

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发 明 专 利 说 明 书

专利号 ZL 03803734.3

[51] Int. Cl.

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61K 31/497 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

[45] 授权公告日 2010 年 2 月 24 日

[11] 授权公告号 CN 100591355C

[22] 申请日 2003.2.14 [21] 申请号 03803734.3

[30] 优先权

[32] 2002.2.14 [33] US [31] 60/356,912

[86] 国际申请 PCT/EP2003/001507 2003.2.14

[87] 国际公布 WO2003/068265 英 2003.8.21

[85] 进入国家阶段日期 2004.8.12

[73] 专利权人 达纳 - 法伯癌症研究公司

地址 美国马萨诸塞州

[72] 发明人 C·D·斯泰尔斯

C·加西亚 - 埃切维里亚

[56] 参考文献

CN1040926A 1990.4.4

CN1128496A 1996.8.7

CN1071586A 1993.5.5

CN1237582A 1999.12.8

审查员 曹 维

[74] 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

代理人 黄革生 隋晓平

权利要求书 1 页 说明书 23 页 附图 3 页

[54] 发明名称

治疗过度增殖疾病的组合物及其制药用途

[57] 摘要

本发明涉及一种组合，它含有 (a) 组织非特异性生长因子受体抑制剂和 (b) 组织特异性生长因子受体抑制剂，它们同时的、并行的、单独的或先后的使用，尤其是用于治疗哺乳动物 (特别是人) 的过度增殖疾病，例如尤其是癌症。本发明还涉及一种含有该组合的药物组合物和一种用该组合治疗过度增殖疾病 (例如尤其是癌症) 的方法。本发明还进一步涉及一种含有该组合的商业包或产品。

1. 同时的、并行的、单独的或先后使用组织非特异性生长因子受体抑制剂或其药学上可接受的盐与组织特异性生长因子受体抑制剂或其药学上可接受的盐的组合在制备用于治疗胶质细胞瘤的药物中的用途，其中所述的组织非特异性生长因子受体抑制剂是反式-5-(3-苄氧基-苯基)-7-(3-吡咯烷-1-基甲基-环丁基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺或其盐，并且组织特异性生长因子受体抑制剂是 4-(4-甲基哌嗪-1-基甲基)-N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基)-嘧啶-2-基氨基]-苯基]-苯甲酰胺或其盐。

2. 一种用于治疗胶质细胞瘤的产品，它含有(a) 反式-5-(3-苄氧基-苯基)-7-(3-吡咯烷-1-基甲基-环丁基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺或其盐，和 (b) 4-(4-甲基哌嗪-1-基甲基)-N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基)-嘧啶-2-基氨基]-苯基]-苯甲酰胺或其盐，以及指导同时的、并行的、单独的或先后的使用它们治疗胶质细胞瘤的说明书。

治疗过度增殖疾病的组合物及其制药用途

技术领域

本发明描述了使用相互之间有协同作用的信号转导抑制剂的组合来治疗过度增殖疾病的方法和组合物，结果对该组合的抗增殖反应超过了对分别使用抑制剂时的反应。

背景技术

人和动物的细胞增殖受生长因子、趋化因子、细胞活素或白细胞介素等小多肽激素的调控。在下文中，这些蛋白都统一称作“生长因子”。很久以来人们就发现，人和动物的体内细胞增殖受多种生长因子的组合促进。典型的组合包括一种具有相对的组织特异性作用的生长因子和另外一种对广范围的组织都有作用的生长因子。

组织特异性生长因子的特定例子包括血小板衍生的生长因子(PDGF)、神经生长因子(NGF)、集落刺激因子 1(CSF1)和红细胞生成素(EPO)。这些生长因子的作用都是组织选择性的，因为它们发生作用所需要的相应受体蛋白只是在人和其他动物的很少组织中表达。例如，PDGF 受体在成纤维细胞、平滑肌细胞和少量的其他结缔组织单元中表达，但是在上皮细胞中不表达。NGF 受体在神经顶突细胞中表达，但是在成纤维细胞、平滑肌细胞和结缔组织中不表达。

