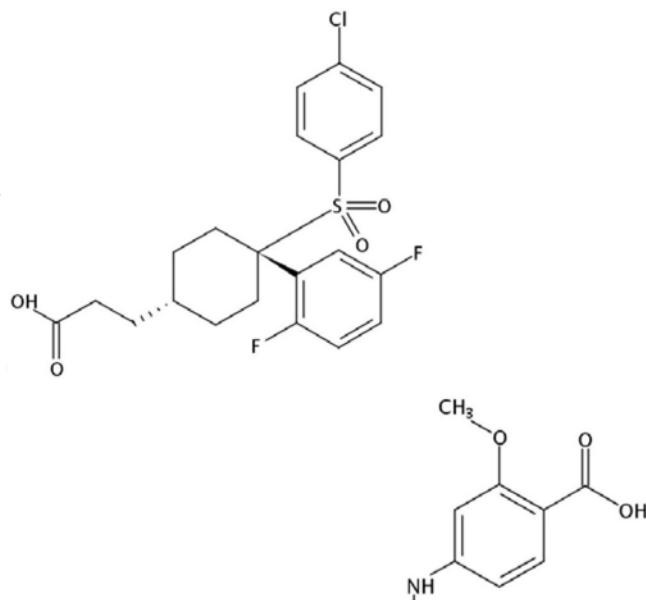


[0070] 拉帕替尼:

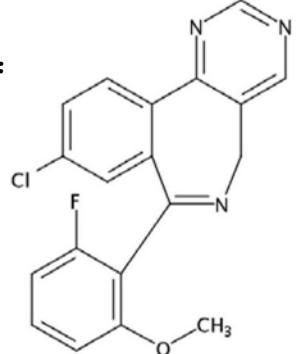




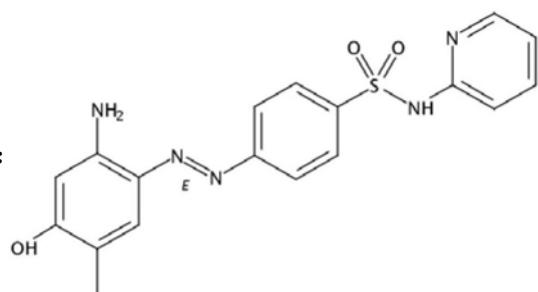
[0076] MK-0752:



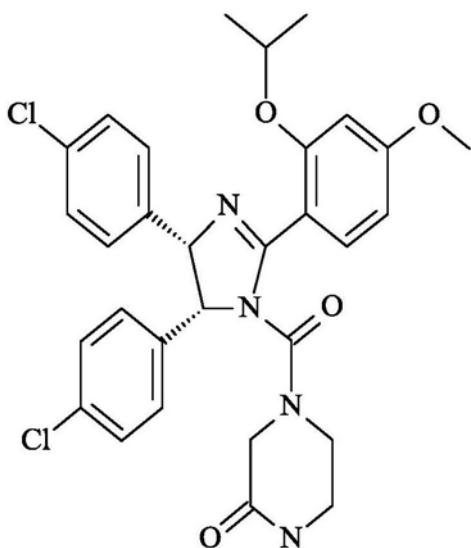
[0077] MLN8237 (Alisertib) :



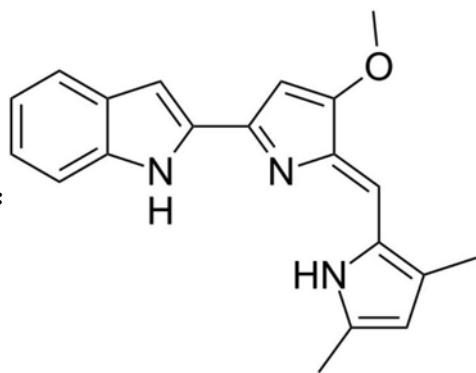
[0078] MS436:



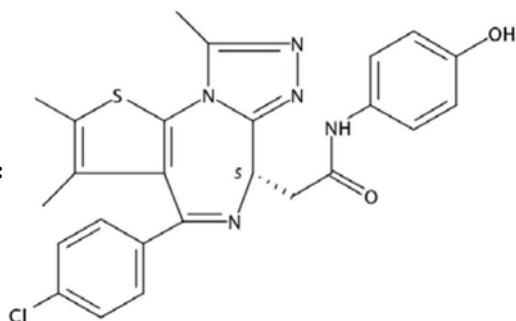
[0079] Nutlin-3A:



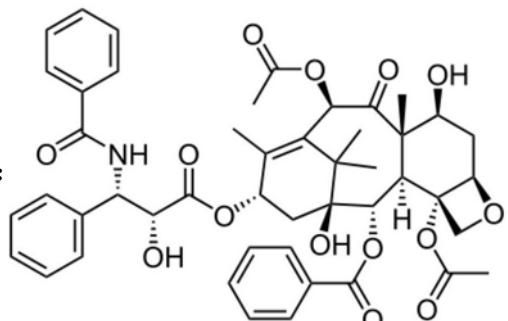
[0080] 奥巴克拉:



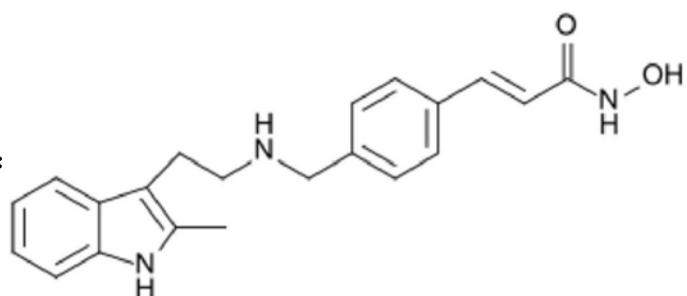
[0081] OTX015:



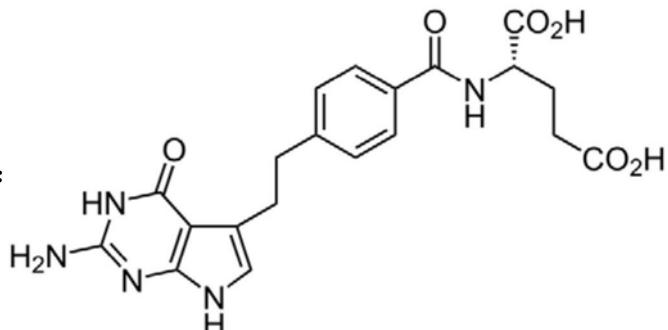
[0082] 紫杉醇:

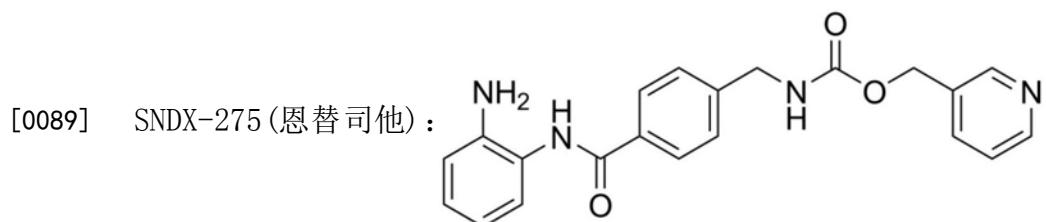
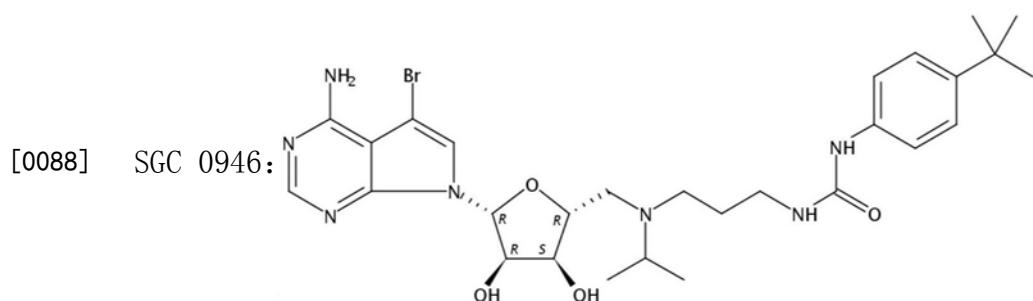
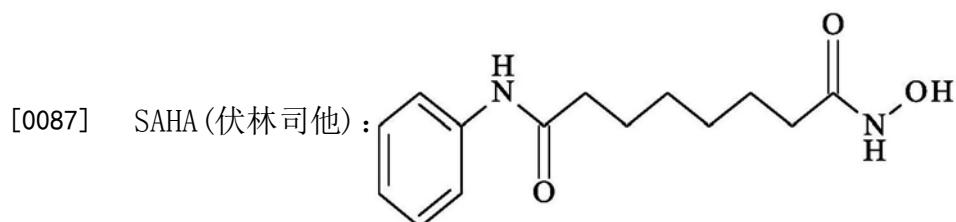
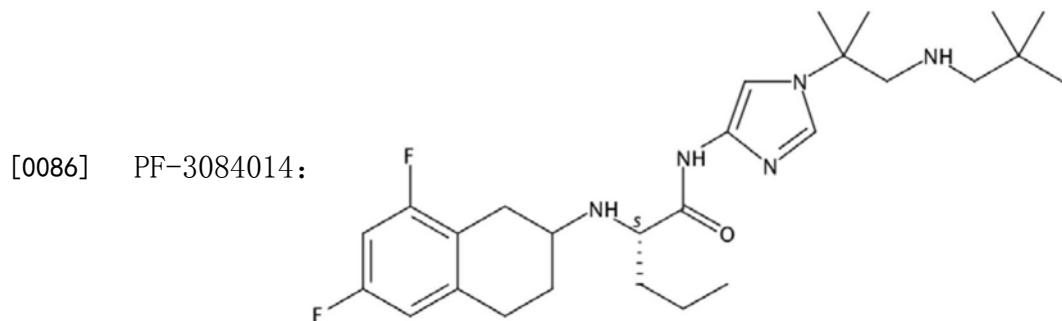
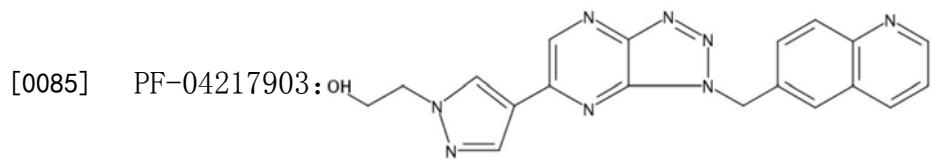


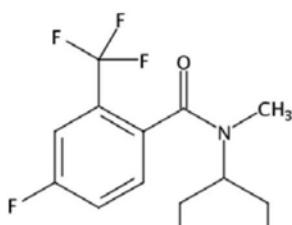
[0083] 帕比司他:



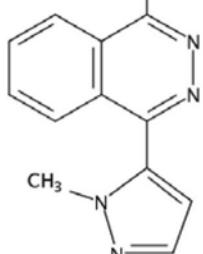
[0084] 培美曲塞:



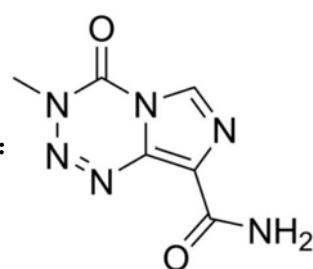




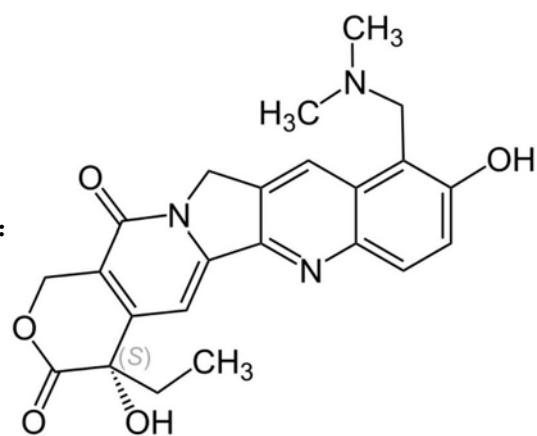
[0090] Taladegib:



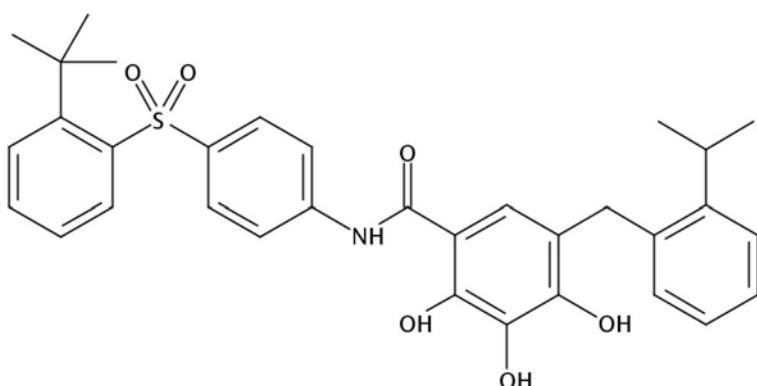
[0091] 替莫唑胺:



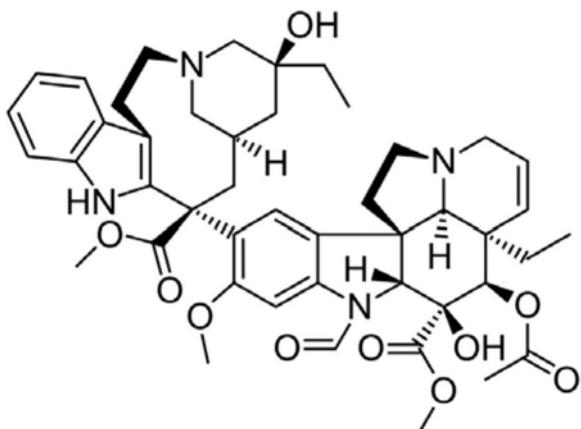
[0092] 托泊替康:



[0093] TW-37:



[0094] 长春新碱:



[0095] 发明详述

[0096] 除非另外定义,否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义相同的含义。尽管与本文描述的那些类似或等同的方法和材料可以用于本发明的实施或测试,但是下面描述了适合的方法和材料。

[0097] 本文提及的所有出版物、专利申请、专利和其他参考文献都通过引用整体并入本文作为参考。

[0098] 除非另有说明,否则本申请中使用的命名法基于IUPAC系统命名法。

[0099] 除非另有说明,否则本文结构中出现在碳、氧、硫或氮原子上的任何开放化合价都表明存在氢。

[0100] 当表示取代基的数目时,术语“一个或多个”是指范围从一个取代基至最高可能数目的取代,即一个氢至所有的氢被取代基替代。

[0101] 术语“任选的”或“任选地”表示随后描述的事件或情况可能、但不一定发生,其中该描述包括其中所述事件或情况发生的例子和其中它不发生的例子。

[0102] 术语“药学上可接受的盐”表示非生物学上的否则就是不期望的盐。药学上可接受的盐包括酸加成盐和碱加成盐。

[0103] 术语“药学上可接受的酸加成的盐”表示与无机酸和有机酸形成的那些药学上可接受的盐,所述的无机酸例如有盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、碳酸、磷酸;所述的有机酸选自脂族、脂环族、芳脂族、杂环、羧酸和磺酸类有机酸,例如甲酸、乙酸、丙酸、乙醇酸、葡萄糖酸、乳酸、丙酮酸、草酸、苹果酸、马来酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、天冬氨酸、抗坏血酸、谷氨酸、邻氨酸苯甲酸、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、双羟萘酸、苯乙酸、甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸和水杨酸。

[0104] 术语“药学上可接受的碱加成盐”表示与有机或无机碱形成的那些药学上可接受的盐。可接受的无机碱的实例包括钠、钾、铵、钙、镁、铁、锌、铜、锰和铝盐。衍生自药学上可接受的有机无毒碱的盐包括伯、仲与叔胺的盐,取代的胺,包括天然存在的取代的胺、环胺和碱性离子交换树脂,例如异丙胺、三甲基胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺、乙醇胺、2-二乙基氨基乙醇、三甲胺、二环己胺、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、咖啡因、普鲁卡因、海巴明、胆碱、甜菜碱、乙二胺、葡萄糖胺、甲基葡萄糖胺、可可碱、嘌呤、哌嗪、哌啶、N-乙基哌啶与聚胺树脂。

[0105] 本文使用的立体化学定义和惯例通常遵循S.P.Parker¹⁰²;和Eliel,E.和Wilen,S.¹⁰³。在描述光学活性化合物时,前缀D和L或R和S用于表示分子关于其手性中心的绝对构型。连接到所考虑的手性中心的取代基根据Cahn,Ingold和Prelog的序列规则¹⁰²排序。前缀

D和L或(+)和(-)用于表示化合物旋转平面偏振光的符号,(-)或L表示该化合物是左旋的,具有(+)或D前缀的化合物是右旋的。

[0106] 术语“药物组合物”和“药物制剂”(或“制剂”)可互换使用,并且表示混合物或溶液,其包含治疗有效量的活性药物成分以及药学上可接受的赋形剂,以施用于有需要的哺乳动物,例如人。

[0107] 术语“药学上可接受的”表示可用于制备药物组合物的材料的属性,所述药物组合物通常是安全的,无毒的,既不是生物学上也不是其他方面不合乎需要的,并且对于兽医以及人类药物用途是可接受的。

[0108] 术语“药学上可接受的赋形剂”、“药学上可接受的载体”和“治疗惰性赋形剂”可互换使用,并且表示药学组合物中的任何药学上可接受的成分,其不具有治疗活性并且对施用的受试者无毒性,例如崩解剂、粘合剂、填充剂、溶剂、缓冲剂、张度剂、稳定剂、抗氧化剂、表面活性剂、载体、稀释剂或润滑剂,它们用于配制药品。

[0109] 术语“抑制剂”表示与特定受体或酶竞争,减少或阻止特定配体与特定受体或酶结合和/或降低或阻止特定蛋白质例如受体或酶活性的化合物。

[0110] “个体”或“受试者”是哺乳动物。哺乳动物包括但不限于驯养动物(例如,牛、绵羊、猫、狗和马),灵长类动物(例如,人类和非人类灵长类动物,例如猴子),家兔和啮齿动物(例如,小鼠和大鼠)。在某些实施方案中,所述个体或受试者是人。

[0111] 如本文所用的术语“动物”包含人类和非人类动物。在一个实施方案中,“非人动物”是哺乳动物,例如啮齿动物,例如大鼠或小鼠。在一个实施方案中,非人动物是小鼠。

[0112] 术语“半数最大有效浓度”(EC_{50})表示在体内获得50%最大特定效应所需的特定化合物或分子的血浆浓度。

[0113] 术语“治疗有效量”(或“有效量”)表示本发明化合物或分子的量,当施用于受试者时,其(i)治疗或预防特定疾病,病症或障碍,(ii)减弱、改善或消除特定疾病、病症或障碍的一种或多种症状,或(iii)预防或延迟本文所述的特定疾病,病症或障碍的一种或多种症状的发作。治疗有效量将根据化合物、所治疗的疾病状态、所治疗疾病的严重程度、受试者的年龄和相对健康状况、施用途径和形式、主治医师或兽医学的判断和其它因素而变化。

[0114] 疾病状态的“治疗”一词包括抑制疾病状态,即阻止疾病状态的发展或其临床症状或缓解疾病状态,即引起疾病状态或其临床症状的暂时或永久性消退。

[0115] 术语“评估肿瘤疾病”用于表示根据本发明的方法将帮助医学专业人员,包括例如医师评估个体是否患有肿瘤疾病或是否有发展肿瘤疾病的风险。与一个或多个参考水平相比,基因组的水平表明个体是否患有肿瘤性疾病或个体是否有发展肿瘤疾病的风险或预测肿瘤疾病的进程。在一个实施方案中,评估肿瘤疾病的术语用于表示根据本发明的方法将帮助医学专业人员评估个体是否患有肿瘤性疾病。在这些实施方案中,与一个或多个参考水平相比,基因组的水平表明个体是否患有肿瘤疾病。

[0116] 术语“评估疗法”用于表示根据本发明的方法将帮助医学专业人员,包括例如医师,评估患有肿瘤疾病的个体是否应该用有效量的LSD1抑制剂治疗。响应者基因的水平高于参考水平,和/或非响应者基因的水平低于参考水平表明患者应该用有效量的LSD1抑制剂治疗。在某些实施方案中,术语“在参考水平”是指来自个体或患者的样品中基因组的基因水平,其基本上与参考水平相同或者与参考水平至多1%,至多2%,至多3%,至多4%,至

多5%不同的水平。

[0117] 在某些实施方案中,术语“高于参考水平”是指来自个体或患者的样品中基因组的基因水平高于参考水平或与参考水平相比总体增加5%、10%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、100%或更高,正如通过本文所述的方法测定的。在某些实施方案中,术语增加是指来自个体或患者的样品中基因组的基因水平的增加,其中,比参考水平高增加至少约为1.5-、1.75-、2-、3-、4-、5-、6-、7-、8-、9-、10-、15-、20-、25-、30-、40-、50-、60-、70-、75-、80-、90-或100倍,例如根据参考样品预先确定。

[0118] 在某些实施方案中,本文中术语“降低”或“低于”至来自个体或患者的样品中基因组的基因水平低于参考水平或与参考水平相比总体降低5%、10%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高,通过本文所述方法测定。在某些实施方案中,术语降低是指来自个体或患者的样品中基因小组的基因水平比参考水平降低,其中降低的水平至多约为0.9-、0.8-、0.7-、0.6-、0.5-、0.4-、0.3-、0.2-、0.1-、0.05-或0.01-倍或更低,例如,根据参考样品预定。

[0119] 本文所用的术语“生物标志物”是指遗传上的基因,其在哺乳动物组织或细胞中或其上的表达或存在可通过标准方法(或本文公开的方法)检测,并且可以是预测性的、诊断性的和/或预测哺乳动物细胞或组织对基于使用例如LSD1抑制剂例如(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺双盐酸盐的LSD1抑制的治疗方案的敏感性。在某些实施方案中,确定这类生物标志物的水平高于或低于参考样品观察到的水平。

[0120] 如本文所用的术语“比较”是指将来自个体或患者的样品中的生物标记物的水平与本说明书中其他地方指定的生物标记物的参考水平进行比较。应当理解,如本文所使用的比较通常是指相应参数或值的比较,例如,将绝对量与绝对参考量进行比较,同时将浓度与参考浓度或从生物标记物获得的强度信号进行比较。将样品中的样品与从参考样品中获得的相同类型的强度信号进行比较。比较可以手动或计算机辅助进行。因此,该比较可以由计算设备(例如,本文公开的系统)执行。来自个体或患者的样本中的生物标记物的测量或检测水平的值和参考水平可以例如彼此比较,并且所述比较可以由执行用于该方法的算法的计算机程序自动执行比较。执行所述评估的计算机程序将以输出格式提供所需的评估。对于计算机辅助比较,可以将确定量的值与对应于由计算机程序存储在数据库中的适合的参考的值进行比较。计算机程序可以进一步评估比较的结果,即以输出格式自动提供所需的评估。对于计算机辅助比较,可以将确定量的值与对应于由计算机程序存储在数据库中的适合的参考的值进行比较。计算机程序可以进一步评估比较的结果,即以适合的输出格式自动提供所需的评估。

