



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101180060 B

(45) 授权公告日 2011.12.28

(21) 申请号 200680018119.5

(22) 申请日 2006.06.02

(30) 优先权数据

60/687,758 2005.06.03 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2007.11.23

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2006/021307 2006.06.02

(87) PCT申请的公布数据

W02006/132930 EN 2006.12.14

(73) 专利权人 诺瓦提斯公司

地址 瑞士巴塞尔

(72) 发明人 L·埃兰德 P·W·曼雷 J·梅斯坦

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 黄草生 林柏楠

(51) Int. Cl.

A61K 31/506 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 1264375 A, 2000.08.23, 第9页第2段,

权利要求 1.

WO 2004/005281 A1, 2004.01.15, 第2-3页.

George D. efficacy and safety of imatinib mesylate in advancedgastrointestinal stromal tumors. the new england journal of medicine347 7. 2002, 347(7), 472-480.

审查员 周静

权利要求书 1 页 说明书 11 页

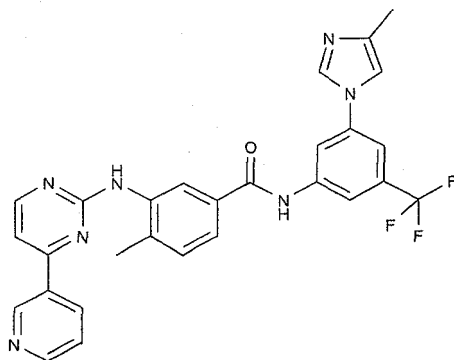
(54) 发明名称

治疗或预防增殖性疾病的嘧啶基氨基苯甲酰胺化合物和伊马替尼的组合

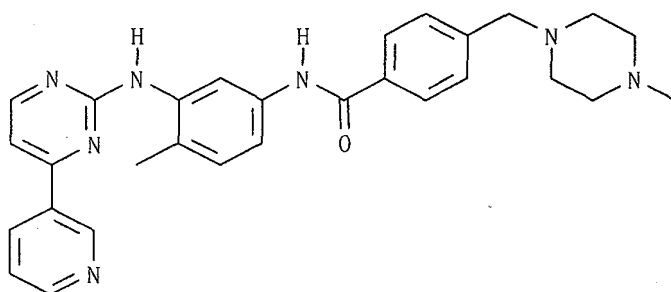
(57) 摘要

本发明提供了药物组合产品,其包含:a) 嘧啶基氨基苯甲酰胺化合物,和 b) 伊马替尼,以及使用这类组合产品治疗或预防增殖性疾病的方法。

1. 下式的 4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-嘧啶基]氨基]-N-[5-(4-甲基-1H-咪唑-1-基)-3-(三氟甲基)苯基]苯甲酰胺或其可药用盐



和下式的伊马替尼或其可药用盐



的组合用于制备治疗胃肠道基质肿瘤的药物用途。

## 治疗或预防增殖性疾病的嘧啶基氨基苯甲酰胺化合物和伊马替尼的组合

[0001] 本发明涉及包含以下化合物的药物组合：(a) 嘧啶基氨基苯甲酰胺衍生物化合物和 (b) 4-(4-甲基哌嗪-1-基甲基)-N-[4-甲基-3-(4-哌啶基-3-基)嘧啶基-2-基氨基]苯基]-苯甲酰胺（已以名称 **Gleevec<sup>®</sup>** 格列卫销售的伊马替尼），以及该组合用于治疗增殖性疾病，最优选地治疗胃肠道间质肿瘤（GIST）的用途。

[0002] 胃肠道基质肿瘤（GIST）是最近表征的一族间充质肿瘤，其起源于胃肠道，最常见于胃（占全部 GIST 的 60-70%）。过去，这些肿瘤以不同方式被分类为平滑肌瘤、成平滑肌瘤、或平滑肌肉瘤。然而，现在已经清楚：基于它们独特的分子发病机理和临床特征，GIST 代表一组独特的临床病理学疾病。GIST 最常在年龄中值为 50-60 岁的中年或老年显现，并且发病率无显著的性别差异。据估计至少 10-30% 的 GIST 是恶性的，引起腹内扩散和转移，最常见于肝脏和腹膜的播撒。恶性 GIST 每年的发生频率约为每 100000 人 0.3 个新病例。最常见的主要症状是不明原因的上腹部痛。许多人（30%）无症状，且 GIST 可在肿瘤相关的胃肠道出血导致的贫血的评价期间诊断出来。

[0003] 转移的和不能手术的 GIST 的治疗是主要问题，因为 GIST 众所周知地是对癌症化学治疗无响应的。例如，在一个近期的 II 期试验中，18 例晚期平滑肌肉瘤患者中有 12 例（67%）对由氮烯唑胺、丝裂霉素 C、阿霉素、顺铂、和沙莫司亭组成的治疗方案有响应，但 21 例 GIST 中仅 1 例（5%）有响应（J. Edmonson, R. Marks, J. Buckner, M. Mahoney, Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 1999 ;18 :541a“晚期胃肠道间质瘤患者与其他晚期平滑肌肉瘤患者之间 D-MAP+ 沙莫司亭响应的差异”）。对其他化学疗法的治疗结果仍保持同样地不能令人幸福。在临床上的抗化疗疾病中，与多药抗药性（MDR）相关的 P-糖蛋白和多药抗药蛋白 MRP1 的表达在恶性 GIST 中与平滑肌肉瘤相比更加显著。