对广范围的组织都有作用的生长因子的特定例子是胰岛素类生长因子(IGF1) [IGF1 也被称作不可抑制的胰岛素类活性(NSILA1)和“生长调节素 C”。现在优选使用术语 IGF1，这里也如此使用。但是，在这里引用的一些早期的文献中是使用术语“生长调节素 C”]。实际上，IGF1 的特异性受体蛋白在所有的人和动物细胞以及所有的在体内增殖时需要 IGF 受体作用的细胞中都有表达。因此，IGF1 和胰岛素(它在高浓度下可以替代

IGF1 来活化 IGF1 受体)是商业销售的用于在无血清条件下支持细胞生长的培养基的主要组分。

在病理条件下,组织特异性生长因子和 IGF1 等生长因子都与过度增殖疾病状态有关。例如,PDGF 与某些癌症、冠状动脉粥样硬化斑内的平滑肌细胞增殖有关。IGF1 过度表达与肢端肥大症和前列腺癌有关。

作为生长因子调节细胞增殖功能的结果,能够抑制外层细胞表面的生长因子受体活性或抑制细胞内信号产生蛋白功能的化合物可以用于抑制细胞生长。

通过使用编号为 STI-571、化学名为 4-(4-甲基哌嗪-1-基甲基)-N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基)-嘧啶-2-基氨基]-苯基]-苯甲酰胺的化合物,可以成功的抑制 PDGF 受体。STI-571 在 EP 0 564 409 中公开,以甲烷磺酸盐的形式,特别是以优选的 β -结晶的形式,在 WO99/03854 中,也称作伊马替尼(Imatinib)、格列卫(Glivec)或 Gleevec。Gleevec 也抑制血统特异性生长因子受体的活化,该生长因子受体与 PDGF 受体(即 kit receptor)密切相关。而且 Gleevec 还抑制细胞质信号产生蛋白 abl 的活性。在病理学上,蛋白 abl 与人慢性骨髓白血病密切相关。与 PDGF 和 kit receptors 相似,abl 是有络氨酸特异性蛋白激酶活性的蛋白。Gleevec 是一种至少暂时用于治疗癌症的新治疗剂。自 2001 年 5 月 FDA 批准以来,已经证明 Gleevec 可以有有效的治疗人的慢性骨髓白血病和肠胃基质瘤。Gleevec(在下文中称为“STI-571”)构成本发明的特别有用的组织特异性生长因子受体抑制剂。

WO 02/092599 描述了可作为有效的 IGF1 受体抑制剂的化合物,其中包括反式-5-(3-苄氧基-苯基)-7-(3-吡咯烷-1-基甲基-环丁基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺(在下文中称作“ADW”)。这些 IGF1 受体抑制剂是本发明的特别有用的组织非特异性生长因子受体抑制剂。

发明内容

本发明涉及一种组合,它含有(a)组织非特异性生长因子受体抑制剂,和(b)组织特异性生长因子受体抑制剂,它们可以同时的、并行的、单独的

或先后的使用，特别是用于治疗过度增殖疾病，例如尤其是哺乳动物、特别是人的癌症。本发明还涉及一种含有所述组合的药物组合物和用所述组合治疗过度增殖疾病、尤其是癌症的方法。本发明还涉及一种含有所述组合的商业包或产品。

附图说明

参考附图并结合下面的详细说明可以更容易的理解本发明的前述特征，其中：

图 1 是含有暴露于不同量的 ADW 和 STI-571 的猴肉瘤病毒转化的 NIH/3T3(sis 3T3；其制备方法参见 Shamah 等, Mol. Cell. Biol. 13, 7203-7212, 1993;该 NIH/3T3 细胞可以从 ATCC 获得，其 ATCC 号为 CRL-1658) 成纤维细胞的 12 孔平板照片，以及这些化合物对生长抑制的协同作用。