[0121] 如本文所用的术语“检测”生物标志物是指采用本文其他地方所述的适当检测方法检测样品中生物标志物的量的存在的方法。

[0122] 如本文所用,术语“测量”生物标志物的水平是指生物标志物的定量,例如,生物标志物的定量。使用本文其他地方描述的适当检测方法来确定样品中生物标志物的水平。

[0123] 术语“监测疗法的功效”用于表示在用LSD1抑制剂治疗之前和/或之下从患者获得至少一次(包括连续)样品,并且在其中测量基因小组水平以获得指示治疗是否有效。

[0124] 在监测治疗功效时,测量基因面板水平,并且在一个实施例中与基因面板的参考值进行比较,或者,在另一个实施例中,将其与从基因面板获得的样本中的基因面板水平进

行比较。同一患者在较早的时间点,例如虽然所述患者已经在治疗中或在所述患者开始治疗之前。

[0125] 本文中的“患者”或“受试者”是经历或经历过一种或多种肿瘤疾病的体征、症状或其他指标的任何有资格接受治疗的单一人类受试者。旨在作为受试者包括的是参与临床研究试验的任何受试者,其未显示任何疾病的临床症状,或参与流行病学研究的受试者,或曾经用作对照的受试者。受试者可能先前已用LSD1抑制剂或另一种药物治疗,或未经如此治疗。当本文的治疗开始时,受试者可能对于使用的其他药物是天真的,即,受试者可能先前没有用“基线”下的LSD1抑制剂以外的治疗进行治疗(即在本文的治疗方法中给予第一剂药物D之前的设定时间点,例如在开始治疗之前筛选受试者的那天)。这种“初次用于实验”的受试者在遗传上被视为用这类额外药物治疗的候选者。

[0126] 本文所用的短语“提供诊断/评估”是指使用与患者样品中的基因组水平相关的评定的基因信息或数据来诊断/评估患者的肿瘤疾病。信息或数据可以任何形式,书面,口头或电子形式。在一些实施方中,使用生成的信息或数据包括通信,呈现,报告,存储,发送,转移,提供,播送,分配或其组合。在一些实施例中,通过计算设备,分析器单元或其组合来执行通信,呈现,报告,存储,发送,转移,供应,播送,分配或其组合。在一些另外的实施方案中,由实验室或医学专业人员进行通信,呈现,报告,存储,发送,转移,提供,播送,分配或其组合。在一些实施方案中,信息或数据包括基因组水平与参考水平的比较。

[0127] 本文所用的短语“推荐治疗”是指使用与患者样品中的基因小组水平相关的评定的基因信息或数据,以将患者鉴定为适当治疗或未用治疗适当治疗。在一些实施方案中,该疗法可包含LSD1抑制剂。在一些实施方案中,短语“推荐治疗/疗法”包括鉴定需要适应有效量的施用LSD1抑制剂的患者。在一些实施方案中,推荐治疗包括建议调整施用的LSD1抑制剂的量。本文所用的短语“推荐治疗”还可以指使用被评定为提供或选择包含LSD1抑制剂的治疗的信息或数据基因,用于为提供或选择为更多或不太可能响应于包括LSD1抑制剂治疗的治疗的患者。所使用的信息或数据或基因评级可以任何形式,书面,口头或电子形式。在一些实施例中,使用基因等级的信息或数据包括通信,呈现,报告,存储,发送,转移,提供,播送,分配或其组合。在一些实施方案中,通过计算设备,分析器单元或其组合来执行通信,呈现,报告,存储,发送,转移,提供,播送,分配或其组合。在一些另外的实施方案中,由实验室或医学专业人员进行通信,呈现,报告,存储,发送,转移,提供,播送,分配或其组合。在一些实施方案中,信息或数据包括基因组水平与参考水平的比较。在一些实施方案中,所述信息或数据包括患者被适当治疗或未用包含LSD1抑制剂的疗法适当治疗的指示。

[0128] 在某些实施方案中,本文的术语“参考水平”是指预定值。在该上下文中,“水平”包括绝对量、相对量或浓度以及与其相关或可由其衍生的任何值或参数。如本领域技术人员将理解的,参考水平是预先确定的并且设定为满足常规要求。特异性和/或敏感性。这些要求可以变化,例如从监管机构到监管机构。分别可以例如将测定灵敏度或特异性设定为某些限度,例如,分别为80%,90%,95%或98%。这些要求也可以用正面或负面预测值来定义。尽管如此,基于本发明给出的教导,技术人员总是可以达到满足这些要求的参考水平。在一个实施方案中,参考水平在来自健康个体的参考样品中确定。一个实施方案中的参考水平已经在来自患者所属的疾病实体的参考样品中预先确定。在某些实施方案中,参考水平可以是设定为调查的疾病实体中值的总分布的25%至75%之间的任何百分比。在其他实

施方案中,参考水平可以是设定为中位数,三分位数或四分位数,由所研究的疾病实体的参考样本中的值的总体分布确定。在一个实施方案中,参考水平设定为中值,如根据所研究的疾病实体中的值的总体分布确定的。参考水平可以根据各种生理参数(例如年龄、性别或亚群)以及用于确定本文提及的基因小组水平的手段而变化。在一个实施方案中,参考样品来自与来自经受本发明方法的个体或患者的样品基本上相同类型的细胞、组织、器官或体液来源,例如,如果根据本发明,血液用作样品以确定个体中的基因组水平,则还在血液或其一部分中确定参考水平。

[0129] 在本发明的上下文中,短语“响应于”表示患有,怀疑患有或易于患有或被诊断患有如本文所述的病症的患者显示对包含LSD1抑制剂的治疗的响应。

[0130] 术语“样品”是指体液样品、分离细胞样品或来自组织或器官的样品。体液样品可通过众所周知的技术获得,包括血液、血浆、血清、尿液、淋巴液、痰液、腹水、支气管灌洗液或任何其他身体分泌物或其衍生物的样品。组织或器官样品可以通过例如活组织检查从任何组织或器官获得。可以通过分离技术(例如离心或细胞分选)从体液或组织或器官获得分离的细胞。例如,细胞、组织或器官样品可以从表达或产生生物标志物的那些细胞、组织或器官获得。样品可以冷冻、新鲜、固定(例如福尔马林固定)、离心和/或包埋(例如石蜡包埋)等。细胞样品当然可以进行各种众所周知的收集后制备在评估样品中标记物的量之前,存储技术(例如,核酸和/或蛋白质提取、固定、储存、冷冻、超滤、浓缩、蒸发、离心等)。同样,活组织检查也可以进行收集后制备和储存技术,例如固定。

[0131] 本文所用的短语“选择患者”或“鉴定患者”是指使用与患者样本中的基因组水平相关的评定的基因信息或数据来识别或选择患者更可能受益或更少可能受益于包含LSD1抑制剂的疗法。所使用的信息或数据或基因评级可以任何形式、书面、口头或电子形式。在一些实施例中,使用产生的信息或数据包括通信、呈现、报告、存储、发送、转移、提供、播送、分配或其组合。在一些实施方案中,通过计算设备、分析器单元或其组合来执行通信、呈现、报告、存储、发送、转移、提供、播送、分配或其组合。在一些另外的实施方案中,由实验室或医学专业人员进行通信、呈现、报告、存储、发送、转移、提供、播送或其组合。在一些实施方案中,信息或数据包括基因组水平与参考水平的比较。在一些实施方案中,信息或数据包括患者更可能或不太可能响应包含LSD1抑制剂的疗法的指示。

[0132] 本文使用的短语“选择治疗”是指使用与患者样本中的基因小组水平相关的评定的基因信息或数据来识别或选择患者的治疗。在一些实施方案中,该疗法可包含LSD1抑制剂。在一些实施方案中,短语“鉴定/选择治疗”包括鉴定需要适应有效量的施用的LSD1抑制剂的患者。在一些实施方案中,推荐治疗包括建议调整施用的LSD1抑制剂的量。本文所用的短语“推荐治疗”还可以指使用被评定为提出或选择包含LSD1抑制剂的治疗的信息或数据基因,用于被识别或选择为更多或更不可能响应于包含LSD1抑制剂治疗的患者。所使用或产生的信息或数据可以任何形式,书面、口头或电子形式。在一些实施方案中,使用产生的信息或数据包括通信、呈现、报告、存储、发送、转移、提供、播送、分配或其组合。在一些实施例中,通过计算设备、分析器单元或其组合来执行通信、呈现、报告、存储、发送、转移、提供、播送、分配或其组合。在一些另外的实施方案中,由实验室或医学专业人员进行通信、呈现、报告、存储、发送、转移、提供、播送、分配或其组合。在一些实施例中,信息或数据包括基因面板水平与参考水平的比较。在一些实施方案中,所述信息或数据包括指示包含适合于

患者的LSD1抑制剂的疗法的指示。

[0133] 术语“应答者基因”是指包含ASCL1、HOXA10、NCAM1、NCAM2、NEUROD1、DDC、GRP、KRT8、EN02、AVP、OXT、SYP、CHGA、CHGB、SOX21和BCL2的基因组。

[0134] 术语“无应答者基因”是指癌基因MYC。

[0135] 术语“实体瘤”涉及通常不含囊肿或液体区域的异常组织块。实体瘤可能是良性的(不是癌症),也可能是恶性的(癌症)。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)通常不会形成实体瘤。

[0136] 治疗组合

[0137] 具体地,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种或多种活性药物成分,其选自表2的化合物及其药学上可接受的盐。

[0138] 具体地,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种或多种活性药物成分,其选自ABT-199、ABT-263、ABT-737、ABT-888、ACY-1215、贝林司他、苯达莫司汀、BGJ398、BMS-906024、卡铂、CGK 733、顺铂、CPI-169、CPI-203、多西他赛、多柔比星、EPZ-004777、EPZ005687、EPZ-5676、EPZ-6438、厄洛替尼、依托泊苷、FLI 06、氟尿嘧啶、GDC-0449、吉西他滨、GSK126、GSK1324726A、GSK343、GSK-J1、GSK1210151A、伊立替康、(+)-JQ1、拉帕替尼、LDE225、LY2603618、LY-3039478、甲萘醌、甲氨蝶呤、MK-0752、MLN8237、MS 436、Nutlin-3A、奥巴克拉、OTX015、紫杉醇、帕比司他、培美曲塞、PF-04217903、PF-3084014、SAHA、SGC 0946、SNDX-275、Taladegib、替莫唑胺、托泊替康、TW-37、长春新碱及其药学上可接受的盐。

[0139] 具体地,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种或多种活性药物成分,其选自BCL2抑制剂、BET抑制剂、EZH2抑制剂、DOT1L抑制剂、Chk抑制剂、DNA烷化剂、HDAC抑制剂、拓扑异构酶抑制剂、抗有丝分裂药、Aurora激酶抑制剂及其药学上可接受的盐。

[0140] 具体地,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种或多种活性药物成分,其选自BCL2抑制剂、BET抑制剂、EZH2抑制剂、DOT1L抑制剂及其药学上可接受的盐。

[0141] 具体地,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种或多种活性药物成分,其选自BCL2抑制剂、BET抑制剂及其药学上可接受的盐。

[0142] 具体地,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种BCL2抑制剂或其药学上可接受的盐。

[0143] 具体地,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种BCL2抑制剂,其选自ABT-199、ABT-263、ABT-737、奥巴克拉、TW-37及其药学上可接受的盐。

[0144] 具体地,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种BET抑制剂或其药学上可接受的盐。

[0145] 具体地,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种BET抑制剂,其选自CPI-203、GSK1324726A、GSK1210151A、(+)-JQ1、MS 436、OTX015及其药学上可接受的盐。

[0146] 具体地,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种EZH2抑制剂或其药学上可接受的盐。

[0147] 具体地,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种EZH2抑制剂,其选自CPI-169、EPZ005687、EPZ-6438、GSK126、GSK343及其药学上可接受的盐。

[0148] 具体地,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种DOT1L抑制剂或其药学上可接受的盐。

[0149] 具体地,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种DOT1L抑制剂,其选自EPZ-004777、EPZ-5676、SGC 0946及其药学上可接受的盐。

[0150] 具体地,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种Chk抑制剂或其药学上可接受的盐。

[0151] 具体地,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种Chk抑制剂,其选自LY2603618及其药学上可接受的盐。

[0152] 具体地,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种DNA烷化剂或其药学上可接受的盐。

[0153] 具体地,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种DNA烷化剂,其选自苯达莫司汀、卡铂、顺铂、替莫唑胺及其药学上可接受的盐。

[0154] 具体地,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种HDAC抑制剂或其药学上可接受的盐。

[0155] 具体地,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种HDAC抑制剂,其选自ACY-1215、贝林司他、帕比司他、SAHA、SNDX-275或及其药学上可接受的盐。

[0156] 具体地,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种拓扑异构酶抑制剂或其药学上可接受的盐。

[0157] 具体地,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种拓扑异构酶抑制剂,其选自依托泊昔、伊立替康、托泊替康及其药学上可接受的盐。

[0158] 具体地,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种Aurora激酶抑制剂或其药学上可接受的盐。

[0159] 具体地,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种Aurora激酶抑制剂,其选自MLN8237及其药学上可接受的盐。

[0160] 具体地,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种抗有丝分裂药或其药学上可接受的盐。

[0161] 具体地,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐和一种抗有丝分裂药,其选自多西他赛、紫杉醇、长春新碱及其药学上可接受的盐。

[0162] 在一个实施方案中,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐、拓扑异构酶抑制剂或其药学上可接受的盐和DNA烷化剂或其药学上可接受的盐。

[0163] 在一个实施方案中,本发明提供了治疗组合,其包含(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺或其药学上可接受的盐、拓扑异构酶抑制剂或其药学上可接受的盐和DNA烷化剂或其药学上可接受的盐。

[0164] 在一个实施方案中,本发明提供了治疗组合,包含LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐、依托泊昔或其药学上可接受的盐和卡铂或其药学上可接受的盐。

[0165] 在一个实施方案中,本发明提供了治疗组合,其包含(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺或其药学上可接受的盐、依托泊昔或其药学上可接受的盐和卡铂或其药学上可接受的盐。

[0166] 在本发明的一个实施方案中,所述治疗组合产生了高于6.4、特别是高于8、更特别地高于10、最特别地高于15的协同作用评分。

[0167] 在本发明的一个实施方案中,所述治疗组合产生了高于6.4、特别是高于8、更特别地高于10、最特别地高于15的协同作用评分,其中协同作用评分如下计算:

[0168] 协同作用评分= $\log f_X \log f_Y \sum \max(0, I_{\text{数据}} - I_{\text{Loewe}})$

[0169] LSD1抑制剂

[0170] 在本发明的一个方面,LSD1抑制剂选自如WO 2011/131697²、WO 2012135113³和WO 2013/057322⁴中所述的化合物。

[0171] 在本发明的一个具体的实施方案中,LSD1抑制剂选自:4-[[4-[[[(1R,2S)-2-苯基环丙基]氨基]甲基]-1-哌啶基]甲基]-苯甲酸、(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺、(R)-1-(4-(((反式)-2-苯基环丙基)氨基)环己基)吡咯烷-3-胺、4-(氨基甲基)-N-((反式)-2-苯基环丙基)环己胺、N1-((反式)-2-苯基环丙基)环己烷-1,3-二胺、N1-((反式)-2-苯基环丙基)环丁烷-1,3-二胺、N1-((反式)-2-苯基环丙基)-2,3-二氢-1H-茚-1,3-二胺、N1-甲基-N4-((反式)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺、N1-((反式)-2-(4-溴苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、N1-(2-(邻甲苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、N1-(2-(4-甲氧基苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、N1-(2-(2-氟苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、N1-(2-(萘-2-基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、N-4'-(((反式)-2-((4-氨基环己基)氨基)环丙基)-[1,1'-联苯]-3-基)-2-氰基苯磺酰胺、N1-((反式)-2-(4-(吡啶-3-基甲氧基)苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、及其药学上可接受的盐。

[0172] 在本发明的一个具体的实施方案中,LSD1抑制剂选自:4-[[4-[[[(1R,2S)-2-苯基环丙基]氨基]甲基]-1-哌啶基]甲基]-苯甲酸、(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺、(R)-1-(4-(((反式)-2-苯基环丙基)氨基)环己基)吡咯烷-3-胺、4-(氨基甲基)-N-((反式)-2-苯基环丙基)环己胺、N1-((反式)-2-苯基环丙基)环己烷-1,3-二胺、N1-((反式)-2-苯基环丙基)环丁烷-1,3-二胺、N1-((反式)-2-苯基环丙基)-2,3-二氢-1H-茚-1,3-二胺、N1-甲基-N4-((反式)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺、N1-((反式)-2-(4-溴苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、N1-(2-(邻甲苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、N1-(2-(4-甲氧基苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、N1-(2-(2-氟苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、N1-(2-(萘-2-基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、N-4'-(((反式)-2-((4-氨基环己基)氨基)环丙基)-[1,1'-联苯]-3-基)-2-氰基苯磺酰胺,和N1-((反式)-2-(4-(吡啶-3-基甲氧基)苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺或其药学上可接受的盐。

[0173] 在本发明的一个具体的实施方案中,LSD1抑制剂选自:4-[[4-[[[(1R,2S)-2-苯基环丙基]氨基]甲基]-1-哌啶基]甲基]-苯甲酸(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺、(R)-1-(4-(((反式)-2-苯基环丙基)氨基)环己基)吡咯烷-3-胺、4-(氨基甲基)-N-((反式)-2-苯基环丙基)环己胺、N1-((反式)-2-苯基环丙基)环己烷-1,3-二胺、N1-((反式)-2-苯基环丙基)环丁烷-1,3-二胺、N1-((反式)-2-苯基环丙基)-2,3-二氢-1H-茚-1,3-二胺、N1-甲基-N4-((反式)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺、N1-((反式)-2-(4-溴苯

基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、N1-(2-(邻甲苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、N1-(2-(4-甲氧基苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、N1-(2-(2-氟苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、N1-(2-(萘-2-基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、N-(4'-((反式)-2-((4-氨基环己基)氨基)环丙基)-[1,1'-联苯]-3-基)-2-氰基苯磺酰胺、N1-((反式)-2-(4-(吡啶-3-基甲氧基)苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、及其药学上可接受的盐。

[0174] 在本发明的一个具体的实施方案中,LSD1抑制剂是GSK2879552[CAS注册号1401966-69-5],也称作4-[4-[[[(1R,2S)-2-苯基环丙基]氨基]甲基]-1-哌啶基]甲基]-苯甲酸,或其药学上可接受的盐。

[0175] 在本发明的一个具体的实施方案中,LSD1抑制剂选自:(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺、(R)-1-(4-((反式)-2-苯基环丙基)氨基)环己基)吡咯烷-3-胺、4-(氨基甲基)-N-((反式)-2-苯基环丙基)环己胺、N1-((反式)-2-苯基环丙基)环己烷-1,3-二胺、N1-((反式)-2-苯基环丙基)环丁烷-1,3-二胺、N1-((反式)-2-苯基环丙基)-2,3-二氢-1H-茚-1,3-二胺、N1-甲基-N4-((反式)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺、N1-((反式)-2-(4-溴苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、N1-(2-(邻甲苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、N1-(2-(4-甲氧基苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、N1-(2-(2-氟苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、N1-(2-(萘-2-基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、N-(4'-((反式)-2-((4-氨基环己基)氨基)环丙基)-[1,1'-联苯]-3-基)-2-氰基苯磺酰胺、N1-((反式)-2-(4-(吡啶-3-基甲氧基)苯基)环丙基)环己烷-1,4-二胺、及其药学上可接受的盐。

[0176] 在本发明的一个具体的实施方案中,LSD1抑制剂是(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺[CAS注册号1431304-21-0]或其药学上可接受的盐。

[0177] 在本发明的一个具体的实施方案中,LSD1抑制剂是(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺[CAS注册号1431304-21-0]或其盐酸盐。

[0178] 在本发明的一个具体的实施方案中,LSD1抑制剂是(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺双盐酸盐[CAS注册号1431303-72-8]。

[0179] 联合疗法

[0180] 治疗组合可用于治疗过度增殖性疾病或障碍,包括肿瘤、癌症和肿瘤组织,以及恶变前和非肿瘤或非恶性过度增殖性障碍。在某些实施方案中,本发明的组合在给药方案中作为组合疗法与另一种具有抗过度增殖特性或可用于治疗过度增殖性障碍的化合物组合。给药方案的另外的化合物优选具有与组合的互补活性,使得它们不会相互产生不利影响。这些化合物可以以对预期目的有效的量施用。在一个实施方案中,治疗组合通过给药方案给药,其中治疗有效量的LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐或其药学上可接受的盐在每日两次至每三周一次(q3wk)的范围内施用,以及一种或多种活性药物成分,其选择表2的化合物及其药学上可接受的盐的治疗有效量在每日两次至每三周一次的范围内施用。

[0181] 组合疗法可以作为同时或顺序方案施用。当顺序施用时,该组合可以两次或多次施用来施用。联合施用包括共同施用,使用单独的制剂和以任何顺序连续施用,其中优选存在一段时间,同时两种(或所有)活性剂同时发挥其生物活性。

[0182] 在本发明的一个具体方面,可以在开始施用一种或多种活性药物成分后约1至约10天的时间内施用LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐,所述一种或多种活性药物成分选自表2的化合物及其药学上可接受的盐。在本发明的另一个具体方面,LSD1抑制剂或其药学上

可接受的盐可以在施用一种或多种活性药物成分之前施用约1至10天的时间段,所述一种或多种活性药物成分选自表2的化合物及其药学上可接受的盐。在本发明的另一个具体方面,在同一天开始施用LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐并施用一种或多种活性药物成分,其选自表2的化合物及其药学上可接受的盐。

[0183] 在本发明的一个具体方面,一种或多种活性药物成分,其选自表2的化合物及其药学上可接受的盐可在开始施用LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐后约1至约10天的时间内施用。在本发明的另一个具体方面,一种或多种活性药物成分,其选自表2的化合物及其药学上可接受的盐可以在施用LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐开始之前施用约1至10天的时间。在本发明的另一个具体方面,在同一天开始施用一种或多种活性药物成分,其选自表2的化合物及其药学上可接受的盐并且施用LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐。

[0184] 任何上述共同施用的药剂的适宜剂量是目前使用的剂量,并且可以由于新鉴定的药剂和其他化学治疗剂或治疗的联合作用(协同作用)而降低,例如以增加治疗指数或减轻毒性或其他副作用或后果。

