



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106470701 A

(43)申请公布日 2017. 03. 01

(21)申请号 201580028027.4

(22)申请日 2015.05.26

(30)优先权数据

1409488.2 2014.05.28 GB

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.11.25

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2015/061569 2015.05.26

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/181154 EN 2015.12.03

(71)申请人 欧洲凯尔特公司

地址 卢森堡卢森堡

(72)发明人 托马斯·约格·马尔林

(74)专利代理机构 中科专利商标代理有限责任公司 11021

代理人 单骁越

(51)Int.Cl.

A61K 45/06(2006.01)

A61K 31/4184(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

A61P 35/02(2006.01)

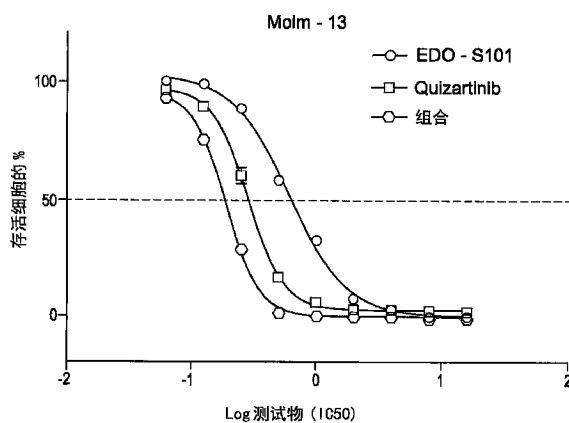
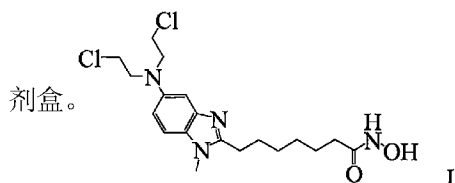
权利要求书3页 说明书12页 附图4页

(54)发明名称

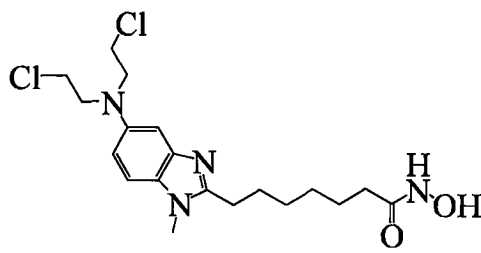
包含Ⅲ类受体酪氨酸激酶抑制剂和烷基化组蛋白-脱乙酰酶抑制剂融合分子EDO-S101的药物组合及其在治疗癌症中的用途

(57)摘要

本发明涉及包含Ⅲ类受体酪氨酸激酶抑制剂和式I的化合物或其药用盐的组合,涉及包含所述组合的药物组合物和试剂盒,涉及用于治疗癌症的所述组合、组合物或试剂盒,并且涉及在有此需要的患者中治疗癌症的方法,该方法包括向所述患者施用有效量的所述组合、组合物或试剂盒。



1. 一种组合,其包含III类受体酪氨酸激酶抑制剂和式I的化合物或其药用盐:



2. 根据权利要求1所述的组合,其中所述式I的化合物的药用盐是盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、氨基磺酸盐、硝酸盐、磷酸盐、柠檬酸盐、甲磺酸盐、三氟乙酸盐、谷氨酸盐、葡糖醛酸盐、戊二酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、琥珀酸盐、富马酸盐、酒石酸盐、甲苯磺酸盐、水杨酸盐、乳酸盐、茶磺酸盐或乙酸盐。

3. 根据权利要求1或权利要求2所述的组合,其中所述III类受体酪氨酸激酶抑制剂是选自以下的III类酪氨酸受体激酶的抑制剂:FMS-相关酪氨酸激酶3 (FLT3/STK1)、集落刺激因子1受体 (CSF-1R)、干细胞因子受体 (SCFR) 和血小板来源的生长因子受体 (PDGFR)。

4. 根据权利要求1至3中任一项所述的组合,其中所述III类受体酪氨酸激酶抑制剂是选自由以下组成的组的FMS-相关酪氨酸激酶3 (FLT3) 抑制剂:quizartinib、舒尼替尼、linifanib、foretinib、星状孢子素和坦度替尼。

5. 根据权利要求4所述的组合,其中所述FLT3抑制剂是quizartinib。

6. 根据权利要求1至5中任一项所述的组合,其还包含一种或多种另外的药物活性剂。

7. 根据权利要求1至6中任一项所述的组合,其中所述组合的所述式I的化合物或其药用盐和所述III类受体酪氨酸激酶抑制剂适合于同时、顺序或分开施用。

8. 根据权利要求7所述的组合,其中所述组合的所述式I的化合物或其药用盐和所述III类受体酪氨酸激酶抑制剂适合于同时施用。

9. 根据权利要求1至8中任一项所述的组合,其中在所述组合中,III类受体酪氨酸激酶抑制剂与式I的化合物或其药用盐的摩尔比为1:2000至2000:1。

10. 根据权利要求9所述的组合,其中在所述组合中,III类受体酪氨酸激酶抑制剂与式I的化合物或其药用盐的摩尔比为1:2000至1:100。

11. 根据权利要求9所述的组合,其中在所述组合中,III类受体酪氨酸激酶抑制剂与式I的化合物或其药用盐的摩尔比为1:1000至1:500。

12. 根据权利要求9所述的组合,其中在所述组合中,III类受体酪氨酸激酶抑制剂与式I的化合物或其药用盐的摩尔比为1:900至1:500。

13. 根据权利要求9所述的组合,其包含式I的化合物或其乙酸盐和quizartinib,其中在所述组合中,quizartinib与式I的化合物或其乙酸盐的摩尔比为1:900至1:500。

14. 根据权利要求1至13中任一项所述的组合,其中所述III类受体酪氨酸激酶抑制剂是quizartinib,并且quizartinib和式I的化合物或其药用盐是协同组合。

15. 药物组合物,其包含药用稀释剂或载体和根据权利要求1至14中任一项所述的组合。

16. 试剂盒,其包含根据权利要求1至14中任一项所述的组合和任选地,治疗患者的使用说明。

17. 根据权利要求1至14中任一项所述的组合、根据权利要求15所述的组合物或根据权利要求16所述的试剂盒,其用于治疗癌症。

18. 用于根据权利要求17所述的用途的组合、组合物或试剂盒,其中所述癌症选自血液学癌症和乳腺癌。

19. 用于根据权利要求18所述的用途的组合、组合物或试剂盒,其中所述血液学癌症选自多发性骨髓瘤、淋巴瘤和白血病。

20. 用于根据权利要求19所述的用途的组合、组合物或试剂盒,其中所述白血病选自急性成淋巴细胞性白血病(ALL)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、急性髓性白血病(AML)、慢性髓性白血病(CML)、多毛细胞白血病(HCL)、T细胞前淋巴细胞白血病(T-PLL)、巨粒淋巴细胞白血病和T细胞急性成淋巴细胞性白血病。

21. 用于根据权利要求20所述的用途的组合、组合物或试剂盒,其中所述白血病是急性髓性白血病(AML)。

22. 用于根据权利要求19所述的用途的组合、组合物或试剂盒,其中所述多发性骨髓瘤选自活跃骨髓瘤、浆细胞瘤、轻链型骨髓瘤和非分泌性骨髓瘤。

23. 用于根据权利要求19所述的用途的组合、组合物或试剂盒,其中所述淋巴瘤选自霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤。

24. 用于根据权利要求18所述的用途的组合、组合物或试剂盒,其中所述乳腺癌选自低密蛋白肿瘤、基底细胞样肿瘤、人表皮生长因子受体2(HER2)阳性肿瘤、luminal A型肿瘤和luminal B型肿瘤。

25. 用于根据权利要求18所述的用途的组合、组合物或试剂盒,其中所述乳腺癌是三阴性乳腺癌。

26. 用于根据权利要求17至25中任一项所述的用途的组合、组合物或试剂盒,其中在所述癌症治疗中,将所述III类受体酪氨酸激酶抑制剂和所述式I的化合物或其药用盐同时、顺序或分开施用。

27. 用于根据权利要求26所述的用途的组合、组合物或试剂盒,其中在所述癌症治疗中,将所述III类受体酪氨酸激酶抑制剂和所述式I的化合物或其药用盐同时施用。

28. 用于根据权利要求17至27中任一项所述的用途的组合、组合物或试剂盒,其中在所述治疗中,将所述式I的化合物或其药用盐以10至100mg/kg患者体重的剂量范围施用于有此需要的患者。

29. 用于根据权利要求28所述的用途的组合、组合物或试剂盒,其中在所述治疗中,将所述式I的化合物或其药用盐以40至80mg/kg患者体重的剂量范围施用于有此需要的患者。

30. 用于根据权利要求17至29中任一项所述的用途的组合、组合物或试剂盒,其中在所述治疗中,将所述III类受体酪氨酸激酶抑制剂以0.01至1mg/kg患者体重的剂量范围施用。