图 2 显示了组合处理 U343 人胶质瘤细胞系 5 天后通过细胞计数测定的细胞存活分数(U343 细胞系参见 Senger 等, Cancer Research 62, 2131-2140, 2002, 和 Shamah 等, Mol. Cell. Biol. 13, 7203-7212, 1993)。细胞系显示组合处理会提高杀死率。

图 3 显示了用 ADW/STI-571 组合处理后的细胞存活分数。细胞存活通过使用 MTS 分析仪测定细胞存活率来确定。组合处理 sis 3T3 成纤维细胞得到提高的细胞杀死率(图 3A)。以 ADW 处理后的对照 ras-转化成纤维细胞(ras 3T3 cells；其制备方法参见 Feig L. A.和 Cooper G. M., Mol. Cell. Biol. 8, 2472-2478, 1988) 显示出减少的存活率，但是在实验的剂量范围内，单独使用 STI-571 或者与 ADW 组合使用都对存活率没有影响(图 3B)。

图 4 显示了 STI-571 和 ADW 抑制 sis 3T3 细胞生长的协同作用:(STI-571 的定量数据加扩展范围)。

具体实施方式

定义：在说明书和权利要求书中，除非另有说明，下面的术语具有所

指定的含义:

术语“组织非特异性生长因子受体抑制剂”和“组织特异性生长因子受体抑制剂”分别是指能够减小组织非特异性或特异性生长因子受体活性的任何分子。这些抑制剂可以包括例如结合到生长因子受体上的拮抗剂或结合到生长因子本身防止它结合到细胞表面受体上从而作为生长因子受体抑制剂的分子。它还包括生长因子受体络氨酸激酶活性的抑制剂, 和例如降低生长因子或它们的受体的表达水平、或抑制生长因子受体活化的“下游”信号的化合物。该抑制剂可以是合成的小分子、反义核酸或大分子, 大分子可以是多肽、类脂和/或多糖。

“组织非特异性生长因子受体”是指, 但不限于, IGF-1 受体、表皮生长因子受体和转化生长因子受体。

“组织特异性生长因子受体”是指, 但不限于, NGF 受体、成纤维细胞生长因子受体、血管内皮生长因子受体、脑源生长因子受体和 PDGF 受体。

本发明涉及一种组合, 它含有(a)组织非特异性生长因子受体抑制剂, 例如尤其是 IGF1 受体抑制剂, 和(b)组织特异性生长因子受体抑制剂, 例如尤其是 PDGF 受体抑制剂。

IGF1 受体抑制剂包括例如: 特异性抗体, 本领域已知的反义核酸(例如包括这里引作参考的 Blum 等, Biochemistry 2000, Vol. 39, pp. 15705-15712 所描述的 tyrphostin 在内的抑制剂)。

根据本发明, 使用的优选的 IGF1 受体抑制剂是 WO02/092599 所描述的那些, 特别还包括下述化合物或它们的盐:

顺式-7-(3-氨基甲基-环丁基)-5-(3-苄氧基-苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

反式-7-(3-氨基甲基-环丁基)-5-(3-苄氧基-苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

顺式-3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁烷甲酸二甲基酰胺;

反式-3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁烷甲酸二甲基酰胺;

顺式-3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁烷甲酸甲基酰胺;

反式-3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁烷甲酸甲基酰胺;

顺式-5-(3-苄氧基-苯基)-7-(3-二甲基氨基甲基-环丁基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

反式-5-(3-苄氧基-苯基)-7-(3-二甲基氨基甲基-环丁基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

顺式-5-(3-苄氧基-苯基)-7-(3-甲基氨基甲基-环丁基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

反式-5-(3-苄氧基-苯基)-7-(3-甲基氨基甲基-环丁基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

反式-N-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯(2,3-d)嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-胍;

顺式-N-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-胍;

反式-N-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-甲烷磺酰胺;

