



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104812391 A

(43) 申请公布日 2015. 07. 29

(21) 申请号 201380056222. 9

代理人 沈端

(22) 申请日 2013. 10. 24

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

A61K 31/519(2006. 01)

61/718, 430 2012. 10. 25 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2015. 04. 27

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2013/066564 2013. 10. 24

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/066606 EN 2014. 05. 01

(71) 申请人 葛兰素史克公司

地址 美国特拉华州

(72) 发明人 A·胡斯 J·格雷绍克

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公  
司 31100

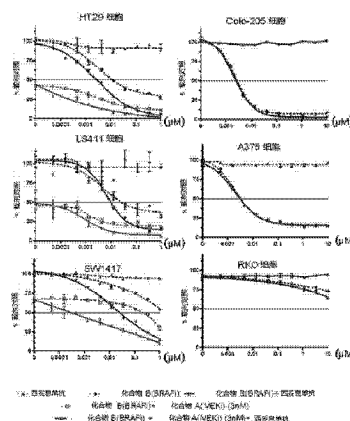
权利要求书5页 说明书36页 附图2页

(54) 发明名称

组合

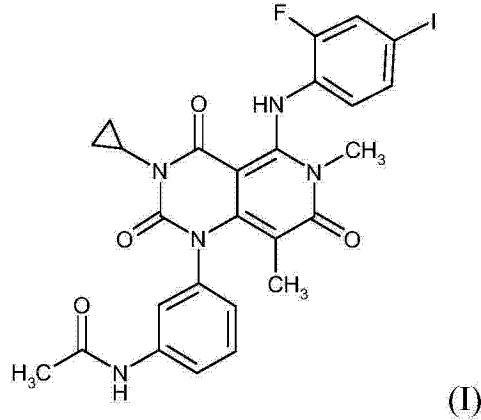
(57) 摘要

一种含有以下的新组合 :B-Raf 抑制剂,特别是 N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺或其药学上可接受盐,和 / 或 MEK 抑制剂 N-{3-[3-环丙基-5-(2-氟-4-碘-苯基氨基)6,8-二甲基-2,4,7-三氧代-3,4,6,7-四氢-2H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-1-基]苯基}乙酰胺或其药学上可接受盐或溶剂化物,以及 EGFR 抑制剂,适宜为西妥昔单抗(爱必妥)或埃罗替尼;含有其的药物组合物,和使用该组合及组合物治疗其中对 MEK 和 / 或 B-Raf 和 / 或 EGFR 的抑制是有益的病症,如癌症的方法。



1. 一种组合,所述组合包括:

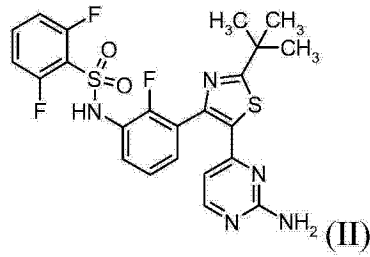
(i) 具有结构 (I) 的化合物



或其药学上可接受盐或溶剂化物;

(ii) 西妥昔单抗;且任选包含

(iii) 具有结构 (II) 的化合物

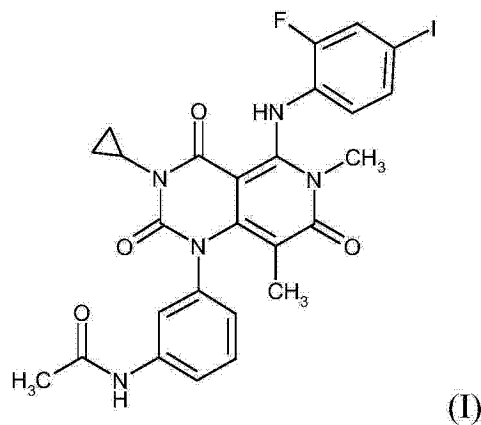


或其药学上可接受盐。

2. 如权利要求1所述的组合,其特征在于,所述化合物 (I) 采用二甲亚砜溶剂化物形式且化合物 (II) 采用甲磺酸盐形式。

3. 一种组合,所述组合包括:

(i) 具有结构 (I) 的化合物

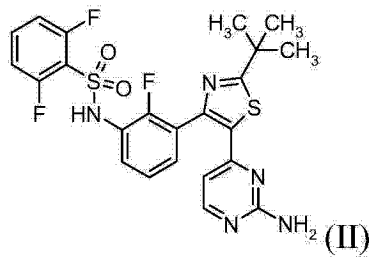


或其药学上可接受盐或溶剂化物;和

(ii) 西妥昔单抗。

4. 一种组合,所述组合包括:

(i) 具有结构 (II) 的化合物



或其药学上可接受盐或溶剂化物；和

(ii) 西妥昔单抗。

5. 一种组合药盒,所述药盒包括如权利要求 1-4 中任一项所述的组合以及一种或多种药学上可接受载体。

6. 如权利要求 5 所述的组合药盒,其特征在于,所述具有结构 I 的化合物或其药学上可接受盐或溶剂化物,当存在时,以适合口服施用的片剂形式提供。

7. 如权利要求 4 或 5 所述的组合药盒,其特征在于,所述具有结构 II 的化合物或其药学上可接受盐,当存在时,以适合口服施用的胶囊剂形式提供。

8. 如权利要求 5-7 中任一项所述的组合药盒,其特征在于,所述西妥昔单抗以适合静脉内的施用的形式提供。

9. 如权利要求 5-7 中任一项所述的组合药盒,其特征在于,所述西妥昔单抗以适合皮下施用的形式提供。

10. 如权利要求 1-9 中任一项所述的组合在生产治疗癌症的药物中的应用。

11. 如权利要求 1-9 所述的组合,所述组合用于治疗。

12. 如权利要求 1-9 所述的组合,所述组合用于治疗癌症。

13. 一种药物组合物,所述组合物包括如权利要求 1-9 所述的组合以及药学上可接受稀释剂或载体。

14. 一种在需要的人类中治疗癌症的方法,所述方法包括施用治疗有效量的权利要求 1 所述的组合。

15. 如权利要求 14 所述的方法,其特征在于,所述西妥昔单抗以  $400\text{mg}/\text{m}^2$ - $250\text{mg}/\text{m}^2$  的量施用。

16. 如权利要求 15 所述的方法,其特征在于,所述西妥昔单抗以约  $400\text{mg}/\text{m}^2$  的量通过 2 小时静脉输注施用。

17. 如权利要求 14-16 中任一项所述的方法,其特征在于,所述西妥昔单抗与具有结构 I 的化合物或其药学上可接受盐或溶剂化物和具有结构 II 的化合物或其药学上可接受盐共施用。

18. 如权利要求 14-17 中任一项所述的方法,其特征在于,所述癌症选自头颈癌、乳腺癌、肺癌、结肠癌、卵巢癌、前列腺癌、胶质瘤、成胶质细胞瘤、星形细胞瘤、多形性成胶质细胞瘤、Bannayan-Zonana 综合征、Cowden 病、小脑发育不良性节细胞瘤、炎性乳腺癌、胚胎性癌肉瘤、尤因肉瘤、横纹肌肉瘤、室管膜瘤、成神经管细胞瘤、肾癌、肝癌、黑色素瘤、胰腺癌、肉瘤、骨肉瘤、骨巨细胞瘤、甲状腺癌、淋巴母细胞 T 细胞白血病、慢性髓细胞性白血病、慢性淋巴细胞白血病、毛细胞白血病、急性成淋巴细胞性白血病、急性髓细胞白血病、AML、慢性中性粒细胞白血病、急性淋巴母细胞 T 细胞白血病、浆细胞瘤、免疫母细胞大细胞白血病、

套细胞白血病、多发性骨髓瘤成巨核细胞白血病、多发性骨髓瘤、急性巨核细胞白血病、早幼粒细胞白血病、红白血病、恶性淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、淋巴母细胞 T 细胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、成神经细胞瘤、膀胱癌、尿路上皮癌、外阴癌、宫颈癌、子宫内膜癌、肾癌、间皮瘤、食管癌、唾液腺癌、肝细胞癌、胃癌、鼻咽癌、颊癌、口腔癌、GIST(胃肠道间质瘤)和睾丸癌。

19. 如权利要求 14-18 中任一项所述的方法,其特征在于,所述化合物 (I) 采用二甲亚砜溶剂化物形式且化合物 (II) 采用甲磺酸盐形式。

20. 如权利要求 15 所述的方法,其特征在于,所述西妥昔单抗以约  $250\text{mg}/\text{m}^2$  的量经过 1 小时输注施用。

21. 如权利要求 14 所述的方法,其特征在于,所述组合由具有结构 (I) 的化合物或其药学上可接受盐或溶剂化物和西妥昔单抗组成。

22. 一种用于治疗癌症的组合或组合药盒,所述组合或组合药盒包括治疗有效量的组合:N-{3-[3-环丙基-5-(2-氟-4-碘-苯基氨基)-6,8-二甲基-2,4,7-三氧代-3,4,6,7-四氢-2H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-1-基]苯基}乙酰胺二甲亚砜和西妥昔单抗,和任选包含N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺甲磺酸盐,

其中所述组合在规定时段内施用,和

其中所述组合施用持续一段时间。

23. 如权利要求 22 所述的组合或组合药盒,其特征在于,所述N-{3-[3-环丙基-5-(2-氟-4-碘-苯基氨基)-6,8-二甲基-2,4,7-三氧代-3,4,6,7-四氢-2H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-1-基]苯基}乙酰胺二甲亚砜的量选自约  $0.25\text{mg}$ -约  $9\text{mg}$ ,且所述量每天施用 1 次,N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺甲磺酸盐,当存在时,的量选自约  $80\text{mg}$ -约  $220\text{mg}$ ,且所述量以一个或多个剂量每天施用 1 或 2 次,西妥昔单抗的量选自约  $200\text{mg}/\text{m}^2/\text{周}$ -约  $450\text{mg}/\text{m}^2/\text{周}$ 。

24. 如权利要求 23 所述的组合或组合药盒,其特征在于,所述N-{3-[3-环丙基-5-(2-氟-4-碘-苯基氨基)-6,8-二甲基-2,4,7-三氧代-3,4,6,7-四氢-2H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-1-基]苯基}乙酰胺二甲亚砜和N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺甲磺酸盐,当存在时,连续施用 7 天,西妥昔单抗在所述 7 天中施用 1 次,任选随后进行一个或多个周期重复给药。

25. 一种用于治疗癌症的组合或组合药盒,所述组合或组合药盒包括治疗有效量的组合:N-{3-[3-环丙基-5-(2-氟-4-碘-苯基氨基)-6,8-二甲基-2,4,7-三氧代-3,4,6,7-四氢-2H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-1-基]苯基}乙酰胺二甲亚砜和西妥昔单抗,

其中所述组合在规定时段内施用,和

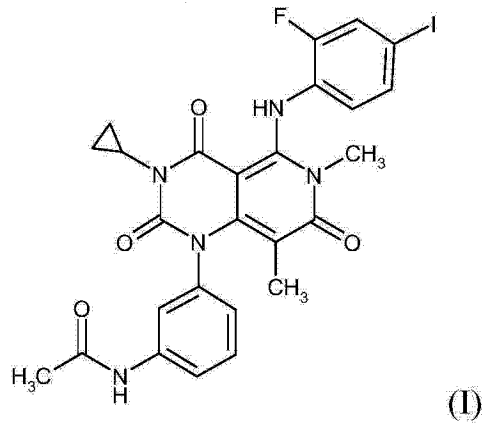
其中所述组合施用持续一段时间。

26. 如权利要求 25 所述的组合或组合药盒,其特征在于,所述N-{3-[3-环丙基-5-(2-氟-4-碘-苯基氨基)-6,8-二甲基-2,4,7-三氧代-3,4,6,7-四氢-2H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-1-基]苯基}乙酰胺二甲亚砜的量选自约  $0.25\text{mg}$ -约  $9\text{mg}$ ,所述量每天施用 1 次,西妥昔单抗的量选自约  $250\text{mg}/\text{m}^2/\text{周}$ 。

27. 如权利要求 26 所述的组合或组合药盒, 其特征在于, 所述 N-{3-[3-环丙基-5-(2-氟-4-碘-苯基氨基)-6,8-二甲基-2,4,7-三氧代-3,4,6,7-四氢-2H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-1-基]苯基}乙酰胺二甲亚砷连续施用 7 天, 西妥昔单抗在所述 7 天中施用 1 次, 任选随后进行一个或多个周期重复给药。

28. 一种组合, 所述组合包括:

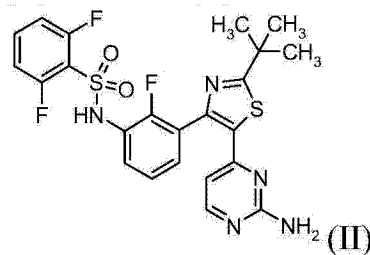
(i) 具有结构 (I) 的化合物



或其药学上可接受盐或溶剂化物;

(ii) 埃罗替尼; 且任选包含

(iv) 具有结构 (II) 的化合物



或其药学上可接受盐。

29. 如权利要求 28 所述的组合, 其特征在于, 所述化合物 (I) 采用二甲亚砷溶剂化物形式且化合物 (II) 采用甲磺酸盐形式。

30. 如权利要求 29 所述的组合或组合药盒, 其特征在于, 所述 N-{3-[3-环丙基-5-(2-氟-4-碘-苯基氨基)-6,8-二甲基-2,4,7-三氧代-3,4,6,7-四氢-2H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-1-基]苯基}乙酰胺二甲亚砷的量选自约 0.25mg-约 9mg, 且所述量每天施用 1 次, N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺甲磺酸盐, 当存在时, 的量选自约 80mg-约 220mg, 且所述量以一个或多个剂量每天施用 1 或 2 次, 埃罗替尼的量为约 150mg。

31. 如权利要求 30 所述的组合或组合药盒, 其特征在于, 所述 N-{3-[3-环丙基-5-(2-氟-4-碘-苯基氨基)-6,8-二甲基-2,4,7-三氧代-3,4,6,7-四氢-2H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-1-基]苯基}乙酰胺二甲亚砷和 N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺甲磺酸盐, 当存在时, 连续施用 7 天, 埃罗替尼在所述 7 天中每天施用 1 次, 任选随后进行一个或多个周期重复给药。

32. 一种用于治疗癌症的组合或组合药盒, 所述组合或组合药盒包括治疗有效量

的组合:N-{3-[3-环丙基-5-(2-氟-4-碘-苯基氨基)-6,8-二甲基-2,4,7-三氧代-3,4,6,7-四氢-2H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-1-基]苯基}乙酰胺二甲亚砷和埃罗替尼,其中所述组合在规定时段内施用,和其中所述组合施用持续一段时间。

33. 如权利要求 32 所述的组合或组合药盒,其特征在于,所述 N-{3-[3-环丙基-5-(2-氟-4-碘-苯基氨基)-6,8-二甲基-2,4,7-三氧代-3,4,6,7-四氢-2H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-1-基]苯基}乙酰胺二甲亚砷的量选自约 0.25mg-约 9mg,所述量每天施用 1 次,埃罗替尼的量为约 150mg。

34. 如权利要求 33 所述的组合或组合药盒,其特征在于,所述 N-{3-[3-环丙基-5-(2-氟-4-碘-苯基氨基)-6,8-二甲基-2,4,7-三氧代-3,4,6,7-四氢-2H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-1-基]苯基}乙酰胺二甲亚砷连续施用 7 天,埃罗替尼在所述 7 天中每天施用 1 次,任选随后进行一个或多个周期重复给药。

35. 一种用于治疗癌症的组合或组合药盒,所述组合或组合药盒包括治疗有效量的组合:N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺甲磺酸盐和埃罗替尼,其中所述组合在规定时段内施用,和其中所述组合施用持续一段时间。

36. 如权利要求 35 所述的组合或组合药盒,其特征在于,所述 N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺甲磺酸盐的量选自约 80mg-约 220mg,所述量以一个或多个剂量每天施用 1 或 2 次,埃罗替尼的量为约 150mg。

37. 如权利要求 36 所述的组合或组合药盒,其特征在于,所述 N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺甲磺酸盐连续施用 7 天,埃罗替尼在所述 7 天中每天施用 1 次,任选随后进行一个或多个周期重复给药。

38. 一种用于治疗癌症的组合或组合药盒,所述组合或组合药盒包括治疗有效量的组合:N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺甲磺酸盐和西妥昔单抗,其中所述组合在规定时段内施用,和其中所述组合施用持续一段时间。

39. 如权利要求 38 所述的组合或组合药盒,其特征在于,所述 N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺甲磺酸盐的量选自约 80mg-约 220mg,所述量以一个或多个剂量每天施用 1 或 2 次,西妥昔单抗的量选自约 250mg/m<sup>2</sup>/周。

40. 如权利要求 39 所述的组合或组合药盒,其特征在于,所述 N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺甲磺酸盐连续施用 7 天,西妥昔单抗在所述 7 天中施用 1 次,任选随后进行一个或多个周期重复给药。

## 组合

### 技术领域

[0001] 本发明涉及治疗哺乳动物癌症的方法以及用于该治疗的组合。特定地,所述方法涉及含有以下的新组合: B-Raf 抑制剂,特别是 N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺或其药学上可接受盐,和/或 MEK 抑制剂 N-{3-[3-环丙基-5-(2-氟-4-碘-苯基氨基)-6,8-二甲基-2,4,7-三氧代-3,4,6,7-四氢-2H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-1-基]苯基}乙酰胺或其药学上可接受盐或溶剂化物,以及 EGFR 抑制剂,适宜为西妥昔单抗(爱必妥)或埃罗替尼;含有其的药物组合物,和使用该组合及组合物治疗其中对 MEK 和/或 B-Raf 和/或 EGFR 的抑制是有益的病症,如癌症的方法。

### 背景技术

[0002] 有效治疗包括癌症在内的过度增殖性疾病是肿瘤学领域持续奋斗的目标。一般,癌症由控制细胞分裂、分化和凋亡性细胞死亡的正常过程失调导致,且表征为恶性细胞增殖,所述恶性细胞具有无限生长、局部扩散和全身转移的潜能。正常过程失调包括信号转导通路异常和响应不同于正常细胞中所见的因子。

[0003] 一个大的重要酶家族是蛋白激酶家族。目前,有约 500 种不同的已知蛋白激酶。通过转移 ATP-Mg<sup>2+</sup>复合物的  $\gamma$ -磷酸到氨基酸侧链,蛋白激酶用于催化多种蛋白中所述氨基酸侧链的磷酸化。这些酶控制细胞内大部分的信号传递过程,从而通过蛋白中丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸残基的羟基可逆磷酸化来调节细胞功能、生长、分化和消亡(凋亡)。研究显示蛋白激酶是许多细胞功能的关键调节物,所述细胞功能包括信号转导、转录调节、细胞运动和细胞分裂。一些致癌基因还显示编码蛋白激酶,表明激酶在癌形成中起作用。这些过程通常受到复杂的交错通路高度控制,其中各激酶本身由一种或多种激酶调节。因此,异常或不合适的蛋白激酶活性能引起与这种异常激酶活性相关的疾病状态上升(包括良性和恶性增殖性疾病)以及免疫和神经系统不恰当活化导致的疾病。由于蛋白激酶的生理相关性、多样性和普遍性,其成为生化和医学研究中最重要及最广泛研究的酶家族之一。