31. 用于根据权利要求30所述的用途的组合、组合物或试剂盒,其中将所述III类受体酪氨酸激酶抑制剂以0.1至0.25mg/kg患者体重的剂量范围施用。

32. 在有此需要的患者中治疗癌症的方法,其包括向所述患者施用根据权利要求1至14中任一项所述的组合、根据权利要求15所述的组合物或根据权利要求16所述的试剂盒。

33. 根据权利要求32所述的方法,其中所述癌症选自血液学癌症和乳腺癌。

34. 根据权利要求33所述的方法,其中所述血液学癌症选自多发性骨髓瘤、淋巴瘤和白

血病。

35. 根据权利要求34所述的方法, 其中所述白血病选自急性成淋巴细胞性白血病(ALL)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、急性髓性白血病(AML)、慢性髓性白血病(CML)、多毛细胞白血病(HCL)、T细胞前淋巴细胞白血病(T-PLL)、巨粒淋巴细胞白血病和T细胞急性成淋巴细胞性白血病。

36. 根据权利要求35所述的方法, 其中所述白血病是急性髓性白血病(AML)。

37. 根据权利要求34所述的方法, 其中所述多发性骨髓瘤选自活跃骨髓瘤、浆细胞瘤、轻链型骨髓瘤和非分泌性骨髓瘤。

38. 根据权利要求34所述的方法, 其中所述淋巴瘤选自霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤。

39. 根据权利要求33所述的方法, 其中所述乳腺癌选自低密蛋白肿瘤、基底细胞样肿瘤、人表皮生长因子受体2(HER2)阳性肿瘤、luminal A型肿瘤和luminal B型肿瘤。

40. 根据权利要求33所述的方法, 其中所述乳腺癌是三阴性乳腺癌。

41. 根据权利要求32至40中任一项所述的方法, 其中在所述方法中, 将所述式I的化合物或其药用盐和所述III类受体酪氨酸激酶抑制剂同时、顺序或分开施用。

42. 根据权利要求41所述的方法, 其中在所述方法中, 将所述式I的化合物或其药用盐和所述III类受体酪氨酸激酶抑制剂同时施用。

43. 根据权利要求32至42中任一项所述的方法, 其中将所述式I的化合物或其药用盐以10至100mg/kg患者体重的剂量范围施用于有此需要的患者。

44. 根据权利要求43所述的方法, 其中将所述式I的化合物或其药用盐以40至80mg/kg患者体重的剂量范围施用于有此需要的患者。

45. 根据权利要求32至44中任一项所述的方法, 其中将所述III类受体酪氨酸激酶抑制剂以0.01至1mg/kg患者体重的剂量范围施用于有此需要的患者。

46. 根据权利要求45所述的方法, 其中将所述III类受体酪氨酸激酶抑制剂以0.1至0.25mg/kg患者体重的剂量范围施用于有此需要的患者。

包含III类受体酪氨酸激酶抑制剂和烷基化组蛋白-脱乙酰酶抑制剂融合分子EDO-S101的药物组合及其在治疗癌症中的用途

技术领域

[0001] 本发明涉及用于治疗癌症如血液学癌症和乳腺癌的组合。

[0002] 发明背景

[0003] 癌症是最具有生命威胁的疾病之一。癌症是其中身体一部分中的细胞经历失控生长的病症。根据来自美国癌症协会的最新数据,估计在2014年美国将有167万新增癌症病例。癌症是美国第二大死因(仅次于心脏病)并且在2014年将夺去超过585,000条生命。实际上,预计生活在美国的50%的所有男人和33%的所有女人在他们的有生之年都将发展某种类型的癌症。因此,癌症构成重大的公共健康负担并且在美国导致了显著成本。这些数字在其他地方在全球大多数国家中反映,尽管癌症的类型和发展癌症的群体的相对比例取决于许多不同因素(如包括遗传和饮食)而变化。

[0004] 几十年来,外科手术、化疗和放射是针对各种癌症的确立的治疗。患者通常接受这些治疗的组合,这取决于他们疾病的类型和程度。但是,当外科手术治疗(即摘除患病组织)是不可能时,对于癌症患者而言化疗是最重要的选项。尽管外科手术有时有效摘除位于某些部位(例如,位于乳房、结肠和皮肤)的肿瘤,但是其不能用于治疗位于其他区域(如脊柱)的肿瘤,也不能用于治疗弥散性的血液学癌症,包括血液和形成血液的组织(如骨髓)的癌症。它们包括多发性骨髓瘤、淋巴瘤和白血病。放射疗法涉及将活组织暴露于电离辐射,导致被暴露的细胞的死亡或损伤。放射疗法的副作用可以是急性的和暂时性的,而其他可能是不可逆的。化疗涉及破坏细胞复制或细胞代谢。其最经常地用于治疗乳腺癌、肺癌和睾丸癌。该癌症治疗失败的主要原因之一是癌细胞的耐药性形成,这是可能导致疾病复发甚至死亡的一个严重问题。因此,需要更有效的癌症治疗。

[0005] 多发性骨髓瘤是一个显著和正在增长的问题。它是由浆细胞产生的癌症。正常浆细胞产生免疫球蛋白来抗击感染。在骨髓瘤中,浆细胞变得异常的、失控地增殖并且仅释放一种类型的抗体-已知为副蛋白-其不具有有益功能。它倾向于在骨髓中累积并且在血液中循环,并且也可以在尿中检测到。它影响其中骨髓在成人中具有正常活性的体内多个部位(因此‘多发性’骨髓瘤)。多发性骨髓瘤(或其也称作骨髓瘤)的主要形式有活跃骨髓瘤(active myeloma)、浆细胞瘤、轻链型骨髓瘤和非分泌性骨髓瘤。在2011年美国的新增骨髓瘤病例的数目为每年每100,000个男人和女人中6.1个,五年生存百分率为45%。预计在2014年美国新增病例的数目将超过24,000(所有癌症病例的1.4%),而在2014年的死亡数目将刚好超过11,000(所有癌症病例的1.9%)。

[0006] 在WO-A-2010/085377中,证明式I的化合物具有优异的针对多发性骨髓瘤细胞系的体外活性,活性在比苯达莫司汀(bendamustine)所示活性高□35-100的范围内。

[0007] 白血病是一类血液或骨髓癌症,特征在于未成熟白细胞(称为“胚细胞”)的异常增加。身体产生大量的这些无功能的胚细胞,而不是产生正常的、有功能的白细胞以抗击感染。白血病是涵盖广谱疾病的宽泛术语。它又是甚至更宽泛的一组影响血液、骨髓和淋巴样

系统的疾病(它们全部称为血液肿瘤)的一部分。最常见形式有急性成淋巴细胞性白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)、慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphocytic leukemia, CLL)、急性髓性白血病(acute myeloid leukemia, AML)和慢性髓性白血病(chronic myeloid leukemia, CML),较不常见的形式包括多毛细胞白血病(hairy cell leukemia, HCL)、T细胞前淋巴细胞白血病(T-cell prolymphocytic leukemia, T-PLL)、巨粒淋巴细胞白血病(large granular lymphocytic leukemia)和T细胞急性成淋巴细胞性白血病(T-cell acute lymphoblastic leukemia)。预计在2014年美国新增病例将超过52,000(美国所有新增癌症的3.1%),超过24,000死亡(美国所有癌症死亡的4.1%)。五年生存百分率目前为57.2%,该数字显著低于许多其他癌症,急性髓细胞白血病的五年存活率特别低,仅为20%。

[0008] 淋巴瘤是一种淋巴系统的癌症。存在两种主要类型的淋巴瘤,即霍奇金淋巴瘤(Hodgkin lymphoma)和非霍奇金淋巴瘤(non Hodgkin lymphoma)。

[0009] 非霍奇金淋巴瘤是最常见的淋巴瘤形式。淋巴系统贯穿身体运行,因此可能在几乎身体所有部分发现非霍奇金淋巴瘤。在非霍奇金淋巴瘤患者中,它们的白细胞中的一些(淋巴细胞)异常分裂。它们不具有像正常细胞那样的任何静止时间,它们开始持续分裂,因此生产过多。它们不像它们通常那样自然死亡。这些细胞在它们完全成熟之前开始分裂,因此不能与正常白细胞一样抵抗感染。所有的异常淋巴细胞开始在淋巴结或其他地方如骨髓或脾脏中聚集。然后,它们可以生长为肿瘤并且开始在它们生长所在的淋巴系统或器官内导致问题。例如,如果淋巴瘤在甲状腺中起始,则它可以影响甲状腺激素的正常生产。存在许多不同类型的非霍奇金淋巴瘤。它们可以以几种不同方式分类。一种方式是通过受影响的细胞的类型。在非霍奇金淋巴瘤中,两种类型的淋巴细胞可以被影响-B细胞和T细胞。这分类为B细胞淋巴瘤或T细胞淋巴瘤。大多数具有非霍奇金淋巴瘤的人具有B细胞淋巴瘤。T细胞淋巴瘤在青少年和年轻人中更常见。