顺式-N-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-甲烷磺酰胺;

反式-N-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-4-甲氧基-苯磺酰胺;

反式-N-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-4-甲基-苯磺酰胺;

反式-N-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-4-硝基-苯磺酰胺;

丙烷-2-磺酸反式-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d] 嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-酰胺;

乙烷磺酸反式-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d] 嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-酰胺;

N-二甲基-磺酰胺反式-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-酰胺;

N-二甲基-磺酰胺顺式-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d] 嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-酰胺;

反式-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-氨基甲酸甲酯;

顺式-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-氨基甲酸甲酯;

反式-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-氨基甲酸 2-甲氧基-乙酯;

顺式-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-氨基甲酸 2-甲氧基-乙酯;

反式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-3-乙基-脲;

顺式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-3-乙基-脲;

反式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-3-丙基-脲;

顺式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-3-丙基-脲;

反式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-3-异丙基-脲;

顺式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-3-异丙基-脲;

反式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-3-丁基-脲;

顺式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-3-丁基-脲;

反式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-3-叔-丁基-脲;

顺式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-3-叔-丁基-脲;

反式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-3-苄基-脲;

反式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-3-(3-甲基-苄基)-脲;

顺式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-3-(3-甲基-苄基)-脲;

顺式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-3-(4-甲氧基-苄基)-脲;

反式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-3-(2-吗啉-4-基-乙基)-脲;

顺式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-3-(2-吗啉-4-基-乙基)-脲;

反式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-3-(2-二甲基氨基-乙基)-脲;

顺式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-3-(2-二甲基氨基-乙基)-脲;

反式-1-(3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基)-3-(3-吗啉-4-基-丙基)-脲;

顺式-1-(3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基)-3-(3-吗啉-4-基-丙基)-脲;

反式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-3-(3-二甲基氨基-丙基)-脲;

顺式-1-(3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基)-3-(3-二甲基氨基-丙基)-脲;

反式-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-脲;

顺式-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-脲;

反式-N-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-乙酰胺;

顺式-N-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-乙酰胺;

反式-N-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-异丁酰胺;

顺式-N-(3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基)-异丁酰胺;

反式-N-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-2,2-二甲基-丙酰胺;

顺式-N-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-2,2-二甲基-丙酰胺;

反式-N-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-2-哌啶-1-基-乙酰胺;

顺式-N-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-2-哌啶-1-基-乙酰胺;

反式-N-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-2-吗啉-4-基-乙酰胺;

顺式-N-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-2-吗啉-4-基-乙酰胺;

反式-N-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-乙酰胺;

顺式-N-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-乙酰胺;

反式-5-(3-苄氧基-苯基)-7-(3-吗啉-4-基甲基-环丁基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

反式-5-(3-苄氧基-苯基)-7-(3-哌啶-1-基甲基-环丁基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

反式-5-(3-苄氧基-苯基)-7-(3-吡咯烷-1-基甲基-环丁基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺(ADW);

反式-5-(3-苄氧基-苯基)-7-[3-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-环丁基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

反式-7-[3-(金刚烷-1-基氨基甲基)-环丁基]-5-(3-苄氧基-苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

反式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-哌啶-4-醇;

反式-7-(3-氮杂环庚烷-1-基甲基-环丁基)-5-(3-苄氧基-苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

反式-5-(3-苄氧基-苯基)-7-[3-(2,5-二甲基-吡咯烷-1-基甲基)-环丁基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

反式-7-(3-氮杂环丁烷-1-基甲基-环丁基)-5-(3-苄氧基-苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

反式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-哌啶-3-甲酸酰胺;

反式-5-(3-苄氧基-苯基)-7-[3-(4-吡啶-2-基-哌嗪-1-基甲基)-环丁基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

反式-5-(3-苄氧基-苯基)-7-(3-硫代吗啉-4-基甲基-环丁基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

反式-5-(3-苄氧基-苯基)-7-[3-(2,6-二甲基-吗啉-4-基甲基)-环丁基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