[0004] 根据其磷酸化的氨基酸残基,酶的蛋白激酶家族通常分成 2 个主要亚家族:蛋白酪氨酸激酶和蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶。蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶(PSTK)包括环 AMP-和环 GMP-依赖性蛋白激酶、钙和磷脂依赖性蛋白激酶、钙和钙调蛋白依赖性蛋白激酶、酪蛋白激酶、细胞分裂周期蛋白激酶等。这些激酶通常是胞质的或可能是通过锚定蛋白与细胞微粒部分相关。异常蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性参与或疑似参与一些病状如类风湿性关节炎、牛皮癣、败血性休克、骨质流失、许多癌症和其它增殖性疾病。因此,丝氨酸/苏氨酸激酶和其作为一部分的信号转导通路是药物设计的重要靶标。酪氨酸激酶使酪氨酸残基磷酸化。酪氨酸激酶在细胞调节中起同等重要的作用。这些激酶包括用于分子如生长因子和激素的数种受体,包括表皮生长因子受体、胰岛素受体、血小板来源的生长因子受体等。研究表明许多酪氨酸激酶是跨膜蛋白,其受体结构域位于细胞外侧且其激酶结构域位于内侧。还进行了许多研究以鉴定酪氨酸激酶的调节物。

[0005] 受体酪氨酸激酶 (RTK) 催化多种蛋白 (包括自身) 中某些酪氨酸氨基酸残基的磷酸化, 其控制细胞生长、增殖和分化。

[0006] 一些 RTK 下游是数种信号通路, 其中包括 Ras-Raf-MEK-ERK 激酶通路。应理解 Ras GTP 酶蛋白响应生长因子、激素、细胞因子等而活化会刺激 Raf 激酶的磷酸化和活化。这些激酶随后使胞内蛋白激酶 MEK1 和 MEK2 磷酸化及活化, 进而使其它蛋白激酶 ERK1 和 2 磷酸化及活化。此信号通路也称为丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 通路或胞质级联, 介导针对生长信号的细胞反应。其最终功能是连接细胞膜处的受体活性与控制细胞增殖、分化和存活的胞质或核靶标修饰。

[0007] 该通路的组成型活化足以诱导细胞转化。归因于异常受体酪氨酸激酶活化, Ras 突变或 Raf 突变的 MAP 激酶通路的失调活化在人类癌症中常见, 且代表决定异常生长控制的主要因子。人类恶性肿瘤中, Ras 突变常见, 已在约 30% 癌中得到鉴定。GTP 酶蛋白的 Ras 家族 (将鸟苷三磷酸转化成鸟苷二磷酸的蛋白) 从活化的生长因子受体传递信号到下游胞内伴侣。活性膜结合 Ras 召集的靶标中主要是丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶的 Raf 家族。所述 Raf 家族由充当 Ras 下游效应物的三个相关激酶 (A-、B- 和 C-Raf) 构成。Ras- 介导的 Raf 活化进而引发 MEK1 和 MEK2 (MAP/ERK 激酶 1 和 2) 活化, 依次在酪氨酸 -185 和苏氨酸 -183 上磷酸化 ERK1 和 ERK2 (胞外信号调节的激酶 1 和 2)。活化的 ERK1 和 ERK2 转位并积聚于核内, 在该处其能磷酸化多种底物, 包括控制细胞生长和存活的转录因子。考虑到 Ras/Raf/MEK/ERK 通路在人类癌症发展中的重要性, 所述信号级联的激酶组分被归并为潜在重要靶标以调节癌症和其它增殖性疾病中的疾病进展。

[0008] MEK1 和 MEK2 是较大的双特异性激酶 (MEK1-7) 家族成员, 其使多种 MAP 激酶的苏氨酸和酪氨酸残基磷酸化。MEK1 和 MEK2 由不同基因编码, 但在 C 末端催化激酶结构域和大部分 N 末端调控区内都共有高同源性 (80%)。人类癌症中未发现 MEK1 和 MEK2 的致癌形式, 但显示 MEK 的组成型活化导致细胞转化。除了 Raf, MEK 还能由其它致癌基因活化。迄今为止已知的 MEK1 和 MEK2 底物仅为 ERK1 和 ERK2。除了磷酸化酪氨酸和苏氨酸残基二者的独特能力外, 所述不寻常的底物特异性使 MEK1 和 MEK2 位于信号转导级联中的关键点, 这能整合许多胞外信号到 MAPK 通路中。

[0009] 因此, 已认识到 MAPK 激酶通路的蛋白 (如 MEK) 抑制剂应具有抗增殖、促凋亡和抗侵袭剂的价值以用于增殖性或侵袭性疾病的遏制和 / 或治疗。

[0010] 此外, 还已知具有 MEK 抑制活性的化合物有效诱导 ERK1/2 活性的抑制和细胞增殖的抑制 (The Journal of Biological Chemistry, 276 卷, 第 4 期 2686-2692 页, 2001), 预期所述化合物对不需要的细胞增殖所导致疾病如肿瘤发生和 / 或癌症显示效果。

[0011] 已鉴定多种 Ras GTP 酶和 B-Raf 激酶中的突变, 所述突变能导致 MAPK 通路的持续和组成型活化, 最终引起细胞分裂和存活增加。由此, 这些突变与许多不同人类癌症的建立、发展和进展密切相关。Raf 激酶, 特别是 B-Raf 在信号转导中的生物学作用描述于 Davies, H., 等., Nature (2002) 9:1-6; Garnett, M. J. & Marais, R., Cancer Cell (2004) 6:313-319; Zebisch, A. & Troppmair, J., Cell. Mol. Life Sci. (2006) 63:1314-1330; Midgley, R. S. & Kerr, D. J., Crit. Rev. Onc/Hematol. (2002) 44:109-120; Smith, R. A., 等., Curr. Top. Med. Chem. (2006) 6:1071-1089; 和 Downward, J., Nat. Rev. Cancer (2003) 3:11-22。

[0012] 激活 MAPK 通路信号传递的 B-Raf 激酶的天然产生的突变在较大比例的人类黑色素瘤 (Davies (2002) 同上) 和甲状腺癌 (Cohen 等 *J. Nat. Cancer Inst.* (2003) 95(8) 625-627 和 Kimura 等 *Cancer Res.* (2003) 63(7) 1454-1457) 中被发现, 以及在下列疾病中以较低但仍显著的频率出现:

[0013] Barrett 食管腺癌 (Garnett 等., *Cancer Cell* (2004) 6313-319 和 Sommerer 等 *Oncogene* (2004) 23(2) 554-558)、胆道癌 (Zebisch 等., *Cell. Mol. Life Sci.* (2006) 631314-1330)、乳腺癌 (Davies (2002) 同上)、宫颈癌 (Moreno-Bueno 等 *Clin. Cancer Res.* (2006) 12(12) 3865-3866)、肝外胆管癌 (Tannapfel 等 *Gut* (2003) 52(5) 706-712)、中枢神经系统肿瘤, 包括原发性 CNS 肿瘤如成胶质细胞瘤、星形细胞瘤和室管膜瘤 (Knobbe 等 *Acta Neuropathol. (Berl.)* (2004) 108(6) 467-470, Davies (2002) 同上, 和 Garnett 等., *Cancer Cell* (2004) 同上) 以及继发性 CNS 肿瘤 (即起始于中枢神经系统之外的肿瘤转移到中枢神经系统)、包括大肠结肠癌在内的结直肠癌 (Yuen 等 *Cancer Res.* (2002) 62(22) 6451-6455, Davies (2002) 同上 和 Zebisch 等., *Cell. Mol. Life Sci.* (2006))、胃癌 (Lee 等 *Oncogene* (2003) 22(44) 6942-6945)、包括头颈部鳞状细胞癌在内的头颈癌 (Cohen 等 *J. Nat. Cancer Inst.* (2003) 95(8) 625-627 和 Weber 等 *Oncogene* (2003) 22(30) 4757-4759)、血液癌, 包括白血病 (Garnett 等., *Cancer Cell* (2004) 同上), 特别是急性成淋巴细胞性白血病 (Garnett 等., *Cancer Cell* (2004) 同上 和 Gustafsson 等 *Leukemia* (2005) 19(2) 310-312)、急性骨髓性白血病 (AML) (Lee 等 *Leukemia* (2004) 18(1) 170-172 和 Christiansen 等 *Leukemia* (2005) 19(12) 2232-2240)、骨髓增生异常综合征 (Christiansen 等 *Leukemia* (2005) 同上) 和慢性髓细胞性白血病 (Mizuchi 等 *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2005) 326(3) 645-651); 霍奇金淋巴瘤 (Figl 等 *Arch. Dermatol.* (2007) 143(4) 495-499)、非霍奇金淋巴瘤 (Lee 等 *Br. J. Cancer* (2003) 89(10) 1958-1960)、成巨核细胞白血病 (Eychene 等 *Oncogene* (1995) 10(6) 1159-1165) 和多发性骨髓瘤 (Ng 等 *Br. J. Haematol.* (2003) 123(4) 637-645)、肝细胞癌 (Garnett 等., *Cancer Cell* (2004))、肺癌 (Brose 等 *Cancer Res.* (2002) 62(23) 6997-7000, Cohen 等 *J. Nat. Cancer Inst.* (2003) 同上 和 Davies (2002) 同上), 包括小细胞肺癌 (Pardo 等 *EMBO J.* (2006) 25(13) 3078-3088) 和非小细胞肺癌 (Davies (2002) 同上)、卵巢癌 (Russell & McCluggage *J. Pathol.* (2004) 203(2) 617-619 和 Davies (2002) 同上)、子宫内膜癌 (Garnett 等., *Cancer Cell* (2004) 同上 和 Moreno-Bueno 等 *Clin. Cancer Res.* (2006) 同上)、胰腺癌 (Ishimura 等 *Cancer Lett.* (2003) 199(2) 169-173)、垂体腺瘤 (De Martino 等 *J. Endocrinol. Invest.* (2007) 30(1) RC1-3)、前列腺癌 (Cho 等 *Int. J. Cancer* (2006) 119(8) 1858-1862)、肾癌 (Nagy 等 *Int. J. Cancer* (2003) 106(6) 980-981)、肉瘤 (Davies (2002) 同上) 和皮肤癌 (Rodriguez-Viciano 等 *Science* (2006) 311(5765) 1287-1290 和 Davies (2002) 同上)。c-Raf 过表达与 AML 相关 (Zebisch 等., *Cancer Res.* (2006) 66(7) 3401-3408, 和 Zebisch (*Cell. Mol. Life Sci.* (2006)) 并与红白血病相关 (Zebisch 等., *Cell. Mol. Life Sci.* (2006))。

[0014] 通过 Raf 家族激酶在这些癌症中发挥的作用和用一些临床前及治疗剂, 包括一种选择性靶向抑制 B-Raf 激酶活性的试剂的探索性研究 (King A. J. 等., (2006) *Cancer*

Res. 66:11100-11105), 一般认为一种或多种 Raf 家族激酶的抑制剂可用于治疗该癌症或其它 Raf 激酶相关病症。

[0015] B-Raf 突变还参与其它病症, 包括心-面-皮综合征 (Rodriguez-Viciano 等 Science (2006) 311 (5765) 1287-1290) 和多囊性肾病 (Nagao 等 Kidney Int. (2003) 63 (2) 427-437)。

[0016] 表皮生长因子受体 (EGFR) 是表皮生长因子家族成员的细胞表面受体且通过结合特异性配体而被活化, 所述配体包括表皮生长因子。活化后, EGFR 经历从失活单体形式到活性同源二聚体的转换 (Yarden 等 Biochemistry, 26 (5) 1443-1451)。所述同源二聚体刺激胞内蛋白酪氨酸激酶活性。因此, EGFR 的 C 末端结构域中的数种酪氨酸残基被磷酸化 (Downward 等, Nature 311 (5985) 483-485)。此磷酸化引起下游活化并起始数个信号转导级联, 主要是 MAPK、Akt 和 JNK 通路, 最终引起 DNA 合成和细胞增殖 (Oda 等 Mol. Syst. Biol. 1 (1))。

[0017] 表皮生长因子受体 (EGFR) 过表达与一些癌症相关, 包括肺癌、肛门癌和成胶质细胞瘤 (Walker 等, Hum. Pathol. 40 (11) 1517-1527)。EGFR 抑制显示有效抵御癌症, 然而, 许多患者发展出抗性 (Jackman 等 Clin. Cancer. Res. 15 (16) 5267-5273)。

[0018] 西妥昔单抗是单克隆抗体, 特异性结合肿瘤细胞上的 EGFR。西妥昔单抗结合 EGFR 可阻断磷酸化并活化受体相关激酶, 导致细胞生长抑制、诱导凋亡并减少基质金属蛋白酶及血管内皮生长因子生成。

[0019] 西妥昔单抗由美国食品和药物管理局批准用于抵御癌症。其由百时美施贵宝 (Bristol-Myers Squibb) 以商品名 Erbitux® 销售。

[0020] 尽管近期在癌症治疗领域有许多进展, 仍需要更有效和 / 或强化治疗受癌症影响的个体。本发明解决此需求。

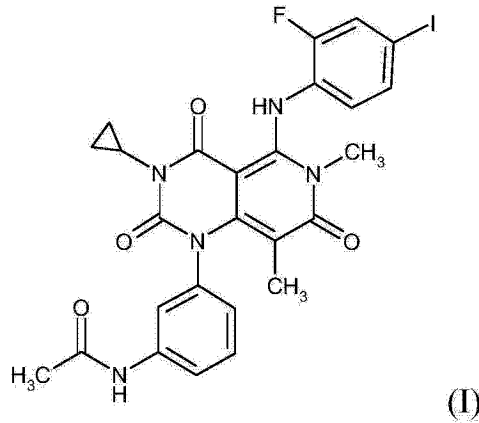
## 发明内容

[0021] 本发明涉及 B-Raf 抑制剂和 / 或 MEK 抑制剂和 EGFR 抑制剂的组合, 所述组合用于治疗癌症。

[0022] 本发明涉及治疗剂组合, 其相比各药剂单独施用治疗有优势且相比 B-RAF 抑制剂和 MEK 抑制剂的组合治疗有优势。特别地, 所述药物组合包括 B-Raf 抑制剂: N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺或其药学上可接受盐, 和 / 或 MEK 抑制剂: N-{3-[3-环丙基-5-(2-氟-4-碘-苯基氨基)6,8-二甲基-2,4,7-三氧代-3,4,6,7-四氢-2H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-1-基]苯基}乙酰胺或其药学上可接受盐或溶剂化物, 和西妥昔单抗 (爱必妥)。

[0023] 本发明的 MEK 抑制剂由结构 (I) 表示:

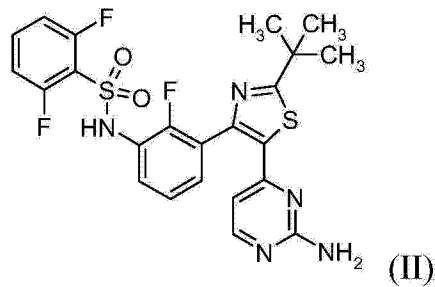
[0024]



[0025] 或其药学上可接受盐或溶剂化物（本文统称为“化合物 A”）。

[0026] 本发明的 B-Raf 抑制剂适宜由结构 (II) 表示：

[0027]



[0028] 或其药学上可接受盐（本文统称为“化合物 B”）。

[0029] 西妥昔单抗（爱必妥）由人 EGFR 的 N 末端部分特异性 225 鼠 EGFR 单克隆抗体的 F<sub>v</sub>（可变；抗原结合）区构成，具有人 IgG1 重链和 κ 轻链恒定区。其根据美国专利 6, 217, 866 所述过程制备。重链和匹配轻链区的序列如下所列：

[0030] > 抗 EGFR 重链

[0031] QVQLKQSGPGLVQPSSLSITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSSGNTDYNTPTFSRL  
SINKDNSKSKVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQGLTIVTSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA  
ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV  
EPKSPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA  
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ  
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYT  
QKLSLSLSPGK (SEQ ID NO :1)

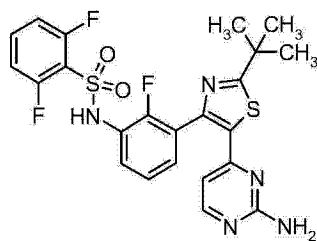
[0032] > 抗 EGFR 轻链

[0033] DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGT  
DFTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRVAAPSVEIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNMFYPREAKV  
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGA (SEQ ID  
NO :2)

[0034] 在本发明的第一方面，提供包含以下的组合：

[0035] (i) 具有结构 (II) 的化合物

[0036]

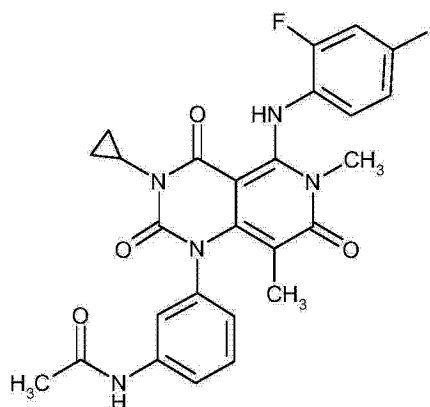


(II)

[0037] 或其药学上可接受盐,和 / 或

[0038] (ii) 具有结构 (I) 的化合物

[0039]



(I)

[0040] 或其药学上可接受盐或溶剂化物;和

[0041] (iii) 西妥昔单抗 (爱必妥)。

[0042] 在本发明的另一方面,提供包含以下的组合:

[0043] N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺甲磺酸盐和 / 或 N-{3-[3-环丙基-5-(2-氟-4-碘-苯基氨基)6,8-二甲基-2,4,7-三氧代-3,4,6,7-四氢-2H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-1-基]苯基}乙酰胺二甲基亚砷和西妥昔单抗 (爱必妥)。

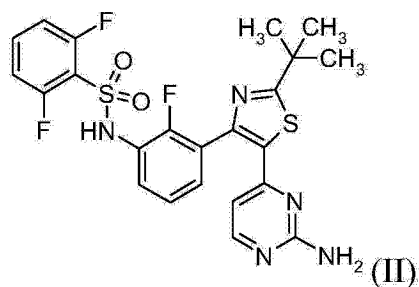
[0044] 在本发明的另一方面,提供包含以下的组合:

[0045] N-{3-[3-环丙基-5-(2-氟-4-碘-苯基氨基)6,8-二甲基-2,4,7-三氧代-3,4,6,7-四氢-2H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-1-基]苯基}乙酰胺二甲基亚砷和西妥昔单抗 (爱必妥)。

[0046] 在本发明的另一方面,提供包含以下的组合:

[0047] (i) 具有结构 (II) 的化合物:

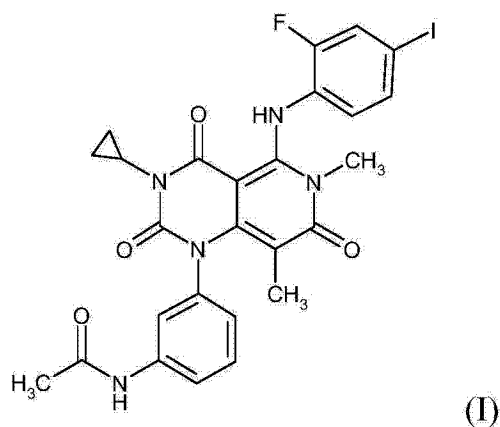
[0048]



[0049] 或其药学上可接受盐 ;和 / 或

[0050] (ii) 具有结构 (I) 的化合物 :

[0051]



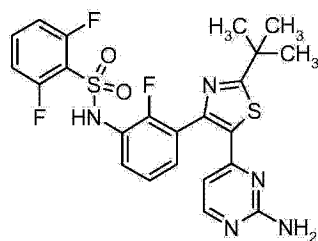
[0052] 或其药学上可接受盐或溶剂化物 ;和

[0053] (iii) 西妥昔单抗 (爱必妥), 用于治疗。

[0054] 在本发明的另一方面, 提供包含以下的组合 :

[0055] (i) 具有结构 (II) 的化合物 :