[0004] 尽管对增殖性疾病患者有许多治疗选择，但仍需要有效的和安全的抗增殖剂，并需要其优先用于组合治疗中。

[0005] 现已令人惊讶地证实，单独使用嘧啶基氨基苯甲酰胺衍生物或其可药用盐，或与伊马替尼组合可成功地治疗 GIST。

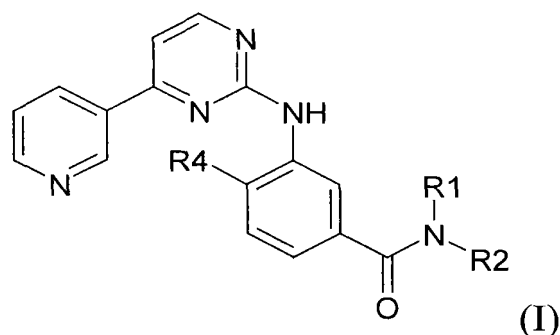
[0006] 发明概述

[0007] 现已发现包含 (a) 至少一种嘧啶基氨基苯甲酰胺化合物和 (b) 例如，如下文所定义的伊马替尼的组合对增殖性疾病例如肿瘤和最特别地 GIST 具有有益的作用。

[0008] 发明详述

[0009] 本发明涉及式 (I) 的嘧啶基氨基苯甲酰胺化合物和这类化合物的 N-氧化物或可药用盐用于制备治疗激酶依赖性疾病的药物组合物的用途：

[0010]



[0011] 其中

[0012]  $R_1$  表示氢、低级烷基、低级烷氧基-低级烷基、酰氧基-低级烷基、羧基-低级烷基、低级烷氧基羰基-低级烷基、或苯基-低级烷基；

[0013]  $R_2$  表示氢、任选地被一个或多个相同或不同的基团  $R_3$  取代的低级烷基、环烷基、苯并环烷基、杂环基、芳基、或含零个、一个、两个或三个环氮原子和零个或一个氧原子和零个或一个硫原子的单环或双环杂芳基，每种情况下基团是未取代或单取代或多取代的；

[0014] 且  $R_3$  表示羟基、低级烷氧基、酰氧基、羧基、低级烷氧基羰基、氨基甲酰基、N-单取代或 N, N-二取代氨基甲酰基、氨基、单取代或二取代氨基、环烷基、杂环基、芳基或含零个、一个、两个或三个环氮原子和零个或一个氧原子和零个或一个硫原子的单环或双环杂芳基，基团在每种情况下是未取代或单取代或多取代的；

[0015] 或其中  $R_1$  和  $R_2$  一同表示任选地被低级烷基、环烷基、杂环基、苯基、羟基、低级烷氧基、氨基、单取代或二取代氨基、氧代、吡啶基、吡嗪基或嘧啶基单取代或二取代的有 4、5 或 6 个碳原子的亚烷基；有 4 或 5 个碳原子的苯并亚烷基；有 1 个氧原子和 3 或 4 个碳原子的氧杂亚烷基；或有 1 个氮原子和 3 个或 4 个碳原子、其中氮是未取代的或被低级烷基、苯基-低级烷基、低级烷氧基羰基-低级烷基、羧基-低级烷基、氨基甲酰基-低级烷基、N-单取代或 N, N-二取代氨基甲酰基-低级烷基、环烷基、低级烷氧基羰基、羧基、苯基、取代苯基、吡啶基、嘧啶基或吡嗪基取代的氮杂亚烷基；

[0016]  $R_4$  表示氢、低级烷基、或卤素。

[0017] 在本公开的上下文范围内，除非另外指明，上文和下文所用的通用术语优选具有下列含义：

[0018] 前缀“低级”表示具有至多和包括 7 个，特别至多和包括 4 个碳原子的基团，所述基团为直链或在一处或多处有支链的支链。

[0019] 任何所指的复数的化合物、盐等也理解为包括一种化合物、一种盐等。

[0020] 任何不对称碳原子可存在 (R)-、(S)- 或 (R, S)- 构型，优选地为 (R)- 或 (S)- 构型。化合物因此可存在异构体的混合物或纯异构体形式，优选为对映体-纯非对映体。

[0021] 本发明亦涉及式 I 化合物可能的互变异构体。

[0022] 低级烷基优选地是包含 1 至 7 个（包括 7 个），优选地包含 1 至 4 个原子（包括 4 个），且是直链的或支链的烷基；优选地，低级烷基是丁基例如正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、丙基如正丙基或异丙基、乙基或甲基。优选的低级烷基是甲基、丙基或叔丁基。