[0185] 在抗癌疗法的特定实施方案中,治疗组合可以与手术疗法和放射疗法组合。将选择组合的量和给药的相对时间以实现期望的组合治疗效果。

[0186] 在本发明的一个具体实施方案中,在施用本文所述的治疗组合之前,通过施用LSD1抑制剂使SCLC细胞敏化。

[0187] 在本发明的一个具体实施方案中,SCLC细胞在施用本文所述的治疗组合之前通过施用(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺或其药学上可接受的盐而敏化。

[0188] 在本发明的一个具体实施方案中,SCLC细胞通过施用(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺或其药学上可接受的盐而敏化,在施用如本文所述的治疗组合之前,在五天/两天休息(5/2)三周后。

[0189] 在本发明的一个具体实施方案中,SCLC细胞通过施用(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺而敏化,或其药学上可接受的盐,在施用本文所述的治疗组合之前,以40 μ g/kg (upk) 5天/2天(5/2)的剂量持续三周。

[0190] 在本发明的一个具体实施方案中,SCLC细胞通过施用(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺而敏化,或其药学上可接受的盐,剂量为40 μ g/kg (upk) 5天/2天休息(5/2),持续3周,然后给予治疗组合,其包含依托泊昔,卡铂和(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺,或其药学上可接受的盐。

[0191] 在本发明的一个具体实施方案中,SCLC细胞通过施用(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺而敏化,或其药学上可接受的盐,剂量为40 μ g/kg (upk) 5天/2天休息(5/2),持续3周,然后给予治疗组合,其包含依托泊昔,剂量为5mg/kg (mpk) 每天,持续5天(qdx5),卡铂,剂量为100mpk每周,持续3周,和(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺,或其药学上可接受的盐,剂量为20upk,5天/2天休息(5/2),持续3周。

[0192] 本发明的一个具体的实施方案涉及用于治疗肿瘤疾病的方法,该方法包含通过施用LSD1抑制剂致敏,然后对人或动物施用有效量的如本文所述的治疗组合。

[0193] 本发明的一个具体的实施方案涉及用于治疗肿瘤疾病的方法,该方法包含通过施用(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺或其药学上可接受的盐致敏,然

后对人或动物施用有效量的如本文所述的治疗组合。

[0194] 本发明的一个具体的实施方案涉及用于治疗肿瘤疾病的方法,该方法包含通过施用(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺或其药学上可接受的盐致敏,5天治疗/2天休息(5/2),持续3周,然后对人或动物施用有效量的如本文所述的治疗组合。

[0195] 本发明的一个具体的实施方案涉及用于治疗肿瘤疾病的方法,该方法包含通过施用(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺或其药学上可接受的盐致敏,剂量40 μ g/kg(upk),5天治疗/2天休息(5/2),持续3周,然后对人或动物施用有效量的如本文所述的治疗组合。

[0196] 本发明的一个具体的实施方案涉及用于治疗肿瘤疾病的方法,该方法包含通过施用(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺或其药学上可接受的盐致敏,剂量40 μ g/kg(upk),5天治疗/2天休息(5/2),持续3周,然后对人或动物施用有效量的如本文所述的治疗组合,其包含依托泊昔、卡铂和(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺。

[0197] 本发明的一个具体的实施方案涉及用于治疗肿瘤疾病的方法,该方法包含通过施用(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺或其药学上可接受的盐致敏,剂量40 μ g/kg(upk),5天治疗/2天休息(5/2),持续3周,然后对人或动物施用有效量的如本文所述的治疗组合,其包含依托泊昔,剂量为每日5mg/kg(mpk),持续5天(qdx5),卡铂,剂量为每周100mpk,持续3周(qwkx3)和(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺,剂量为20upk,持续5天治疗/2天休息,持续3周。

[0198] 药物组合物

[0199] 另一个实施方案提供包含如本文所述的治疗组合和药学上可接受的赋形剂的药物组合物或药物。

[0200] 以符合良好医学实践的方式配制、给药和施用组合物。在此背景下考虑的因素包括所治疗的特定障碍、所治疗的特定哺乳动物、个体患者的临床状况、障碍的原因、药剂的递送部位、施用方法、施用方案和医务人员知晓的其他因素。

[0201] 如本文所述的治疗组合可以通过任何适合的方式施用,包括口服、局部(包括口腔和舌下)、直肠、阴道、透皮、肠胃外、皮下、腹膜内、肺内、皮内、鞘内和硬膜外和鼻内,并且如果需要局部治疗、为病灶内施用。肠胃外输注包括肌内、静脉内、动脉内、腹膜内或皮下施用。

[0202] 如本文所述的治疗组合可以任何便利施用形式施用,例如片剂、粉剂、胶囊剂、溶液剂、分散剂、混悬剂、糖浆、喷雾剂、栓剂、凝胶剂、乳剂、贴剂等。这类组合物可包含药物制剂中常用的成分,例如稀释剂、载体、pH调节剂、防腐剂、增溶剂、稳定剂、润湿剂、乳化剂、甜味剂、着色剂、矫味剂、用于改变渗透压的盐、缓冲剂、掩蔽剂、抗氧化剂与其他活性试剂。它们还可以包含其他有治疗价值的物质。

[0203] 典型的制剂通过混合如本文所述的治疗组合和药学上可接受的赋形剂来制备。适合的赋形剂是本领域技术人员众所周知的,并且在例如Ansel H.C.等人¹⁰³、Gennaro A.R.等人¹⁰⁴与Rowe R.C.¹⁰⁵中详细描述。制剂还可包括一种或多种缓冲剂、稳定剂、表面活性剂、润湿剂、润滑剂、乳化剂、悬浮剂、防腐剂、抗氧化剂、不透明剂、助流剂、加工助剂、着色剂、甜味剂、芳香剂、调味剂、稀释剂和其它已知的添加剂以提供药物(即,本发明的化合物或其

药物组合物)的优雅呈现或有助于制备药物产品(即药物)。

[0204] 如本文所述的治疗组合的施用剂量可以在很宽的范围内变化,并且当然可以在每种特定情况下符合个体要求。

[0205] 适合的口服剂型的实例是包含约0.01mg至10mg如本文所述的治疗组合与约90至30mg无水乳糖、约5至40mg交联羧甲基纤维素钠、约5至30mg聚乙烯吡咯烷酮(PVP)K30和约1至10毫克硬脂酸镁混合的片剂。首先将粉末成分混合在一起,然后与PVP溶液混合。可将所得组合物干燥,造粒,与硬脂酸镁混合,并使用常规设备压制成片剂形式。

[0206] 气雾剂制剂的实例可以通过将如本文所述的治疗组合物(例如0.1至100mg)溶解在适合的缓冲溶液例如磷酸盐缓冲液中,所述缓冲溶液,如果需要加入张力调节剂,例如盐,例如氯化钠来制备。可以例如使用0.2μm过滤器过滤溶液,以去除杂质和污染物。

[0207] 另一个实施方案涉及药物组合物,其包含如本文所述的治疗组合和一种或多种药学上可接受的赋形剂。

[0208] 制品

[0209] 在本发明的另一个实施方案中,提供了制品或或"药盒",其包含用于治疗上述疾病和障碍的组合。

[0210] 在一个实施方案中,所述药盒包含容器和如本文所述的治疗组合。

[0211] 本发明的一个实施方案提供了制品,其包含如本文所述用于治疗肿瘤疾病的治疗组合。

[0212] 该药盒还可包含在容器上或与容器相关的标签或包装说明书。术语"包装说明书"用于指通常包括在治疗产品的商业包装中的说明书,其包含关于使用这些治疗产品的适应症,用法,剂量,施用,禁忌症和/或警告的信息。适合的容器包括例如瓶子,小瓶,注射器,泡罩包装等。容器可以由多种材料形成,例如玻璃或塑料。容器可以容纳组合物或其制剂,其有效治疗病症并且可以具有无菌进入口(例如,容器可以是静脉内溶液袋或具有可由皮下注射针刺穿的塞子的小瓶)。标签或包装说明书表明该组合物用于治疗选择的病症,例如癌症。在一个实施方案中,标签或包装说明书指示包含所述组合的组合物可用于治疗由异常细胞生长引起的障碍。标签或包装说明书还可指示该组合物可用于治疗其他障碍。或者,或另外,制品还可包含第二容器,其包含药学上可接受的缓冲液,例如抑菌性注射用水(BWFI),磷酸盐缓冲盐水,林格氏溶液和右旋糖溶液。它还可以包括从商业和用户角度所需的其他材料,包括其他缓冲剂,稀释剂,过滤器,针和注射器。

[0213] 所述药盒可以进一步包含联合施用的说明书,如果存在,还包括第二药物制剂。例如,如果药盒包含含有LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐的第一组合物和包含一种或多种活性药物成分的第二药物制剂,所述一种或多种活性药物成分选自表2的化合物和药学上可接受的其盐,该药盒可以进一步包含将第一和第二药物组合物同时、依次或分开施用于有此需要的患者的说明书。

[0214] 在另一个实施方案中,所述药盒用于递送组合的固体口服形式,例如片剂或胶囊。这类药盒优选包括许多单位剂量。此类试剂盒可包括具有按其预期用途的顺序定向的剂量的卡。这类药盒的实例是"泡罩包装"。泡罩包装在包装工业中是众所周知的,并且广泛用于包装药物单位剂型。如果需要,可以提供记忆辅助物,例如以数字、字母或其他标记的形式或者用日历插入物,指定可以施用剂量的治疗方案中的日期。

[0215] 根据一个实施方案,药盒可包含(a)其中含有LSD1抑制剂或其药学上可接受的盐的第一容器;(b)具有一种或多种活性药物成分的第二容器,其选自表2的化合物及其药学上可接受的盐;和(c)含有第三药物制剂的第三容器,其中第三药物制剂包含另一种具有抗过度增殖活性的化合物。或者,或另外,药盒可包含另一容器,其包含药学上可接受的缓冲液,例如抑菌性注射用水(BWFI),磷酸盐缓冲盐水,林格氏溶液和右旋糖溶液。它还可以包括从商业和用户角度所需的其他材料,包括其他缓冲剂,稀释剂,过滤器,针和注射器。

[0216] 当药盒包含LSD1抑制剂或其药物上可接受的盐和一种或多种活性药物成分时,其选自表2的化合物及其药学上可接受的盐的组合物,该药盒可包含为了容纳单独的组合物的容器,例如分开的瓶子或分开的箔包,然而,单独的组合物也可以包含在单个未分开的容器中。典型地,药盒包含用于施用单独成分的说明书。当单独的成分优选以不同的剂型(例如,口服和肠胃外)施用,以不同的剂量间隔施用,或当处方医师需要递增组合的各个成分时,药盒形式是特别有利的。

[0217] 医疗用途和治疗方法

[0218] 另一个实施方案涉及如本文所述的治疗组合,其用作治疗活性物质。

[0219] 另一个实施方案涉及如本文所述的治疗组合,其用于治疗肿瘤疾病。

[0220] 另一个实施方案涉及用于治疗肿瘤疾病的方法,该方法包含对人或动物施用有效量的如本文所述的治疗组合。

[0221] 另一个实施方案涉及如本文所述的治疗组合在治疗肿瘤疾病中的用途。

[0222] 另一个实施方案涉及如本文所述的治疗组合的制备用于治疗肿瘤疾病的药物中的用途。

[0223] 在本发明的一个具体的实施方案中,将如本文所述的治疗组合通过口服例如通过口服例如口服溶液施用于有此需要的患者。

[0224] 在本发明的一个具体的实施方案中,能够通过如本文所述的治疗组合潜在治疗的肿瘤疾病是癌症,特别是选自如下的癌症:乳腺癌、前列腺癌、宫颈癌、卵巢癌、胃癌、结肠直肠癌(即包括结肠癌和直肠癌)、胰腺癌、肝癌、脑癌、神经内分泌癌、肺癌、肾癌、血液系统恶性肿瘤、黑色素瘤和肉瘤。

[0225] 在本发明的一个具体的实施方案中,能够通过如本文所述的治疗组合潜在治疗的癌症选自血液恶性肿瘤、神经内分泌癌、乳腺癌、宫颈癌、卵巢癌、结肠直肠癌、黑色素瘤和肺癌。

[0226] 在本发明的一个具体的实施方案中,所述肿瘤疾病选自癌症,其选自血癌或肺癌,更具体地为急性髓性白血病(AML)、慢性髓性白血病(CML)、慢性嗜中性白细胞白血病、慢性嗜酸细胞性白血病、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、急性成淋巴细胞性白血病(ALL)、多毛细胞白血病、小细胞肺癌(SCLC)和非小细胞肺癌(NSCLC)。

[0227] 在本发明的一个具体的实施方案中,所述肿瘤疾病是血癌或肺癌,其选自急性髓性白血病(AML)、慢性髓性白血病(CML)、慢性嗜中性白细胞白血病、慢性嗜酸细胞性白血病、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、急性成淋巴细胞性白血病(ALL)、多毛细胞白血病、小细胞肺癌(SCLC)和非小细胞肺癌(NSCLC)。

[0228] 在本发明的一个具体的实施方案中,所述肿瘤疾病是癌症,其选自急性髓性白血病(AML)、非霍奇金淋巴瘤、小细胞肺癌(SCLC)、甲状腺癌和黑色素瘤。

[0229] 在本发明的一个具体的实施方案中,所述肿瘤疾病是癌症,其选自急性髓性白血病(AML)、甲状腺癌或小细胞肺癌(SCLC)。

[0230] 在本发明的一个具体的实施方案中,所述肿瘤疾病是癌症,其选自急性髓性白血病(AML)和小细胞肺癌(SCLC)。

[0231] 在本发明的一个具体的实施方案中,所述肿瘤疾病是神经内分泌癌。

[0232] 在本发明的一个具体的实施方案中,所述肿瘤疾病是实体瘤。

[0233] 在本发明的一个具体的实施方案中,所述肿瘤疾病是恶性实体瘤,其选自肉瘤、癌和淋巴瘤。

[0234] 在本发明的一个具体的实施方案中,所述肿瘤疾病是肺癌。

[0235] 在本发明的一个具体的实施方案中,所述肿瘤疾病是小细胞肺癌(SCLC)。

[0236] 在本发明的一个具体的实施方案中,所述肿瘤疾病是小细胞肺癌(SCLC),其中SCLC细胞对基于LSD1抑制剂的疗法敏感。

[0237] 在本发明的一个具体的实施方案中,所述肿瘤疾病是小细胞肺癌(SCLC),其中SCLC细胞对基于LSD1抑制剂的疗法敏感,其中对基于LSD1抑制剂的疗法的敏感性基于如本文所述的预测性mRNA表达水平来评估。

[0238] 在本发明的一个具体的实施方案中,所述肿瘤疾病是小细胞肺癌(SCLC),其中SCLC细胞对基于LSD1抑制剂的疗法敏感,其中对基于LSD1抑制剂的疗法的敏感性使用体外方法来评估,该方法包含:

[0239] a) 测定来自患者的样品中的基因组水平,其中所述基因组包含一个或多个基因,其选自应答者基因和无应答者基因;

[0240] b) 根据测定的基因组水平计算标记评分;

[0241] c) 比较计算的标记评分与阈值水平;和

[0242] d) 当标记评分高于阈值水平时,鉴定作为更可能对包含LSD1抑制剂的疗法有应答的患者。

[0243] 在本发明的一个具体的实施方案中,所述肿瘤疾病是小细胞肺癌(SCLC),其中SCLC细胞表现出对用LSD1抑制剂治疗的单一活性剂有响应。

[0244] 在本发明的一个具体的实施方案中,所述肿瘤疾病是小细胞肺癌(SCLC),其中SCLC细胞表现出对用LSD1抑制剂治疗的单一活性剂有响应,其中对用LSD1抑制剂治疗的单一活性剂有响应基于如本文所述的预测性mRNA表达水平来评估。

[0245] 在本发明的一个具体的实施方案中,所述肿瘤疾病是小细胞肺癌(SCLC),其中SCLC细胞表现出对用LSD1抑制剂治疗的单一活性剂有响应,其中对用LSD1抑制剂治疗的单一活性剂有响应使用体外方法来评估,该方法包含:

[0246] a) 测定来自患者的样品中的基因组水平,其中所述基因组包含一个或多个基因,其选自应答者基因和无应答者基因;

[0247] b) 根据测定的基因组水平计算标记评分;

[0248] c) 比较计算的标记评分与阈值水平;和

[0249] d) 当标记评分高于阈值水平时,鉴定作为更可能对包含LSD1抑制剂的疗法有应答的患者。

[0250] 基因组和mRNA标记

[0251] 表3提供了包括用于本发明的基因的描述的列表。

[0252]

基因	Ensembl 基因 ID*	描述	同义词	位置:染色体
ASCL1	ENSG00000139352	无刚毛基因 -scute 家族 bHLH 转录 因子 1	ASH1 、 bHLHa46 、 HASH1	染色体 12: 102,957,686-102,960,516 正链。

[0253]

基因	Ensembl 基因 ID*	描述	同义词	位置:染色体
DDC	ENSG00000132437	多巴脱羧酶	AADC	染色体 7: 50,458,436-50,565,457 反链。
CEACAM6	ENSG00000086548	癌胚抗原相 关细胞粘附 分子 6	CD66c, NCA	染色体 19: 41,750,977-41,772,208 正链。
LRRIQ4	ENSG00000188306	富含亮氨酸 的重复和包 含 4 的 IQ 基 元	LRRC64	染色体 3: 169,821,922-169,837,775 正链。
NR0B2	ENSG00000131910	核受体亚家 族 0, B 族, 成员 2	SHP	染色体 1: 26,911,489-26,913,966 反链。
GRP	ENSG00000134443	胃泌素释放 肽		染色体 18: 59,220,168-59,230,774 正链。
CEACAM5	ENSG00000105388	癌胚抗原相 关细胞粘附 分子 5	CD66e, CEA	染色体 19: 41,576,273-41,729,798 正链。
SOX21	ENSG00000125285	SRY (性 别 决 定 区 Y)-box 21	SOX25	染色体 13: 94,709,622-94,712,399 反链。
OR51E2	ENSG00000167332	嗅觉感受器 家族 51, 亚 族 E, 成员 2	PSGR	染色体 11: 4,680,171-4,697,854 反链。
SEC11C	ENSG00000166562	SEC11 同源 物 C, 信号 肽酶复合物 亚单位	SEC11L3 、 SPC21 、 SPCS4C	染色体 18: 59,139,477-59,158,836 正链。
BAALC	ENSG00000164929	脑和急性白 血病, 胞质		染色体 8: 103,140,710-103,230,305 正链。
CCDC40	ENSG00000141519	包含 40 的卷 曲螺旋结构 域	CILD15 、 FAP172 、 FLJ20753 、 FLJ32021 、 KIAA1640	染色体 17: 80,036,632-80,100,613 正链。
RAB3B	ENSG00000169213	RAB3B, 成 员 RAS 癌基 因家族		染色体 1: 51,907,956-51,990,764 反链。
RGS17	ENSG00000091844	G-蛋白信号 传导 17 调节 物	RGS-17 、 RGSZ2	染色体 6: 153,004,459-153,131,249 反链。

[0254]

基因	Ensembl 基因 ID [*]	描述	同义词	位置:染色体
ABCE1	ENSG00000164163	ATP-结合弹 夹, 亚族 E (OABP), 成 员 1	OABP, RLI, RNASEL1 、 RNASELI, RNS4I	染色体 4: 145,097,932-145,129,179 正链。
ETS2	ENSG00000157557	v-ets 鸟小鼠 成红细胞病 毒 E26 癌基 因同源物 2		染色体 21: 38,805,307-38,824,955 正链。
CCDC154	ENSG00000197599	包含 154 的 卷曲螺旋结 构域	C16orf29 、 LOC645811	染色体 16: 1,434,383-1,444,556 反链。
SPAG6	ENSG00000077327	精子相关抗 原 6	CT141、pf16、 Repro-SA-1	染色体 10: 22,345,445-22,454,224 正链。
PON1	ENSG00000005421	芳基二烷基 磷酸酶 1	ESA, PON	染色体 7: 95,297,676-95,324,707 反链。
TMEM176A	ENSG00000002933	跨膜蛋白 176A	HCA112 、 MS4B1	染色体 7: 150,800,403-150,805,120 正链。
C1orf127	ENSG00000175262	染色体 1 开 放读码框 127	FLJ37118	染色体 1: 10,946,471-10,982,037 反链。
IGF2BP2	ENSG00000073792	胰岛素样生 长因子 2 mRNA 结合 蛋白 2	IMP-2	染色体 3: 185,643,739-185,825,056 反链。
IGFBP5	ENSG00000115461	胰岛素样生 长因子结合 蛋白 5		染色体 2: 216,672,105-216,695,525 反链。
FAM84A	ENSG00000162981	具有序列相 似性 84 的家 族, 成员 A	FLJ35392 、 NSE1	染色体 2: 14,632,686-14,650,814 正链。
FOXA2	ENSG00000125798	叉头盒 A2	HNF3B	染色体 20: 22,581,005-22,585,455 反链。
HOXA10	ENSG00000253293	同源异型框 A10	HOX1 HOX1H	染色体 7: 27,170,591-27,180,261 反链。
MYC	ENSG00000136997	v-myc 鸟髓 细胞瘤病病 毒癌基因同 源物	bHLHe39 、 c-Myc, MYCC	染色体 8: 127,735,434-127,741,434 正链。

[0255]

基因	Ensembl 基因 ID*	描述	同义词	位置:染色体
NCAM1	ENSG00000149294	神经细胞粘附分子 1	CD56、 NCAM	染色体 11: 112,961,247-113,278,436 正链。
NCAM2	ENSG00000154654	神经细胞粘附分子 2	MGC51008 、 NCAM21	染色体 21: 20,998,315-21,543,329 正链。
NEUROD1	ENSG00000162992	神经元分化 1	BETA2 、 BHF-1 、 bHLHa3 、 MODY6 、 NEUROD	染色体 2: 181,673,088-181,680,876 反链。
KRT8	ENSG00000170421	角蛋白 8, II 型	CARD2 、 CK8、 CYK8、 K2C8 、 K8 、 KO	染色体 12: 52,897,187-52,949,954 反链。
ENO2	ENSG00000111674	烯醇酶 2 (γ , 神经元)		染色体 12: 6,913,745-6,923,698 正链。
AVP	ENSG00000101200	精氨酸血管 加压素	ADH, ARVP	染色体 20: 3,082,556-3,084,724 反链。
OXT	ENSG00000101405	催产素/后叶 激素运载蛋白 I 前多肽 原	OT, OT-NPI, OXT-NPI	染色体 20: 3,071,620-3,072,517 正链。
SYP	ENSG00000102003	突触囊泡蛋白	MRX96	染色体 X: 49,187,804-49,200,259 反链。
CHGA	ENSG00000100604	嗜铬粒蛋白 质 A		染色体 14: 92,923,080-92,935,293 正链。
CHGB	ENSG00000089199	嗜铬粒蛋白 质 B	SCG1、 SgI	染色体 20: 5,911,430-5,925,361 正链。
BCL2	ENSG00000171791	B- 细胞 CLL/淋巴瘤 2	Bcl-2 、 PPP1R50	染色体 18: 63,123,346-63,320,128 反链。