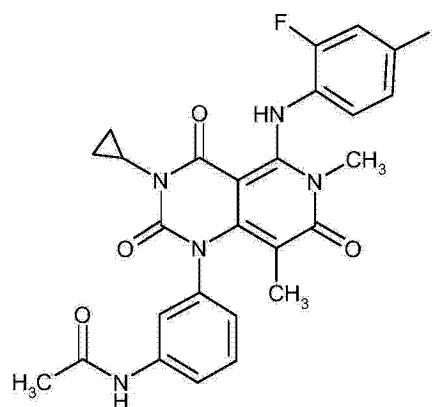
[0056]



[0057] 或其药学上可接受盐 ;和 / 或

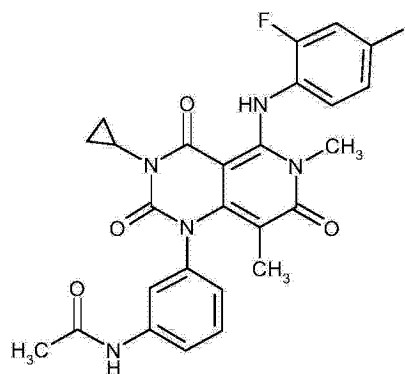
[0058] (ii) 具有结构 (I) 的化合物 :

[0059]



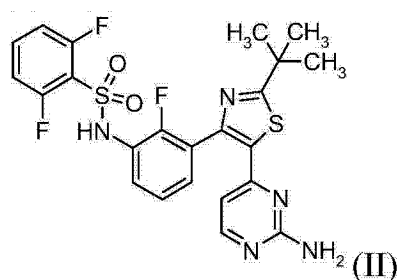
(I)

- [0060] 或其药学上可接受盐或溶剂化物；和  
 [0061] (iii) 西妥昔单抗（爱必妥），用于治疗癌症。  
 [0062] 在本发明的另一方面，提供包含以下的药物组合物：  
 [0063] (i) 式 (I) 的化合物：  
 [0064]



(I)

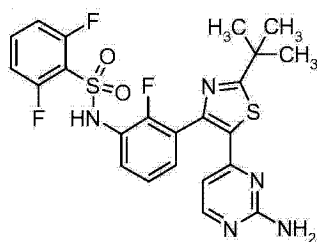
- [0065] 或其药学上可接受盐或溶剂化物；和 / 或  
 [0066] (ii) 式 (II) 的化合物：  
 [0067]



(II)

- [0068] 或其药学上可接受盐；和 / 或 (iii) 西妥昔单抗（爱必妥），以及药学上可接受稀释剂或载体。  
 [0069] 在本发明的另一方面，提供组合在生产联用于癌症治疗的药物中的应用，所述组合包含  
 [0070] (i) 具有结构 (II) 的化合物：

[0071]

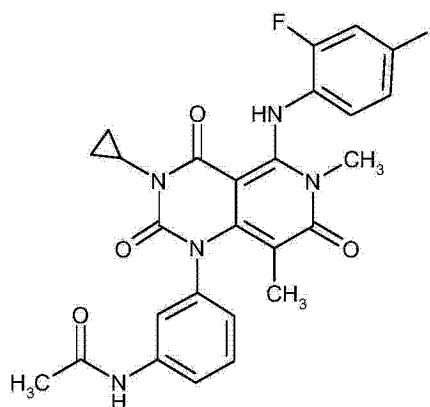


(II)

[0072] 或其药学上可接受盐 ;和 / 或

[0073] (ii) 具有结构 (I) 的化合物 :

[0074]



(I)

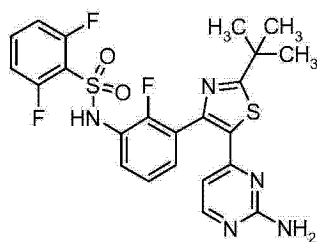
[0075] 或其药学上可接受盐或溶剂化物 ;和

[0076] (iii) 西妥昔单抗 (爱必妥)。

[0077] 在本发明的另一方面,提供治疗哺乳动物癌症的方法,所述方法包括向所述哺乳动物施用治疗有效量的:

[0078] (i) 具有结构 (II) 的化合物 :

[0079]

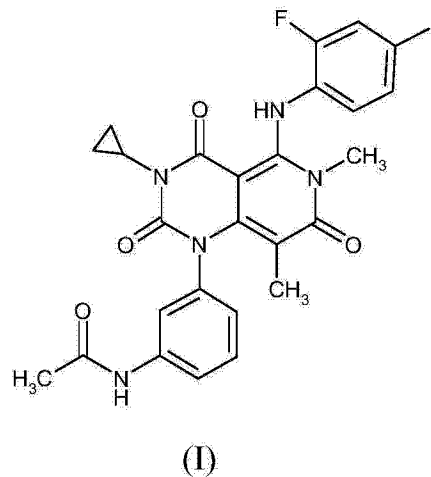


(II)

[0080] 或其药学上可接受盐 ;和 / 或

[0081] (ii) 具有结构 (I) 的化合物 :

[0082]



[0083] 或其药学上可接受盐或溶剂化物；和

[0084] (iii) 西妥昔单抗（爱必妥）。

[0085] 另一方面，提供在需要的人类中治疗癌症的方法，所述方法包括施用治疗有效量的组合：N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺或其药学上可接受盐；和/或N-{3-[3-环丙基-5-(2-氟-4-碘-苯基氨基)6,8-二甲基-2,4,7-三氧代-3,4,6,7-四氢-2H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-1-基]苯基}乙酰胺或其药学上可接受盐或溶剂化物；和西妥昔单抗（爱必妥）。

[0086] 另一方面，提供在需要的人类中治疗癌症的方法，所述方法包括施用治疗有效量的组合：N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺甲磺酸盐；和/或N-{3-[3-环丙基-5-(2-氟-4-碘-苯基氨基)6,8-二甲基-2,4,7-三氧代-3,4,6,7-四氢-2H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-1-基]苯基}乙酰胺二甲基亚砷溶剂化物；和西妥昔单抗（爱必妥）。

[0087] 另一方面，提供在需要的人类中治疗癌症的方法，所述方法包括施用治疗有效量的组合：N-{3-[3-环丙基-5-(2-氟-4-碘-苯基氨基)6,8-二甲基-2,4,7-三氧代-3,4,6,7-四氢-2H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-1-基]苯基}乙酰胺二甲基亚砷溶剂化物；和西妥昔单抗（爱必妥）。

[0088] 在本发明的另一方面，提供包含以下的组合：

[0089] N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺甲磺酸盐和西妥昔单抗（爱必妥）。

[0090] 另一方面，提供在需要的人类中治疗癌症的方法，所述方法包括施用治疗有效量的组合：N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺甲磺酸盐；和西妥昔单抗（爱必妥）。

[0091] 在本发明的另一方面，提供在需要的哺乳动物中治疗癌症的方法，所述方法包括施用治疗有效量的本发明组合，其中所述组合在规定时段内施用并持续一段时间。

#### 附图说明

[0092] 图-1 图 1 描述化合物 A、化合物 B 和其与西妥昔单抗的组合在人肿瘤细胞系中对细胞生长的抑制。

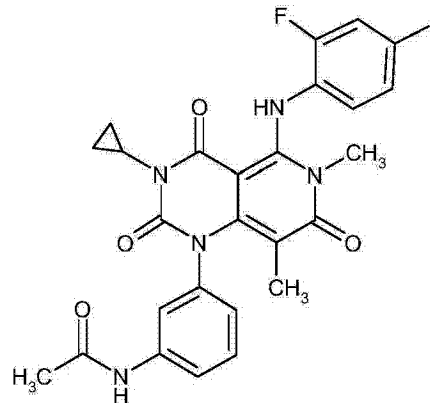
[0093] 图-2 图 2 描述化合物 A、化合物 B 和其与埃罗替尼的组合在人肿瘤细胞系中对细

胞生长的抑制。

### 具体实施方式

[0094] 如本文所用, MEK 抑制剂 N-{3-[3-环丙基-5-(2-氟-4-碘-苯基氨基)-6,8-二甲基-2,4,7-三氧代-3,4,6,7-四氢-2H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-1-基]苯基}乙酰胺或其药学上可接受盐或溶剂化物由具有结构(I)的化合物:

[0095]



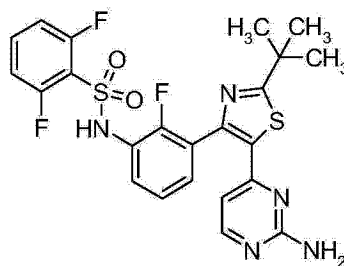
(I)

[0096] 或其药学上可接受盐或溶剂化物表示。为了方便起见,可能的化合物和盐或溶剂化物的组统称为化合物 A,意味着提及化合物 A 则可任选地指代化合物或其药学上可接受盐或溶剂化物中任一种。

[0097] 根据命名惯例,具有结构(I)的化合物还可适当被称为 N-{3-[3-环丙基-5-[(2-氟-4-碘苯基)氨基]-6,8-二甲基-2,4,7-三氧-3,4,6,7-四氢吡啶并[4,3-d]嘧啶-1(2H)-基]苯基}乙酰胺。

[0098] 如本文所用, Braf 抑制剂 N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺或其药学上可接受盐由具有结构(II)的化合物:

[0099]



(II)

[0100] 或其药学上可接受盐表示。为了方便起见,可能的化合物和盐的组统称为化合物 B,意味着提及化合物 B 则可任选地指代化合物或其药学上可接受盐中任一种。

[0101] 西妥昔单抗(爱必妥)由人 EGFR 的 N 末端部分特异性 225 鼠 EGFR 单克隆抗体的 Fv(可变;抗原结合)区构成,具有人 IgG1 重链和 κ 轻链恒定区。其由百时美施贵宝以商品名 Erbitux® 销售。重链和轻链区的序列如下所列:

[0102] > 抗 EGFR 重链 1

[0103] QVQLKQSGPGLVQPSSLSITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSSGNTDYNTPTFTSRL  
SINKDNSKSKVFFKMNLSQNDTAIYYCARALTYDYEFAYWGQGLTVTVAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA  
ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRV  
EPKSPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA  
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ  
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNVSCVMHEALHNHYT  
QKSLSLSPGK (SEQ ID NO 1.) >

[0104] 抗 EGFR 轻链 1

[0105] DILLTQSPVILSVSPGERVFSFCRASQSIGTNIHWYQQRRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGT  
DFTLSINSVESEDIADYYCQQNNWPTTFGAGTKLELKRVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV  
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGA (SEQ ID NO  
2.)

[0106] 埃罗替尼是已知的 EGFR 抑制剂。如本文所用，埃罗替尼适宜以每天 150mg 剂量施用。该量可按需增加或减少，一般增量为 50mg。

[0107] 本文所用的术语“本发明组合”指包含以下的组合：BRAF 抑制剂；和 / 或 MEK 抑制剂；和 EGFR 抑制剂，合适地，化合物 B；和 / 或化合物 A；和西妥昔单抗。在本发明的另一个实施方式中，“本发明组合”指包含以下的组合：BRAF 抑制剂和 EGFR 抑制剂，合适地，化合物 B 和西妥昔单抗。

[0108] 本文所用的术语“肿瘤 (neoplasm)”指细胞或组织异常生长，应理解为包括良性即非癌生长和恶性即癌生长。术语“肿瘤的”指代肿瘤或与肿瘤相关。

[0109] 本文所用的术语“药剂”应理解为指在组织、系统、动物、哺乳动物、人或其它对象中产生所需效果的物质。因此，术语“抗肿瘤剂”应理解为指在组织、系统、动物、哺乳动物、人或其它对象中产生抗肿瘤效果的物质。还应理解“药剂”可以是单一化合物或者 2 种或更多化合物的组合或组合物。

[0110] 本文所用的术语“治疗”和其衍生词指治疗性疗法。涉及具体病症时，治疗指：(1) 改善病症或者病症的一种或多种生物学表现，(2) 干扰 (a) 导致或引起病症的生物级联中一个或多个点或 (b) 病症的一种或多种生物学表现，(3) 减轻一种或多种与病症相关的症状、效果或副作用，或者一种或多种与病症或其治疗相关的症状、效果或副作用，或 (4) 减缓病症进展或者病症的一种或多种生物学表现。

[0111] 本文所用的“防止”应理解成指预防性施用药物以显著减少病症或其生物学表现的可能性或严重度，或者延迟所述病症或其生物学表现的发生。本领域技术人员会理解“防止”不是绝对术语。例如，当对象被认为有患癌的高风险时，如对象有强家族癌症史或对象暴露于大量辐射或对象暴露于致癌物质时，预防性疗法是合适的。

[0112] 本文所用的术语“有效量”指一定量的药物或药剂，其会引起例如研究人员或临床医生所寻求的组织、系统、动物或人的生物或医疗响应。此外，术语“治疗有效量”指与对应的未接受所述量的对象相比，引起治疗改善、治愈、防止或减轻疾病、紊乱或副作用，或者疾病或紊乱进展速度降低的任何量。该术语的范围还包括有效提高正常生理功能的量。

[0113] 施用治疗有效量的本发明组合相对个体组成化合物的优势在于所述组合与单独

施用治疗有效量的组成化合物相比提供一种或多种下列改善的特性：i) 比最高活性的单一药剂具有更高的抗癌效果，ii) 协同或高协同抗癌活性，iii) 提供抗癌活性提高而副作用减少的给药方案，iv) 毒性效果减少，v) 治疗窗口增大，或 vi) 一种或多种组成化合物的生物利用度增加。

[0114] 化合物 A 和 / 或化合物 B 可包含一个或多个手性原子，或另外能作为对映体存在。因此，本发明化合物包括对映体混合物以及经纯化对映体或对映体富集混合物。还应理解所有互变异构体和互变异构体的混合物包括在化合物 A 和化合物 B 的范围内。

[0115] 还应理解化合物 A 和 B 可分别或都作为溶剂化物存在。本文所用的术语“溶剂化物”指由溶质形成的化学计量可变的复合物。本发明中，具有结构 (I) 或 (II) 的化合物或其盐和溶剂。用于本发明目的的所述溶剂不可干扰溶质的生物活性。合适溶剂的示例包括但不限于水、甲醇、二甲亚砜、乙醇和乙酸。在一个实施方式中，所用溶剂是药学上可接受溶剂。合适的药学上可接受溶剂示例包括但不限于水、乙醇和乙酸。在另一个实施方式中，所用溶剂是水。

[0116] 化合物 A 和 B 能以一种以上形式结晶，该特征称为多态性，应理解该多晶型（“多晶型物”）在化合物 A 和 B 的范围内。多态性一般能响应温度或压力变化或者两者而发生，且还能由结晶过程中的变化引起。多晶型物可通过本领域已知的多种物理特征来区分，如 x 射线衍射图谱、溶解度和熔点。

[0117] 国际申请号 PCT/JP2005/011082（国际申请日为 2005 年 6 月 10 日、国际公开号 W0 2005/121142 且国际公开日为 2005 年 12 月 22 日）公开并要求保护化合物 A 以及其药学上可接受盐和溶剂化物，其用作 MEK 活性的抑制剂，特别是在癌症治疗中，所述申请的完整公开内容通过引用纳入本文。化合物 A 是实施例 4-1 的化合物。化合物 A 能如国际申请号 PCT/JP2005/011082 所述制备。化合物 A 能如 2006 年 1 月 19 日公开的美国专利公开号 US 2006/0014768 所述制备，所述文献的完整公开内容通过引用纳入本文。

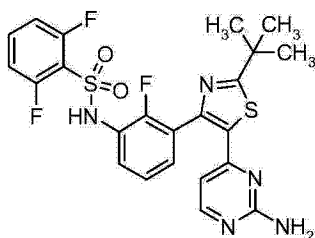
[0118] 化合物 A 适宜采用二甲亚砜溶剂化物形式。化合物 A 适宜采用选自以下的溶剂化物形式：水合物、乙酸、乙醇、硝基甲烷、氯苯、1-pentanci、异丙醇、乙二醇和 3-甲基-1-丁醇。这些溶剂化物能由本领域技术人员根据国际申请号 PCT/JP2005/011082 或美国专利公开号 US 2006/0014768 所述来制备。

[0119] PCT 专利申请 PCT/US09/42682 公开并要求保护化合物 B 以及其药学上可接受盐，其用作 Braf 活性抑制剂，特别是治疗癌症。化合物 B 由所述申请的实施例 58a-58e 呈现。PCT 申请在 2009 年 11 月 12 日作为以公开号 W02009/137391 公开，且通过引用纳入本文。

[0120] 化合物 B 适宜根据以下方法制备：

[0121] 方法 1：化合物 B（第一晶形）-N-[3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基]-2,6-二氟苯磺酰胺

[0122]

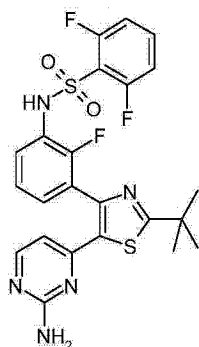


[0123] N-{3-[5-(2-氯-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺 (196mg, 0.364mmol) 和 7M 溶于甲醇的氨 (8ml, 56.0mmol) 的悬液在密封管中加热至 90℃, 持续 24h。所述反应用 DCM 稀释并加入硅胶且浓缩。粗产品在硅胶上进行色谱分离, 用 100% DCM-1:1[DCM:(9:1EtOAc:MeOH)] 洗脱。浓缩澄清部分以产生粗产品。粗产品用反相 HPLC 再纯化 (一定梯度的乙腈:水, 两者都有 0.1% TFA)。合并的澄清部分进行浓缩, 随后在 DCM 与饱和 NaHCO<sub>3</sub> 间分开。分离 DCM 层并用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥。获得标题化合物 N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺 (94mg, 47% 产率)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 10.83 (s, 1H), 7.93 (d, J = 5.2Hz, 1H), 7.55-7.70 (m, 1H), 7.35-7.43 (m, 1H), 7.31 (t, J = 6.3Hz, 1H), 7.14-7.27 (m, 3H), 6.70 (s, 2H), 5.79 (d, J = 5.13Hz, 1H), 1.35 (s, 9H)。MS (ESI): 519.9 [M+H]<sup>+</sup>。

[0124] 方法 2: 化合物 B (另一种晶形)-N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺 19.6mg N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺 (可根据实施例 58a 制备) 与 500L 乙酸乙酯在 2-mL 瓶中室温合并。浆液在 0-40℃ 温度循环 48 小时。所得浆液冷却至室温并真空过滤收集固体。通过 Raman、PXRD、DSC/TGA 分析来分析固体, 显示晶形不同于上面实施例 58a 得到的晶形。

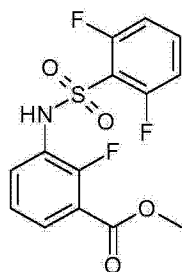
[0125] 方法 3: 化合物 B (另一种晶形, 大批)-N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺

[0126]



[0127] 步骤 A: 甲基 3-[(2,6-二氟苯基)磺酰基]氨基]-2-氟苯甲酸

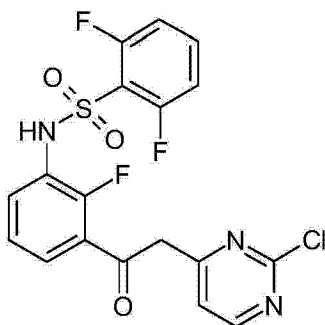
[0128]



[0129] 将甲基 3-氨基-2-氟苯甲酸 (50g, 1 当量) 装入反应器, 然后是二氯甲烷 (250mL, 5 体积)。搅拌内容物并冷却至 ~ 15℃, 加入吡啶 (26.2mL, 1.1 当量)。加入吡啶后, 将反应器内容物调至 ~ 15℃ 且开始经加料漏斗加入 2,6-二氟苯磺酰氯 (39.7mL, 1.0 当量)。添加期间保持温度 < 25℃。添加完成后, 反应器内容物加热至 20-25℃ 并保持过夜。加入乙酸