[0023] 低级酰基优选地是甲酰基或低级烷基羰基，特别是乙酰基。

[0024] 芳基是与分子通过位于基团的芳环碳原子的价键结合的芳香族基团。在优选的实

施方案中,芳基是有 6 至 14 个碳原子的芳香族基团,特别是苯基、萘基、四氢萘基、茛基或菲基,且是未取代的或被一个或多个,优选地可达三个,特别是一个或两个取代基取代,取代基特别选自氨基、单或二取代氨基、卤素、低级烷基、取代的低级烷基、低级链烯基、低级炔基、苯基、羟基、醚化或酯化的羟基、硝基、氰基、羧基、酯化的羧基、链烷酮基、苯甲酰基、氨基甲酰基、N- 单取代或 N, N- 二取代氨基甲酰基、脞基、胍基、脲基、巯基、硫基、低级烷硫基、苯硫基、苯基 - 低级烷硫基、低级烷基苯基硫基、低级烷基亚磺酰基、苯基亚磺酰基、苯基 - 低级烷基亚磺酰基、低级烷基苯基亚磺酰基、低级烷基磺酰基、苯基磺酰基、苯基 - 低级烷基磺酰基、低级烷基苯基磺酰基、卤素 - 低级烷基硫基、卤素 - 低级烷基磺酰基,例如特别是三氟甲烷磺酰基、二羟基硼基 ( $-B(OH)_2$ )、杂环基、单环或双环杂芳基和环的相邻 C- 原子处结合的低级亚烷基二氧基,例如亚甲基二氧基。芳基更优选地是苯基、萘基或四氢萘基,在每种情况下可以是未取代的,也可以是独立地被一个或两个选自卤素、特别是氟、氯或溴的取代基取代;羟基;被低级烷基例如甲基、卤素 - 低级烷基例如三氟甲基或苯基醚化的羟基;两个相邻 C- 原子被二氧结合的低级亚烷基,例如亚甲基二氧基,低级烷基例如甲基或丙基;卤素 - 低级烷基,例如三氟甲基;羟基 - 低级烷基,例如羟基甲基或 2- 羟基 - 2- 丙基;低级烷氧基 - 低级烷基,例如甲氧基甲基或 2- 甲氧基乙基;低级烷氧基羰基 - 低级烷基,例如甲氧基 - 羰基甲基;低级炔基,例如 1- 丙炔基;酯化的羧基,特别是低级烷氧基羰基,例如甲氧基羰基,正丙氧基羰基或异丙氧基羰基;N- 单取代氨基甲酰基,特别是被低级烷基,例如甲基、正丙基或异丙基单取代的氨基甲酰基;氨基;低级烷基氨基,例如甲基氨基;二 - 低级烷基氨基,例如二甲基氨基或二乙基氨基;低级亚烷基 - 氨基,例如吡咯烷 - 1- 基或哌啶子基;低级氧杂亚烷基 - 氨基,例如吗啉基、低级氮杂亚烷基 - 氨基,例如哌嗪 - 1- 基、乙酰氨基,例如乙酰基氨基或苯甲酰基氨基;低级烷基磺酰基,例如甲基磺酰基;氨磺酰基;或苯基磺酰基。

[0025] 环烷基优选地是环丙基、环戊基、环己基或环庚基,且可以是未取代的或被一个或多个,特别是一个或两个选自以上定义的对于芳基的取代基、最优选地被低级烷基例如甲基、低级烷氧基例如甲氧基或乙氧基、或羟基的取代基取代,且进一步地可被氧代基取代,或稠合为苯并环,例如苯并环戊基或苯并环己基。

[0026] 取代烷基是如上所定义的烷基,特别是低级烷基,优选地是甲基;可存在一个或多个,特别地可多达三个取代基,取代基主要选自卤素特别是氟、氨基、N- 低级烷基氨基、N, N- 二低级烷基氨基、N- 低级链烷酰氨基、羟基、氰基、羧基、低级烷氧基羰基、和苯基 - 低级烷氧基羰基。三氟甲基是特别优选的。

[0027] 单取代或二取代氨基是特别地彼此独立地被一个或两个选自以下的基团取代的氨基;低级烷基例如甲基;羟基 - 低级烷基例如 2- 羟基乙基;低级烷氧基低级烷基例如甲氧基乙基;苯基 - 低级烷基例如苄基或 2- 苯基乙基;低级链烷酰基例如乙酰基;苯甲酰基;取代苯甲酰基,其中苯基是特别地被一个或多个、优选地被一个或两个选自硝基、氨基、卤素、N- 低级烷基氨基、N, N- 二低级烷基氨基、羟基、氰基、羧基、低级烷氧基羰基、低级链烷酰基和氨基甲酰基的取代基取代;和苯基 - 低级烷氧基羰基,其中苯基是未取代的或特别地被一个或多个,优选地被一个或两个选自硝基、氨基、卤素、N- 低级烷基氨基、N, N- 二低级烷基氨基、羟基、氰基、羧基、低级烷氧基羰基、低级链烷酰基和氨基甲酰基的取代基取代;且优选地为 N- 低级烷基氨基,例如 N- 甲基氨基、羟基 - 低级烷基氨基,例如 2- 羟基乙

基氨基或 2- 羟基丙基、低级烷氧基低级烷基, 例如甲氧基乙基、苯基 - 低级烷基氨基, 例如苯甲基氨基、N, N- 二低级烷基氨基、N- 苯基低级烷基 -N- 低级烷基氨基、N, N- 二低级烷基苯基氨基、低级烷酰基氨基, 例如乙酰基氨基, 或选自苯甲酰基氨基和苯基 - 低级烷氧基羰基氨基基团的取代基, 其中苯基 在每种情况下是未取代的或特别被硝基或氨基、或者也可以被卤素、氨基、N- 低级烷基氨基、N, N- 二低级烷基氨基、羟基、氰基、羧基、低级烷氧基羰基、低级烷酰基、氨基甲酰基或氨基羰基氨基取代。二取代氨基亦是低级亚烷基 - 氨基, 例如, 吡咯烷 -1- 基、2- 氧代吡咯烷 -1- 基或哌啶子基; 低级氧杂亚烷基 - 氨基例如吗啉代、或低级氮杂亚烷基 - 氨基, 例如哌嗪 -1- 基或 N- 取代哌嗪 -1- 基, 例如 N- 甲基哌嗪 -1- 基或 N- 甲氧基羰基哌嗪 -1- 基。

[0028] 卤素特别是氟、氯、溴或碘, 特别是氟、氯或溴。

[0029] 醚化的羟基特别是 C<sub>8</sub>-C<sub>20</sub> 的烷氧基, 例如正 - 癸氧基、低级烷氧基 ( 优选的 )、例如甲氧基、乙氧基、异丙氧基、或叔丁氧基、苯基 - 低级烷氧基, 例如苯甲氧基、苯氧基、卤素 - 低级烷氧基, 例如三氟甲氧基, 2, 2, 2- 三氟乙氧基或 1, 1, 2, 2- 四氟乙氧基, 或被含一个或两个氮原子的单环或双环杂芳基取代的低级烷氧基, 优选地被咪唑基例如 1H- 咪唑 -1- 基; 吡咯基; 苯并咪唑基例如 1- 苯并咪唑基; 吡啶基特别是 2-、3-、或 4- 吡啶基; 嘧啶基特别是 2- 嘧啶基; 吡嗪基; 异喹啉基特别是 3- 异喹啉基、喹啉基; 吲哚基或噻唑基取代的低级烷氧基。