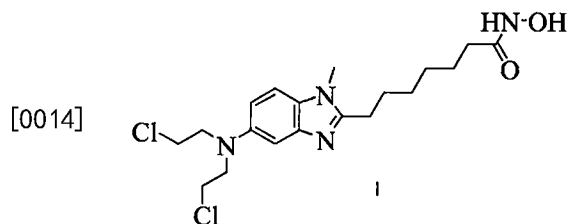
[0010] 霍奇金淋巴瘤细胞在显微镜下具有特殊的外观。这些细胞称为里-施(Reed Stenberg)细胞。非霍奇金淋巴瘤不具有里-施细胞。对于医生而言,重要的是能够分辨出霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤细胞之间的差异,因为它们是两种不同的疾病。在霍奇金淋巴瘤中,淋巴结中的细胞是癌变的。

[0011] 在2009年非霍奇金淋巴瘤患者的5年存活率%是63%,而霍奇金淋巴瘤的那些在相同期间的存活率为83%。

[0012] 乳腺癌是乳房组织中形成的癌症。最常见的乳腺癌类型是导管癌,其在输乳管(将乳汁从乳房小叶输送至乳头的细管)内膜中开始。另一种类型的乳腺癌是小叶癌,其在乳房的小叶(乳腺)中开始。乳腺癌可以分成亚类,如低密蛋白(claudin-low)肿瘤、基底细胞样(basal-like)肿瘤、人表皮生长因子受体2(HER2)阳性肿瘤、luminal A型肿瘤和luminal B型肿瘤。浸润性乳腺癌是已经从其在乳腺导管或小叶中起始之处扩散至周围正常组织的乳腺癌。乳腺癌在男人和女人都发生,但是男性乳腺癌很少。在2014年,估计有将近233,000个新增女性病例和2,400个男性病例,40,000个女性死亡和仅超过400个男性死亡。

[0013] 每100个乳腺癌女性中约15个具有三阴性乳腺癌,即是雌激素阴性的,孕酮阴性的和HER2阴性的。复发性三阴性乳腺癌是一种医疗需要高度未满足的病症,这是由于它具有侵袭性的生物学、耐药性的快速发展和缺乏分子靶标导致。直至现在,化疗仍然是晚期三阴

性乳腺癌的护理标准,中位整体存活率很差。在WO-A-2010/085377中,公开了以下式I的化合物。它是首创一类 (first-in-class) 双功能烷基化-HDACi融合分子,其有效地抑制HDAC途径。

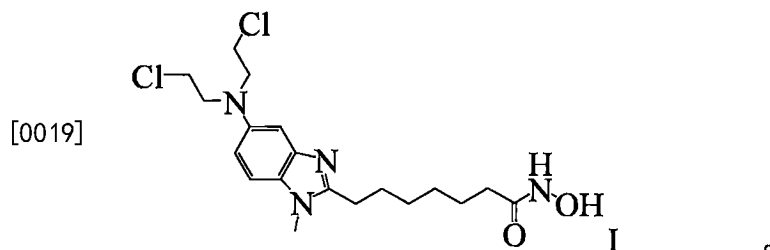


[0015] 生物学测定显示,式I的化合物有效地抑制HDAC酶 (HDAC1 IC₅₀为9nM),并且已经显示具有针对多发性骨髓瘤细胞系的优异的体外活性。

[0016] 需要更有效的癌症治疗,包括治疗乳腺癌和血液学癌症,如多发性骨髓瘤、淋巴瘤或白血病。目前,这些病症影响许多人,并且对于这些病症中的许多中长期预后并不好。

[0017] 发明概述

[0018] 在本发明的第一方面,提供了包含III类受体酪氨酸激酶抑制剂和式I的化合物或其药用盐的组合:



[0020] 我们已经发现,式I的化合物或其药用盐和III类受体酪氨酸激酶抑制剂如quizartinib的组合在治疗癌症如血液学癌症(例如,白血病,淋巴瘤和多发性骨髓瘤)和乳腺癌中特别有效,因此它们非常有希望来努力解决发现更有效的癌症治疗的问题。

[0021] 在本发明的第二方面,提供了药物组合物,其包含药用稀释剂或载体和根据本发明第一方面的组合。

[0022] 在本发明的第三方面,提供了试剂盒,其包含根据本发明第一方面的组合和任选地,治疗患者的使用说明。

[0023] 在本发明的第四方面,提供了根据本发明第一、第二或第三方面的组合、组合物或试剂盒,其用于治疗癌症,如血液学癌症和乳腺癌。

[0024] 在本发明的第五方面,提供了在有此需要的患者中治疗癌症的方法,其包括向所述患者施用根据本发明第一、第二或第三方面的组合、组合物或试剂盒。

[0025] 附图描述

[0026] 图1是对于每种测试的化合物,在单一化合物测试中(ED0-S101 vs 顺铂和quizartinib vs 顺铂),作为对照%的体外MV-4-11急性髓细胞白血病细胞存活%针对log IC₅₀的图表;

[0027] 图2是对于每种测试的化合物,在单一化合物测试中以及对于组合(ED0-S101, quizartinib及其组合),作为对照%的体外MV-4-11急性髓细胞白血病细胞存活%针对log IC₅₀的图表;

[0028] 图3是对于每种测试的化合物,在单一化合物测试中(ED0-S101 vs 顺铂,

quizartinib和ED0-S101vs quizartinib),作为对照%的体外Molm-13急性髓性白血病细胞存活%针对log IC50的图表;和

[0029] 图4是对于每种测试的化合物,在单一化合物测试中以及对于组合(ED0-S101, quizartinib及其组合),作为对照%的体外Molm-13急性髓性白血病细胞存活%针对log IC50的图表。

[0030] 发明详述

[0031] 在本发明中,使用许多通用术语和措词,其应该如下解释。

[0032] “动物”包括人,非人哺乳动物(例如,狗,猫,兔,牛,马,绵羊,山羊,猪,鹿等)和非哺乳动物(例如,鸟等)。

[0033] “药用盐”是指本发明化合物的盐,其是药学上可接受的,如上定义,并且具有所需的药理学活性。这些盐包括与无机酸或与有机酸形成的酸加成盐。药用盐还包括碱加成盐,其当存在的酸性质子能够与无机或有机碱反应时可以形成。通常,这样的盐可以例如通过将游离酸或碱形式的这些化合物与化学计算量的适当的碱或酸在水中或在有机溶剂中或在这两者的混合物中反应来制备。通常,优选非水性介质如乙醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈。酸加成盐的实例包括无机酸加成盐,如例如盐酸盐,氢溴酸盐,氢碘酸盐,硫酸盐,硫酸氢盐,氨基磺酸盐,硝酸盐,磷酸盐,和有机酸加成盐,如例如乙酸盐,三氟乙酸盐,马来酸盐,富马酸盐,柠檬酸盐,草酸盐,琥珀酸盐,酒石酸盐,水杨酸盐,甲苯磺酸盐,乳酸盐,萘磺酸盐,苹果酸盐,扁桃酸盐,甲磺酸盐和对甲苯磺酸盐。碱加成盐的实例包括无机盐,如例如,钠、钾、钙和铵盐,和有机碱盐,如例如乙二胺、乙醇胺、N,N-二亚烷基乙醇胺、三乙醇胺和碱性氨基酸盐。

[0034] 已经出人意料地发现,式I的化合物或其药用盐和III类受体酪氨酸激酶抑制剂如quizartinib的组合在治疗癌症方面特别有效,所述癌症包括血液学癌症如多发性骨髓瘤、白血病和淋巴瘤,和乳腺癌,因此它们高度有希望用于解决发现更有效的癌症治疗的问题。

[0035] 在本发明的组合中,式I的化合物的药用盐可优选为盐酸盐,氢溴酸盐,氢碘酸盐,硫酸盐,硫酸氢盐,氨基磺酸盐,硝酸盐,磷酸盐,柠檬酸盐,甲磺酸盐,三氟乙酸盐,谷氨酸盐,葡萄糖醛酸盐,戊二酸盐,苹果酸盐,马来酸盐,琥珀酸盐,富马酸盐,酒石酸盐,甲苯磺酸盐,水杨酸盐,乳酸盐,萘磺酸盐或乙酸盐,并且更优选乙酸盐。

[0036] 在本发明的组合中,III类受体酪氨酸激酶抑制剂优选为选自以下的III类酪氨酸受体激酶的抑制剂:FMS-相关酪氨酸激酶3 (FLT3/STK1)、集落刺激因子1受体(CSF-1R)、干细胞因子受体(SCFR)和血小板来源的生长因子受体(PDGFR)。