乙酯 (150mL) 并通过蒸馏移除二氯甲烷。一旦蒸馏完成, 则用乙酸乙酯 (5 体积) 再一次稀释反应混合物并浓缩。反应混合物用乙酸乙酯 (5 体积) 和水 (4 体积) 稀释, 内容物搅拌加热至 50-55°C, 直到所有固体溶解。所述层稳定并分开。有机层用水 (4 体积) 稀释, 内容物加热至 50-55°C, 持续 20-30 分钟。所述层稳定并随之分开, 乙酸乙酯层减压蒸馏至~3 体积。加入乙酸乙酯 (5 体积) 并再次减压蒸馏至~3 体积。然后向反应器加入环己烷 (9 体积), 内容物加热回流 30 分钟, 随后冷却至 0°C。过滤固体并用环己烷 (2x 100mL) 冲洗。所述固体空气干燥过夜获得甲基 3-[(2,6-二氟苯基)磺酰基]氨基}-2-氟苯甲酸 (94.1g, 91%)。

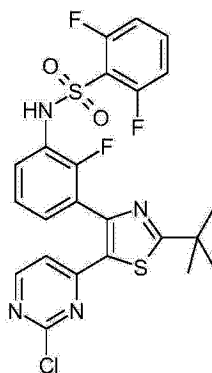
[0130] 步骤 B :N-{3-[(2-氯-4-嘧啶基)乙酰基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺  
[0131]



[0132] 一般根据上面步骤 A 制备的甲基 3-[(2,6-二氟苯基)磺酰基]氨基}-2-氟苯甲酸 (490g, 1 当量) 溶于 THF (2.45L, 5 体积), 搅拌并冷却至 0-3°C。将 1M 双(三甲基硅基)氨基锂的 THF (5.25L, 3.7 当量) 溶液加入反应混合物, 然后加入处于 THF (2.45L, 5 体积) 中的 2-氯-4-甲基嘧啶 (238g, 1.3 当量)。反应随后搅拌 1 小时。用 4.5M HCl (3.92L, 8 体积) 淬灭反应。移出水层 (底层) 并弃去。有机层减压浓缩至~2L。向反应混合物加入 IPAC (乙酸异丙酯) (2.45L), 之后浓缩至~2L。加入 IPAC (0.5L) 和 MTBE (2.45L) 并在 N<sub>2</sub> 下搅拌过夜。过滤固体。所述固体和母液一并加回且搅拌数小时。过滤固体并用 MTBE (~5 体积) 洗涤。所述固体于真空烘箱中 50°C 放置过夜。所述固体在真空烘箱中 30°C 干燥过周末以获得 N-{3-[(2-氯-4-嘧啶基)乙酰基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺 (479g, 72%)。

[0133] 步骤 C :N-{3-[5-(2-氯-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺

[0134]



[0135] 向反应容器装入 N-{3-[(2-氯-4-嘧啶基)乙酰基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺 (30g, 1 当量), 然后是二氯甲烷 (300mL)。反应浆液冷却至~10°C, N-溴代琥珀酰亚

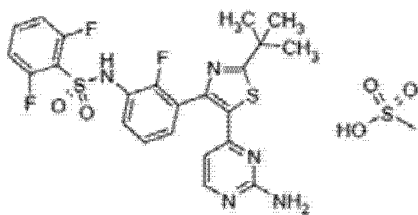
胺 (“NBS”) (12.09g, 1 当量) 以 3 个约等份加入, 每次加入之间搅拌 10-15 分钟。最终加入 NBS 后, 反应混合物加热至 ~ 20°C 并搅拌 45 分钟。然后向反应容器加入水 (5 体积) 并搅拌混合物, 然后层分开。再向二氯甲烷层加入水 (5 体积) 并搅拌混合物, 所述层分开。二氯甲烷层浓缩至 ~ 120mL。向反应混合物加入乙酸乙酯 (7 体积) 并浓缩至 ~ 120mL。随后向反应混合物加入二甲基乙酰胺 (270mL) 并冷却至 ~ 10°C。将 2, 2- 二甲基硫代丙酰胺 (2, 2-Dimethylpropanethioamide) (1.3g, 0.5 当量) 以 2 等份加入反应器内容物, 各加入之间搅拌 ~ 5 分钟。所述反应加热至 20-25°C。45 分钟后, 容器内容物加热至 75°C 且保持 1.75 小时。反应混合物随后冷却至 5°C 并缓慢加入水 (270ml), 保持温度低于 30°C。然后加入乙酸乙酯 (4 体积) 且搅拌混合物, 分层。再次向水层加入乙酸乙酯 (7 体积), 搅拌混合物并分开。合并有机层, 用水 (4 体积) 洗 4 次且于 20-25°C 搅拌过夜。然后有机层真空加热浓缩至 120mL。容器内容物随之加热至 50°C, 缓慢加入庚烷 (120mL)。加入庚烷后, 容器内容物加热回流, 然后冷却至 0°C 并保持 ~ 2 小时。过滤固体并用庚烷 (2x 2 体积) 冲洗。随后, 固体产物在 30°C 真空干燥获得 N-{3-[5-(2- 氯 -4- 嘧啶基)-2-(1, 1- 二甲基乙基)-1, 3- 噻唑 -4- 基]-2- 氟苯基}-2, 6- 二氟苯磺酰胺 (28.8g, 80%)。

[0136] 步骤 D: N-{3-[5-(2- 氨基 -4- 嘧啶基)-2-(1, 1- 二甲基乙基)-1, 3- 噻唑 -4- 基]-2- 氟苯基}-2, 6- 二氟苯磺酰胺

[0137] 在 1gal 压力反应器中, 根据上面步骤 C 制备的 N-{3-[5-(2- 氯 -4- 嘧啶基)-2-(1, 1- 二甲基乙基)-1, 3- 噻唑 -4- 基]-2- 氟苯基}-2, 6- 二氟苯磺酰胺 (120g) 和氢氧化铵 (28-30%, 2.4L, 20 体积) 的混合物在密封压力反应器中加热至 98-103°C, 在该温度搅拌 2 小时。所述反应缓慢冷却至室温 (20°C) 并搅拌过夜。过滤固体, 用最少量母液洗并真空干燥。向 EtOAc (15 体积) / 水 (2 体积) 混合物加入固体且在 60-70°C 加热至完全溶解, 移出水层并弃去。向 EtOAc 层加入水 (1 体积), 用 aq. HCl 中和至 ~ pH 5.4-5.5 且加入水 (1 体积)。在 60-70°C 移出水层并弃去。有机层用水 (1 体积) 在 60-70°C 洗涤, 移出水层并弃去。有机层在 60°C 过滤且浓缩到 3 体积。向混合物装入 EtOAc (6 体积), 加热且在 72°C 搅拌 10 分钟, 然后冷却至 20°C 并搅拌过夜。EtOAc 经真空过滤移除以浓缩反应混合物到 ~ 3 体积。反应混合物在 ~ 65-70°C 维持 ~ 30 分钟。加入溶于庚烷浆液的产物晶体, 所述产物晶体的晶形与上面实施例 58b (且优选通过实施例 58b 的步骤) 所制备的相同。庚烷 (9 体积) 在 65-70°C 缓慢加入。浆液在 65-70°C 搅拌 2-3 小时, 然后缓慢冷却至 0-5°C。过滤产物, 用 EtOAc / 庚烷 (3/1v/v, 4 体积) 洗涤并在 45°C 真空干燥获得 N-{3-[5-(2- 氨基 -4- 嘧啶基)-2-(1, 1- 二甲基乙基)-1, 3- 噻唑 -4- 基]-2- 氟苯基}-2, 6- 二氟苯磺酰胺 (102.3g, 88%)。

[0138] 方法 4: 化合物 B (甲磺酸盐)-N-{3-[5-(2- 氨基 -4- 嘧啶基)-2-(1, 1- 二甲基乙基)-1, 3- 噻唑 -4- 基]-2- 氟苯基}-2, 6- 二氟苯磺酰胺甲磺酸盐

[0139]



[0140] 向N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺(204mg, 0.393mmol)的异丙醇(2mL)溶液加入甲磺酸(0.131mL, 0.393mmol),溶液室温搅拌3小时。形成白色沉淀物,过滤浆液并用乙醚冲洗产生白色结晶固体的标题产物(210mg, 83%产率)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 10.85(s, 1H)7.92-8.05(m, 1H)7.56-7.72(m, 1H)6.91-7.50(m, 7H)5.83-5.98(m, 1H)2.18-2.32(m, 3H)1.36(s, 9H)。MS(ESI):520.0[M+H]<sup>+</sup>。

[0141] 方法5:化合物B(另一种甲磺酸盐实施方式)-N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺甲磺酸盐

[0142] N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺(可根据实施例58a制备)(2.37g, 4.56mmol)与预过滤乙腈(5.25体积, 12.4mL)合并。在20℃加入溶于H<sub>2</sub>O(0.75当量, 1.78mL)的甲磺酸(1.1当量, 5.02mmol, 0.48g)预过滤溶液。所得混合物的温度升至50-60℃,同时维持低搅拌速度。一旦混合物温度达到50-60℃,加入N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺甲磺酸盐的籽晶浆液(1.0% w/w成浆于0.2体积的预过滤乙腈),所述混合物陈化,同时在足以避免固体沉淀的速度下于50-60℃搅拌2小时。然后,所述混合物以0.25℃/min冷却至0-5℃并在0-5℃保持6小时。过滤混合物且湿饼用预过滤乙腈洗2次。第一次洗涤由14.2ml(6体积)预过滤乙腈组成且第二次洗涤由9.5ml(4体积)预过滤乙腈组成。潮湿固体在50℃真空干燥,产生2.39g(85.1%产率)产物。

[0143] 通常,本发明的盐是药学上可接受盐。术语“药学上可接受盐”涵盖的盐指本发明化合物的无毒盐。本发明化合物的盐可包括从本发明化合物取代基上的氮衍生的酸加成盐。代表性盐包括下列盐:乙酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、碳酸氢盐、硫酸氢盐、酒石酸氢盐、硼酸盐、溴化物、依地酸钙盐、右旋樟脑磺酸盐、碳酸盐、氯化物、克拉维酸盐、柠檬酸盐、二盐酸盐、依地酸盐、乙二磺酸盐、依托酸盐、乙磺酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸盐、葡萄糖酸盐、谷氨酸盐、乙醇酸基阿散酸盐、己基间苯二酚盐、哈胺盐、氢溴酸盐、盐酸盐、羧基萘甲酸盐、碘化物、羟乙基磺酸盐、乳酸盐、乳糖酸盐、月桂酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、扁桃酸盐、甲磺酸盐、甲基溴化物、甲基硝酸盐、甲硫酸盐、马来酸单钾、粘酸盐、萘磺酸盐、硝酸盐、N-甲基葡糖胺、草酸盐、双羧基萘酸盐(双羧基萘酸盐)、棕榈酸盐、泛酸盐、磷酸盐/二磷酸盐、聚半乳糖醛酸盐、钾盐、水杨酸盐、钠盐、硬脂酸盐、碱式乙酸盐、琥珀酸盐、丹宁酸盐、酒石酸盐、茶氯酸盐、甲苯磺酸盐、三乙基碘、三甲基铵和戊酸盐。非药学上可接受的其它盐能用于制备本发明化合物且这些形成本发明的另一方面。盐易由本领域技术人员制备。

[0144] 尽管化合物A和B用于治疗时可作为原料化学品施用,可使活性成分作为药物组合物呈现。因此,本发明还提供药物组合物,所述组合物包括化合物A和/或化合物B和/或西妥昔单抗以及一种或多种药学上可接受载体、稀释剂或赋形剂。化合物A、B和西妥昔单抗如上所述。所述载体、稀释剂或赋形剂必须在以下意义上可接受:与其它制剂成分相容,能形成药物制剂,对其受体无害。根据本发明的另一方面,还提供制备药物制剂的工艺,包括混合化合物A和/或化合物B和/或西妥昔单抗与一种或多种药学上可接受载体、稀释剂或赋形剂。所用药物组合物的这些成分可以以单独药物组合存在或在一个药物组合物中一起配制。因此,本发明还提供药物组合物的组合,其中之一包括化合物A和一种或多种

药学上可接受载体、稀释剂或赋形剂；和 / 或药物组合物，所述组合物包含化合物 B 和一种或多种药学上可接受载体、稀释剂或赋形剂；和 / 或药物组合物，所述组合物包含西妥昔单抗和一种或多种药学上可接受载体、稀释剂或赋形剂。

[0145] 化合物 B 和 / 或化合物 A 和西妥昔单抗可用于本文所述任一组合。埃罗替尼可取代本文所述任何组合中的西妥昔单抗。

[0146] 药物组合物可以以每单位剂量含预定量活性成分的单位剂型存在。如本领域技术人员已知，每剂量的活性分量取决于所治疗病症、施用途径和患者年龄、体重及病症。优选的单位剂量组合物含有日剂量或亚剂量活性成分或者其合适部分。此外，该药物组合物可通过制药领域熟知的任何方法制备。

[0147] 化合物 A 和化合物 B 可通过任何合适途径施用。合适途径包括口服、直肠、鼻、局部（包括颊和舌下）、阴道和胃肠外（包括皮下、肌肉内、静脉内、皮内、鞘内和硬膜外）。应理解优选途径可随着例如所述组合的受体病症和待治疗癌症而变化。还应理解施用的各试剂可通过相同或不同途径施用且化合物 A 和化合物 B 可一起复合或在分开的药物组合物中。西妥昔单抗（爱必妥）通过缓慢注入静脉来施用。

[0148] 适合口服施用的药物组合物可作为独立单元存在，如胶囊或片剂；粉末或颗粒；处于水或非水性液体的溶液或悬液；可食用泡沫或气泡体（whips）；或者水包油液体乳液或油包水液体乳液。

[0149] 例如，对于片剂或胶囊形式的口服施用，活性药物组分能与口服、无毒的药学上可接受惰性载体如乙醇、甘油、水等组合。粉末如下制备：将化合物粉碎成适当精细规格并与类似粉碎的药物载体如可食用碳水化合物例如淀粉或甘露醇混合。增味剂、防腐剂、分散剂和着色剂也能存在。

[0150] 胶囊如下制备：如上制备粉末混合物，填充入所形成的明胶套。可在填充操作前向粉末混合物加入助流剂和润滑剂如硅胶、滑石、硬脂酸镁、硬脂酸钙或固体聚乙二醇。还能加入崩解剂或增溶剂如琼脂、碳酸钙或碳酸钠，以在摄入胶囊时提高药物的利用度。

[0151] 此外，需要或必要时，合适的粘合剂、润滑剂、崩解剂和着色剂还能粒化，所述粉末混合物能通过压片机使未完美成型的小块被碎成颗粒。所述颗粒可被润滑纳入混合物。合适的粘合剂包括淀粉、明胶、天然糖如葡萄糖或  $\beta$ -乳糖、玉米甜味剂、天然和合成树脂如阿拉伯胶、黄芪胶或藻酸钠、羧甲基纤维素、聚乙二醇、蜡等。用于这些剂型的润滑剂包括油酸钠、硬脂酸钠、硬脂酸镁、苯甲酸钠、乙酸钠、氯化钠等。崩解剂包括但不限于淀粉、甲基纤维素、琼脂、皂土、黄原胶等。例如，片剂如下配制：制备粉末混合物，成粒或击碎，加入润滑剂和崩解剂并压成片剂。粉末混合物如下制备：将适当粉碎的化合物与上述稀释剂或基底混合，任选与粘合剂如羧甲基纤维素、藻酸盐、明胶或聚乙烯吡咯烷酮，溶液阻滞剂如石蜡，再吸收促进剂如季盐和 / 或吸收剂如皂土、高岭土或磷酸氢钙。所述粉末混合物能如下成粒：用粘合剂如糖浆、淀粉糊、阿卡迪亚粘液（*acacia mucilage*）或者纤维素或聚合材料溶液湿润，使其过筛。作为防止粘住片剂成型模具的替代方式，可通过加入硬脂酸、硬脂酸盐、滑石或矿物油。润滑的混合物随后压成片剂。本发明化合物还能与自由流动的惰性载体组合并直接压成片剂，无需经过造粒或击碎步骤。可提供由虫胶的封闭层组成的清澈或不透明保护层，糖或聚合材料层以及蜡的抛光层。能向这些层加入染料以区分不同单位剂量。

[0152] 口服液体如溶液、糖浆和酞剂能以剂量单位形式制备，从而给定的量包含预定量

的化合物。糖浆可通过将化合物溶于适当调味的水溶液来制备,而酞剂用无毒醇载剂来制备。悬液可通过将化合物分散于无毒载剂来配制。还能加入增溶剂和乳化剂如乙氧基化异硬脂醇和聚氧乙烯山梨糖醇醚、防腐剂、香味添加剂如薄荷油或天然甜味剂或糖精或其它人工甜味剂等。

[0153] 适当时,用于口服施用的组合物能微胶囊化。所述组合物还可制备成延长或持续释放,例如通过在聚合物、蜡等中包被或包埋微粒材料。

[0154] 根据本发明使用的药剂还能以脂质体递送系统形式施用,如小的单层囊泡、大的单层囊泡和多层囊泡。脂质体可从多种磷脂形成,如胆固醇、硬脂胺或磷脂酰胆碱。

[0155] 根据本发明使用的药剂还可用单克隆抗体作为偶联化合物分子的个体载体来递送。所述化合物还可与作为可靶向药物载体的可溶聚合物偶联。该聚合物能包括聚乙烯吡咯烷酮、吡喃共聚物、聚羟丙基甲基丙烯酰胺-苯酚、聚羟乙基天冬酰胺苯酚、或用棕榈酰残基取代的聚氧化乙烯聚赖氨酸。此外,所述化合物可偶联一类用于实现药物控释的生物降解性聚合物,如聚乳酸、聚 $\epsilon$ -己内酯,聚羟基丁酸、聚原酸酯、聚缩醛、聚二氢吡喃、聚氰基丙烯酸酯和交联或两亲性嵌段水凝胶共聚物。

[0156] 适合经皮施用的药物组合物可作为独立贴剂存在,旨在维持与受体表皮长期紧密接触。例如,所述活性成分可通过电离子透入疗法从贴剂中递送,大体上如Pharmaceutical Research, 3(6), 318(1986)所述。

[0157] 适合局部施用的药物组合物可配制成软膏、乳膏、悬液、乳液、粉末、溶液、糊剂、凝胶、喷雾、气溶胶或油。

[0158] 对于治疗眼睛或其它外部组织如口和皮肤,所述组合物优选作为局部软膏或乳膏使用。配制成软膏时,活性成分可与石蜡性或水易混合性软膏基质一起使用。或者,所述活性成分可配制成有水包油乳膏基质或油包水基质的乳膏。

[0159] 适合眼睛局部施用的药物组合物包括滴眼剂,其中活性成分溶解或悬于合适载体,尤其是水溶剂。

[0160] 适合口腔局部施用的药物组合物包括含片、锭剂和漱口剂。

[0161] 适合直肠施用的药物组合物可作为栓剂或灌肠剂存在。

[0162] 适合鼻腔施用的药物组合物(其中载体是固体)包括粒径范围例如20-500微米的粗粉,其施用方式是摄入嗅剂,即经鼻腔通道从紧挨鼻子的粉末容器中快速吸入。载体是液体且作为鼻喷雾剂或滴鼻剂施用的合适组合物包括活性成分的水或油性溶液。

[0163] 适合吸入施用的药物组合物包括可通过不同类型的定量压力气雾剂、喷雾器或吹入器产生的细粒粉剂或喷雾。

[0164] 适合阴道施用的药物组合物可作为阴道栓、卫生棉塞、乳膏、凝胶、糊剂泡沫或喷雾组合物存在。

[0165] 适合胃肠外施用的药物组合物包括水性和非水性无菌注射液,其可包含抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂和溶质,这使所述制剂与预期受体的血液等渗;水性和非水性无菌悬液,其可包括悬浮剂和增稠剂。所述组合物可以单位剂量或多剂量容器形式,例如密封安瓶和小瓶存在,且能在冷冻干燥(冻干)条件下保存,仅需要临用前加入无菌液体载体,例如注射用水。临时注射液和悬液可制备自无菌粉末、颗粒和片剂。