[0256] 表3. 用于本发明的基因描述 (* <http://www.ensembl.org/>, Cunningham F. 等人¹⁰⁰)。

[0257] 本发明鉴定了基因组(也称为“多基因组”,“基因表达组”或“基因组”),其基于体外数据的mRNA表达特征可用于鉴定最可能对包含LSD1抑制剂的治疗方案有响应的患者。列出的基因是SCLC经典表型(神经内分泌起源的遗传)的特征,排除了那些“变体”表型的细胞

系。这些基因的表达可能在鉴定其他肿瘤组织中其他组织学亚型的应答患者方面具有预测益处。

[0258] 已经发现, mRNA标记的特征在于在应答者基因中的高度表达:ASCL1、HOXA10、NCAM1、NCAM2、NEUROD1、DDC、GRP、KRT8、EN02、AVP、OXT、SYP、CHGA、CHGB、SOX21和BCL2。

[0259] 还发现,无应答者品系的特征可以在于癌基因MYC的高水平。

[0260] 本文列出的应答者基因和无应答者基因的基线表达水平可以单独或彼此组合产生综合评分,其区分细胞系和对治疗有抗性的患者衍生的临床标本并鉴定对使用LSD1抑制剂的疗法敏感(有应答)的那些。

[0261] 因此,较高水平的应答者基因和/或较低的非应答者基因的表达水平指示对使用LSD1抑制剂的治疗的反应。与来自单个基因表达水平的读数相比,组合几个应答者和/或无应答者基因的表达水平可以提供具有改善的响应性置信度的多基因标记。

[0262] 本发明鉴定了与LSD1抑制相关并且用于鉴定对LSD1抑制有响应的mRNA。

[0263] 本发明还涉及用于鉴定对基于LSD1抑制剂的疗法有敏感性的方法。

[0264] 本发明还涉及基因组在确定对肿瘤疾病的患者应答中的用途,此时患者用基于LSD1抑制剂的疗法治疗。

[0265] 本发明还鉴定了mRNA表达,其用于监测用LSD1抑制剂治疗患者的肿瘤疾病。

[0266] 本发明还提供了在测定基于LSD1抑制剂的疗法对肿瘤疾病的有效性中的预测性mRNA值。

[0267] 本发明的一个实施方案提供了体外鉴定患者的方法,该患者患有作为可能对包含LSD1抑制剂的疗法有应答的肿瘤疾病,该方法包含:

[0268] a) 测定来自患者的样品中的基因组水平,其中所述基因组包含一个或多个基因,其选自应答者基因和无应答者基因;

[0269] b) 比较a)中测定的基因组水平与参考水平;和

[0270] c) 鉴定更可能对包含LSD1抑制剂的疗法有响应的患者,此时来自患者的样品中的a)中测定的基因组的应答者基因水平高于参考水平,和/或此时来自患者的样品中的a)中测定的基因组的无应答者基因水平低于参考水平。

[0271] 本发明的一个实施方案提供了体外鉴定患有肿瘤疾病的患者的方法,所述肿瘤疾病作为可能对包含LSD1抑制剂的疗法有响应,该方法包含:

[0272] a) 测定来自患者的样品中的基因组水平,其中所述基因组包含一个或多个基因,其选自应答者基因和无应答者基因;

[0273] b) 计算来自基因组测定水平的标记评分;

[0274] c) 比较计算的标记评分与阈值水平;和

[0275] d) 鉴定更可能对包含LSD1抑制剂的疗法有响应的患者,此时标记评分高于阈值水平。

[0276] 本发明的另一个实施方案提供了体外鉴定患者的方法,该患者患有作为可能对包含LSD1抑制剂的疗法有响应的肿瘤疾病,该方法包含:

[0277] a) 测定来自患者的样品中的基因组水平,其中所述基因组包含一个或多个基因,其选自应答者基因和无应答者基因;

[0278] b) 比较a)中测定的基因组水平与参考水平;

[0279] c) 鉴定更可能对包含LSD1抑制剂的疗法有响应的患者,此时来自患者的样品中的a)中测定的基因组的应答者基因水平高于参考水平,和/或此时来自患者的样品中的a)中测定的基因组的无应答者基因水平低于参考水平;和

[0280] d) 施用有效量的LSD1抑制剂。

[0281] 本发明的一个实施方案提供了体外鉴定患者的方法,该患者患有作为可能对包含LSD1抑制剂的疗法有响应的肿瘤疾病,该方法包含:

[0282] a) 测定来自患者的样品中的基因组水平,其中所述基因组包含一个或多个基因,其选自应答者基因和无应答者基因;

[0283] b) 计算来自测定的基因组水平的标记评分;

[0284] c) 比较计算的标记评分与阈值水平;

[0285] d) 鉴定更可能对包含LSD1抑制剂的疗法有响应的患者,此时标记评分高于阈值水平;和

[0286] e) 施用有效量的LSD1抑制剂。

[0287] 本发明的另一个实施方案提供了体外监测包含LSD1抑制剂的疗法在患有肿瘤疾病的患者中的效能的方法,该方法包含:

[0288] a) 测定在开所述疗法前来自患者的样品中的基因组水平,其中所述基因组包含一个或多个基因,其选自应答者基因和无应答者基因;

[0289] b) 使用a)中测定的基因组水平计算患者的标记评分,然后开始所述疗法;

[0290] c) 测定开始疗法后来自患者样品中的基因组水平;

[0291] d) 使用c)中测定的基因组水平计算开始疗法后患者的标记评分;

[0292] e) 比较开始疗法后d)中得到的患者的标记评分与b)中得到的标记评分,然后开始所述疗法;和

[0293] f) 鉴定作为对疗法有应答的患者,此时开始疗法后d)中得到的标记评分高于开始疗法前b)中得到的标记评分。

[0294] 在本申请中,术语“读出水平”表示可以以任何形式的mRNA表达测量的值,例如来自RNA测序的实施例表达水平,例如标准化读数和RPKM(每百万作图的读数千碱基的读数);RT-qPCR;或微阵列。

[0295] 在本申请中,术语“标准化读数”表示直接从RNA测序实验获得的读数,并将其标准化以使其在实验中具有可比性。

[0296] 在本申请中,术语“标准化表达水平”表示在特定种类的表达测量中获得的值,并且将其标准化以使其在实验中具有可比性(例如来自微阵列的标准化表达,来自RNA测序的标准化表达)。

[0297] 在本发明的一个方面,标准化表达水平是标准化读数。

[0298] 在本发明的一个方面,测定的水平是mRNA表达水平。

[0299] 在本发明的一个方面,测定的水平是衍生自RNA测序、RT-qPCR或微阵列的mRNA表达水平。

[0300] 在本发明的一个方面,参考水平是来自患有相同肿瘤疾病的患者的标准值。

[0301] 在另一个实施方案中,参考水平是在具有相同肿瘤疾病的患者群体中测定的中值mRNA表达。

[0302] 在本发明的一个方面,基因组的某些基因的参考水平如下(如标准化读数计数所示):ASCL1 (4515.83); DDC (2005.02); GRP (426.01); HOXA10 (10.04)。

[0303] 上述报道的参考水平是通过选择两个小细胞肺癌细胞系C_S和C_R中相应基因的较低标准化读数来获得的,其中C_S是具有所选基因的表达最低的敏感细胞系,且C_R是具有所选基因的最高表达的抗性细胞系。

[0304] 本文所用的标记评分是基于基因的算法导出的评分(多基因标记),其由指示应答者基因的增量调节和无应答者基因的减量调节或无应答者基因的拷贝数变化的值组成。

[0305] 大于阈值水平的标记评分预测对包含LSD1抑制剂的疗法有响应。针对标记评分选择用于预测响应的阈值水平越高,获得的特异性越高。针对标记评分选择用于预测响应的阈值水平越低,则获得的灵敏度越高。

[0306] 在本发明的一个实施方案中,阈值水平相当于0.4至0.6的标记评分1,特别是0.5±20%,最特别是0.5,其中标记评分是通过使用第二主成分的偏最小二乘(PLS)分析获得的:

[0307] 标记评分1=

[0308] 0.0900693

[0309] + (ASCL1的校准的表达水平) × 0.00000211296

[0310] + (DDC的校准的表达水平) × 0.000000536658

[0311] + (GRP的校准的表达水平) × 0.00000297345

[0312] + (HOXA10的校准的表达水平) × 0.000234721

[0313] - (MYC的拷贝数的变化) × 0.0537056。

[0314] 在本发明的一个实施方案中,阈值水平相当于0.4至0.6的标记评分2,特别是0.5±20%,最特别是0.5,其中标记评分是通过使用第一主成分的偏最小二乘(PLS)分析获得的:

[0315] 标记评分2=

[0316] 0.483918

[0317] + (ASCL1的校准的表达水平) × 0.00000188066

[0318] + (DDC的校准的表达水平) × 0.00000188066

[0319] + (GRP的校准的表达水平) × 0.00000352033

[0320] - (MYC的拷贝数变化) × 0.0407898。

[0321] 在本发明的一个实施方案中,阈值水平相当于0.4至0.6的标记评分3,特别是0.5±20%,最特别是0.5,其中标记评分是通过使用第一主成分的偏最小二乘(PLS)分析获得的:

[0322] 标记评分3=

[0323] 0.393569

[0324] + (ASCL1的校准的表达水平) × 0.00000182731

[0325] + (DDC的校准的表达水平) × 0.00000189664

[0326] + (GRP的校准的表达水平) × 0.00000342046。

[0327] 高于阈值水平的标记疗法表示对用LSD1抑制剂治疗的响应的高可能性,而低于所述水平的标记评分表明对这种治疗的响应的可能性较低。较高的评分与ASCL1, DDC, GRP和

HOXA10的较高mRNA表达相关，并且MYC中较低的拷贝数变异。

[0328] 在本发明的一个实施方案中，参考水平是标记评分的阈值水平。

[0329] 在本发明的一个实施方案中，可以通过实施下列步骤得到用于预测对包含LSD1抑制剂的疗法的响应的标记评分：

[0330] a. 选择包含m个基因的基因组，其中m是大于1的整数，其选自表9中公开的基因和任选的HOXA10和MYC。

[0331] b. 选择一组一个或多个敏感性和一组一个或多个抗性癌细胞系，特别是来源于神经内分泌肿瘤，例如小细胞肺癌(SCLC)，例如如表6中所述的。或者，选择一组一个或多个典型的和一个或多个变体小细胞肺癌细胞系的组。

[0332] c. 生成n x m矩阵，其中m如上述所定义，且n是所选择的小细胞肺癌细胞系总数。该矩阵包含所选择基因的表达水平(和/或MYC情况中的拷贝数变异)。可以将基因表达水平报告为RPKM或为校准的读数计数。

[0333] d. 生成大小n的响应向量，其将每个细胞系描述为敏感性的("S")或抗性的("R")，如表6中所定义。或者，该向量可以将每个细胞系描述为“典型”(C)或“变体”(V)亚型。

[0334] e. 应用机器学习算法，用于在c点中对上述矩阵进行分类。这类机器学习算法的实例包括但不限于决策树，支持向量机，神经网络，最近邻分析，naïve Bayes，随机森林，偏最小二乘等。

[0335] f. 使用分析中包含的细胞系和/或未包括在分析中的细胞系进行适当的交叉验证，以优化模型的预测能力。

[0336] g. 如果适合，根据所选择的机器学习算法选择函数f(x)，以获得标记评分y(y=f(x))。该函数f(x)包括由机器学习算法计算的一组系数a₁...a_p(其中p是由给定算法选择的系数的数量)和所选择的基因的基因表达水平(x₁...x_m)。

[0337] h. 根据机器学习方法的建议选择阈值，以确定标记评分是否预测对LSD1抑制疗法的敏感性或抗性。

[0338] 在本发明的一个具体的实施方案中，所述基因组包含一个或多个基因，其选自ASCL1、MYC、HOXA10、DDC、GRP、NCAM1、NCAM2、NEUROD1、KRT8、EN02、AVP、OXT、SYP、CHGA、CHGB、SOX21和BCL2。

[0339] 在本发明的一个具体的实施方案中，所述基因组包含一个或多个基因，其选自ASCL1、MYC、HOXA10、DDC、GRP、NCAM1、NCAM2、NEUROD1、SOX21和BCL2。

[0340] 在本发明的一个具体的实施方案中，所述基因组包含2、3、4或5个基因，其选自ASCL1、MYC、HOXA10、DDC、GRP、NCAM1、NCAM2、NEUROD1、SOX21和BCL2。

[0341] 在本发明的一个具体的实施方案中，所述基因组包含一个或多个基因，其选自ASCL1、MYC、HOXA10、DDC和GRP。

[0342] 在本发明的一个具体的实施方案中，所述基因组包含2、3、4或5个基因，其选自ASCL1、MYC、HOXA10、DDC和GRP。

[0343] 在本发明的一个具体的实施方案中，所述基因组包含一个或多个基因，其选自ASCL1、MYC和HOXA10。

[0344] 在本发明的一个具体的实施方案中，所述基因组包含ASCL1基因。

[0345] 在本发明的一个具体的实施方案中，所述基因组包含MYC基因。

- [0346] 在本发明的一个具体的实施方案中,所述基因组包含HOXA10基因。
- [0347] 在本发明的一个具体的实施方案中,所述基因组包含DDC基因。
- [0348] 在本发明的一个具体的实施方案中,所述基因组包含GRP基因。
- [0349] 在本发明的一个具体的实施方案中,所述基因组由1、2、3、4或5个基因组成。
- [0350] 在本发明的一个具体的实施方案中,所述基因组由2、3或4个基因组成。
- [0351] 在本发明的一个具体的实施方案中,应答者基因选自ASCL1、HOXA10、DDC、GRP、NCAM1、NCAM2、NEUROD1、KTR8、EN02、AVP、OXT、SYP、CHGA、CHGB、SOX21和BCL2。
- [0352] 在本发明的一个具体的实施方案中,无应答者基因选自MYC。
- [0353] 附图简述
- [0354] 图1:LSD1抑制剂(即(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺)在SCLC细胞系组中处理7天的体外不同活性。维持高水平敏感性的“典型”神经内分泌细胞系例如NCI-H1876(图1A)和NCI-H510(图1B)。
- [0355] 图2:LSD1抑制剂(即(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺)改善体内SCLC标准护理(SOC)依托泊昔和卡铂(图2A)以及小鼠体内(图2B)的效能和期限。
- [0356] 图3:根据实施例5的主要成分1($t[1]$,x-轴)和主要成分2($t[2]$,y-轴)的主要成分分析评分图分离了典型细胞系(C,黑色)与变体细胞系(V,灰色)。
- [0357] 图4:显示了包含表8,表6和MYC的基因的实施例6的基因组的mRNA表达(作为z-评分)的热图。这些基因最佳地预测表6的19种细胞系中对LSD1抑制疗法的反应。较高的z-评分与更好的敏感性相关。
- [0358] 图5:显示了在表6的19种细胞系中实施例7的神经内分泌基因的mRNA表达(作为z-评分)的热图。敏感细胞系显示出这类神经内分泌标志物的更强表达(更高的z-评分)。
- [0359] 图6:根据实施例8的使用第二主成分通过PLS分析获得的标记评分。具有评分为 $_1 > 0.5$ 的细胞系更可能对LSD1抑制疗法敏感。
- [0360] 图7:根据实施例8的使用第一主成分通过PLS分析获得的标记评分。具有评分为 $_2 > 0.5$ 的细胞系更可能对LSD1抑制疗法敏感。
- [0361] 图8:根据实施例8的使用第一主成分通过PLS分析获得的标记评分。具有评分为 $_3 > 0.45$ 的细胞系更可能对LSD1抑制疗法敏感。
- [0362] 图9:(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺在典型(C)细胞系H-510A中的体内肿瘤生长抑制。
- [0363] 图10:显示SCLC患者样品中mRNA表达(作为z-评分)模式的热图。

实施例

- [0364] 提供以下实施例1至9用于示例本发明。它们不应被视为限制本发明的范围,而仅是作为其代表。
- [0365] 方法
- [0366] 表达数据
- [0367] 表达数据由Illumina, Inc. (San Diego, CA) 的全转录组RNA测序(RNA-seq)获得。Illumina HiSeq机器生成原始碱基调用进行50或100bp长度的读取,这些读取需要经过多个数据分析步骤。RNA-seq以每个样品4至5千万个读数进行。该数字对于检测低表达的基因

提供了相对高的灵敏度，同时允许样本的成本有效的多路复用。通过polyA TruSeq Illumina试剂盒通过标准试剂盒和RNA文库制备RNA。每个细胞系100ng mRNA用于每个RNA-seq反应。对每个样品的RNA-seq数据应用了许多质量控制程序。Illumina HiSeq软件报告每个泳道中加载的聚类(DNA片段)总数，通过测序质量过滤器的百分比(识别由于过载和测序化学引起的错误)，每个序列读数的每个碱基的phred质量得分，总体平均值每个测序周期的phred得分和总体百分比误差(基于与参考基因组的比对)。对于每个RNA-seq样品，计算含有线粒体和核糖体RNA的读数的百分比。FASTQC包用于提供额外的QC指标(基本分布，序列重复，过度表达的序列和丰富的kmer)和图形摘要。使用GSNAP和RNASeq数据的推荐选项将原始读数与人类基因组(hg19)比对。除基因组序列外，GSNAP还提供了基于Ensembl v73的人类剪接点和转录的数据库。然后使用Samtools将生成的SAM文件转换为已排序的BAM文件。基因表达式值计算为以下(Mortazavi等人)的RPKM值和读取计数。使用R包DESeq2获得校准的读数计数。

[0368] 拷贝数变化形式(CNV)

[0369] 为了获得拷贝数变异数据，提取基因组DNA，并使用其标准方案由Roche NimbleGen (Madison, WI) 进行阵列CGH分析。使用segMNT算法获得归一化的信号强度和拷贝数变化。CGH微阵列含有等温的45-85聚体寡核苷酸探针，其使用光导引光化学法直接在二氧化硅表面上合成(Selzer等人¹⁰⁸)。将基因组DNA样品随机片段化为较低分子量的物质，并用荧光染料进行差异标记。

[0370] 主要成分分析

[0371] 使用Simca v 14 (Umetrics AB, Umea, Sweden) 进行主要成分分析。

[0372] 差别基因表达分析

[0373] 用于生成表9中的数据的差别基因表达分析使用R包DESeq2从19种细胞系的原始读取计数开始进行，

[0374] 细胞系的热图

[0375] 使用基因模式v 3.9.4 (Reich M. 等人¹⁰¹) 生成细胞系的热图(如图4和5中)，以显现颜色编码的基因表达水平。基因模式输入校准读取计数的对数(如表10中所述)加1并应用基于行的标准化，该标准化包括计算测试的细胞系中给定基因的所有表达水平的z-评分。z-评分0对应于分布的平均值，正或负值分别代表高于或低于平均值的标准化基因表达水平。颜色作图将z-评分范围限制在-1.5到+1.5之间，即，高于+1.5的z-评分以黑色显示，而低于-1.5的z-评分为白色。中间值以不同的灰色阴影显示。基因模式执行层次聚类，以根据细胞系的基因表达谱对细胞系进行分组和排序。

[0376] 实施例1-LSD1抑制剂在SCLC细胞系中的差别活性

[0377] (反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺在SCLC细胞系中的差异活性示于图1A-1B中。在处理7天的一组SCLC细胞系中体外评估(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺的活性。表征为“典型的”神经内分泌谱系的细胞系，例如NCI-H1876(图1A)和NCI-H510(图1B)维持对(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺的高水平的敏感性。

[0378] 通过在37°C、5%CO₂下在湿润的培养箱中在15-次顺序稀释的所示浓度的(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺存在下培养小细胞肺癌细胞系7天来进行

化合物效能测定。按照ATCC或细胞系来源的推荐,在不同的优化培养基中繁殖和测试每个细胞系。

[0379] 从液氮保存状态解冻细胞。一旦细胞扩增并在预期的倍增时间分开,就开始筛选。将细胞以每孔500个细胞接种在黑色384孔组织培养物处理的平板中的生长培养基中(除了在分析仪中记录的情况除外)。通过离心将细胞在测定板中平衡,并在处理之前将其置于与37°C下与给药模块连接的培养箱中24小时。在处理时,收集一组测定板(未接受处理)并通过添加ATPLite(Perkin Elmer)测量ATP水平。在Envision Plate Readers上使用超灵敏发光读取这些Tzero(T0)板。将处理过的测定板与(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺一起温育168小时。在186小时后,使用ATPLite开发平板用于终点分析。所有数据点均通过自动化流程收集;质量控制;并使用Horizon CombinatoRx专有软件进行分析。如果它们通过以下质量控制标准,则接受测定板:相对荧光素酶值在整个实验中是一致的,Z因子得分大于0.6,未处理/媒介物对照在板上表现一致。

[0380] Horizon Discovery利用生长抑制(GI)作为细胞活力的量度。在给药时(T0)和在168小时后(T168)测量载体的细胞活力。GI读数为0%表示无生长抑制-用(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺和T168媒介物信号处理的细胞匹配。GI 100%代表完全生长抑制-通过化合物和T0媒介物信号处理的细胞匹配。在具有GI 100%的孔中治疗期间细胞数量没有增加,并且可能表明在该效应水平达到平台期的化合物的细胞抑制效应。GI200%表示培养孔中所有细胞完全死亡。达到GI200%活性平台的化合物被认为是细胞毒性的。Horizon CombinatoRx通过应用以下测试和等式计算GI:

$$[0381] \text{ 如果 } T < V_0: 100 * (1 - \frac{T - V_0}{V_0})$$

$$[0382] \text{ 如果 } T \geq V_0: 100 * (1 - \frac{T - V_0}{V - V_0})$$

[0383] 其中T是测试物品的信号测量值,V是媒介物处理的控制测量值,V₀是时间零点的媒介物控制测量值。该公式源自National Cancer Institute的NCI-60高通量筛选中使用的生长抑制计算。

[0384] 实施例2-LSD1抑制剂与另外的活性药物成分组合的协同作用

[0385] 表4提供了协同作用得分的热图,该值表示协同效应的强度。协同作用评分>6.4被认为是显著性的,并且需要进一步验证。细胞系对(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺(NCI-H187,NCI-H1417,NCI-H1876,NCI-H510)对广泛的药物类别的作用敏感,包括HDAC和BET抑制剂、DNA烷化剂、拓扑异构酶抑制剂、抗有丝分裂药、Aurora激酶抑制剂、BCL2家族抑制剂和Chk抑制剂。在细胞系中对(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺(NSCLC细胞)不敏感的细胞系中未观察到类似的协同作用(NSCLC细胞系和SCLC细胞系NCI-H1048,NCI-H446和SBC-5)。这些数据表明LSD1抑制可以广泛地使SCLC细胞系对化学治疗和靶向治疗的干预敏感。