[0030] 酯化的羟基尤其是低级烷酰氧基、苯甲酰氧基、低级烷氧基羰基氧基例如叔丁氧基羰基氧基, 或苯基 - 低级烷氧基羰基氧基例如苄氧羰基氧基。

[0031] 酯化羧基特别是低级烷氧基羰基, 例如叔丁氧基羰基、异丙氧基羰基、甲氧基羰基或乙氧基羰基、苯基低级烷氧基羰基、或苯氧基羰基。

[0032] 烷酰基尤其是烷基羰基, 更尤其是低级烷酰基例如乙酰基。

[0033] N- 单取代或 N, N- 二取代氨基甲酰基特别是被一个或两个独立地选自低级烷基、苯基 - 低级烷基和羟基 - 低级烷基或低级亚烷基、氧杂 - 低级亚烷基或任选地在末端氮原子被取代的氮杂 - 低级亚烷基的取代基取代。

[0034] 含零个、一个、两个或三个环氮原子和零个或一个氧原子和零个或一个硫原子的单环或双环杂芳基, 在每种情况下基团是未取代的或单取代或多取代的, 指的是杂芳基与式 I 分子的其余部分结合的环中的不饱和部分的杂环部分, 且优选地是环, 在结合的环中, 但任选地也是在任何稠合的环中, 至少一个碳原子被选自含氮、氧和硫的基团的杂原子替换; 其中结合 环优选地有 5-12 个, 更优选地有 5 或 6 个环原子; 且可以是未取代的或被一个或多个, 特别是一个或两个选自以上定义的基团芳基取代基、最优选地被低级烷基例如甲基、低级烷氧基例如甲氧基或乙氧基、或羟基的取代基取代。优选地单环或双环杂芳基选自 2H- 吡咯基、吡咯基、咪唑基、苯并咪唑基、吡唑基、吲唑基、嘌呤基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基、4H- 喹啉基、异喹啉基、喹啉基、酞嗪基、茶啶基、喹噁啉基、喹唑啉基、喹啉基、蝶啶基、中氮茛基、3H- 吲哚基、吲哚基、异吲哚基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、异噻唑基、三唑基、四唑基、咪唑基、苯并 (d) 吡唑基、噻吩基和呋喃基。更优选地单环或双环杂芳基, 其选自吡咯基、咪唑基、例如 1H- 咪唑基 -1- 基、苯并咪唑基、例如 1- 苯并咪唑基、吲唑基、特别是 5- 吲唑基、吡啶基、特别是 2-、3- 或 4- 吡啶基、嘧啶基、特别是 2- 嘧啶基、吡嗪基、异喹啉基、特别是 3- 异喹啉基、喹啉基、特别是 4- 或 8- 喹啉基、吲哚基、特别是 3- 吲哚基、噻

唑基、苯并(d)吡唑基、噻吩基和呋喃基。在本发明的一个优选的实施方案中,吡啶基在氮原子的邻位上被羟基取代,因此至少存在嘧啶-(1H)-2-酮相应的部分互变异构体形式。在另一个优选的实施方案中,嘧啶基是在2位和4位两个位置上被羟基取代,因此存在几种互变异构体形式,例如,嘧啶-(1H,3H)-2,4-二酮。

[0035] 杂环基是特别地有选自含氮、氧、和硫基团的一个或两个杂原子的五、六或七元杂环体系,可以是不饱和或完全或部分饱和的,且是未取代或特别地被低级烷基例如甲基、苯基-低级烷基例如苄基、氧代或杂芳基例如2-哌嗪基取代;杂环基特别是2-或3-吡咯烷基、2-氧代-5-吡咯烷基、哌啶基、N-苄基-4-哌啶基、N-低级烷基-4-哌啶基、N-低级烷基-哌嗪基、吗啉基例如2-或3-吗啉基、2-氧代-1H-氮杂萘-3-基、2-四氢呋喃基、或2-甲基-1,3-二氧戊环-2-基。

[0036] 盐尤其是式I化合物的可药用盐。

[0037] 这些盐例如是以酸加成盐形成的,优选地由有机酸或无机酸与具有碱性氮原子的式I化合物形成的盐,特别是可药用盐。适合的无机酸是,例如,卤素酸例如盐酸、硫酸或磷酸。适合的有机酸是例如羧酸、膦酸、磺酸或氨基磺酸,例如醋酸、丙酸、辛酸、癸酸、正十二烷酸、羟乙酸、乳酸、富马酸、琥珀酸、己二酸、庚二酸、辛二酸、壬二酸、苹果酸、酒石酸、枸橼酸、氨基酸例如谷氨酸或门冬氨酸、马来酸、羟基马来酸、甲基马来酸、环己烷甲酸、金刚烷甲酸、苯甲酸、水杨酸、4-氨基水杨酸、邻苯二甲酸、苯基乙酸、扁桃酸、肉桂酸、甲烷磺酸或乙烷磺酸、2-羟基乙烷磺酸、乙烷-1,2-二磺酸、苯磺酸、2-萘磺酸、1,5-萘二磺酸、2-,3-,4-甲基苯磺酸、甲烷硫酸、乙烷硫酸、十二烷硫酸、N-环己基氨基磺酸、N-甲基-、N-乙基-或N-丙基-氨基磺酸、或其他有机质子酸,例如抗坏血酸。