[0166] 应理解除了上面特定提及的成分以外,所述组合物可包括所研究的制剂类型相关

领域中常用的其它药剂,如适合口服的那些药剂可包括增味剂。

[0167] 化合物 B 和化合物 A 可根据本发明,通过在包括 2 种化合物的单一药物组合物中同时施用来联用。或者,所述组合可在单独药物组合物中分开施用,所述组合物各包括化合物 A 和 B 中的一种,采用依序方式,其中例如化合物 A 或化合物 B 首先施用且另一种其次施用。这种依序施用可以在时间上接近(如同时)或较远。此外,所述化合物是否以相同剂型施用不影响,例如一种化合物可局部施用而另一种化合物可口服施用。2 种化合物都适宜口服施用。

[0168] 因此,在一个实施方式中,一个或多个剂量的化合物 A 与一个或多个剂量的化合物 B 和一个或多个剂量的西妥昔单抗(爱必妥)同时或分开施用。

[0169] 在一个实施方式中,一个或多个剂量的化合物 A 与一个或多个剂量的西妥昔单抗(爱必妥)同时或分开施用。

[0170] 在一个实施方式中,一个或多个剂量的化合物 B 与一个或多个剂量的西妥昔单抗(爱必妥)同时或分开施用。

[0171] 在一个实施方式中,多剂量的化合物 A 与多剂量的化合物 B 和多剂量的西妥昔单抗(爱必妥)同时或分开施用。

[0172] 在一个实施方式中,多剂量的化合物 A 与多剂量的西妥昔单抗(爱必妥)同时或分开施用。

[0173] 在一个实施方式中,一个剂量的化合物 A 与多剂量的化合物 B 和一个剂量的西妥昔单抗(爱必妥)同时或分开施用。

[0174] 在一个实施方式中,一个或多个剂量的化合物 A 与一个剂量的西妥昔单抗(爱必妥)同时或分开施用。

[0175] 在上述所有实施方式中,化合物 A 可首先施用,或化合物 B(存在时)可首先施用,或西妥昔单抗(爱必妥)可首先施用。

[0176] 所述组合可作为组合药盒存在。本文所用的术语“组合药盒”或“成套药盒”指用于施用本发明所述化合物 A、化合物 B 和西妥昔单抗(爱必妥)的一种或多种药物组合物。化合物 A 和 B 同时施用时,所述组合药盒可以包含处于单一药物组合物或分开的药物组合物,如片剂中的化合物 A 和化合物 B 以及处于小瓶中的西妥昔单抗(爱必妥)。化合物 A 和 B 不是同时施用时,所述组合药盒会包含处于分开的药物组合物中化合物 A、化合物 B,以及西妥昔单抗(爱必妥),其中化合物 A 和化合物 B 在单一包装中或化合物 A 和化合物 B 在单独包装的分开药物组合物中。

[0177] 一方面,提供包含以下组分的成套药盒:

[0178] 化合物 A 以及药学上可接受稀释剂和载体,化合物 B(存在时)以及药学上可接受稀释剂和载体,和西妥昔单抗(爱必妥)。

[0179] 在本发明的一个实施方式中,所述成套药盒包括以下组分:

[0180] 化合物 A 以及药学上可接受稀释剂或载体;

[0181] 化合物 B(存在时)以及药学上可接受稀释剂或载体;

[0182] 和西妥昔单抗(爱必妥),其中所述组分以泡沫形式提供,适合依序、分开和/或同时施用。

[0183] 在一个实施方式中,所述成套药盒包括:

[0184] 含化合物 A 以及药学上可接受稀释剂或载体的第一容器 ; 和存在时, 含化合物 B 以及药学上可接受稀释剂或载体的第二容器 ; 含西妥昔单抗 ( 爱必妥 ) 的第三容器。

[0185] 所述组合药盒还可具有说明书, 如剂量和施用说明。这种剂量和施用说明可以是提供给医生的类型, 例如药物产品标签, 或是由医生提供的类型, 如给患者的说明。

[0186] 本文所用的术语“负荷剂量”应理解为指化合物 A 或化合物 B 或西妥昔单抗 ( 爱必妥 ) 的单一剂量或短历时方案, 其具有的剂量高于施用于对象的维持剂量, 以例如迅速增加药物的血液浓度水平。本文所用短历时方案适宜为 : 1-14 天 ; 适宜 1-7 天 ; 适宜 1-3 天, 适宜 3 天 ; 适宜 2 天 ; 适宜 1 天。在一些实施方式中, “负荷剂量”能使药物的血液浓度增加到治疗有效水平。在一些实施方式中, “负荷剂量”能结合药物的维持剂量, 使药物的血液浓度增加到治疗有效水平。“负荷剂量”可每天施用 1 次, 或每天大于 1 次 ( 如多至每天 4 次 )。“负荷剂量”适宜每天施用 1 次。所述负荷剂量适宜是维持剂量的 2-100 倍 ; 适宜 2-10 倍 ; 适宜 2-5 倍 ; 适宜 2 倍 ; 适宜 3 倍 ; 适宜 4 倍 ; 适宜 5 倍。所述负荷剂量适宜施用 1-7 天 ; 适宜 1-5 天 ; 适宜 1-3 天 ; 适宜 1 天 ; 适宜 2 天 ; 适宜 3 天, 随后进行维持给药方案。

[0187] 本文所用的术语“维持剂量”应理解为指连续施用 ( 例如至少 2 次 ) 的剂量, 其意在缓慢提升化合物血液浓度水平到治疗有效水平, 或维持该治疗有效水平。所述维持剂量一般每天施用 1 次, 维持剂量的日剂量低于负荷剂量的总日剂量。

[0188] 本发明组合适宜在“规定时段”内施用。

[0189] 本文所用的术语“规定时段”和其衍生词指施用所述组合第一化合物和所述组合最后化合物之间的时间间隔。例如, 若化合物 A 首先施用, 化合物 B 其次且西妥昔单抗 ( 爱必妥 ) 第三, 则化合物 A 与西妥昔单抗 ( 爱必妥 ) 施用之间的时间间隔是规定时段。本发明的 1 种组分施用大于每天一次时, 所述规定时段在特定日首次施用各组分的基础上计算。计算规定时段时, 不考虑特定日中首次之后的所有本发明化合物的施用。

[0190] 合适地, 如果化合物 A, 任选化合物 B 和西妥昔单抗 ( 爱必妥 ), 在“规定时段”内施用且不同时施用, 其在约 24 小时内都施用 - 此情况中, 所述规定时段是约 24 小时 ; 其适宜在约 12 小时内施用 - 此情况中, 所述规定时段是约 12 小时 ; 其适宜在约 11 小时内施用 - 此情况中, 所述规定时段是约 11 小时 ; 其适宜在约 10 小时内施用 - 此情况中, 所述规定时段是约 10 小时 ; 其适宜在约 9 小时内施用 - 此情况中, 所述规定时段是约 9 小时 ; 其适宜在约 8 小时内施用 - 此情况中, 所述规定时段是约 8 小时 ; 其适宜在约 7 小时内施用 - 此情况中, 所述规定时段是约 7 小时 ; 其适宜在约 6 小时内施用 - 此情况中, 所述规定时段是约 6 小时 ; 其适宜在约 5 小时内施用 - 此情况中, 所述规定时段是约 5 小时 ; 其适宜在约 4 小时内施用 - 此情况中, 所述规定时段是约 4 小时 ; 其适宜在约 3 小时内施用 - 此情况中, 所述规定时段是约 3 小时 ; 其适宜在约 2 小时内施用 - 此情况中, 所述规定时段是约 2 小时 ; 其适宜在约 1 小时内施用 - 此情况中, 所述规定时段是约 1 小时, 且被视作同时施用。

[0191] 合适地, 当本发明组合在“规定时段”施用, 所述化合物共施用“一段时间”。

[0192] 本文所用的术语“一段时间”和其衍生词涉及化合物 A 和化合物 B 时, 指化合物 A 和任选的化合物 B 在指定数量的连续天数中施用, 任选之后在一定的连续天数中仅施用组成化合物之一。

[0193] 本文所用的术语“一段时间”和其衍生词涉及西妥昔单抗 ( 爱必妥 ) 时, 指西妥昔单抗 ( 爱必妥 ) 约每周 1 次施用, 持续指定数量的连续周数。

[0194] 关于“规定时段”施用：

[0195] 合适地，化合物 A，任选化合物 B 和西妥昔单抗（爱必妥）在规定时段内施用至少 1 天 - 此情况中，持续时间会是至少 1 天；合适地，在治疗进程中，化合物 A，任选化合物 B 和西妥昔单抗（爱必妥）在规定时段内施用至少连续 3 天 - 此情况中，持续时间会是至少 3 天；合适地，在治疗进程中，化合物 A，任选化合物 B 和西妥昔单抗（爱必妥）在规定时段内施用至少连续 5 天 - 此情况中，持续时间会是至少 5 天；合适地，在治疗进程中，化合物 A，任选化合物 B 和西妥昔单抗（爱必妥）在规定时段内施用至少连续 7 天 - 此情况中，持续时间会是至少 7 天；合适地，在治疗进程中，化合物 A，任选化合物 B 和西妥昔单抗（爱必妥）在规定时段内施用至少连续 14 天 - 此情况中，持续时间会是至少 14 天；合适地，在治疗进程中，化合物 A，任选化合物 B 和西妥昔单抗（爱必妥）在规定时段内施用至少连续 30 天 - 此情况中，持续时间会是至少 30 天。所有上述规定时段中，西妥昔单抗（爱必妥）适宜约每周 1 次施用。

[0196] 合适地，如果所述组分不在“规定时段”中施用，其依序施用。本文所用的术语“依序施用”和其衍生词指化合物 A、任选化合物 B 或西妥昔单抗（爱必妥）的组合中的第一组分连续施用一天或多天，然后所述组合中的第二组分连续施用一天或多天，之后所述组合中的最后组分连续施用一天或多天。本文还考虑依序施用化合物 A，任选化合物 B 或西妥昔单抗（爱必妥）之间使用的药物假期。如本文所用，药物假期是依序施用化合物 A、化合物 B 或西妥昔单抗（爱必妥）中一种或多种之后与施用本发明另一组分之前的时间段。药物假期适宜是选自以下的时间段：1 天、2 天、3 天、4 天、5 天、6 天、7 天、8 天、9 天、10 天、11 天、12 天、13 天和 14 天。

[0197] 关于依序施用：

[0198] 合适地，化合物 B 在所述顺序中第一个施用，然后是任选的药物假期，之后化合物 A 施用，接着是西妥昔单抗（爱必妥）施用。合适地，化合物 B 连续施用 1-30 天，然后是任选的药物假期，之后化合物 A 连续施用 1-30 天，接着是任选的药物假期，随后西妥昔单抗（爱必妥）每周 1 次施用 1-10 周。合适地，化合物 B 连续施用 1-21 天，然后是任选的药物假期，之后化合物 A 连续施用 1-21 天，接着是任选的药物假期，随后西妥昔单抗（爱必妥）每周 1 次施用 1-10 周。合适地，化合物 B 连续施用 1-14 天，然后是任选的药物假期，之后化合物 A 连续施用 1-14 天，接着是任选的药物假期，随后西妥昔单抗（爱必妥）每周 1 次施用 1-10 周。合适地，化合物 B 连续施用 14 天，然后是任选的药物假期，之后化合物 A 连续施用 7 天，接着是任选的药物假期，随后西妥昔单抗（爱必妥）每周 1 次施用 1-10 周。合适地，化合物 B 连续施用 7 天，然后是任选的药物假期，之后化合物 A 连续施用 7 天，接着是任选的药物假期，随后西妥昔单抗（爱必妥）每周 1 次施用 1-10 周。

[0199] 合适地，化合物 A 在所述顺序中第一个施用，然后是任选的药物假期，之后化合物 B 任选施用，接着是西妥昔单抗（爱必妥）施用。合适地，化合物 A 连续施用 1-30 天，然后是任选的药物假期，之后化合物 B 任选连续施用 1-30 天，接着是任选的药物假期，随后西妥昔单抗（爱必妥）每周 1 次施用 1-10 周。合适地，化合物 A 连续施用 1-21 天，然后是任选的药物假期，之后化合物 B 任选连续施用 1-21 天，接着是任选的药物假期，随后西妥昔单抗（爱必妥）每周 1 次施用 1-10 周。合适地，化合物 A 连续施用 1-14 天，然后是任选的药物假期，之后化合物 B 任选连续施用 1-14 天，接着是任选的药物假期，随后西妥昔单抗（爱必妥）每周 1 次施用 1-10 周。

妥)每周1次施用1-10周。合适地,化合物A连续施用14天,然后是任选的药物假期,之后化合物B任选连续施用14天,接着是任选的药物假期,随后西妥昔单抗(爱必妥)每周1次施用1-10周。合适地,化合物A连续施用7天,然后是任选的药物假期,之后化合物B任选连续施用7天,接着是任选的药物假期,随后西妥昔单抗(爱必妥)每周1次施用1-10周。

[0200] 合适地,西妥昔单抗(爱必妥)在所述顺序中第一个施用,然后是任选的药物假期,之后化合物B任选施用,接着是任选的药物假期,随后化合物A施用。合适地,西妥昔单抗(爱必妥)每周1次施用1-10周,然后是任选的药物假期,之后化合物B任选连续施用1-30天,接着是任选的药物假期,随后化合物A连续施用1-30天。合适地,西妥昔单抗(爱必妥)每周1次施用1-10周,然后是任选的药物假期,之后化合物B任选连续施用1-21天,接着是任选的药物假期,随后化合物A连续施用1-21天。合适地,西妥昔单抗(爱必妥)每周1次施用1-10周,然后是任选的药物假期,之后化合物B任选连续施用1-14天,接着是任选的药物假期,随后化合物A连续施用1-14天。合适地,西妥昔单抗(爱必妥)每周1次施用1-10周,然后是任选的药物假期,之后化合物B任选连续施用14天,接着是任选的药物假期,随后化合物A连续施用14天。合适地,西妥昔单抗(爱必妥)每周1次施用1-10周,然后是任选的药物假期,之后化合物B任选连续施用7天,接着是任选的药物假期,随后化合物A连续施用7天。

[0201] 合适地,西妥昔单抗(爱必妥)在所述顺序中第一个施用,然后是任选的药物假期,之后化合物A施用,接着是任选的药物假期,随后化合物B任选施用。合适地,西妥昔单抗(爱必妥)每周1次施用1-10周,然后是任选的药物假期,之后化合物A连续施用1-30天,接着是任选的药物假期,随后化合物B任选连续施用1-30天。合适地,西妥昔单抗(爱必妥)每周1次施用1-10周,然后是任选的药物假期,之后化合物A连续施用1-21天,接着是任选的药物假期,随后化合物B任选连续施用1-21天。合适地,西妥昔单抗(爱必妥)每周1次施用1-10周,然后是任选的药物假期,之后化合物A连续施用1-14天,接着是任选的药物假期,随后化合物B任选连续施用1-14天。合适地,西妥昔单抗(爱必妥)每周1次施用1-10周,然后是任选的药物假期,之后化合物A连续施用14天,接着是任选的药物假期,随后化合物B任选连续施用14天。合适地,西妥昔单抗(爱必妥)每周1次施用1-10周,然后是任选的药物假期,之后化合物A连续施用7天,接着是任选的药物假期,随后化合物B任选连续施用7天。

[0202] 合适地,化合物A在所述顺序中第一个施用,然后是任选的药物假期,之后西妥昔单抗(爱必妥)施用,接着是化合物B任选施用。合适地,化合物A连续施用1-30天,然后是任选的药物假期,之后西妥昔单抗(爱必妥)每周1次施用1-10周,接着是任选的药物假期,随后化合物B任选连续施用1-30天。合适地,化合物A连续施用1-21天,然后是任选的药物假期,之后西妥昔单抗(爱必妥)每周1次施用1-10周,接着是任选的药物假期,随后化合物B任选连续施用1-21天。合适地,化合物A连续施用1-14天,然后是任选的药物假期,之后西妥昔单抗(爱必妥)每周1次施用1-10周,接着是任选的药物假期,随后化合物B任选连续施用1-14天。合适地,化合物A连续施用14天,然后是任选的药物假期,之后西妥昔单抗(爱必妥)每周1次施用1-10周,接着是任选的药物假期,随后化合物B任选连续施用14天。合适地,化合物A连续施用7天,然后是任选的药物假期,之后西妥昔

单抗（爱必妥）每周 1 次施用 1-10 周，接着是任选的药物假期，随后化合物 B 任选连续施用 7 天。

[0203] 合适地，化合物 B 在所述顺序中第一个施用，然后是任选的药物假期，之后西妥昔单抗（爱必妥）施用，接着是化合物 A 施用。合适地，化合物 B 连续施用 1-30 天，然后是任选的药物假期，之后西妥昔单抗（爱必妥）每周 1 次施用 1-10 周，接着是任选的药物假期，随后化合物 A 连续施用 1-30 天。合适地，化合物 B 连续施用 1-21 天，然后是任选的药物假期，之后西妥昔单抗（爱必妥）每周 1 次施用 1-10 周，接着是任选的药物假期，随后化合物 A 连续施用 1-21 天。合适地，化合物 B 连续施用 1-14 天，然后是任选的药物假期，之后西妥昔单抗（爱必妥）每周 1 次施用 1-10 周，接着是任选的药物假期，随后化合物 A 连续施用 1-14 天。合适地，化合物 B 连续施用 14 天，然后是任选的药物假期，之后西妥昔单抗（爱必妥）每周 1 次施用 1-10 周，接着是任选的药物假期，随后化合物 A 连续施用 14 天。合适地，化合物 B 连续施用 7 天，然后是任选的药物假期，之后西妥昔单抗（爱必妥）每周 1 次施用 1-10 周，接着是任选的药物假期，随后化合物 A 连续施用 7 天。

[0204] 上述剂量给药方案中，应理解在本发明的一个实施方式中，化合物 B 与西妥昔单抗（爱必妥）组合且所述操作还应用于化合物 B 与西妥昔单抗（爱必妥）的组合。

[0205] 应理解“规定时段”施用和“依序”施用之后可以是重复给药或可以是交替给药方案，药物假期可先于重复给药或交替给药方案。

[0206] 化合物 A 作为本发明所述组合的部分来施用的量（基于无盐 / 未溶剂化的量）适宜选自约 0.125mg- 约 10mg；所述量适宜选自约 0.25mg- 约 9mg；所述量适宜选自约 0.25mg- 约 8mg；所述量适宜选自约 0.5mg- 约 8mg；所述量适宜选自约 0.5mg- 约 7mg；所述量适宜选自约 1mg- 约 7mg；所述量适宜为约 5mg。因此，化合物 A 作为本发明所述组合的部分来施用的量适宜选自约 0.125mg- 约 10mg。例如，化合物 A 作为本发明所述组合的部分来施用的量可以是 0.125mg, 0.25mg, 0.5mg, 0.75mg, 1mg, 1.5mg, 2mg, 2.5mg, 3mg, 3.5mg, 4mg, 4.5mg, 5mg, 5.5mg, 6mg, 6.5mg, 7mg, 7.5mg, 8mg, 8.5mg, 9mg, 9.5mg, 10mg。