[0386] 将细胞从液氮保存状态解冻并扩增直至它们达到预期的倍增时间。按照ATCC或细胞系来源的推荐,在不同的优化培养基中繁殖和测试每个细胞系。

[0387] 将细胞以指定的密度接种在384孔测定板中(在优化阶段确定)。然后通过在连接到给药模块的培养箱中离心24小时平衡细胞,然后(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺前-治疗。然后用指定浓度的(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-

1,4-二胺(在优化阶段测定)处理测定板。

[0388] 在(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺处理时,一组测定板(不进行复合处理)收集并通过添加ATPLite(Perkin Elmer)测量ATP水平。在Envision Plate Readers上读取这些Tzero(T0)板以测量发光。将处理过的测定板与(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺一起温育96小时,然后用第二种化合物处理。此后,然后用9x9延伸基质中的8点连续稀释的增强子化合物处理测定板,并在另外72小时温育后收获。从初始(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺处理时间总共168小时后,使用ATPLite开发用于终点分析的板。所有数据点都是通过自动化流程收集的;质量控制;并使用Horizon CombinatoRx专有软件进行分析。如果它们通过以下质量控制标准,则接受测定板:相对荧光素酶值在整个实验中是一致的,Z因子得分大于0.6,未处理/载体对照在板上表现一致。

[0389] Horizon Discovery利用生长抑制(GI)作为细胞活力的量度。在给药时(T0)和在168小时后(T168)测量媒介物的细胞活力。GI读数为0%表示没有生长抑制-用化合物和T168媒介物信号处理的细胞是匹配的。GI 100%代表完全生长抑制-通过化合物和T0载体信号处理的细胞匹配。在具有GI 100%的孔中治疗期间细胞数量没有增加,并且可能表明在该效应水平达到平台期的化合物的细胞抑制效应。GI 200%表示培养孔中所有细胞完全死亡。达到GI 200%活性平台的化合物被认为是细胞毒性的。Horizon CombinatoRx通过应用以下测试和等式计算GI:

$$[0390] \text{ 如果 } T < V_0: 100 * \left(1 - \frac{T-V_0}{V_0} \right)$$

$$[0391] \text{ 如果 } T \geq V_0: 100 * \left(1 - \frac{T-V_0}{V-V_0} \right)$$

[0392] 其中T是测试物品的信号测量值,V是媒介物处理的控制测量值,V₀是时间零点的媒介物控制测量值。该公式来自National Cancer Institute的NCI-60高通量筛选中使用的生长抑制计算。

[0393] Loewe加性模型是基于剂量的,仅适用于单一药剂所达到的活性水平。Loewe体积用于评估超过Loewe加性模型的组合相互作用的总体幅度。当区分表型活性(正Loewe体积)与协同拮抗(负Loewe体积)的协同增加时,Loewe体积特别有用。当观察到拮抗作用时,如在当前数据集中,应评估Loewe体积以检查拮抗作用与特定药物靶活性或细胞基因型之间是否存在任何相关性。该模型将加和性定义为非协同组合相互作用,其中组合剂量基质表面应与任何与其自身杂交的药物无法区分。加和性的计算是:

$$[0394] I_{\text{Loewe}} \text{ 满足 } (X/X_I) + (Y/Y_I) = 1$$

[0395] 其中X_I和Y_I是观察到的组合效应I的单一药剂有效浓度。例如,如果通过1mM药物A或1mM药物B分别实现50%抑制,则0.5mM A和0.5mM B的组合。也应该抑制50%。

[0396] 为了测量超过Loewe加和性的组合效果,使用了Horizon Discovery平台。该方法设计了一种标量测量,以表征称为Synergy评分的协同相互作用的强度。Synergy分数计算如下:

$$[0397] \text{ 协同作用评分} = \log f_X \log f_Y \sum \max(0, I_{\text{数据}} - I_{\text{Loewe}})$$

[0398] 相对于所有媒介物处理的对照孔的中值计算基质中每种组分试剂和组合点的分数抑制。协同作用评分方程将实验观察到的活性体积整合在基质中的每个点上,超过使用

Loewe模型加和性的数学上来自组分试剂活性的模型表面。协同作用评分方程(上文)中的附加术语用于标准化用于各个试剂的各种稀释因子,并允许在整个实验中比较协同作用得分。

[0399] Loewe加和性的活性最容易使用简单的体积分数计算,其中 $V_{Loewe} = \log f_x \log f_y \sum (I_{数据} - I_{Loewe})$,对所有非单一药剂浓度对求和,其中 $f_{x,y}$ 是稀释的自然对数每个单一活性剂使用的因素。这有效地计算了测量值和Loewe附加响应面之间的体积,并针对不同的稀释因子进行了校正。该体积分数强调组合的总体协同或拮抗作用,从而最小化外围数据峰值的影响并且在广泛的浓度和高效水平下识别具有强大协同作用的组合。 V_{Loewe} 对大多数协同组合呈阳性,对拮抗作用呈阴性。可以基于测量的误差 σ_I 和标准误差传播来计算不确定性 σ_V 。

[0400] “协同作用评分” $S = f_{cov} \ln f_x \ln f_y \sum \max(0, I_{数据} - I_{Loewe}) \max(0, I_{数据} - I_{HSA})$,这是一个正门控,抑制加权体积超过Loewe加和性。这提供了额外的优先次序,有利于组合,其协同作用以高效应水平发生,忽略响应表面的拮抗部分。这里 $f_{x,y}$ 是用于每种单一活性剂的稀释因子,并且覆盖因子 f_{cov} 解释缺失数据,通过总/测试的组合剂量矩阵点的比例来扩大得分。 S 总是正的并且其不确定性 σ_S 可以基于测量的误差 σ_I 和标准误差传播来计算。协同分数的替代方案是“命中分数” $H = f_{cov} \log f_x \log f_y \sum \max(0, I_{数据} - I_{Loewe}) \max(0, I_{数据} - I_{HSA})$,其是指HSA模型。 S 和 H 之间的关键区别在于不同的基础模型以及单个活性剂如何在模型计算中使用。在Chalice分析仪中,HSA模型直接由相应浓度的单一试剂响应计算,而Loewe加和性模型来自单一活性剂响应曲线的S形拟合。

[0401] 为了确定命中的优先级,可以使用分数(S或H)的分布及其误差来定义适当的选择截止值。例如,假设正常误差,具有 $S > 3\sigma_S$ 的组合在~99%置信度下“单独显著性”。为了估计未通过复制板测试的系统实验误差,在实验期间获得的任何药物与自身组合的协同作用得分的分布可用于确定非检测的合理范围。或者,整个实验的得分分布可用于识别选定置信水平的异常值。

[0402] 实施例3-LSD1抑制剂与另外的活性药物成分组合对于SCLC的体外协同作用

[0403] 表5提供了协同作用得分的热图,该值表示协同效应的强度。协同作用评分 > 6.4 被认为是显著性的,并且需要进一步验证。基于所观察到的协同作用水平和化合物在SCLC治疗方案中的潜在临床应用,优先选择一组药物类别用于在SCLC细胞系的扩展组中进一步评估。靶向治疗和化学探针抑制表观遗传调节因子BET(特别是Brd4)((+)-JQ1,CPI-203,MS 436,GSK1324726A,GSK1210151A和OTX015)和抗凋亡调节因子BCL2(奥巴克拉,ABT-199,ABT-737和TW-37)与LSD1抑制具有高度协同作用。与其他epi基因调节剂EZH2(例如CPI-169,EPZ005687,EPZ-6438,GSK126,GSK343)和DOT1L(例如EPZ-5676,SGC 0946)也观察到协同作用,尽管与BET(特别是BRD4)和BCL2抑制剂相比处于低水平。

[0404] Notch,Hedgehog或Smoothed途径的抑制剂与(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺处理无协同作用,表明LSD1抑制使细胞系敏感以选择化合物和药物类别,包括HDAC和BET抑制剂、DNA烷化剂、拓扑异构酶抑制剂、抗有丝分裂药、Aurora激酶抑制剂、BCL2家族抑制剂、EZH2、DOT1L和Chk抑制剂。

[0405] 如上实施例2中所述处理细胞并进行数据分析。

[0406] 表4.(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺与一组适合的活性药

物成分 (API) 组合的协同作用

[0407]

第 2 API:	NSCLC 中的协同作用评分			SCLC 中的协同作用评分						
	CAL-12T	A549	NCI-H441	NCI-H187	NCI-H1417	NCI-H1876	NCI-H510	NCI-H1048	NCI-H446	SBC-5
(+)-JQ1	0.51	0.07	0.12	11.29	39.59	18.65	11.88	0.68	1.74	0.15
ABT-263	0.01	0.89	0.75	14.31	19.10	23.63	18.16	14.92	0.29	3.35
ABT-888	0.22	0.02	0.04	2.26	3.26	8.62	4.10	0.40	0.05	0.27
贝林司他	0.42	0.52	0.66	14.35	19.12	9.05	15.72	1.61	3.21	1.84
苯达莫司汀	0.10	0.02	0.01	8.19	5.20	12.38	1.12	2.01	0.10	0.37
BGJ398	0.49	0.16	0.17	9.26	9.66	19.85	4.42	9.55	17.33	0.69
卡铂	0.06	0.03	1.27	7.49	10.45	10.90	9.96	1.47	1.58	0.22
CGK 733	0.39	3.07	0.27	3.35	0.91	4.59	3.03	1.21	5.16	0.78
顺铂	0.85	0.04	1.80	4.91	15.96	5.34	9.89	3.72	1.56	0.48
多西他赛	1.42	1.21	1.82	13.67	11.72	19.92	31.60	0.50	3.33	0.88
多柔比星	0.76	0.45	6.86	6.85	33.43	3.74	15.96	3.13	4.93	1.20
厄洛替尼	0.43	0.18	0.70	3.17	2.87	5.21	3.29	0.50	1.99	0.32
依托泊苷	0.15	0.00	5.83	8.28	13.22	11.17	11.55	1.04	0.12	0.54
氟尿嘧啶	0.07	0.00	0.68	1.97	1.63	4.91	0.62	0.80	0.09	0.42
吉西他滨	0.58	0.93	6.78	19.43	15.18	2.74	23.37	1.11	1.01	0.33
GSK-J1	0.01	0.07	0.09	2.14	2.26	10.21	3.80	0.23	0.03	0.85
伊立替康	0.14	0.02	3.45	13.74	21.62	8.75	17.17	2.00	1.16	0.48
拉帕替尼	1.23	0.00	0.36	1.23	7.00	5.69	20.64	0.75	20.44	0.03
LY-2603618	1.46	0.20	2.22	6.47	1.05	11.98	14.09	1.47	0.37	0.87
甲萘醌	0.01	0.06	0.02	3.89	4.18	8.81	3.63	0.45	0.06	0.52
甲氨蝶呤	0.25	1.95	0.29	1.45	1.82	4.20	1.75	0.62	0.74	0.34
MLN8237	0.76	0.08	0.81	7.60	9.15	23.31	28.91	1.02	1.16	0.51
Nutlin-3A	0.11	0.04	0.36	1.56	2.56	7.24	1.63	0.29	0.36	0.48
紫杉醇	0.83	1.11	1.33	12.68	14.10	20.99	28.03	2.26	2.64	1.83
帕比司他	1.11	1.34	0.45	10.41	17.19	2.60	12.47	0.58	15.30	1.13
培美曲塞	2.12	0.01	2.76	4.10	2.54	4.27	0.86	0.20	0.18	0.11
PF-04217903	0.15	0.07	0.16	0.99	0.81	6.68	1.11	0.56	0.01	0.49
替莫唑胺	0.04	0.00	4.12	2.52	21.79	8.49	5.43	0.81	0.37	0.10
托泊替康	0.08	1.92	1.98	11.49	2.24	6.23	23.12	3.73	6.87	0.20
长春新碱	0.49	1.23	0.04	18.07	27.52	7.80	10.01	0.08	2.31	0.15

[0408] 表5. (反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺与一组适合的活性药物成分 (API) 组合在SCLC细胞系中的体外协同作用。

[0409]

第 2 API	SCLC 细胞系的协同作用评分									
	NCI-H 1876	NCI- H510	NCI-H 1417	NCI- H187	NCI-H 2171	NCI- H69	SHP- 77	NCI- H526	DMS- 114	NCI- H446
(+)-JQ1	9.15	24.21	7.87	2.83	8.69	6.44	0.45	8.06	1.55	4.03
ABT-199	4.63	13.46	11.01	1.95	0.04	5.07	0.33	3.47	0.03	0.07
ABT-263	21.80	10.70	12.21	2.51	6.19	8.22	3.59	4.18	0.26	1.41
ABT-737	19.84	11.80	25.26	4.17	3.15	4.01	1.88	11.44	0.42	1.73
BMS-906024	0.22	0.00	0.33	0.45	0.19	8.46	0.03	5.80	0.02	0.12
CPI-169	8.50	5.76	0.38	0.09	0.00	0.03	0.03	2.46	0.06	0.31
CPI-203	15.25	25.41	13.47	1.24	6.83	8.68	0.37	11.09	1.58	0.58
EPZ005687	4.57	10.77	0.46	0.10	0.48	0.80	0.23	3.66	0.14	0.35
EPZ-5676	6.68	19.72	0.87	0.11	0.05	0.70	0.12	1.20	0.00	0.24
EPZ-6438	8.18	9.06	0.31	0.03	0.01	0.68	0.02	1.82	0.04	0.00
FLI 06	6.95	0.83	0.28	1.71	1.76	4.01	6.32	2.18	5.48	3.29
GDC-0449	5.64	3.05	0.25	0.16	0.10	0.90	0.24	1.76	0.01	0.16
GSK1210151A	11.42	15.35	15.13	1.77	10.11	10.38	0.66	12.65	0.67	0.32
GSK126	10.80	12.69	0.41	0.35	0.80	1.63	0.02	3.20	0.51	0.41
GSK1324726A	15.98	21.32	21.84	2.66	9.12	10.17	0.72	12.18	1.22	1.25
GSK343	0.81	4.25	0.24	0.15	0.36	0.81	0.13	2.48	0.05	0.01
LDE225	0.57	5.81	1.01	0.73	0.34	0.78	0.53	2.17	0.08	0.02
LY-3039478	0.19	0.00	0.21	0.47	0.30	4.94	0.12	7.90	0.00	0.28
MK-0752	0.69	0.71	0.15	0.32	0.17	3.88	0.03	6.03	0.04	0.43
MS 436	5.74	5.52	12.37	0.06	1.37	3.82	0.23	15.84	0.18	0.42
奥巴克拉	6.11	6.31	2.36	0.81	0.61	6.01	4.76	8.19	1.87	2.57
OTX015	14.88	11.52	14.26	0.88	5.30	8.65	0.78	16.72	0.10	0.44
PF-3084014	0.25	0.03	0.02	0.10	1.02	1.53	0.19	8.64	0.02	1.31
SGC 0946	6.81	24.63	0.28	0.12	0.07	4.50	0.06	1.80	0.00	0.06
Taladegib	1.64	2.50	0.19	0.09	0.11	2.35	0.19	3.66	0.10	0.01
TW-37	0.86	6.95	8.08	0.57	0.72	2.23	0.45	3.60	0.59	0.28

[0410] 实施例4.LSD1抑制剂改善SCLC-SOC体内效能和期限

[0411] 在体内, (反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基) 环己烷-1,4-二胺治疗的效果与依托泊昔和卡铂协同作用诱导细胞毒性反应可以从图2A中观察到。在临幊上,SCLC的一种护理标准(SOC)是组合依托泊昔和卡铂。

[0412] 在体内, 依托泊昔和卡铂的组合在NCI-H526模型中在给药期间促进快速肿瘤消退, 如图2B所示。在SOC中加入(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基) 环己烷-1,4-二胺可延长肿瘤消退时间, 并在停药后数天显著延缓肿瘤再生30天。总之, 数据表明LSD1抑制可以使细胞在体外和体内对化学治疗剂和靶向药物敏感。

[0413] NCI-H526模型:

[0414] 向8-12周龄的nu/nu小鼠注射重悬于100μL1:1的**Matrigel®**和PBS混合物中的1×10⁷ H526细胞或5×10⁶ SHP-77。将肿瘤在100-150mm³动物分级并分配到给药组中。(反

式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺以40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (upk)的剂量给药5天/2天休息(5/2)三周。依托泊苷以每天5 mg/kg (mpk)的剂量i.p给药,持续5天(qdx5)。卡铂是i.p.每周100mpk的剂量,持续三周(qwkx3)。与依托泊苷和卡铂组合,(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺以20upk的剂量给药5天/2天休息三周。使用数字卡钳每两周测量肿瘤体积。实验的终点是肿瘤体积为1000 mm^3 或90天,以先到者为准。使用非配对t-检验和Gehan-Breslow-Wilcoxon检验进行统计学分析。

[0415] 实施例5. 对LSD1抑制的细胞响应

[0416] 在顺序稀释的(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺双盐酸盐存在下,在37°C,5%CO₂下,在潮湿的培养箱中培养19种小细胞肺癌细胞系(各种肿瘤来源)4天,进行化合物效能测定。

[0417] 作为细胞毒性的阳性对照,Hsp90抑制剂17-N-烯丙基氨基-17-脱甲基格尔德霉素(17-AAG,格尔德霉素类似物)用作连续稀释的阳性对照。按照ATCC或细胞系来源的推荐,在不同的优化培养基中繁殖和测试每个细胞系。

[0418] 小细胞肺癌细胞系可基于其酶活性、细胞形态和生长表型分类为“经典”或“变体”(Desmond等人¹⁰², Shoemaker R.H.¹⁰³)。经典细胞系表达升高水平的L-多巴脱羧酶,铃蟾肽样免疫反应性,神经元特异性烯醇化酶和肌酸激酶的脑同工酶;变异细胞系继续表达神经元特异性烯醇化酶和肌酸激酶的脑同工酶,但具有未固定表达水平的左旋多巴脱羧酶和铃蟾肽样免疫反应性。与经典细胞系不同,一些变异细胞系被扩增并且具有增加的c-myc(MYC)癌基因的表达。

[0419] 一些细胞系表现出对经典和变体亚型特异的特征。例如,SHP-77具有典型SCLC的生化特性(例如L-多巴脱羧酶水平升高和铃蟾肽样免疫反应性)但是具有变体的形态。根据文献,SHP-77基于其生物化学特征被认为是经典的,但基于其形态和生长特征而变化。

[0420] 对于NCI-H2029和SBC-5,文献中没有报道亚型,但是它们的反式断裂谱(DDC/GRP的mRNA表达水平)清楚地显示了它们的类别成员,其在表6的括号中提供。

[0421] 根据它们对(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺双盐酸盐的反应,细胞系被归类为“敏感”[S],定义为具有EC₅₀<0.05 μM 或“抗性”,定义为具有EC₅₀>=0.05 μM [R]。

[0422] 与变体SCLC细胞系相比,经典SCLC细胞系对(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺双盐酸盐的细胞反应更高(p值0.0055表6)。在测试的19个SCLC细胞系中,11个经典细胞系[C]中的9个是敏感的[S]和8个变异细胞系[V]中的7个是抗性的[R](表7)。

[0423] 变异和典型亚型预测对LSD1抑制剂治疗的反应,敏感性为82%,特异性为88%。

[0424] MYC基因(Ensembl基因ID:ENSG00000136997)中较高的拷贝数变异(CNV)与变体亚型(V)的小细胞肺癌相关(Am J Pathol. 1988 Jul;132(1):13-17)。实际上,在这里描述的19个细胞系中,MYC基因(CNV>>2)的高拷贝数变异仅在具有变体亚型的细胞系中发现(NCI-H2171, NCI-H446, NCI-H82, 参见表6)。此外,具有高拷贝数MYC变异的所有三个细胞系都对LSD1抑制具有抗性,表明MYC扩增的存在可以预测对LSD1抑制疗法的抗性(R)。

[0425] 从表6的细胞系的RNA-seq数据进行的主成分分析令人惊讶地发现典型和变体SCLC细胞系形成不同的簇。(图3)。

[0426]

细胞系	亚型 Lit.	Max.响应(%)	EC50 (μM)	对 LSD1 抑制的敏感性	MYC CNV
NCI-H1876	C	145	4.32×10^{-5}	S	0.81
NCI-H69	C	44	5.85×10^{-4}	S	1.14
NCI-H510A	C	68	3.15×10^{-4}	S	2.56
NCI-H146	C	48	1.00×10^{-4}	S	1.24
NCI-H187	C	61	1.36×10^{-4}	S	1.12
NCI-H2081	C	10	9.20×10^{-4}	S	2.22
NCI-H345	C	7	2.75×10^{-5}	S	1.26
NCI-H526	V	35	6.32×10^{-4}	S	1.07
NCI-H748	C	13	3.00×10^{-4}	S	1.05
NCI-H1417	C	77	3.02×10^{-4}	S	NA
DMS-114	V	0	$>5 \times 10^{-2}$	R	1.21
NCI-H1048	V	27	$>5 \times 10^{-2}$	R	0.98
NCI-H2029	(C)	0	$>5 \times 10^{-2}$	R	1.23
NCI-H2171	V	0	$>5 \times 10^{-2}$	R	7.46
NCI-H2227	C	0	$>5 \times 10^{-2}$	R	0.81
NCI-H446	V	7	$>5 \times 10^{-2}$	R	6.72
NCI-H82	V	0	$>5 \times 10^{-2}$	R	9.44
SHP-77	V (C)	0	$>5 \times 10^{-2}$	R	1.36
SBC-5	(V)	23	$>5 \times 10^{-2}$	R	1.21

[0427] 表6. 基于细胞的对(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺双盐酸盐在典型SCLC细胞系[C]中与变体SCLC细胞系[V]对比的响应。

	典型 [C]	变体 [V]
敏感性 [S]	9	1
抗性 [R]	2	7

[0429] 表7. 显示对LSD1抑制疗法具有敏感性或抗性的典型和变体细胞系的数量的偶然性矩阵。

[0430] 实施例6. 预测对LSD1抑制的响应的基因组

[0431] 具有典型亚型(SHP-77和NCI-2029)和典型和变异细胞系特征的两种抗性细胞系之间的差异基因表达分析是敏感的(NCI-H1876, NCI-H69, NCI-H510A, NCI-H146), NCI-H187, NCI-H2081, NCI-H345, NCI-H526, NCI-H748)有趣地揭示HOXA10的较低mRNA表达水平与对LSD1抑制疗法的抗性相关(表8)。这表明即使在存在典型表型的情况下,低水平的HOXA10 mRNA也可预测对LSD1抑制疗法的抗性。