[0038] 当存在负电荷基团如羧基或磺基时,可以与碱成盐,例如金属盐或铵盐,例如碱金属盐或碱土金属盐,例如钠、钾、镁或钙盐,与氨或适当的有机胺例如叔单胺,如三乙胺或三(2-羟乙基胺)成的铵盐;或与杂环碱例如N-乙基哌啶或N,N'-二甲基哌嗪成的盐。

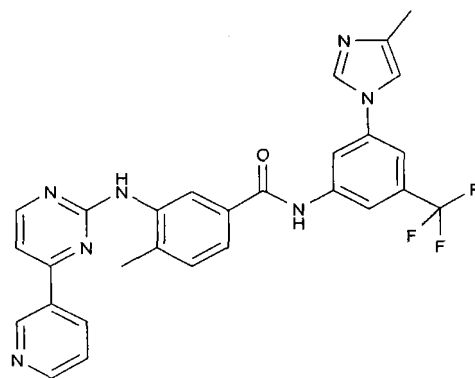
[0039] 当在同一个分子中存在碱性基团或酸性基团时,式I化合物还可形成内盐。

[0040] 为了分离或纯化,还可能使用不可药用盐,例如苦味酸盐或高氯酸盐。只有可药用盐或其游离的化合物(其中以药物制剂的形式使用)才可用于治疗,因此它们是优选的。

[0041] 考虑到游离形式的新化合物与其盐(还包括那些可以用作中间体的盐,例如在新化合物纯化或鉴定中的盐)的密切关系,当适当和有利时,上下文中任何涉及的新化合物还可被理解为包括相应的盐。

[0042] 在式I范围内的化合物及其制备方法公开在发表于2004年1月15日的WO 04/005281中,本文引用作为本申请的参考。优选的化合物是式(II)的4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-嘧啶基]氨基]-N-[5-(4-甲基-1H-咪唑-1-基)-3-(三氟甲基)苯基]苯甲酰胺和其可药用盐:

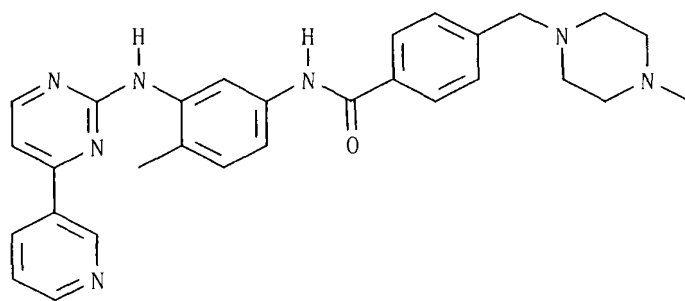
[0043]



(II)

[0044] 本发明的组合包括式 (III) 化合物 4-(4-甲基哌嗪-1-基甲基)-N-[4-甲基-3-(4-哌啶基-3-基)嘧啶基-2-基氨基]苯基]-苯甲酰胺 (已以名称 Gleevec<sup>®</sup> 格列卫销售的伊马替尼) :

[0045]



(III)

[0046] 化合物 (III) 的制备及其用途特别是作为抗癌剂的用途, 描述在公布于 1993 年 10 月 6 日的欧洲专利申请 EP-A-0 564 409 和在许多其他国家的等价申请和专利 (例如美国专利 5, 521, 184 和日本专利 2706682) 的实施例 21 中。

[0047] 化合物 (III) 的单甲磺酸加成盐和其优选的晶型描述于在 1999 年 1 月 28 日公布的 PCT 专利申请 W099/03854 中。

[0048] 所包含的同样是其可药用盐、相应的消旋体、非对映异构体、对映体、互变异构体、以及以上公开化合物相应的结晶变体 (如果存在), 例如已被公开的溶剂合物、水合物和多晶形。在本发明的组合产品中用作活性成分的化合物分别如引用文献中所描述进行制备和施用。如上文的多于两种单独活性成分的组合产品同样在本发明的范围内, 即在本发明范围内的药物组合产品可包含三种活性成分或更多。

[0049] 根据本发明的独特发现, 其提供了

[0050] 1. 药物组合产品, 其包含:

[0051] a) 式 (I) 的嘧啶基氨基苯甲酰胺化合物; 和

[0052] b) 式 (III) 的伊马替尼。

[0053] 2. 治疗或预防需要其的个体中的增殖性疾病的方法, 包括给所述个体共同施用例如同时或先后施用治疗有效量的式 I 的嘧啶基氨基苯甲酰胺化合物和例如如以上公开的式 (III) 的伊马替尼。

[0054] 增殖性疾病的实例包括, 例如肿瘤, 最特别优选的是 GIST。



- [0055] 3. 用于如以上 2) 所定义的方法中的如以上 1) 所定义的药物组合产品。
- [0056] 4. 用于制备以上 2) 所定义方法中使用的药物的如以上 1) 所定义的药物组合产品。
- [0057] 5. 药物组合产品,其包含:
- [0058] a) 优选地,式 (II) 化合物;和
- [0059] b) 式 (III) 的伊马替尼。
- [0060] 6. 治疗或预防需要其的个体中的增殖性疾病的方法,包括给所述个体共同施用例如同时或先后施用治疗有效量的式 I 化合物和例如如以上公开的式 (III) 的伊马替尼。
- [0061] 7. 用于如以上 6) 所定义的方法中的如以上 5) 所定义的药物组合产品。
- [0062] 8. 用于制备以上 7) 所定义方法中使用的药物的如以上 5) 所定义的药物组合产品。
- [0063] 本发明组合产品在上文指定的方法中的用途可在动物试验方法及临床中,例如依照下文描述的方法中得到证实。