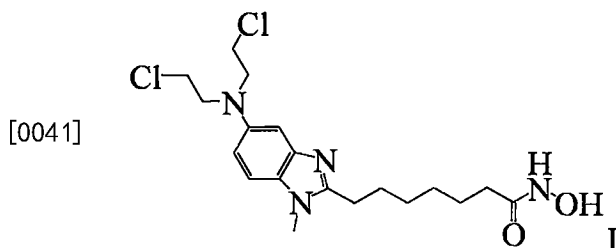
[0037] 优选地,所述III类受体酪氨酸激酶抑制剂是选自由以下组成的组的FMS-相关酪氨酸激酶3 (FLT3) 抑制剂:quizartinib、舒尼替尼、linifanib、foretinib、星状孢子素(staurosporine)和坦度替尼(tandutinib),并且更优选其为quizartinib。

[0038] 在另一个优选的包含式I的化合物或其药用盐和III类受体酪氨酸激酶抑制剂的本发明的组合中,所述组合可以进一步包含一种或多种另外的药物活性剂。特别适合的药用活性剂是与所述式I的化合物或其药用盐和III类受体酪氨酸激酶抑制剂具有不同作用模式的抗肿瘤剂,例如烷化剂,如亚硝基脲(nitrosureas)、乙烯亚胺(ethylenimines)、烷基磺酸盐、胍和三嗪,和基于铂的药剂;植物生物碱、紫杉烷类、长春花生物碱;抗肿瘤抗生素,如色霉素、蒽环霉素,和其他抗生素,如丝裂霉素和博来霉素;抗代谢药,如叶酸拮抗剂,

嘧啶拮抗剂,嘌呤拮抗剂和腺苷脱氨酶抑制剂;糖皮质激素如地塞米松;蛋白酶体抑制剂如硼替佐米(bortezomib)和卡非佐米(carfilzomib),拓扑异构酶抑制剂,如拓扑异构酶I抑制剂,拓扑异构酶II抑制剂,其他抗肿瘤剂如核糖核苷酸还原酶抑制剂,肾上腺皮质类固醇抑制剂,抗微管剂和维甲类;蛋白激酶;热休克蛋白,多-ADP(腺苷二磷酸)-核糖聚合酶(PARP)、缺氧诱导因子(HIF)、蛋白酶体、Wnt/Hedgehog/Notch信号转导蛋白、TNF- α 、基质金属蛋白酶、法呢基转移酶、凋亡途径、组蛋白脱乙酰基酶(HDAC)、组蛋白酰基转移酶(HAT)和甲基转移酶;激素疗法、血管破坏剂、基因治疗、RNAi癌症疗法、化学保护剂、抗体缀合物、癌症免疫疗法如白介素-2、癌症疫苗或单克隆抗体;和优选地DNA损伤剂、抗代谢药、拓扑异构酶抑制剂、抗微管剂、糖皮质激素、蛋白酶体抑制剂、EGFR抑制剂、HER2抑制剂、VEGFR2抑制剂、BRAF抑制剂、Bcr-Abl抑制剂、PDGFR抑制剂、ALK抑制剂、PLK抑制剂、MET抑制剂、表观遗传学药物、HSP90抑制剂、PARP抑制剂、CHK抑制剂、芳香酶抑制剂、雌激素受体拮抗剂和靶向VEGF、HER2、EGFR、CD50、CD20、CD30、CD33等的抗体。

[0039] 在本发明组合的一个实施方案中,所述组合的式I的化合物或其药用盐和III类受体酪氨酸激酶抑制剂适合同时、顺序或分开施用。优选地,所述组合的式I的化合物或其药用盐和III类受体酪氨酸激酶抑制剂适合于同时施用。

[0040] 在本发明组合的一个实施方案中,所述III类受体酪氨酸激酶抑制剂是quizartinib并且所述式I的化合物或其药用盐是



[0042] 或其乙酸盐。

[0043] 在本发明的组合中,所述III类受体酪氨酸激酶抑制剂与式I的化合物或其药用盐的摩尔比典型地为1:2000至2000:1。优选地,在所述组合中,III类受体酪氨酸激酶抑制剂与式I的化合物或其药用盐的摩尔比为1:2000至1:100,更优选在所述组合中,III类受体酪氨酸激酶抑制剂与式I的化合物或其药用盐的摩尔比为1:1000至1:500,并且最优选其为1:900至1:500,例如1:900,1:800,1:700,1:600或1:500。

[0044] 一个特别优选的本发明的组合包含式I的化合物或其乙酸盐和quizartinib,其中在所述组合中,quizartinib与式I的化合物或其乙酸盐的摩尔比为1:900至1:500,例如1:900,1:800,1:700,1:600或1:500。

[0045] 已经出人意料地发现,许多包含quizartinib和式I的化合物或其药用盐的组合是协同组合。换句话说,该组合的功效已经使用Calculusyn软件(biosoft,Ferguson,MO,USA)测量,所述软件是基于Chou Talay方法(Chou等,Adv.Enzyme Regul.,22,27-55(1984)),所述方法计算具有以下解释的组合指数(CI):

[0046] $CI > 1$:拮抗作用, $CI = 1$:加和作用,和 $CI < 1$ 协同作用。

[0047] 对于许多包含quizartinib和式I的化合物或药用盐的本发明的二元组合,发现CI小于1,表明协同作用。

[0048] 根据本发明第二方面的药物组合物包含药用稀释剂或载体和根据本发明第一方

面的组合。第二方面的优选组合物包括包含以上描述和例举的本发明的优选组合的那些。

[0049] 根据本发明第二方面的药物组合物的药用稀释剂或载体可以是任何适当的分散剂,赋形剂,辅剂,或用作本发明组合活性剂的载体并且不干扰所述组合中存在的活性剂的其他材料。典型的药用载体和稀释剂的实例可以参见E.W.Martin的"Remington's Pharmaceutical Sciences",这些包括水,盐水,葡萄糖溶液,血清溶液,林格氏溶液、聚乙二醇(例如PEG400),表面活性剂(例如Cremophor),环多糖(例如,羟丙基- β -环糊精或磺丁基醚 β -环糊精)、聚合物、脂质体、胶束、纳米球等。

[0050] 在本发明的第三方面,提供试剂盒,其包含根据本发明第一方面的组合和任选地治疗患者的使用说明。典型地,试剂盒可以包含式I的化合物或其药用盐和III类受体酪氨酸激酶抑制剂以及治疗患者的使用说明。每种活性剂可以在适当的容器中提供。试剂盒可以另外包含递送系统,其例如用于式I的化合物或其药用盐和III类受体酪氨酸激酶抑制剂或它们的组合。

[0051] 使用说明可以建议根据诸如以下变量同时、顺序或分开施用所述III类受体酪氨酸激酶抑制剂和式I的化合物或其药用盐:被治疗的具体病症,病症状态,使用的具体化合物的活性;使用的具体组合;患者的年龄,体重,整体健康,性别和饮食;给药时间,给药途径和使用的具体化合物的排泄率;治疗持续时间;与使用的具体化合物组合或同时使用的药物;和医药领域公知的类似因素。

[0052] 根据本发明第三方面的优选试剂盒包括包含如上所述和例举的本发明优选组合的那些。

[0053] 在本发明的第四方面中,提供了根据本发明第一、第二或第三方面的组合、组合物或试剂盒,其用于治疗癌症。

[0054] 在本发明的第五方面中,提供了在有此需要的患者中治疗癌症的方法,其包括向所述患者施用根据本发明第一、第二或第三方面的组合、组合物或试剂盒。

[0055] 已经发现,本发明的组合、组合物和试剂盒在体内和体外针对各种各样的肿瘤细胞类型都是高度有效的。本发明的这些二元组合和本发明的组合物和试剂盒中的组合显示的抗肿瘤活性在许多情况下不仅仅是加和的,而是显示显著小于1的组合指数CI,表明这些组合的协同作用。这种出人意料的发现进一步支持本发明的组合、组合物和试剂盒在治疗癌症中特别有效。

[0056] 通过本发明的组合、组合物和试剂盒能够治疗的癌症的实例包括血液学癌症如多发性骨髓瘤,淋巴瘤和白血病,乳腺癌,肺癌,结直肠癌,前列腺癌,睾丸癌,胰腺癌,肝癌,胃癌,胆管癌,食道癌,胃肠道基质瘤,宫颈癌,卵巢癌,子宫癌,肾癌,黑素瘤,基底细胞癌,鳞状细胞癌,膀胱癌,肉瘤,间皮瘤,胸腺瘤,骨髓增生异常综合征,成胶质细胞瘤和骨髓增生性疾病。具体地,本发明的组合、组合物和试剂盒针对血液学癌症如多发性骨髓瘤、淋巴瘤和白血病和乳腺癌有效。