[0432] 通过选择经典和变异细胞系之间的顶部差异表达的基因来定义对LSD1抑制疗法的响应的预测性mRNA表达特征(表9)。基于调整后的p值,编码L-多巴脱羧酶和GRP(调整后的p值5.19E-14)的DDC(调整后的p值4.37E-23)编码类似铃蟾肽的免疫反应性肽,排名第二和第六个最差异表达的基因。最差异表达的基因是ASCL1(调整后的p值2.6E-23)。ASCL1是肺神经内分泌细胞正常发育所需的转录因子,对于大多数肺癌的存活至关重要(Augustyn

等人¹⁰⁴)。

[0433] 如上文实施例5中所讨论的,MYC扩增可预测对LSD1抑制疗法的抗性。

[0434] 表10列出了表6中描述的19种细胞系的DDC、GRP和ASCL1的校准的读数,而表11列出了相应的z-评分。

[0435] 图4的热图可视地显示,基于表9中列出的基因的mRNA表达水平和基于HOXA10的表达水平和MYC的拷贝数变异,可以将敏感细胞系与抗性细胞系区分开。

[0436]

Ensembl基因ID*	基因	基线平均	log2倍数改变	p值
ENSG00000253293	HOXA10	2717.58	8.21	7.45E-023

[0437] 表8.根据对于选择的细胞系的RNA-seq数据进行的HOXA10的主要成分分析(*
<http://www.ensembl.org/>,Cunningham F.等人¹⁰⁰)

[0438]

Ensembl基因 ID*	基因	基线平均	log2 倍数改变	p 值
ENSG00000139352	ASCL1	43665.33	6.82	2.62E-023
ENSG00000132437	DDC	15817.8	6.42	4.37E-023
ENSG00000086548	CEACAM6	210.89	6.34	1.23E-017
ENSG00000188306	LRRIQ4	90.81	5.1	4.61E-016
ENSG00000131910	NR0B2	600.58	6.35	5.15E-015
ENSG00000134443	GRP	6711.45	6.52	5.19E-014
ENSG00000105388	CEACAM5	1788.17	6.22	9.23E-014
ENSG00000125285	SOX21	523.59	5.88	2.29E-013
ENSG00000167332	OR51E2	3047.56	6.39	3.37E-013
ENSG00000166562	SEC11C	36139.18	3.33	5.01E-013

[0439]

Ensembl 基因 ID*	基因	基线平均	log2 倍数改变	p 值
ENSG00000164929	BAALC	1833.4	4.33	1.66E-012
ENSG00000141519	CCDC40	2309.83	2.26	2.07E-012
ENSG00000169213	RAB3B	28247.78	3.64	2.80E-012
ENSG00000091844	RGS17	2783.99	3.2	3.72E-012
ENSG00000164163	ABCE1	13643.12	-1.08	4.99E-012
ENSG00000157557	ETS2	11829.42	3.06	5.19E-012
ENSG00000197599	CCDC154	1198.98	4.61	7.21E-012
ENSG00000077327	SPAG6	767.39	5.34	7.85E-012
ENSG00000005421	PON1	334.17	5.15	1.53E-011
ENSG00000002933	TMEM176A	3224.04	5.38	7.65E-011
ENSG00000175262	C1orf127	596.15	5.04	1.19E-010
ENSG00000073792	IGF2BP2	2414.53	-5.17	1.28E-010
ENSG00000115461	IGFBP5	86866.7	4.41	1.38E-010
ENSG00000162981	FAM84A	4954.8	3.93	1.45E-010
ENSG00000125798	FOXA2	4530.46	5.12	1.71E-010

[0440] 表9.通过根据对于选择的细胞系的RNA-seq数据进行的主要成分分析得到的根据p值筛选的基因 (*<http://www.ensembl.org/>, Cunningham F. 等人¹⁰⁰)。

[0441]

细胞系	ASCL1	DDC	GRP	HOXA10
NCI-H1417	42666.4	16161.1	10935.2	3327.72
NCI-H1876	34116.3	986.718	43.7461	2779.5
NCI-H69	19902.1	25773.6	3256.24	4271.2
NCI-H510A	79879.7	19456.3	27861	2730.12
NCI-H2227	4515.83	2005.02	645.86	2.59381
NCI-H2029	127171	39070.6	1800.43	10.0396
NCI-H146	59238.2	45308.8	426.015	2126.39
NCI-H187	71323.6	4363.62	130.681	2448.85
NCI-H2081	69670.9	29683.5	2.97459	3423.76
NCI-H345	81805.8	16935.7	30601.3	263.11
SHP-77	115523	71808.9	39002.6	4.72759
NCI-H748	122007	27938.7	12773.8	3940.53
DMS-114	59.1696	16.3227	12.242	1462.92
NCI-H1048	38.9626	90.2292	0	1168.88
NCI-H2171	1115.78	368.976	0	1248.61

NCI-H446	13.1805	32.0098	11.2976	2818.75
NCI-H82	577.05	486.304	9.30725	221.047
SBC5	4.51028	13.5308	0	617.908
NCI-H526	11.9576	38.2644	4.78305	4091.9

[0442] 表10:来自mRNA表达水平的校准的读数计数。

[0443]

细胞系	ASCL1	DDC	GRP	HOXA10
NCI-H1417	0.63	0.69	1.09	0.67
NCI-H1876	0.57	-0.24	-0.34	0.6
NCI-H69	0.42	0.85	0.78	0.78
NCI-H510A	0.8	0.76	1.34	0.59
NCI-H2227	0.02	0	0.35	-2.31
NCI-H2029	0.93	0.99	0.62	-1.82
NCI-H146	0.72	1.04	0.25	0.48
NCI-H187	0.77	0.26	-0.06	0.54
NCI-H2081	0.77	0.9	-0.98	0.69
NCI-H345	0.81	0.71	1.36	-0.43
SHP-77	0.9	1.19	1.43	-2.11
NCI-H748	0.92	0.88	1.13	0.75
DMS-114	-1.16	-1.59	-0.66	0.32
NCI-H1048	-1.27	-1.04	-1.34	0.22
NCI-H2171	-0.36	-0.57	-1.34	0.25
NCI-H446	-1.55	-1.38	-0.68	0.6
NCI-H82	-0.54	-0.48	-0.73	-0.51
SBC5	-1.81	-1.65	-1.34	-0.06
NCI-H526	-1.58	-1.32	-0.88	0.76

[0444] 表11:通过来自校准的mRNA读数计数生成的Z-评分。

[0445] 实施例7. 预测对LSD1抑制的响应的神经内分泌基因组

[0446] 根据表12(NCAM1, NCAM2, NEUROD1, KRT8, EN02, AVP, OXT, SYP, CHGA, CHGB, SOX21, BCL2)的第二组基因、包括代表神经内分泌表型的基因和用作于诊断肺神经内分泌肿瘤的免疫组织化学标记的mRNA表达水平在抗性细胞系DMS114、SBC5和NCI-H1048中被显著减量调节,如图5所示例。这与我们的推定一致,即LSD1抑制疗法阻止神经内分泌起源的肿瘤中的细胞生长。

[0447] 表13A和14B列出了表12的基因在所述表6的19种细胞系中的校准的读数计数。

[0448]

Ensembl 基因 ID[*]	基因
ENSG00000149294	NCAM1
ENSG00000154654	NCAM2
ENSG00000162992	NEUROD1
ENSG00000170421	KRT8
ENSG00000111674	ENO2

[0449]

Ensembl 基因 ID[*]	基因
ENSG00000101200	AVP
ENSG00000101405	OXT
ENSG00000102003	SYP
ENSG00000100604	CHGA
ENSG00000089199	CHGB
ENSG00000125285	SOX21
ENSG00000171791	BCL2

[0450] 表12. 第二神经内分泌基因组的基因 (*<http://www.ensembl.org/>, Cunningham F. 等人¹⁰⁰)。

[0451]

细胞系	NCAM1	NCAM2	NEUROD1	KRT8	ENO2	AVP
NCI-H1417	52961.1	230.0	257.7	32261.1	32287.3	5.8
NCI-H1876	12131.4	111.0	143.4	36460.8	37021.4	33.2
NCI-H69	53702.4	16861.8	295.0	28560.6	28765.0	18.6
NCI-H510A	21010.6	197.4	255.2	67662.7	11901.4	1.7
NCI-H2227	42956.2	32469.4	1273.6	181.6	35558.6	2.6
NCI-H2029	37343.8	70.3	244.3	76401.1	22753.0	0.0
NCI-H146	39176.8	1929.1	173.4	50190.4	32430.6	5.5
NCI-H187	47022.6	8.5	31.3	61809.4	32195.9	2.8
NCI-H2081	37569.1	1279.1	2427.3	26842.7	32137.5	0.0
NCI-H345	62260.5	131.6	96.7	46256.4	32848.5	45.6
SHP-77	21787.1	990.4	0.0	35148.0	8851.6	0.0
NCI-H748	21844.8	892.7	12.1	1508.8	44468.6	0.9
DMS-114	95.9	512.1	18.4	377.5	3260.5	0.0
NCI-H1048	14740.2	760.8	0.0	12726.4	38304.4	0.0
NCI-H2171	16524.2	35.4	60402.8	26223.8	212034.0	0.0
NCI-H446	79657.4	3747.0	19164.5	45.2	36229.5	0.0
NCI-H82	20878.5	437.4	34283.3	27.9	22702.7	0.0
SBC-5	130.8	19026.6	9.0	640.5	160.1	0.0

NCI-H526	44561.3	0.0	23.9	38233.3	24912.5	0.0
----------	---------	-----	------	---------	---------	-----

[0452] 表13A. 来自mRNA表达水平的校准的读数计数。

[0453]

细胞系	OXT	SYP	CHGA	CHGB	SOX21	BCL2
NCI-H1417	NA	6220.2	44388.5	11152.1	20.4	6170.7
NCI-H1876	4.2	13216.2	7061.0	3968.7	1201.4	4126.7
NCI-H69	9.5	10950.9	16527.4	52724.6	20.9	10853.4
NCI-H510A	1.8	9116.9	22660.3	20808.2	79.1	27378.7
NCI-H2227	0.0	19962.0	11537.3	14927.4	2.6	1136.1
NCI-H2029	0.0	8905.1	16397.9	5776.1	786.4	8687.6
NCI-H146	16.9	14940.0	22829.6	9597.3	660.2	10340.5
NCI-H187	0.0	5696.0	23923.2	6804.0	264.2	14934.6
NCI-H2081	0.0	14334.6	79374.1	10934.6	44.6	2778.3
NCI-H345	0.0	9686.8	22971.1	7702.7	4953.5	39332.3

[0454]

细胞系	OXT	SYP	CHGA	CHGB	SOX21	BCL2
SHP-77	0.0	7861.2	47453.1	61511.4	480.6	7364.0
NCI-H748	2.7	19958.6	46176.5	7932.8	1408.9	11595.8
DMS-114	0.0	4299.0	1897.5	6161.8	10.2	185.7
NCI-H1048	0.0	260.4	16.4	6.2	4.1	8063.2
NCI-H2171	0.0	12335.6	9407.4	23159.9	0.0	1065.6
NCI-H446	0.0	7403.7	10702.6	5688.3	1.9	2398.9
NCI-H82	4.7	31714.5	19382.3	7303.9	4.7	148.9
SBC-5	0.0	3642.1	311.2	203.0	4.5	306.7
NCI-H526	0.0	12538.8	9920.1	9877.0	0.0	16511.1

[0455] 表13B. 来自mRNA表达水平的校准的读数计数。

[0456] 实施例8. 对LSD1抑制的预测响应的标记评分

[0457] ASCL1、DDC、GRP和HOXA10的校准的表达水平(Norm_read_count) 和MYC拷贝数变化(Copy_number_variation) 用于生成基因标记以预测对LSD1抑制疗法的响应, 如下:

[0458] 根据以下等式生成评分, 通过使用第二主成分的偏最小二乘(PLS) 分析获得:

[0459] 标记评分1=0.0900693

[0460] + (ASCL1校准的表达水平) × 0.00000211296

[0461] + (DDC校准的表达水平) × 0.000000536658

[0462] + (GRP校准的表达水平) × 0.00000297345

[0463] + (HOXA10校准的表达水平) × 0.000234721

[0464] - (MYC的拷贝数变化) × 0.0537056

[0465] 标记评分1>0.5预示对LSD1抑制疗法响应(Fisher确切检验双尾p0.0001, 敏感性90%, 特异性100%), 如图6中所示。

[0466] 或者, 根据如下等式生成评分, 通过使用第一主成分的偏最小二乘法得到:

[0467] 标记评分2=0.483918

[0468] + (ASCL1校准的表达水平) × 0.00000188066

[0469] + (DDC校准的表达水平) × 0.00000188066

[0470] + (GRP校准的表达水平) × 0.00000352033

[0471] - (MYC的拷贝数变化) × 0.0407898

[0472] 标记评分 $2 > 0.5$ 预示对LSD1抑制疗法响应 (Fisher确切检验双尾p0.0055, 敏感性90%, 特异性77.8%), 如图7中所示。

[0473] 此外, 根据如下等式生成评分, 通过使用第一主成分的偏最小二乘法得到:

[0474] 标记评分3 = 0.393569

[0475] + (ASCL1校准的表达水平) × 0.00000182731

[0476] + (DDC校准的表达水平) × 0.00000189664

[0477] + (GRP校准的表达水平) × 0.00000342046

[0478] 标记评分 $3 > 0.45$ 预示对LSD1抑制疗法响应 (Fisher确切检验双尾p0.0055, 敏感性90%, 特异性77.8%), 如图8中所示。

[0479] 高于参考水平的标记评分表明对用LSD1抑制剂治疗有响应的可能性很高, 而低于所述水平的标记评分表明对这类治疗有响应的可能性较低。较高评分与ASCL1、DDC、GRP、HOXA10的较高mRNA表达并且与MYC中较低的拷贝数变异相关。

[0480] 实施例9. 体内肿瘤生长抑制

[0481] NCI-H510A模型:

[0482] 向7-8周龄的无胸腺裸鼠动物注射重悬于100μL 1:1 **Matrigel®**基质 (Corning Inc., Tewksbury/MA, C.S. Hughes等人¹⁰⁵) 和PBS的1:1混合物中的 5×10^6 H510A细胞。将肿瘤在200-300mm³动物分级并分配到给药组中。(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基) 环己烷-1,4-二胺以40μg/kg (upk) 的剂量给药5天/两次休息, 直到研究结束。使用数字卡尺每两周测量肿瘤体积。当对照组内的平均肿瘤体积达到2000mm³或分期后28天时, 研究结束。使用非配对t-检验进行统计学分析。

[0483] NCI-H526和SHP-77模型:

[0484] 向8-12周龄的nu/nu小鼠注射 1×10^7 H526细胞或重悬于100μL 1:1的 **Matrigel®** 和PBS混合物中的 5×10^6 SHP-77。将肿瘤在100-150mm³动物分级并分配到给药组中。(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基) 环己烷-1,4-二胺以40upk的剂量给药5天/两天, 直至结束研究。使用数字卡尺每两周测量肿瘤体积。当对照组内的平均肿瘤体积达到2000mm³或分期后28天时, 研究结束。使用非配对t-检验进行统计学分析。

[0485] LSD1抑制剂(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基) 环己烷-1,4-二胺的体外活性对H510A异种移植模型体内生长有抑制作用, 如图9所示。在“响应标记”阳性细胞系H510A模型中(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基) 环己烷-1,4-二胺处理导致适度但可测定的在给药21天后与未处理对照相比34%的肿瘤生长抑制率。这些结果启示, 如前所定义的15种基因标记可以预测体内对(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基) 环己烷-1,4-二胺的敏感性。(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基) 环己烷-1,4-二胺的体内活性也在“响应标记阳性”SHP-77中进行了评估, 且“响应标记阴性”H526异种移植物验证基因标记从体外结果的可预测性。

[0486] 实施例10. SCLC患者样品中的表达模式

[0487] 一组SCLC患者样品中的基因表达模式被发现与SCLC细胞系中观察到的相似(实施

例6,图4),这启示使用LSD1抑制剂响应基因标记、特别是使用(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺响应基因标记可能增加鉴别临幊上受益于将基于LSD1抑制剂疗法、特别是来自基于(反式)-N1-((1R,2S)-2-苯基环丙基)环己烷-1,4-二胺的疗法的患者的可能性。

[0488] 图10提供了热图,其显示了包含表8、表9的基因和MYC的SCLC患者样品中的mRNA表达(作为z-评分)模式。较高的z-评分与更好的敏感性相关。

[0489] 使用的数据集相当于得自European Bioinformatics Institute,Part of the European Molecular Biology Laboratory的European Genome-phenome Archive (EGA) 的数据集EGAD00001000223 (EMBL-EBI,Hinxton/UK,<https://www.ebi.ac.uk/ega/datasets/EGAD00001000223>)。患者ID (SAMxxxxxx) 相当于该数据集中使用的ID。

¹ Shi *et al.* (2004) Cell 119: 941

² WO 2011/131697 A1

³ WO 2012/135113 A2

- 4 WO 2013/057322 A1
- 5 WO 2010/143582
- 6 WO 2011/131576
- 7 WO 2013/022047
- 8 WO 2013/025805
- 9 WO 2014/058071
- 10 WO 2014/084298
- 11 WO 2014/085613
- 12 WO 2014/086790
- 13 WO 2014/164867
- 14 WO 2014/194280
- 15 WO 2014/205213
- 16 WO 2015/021128
- 17 WO 2015/031564
- 18 WO 2015/089192
- 19 WO 2015/120281
- 20 WO 2015/123465
- 21 WO 2015/123437
- 22 WO 2015/123424
- 23 WO 2015/123408
- 24 WO 2015/134973
- 25 WO 2015/156417
- 26 WO 2016/004105
- 27 WO 2016/007722
- 28 WO 2016/007727
- 29 WO 2016/007731
- 30 WO 2016/007736
- 31 WO 2016/034946
- 32 WO 2016/037005
- 33 CN 105541806
- 34 WO 2016/123387
- 35 WO 2016/130952
- 36 CN 105924362
- 37 CN 105985265
- 38 WO 2016/161282
- 39 CN 106045862
- 40 CN 106045881
- 41 WO 2016/172496
- 42 WO 2016/177656
- 43 WO 2017/004519
- 44 WO 2017/027678
- 45 WO 2010/138588 A2
- 46 US 2007/0027135 A1
- 47 WO 2005/049594 A1
- 48 US 2006/0229289 A1
- 49 WO 2011/091213 A2
- 50 WO 2009/040517 A2
- 51 DD 159877 A1
- 52 WO 2006/000420 A1
- 53 WO 2012/129353 A1

- ⁵⁴ ES 544159 A1
⁵⁵ WO 2007/015632 A1
⁵⁶ Rosenberg B. et al. Nature (1969) 222(5191):385-6
⁵⁷ WO 2013/120104 A2
⁵⁸ WO 2014/134583 A2
⁵⁹ EP 253738 A1
⁶⁰ DE 2510866 A1
⁶¹ Daigle S.R. et al. Cancer Cell (2011) 20(1):53-65
⁶² WO 2012/118812 A2
⁶³ WO 2012/075381 A2
⁶⁴ WO 2012/142504 A1
⁶⁵ CH 514578 A
⁶⁶ WO 2013/178821 A1
⁶⁷ US 2,802,005
⁶⁸ WO 2006/028958 A2
⁶⁹ GB 2136425
⁷⁰ WO 2011/140324 A1
⁷¹ WO 2011/054843 A1
⁷² WO 2011/140325 A1
⁷³ WO 2012/052390 A1
⁷⁴ US 6,121,451 A
⁷⁵ WO 2011/143651 A1
⁷⁶ WO 99/35146 A1
⁷⁷ WO 2010/033481 A1
⁷⁸ WO 2006/105262 A1
⁷⁹ WO 2013/016081 A1
⁸⁰ US 2,331,725
⁸¹ WO 2002/081435 A1
⁸² WO 2008/063525 A1
⁸³ WO 2012/116170 A1
⁸⁴ US 2005/0282803
⁸⁵ WO 2004/106328 A1
⁸⁶ US 5,712,274 A
⁸⁷ EP 253739 A1
⁸⁸ WO 2002/022577 A2
⁸⁹ EP 432677 A1
⁹⁰ US 2007/0265272 A1
⁹¹ US 2005/0215610 A1
⁹² WO 93/07148 A1
⁹³ Yu et al., Nature Communications (2012) 3(1288):1-11
⁹⁴ JP 10152462 A
⁹⁵ WO 2010/147917 A1
⁹⁶ DE 3231255 A1
⁹⁷ EP 321122 A2
⁹⁸ WO 2006/023778 A2
⁹⁹ BE 624076
¹⁰⁰ S. P. Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, New York
¹⁰¹ Eiel, E. and Wilen, S., "Stereochemistry of Organic Compounds", John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994

¹⁰²Cahn et al. Angew. Chem. Inter. Edit. 1966, 5, 385; errata 511

¹⁰³Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (2004) Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia

¹⁰⁴Rowe R.C, Handbook of Pharmaceutical Excipients (2005) Pharmaceutical Press, Chicago

¹⁰⁵Remington: The Science and Practice of Pharmacy (2000) Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia

¹⁰⁶Cunningham F.et al., Nucl. Acids Res. (2015) 43(D1): D662-D669

¹⁰⁷Mortazavi et al. Nat Methods (2008) 5(7):621-8

¹⁰⁸Selzer et al., Genes Chromosomes Cancer (2005) 44(3):305–319

¹⁰⁹Reich M.et al, Nature Genetics (2006) 38(5): 500-501

¹¹⁰Desmond et al, Cancer Res (1985) 45(6):2913-2923

¹¹¹Shoemaker R.H., Nature Reviews Cancer (2016) 6:813-823

¹¹²Augustyn et al, Proc Natl Acad Sci U S A (2014) 111(41):14788-93

¹¹³Hughes et al, Proteomics (2010) 10(9):1886–90

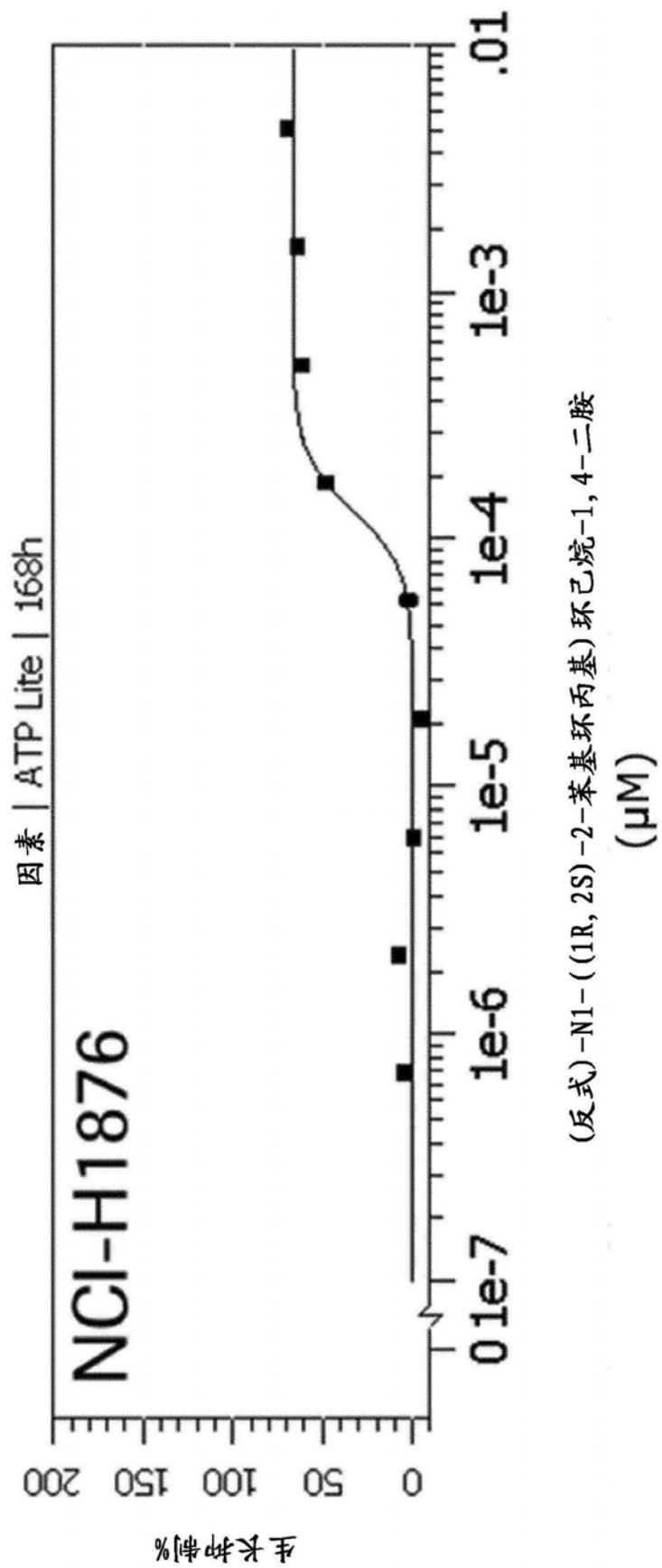


图1A

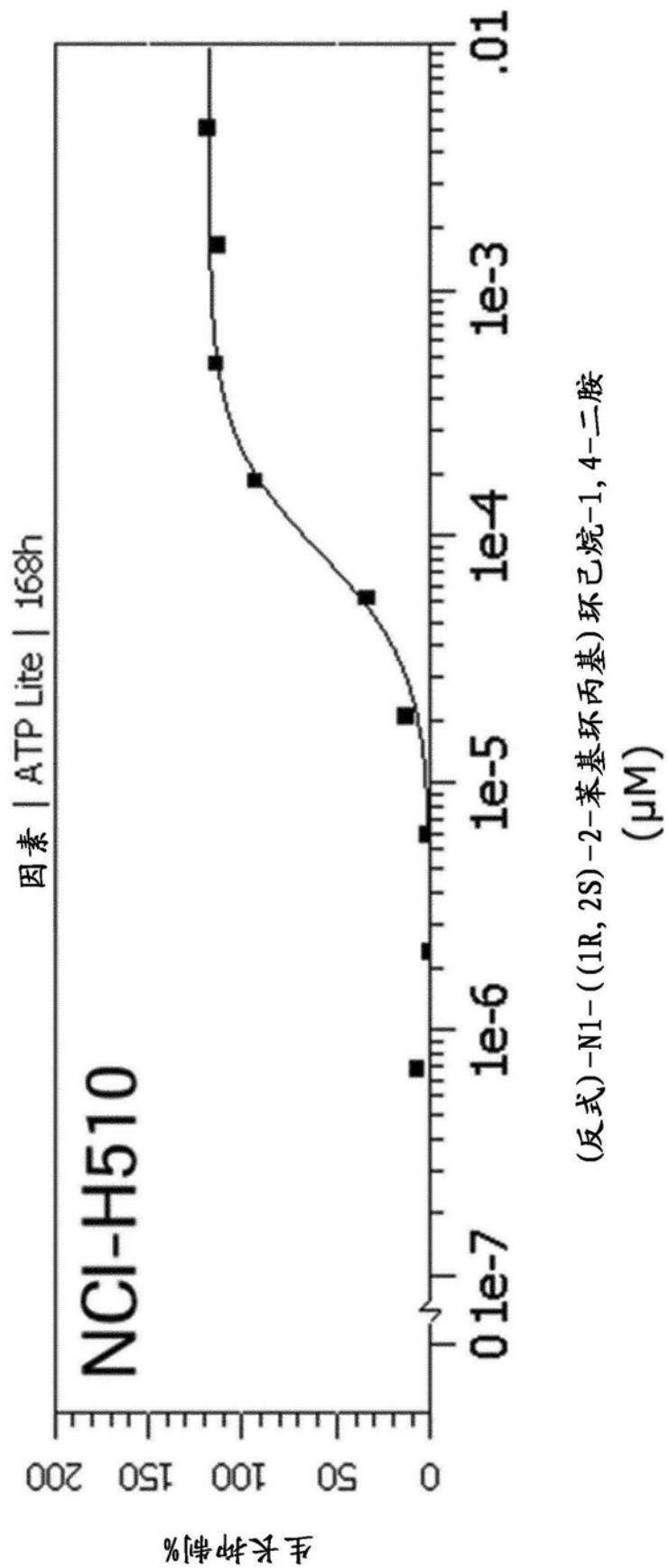


图1B