#### [0064] A. 组合治疗

[0065] 适当的临床研究是例如,在增殖性疾病特别是 GIST 患者中进行的开放、剂量递增的研究。这种研究特别证实了本发明组合产品活性成分的协同作用。对 GIST 的有利作用可通过本领域技术人员所知的这些研究结果直接测定。这些研究特别适合比较使用活性成分的单一疗法的作用和本发明组合产品的作用。优选地,活性剂 (a) 例如化合物 (I) 或优选化合物 (II) 的剂量递增直至达到最大耐受剂量,活性剂 (b) 以固定剂量施用。或者,活性剂 (a) 以固定剂量施用,活性剂 (b) 的剂量递增。每名患者每天或间断地接受活性剂 (a) 的剂量。可以在这类研究中测定治疗有效性,例如在 12、18 或 24 周后通过每 6 周对症状分数的评价而进行。

[0066] 本发明的药物组合产品的施用不仅达到有利效果,例如协同治疗效果,例如在缓解、延迟或抑制症状的进展方面,还进一步有令人惊异的有利影响,例如,与仅应用本发明组合产品中的一种药物活性成分的单一治疗方法比较有更少的副作用,生活质量改善或死亡率下降。

[0067] 进一步的好处是本发明的组合产品使用了更低剂量的活性成分,例如,所需剂量不仅更小而且用药频率更低,可减少副作用的发生率或程度。这与要治疗的患者的愿望和要求是一致的。

[0068] 术语“共同施用”或“组合施用”或本文使用的相似文字是指包括所选治疗剂给一名患者施用,且预期包括治疗方案,在治疗方案中活性剂不必以相同的施用途径或相同的时间施用。

[0069] 本发明的一个目的是提供了包含共同治疗有效量的针对或预防增殖性疾病特别是 GIST 的本发明组合的药物组合物。在此组合物中,活性剂 (a) 和 (b) 可一同、一种在先一种在后或分别地在一个组合的单位剂型或两个单独的单位剂形型中施用。单位剂型亦可以是固定的组合。

[0070] 对于活性剂 (a) 和 (b) 分别施用或以固定组合施用的药物组合物,即含至少两种组合伴侣 (a) 和 (b) 的单一盖伦组合物,根据本发明可按本质上已知的方式制备,这些组合物适于肠内施用例如口服或直肠施用,和肠道外给哺乳动物(温血动物)包括人施用,其包

含治疗有效量的至少一种药理活性组合伴侣,例如,如上文所指明的,或与一种或多种可药用、特别是适于肠道内或肠道外应用的载体或稀释剂组合使用。

[0071] 适当的药物组合物包含例如从约 0.1% 至约 99.9%, 优选地从约 1% 至约 60% 的活性成分。用于组合治疗的经肠道内或肠道外施用的药物制剂是,例如,诸如糖衣片、片、胶囊或栓剂或安瓿的单位剂型。如果未特殊注明,这些都是以本质上已知的方式制备的,例如通过传统的混合、制粒、包糖衣、溶解或冻干的方法。应该理解包含在每个剂型的单个剂量中包含的组合伴侣的单位含量不需自身构成有效量,因为必需的有效量可以通过施用多个剂量单位而达到。

[0072] 特别地,本发明组合产品的组合伴侣的每一种的治疗有效量可同时或依次以任何顺序施用,且活性剂可单独地或以固定组合施用。例如,按照本发明的预防或治疗增殖性疾病的方法可包括 (i) 第一种活性剂 (a) 以游离形式或可药用盐的形式施用,及 (ii) 活性剂 (b) 以游离形式或可药用盐形式的施用,同时或以任何顺序先后施用,以共同治疗有效量,优选地以协同有效量,例如以相应于本文描述量的每日剂量或间断剂量施用。本发明组合产品的每种组合伴侣可在治疗过程期间的不同时间分别或同时以分割剂量或单独的组合形式施用。此外,术语施用亦包括使用在体内转化成组合伴侣本身的组合伴侣的前药。本发明因此可理解为包含同时或交替治疗的所有的方案,且术语“施用”可作相应的理解。

[0073] 本发明的组合产品中所用各组合伴侣的有效剂量可以根据所用的特定化合物或药物组合物、施用方式、被治疗的病症、被治疗病症的严重程度而变化。因此,可以根据包括施用途径和患者的肾和肝功能在内的各种因素来对本发明组合产品的剂量方案进行选择。普通的医师、临床医师可以容易地决定和给出用于减轻、反击或抑制病症进程所需单个活性成分的有效量。获得位于可产生有效性而不会产生毒性范围内的活性成分浓度的最佳精度需要一种以靶部位对活性成分利用度的动力学为基础的方案。

[0074] 活性剂 (a) 或 (b) 的每日剂量将当然随多种因素而改变,例如所选化合物、要治疗的特殊的病症和想要的效果。

[0075] 式 (I) 化合物、活性剂 (a) 优选地口服施用,优选地以每日剂量 1-300mg/kg 体重或,对于大多数的较大的灵长类来说,每日剂量 50-5000, 优选地 500-3000mg。优选的口服每日剂量是 1-75mg/kg 体重或对于大多数较大的灵长类来说,每日剂量 10-2000mg、以单次剂量或分割成多剂量例如每日给药两次地施用。

[0076] 活性剂 (b) 可以 0.5-1000mg 的每日剂量范围施用于人体。合适的用于口服施用的单位剂型包含约 0.1-500mg 的活性成分,连同一种或多种可药用稀释剂或载体。