[0057] 在根据本发明第四方面用于治疗癌症的组合、组合物或试剂盒或根据本发明第五方面的治疗方法的一个实施方案中,癌症选自血液学癌症和乳腺癌。

[0058] 当本发明的组合、组合物或试剂盒用于治疗血液学癌症时,这可以优选选自多发性骨髓瘤(例如,活跃骨髓瘤(active myeloma)、浆细胞瘤(plasmacytoma)、轻链型骨髓瘤(light chain myeloma)或非分泌性骨髓瘤(non-secretory myeloma)),淋巴瘤(例如,霍

奇金淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤)和白血病[急性成淋巴细胞性白血病(ALL)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、急性髓细胞白血病(AML,包括成髓细胞白血病,急性前髓细胞白血病,急性髓单核细胞白血病,急性单核细胞白血病,急性红白血病和急性巨核细胞白血病,以及在包括复发和难治阶段的所有阶段中可治疗的所有形式)、慢性髓性白血病(CML)、多毛细胞白血病(hairy cell leukemia,HCL)、T细胞前淋巴细胞白血病(T-PLL)、巨粒淋巴细胞白血病或T细胞急性成淋巴细胞性白血病]。特别优选的是用于治疗急性髓性白血病(AML)的组合。

[0059] 当本发明的组合、组合物或试剂盒是用于治疗乳腺癌时,乳腺癌可以典型地选自低密蛋白(claudin-low)肿瘤、基底细胞样(basal-like)肿瘤、人表皮生长因子受体2(HER2)阳性肿瘤、luminal A型肿瘤和luminal B型肿瘤,并且其优选为三阴性乳腺癌。

[0060] 在根据本发明用于治疗癌症的组合、组合物或试剂盒和根据本发明治疗癌症的方法的一个优选实施方案中,III类受体酪氨酸激酶抑制剂和式I的化合物或其药用盐被同时、顺序或分开施用。更优选地,III类受体酪氨酸激酶抑制剂和式I的化合物或其药用盐被同时施用。

[0061] 在用于治疗癌症的组合、组合物或试剂盒中和根据本发明的治疗癌症的方法中,将式I的化合物或其药用盐典型地以10至100mg/kg患者体重的剂量范围,和优选以40至80mg/kg患者体重的剂量范围,施用于有此需要的患者。典型地,将III类受体酪氨酸激酶抑制剂以0.01至1mg/kg患者体重的剂量范围施用,并且优选地,将其以0.1至0.25mg/kg患者体重的剂量范围施用。

[0062] 根据本发明的组合、组合物或试剂盒的治疗有效量是所述组合、组合物或试剂盒的以下量,所述量以适用于任何药物治疗的合理的效益/风险比赋予所治疗的受试者以根据本发明第四和第五方面的治疗效果。治疗效果可以是客观的(即,通过某种测试或标记可测量的)或主观的(即,受试者给出效果指示或感觉)。认为根据本发明的组合、组合物或试剂盒的有效量是这样的量,其中式I的化合物或其盐以10至100mg/kg患者体重(例如40至80mg/kg体重如40、50、60、70或80mg/kg体重)的剂量范围包括在组合中,并且III类受体酪氨酸激酶抑制剂以0.1至0.25mg/kg患者体重(例如0.1,0.15,0.2或0.25mg/kg患者体重)的剂量范围施用。

[0063] 有效量将根据给药途径以及与其他活性剂的共同使用的可能性而变化。然而,应当理解,本发明的组合、组合物和试剂盒的总日剂量将由主治医师在合理的医学判断范围内决定。对于任何具体患者的特定治疗有效剂量水平将取决于各种因素而变化,所述因素包括被治疗的病症和病症严重性;使用的具体化合物的活性;使用的具体组合;患者的年龄,体重,整体健康,性别和饮食;给药时间,给药途径和使用的具体化合物的排泄率;治疗持续时间;与使用的具体化合物组合或同时使用的药物;和医药领域公知的类似因素。

[0064] 本发明还涉及根据本发明的第一、第二或第三方面的组合、组合物或试剂盒在制备药物中的用途,所述药物用于治疗癌症,例如用于治疗血液学癌症或乳腺癌。

[0065] 本发明组合、组合物或试剂盒的适当给药形式的实例非限制性地包括口服、局部、肠胃外、舌下、直肠、阴道、经眼和鼻内。肠胃外给药包括皮下注射,静脉内、肌内、胸骨内注射或输注技术。优选地,将所述组合、组合物和试剂盒肠胃外施用。可以配制本发明的组合、组合物和试剂盒,以便允许本发明的组合或组合物在将组合、组合物或试剂盒施用于动物(优选人)之后可生物利用。组合物可以采用一个或多个剂量单位的形式,其中例如,片剂可

以是单剂量单位,气溶胶形式的本发明的组合或组合物的容器可以容纳多个剂量单位。

[0066] 优选地,本发明的组合以试剂盒的形式提供。典型地,试剂盒包括式I的化合物或其药用盐和III类受体酪氨酸激酶抑制剂。在某些实施方案中,试剂盒可以包括一种或多种递送系统,例如III类受体酪氨酸激酶抑制剂、式I的化合物或其药用盐或它们的组合,和使用试剂盒的指导(例如,治疗受试者的使用说明)。这些指示/使用说明可以建议根据以下变量同时、顺序或分开施用所述组合的III类受体酪氨酸激酶抑制剂和式I的化合物或其药用盐,所述变量诸如被治疗的具体病症,病症状态,使用的具体化合物的活性;使用的具体组合;患者的年龄,体重,整体健康,性别和饮食;给药时间,给药途径和使用的具体化合物的排泄率;治疗持续时间;与使用的具体化合物组合或同时使用的药物;和医药领域公知的类似因素。

[0067] 药用稀释剂或载体可以是颗粒的,以便组合物是例如片剂或粉剂形式。载体可以是液体,所述组合、组合物或试剂盒是例如口服糖浆或注射液。另外,载体可以是气态的,以提供气溶胶组合物,用于例如吸入器给药。这样的药用载体可以是液体,如水和油,包括石油、动物、植物或合成来源的那些,如花生油,大豆油,矿物油,芝麻油等。载体可以是盐水,阿拉伯树胶,明胶,淀粉糊,滑石,角蛋白,胶态氧化硅,脲等。另外,可以使用辅助剂,稳定剂,增稠剂,润滑剂和着色剂。在一个实施方案中,当施用于动物时,本发明的组合、组合物或试剂盒和药用载体是无菌的。当静脉内施用本发明的组合、组合物或试剂盒时,水是优选的载体。盐水溶液和葡萄糖溶液和甘油溶液也可以用作液体载体,特别是用于注射液。适当的药用载体还包括赋形剂,如淀粉,葡萄糖,乳糖,蔗糖,明胶,麦芽,大米,面粉,白垩,硅胶,硬脂酸钠,单硬脂酸甘油酯,滑石,氯化钠,脱脂奶粉,甘油,丙二醇,水,乙醇等。本发明的组合物,如果需要,还可以含有少量的润湿剂或乳化剂,或pH缓冲剂。

[0068] 当意欲用于口服给药时,组合、组合物或试剂盒可以是固体或液体形式,其中半固体、半液体、混悬液和凝胶形式被包括在本文中考虑为固体或液体的形式内。

[0069] 作为用于口服给药的固体组合物,所述组合、组合物或试剂盒可以配制成粉末、颗粒、压缩片剂、药丸、胶囊、口香糖、糯米纸囊剂等形式。该固体组合物典型地含有一种或多种惰性稀释剂,作为包含所有活性剂的单一片剂或作为各自包含本发明组合单一活性剂的多个分开的固体组合物(在试剂盒的情形中)。另外,可以存在以下中的一种或多种:粘合剂如羧甲基纤维素,乙基纤维素,微晶纤维素,或明胶;赋形剂,如淀粉,乳糖或糊精,崩解剂,如海藻酸,海藻酸钠,玉米淀粉等;润滑剂,如硬脂酸镁;助流剂,如胶体二氧化硅;甜味剂,如蔗糖或糖精;调味剂如薄荷油,水杨酸甲酯或橙味调味剂;和着色剂。

[0070] 当所述组合、组合物或试剂盒是胶囊形式(例如,明胶胶囊)时,除了上述类型的材料以外,它还可以含有液体载体,如聚乙二醇,环糊精或脂肪油。

[0071] 所述组合,组合物或试剂盒可以是液体形式,例如酏剂、糖浆、溶液剂、乳剂或混悬剂。该液体可以用于口服给药或者用于注射递送。当意欲用于口服给药时,组合、组合物或试剂盒可以包含甜味剂、防腐剂、染料/着色剂和增香剂中的一种或多种。在用于注射给药的组合或组合物中,还可以包括表面活性剂、防腐剂、润湿剂、分散剂、悬浮剂、缓冲剂、稳定剂和等张剂中的一种或多种。

[0072] 优选的给药途径是肠胃外给药,包括但不限于,皮内,肌内,腹膜内,静脉内,皮下,鼻内,硬膜外,鼻内,脑内,心室内,鞘内,阴道内或透皮。优选的给药方式留待执业医师判