[0207] 选定量的化合物 A 适宜一天施用 1-4 次。选定量的化合物 A 适宜一天施用 2 次。选定量的化合物 A 适宜一天施用 1 次。化合物 A 施用适宜作为负荷剂量开始。所述负荷剂量适宜是维持剂量的 2-100 倍；适宜 2-10 倍；适宜 2-5 倍；适宜 2 倍；适宜 3 倍；适宜 4 倍；适宜 5 倍。所述负荷剂量适宜施用 1-7 天；适宜 1-5 天；适宜 1-3 天；适宜 1 天；适宜 2 天；适宜 3 天，然后进行维持给药方案。

[0208] 化合物 B 作为本发明所述组合的部分来施用的量（基于无盐 / 未溶剂化的量）适宜选自约 10mg- 约 600mg。所述量适宜选自约 30mg- 约 300mg；所述量适宜选自约 30mg- 约 280mg；所述量适宜选自约 40mg- 约 260mg；所述量适宜选自约 60mg- 约 240mg；所述量适宜选自约 80mg- 约 220mg；所述量适宜为约 90mg- 约 210mg；所述量适宜为约 100mg- 约 200mg；所述量适宜为约 110mg- 约 190mg；所述量适宜为约 120mg- 约 180mg；所述量适宜为约 130mg- 约 170mg；所述量适宜为约 140mg- 约 160mg；所述量适宜为约 150mg。因此，化合物 B 作为本发明所述组合的部分来施用的量适宜选自约 10mg- 约 300mg。例如，化合物 B 作为本发明所述组合的部分来施用的量适宜选自 10mg, 20mg, 30mg, 40mg, 50mg, 60mg, 70mg, 80mg, 85mg, 90mg, 95mg, 100mg, 105mg, 110mg, 115mg, 120mg, 125mg, 130mg, 135mg, 140mg, 145mg, 150mg, 155mg, 160mg, 165mg, 170mg, 175mg, 180mg, 185mg, 190mg, 195mg, 200mg, 205mg, 210mg

g, 215mg, 220mg, 225mg, 230mg, 235mg, 240mg, 245mg, 250mg, 255mg, 260mg, 265mg, 270mg, 275mg, 280mg, 285mg, 290mg, 295mg 和 300mg。选定量的化合物 B 适宜一天施用 1-4 次。选定量的化合物 B 适宜一天施用 2 次。选定量的化合物 B 适宜一天施用 1 次。

[0209] 化合物 B 施用适宜作为负荷剂量开始。所述负荷剂量适宜是维持剂量的 2-100 倍；适宜 2-10 倍；适宜 2-5 倍；适宜 2 倍；适宜 3 倍；适宜 4 倍；适宜 5 倍。所述负荷剂量适宜施用 1-7 天；适宜 1-5 天；适宜 1-3 天；适宜 1 天；适宜 2 天；适宜 3 天，然后进行维持给药方案。

[0210] 西妥昔单抗（爱必妥）以 50mg/m<sup>2</sup>/周 - 约 700mg/m<sup>2</sup>/周的剂量施用；适宜 100mg/m<sup>2</sup>/周 - 约 600mg/m<sup>2</sup>/周；适宜 200mg/m<sup>2</sup>/周 - 约 500mg/m<sup>2</sup>/周。

[0211] 在一个实施方式中，西妥昔单抗（爱必妥）每周 1 次施用，初始施用的量是 400mg/m<sup>2</sup>/周 - 约 500mg/m<sup>2</sup>/周，各后续施用量是 200mg/m<sup>2</sup>/周 - 300mg/m<sup>2</sup>/周。

[0212] 本发明的一个实施方式提供以下组合：每天施用 1 次的化合物 A；任选的化合物 B，每天施用 1 或 2 次；和根据上述方案施用的西妥昔单抗，持续至少 8 周时间段，适宜至少 4 周时间段，适宜至少 2 周时间段，适宜至少 10 天时间段，适宜至少 7 天时间段，合适地，所有 3 种化合物在各 7 天时间段的第一天施用且化合物 A 每日施用，任选的化合物 B 每日施用 1 或 2 次。

[0213] 如本文所用，就化合物 A 和化合物 B 特定的所有的量指游离或无盐化合物的量。

#### [0214] 治疗方法

[0215] 本发明组合对疾病有功效，其中抑制 MEK 和 / 或 B-Raf 和 / 或 EGFR 是有益的。

[0216] 本发明还提供用于治疗的本发明组合，特别是治疗其中抑制 MEK 和 / 或 B-Raf 和 / 或 EGFR 是有益的疾病，尤其是癌症。

[0217] 本发明的另一方面提供治疗疾病的方法，其中抑制 MEK 和 / 或 B-Raf 和 / 或 EGFR 是有益的，所述方法包括施用本发明组合。

[0218] 本发明的另一方面提供本发明组合在生产治疗其中抑制 MEK 和 / 或 B-Raf 和 / 或 EGFR 是有益的病症的药物中的应用。

[0219] 通常，所述病症是癌症，从而抑制 MEK 和 / 或 B-Raf 和 / 或 EGFR 产生有益效果。适合本发明组合治疗的癌症示例包括但不限于原发性及转移形式的头颈癌、乳腺癌、肺癌、结肠癌、卵巢癌和前列腺癌。所述癌适宜选自：脑癌（胶质瘤）、成胶质细胞瘤、星形细胞瘤、多形性成胶质细胞瘤、Bannayan-Zonana 综合征、Cowden 病、小脑发育不良性节细胞瘤（Lhermitte-Duclos disease）、乳腺癌、炎性乳腺癌、胚胎性癌肉瘤、尤因肉瘤、横纹肌肉瘤、室管膜瘤、成神经管细胞瘤、结肠癌、头颈癌、肾癌、肺癌、肝癌、黑素瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、肉瘤、骨肉瘤、骨巨细胞瘤、甲状腺癌、淋巴母细胞 T 细胞白血病、慢性髓细胞性白血病、慢性淋巴细胞白血病、毛细胞白血病、急性成淋巴细胞性白血病、急性髓细胞白血病、AML、慢性中性粒细胞白血病、急性淋巴母细胞 T 细胞白血病、浆细胞瘤、免疫母细胞大细胞白血病、套细胞白血病、多发性骨髓瘤成巨核细胞白血病、多发性骨髓瘤、急性巨核细胞白血病、早幼粒细胞白血病、红白血病、恶性淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、淋巴母细胞 T 细胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、成神经细胞瘤、膀胱癌、尿路上皮癌、肺癌、外阴癌、宫颈癌、子宫内膜癌、肾癌、间皮瘤、食管癌、唾液腺癌、肝细胞癌、胃癌、鼻咽癌、颊癌、口腔癌、GIST（胃肠道间质瘤）和睾丸癌。

[0220] 另外,待治疗癌症示例包括 Barrett 腺癌;胆道癌;乳腺癌;宫颈癌;胆管癌;中枢神经系统肿瘤,包括原发性 CNS 肿瘤如成胶质细胞瘤、星形细胞瘤(如多形性成胶质细胞瘤)和室管膜瘤以及继发性 CNS 肿瘤(即起源于中枢神经系统之外的肿瘤转移到中枢神经系统);结直肠癌,包括大肠结肠癌;胃癌;头颈癌,包括头颈部鳞状细胞癌;血液癌,包括白血病和淋巴瘤如急性成淋巴细胞性白血病、急性骨髓性白血病(AML)、骨髓增生异常综合征、慢性髓细胞性白血病、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、成巨核细胞白血病、多发性骨髓瘤和紅白血病;肝细胞癌;肺癌,包括小细胞肺癌和非小细胞肺癌;卵巢癌;子宫内膜癌;胰腺癌;垂体腺瘤;前列腺癌;肾癌;肉瘤;皮肤癌,包括黑素瘤;和甲状腺癌。

[0221] 合适地,本发明涉及治疗或减轻选自以下的癌症的严重度的方法:脑癌(胶质瘤)、成胶质细胞瘤、星形细胞瘤、多形性成胶质细胞瘤、Bannayan-Zonana 综合征、Cowden 病、小脑发育不良性节细胞瘤、乳腺癌、结肠癌、头颈癌、肾癌、肺癌、肝癌、黑素瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、肉瘤和甲状腺癌。

[0222] 合适地,本发明涉及治疗或减轻选自以下的癌症的严重度的方法:卵巢癌、乳腺癌、胰腺癌和前列腺癌。

[0223] 合适地,本发明涉及在包括人在内的哺乳动物中治疗或减轻癌症前期综合征严重度的方法,其中所述癌症前期综合征选自:宫颈上皮内瘤样病变、意义未明的单克隆丙种球蛋白病(MGUS)、骨髓增生异常综合征、再生障碍性贫血、宫颈病灶、皮肤痣(黑素瘤前期)、前列腺上皮内(管内)瘤(PIN)、导管原位癌(DCIS)、结肠息肉和重度肝炎或肝硬化。

[0224] 合适地,本发明涉及治疗或减轻癌症严重度的方法,所述癌症是 Raf 和 KRAS 的野生型或突变体且 PI3K/Pten 的野生型或突变体。这包括就 Raf、KRAS 和 PI3K/Pten 而言都是野生型,就 Raf、KRAS 和 PI3K/Pten 而言都是突变体,Raf 突变体且 KRAS 和 PI3K/Pten 野生型、Raf 和 KRAS 野生型且 PI3K/Pten 突变体的患者。

[0225] 已知化合物 B 对含 BRAF 突变的癌症显示抗肿瘤效果,化合物 B 和西妥昔单抗的组合;化合物 A(MEKi)、化合物 B 和西妥昔单抗的组合适于治疗含 B-Raf 突变的癌症。化合物 B 对没有 BRAF 突变的癌症治疗不太有效,化合物 A 和西妥昔单抗的组合适于治疗有和没有 BRAF 突变的癌症。

[0226] 预期化合物 A 和西妥昔单抗的组合以及化合物 B 和西妥昔单抗的组合显示低于化合物 A、化合物 B 和西妥昔单抗的组的毒性。化合物 A 和西妥昔单抗的组合以及化合物 B 和西妥昔单抗的组合是另外合适的本发明组合。

[0227] 术语“野生型”在本领域应理解为指在无基因修饰的本地种群中出现的多肽或多核苷酸序列。“突变体”在本领域还理解为分别包括与野生型多肽或多核苷酸中存在的相应氨基酸或核酸相比,有至少一种氨基酸或核酸修饰的多肽或多核苷酸序列。术语突变体包括单核苷酸多态性(SNP),其中某一核酸链序列相较最常见(野生型)核酸链存在单碱基对区别。

[0228] 就 Raf 而言为野生型或突变体,就 PI3K/Pten 而言为野生型或突变体,以及作为野生型或突变体的癌症由已知方法鉴定。

[0229] 例如,野生型或突变 Raf 或 PI3K/Pten 肿瘤细胞能通过 DNA 扩增和测序技术、DNA 和 RNA 检测技术(分别包括但不限于分别地,Northern 和 Southern 印迹)、和/或多种生物芯片和阵列技术来鉴定。野生型和突变多肽能通过多种技术检测,所述技术包括但不限

于免疫诊断技术如 ELISA、Western 印迹或免疫细胞化学。合适地,可使用焦磷酸解激活的聚合反应技术 (PAP) 和 / 或 PCR 法。Liu, Q 等 ;Human Mutation 23:426-436(2004)。

[0230] 本发明组合可单独使用或与一种或多种其它治疗剂联用。因此,本发明的另一方面提供含本发明组合与一种或多种其它治疗剂的另一组合,含所述组合的组合物和药物以及所述另一组合、组合物和药物在治疗中的应用,特别是治疗易受 MEK 和 / 或激酶 B 和 / 或 EGFR 抑制影响的疾病。

[0231] 在一个实施方式中,本发明组合可与癌症治疗的其它治疗方法一起使用。特别地,在抗肿瘤疗法中,考虑除了上述以外,用其它化疗、激素、抗体剂以及手术和 / 或放射治疗的联合治疗。因此,本发明所述联合疗法包括施用化合物 B ;和 / 或化合物 A 和西妥昔单抗以及任选使用其它治疗剂,包括其它抗肿瘤剂。这种药剂组合可一起或分开施用,分开施用可同时或以在时间上接近和较远的任何顺序依序出现。在一个实施方式中,所述药物组合包括化合物 A、化合物 B 和西妥昔单抗,以及任选至少一种额外抗肿瘤剂。在一个实施方式中,所述药物组合包括化合物 A 和西妥昔单抗,以及任选至少一种额外抗肿瘤剂。

[0232] 在一个实施方式中,所述另一抗癌疗法是手术和 / 或放射疗法。

[0233] 在一个实施方式中,所述另一抗癌疗法是至少一种额外抗肿瘤剂。

[0234] 对所治疗易感性肿瘤具有活性的抗肿瘤剂可联用。有用的典型抗肿瘤剂包括但不限于抗微管剂如双萜类和长春花生物碱 ;铂配位络合物 ;烷化剂如氮芥、氧氮磷杂环己烧 (oxazaphosphorine)、烷基磺酸盐、亚硝基脲和三氮烯 ;抗生素如蒽环、放线菌素和博来霉素 ;拓扑异构酶 II 抑制剂如表鬼臼毒素 ;抗代谢物如嘌呤和嘧啶类似物及抗叶酸化合物 ;拓扑异构酶 I 抑制剂如喜树碱 ;激素和激素类似物 ;信号转导通路抑制剂 ;非受体酪氨酸血管生成抑制剂 ;免疫治疗剂 ;促凋亡剂 ;和细胞周期信号抑制剂。

[0235] 抗微管和抗有丝分裂剂 :抗微管和抗有丝分裂剂是时相特异性试剂,其针对细胞周期的 M 或有丝分裂期中的肿瘤细胞微管有活性。抗微管剂的示例包括但不限于双萜类和长春花生物碱。

[0236] 源自天然来源的双萜类是时相特异性抗癌剂,其在细胞周期的 G<sub>2</sub>/M 期运作。双萜类被认为通过结合微管蛋白使微管的  $\beta$ -微管蛋白亚基稳定。然后,蛋白分解看来受抑制,有丝分裂被阻滞且随后细胞死亡。双萜类示例包括但不限于紫杉醇及其类似物紫杉萜。

[0237] 紫杉醇即有 (2R,3S)-N-苯甲酰-3-苯基异丝氨酸的 5 $\beta$ ,20-环氧-1,2 $\alpha$ ,4,7 $\beta$ ,10 $\beta$ ,13 $\alpha$ -六羟基紫杉烷-11-烯-9-酮-4,10-二乙酸酯-2-苯甲酸酯-13-酯 ;是分离自太平洋紫杉短叶红豆杉 (*Taxus brevifolia*) 的天然双萜产物,可作为注射液 TAXOL® 市售可得。它是萜烯的紫杉烷家族的成员。美国已批准紫杉醇临床用于治疗顽固性卵巢癌 (Markman 等., *Yale Journal of Biology and Medicine*, 64:583, 1991 ; McGuire 等., *Ann. Intern. Med.*, 111:273, 1989) 和治疗乳腺癌 (Holmes 等., *J. Nat. Cancer Inst.*, 83:1797, 1991.)。其是治疗皮肤肿瘤 (Einzig 等., *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, 20:46) 和头颈癌 (Forastire 等., *Sem. Oncol.*, 20:56, 1990) 的潜在候选物。所述化合物还显示治疗多囊性肾病 (Woo 等., *Nature*, 368:750, 1994)、肺癌和疟疾的潜力。用紫杉醇治疗患者导致骨髓抑制 (multiple cell lineages (多细胞系), Ignoff, R. J. 等, *Cancer Chemotherapy Pocket Guide*, 1998), 所述抑制涉及在临界浓度 (50nM) 以上施用的持续时间 (Kearns, C. M. 等., *Seminars in Oncology*, 3(6) 16-23 页, 1995)。

[0238] 紫杉萜即有 5 $\beta$ , 20- 环氧 -1, 2 $\alpha$ , 4, 7 $\beta$ , 10 $\beta$ , 13 $\alpha$ - 六羟基紫杉烷 -11- 烯 -9- 酮 -4- 乙酸酯 -2- 苯甲酸酯三水合物的 (2R, 3S)-N- 羧基 -3- 苯基异丝氨酸, N- 叔丁基酯, 13- 酯; 可作为注射液 TAXOTERE® 市售可得。紫杉萜显示用于治疗乳腺癌。紫杉萜是紫杉醇 q. v. 的半合成衍生物, 用提取自欧洲紫杉针叶的天然前体 10- 脱乙酰 - 巴卡亭 III 制备。

[0239] 长春花生物碱是获自长春花植物的时相特异性抗肿瘤剂。长春花生物碱通过特异性结合微管蛋白而在细胞周期的 M 期 ( 有丝分裂 ) 起作用。因此, 结合的微管蛋白分子不能聚合成微管。有丝分裂被认为滞留于中期, 随后是细胞死亡。长春花生物碱示例包括但不限于长春花碱、长春新碱和长春瑞滨。

[0240] 长春花碱即硫酸长春碱可作为注射液 VELBAN® 市售可得。尽管其可能适合多种实体瘤的二线治疗, 其主要适用于治疗睾丸癌和多种淋巴瘤, 包括霍奇金病; 淋巴细胞性淋巴瘤和组织细胞性淋巴瘤。骨髓抑制是长春花碱的剂量限制副作用。

[0241] 长春新碱即 22- 氧代长春碱硫酸盐, 可作为注射液 ONCOVIN® 市售可得。长春新碱适用于治疗急性白血病, 还发现用于霍奇金和非霍奇金恶性淋巴瘤的治疗方案。秃头症和神经系统影响是长春新碱最常见的副作用, 骨髓抑制和胃肠粘膜炎症影响出现的程度较小。

[0242] 长春瑞滨即 3', 4' 二去氢 -4' - 去氧 -C' - 去甲长春碱 [R-(R\*, R\*)-2, 3- 二羟基丁二酸盐 (1:2) ( 盐 )], 可作为酒石酸长春瑞滨注射液 ( NAVELBINE® ) 市售可得, 其是半合成长春花生物碱。长春瑞滨适合作为单一药剂或与其它化疗剂如顺铂联合治疗多种实体瘤, 尤其是非小细胞肺癌、晚期乳腺癌和激素顽固性前列腺癌。骨髓抑制是长春瑞滨最常见的剂量限制副作用。

[0243] 铂配位络合物: 铂配位络合物是非时相特异性抗癌剂, 其与 DNA 相互作用。铂络合物进入肿瘤细胞, 经历水合作用并与 DNA 形成链内和链间交联, 引起对肿瘤的不利生物作用。铂配位络合物示例包括但不限于奥沙利铂、顺铂和卡铂。

[0244] 顺铂即顺式二氨二氯铂可作为注射液 PLATINOL® 市售可得。顺铂主要适于治疗转移性睾丸癌和卵巢癌以及晚期膀胱癌。

[0245] 卡铂即二氨 [1, 1- 环丁烷 - 二羧酸 (2-)-0, 0'] 铂可作为注射液 PARAPLATIN® 市售可得。卡铂主要适用于晚期卵巢癌的一线 and 二线治疗。

[0246] 烷化剂: 烷化剂是非时相特异性抗癌剂和强亲电试剂。通常, 烷化剂通过经 DNA 分子的亲核部分如磷酸、氨基、巯基、羟基、羧基和咪唑基团烷化与 DNA 形成共价键。该烷化破坏核酸功能, 导致细胞死亡。烷化剂示例包括但不限于氮芥如环磷酰胺、美法仑和苯丁酸氮芥; 烷基磺酸盐如白消安; 亚硝基脲如卡莫司汀; 和三氮烯如达卡巴嗪。

[0247] 环磷酰胺即 2-[ 双 (2- 氯乙基) 氨基 ] 四氢 -2H-1, 3, 2- 氧氮磷杂环己烧 -2- 氧化物一水合物可作为注射液或片剂 CYTOXAN® 市售可得。环磷酰胺适合作为单一药剂或与其它化疗剂联合治疗恶性淋巴瘤、多发性骨髓瘤和白血病。