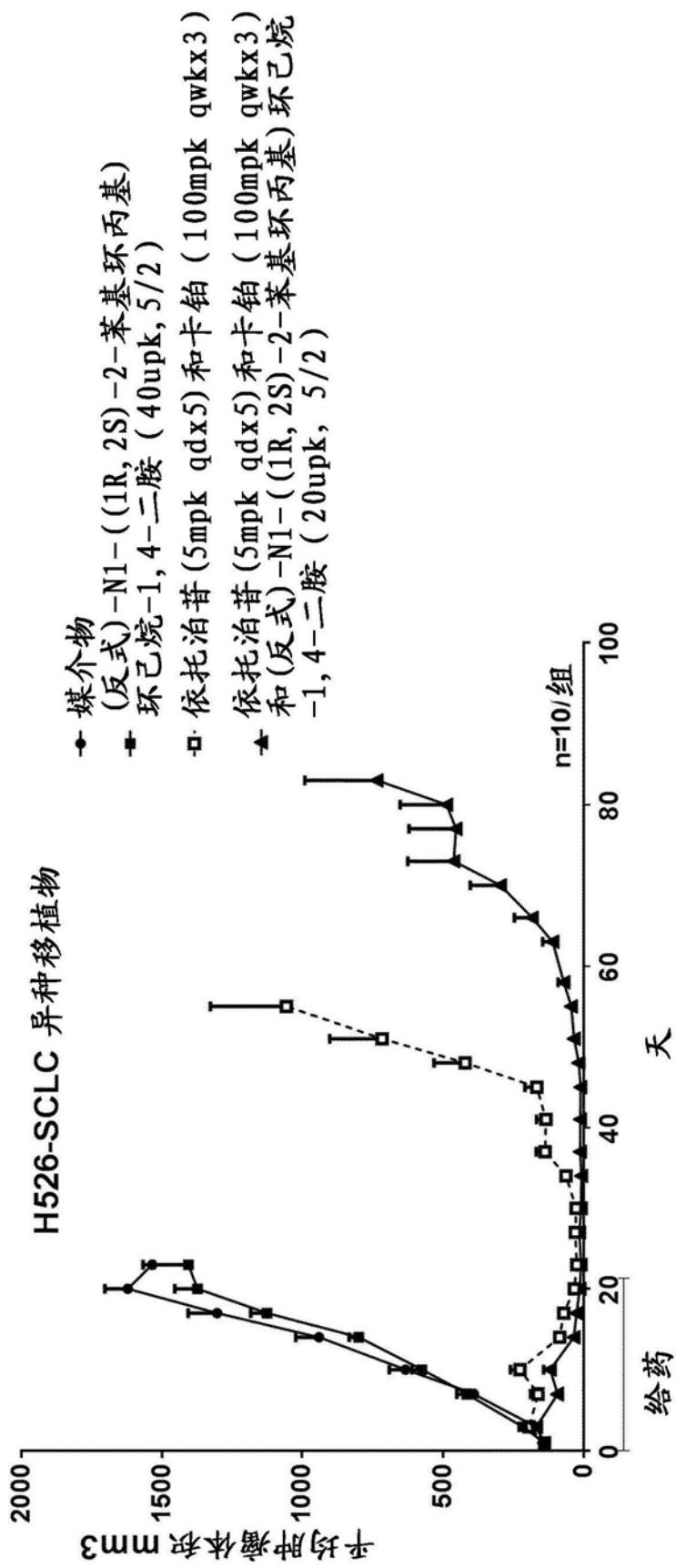


图2A

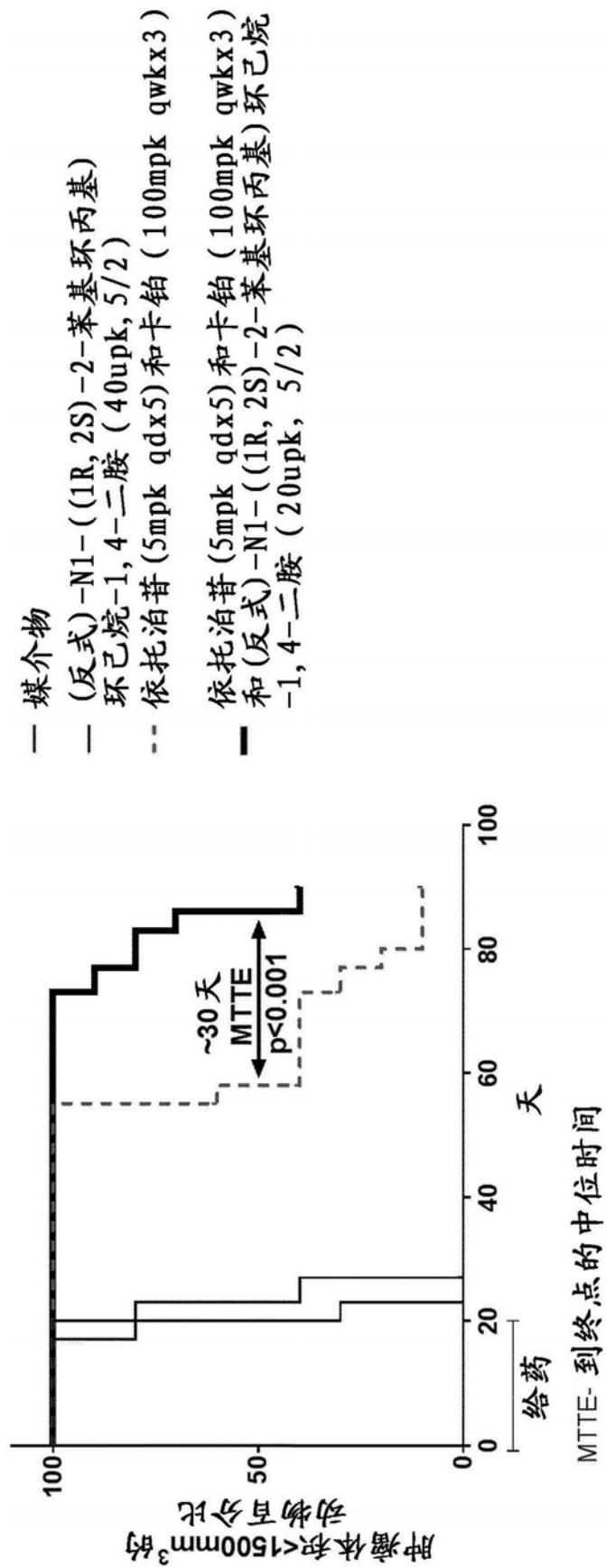


图2B

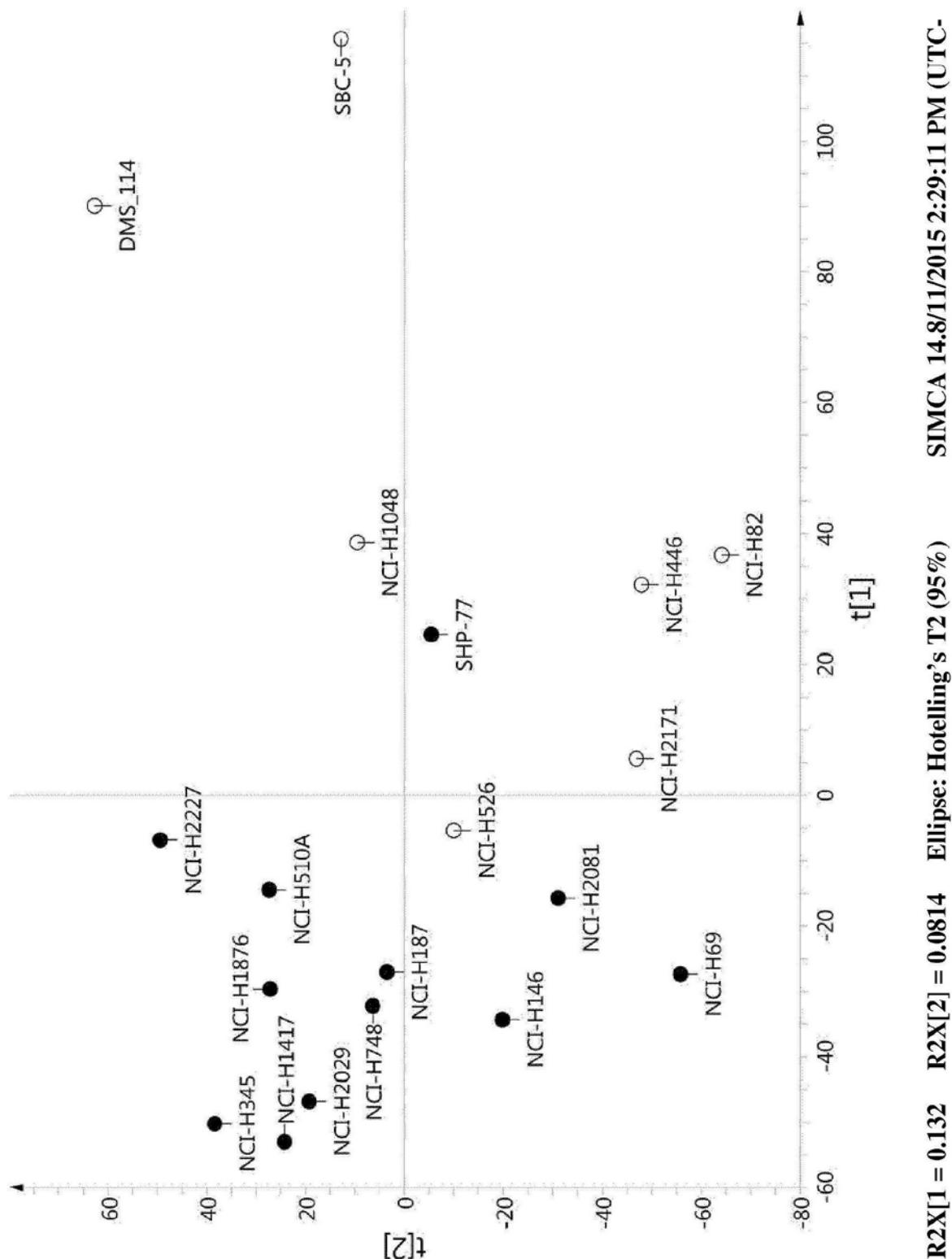


图3

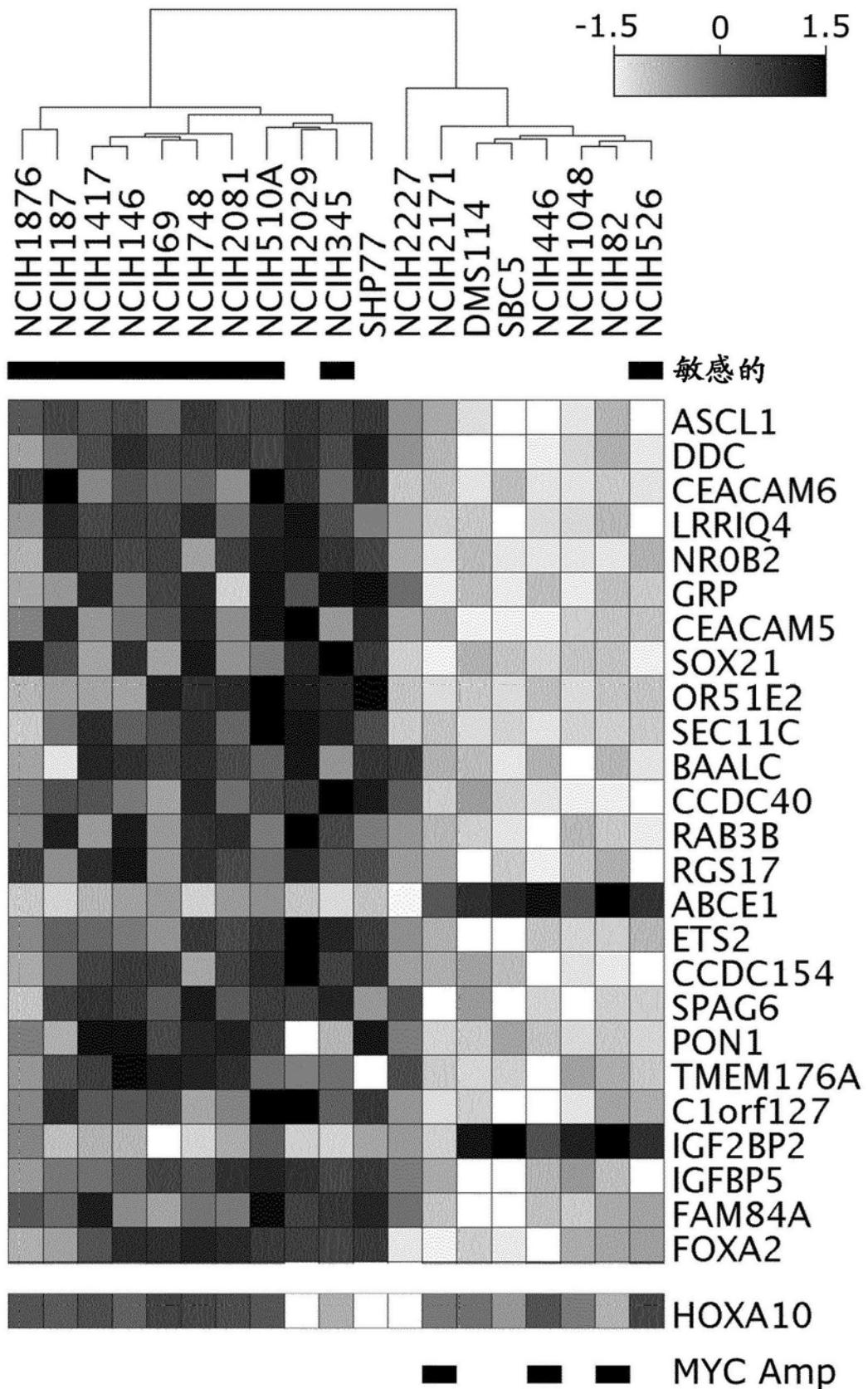


图4

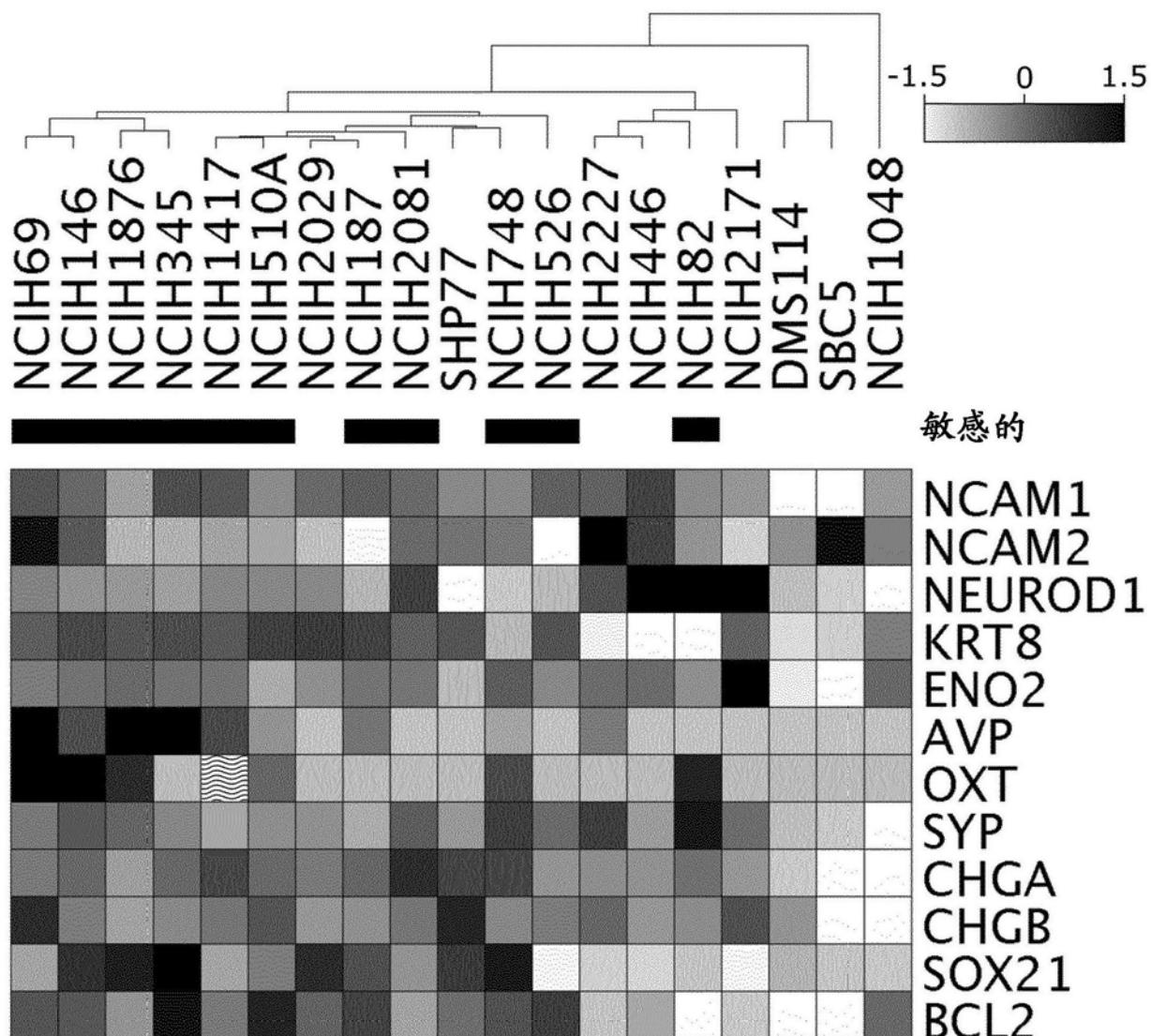
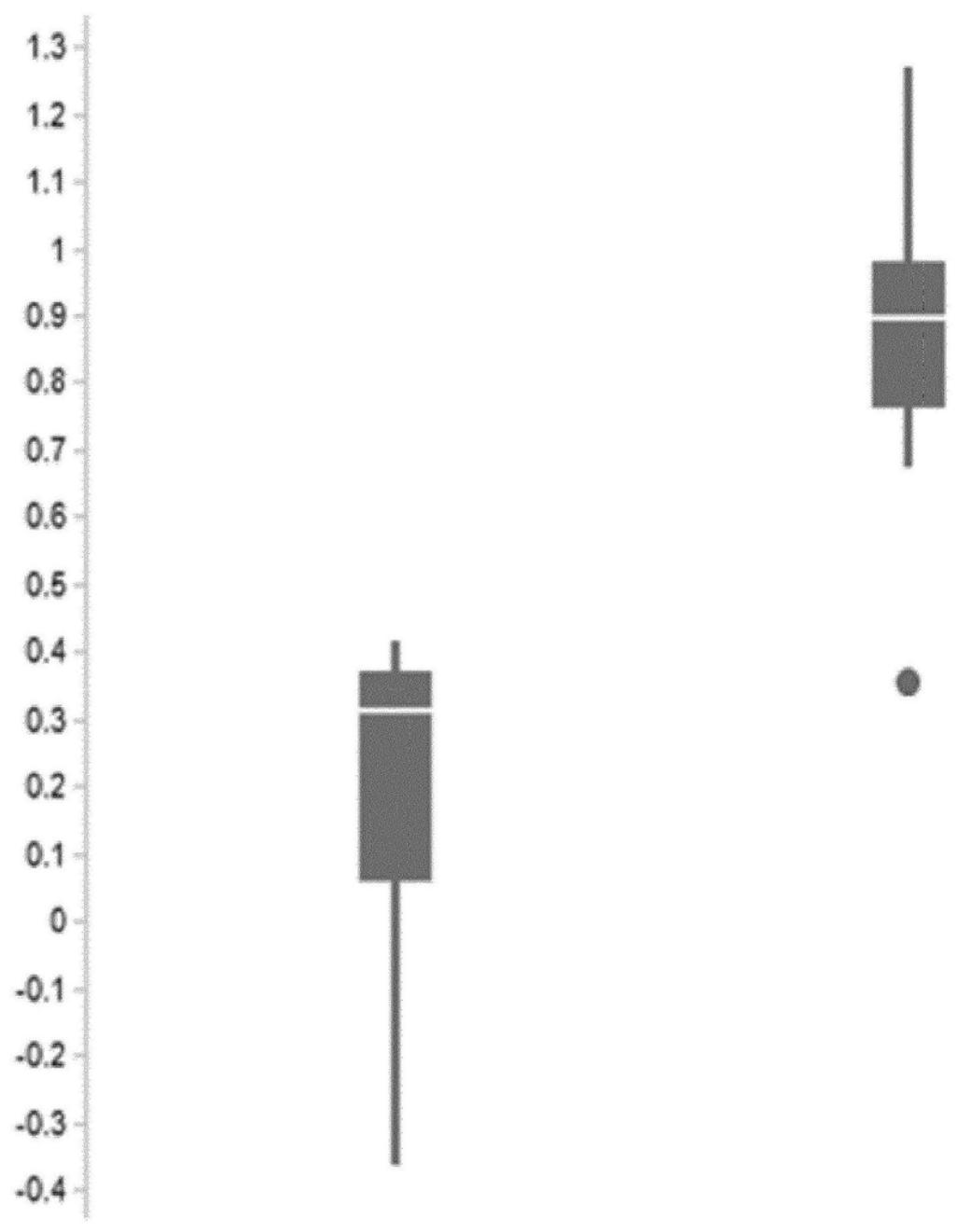


图5

评分 1



抗性的

敏感的

图6

评分 —2

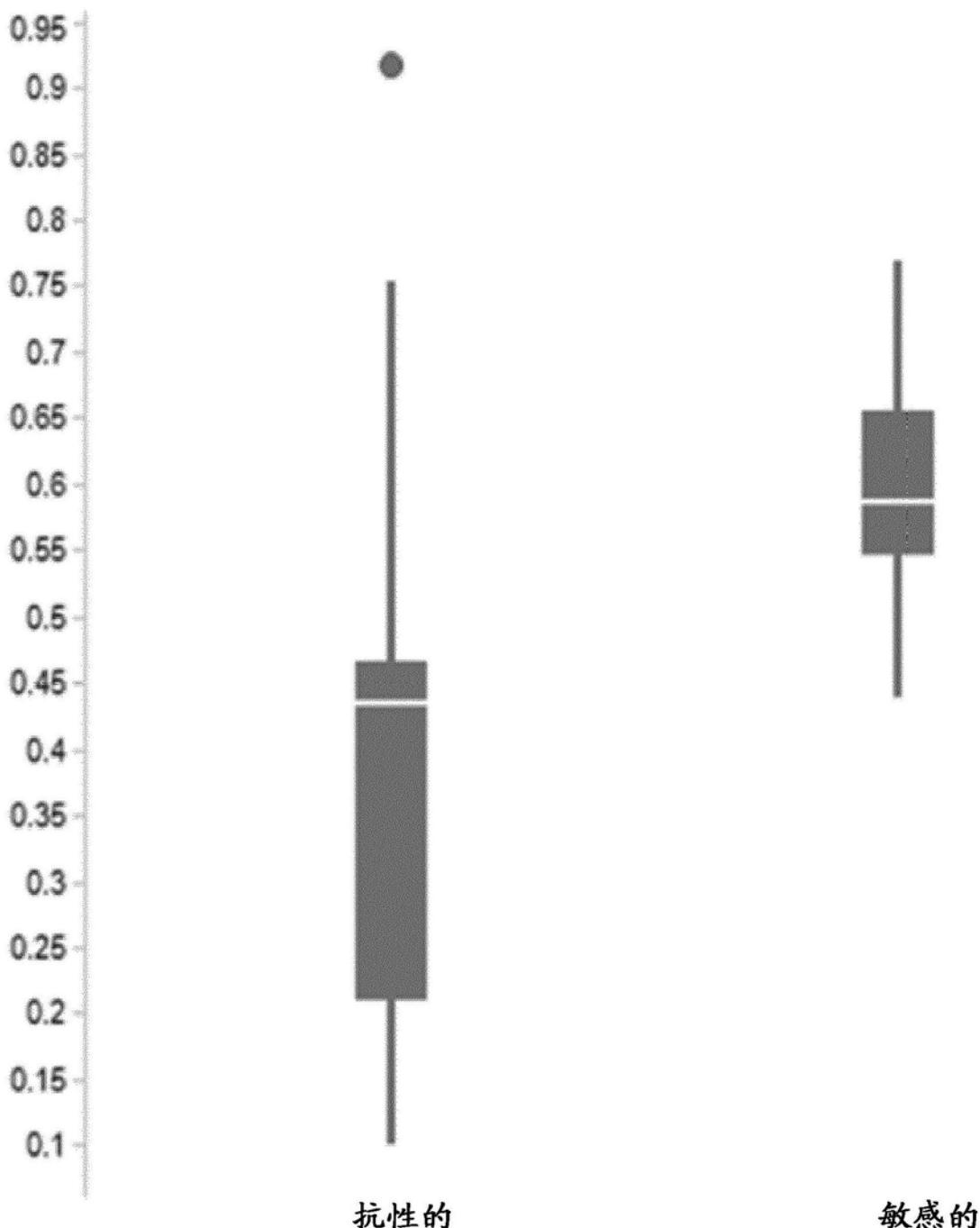


图7

评分 3

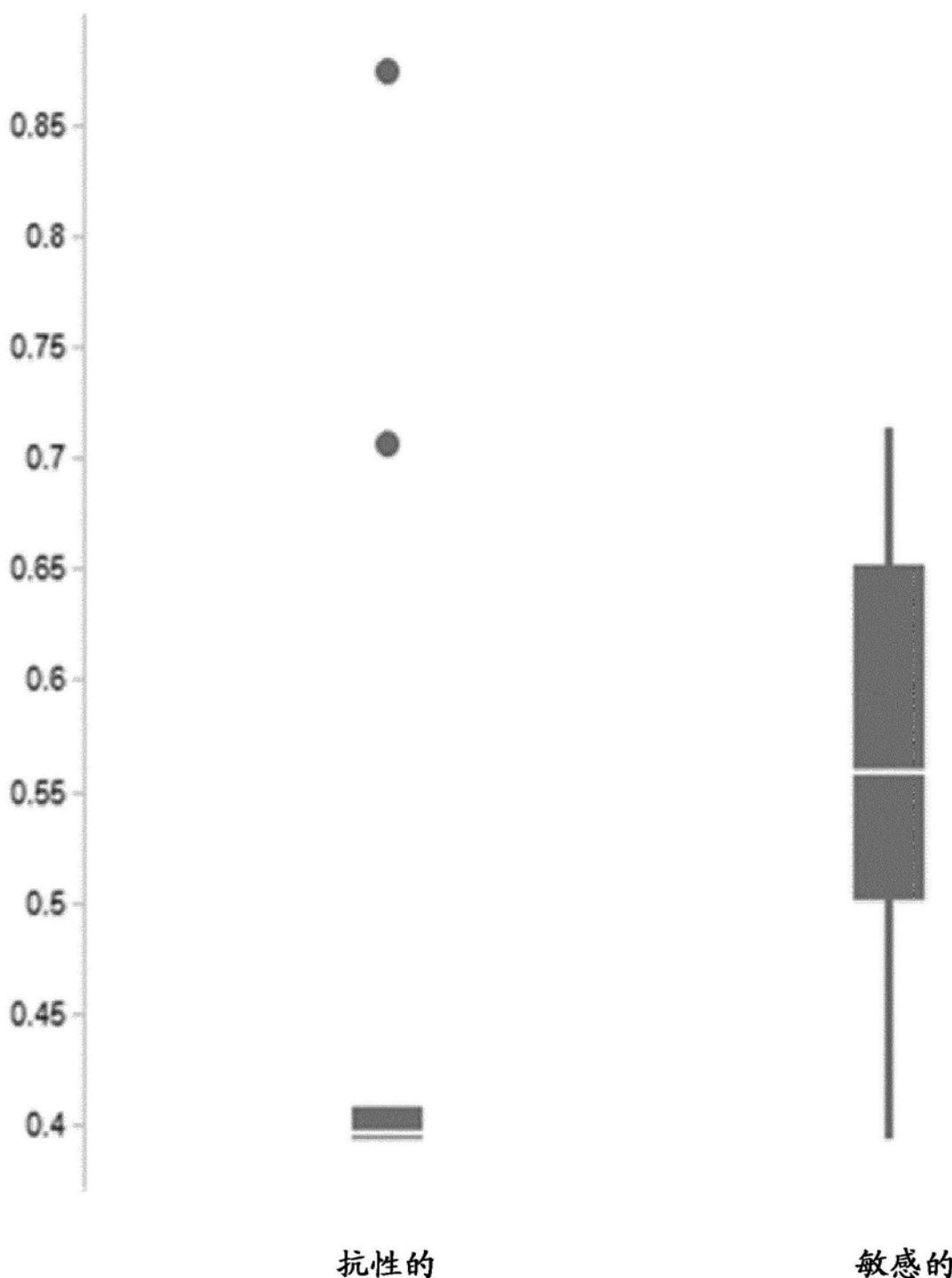


图8

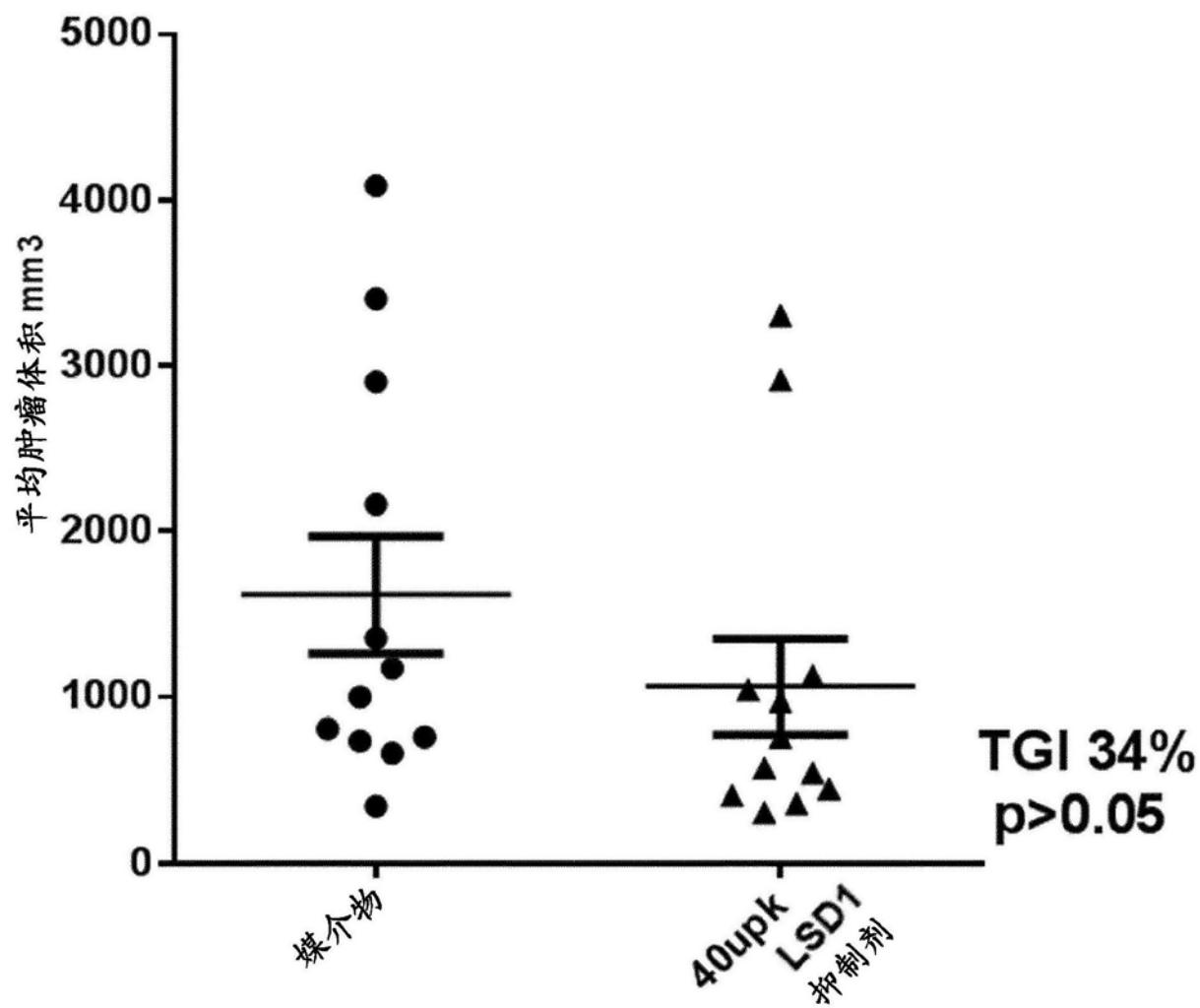
H510 A 第21天

图9

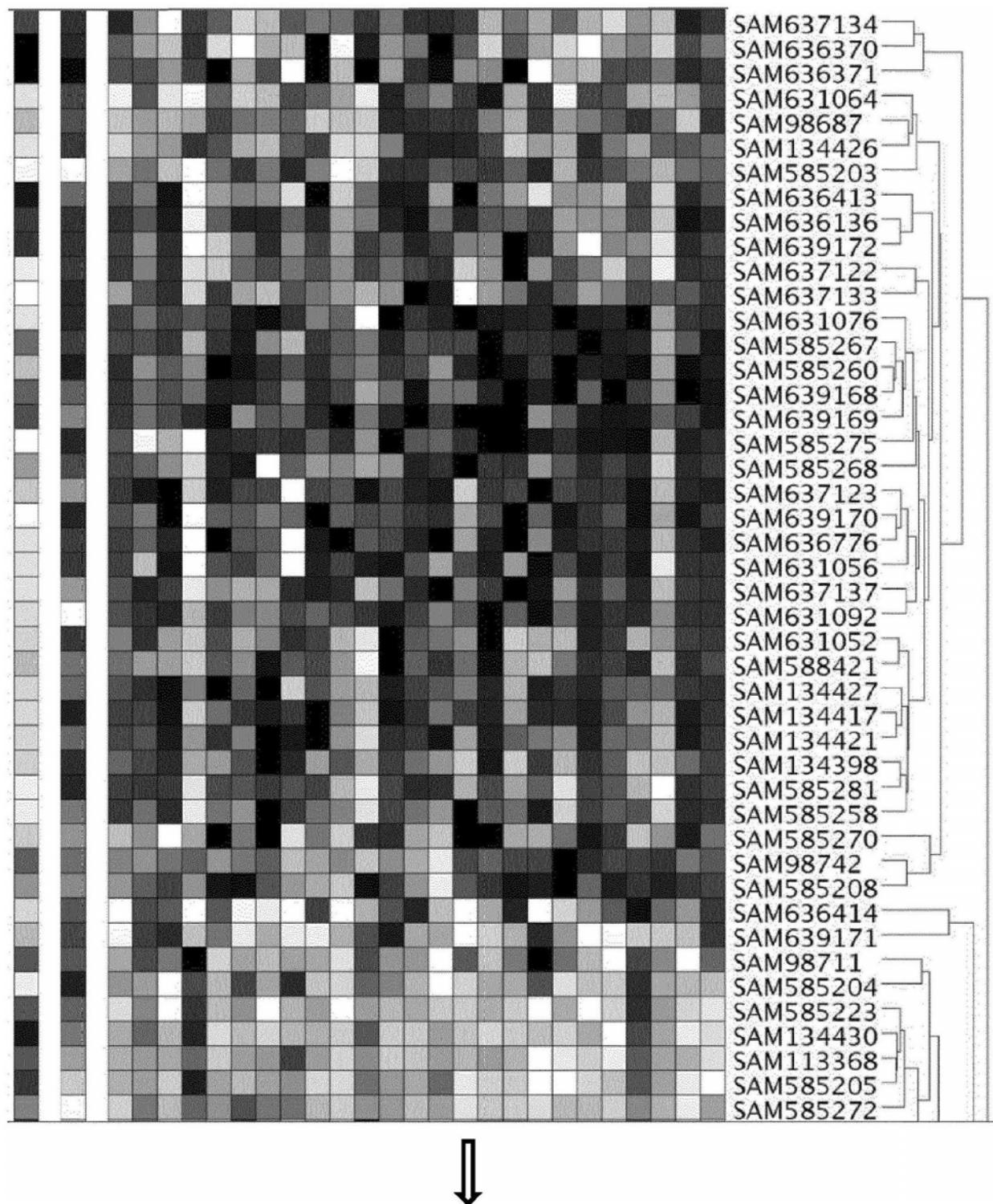


图10-部分1

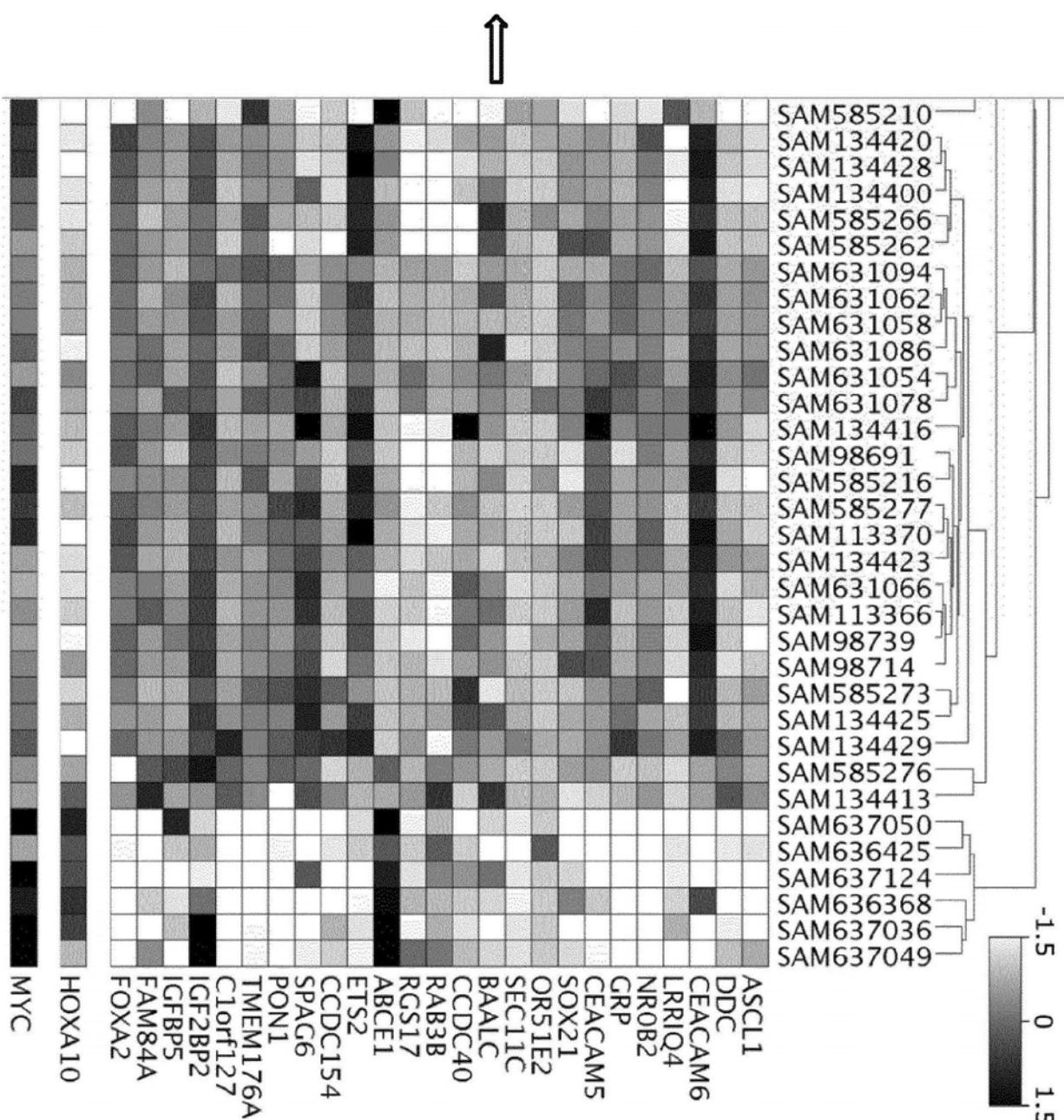


图10-部分2