断,并且部分取决于医学病症的部位(如癌症部位)。在更优选的实施方案中,静脉内施用本发明的当前组合、组合物和试剂盒。

[0073] 本发明的液体组合和组合物,无论它们是溶液、混悬液或其他类似形式,也可以包括以下中的一种或多种:无菌稀释剂,如注射用水,盐水溶液,优选生理盐水,林格氏溶液,等张氯化钠,固定油,如合成甘油单酯或二酯,聚乙二醇,甘油,或其他溶剂;抗细菌剂,如苯甲醇,或对羟基苯甲酸甲酯;和用于调节张力的试剂,如氯化钠或右旋糖。肠胃外组合或组合物可以被包封在由玻璃、塑料或其他材料制成的安瓿管、一次性注射器或多剂量小瓶中。生理盐水是优选的辅剂。

[0074] 对于给药(例如静脉内),组合或组合物可以典型地包含剂量范围为10至100mg/kg患者体重并且优选40至80mg/kg患者体重的式I的化合物或其盐。典型地,所述组合或组合物可以包含剂量范围为0.1至1mg/kg患者体重和优选0.1至0.25mg/kg患者体重的III类受体酪氨酸激酶抑制剂。

[0075] 可以配制本发明的组合,以使所述组合的III类受体酪氨酸激酶抑制剂和式I的化合物或其药用盐适合于同时、顺序或分开施用。优选地,将它们同时施用。

[0076] 可以通过任何便利的途径,例如通过输注或推注,通过上皮或皮肤黏膜衬里吸收,施用本发明的组合、组合物或试剂盒。

[0077] 在具体实施方案中,理想的是将一种或多种本发明的组合、组合物或试剂盒或者组合、组合物或试剂盒局部施用于需要治疗的区域。在一个实施方案中,通过直接注射于癌症、肿瘤或肿瘤性(neoplastic)或前肿瘤性(pre-neoplastic)组织的部位(或之前的部位)来进行给药。

[0078] 例如通过使用吸入器或雾化器,用雾化剂配制,或通过碳氟化合物或合成的肺表面活性剂中灌注,也可以采用肺给药。在某些实施方案中,本发明的组合、组合物或试剂盒或组合物可以用传统的粘合剂和载体如甘油三酯配制为栓剂。

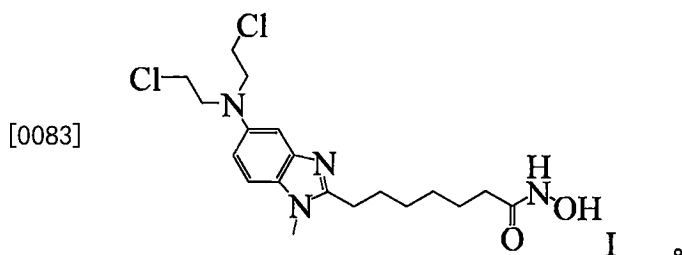
[0079] 本发明的组合、组合物或试剂盒可以采取以下形式:溶液剂,混悬剂,乳剂,片剂,丸剂,小丸,胶囊,含有液体的胶囊,粉末剂,缓释制剂,栓剂,乳剂,气溶胶,喷雾剂,混悬剂,或适合使用的任何其他形式。适当药物载体的其他实例描述在E.W.Martin的"Remington's Pharmaceutical Sciences"中。

[0080] 药物组合、组合物或试剂盒可以使用药学领域公知的方法制备。例如,意欲通过注射施用的组合物可以通过将本发明的组合或组合物与水组合以形成溶液来制备。可以加入表面活性剂来促进均匀溶液或混悬剂的形成。

[0081] 本发明的组合、组合物和试剂盒在治疗癌症方面特别有效。已经显示本发明的组合、组合物和试剂盒在体内和体外对于各种各样的肿瘤细胞类型都具有高活性,使得它们特别有希望用于开发在治疗癌症,例如血液学癌症和乳腺癌中的用途。

实施例

[0082] 在以下实施例中,将具有下式I的化合物称为ED0-S101:



[0084] 实施例1ED0-S101组合体外-急性髓性白血病细胞系MV-4-11

[0085] 在补充有10%胎牛血清 (FBS) 的培养基中在37℃的温度下在5%CO₂和95%湿度下培养急性髓性白血病细胞系MV-4-11 (获自ATCC)。培养基购自GIBCO, USA。将细胞铺平板于96-孔平底透明黑色聚苯乙烯TC处理微量滴定板 (Cat#3603, **Corning**[®]) 上。

[0086] 测试的化合物是ED0-S101和quizartinib, 以及参比对照顺铂。使用的装置是EnVision多标记读取器, PerkinElmer (USA)。CO₂水套式培养箱, Thermo (USA)。倒置显微镜, Chongguang XDS-1B, Chongqing Guangdian Corp. (Chongqing, P.R.China)。

[0087] 在对数生长期期间分别收获细胞, 并用血细胞计数器计数。通过锥虫蓝拒染法 (trypan blue exclusion), 细胞存活率为98%以上。

[0088] 对于单一药物测试, 用补充有10%FBS的培养基将细胞浓度调整为 4.44×10^4 个细胞/ml。将90μl细胞悬浮液加入96孔平板, 以使最终细胞密度为 4×10^3 个细胞/孔。按照我们第一次测试的结果, 确定和调节适当的细胞密度。

[0089] 次日, 制备10μl (10x) 药物溶液并将其分散在各孔中 (每个药物浓度一式三份)。在72小时温育后, 将100ul **CellTiter-Glo**[®]试剂加入各孔。将内容物在定轨摇床上混合2分钟以诱导细胞裂解。使得平板在室温温育10分钟以稳定发光信号。最后, 使用EnVision多标记读取器记录发光。

[0090] 对于二种药物组合测试, 用补充有10%FBS的培养基将细胞浓度调整为 5.00×10^4 /ml。将80μl细胞悬浮液加入96孔平板, 以使最终细胞密度为 4×10^3 个细胞/孔。按照我们第一次测试的结果, 确定和调节适当的细胞密度。

[0091] 次日, 制备10μl (10x) 的每种药物溶液并同时分散在各孔中 (每个浓度一式三份)。在72小时温育后, 将100ul **CellTiter-Glo**[®]试剂加入各孔。将内容物在定轨摇床上混合2分钟以诱导细胞裂解。使得平板在室温温育10分钟以稳定发光信号。然后, 使用EnVision多标记读取器记录发光。

[0092] 使用GraphPad Prism 5.0用图表显示数据。为了计算IC₅₀, 使用具有S形剂量反应的非线性回归模型拟合剂量反应曲线。存活率公式显示如下, 并且通过GraphPad Prism 5.0自动生成IC₅₀。

[0093]
$$\text{存活率}(\%) = (\text{Lum}_{\text{测试物}} - \text{Lum}_{\text{培养基对照}}) / (\text{Lum}_{\text{未处理}} - \text{Lum}_{\text{培养基对照}}) \times 100\%$$

[0094] 化合物相互作用通过多药效应分析计算, 并且按照Chou和Talalay (Chou等, Adv. Enzyme Regul., 22, 27-55 (1984)) 描述的方法, 从每种药物的每个药物比率浓度下的平均影响分数, 通过中位数方程原理使用CalcuSyn软件进行, 其计算具有以下解释的组合指数 (CI):

[0095] CI > 1: 拮抗作用, CI = 1: 加和作用, 和CI < 1 协同作用。

[0096] 从每种药物的每个药物比率浓度下的平均影响分数, 计算CI。

[0097] 在图1中的%存活细胞vs.测试药物的对数浓度的图表中(单一药物测试),对照顺铂和EDO-S101的IC₅₀值分别为0.9607和0.6675,而quizartinib和顺铂的那些分别为0.0008043和1.256。

[0098] 图2显示了%存活细胞vs.测试药物log IC₅₀的图表,显示了EDO-S101和quizartinib组合的优异组合活性。这在以下表1中的CI值中证实:

[0099]

药物	组合比率	CI 值			DRI 值		
		ED50	ED75	ED90	ED50	ED75	ED90
EDO-S101 + Quizartinib	1:0.00120494	1.07686	0.89385	0.76789	1.263 3.511	1.368 6.146	1.482 10.760

[0100] 表1

[0101] 如可以从CI值中看出,EDO-S101和quizartinib的组合在其针对急性髓性白血病MV-4-11细胞系的活性方面显示了协同作用。

[0102] 实施例2EDO-S101组合体外-急性髓性白血病细胞系MOLM-13

[0103] 在补充有10%FBS的培养基中在37℃的温度下在5%CO₂和95%湿度下培养急性髓性白血病细胞系MOLM-13(获自ATCC)。培养基购自GIBCO,USA。将细胞铺平板于96-孔平底透明黑色聚苯乙烯TC处理微量滴定板(Cat#3603,Corning®)上。