[0248] 美法仑即 4-[ 双 (2- 氯乙基) 氨基 ]-L- 苯丙氨酸可作为注射液或片剂 ALKERAN® 市售可得。美法仑适用于多发性骨髓瘤和不可切除的卵巢上皮癌的姑息疗法。骨髓抑制是美法仑最常见的剂量限制副作用。

[0249] 苯丁酸氮芥即 4-[ 双 (2- 氯乙基) 氨基 ] 苯丁酸可作为 LEUKERAN® 片剂市售

可得。苯丁酸氮芥适用于慢性淋巴性白血病、恶性淋巴瘤如淋巴肉瘤、巨滤泡性淋巴瘤和霍奇金病的姑息疗法。

[0250] 白消安即 1,4-丁二醇二甲烷磺酸盐可作为MYLERAN®片剂市售可得。白消安适用于慢性髓细胞性白血病的姑息疗法。

[0251] 卡莫司汀即 1,3-[双(2-氯乙基)-1-亚硝基脲]可作为单一冻干材料瓶BiCNU®市售可得。卡莫司汀适用于作为单一药剂或与其它药剂联合以姑息治疗脑肿瘤、多发性骨髓瘤、霍奇金病和非霍奇金淋巴瘤。

[0252] 达卡巴嗪即 5-(3,3-二甲基-1-三氮烯)咪唑-4-羧酰胺可作为单一材料瓶DTIC-Dome®市售可得。达卡巴嗪适用于治疗转移性恶性黑素瘤和与其它药剂联用于霍奇金病的二线治疗。

[0253] 抗生素抗肿瘤药:抗生素抗肿瘤药是结合或插入DNA的非时相特异性试剂。通常,该作用产生稳定的DNA复合物或链断裂,其破坏核酸的普通功能,导致细胞死亡。抗生素抗肿瘤药的示例包括但不限于放线菌素如更生霉素,蒽环霉素如道诺霉素和阿霉素;以及博来霉素。

[0254] 更生霉素也称为更生霉素D,可作为COSMEGEN®注射形式市售可得。更生霉素适用于治疗胚胎性癌肉瘤和横纹肌肉瘤。

[0255] 道诺霉素即(8S-顺式)-8-乙酰基-10-[(3-氨基-2,3,6-三去氧- $\alpha$ -L-来苏己吡喃基)氧基]-7,8,9,10-四氢-6,8,11-三羟基-1-甲氧基-5,12-并四苯二酮盐酸盐,可作为DAUNOXOME®脂质体注射形式或作为CERUBIDINE®注射形式市售可得。道诺霉素适用于急性非淋巴细胞性白血病和晚期HIV相关卡波西氏肉瘤治疗中的诱导缓解。

[0256] 阿霉素即(8S,10S)-10-[(3-氨基-2,3,6-三去氧- $\alpha$ -L-来苏己吡喃基)氧基]-8-羟基乙酰基,7,8,9,10-四氢-6,8,11-三羟基-1-甲氧基-5,12-并四苯二酮盐酸盐,可作为注射形式RUBEX®或ADRIAMYCIN RDF®市售可得。阿霉素主要适用于治疗急性淋巴细胞性白血病和急性粒细胞白血病,也是治疗一些实体瘤和淋巴瘤的有用组分。

[0257] 博来霉素即分离自轮枝链霉菌(*Streptomyces verticillus*)菌株的细胞毒性糖肽抗生素混合物,可作为BLENOXANE®市售可得。博来霉素适用于作为单一药剂或与其它药剂联合以姑息治疗鳞状细胞癌、淋巴瘤和睾丸癌。

[0258] 拓扑异构酶 II 抑制剂:拓扑异构酶 II 抑制剂包括但不限于表鬼臼毒素。

[0259] 表鬼臼毒素是获自曼德拉草植物的时相特异性抗肿瘤剂。表鬼臼毒素通常影响细胞周期中S和G<sub>2</sub>期的细胞,这是通过与拓扑异构酶 II 和DNA形成三元复合物,导致DNA链断裂。所述链断裂积聚,随后细胞死亡。表鬼臼毒素的示例包括但不限于依托泊苷和替尼泊苷。

[0260] 依托泊苷即4'-脱甲基-表鬼臼毒素9[4,6-O-(R)-亚乙基- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷],可作为注射液或胶囊VePESID®市售可得且通常称为VP-16。依托泊苷适用于作为单一药剂或与其它化疗剂联合治疗睾丸癌和非小细胞肺癌。

[0261] 替尼泊苷即4'-脱甲基-表鬼臼毒素9[4,6-O-(R)-噻吩亚甲基- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷],可作为注射液VUMON®市售可得且通常称为VM-26。替尼泊苷适用于作为单一药剂或与其它化疗剂联合治疗儿童的急性白血病。

[0262] 抗代谢抗肿瘤剂:抗代谢抗肿瘤剂是在细胞周期S期(DNA合成)作用的时相特

异性抗肿瘤剂,这是通过抑制 DNA 合成或者抑制嘌呤或嘧啶碱基合成并从而限制 DNA 合成。因此,S 期不推进且随后细胞死亡。抗代谢抗肿瘤剂的示例包括但不限于氟尿嘧啶、氨甲蝶呤、阿糖胞苷、巯基嘌呤、硫鸟嘌呤和吉西他滨。

[0263] 5-氟尿嘧啶即 5-氟-2,4-(1H,3H)嘧啶二酮作为氟尿嘧啶市售可得。施用 5-氟尿嘧啶导致胸苷酸合成抑制且还结合至 RNA 和 DNA 中。所述结果通常是细胞死亡。5-氟尿嘧啶适用于作为单一药剂或与其它化疗剂联合治疗乳腺癌、结肠癌、直肠癌、胃癌和胰腺癌。其它氟嘧啶类似物包括 5-氟脱氧尿苷(氟尿苷)和 5-氟脱氧尿苷单磷酸盐。

[0264] 阿糖胞苷即 4-氨基-1-β-D-阿拉伯呋喃糖基-2(1H)-嘧啶酮,作为 CYTOSAR-U®市售可得且通常称为 Ara-C。阿糖胞苷被认为通过抑制 DNA 链延长而在 S 期显示细胞周期特异性,这是通过阿糖胞苷末端掺入增长的 DNA 链。阿糖胞苷适用于作为单一药剂或与其它化疗剂联合治疗急性白血病。其它胞苷类似物包括 5-氮胞苷和 2',2'-二氟脱氧胞嘧啶核苷(吉西他滨)。

[0265] 巯基嘌呤即 1,7-二氢-6H-嘌呤-6-硫酮一水合物,作为 PURINETHOL®市售可得。巯基嘌呤通过尚未明确的机制抑制 DNA 合成而在 S 期显示细胞周期特异性。巯基嘌呤适用于作为单一药剂或与其它化疗剂联合治疗急性白血病。有用的巯基嘌呤类似物是硫唑嘌呤。

[0266] 硫鸟嘌呤即 2-氨基-1,7-二氢-6H-嘌呤-6-硫酮,作为 TABLOID®市售可得。硫鸟嘌呤通过尚未明确的机制抑制 DNA 合成而在 S 期显示细胞周期特异性。硫鸟嘌呤适用于作为单一药剂或与其它化疗剂联合治疗急性白血病。其它嘌呤类似物包括喷司他丁、赤型-羟基壬基腺嘌呤、磷酸氟达拉滨和克拉屈滨。

[0267] 吉西他滨即 2'-脱氧-2',2'-二氟胞嘧啶单盐酸盐(β-异构体),作为 GEMZAR®市售可得。吉西他滨通过在 G1/S 边界阻断细胞进展而在 S 期显示细胞周期特异性。吉西他滨适用于与顺铂联合治疗局部晚期非小细胞肺癌且单独治疗局部晚期胰腺癌。

[0268] 氨甲蝶呤即 N-[4[[[(2,4-二氨基-6-蝶啶基)甲基]甲氨基]苯甲酰]-L-谷氨酸,作为甲氨蝶呤钠市售可得。氨甲蝶呤通过抑制嘌呤核苷酸和胸苷酸合成所需的二氢叶酸还原酶,抑制 DNA 合成、修复和/或复制而在 S 期显示细胞周期特异性。氨甲蝶呤适用于作为单一药剂或与其它化疗剂联合治疗绒毛膜癌、脑膜白血病、非霍奇金淋巴瘤以及乳腺癌、头部癌、颈部癌、卵巢癌和膀胱癌。

[0269] 拓扑异构酶 I 抑制剂:喜树碱包括喜树碱和喜树碱衍生物,其可得或作为拓扑异构酶 I 抑制剂正在开发中。喜树碱细胞毒性被认为与其拓扑异构酶 I 抑制活性相关。喜树碱的示例包括但不限于伊立替康、托泊替康和不同光学形式的下述 7-(4-甲基哌嗪-亚甲基)-10,11-亚乙二氧基-20-喜树碱。

[0270] 盐酸伊立替康即 (4S)-4,11-二乙基-4-羟基-9-[(4-派啶基派啶)羰氧基]-1H-吡喃并[3',4',6,7]吡啶啉[1,2-b]喹啉-3,14(4H,12H)-二酮盐酸盐,作为注射液 CAMPTOSAR®市售可得。伊立替康是喜树碱衍生物,与其活性代谢物 SN-38 一起结合拓扑异构酶 I-DNA 复合物。细胞毒性被认为是由拓扑异构酶 I:DNA:伊立替康或 SN-38 三元复合物与复制酶相互作用导致的不可修复的双链断裂的结果。伊立替康适用于治疗结肠或直肠的转移性癌症。

[0271] 盐酸托泊替康即 (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]氮茛并[1,2-b]-喹啉-3-14(4H,12H)-二酮单盐酸盐,作为注射液 HYCAMTIN®市售可得。托泊替康是喜树碱衍生物,其结合拓扑异构酶 I-DNA 复合物并防止由拓扑异构酶 I 响应 DNA 分子扭应变导致的单链断裂再连接。托泊替康适用于转移性卵巢癌和非小细胞肺癌的二线治疗。

[0272] 激素和激素类似物:激素和激素类似物是治疗癌症的有用化合物,其中激素与肿瘤生长和/或不生长之间存在关联。用于癌症治疗的激素和激素类似物示例包括但不限于肾上腺皮质甾类如强的松和脱氢皮质醇,其用于治疗儿童的恶性淋巴瘤和急性白血病;氨鲁米特和其它芳香酶抑制剂如阿那曲唑、来曲唑、伏氯唑和依西美坦,用于治疗肾上腺皮质癌和含雌激素受体的激素依赖性乳腺癌;孕酮如醋酸甲地孕酮,用于治疗激素依赖性乳腺癌和子宫内膜癌;雌激素,雄激素和抗雄激素如氟他胺、尼鲁米特、比卡鲁胺、醋酸环丙氯地孕酮以及 5 $\alpha$ -还原酶如非那雄胺和度他雄胺,用于治疗前列腺癌和良性前列腺肥大;抗雌激素如它莫西芬、托瑞米芬、雷洛昔芬、屈洛昔芬、碘昔芬以及选择性雌激素受体调节剂 (SERMS) 如美国专利号 5,681,835、5,877,219 和 6,207,716 所述的那些,用于治疗激素依赖性乳腺癌和其它易感性癌症;促性腺激素释放激素 (GnRH) 和其类似物,其刺激黄体化激素 (LH) 和/或促滤泡激素 (FSH) 释放以治疗前列腺癌,例如 LHRH 激动剂和拮抗剂如醋酸戈舍瑞林和亮脯利特。

[0273] 信号转导通路抑制剂:信号转导通路抑制剂是阻断或抑制引起胞内变化的化学过程的抑制剂。如本文所用,此变化是细胞增殖或分化。用于本发明的信号转导抑制剂包括以下的抑制剂:受体酪氨酸激酶、非受体酪氨酸激酶、SH2/SH3 结构域阻断剂、丝氨酸/苏氨酸激酶、磷脂酰肌醇 3-激酶、肌醇信号传递和 Ras 癌基因。

[0274] 数种蛋白酪氨酸激酶催化细胞生长调节所涉及的多种蛋白中特定酪氨酸残基的磷酸化。这些蛋白酪氨酸激酶能大致分成受体或非受体激酶。

[0275] 受体酪氨酸激酶是跨膜蛋白,具有胞外配体结合域、跨膜结构域和酪氨酸激酶结构域。受体酪氨酸激酶参与细胞生长调节且一般称为生长因子受体。许多这些激酶的不恰当或不受控活化即异常的激酶生长因子受体活性,例如过表达或突变,显示导致细胞生长不受控。因此,所述激酶的异常活性与恶性组织生长相关。因而,该激酶的抑制剂能提供癌症治疗方法。生长因子受体包括例如表皮生长因子受体 (EGFr)、血小板来源的生长因子受体 (PDGFr)、erbB2、erbB4、ret、血管内皮生长因子受体 (VEGFr)、有免疫球蛋白样和表皮生长因子同源结构域的酪氨酸激酶 (TIE-2)、胰岛素生长因子 - I (IGFI) 受体、巨噬细胞集落刺激因子 (cfms)、BTK、ckit、cmet、成纤维细胞生长因子 (FGF) 受体、Trk 受体 (TrkA、TrkB 和 TrkC)、肝配蛋白 (ephrin, eph) 受体和 RET 原癌基因。数种生长受体抑制剂正在开发中且包括配体拮抗剂、抗体、酪氨酸激酶抑制剂和反义寡核苷酸。生长因子受体和抑制生长因子受体功能的试剂描述于例如 Kath, John C., Exp. Opin. Ther. Patents (2000) 10 (6):803-818; Shawver 等 DDT 第 2 卷第 2 期, 1997 年 2 月;和 Lofts, F. J. 等,“作为靶标的生长因子受体 (Growth factor receptors as targets)”,《癌症化疗的新分子靶标》(New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy), Workman, Paul 和 Kerr, David 编,伦敦的 CRC 出版社 (CRC press) 1994。

[0276] 非生长因子受体激酶的酪氨酸激酶称为非受体酪氨酸激酶。用于本发明的非受

体酪氨酸激酶是抗癌药的靶点或潜在靶点,包括 cSrc、Lck、Fyn、Yes、Jak、cAbl、FAK(粘着斑激酶)、布鲁顿氏酪氨酸激酶和 Bcr-Abl。所述非受体激酶和抑制非受体酪氨酸激酶功能的试剂描述于 Sinh, S. 和 Corey, S. J., (1999) *Journal of Hematotherapy and Stem Cell Research* 8(5):465-80; 和 Bolen, J. B., Brugge, J. S., (1997) *Annual review of Immunology*. 15:371-404。

[0277] SH2/SH3 结构域阻断剂是破坏多种酶或衔接蛋白中 SH2 或 SH3 结构域结合的试剂,包括 PI3-K p85 亚基、Src 家族激酶、衔接分子 (Shc、Crk、Nck、Grb2) 和 Ras-GAP。作为抗癌药靶标的 SH2/SH3 结构域参见 Smithgall, T. E. (1995), *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 34(3)125-32。

[0278] 丝氨酸 / 苏氨酸激酶抑制剂包括 MAP 激酶级联阻断剂,其包括 Raf 激酶 (rafk)、丝裂原或胞外调节激酶 (MEK) 和胞外调节激酶 (ERK) 的阻断剂;蛋白激酶 C 家族成员阻断剂包括 PKC 阻断剂 ( $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\epsilon$ 、 $\mu$ 、 $\lambda$ 、 $\iota$ 、 $\zeta$ )。I $\kappa$ B 激酶家族 (IKKa、IKKb)、PKB 家族激酶、akt 激酶家族成员和 TGF $\beta$  受体激酶。该丝氨酸 / 苏氨酸激酶和其抑制剂描述于 Yamamoto, T., Taya, S., Kaibuchi, K., (1999), *Journal of Biochemistry*. 126(5)799-803; Brodt, P., Samani, A., 和 Navab, R. (2000), *Biochemical Pharmacology*, 60. 1101-1107; Massague, J., Weis-Garcia, F. (1996) *Cancer Surveys*. 27:41-64; Philip, P. A., 和 Harris, A. L. (1995), *Cancer Treatment and Research*. 78:3-27, Lackey, K. 等 *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, (10), 2000, 223-226; 美国专利号 6, 268, 391; 和 Martinez-Iacaci, L. 等, *Int. J. Cancer* (2000), 88(1), 44-52。

[0279] 磷脂酰肌醇 3-激酶家族成员的抑制剂也用于本发明,包括 PI3-激酶、ATM、DNA-PK 和 Ku 的阻断剂。这些激酶参见 Abraham, R. T. (1996), *Current Opinion in Immunology*. 8(3)412-8; Canman, C. E., Lim, D. S. (1998), *Oncogene* 17(25)3301-3308; Jackson, S. P. (1997), *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 29(7):935-8; 和 Zhong, H. 等, *Cancer res*, (2000)60(6), 1541-1545。

[0280] 本发明还使用肌醇信号传递抑制剂,如磷脂酶 C 阻断剂和肌醇类似物。这种信号抑制剂描述于 Powis, G. 和 Kozikowski A., (1994)《癌症化疗的新分子靶标》, Paul Workman 和 David Kerr 编, 伦敦的 CRC 出版社 1994。

[0281] 另一组信号转导通路抑制剂是 Ras 癌基因抑制剂。该抑制剂包括法呢酰基转移酶、香叶酰基香叶酰基转移酶和 CAAX 蛋白酶以及反义寡核苷酸、核酶和免疫治疗。这种抑制剂显示在含野生型突变 ras 的细胞中阻断 ras 活化,从而起抗增殖剂的作用。Ras 癌基因抑制参见 Scharovsky, O. G., Rozados, V. R., Gervasoni, S. I. Matar, P. (2000), *Journal of Biomedical Science*. 7(4)292-8; Ashby, M. N. (1998), *Current Opinion in Lipidology*. 9(2)99-102; 和 *BioChim. Biophys. Acta*, (1989)1423(3):19-30。

[0282] 如上所述,受体激酶配体结合的抗体拮抗剂还可担任信号转导抑制剂。该组信号转导通路抑制剂包括使用受体酪氨酸激酶胞外配体结合域的人源化抗体。例如, Imclone C225EGFR 特异性抗体(参见 Green, M. C. 等,《实体瘤的单克隆抗体疗法》(*Monoclonal Antibody Therapy for Solid Tumors*), *Cancer Treat. Rev.*, (2000), 26(4), 269-286); **Herceptin**® erbB2 抗体(参见《乳腺癌中的酪氨酸激酶信号传递:erbB 家族受体酪氨酸激酶》(*Tyrosine Kinase Signalling in Breast cancer:erbB Family Receptor Tyrosine*

Kinases), Breast cancer Res., 2000, 2(3), 176-183); 和 2CB VEGFR2 特异性抗体 (参见 Brekken, R. A. 等, 《单克隆抗 VEGF 抗体选择性抑制 VEGFR2 活性可阻断小鼠的肿瘤生长》(Selective Inhibition of VEGFR2 Activity by a monoclonal Anti-VEGF antibody blocks tumor growth in mice), Cancer Res. (2000) 60, 5117-5124)。

[0283] 抗血管生成剂: 还可使用抗血管生成剂, 包括非受体 MEK 血管生成抑制剂。抗血管生成剂如抑制血管内皮生长因子作用的那些 (例如抗血管内皮细胞生长因子抗体贝伐单抗 [Avastin™]) 和通过其它机制作用的化合物 (例如利诺胺、整合素  $\alpha v \beta 3$  功能的抑制剂、内皮抑素和血管抑素);

[0284] 免疫治疗剂: 用于免疫治疗方案的试剂还可与本发明组合联用。免疫治疗方法包括例如增加患者肿瘤细胞免疫原性的离体或体内方法, 如用细胞因子例如白介素 2、白介素 4 或粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子转染, 减少 T 细胞无能的方法, 用经转染免疫细胞如细胞因子转染树突细胞的方法, 用细胞因子转染肿瘤细胞系的方法和用抗独特型抗体的方法。