[0077] 但是一般地,通过活性剂 (b) 的施用日剂量在约 0.03-5mg/kg/d 的数量级,特别地 0.1-5mg/kg/d, 例如 0.1-2.5mg/kg/d, 以单次剂量或分割剂量达到满意的结果。活性剂 (a) 和活性剂 (b) 可以连同一种或多种可药用稀释剂或载体通过任何传统途径施用,特别是肠内,例如口服,例如以片剂、胶囊、饮用溶液的形式;或肠胃外,例如以可注射的溶液或混悬液的形式。

[0078] 本发明的药物组合产品的施用不仅产生有益的作用,例如,协同治疗作用,例如在抑制未调节的增殖作用方面,或减缓肿瘤生长的进展方面;还有进一步令人惊异的有益作用,例如,与仅施用本发明组合中使用的一种药物活性成分相比具有较少的副作用、改善的生活质量或降低的死亡率。

[0079] 进一步的好处是本发明的组合可使用更低剂量的活性成分,例如,所需剂量不仅更小而且用药频率更低,或者使用以便减少副作用的发生率。这与要治疗的患者的愿望和要求是一致的。

[0080] B. 要治疗的疾病

[0081] 术语“增殖性疾病”包括但不限于肿瘤、牛皮癣、再狭窄、硬皮病和纤维化。

[0082] 术语血液学恶变,特别指白血病,特别是表达 Bcr-Abl、c-Kit 或 Flt-3 的那些白血病,还包括但不限于慢性髓细胞性白血病和急性淋巴细胞性白血病 (ALL),特别是费城染色体阳性急性淋巴细胞性白血病 (Ph+ALL) 和 STI571 抗性白血病。

[0083] 术语“实体瘤疾病”特别指卵巢癌、乳腺癌、结肠癌和一般的胃肠道癌、子宫颈癌、肺癌,例如小细胞肺癌和非小细胞肺癌、头颈癌、膀胱癌、前列腺癌或 Kaposi 肉瘤。

[0084] 根据本发明的可抑制所提及蛋白激酶活性、特别是上下文提及的酪氨酸蛋白激酶活性的组合,可用于蛋白质激酶依赖性疾病的治疗。蛋白质激酶依赖性疾病是特别指增殖性疾病,优选良性或特别是恶性肿瘤(例如肾、肝、肾上腺、膀胱、乳腺、胃、卵巢、结肠、直肠、前列腺、胰、肺、阴道或甲状腺癌、肉瘤、恶性胶质瘤和头和颈部的多个肿瘤以及白血病)。它们能带来肿瘤的消退,并防止肿瘤转移的形成及转移(亦称微转移)的生长。另外,它们可用于上皮过度增殖(例如,牛皮癣)、前列腺增生,及瘤形成、特别是上皮细胞特征的,例如乳腺癌。亦可能使用本发明组合产品在免疫系统范围几种疾病或特别地涉及个体酪氨酸蛋白激酶的疾病的治疗;此外,本发明组合产品亦可用于涉及信号传导通过至少一种、特别地选自具体提及的那些酪氨酸蛋白激酶的中枢或周围神经系统疾病的治疗。

[0085] 在慢性髓细胞性白血病 (CML) 中,血液学干细胞 (HSCs) 中相互平衡的染色体易位产生 BCR-ABL 杂合基因。后者编码致癌的 Bcr-Abl 融合蛋白。然而 ABL 编码在调控细胞增殖、粘附和凋亡中起主要作用的高度调控的蛋白质酪氨酸激酶,BCR-ABL 融合基因编码为结构激活激酶,可转化 HSC 以产生呈现失调的克隆增殖作用、吸附于骨髓间质能力降低的表型,降低了能使其日渐积聚为更加恶性变性的对诱变刺激的细胞凋亡响应。得到的粒细胞不能发展为成熟的淋巴细胞并释放到循环中,导致成熟细胞缺乏并增加了感染的易感性。已描述 Bcr-Abl 的 ATP- 竞争性抑制剂可防止激酶激活有丝分裂和抗细胞凋亡途径(例如 P-3 激酶和 STAT5),导致 BCR-ABL 表型细胞死亡并借此提供对 CML 的有效治疗。本发明组合产品因此特别适合涉及其过度表达的疾病的治疗,特别是白血病,例如 CML 或 ALL 白血病。

[0086] 本发明组合产品主要抑制血管的生长,因此例如有效对抗了与失调的血管发生,特别是由眼部新血管形成引起的疾病,特别是视网膜病,例如糖尿病视网膜病变或老年性黄斑病变、牛皮癣、成血管细胞瘤,例如血管瘤、肾小球膜细胞增殖障碍,例如慢性或急性肾病,例如糖尿病性肾病、恶性肾硬化症、血栓形成性微血管病综合征或移植排异、或特别地炎性肾病,例如肾小球肾炎、特别地膜增生性肾小球肾炎、溶血-尿毒症性综合征、糖尿病性肾病、高血压肾硬化、动脉粥样化、动脉再狭窄、自免疫性疾病、糖尿病、子宫内膜异位症、慢性哮喘、及特别地肿瘤性疾病(实体瘤,还包括白血病及其他血液学恶变),例如特别地乳腺癌、结肠癌、肺癌(特别地小细胞肺癌)、前列腺癌或 Kaposi 肉瘤。本发明组合产品抑制肿瘤生长,并特别适于抑制肿瘤的转移传播及微转移生长。

[0087] 本发明涉及治疗骨髓瘤的方法,特别是对传统化学疗法有抗性的骨髓瘤。本文使用的术语“骨髓瘤”涉及由在骨髓中正常发现的类型的细胞组成的肿瘤。本文使用的术语