[0104] 测试的化合物是EDO-S101和quizartinib,以及参比对照顺铂。使用的装置是EnVision多标记读取器,PerkinElmer(USA)。CO₂水套式培养箱,Therma(USA)。倒置显微镜,Chongguang XDS-1B,Chongqing Guangdian Corp.(Chongqing,P.R.China)。

[0105] 在对数生长期期间分别收获细胞,并用血细胞计数器计数。通过锥虫蓝拒染法,细胞存活率为98%以上。

[0106] 对于单一药物测试,用补充有10%FBS的培养基将细胞浓度调整为 4.44×10^4 个细胞/ml。将90μl细胞悬浮液加入96孔平板,以使最终细胞密度为 4×10^3 个细胞/孔。按照我们第一次测试的结果,测定和调节适当的细胞密度。

[0107] 次日,制备10μl(10x)药物溶液并分散在各孔中(每个药物浓度一式三份)。在72小时温育后,将100u1CellTiter-Glo®试剂加入各孔。将内容物在定轨摇床上混合2分钟以诱导细胞裂解。使得平板在室温温育10分钟以稳定发光信号。最后,使用EnVision多标记读取器记录发光。

[0108] 对于二药物组合测试,用补充有10%FBS的培养基将细胞浓度调整为 5.00×10^4 /ml。将80μl细胞悬浮液加入96孔平板,以使最终细胞密度为 4×10^3 个细胞/孔。按照我们第一次测试的结果,测定和调节适当的细胞密度。

[0109] 次日,制备10μl(10x)的每种药物溶液并同时分散在各孔中(每个浓度一式三份)。在72小时温育后,将100u1CellTiter-Glo®试剂加入各孔。将内容物在定轨摇床上混合2分钟以诱导细胞裂解。使得平板在室温温育10分钟以稳定发光信号。然后,使用EnVision多标记读取器记录发光。

[0110] 使用GraphPad Prism 5.0用图表显示数据。为了计算IC₅₀,使用具有S形剂量反应

的非线性回归模型拟合剂量反应曲线。存活率公式显示如下,并且通过GraphPad Prism 5.0自动生成IC₅₀。

[0111] 存活率(%) = (Lum_{测试物} - Lum_{培养基对照}) / (Lum_{未处理} - Lum_{培养基对照}) × 100%。

[0112] 化合物相互作用是通过多药效应分析计算的,并且按照Chou和Talalay描述的方法,从每种药物的每个药物比率浓度下的平均影响分数,通过中位数方程原理使用CalcuSyn软件进行,其计算具有以下解释的组合指数(CI):

[0113] CI > 1:拮抗作用,CI = 1:加和作用,和CI < 1协同作用。

[0114] 从每种药物的每个药物比率浓度下的平均影响分数,计算CI。

[0115] 在图3中的%存活细胞vs.测试药物的对数浓度的图表中(单一药物测试),对照顺铂、EDO-S101和quizartinib的IC₅₀值分别为1.151、和0.7079和0.002112,而使用不同剂量(1:2连续稀释)的EDO-S101和quizartinib的那些分别为1.720和0.004546。

[0116] 图4显示了%存活细胞vs.测试化合物log IC₅₀的图表,显示了EDO-S101和quizartinib组合的优异组合活性。这在以下表2中的CI值中证实:

药物	组合比率	CI 值			DRI 值		
		ED50	ED75	ED90	ED50	ED75	ED90
EDO-S101 + Quizartinib	1:0.00264302	0.689	0.480	0.338	4.768 2.087	5.925 3.215	8.534 6.645

[0118] 表2

[0119] 如可以从CI值中看出,EDO-S101和quizartinib的组合在其针对急性髓性白血病MOLM-13细胞系的活性方面显示了协同作用。

[0120] 综上,可以看出,式I的化合物(EDO-S101)与III类受体酪氨酸激酶抑制剂如quizartinib组合,在体外和体内针对急性髓性白血病作用方面,都显示了优异的活性。另外,可以看出,这些组合的活性是出人意料地协同的。预期这些组合具有针对各种各样的血液学癌症(不仅仅白血病,而且有其他血液学病症,如淋巴瘤和多发性骨髓瘤)的活性。我们还认为这些组合可能具有针对其他癌症如乳腺癌的活性。