[0285] 促凋亡剂: 用于促凋亡方案的试剂 (如 bcl-2 反义寡核苷酸) 还可用于本发明组合。

[0286] 细胞周期信号抑制剂: 细胞周期信号抑制剂抑制参与细胞周期控制的分子。称为细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDK) 的蛋白激酶家族和它们与被称细胞周期蛋白的蛋白家族的相互作用在真核细胞周期期间控制进展。不同细胞周期蛋白 / CDK 复合物的配位活化和失活对细胞周期期间的正常进展是必须的。数种细胞周期信号抑制剂正在开发。例如, 包括 CDK2、CDK4 和 CDK6 在内的细胞周期蛋白依赖性激酶和其抑制剂的示例描述于例如 Rosania 等, Exp. Opin. Ther. Patents (2000) 10 (2): 215-230。

[0287] 在一个实施方式中, 本发明组合还包括至少一种选自以下的抗肿瘤剂: 抗微管剂、铂配位络合物、烷化剂、抗生素、拓扑异构酶 II 抑制剂、抗代谢物、拓扑异构酶 I 抑制剂、激素和激素类似物、信号转导通路抑制剂、非受体酪氨酸 MEK 血管生成抑制剂、免疫治疗剂、促凋亡剂和细胞周期信号抑制剂。

[0288] 在一个实施方式中, 本发明组合进一步包括至少一种抗肿瘤剂, 所述试剂是选自双萜类和长春花生物碱的抗微管剂。

[0289] 在另一个实施方式中, 所述至少一种抗肿瘤剂是双萜类。

[0290] 在另一个实施方式中, 所述至少一种抗肿瘤剂是长春花生物碱。

[0291] 在一个实施方式中, 本发明组合还包括至少一种抗肿瘤剂, 所述试剂是铂配位络合物。

[0292] 在另一个实施方式中, 所述至少一种抗肿瘤剂是紫杉醇、卡铂或长春瑞滨。

[0293] 在另一个实施方式中, 所述至少一种抗肿瘤剂是卡铂。

[0294] 在另一个实施方式中, 所述至少一种抗肿瘤剂是长春瑞滨。

[0295] 在另一个实施方式中, 所述至少一种抗肿瘤剂是紫杉醇。

[0296] 在一个实施方式中, 本发明组合进一步包括至少一种抗肿瘤剂, 所述试剂是信号转导通路抑制剂。

[0297] 在另一个实施方式中, 所述信号转导通路抑制剂是生长因子受体激酶 VEGFR2、TIE2、PDGFR、BTK、erbB2、EGFr、IGFR-1、TrkA、TrkB、TrkC 或 c-fms 的抑制剂。

[0298] 在另一个实施方式中,所述信号转导通路抑制剂是丝氨酸 / 苏氨酸激酶 rafk、akt 或 PKC-zeta 的抑制剂。

[0299] 在另一个实施方式中,所述信号转导通路抑制剂是选自 src 激酶家族的非受体酪氨酸激酶的抑制剂。

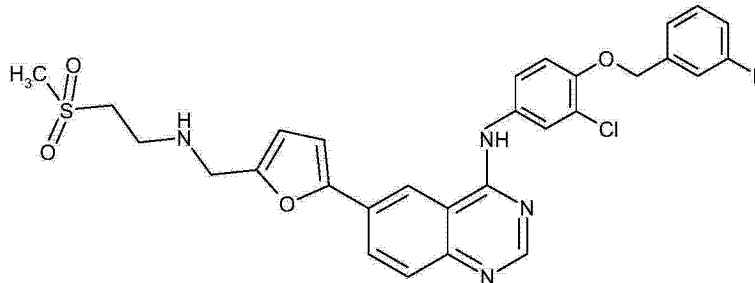
[0300] 在另一个实施方式中,所述信号转导通路抑制剂是 c-src 的抑制剂。

[0301] 在另一个实施方式中,所述信号转导通路抑制剂是选自法呢基转移酶和香叶基香叶基转移酶抑制剂的 Ras 癌基因抑制剂。

[0302] 在另一个实施方式中,所述信号转导通路抑制剂是选自由 PI3K 组成的组的丝氨酸 / 苏氨酸激酶的抑制剂。

[0303] 在另一个实施方式中,所述信号转导通路抑制剂是双重 EGFr/erbB2 抑制剂,例如 N-[3-氯-4-[(3-氟苯基)氧基]苯基]-6-[5-([2-(甲磺酰基)乙基]氨基)甲基)-2-咪唑基]-4-喹啉胺(结构如下):

[0304]



[0305] 在一个实施方式中,本发明组合进一步包括至少一种抗肿瘤剂,所述试剂是细胞周期信号抑制剂。

[0306] 在另一个实施方式中,细胞周期信号抑制剂是 CDK2、CDK4 或 CDK6 的抑制剂。

[0307] 在一个实施方式中,本发明方法和应用中的哺乳动物是人。

[0308] 如所述,向人施用治疗有效量的本发明组合(化合物 B 和 / 或化合物 A 和西妥昔单抗(爱必妥))。通常,治疗有效量的所施用的本发明试剂取决于许多因素,包括例如对象年龄和体重、需要治疗的精确病症、病症的严重度、制剂性质和施用途径。最后,所述治疗有效量由主治医生自行决定。

[0309] 根据已知方法测试本发明组合的功效、优势和协同性质。合适地,根据下列组合细胞增殖试验测试本发明组合的功效、优势和协同性质。细胞以 500 细胞 / 孔接种于 384 孔板的培养基中并在 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 孵育过夜,所述培养基适合各细胞类型,补充有 10% FBS 和 1% 青霉素 / 链霉素。细胞在 384 孔板上从左到右以网格方式,用化合物 A 稀释物(20 倍稀释,包括无化合物,根据化合物从 1-20 μM 开始 2 倍稀释)处理;还在 384 孔板上从上到下用化合物 B 处理(20 倍稀释,包括无化合物,根据化合物从 1-20 μM 开始 2 倍稀释);还用西妥昔单抗(爱必妥)处理并如上再孵育 72 小时。一些情况中,以交错方式加入化合物且孵育时间能延长多至 7 天。细胞生长用 CellTiter-Glo® 试剂根据厂商操作手册测量,在发光模式设置为 0.5- 秒读数的 PerkinElmer EnVision™ 检测仪上读取信号。如下所述分析数据。

[0310] 结果表示为 t = 0 值的百分比并对化合物浓度作图。将 t = 0 值标准化为 100% 且表示加入化合物时存在的细胞数。确定各化合物和 / 或化合物组合的细胞反应,其通

过用于 Microsoft Excel 软件的 IDBS XLfit plug-in 用 4- 或 6- 参数曲线拟合相对于浓度的细胞活力,测定 50% 细胞生长抑制 ( $gIC_{50}$ ) 所需的浓度实现。通过减去不含细胞的孔中的值来完成背景校正。对于各药物组合,根据已知方法计算联合指数 (CI)、最高单药物的量 (Excess Over Highest Single Agent, EOHS) 和超过 Bliss 的量 (Excess Over Bliss, EOBliss), 如 Chou 和 Talalay (1984) *Advances in Enzyme Regulation*, 22, 37-55; 和 Berenbaum, MC (1981) *Adv. Cancer Research*, 35, 269-335 所述。

[0311] 以下证明化合物 A (MEKi- 曲美替尼)、化合物 B (BRAFi- 达拉菲尼) 和其与 EGFR 抑制剂 (用西妥昔单抗或埃罗替尼) 的组合在肿瘤细胞系中引起的体外细胞生长抑制。

[0312] 方法:

[0313] 细胞系和生长条件

[0314] 人结肠肿瘤细胞系 Colo-205、HT-29、RKO、SW1417、LS411N 和人黑素瘤细胞系 A375 来自 ATCC。所有细胞系在含 10% 胎牛血清 (FBS) 的 RPMI 1640 培养基中培养。

[0315] 细胞生长抑制试验和组合数据分析

[0316] 所有细胞在接种前最少培养 72 小时。细胞在 96 孔组织培养板 (NUNC136102) 的 RPMI 1640 培养基中测定,所述培养基含 10% FBS,就所有细胞而言每孔 500 个细胞。接种后约 24 小时,使细胞暴露于化合物 B 或化合物 B 与 EGFR 抑制剂 (本文所用的西妥昔单抗或埃罗替尼) 的组合的 10 次 3 倍连续稀释物,恒定摩尔比是 10:1,添加或不添加 3nM 化合物 A。细胞在化合物存在下孵育 7 天。根据厂商操作手册,通过加入 Cell Titer Glo® (普洛麦格 (Promega)) 测定 ATP 水平。简要地,向各板加入 Cell Titer Glo®, 孵育 30 分钟,然后在 SpectraMax L 读板机上读取发光信号,积分时间为 0.5 秒。

[0317] 用化合物或化合物组合处理 7 天后评估细胞生长抑制,与载剂 (DMSO) 处理的细胞比较所述信号。相对于载剂 (DMSO) 处理的对照孔来计算细胞生长。

[0318] 结果:

[0319] MEK 抑制剂化合物 A、BRAFi 抑制剂化合物 B 和其与 EGFR 抑制剂 (本文所用的西妥昔单抗或埃罗替尼) 的组合对细胞生长抑制的效果在 5 个 BRAFi V600E 突变人 CRC 肿瘤细胞系 Colo-205、HT-29、RKO、SW1417、LS411N 和 A375 黑素瘤细胞系中测定。如图 1 (用西妥昔单抗) 和图 2 (用埃罗替尼) 所示,Colo205、HT-29、LS411N 和 A375 细胞系对单独的化合物 A 和化合物 B 都敏感。SW1417 和 RKO 对单独的化合物 A 和化合物 B 有抗性。单独的西妥昔单抗或埃罗替尼在所有 6 个细胞系中都失活。在 3/5 的 BRAFi- 突变 CRC 细胞系、HT-29、LS411N 和 SW1417 中,加入西妥昔单抗或埃罗替尼增加敏感性和 / 或提高单独化合物 B 或化合物 A 与化合物 B 组合引起的细胞生长抑制。细胞生长抑制敏感性顺序是:

[0320] EGFRi+ 化合物 A+ 化合物 B > 化合物 A+ 化合物 B > 单独化合物 B ; EGFRi+ 化合物 A+ 化合物 B > EGFRi+ 化合物 B。相反地,另 2 个 CRC 细胞系 (Colo-205 和 RKO) 和黑素瘤细胞系 (A375) 显示与所有 3 种 EGFRi 没有联合益处或益处很少。

[0321] 在上述试验中测试本发明组合以确定治疗癌症的有利治疗效用。

[0322] 下列实施例仅意在说明而不用于以任何方式限制发明范围。

[0323] 实施例 1- 药盒组成

[0324] 如下表 I 和 II 所示,蔗糖、微晶纤维素以及本发明组合的化合物 A 和化合物 B 以所示比例与 10% 明胶溶液单独混合并粒化。筛选湿颗粒,干燥,与淀粉、滑石和硬脂酸混合,

然后筛分并压成片剂。如表 III 所述,所述药盒也包括少量西妥昔单抗。或者,如表 IV 所述,所述药盒也包括少量埃罗替尼。

[0325] 表 I

[0326]

<u>成分</u>	<u>量</u>
N-{3-[3-环丙基-5-(2-氟-4-碘-苯基氨基)6,8-二甲基-2,4,7-三氧代-3,4,6,7-四氢-2H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-1-基]苯基}乙酰胺二甲亚砷 (化合物 A 的二甲亚砷溶剂化物)	2mg
微晶纤维素	300mg
蔗糖	4mg
淀粉	2mg
滑石	1mg
硬脂酸	0.5mg

[0327] 表 II

[0328]

成分

[0329]

N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺甲磺酸盐, (化合物 B 的甲磺酸盐)	200mg
微晶纤维素	200mg
蔗糖	10mg
淀粉	40mg
滑石	20mg
硬脂酸	5mg

[0330] 表 III

[0331] 西妥昔单抗以 2mg/mL 浓度在 200mg (100mL) 一次性瓶中提供。

[0332] 表 IV

[0333] 埃罗替尼以约 150mg 剂量的片剂形式提供。

[0334] 尽管本发明的优选实施方式如上所述,应理解本发明不限于本文所公开的精确说明且保留下列权利要求书范围内所有修正的权利。

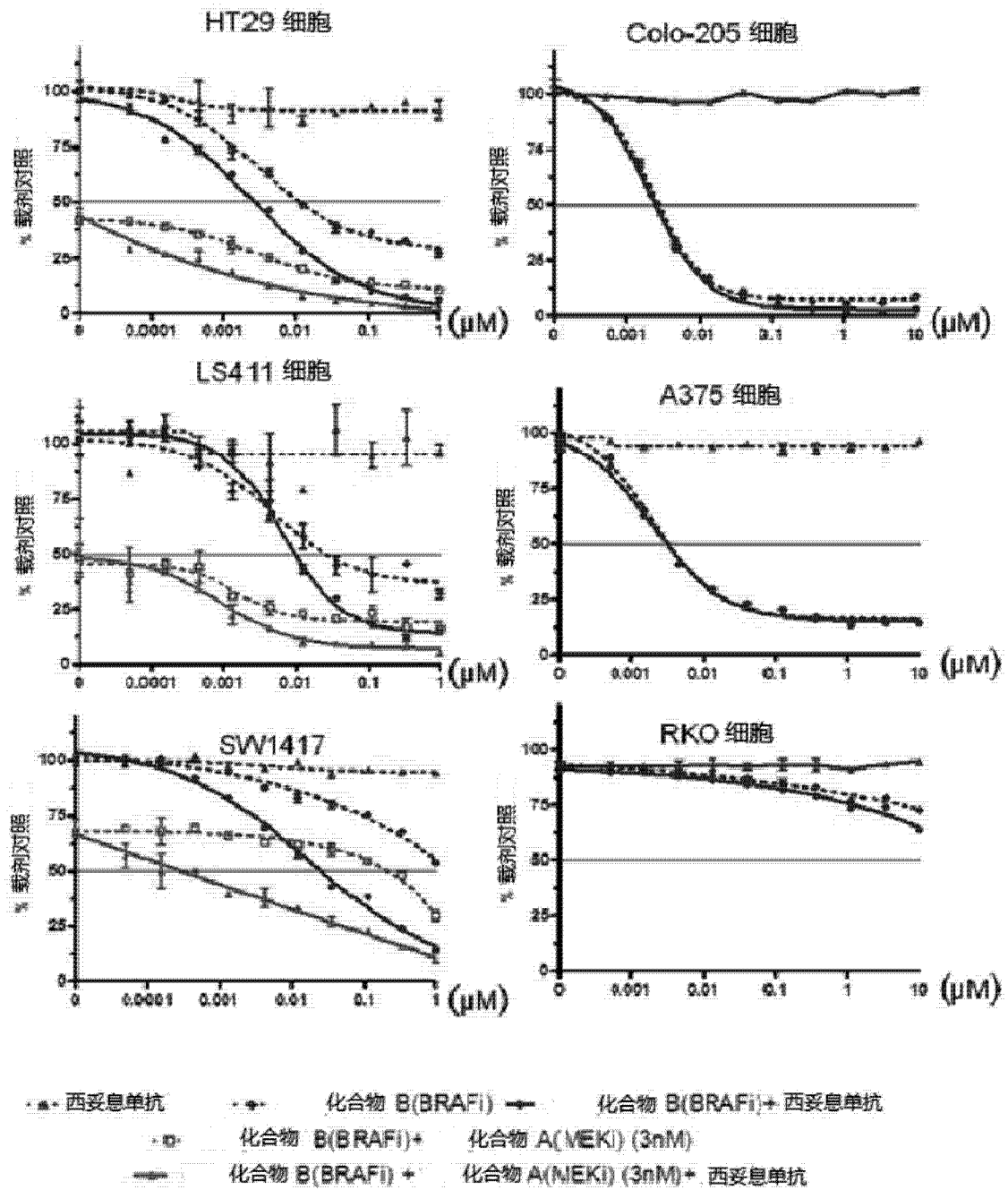


图 1

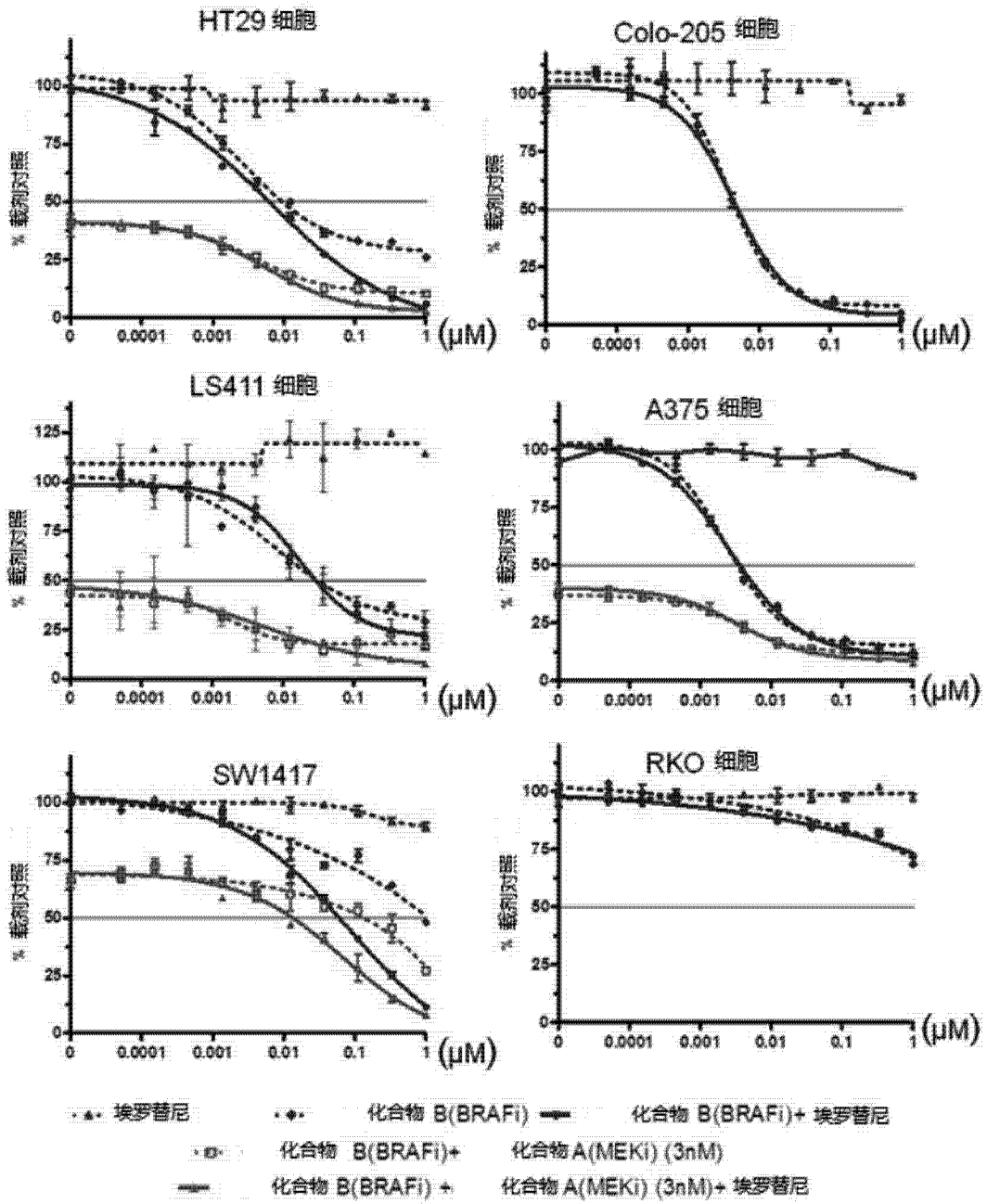


图 2