“多发性骨髓瘤”意指以多发性骨髓瘤灶和 M 成分（单克隆免疫球蛋白片断）的分泌为特征的浆细胞的弥散性恶性赘生物，伴随着导致骨痛、病理性骨折、高钙血症和红细胞色正常的正常红细胞性贫血的广布的溶骨性病变。多发性骨髓瘤使用传统的和高剂量的化学治疗方法很难治愈。本发明涉及治疗骨髓瘤、特别是抗传统化学治疗方法的骨髓瘤的方法。

#### [0088] 实施例

[0089] 在不表达突变干细胞因子受体 c-KIT 的胃肠道间质瘤 (GIST) 患者亚群中，已报道有血小板衍生的生长因子受体  $\alpha$  (PDGFRA) 的激活变异。突变 PDGFRA- 阳性 GIST 对伊马替尼的反应性依赖 PDGFRA 突变的位置：例如 V561D 近膜域突变对伊马替尼比 D842V 激酶域突变更敏感。在此实施例中，研究了化合物 (II) 和伊马替尼 [化合物 (III)] 对两种对伊马替尼有着不同敏感性的 GIST- 相关 PDGFRA 突变——V561D 和 D842V 的作用。

[0090] 细胞系和细胞培养：D842V-、V561D- 和野生型 (wt)-PDGFRA cDNA 克隆到 pcDNA3.1 的构建物（得自 M. C. Heinrich, Oregon Health&Science University Cancer Institute, Portland, OR）通过电致孔术被稳定地转染到 Ba/F3 细胞，且细胞被选择用于新霉素抗药性和 IL3- 无关的生长。所有细胞在 5% CO<sub>2</sub> 的存在下、37°C 5X10<sup>5</sup> 个细胞 /mL 的浓度下、在 cellgro RPMI1640 培养基 (Mediatech, Inc. Herndon, VA) 中培养，培养基补充以 10% 胎牛血清 (FCS ;Harlan Bioproducts, Indianapolis, IN)、1% 谷氨酰胺和青霉素 / 链霉素。亲代 Ba/F3 细胞或 wt-PDGFRA-Ba/F3 细胞用 15% WEHI- 条件 培养基培养作为 IL-3 的来源。所有转染细胞在补充以 1mg/mL G418 的培养基中培养。

[0091] 抗体和免疫印记：使用抗 p-Tyr (克隆 4G10, Upstate Biotechnology, NY) 1 : 1000 用于免疫印记。使用 PDGFRA 抗体 (C-20, Santa Cruz Biotechnology, CA) 1 : 200 用于免疫印记。蛋白溶解液制备和免疫印记按前面的描述进行。Weisberg 等人., Cancer Cell 2002 ;1 :433-443。

[0092] 增殖研究：台盼蓝拒染法前面已有描述 (Weisberg 等人, Cancer Cell 2002 ; 1 :433-443), 可用于所有细胞增殖研究。化合物 II 和伊马替尼同时以固定比例加入到 D842V- 或 V561D-PDGFRA-Ba/F3 细胞中。生成了剂量响应曲线，组合指数照 Weisberg 等人, Cancer Cell 2005 ;7 :129-141 的描述计算。

[0093] 小鼠研究与体内成像：D842V-PDGFRA-Ba/F3 细胞用逆转录病毒编码的萤火虫萤光素酶 (MSCV-Luc) 转导，并用嘌呤霉素在 0.5  $\mu$ g/mL 浓度下选择以产生 D842V-PDGFRA-Ba/F3- 萤光素酶 (luc+) 细胞系。无支原体和病毒污染的细胞重混悬于 Hank' s 平衡盐溶液 (HBSS ;Mediatech, Inc., VA) 再 i. v. 施用给小鼠。通过将 200mg 化合物 II 溶解于 1.0mL NMP 中得到澄清溶液，且每日在施用前用 9.0mL PEG300 稀释。接受化合物 II 使用的基质的安慰剂小鼠在相隔 30-45min 进行施用。

[0094] 雄性 NCR- 裸鼠 (5-6 周龄, Taconic, NY) 通过尾静脉注射施用总计 600,000 个 D842V-PDGFRA-Ba/F3-luc+ 细胞。小鼠成像并按前面的描述对总的身体荧光进行定量 (Armstrong 等人, Cancer Cell 2003 ;3 :173-183)。肿瘤细胞接种一天后的基线成像用于建立与负载的肿瘤相匹配的治疗。同龄组小鼠用口服施用基质、150mg/kg/d 化合物 II (照以上配制, 总计 6 天的治疗) 进行治疗。在各时间间隔进行多次成像。

[0095] 化合物 II 和伊马替尼的组合效应：D842V-PDGFRA-Ba/F3 :

[0096] 试验化合物 II 和伊马替尼的组合对抗 D842V-PDGFRA-Ba/F3 细胞。总的来说，

观察到了化合物 II 加伊马替尼之间的正的组合效应。化合物 II 加伊马替尼组合效应的 Calclusyn 分析提示在 (ED25-ED75) 剂量范围有协同 效应至接近加和效应,在 ED90 时有拮抗作用 (表 1)。

[0097] 化合物 II 和伊马替尼的组合效应 :V561D :

[0098] 评价化合物 II 和伊马替尼对抗 V561D-PDGFR $\alpha$ -Ba/F3 的组合效应。通常,在 V561D-PDGFR $\alpha$ -Ba/F3 细胞系,两者的组合在试验剂量范围导致不同程度的拮抗作用 (表 I)。

[0099] 表 I

[0100] 由剂量 - 响应曲线计算的组合指数

[0101]

细胞系 (治疗)	ED25	ED50	ED75	ED90
D842V-Ba/F3(化合物 II+ 伊马替尼)	0.48812	0.73221	1.09836	1.64762
V561D-Ba/F3(化合物 II+ 伊马替尼)	0.80100	1.00712	1.81556	5.23012