[0121] 结果,预期本发明的式I的化合物与III类受体酪氨酸激酶抑制剂的组合可用于治疗癌症,特别是血液学癌症和乳腺癌。

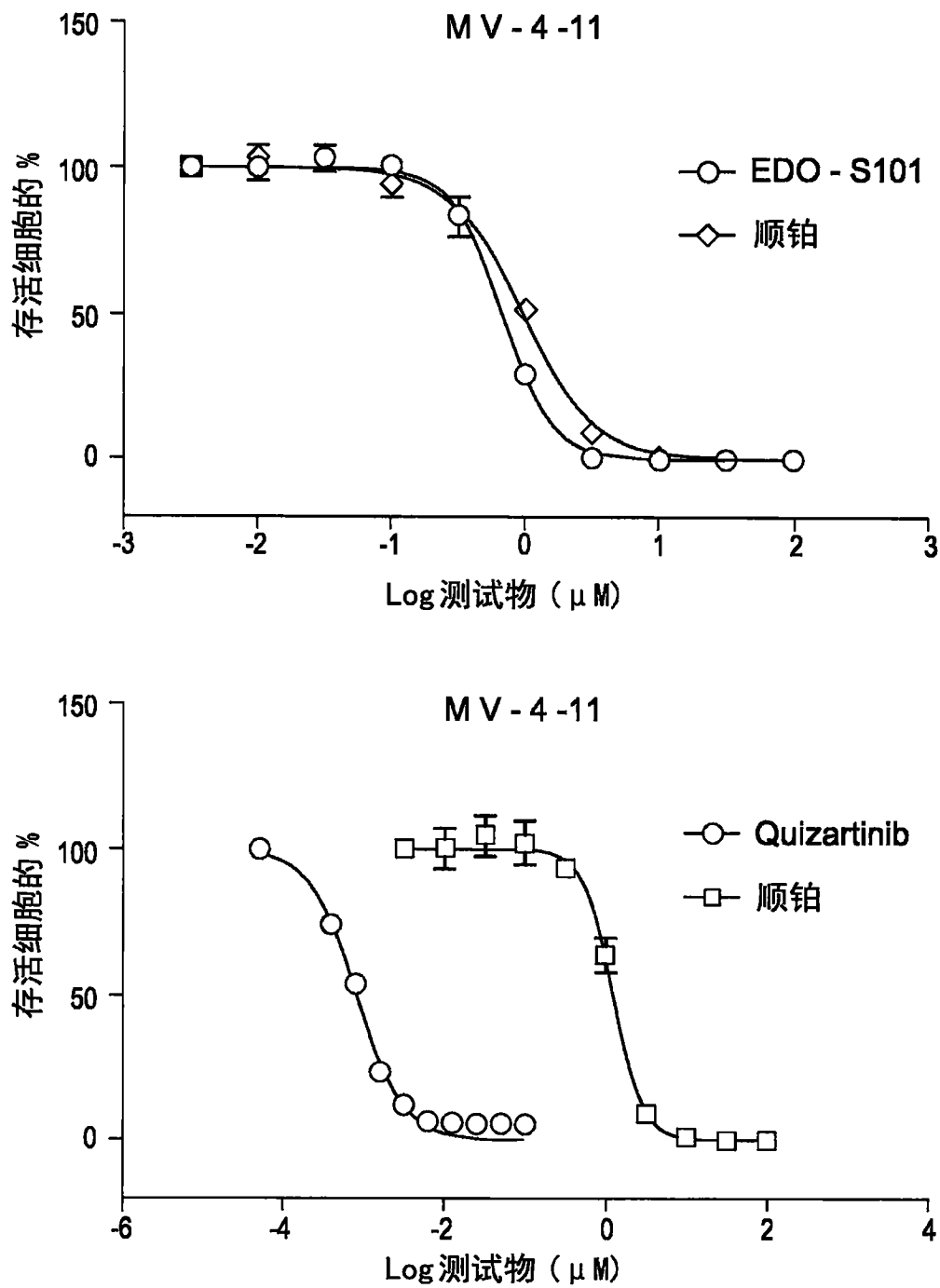


图1

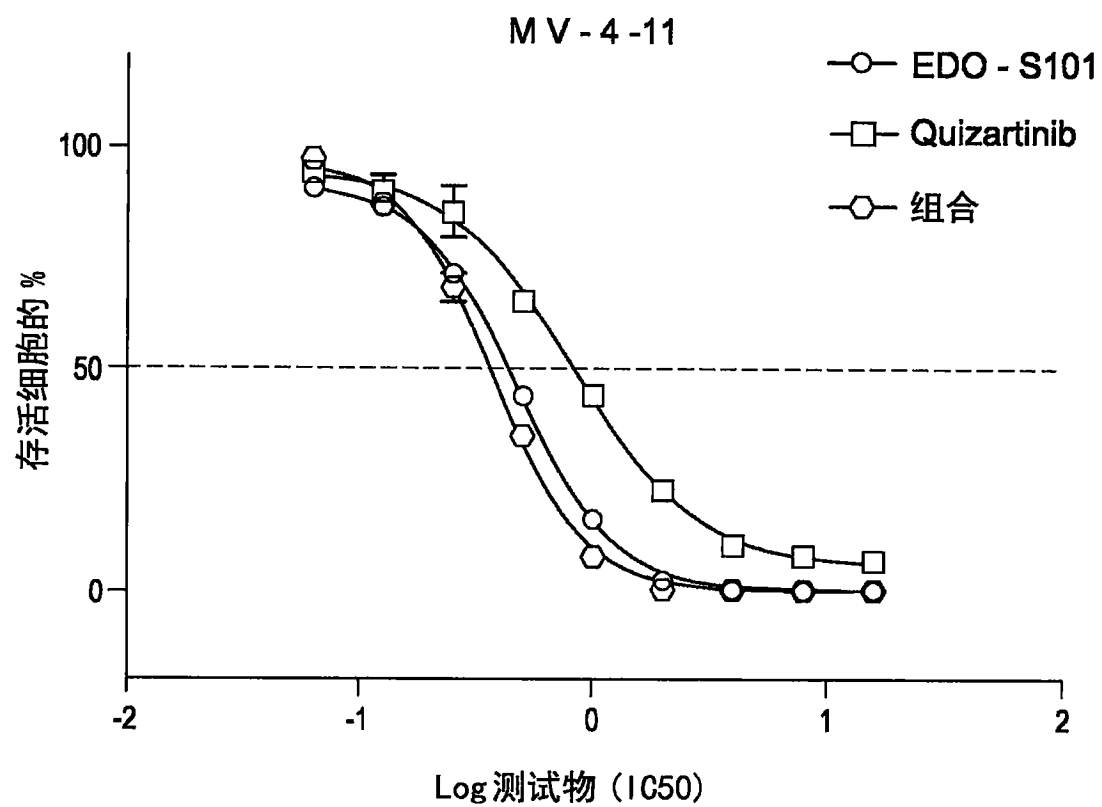


图2

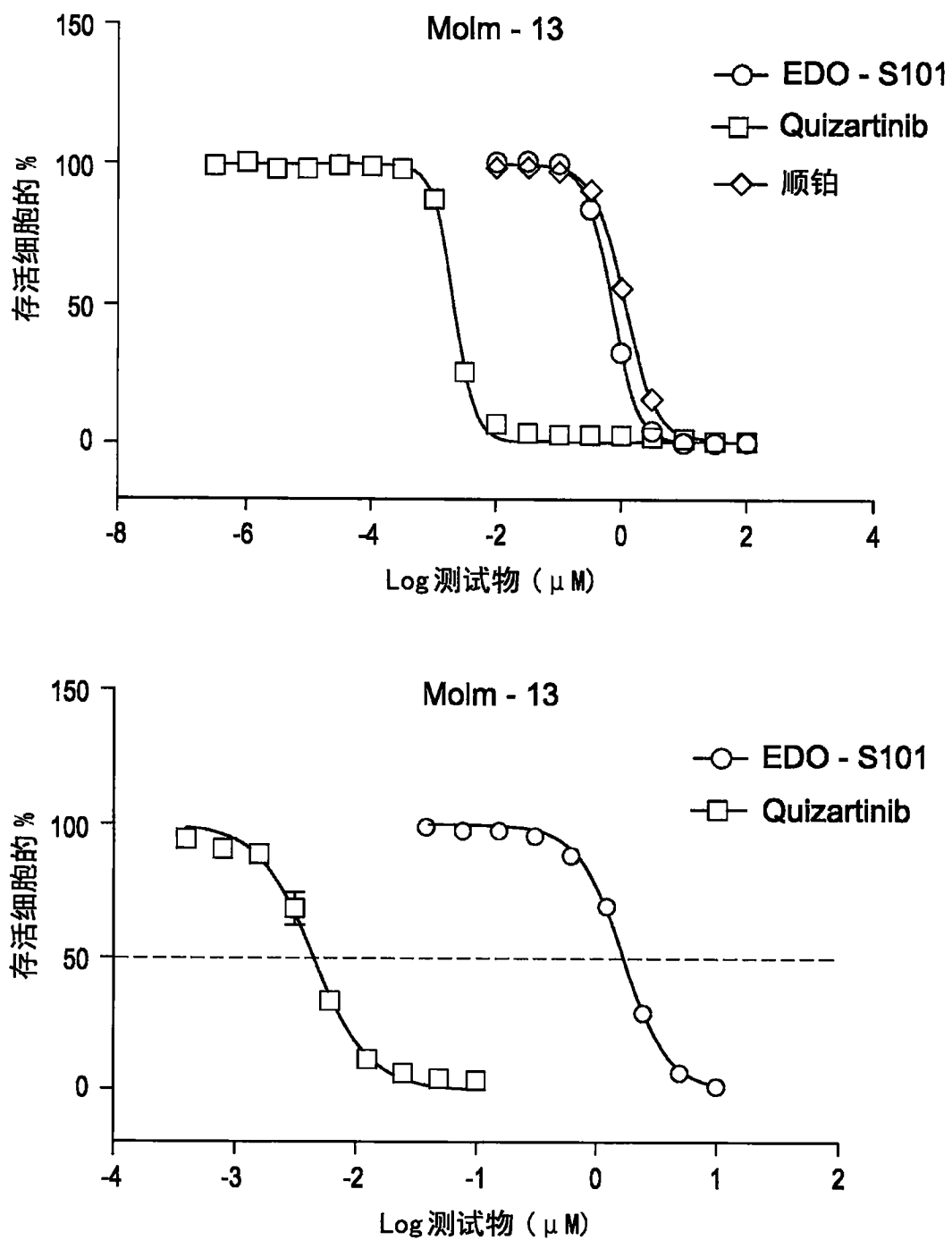


图3

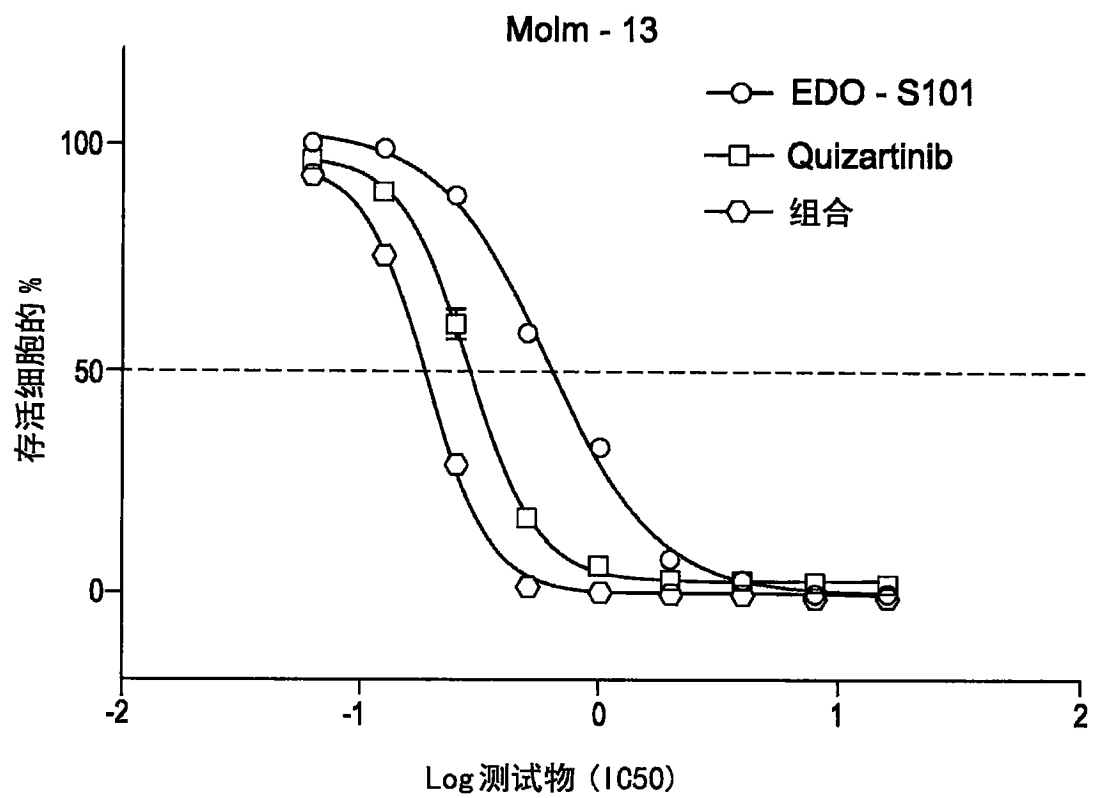


图4