反式-(S)-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-吡咯烷-2-甲酸酰胺;

顺式-7-(3-氮杂环庚烷-1-基甲基-环丁基)-5-(3-苄氧基-苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

顺式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-哌啶-4-醇;

顺式-4-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-哌嗪-1-甲酸乙酯;

顺式-5-(3-苄氧基-苯基)-7-[3-(4-苯基-哌嗪-1-基甲基)-环丁基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

顺式-5-(3-苄氧基-苯基)-7-[3-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-环丁基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

顺式-5-(3-苄氧基-苯基)-7-(3-硫代吗啉-4-基甲基-环丁基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

顺式-5-(3-苄氧基-苯基)-7-[3-(2,6-二甲基-吗啉-4-基甲基)-环丁基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

顺式-(R)-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-吡咯烷-2-甲酸酰胺;

顺式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-哌啶-3-甲酸酰胺;

反式-N-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-2-乙氧基-乙酰胺;

反式-N-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-2-(2-甲氧基-乙氧基)-乙酰胺;

反式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-3-甲基-脲;

顺式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-3-甲基-脲;

反式-吡咯烷-1-甲酸{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-酰胺;

反式-哌啶-1-甲酸{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-酰胺;

反式-吗啉-4-甲酸(3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基)-酰胺;

反式-3-(3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基)-1,1-二甲基-脲;

反式-4-甲基-哌嗪-1-甲酸{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-酰胺;

反式-3-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-1,1-二乙基-脲;

反式-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-氨基甲酸 2-二乙基氨基-乙酯;

反式-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-氨基甲酸 2-吗啉-4-基-乙酯;

反式-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-氨基甲酸 2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-乙酯;

反式-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-氨基甲酸 2-二甲基氨基-乙酯;

反式-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-氨基甲酸乙酯;

反式-4-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-哌嗪-1-甲酸乙酯;

顺式-5-(3-苄氧基-苯基)-7-(3-吡咯烷-1-基甲基-环丁基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

顺式-7-(3-氮杂环丁烷-1-基甲基-环丁基)-5-(3-苄氧基-苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

反式-3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-6-溴-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁烷甲酸甲酯;

反式-3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-6-甲基-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁烷甲酸甲酯;

反式-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-6-甲基-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基}-甲醇;

顺式-3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-6-溴-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁烷甲酸甲酯;

顺式-3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-6-甲基-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁烷甲酸甲酯;

顺式-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-6-甲基-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基}-甲醇;

顺式-3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-6-乙基-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁烷甲酸甲酯;

反式-3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-6-乙基-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁烷甲酸甲酯;

顺式-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-6-乙基-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基}-甲醇;

反式-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-6-乙基-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基}-甲醇;

反式-5-(3-苄氧基-苯基)-6-甲基-7-(3-吡咯烷-1-基甲基-环丁基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

反式-5-(3-苄氧基-苯基)-6-甲基-7-[3-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-环丁基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

反式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-6-甲基-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-哌啶-4-醇;

反式-7-(3-氮杂环丁烷-1-基甲基-环丁基)-5-(3-苄氧基-苯基)-6-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

反式-5-(3-苄氧基-苯基)-6-甲基-7-{3-[(四氢-吡喃-4-基氨基)-甲基]-环丁基}-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

反式-((R)-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-6-甲基-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-吡咯烷-2-基)-甲醇;

顺式-5-(3-苄氧基-苯基)-6-甲基-7-(3-吡咯烷-1-基甲基-环丁基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

顺式-5-(3-苄氧基-苯基)-6-甲基-7-[3-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-环丁基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

顺式-7-(3-氮杂环丁烷-1-基甲基-环丁基)-5-(3-苄氧基-苯基)-6-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

顺式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-6-甲基-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-哌啶-4-醇;

顺式-((R)-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-6-甲基-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-吡咯烷-2-基)-甲醇;

顺式-5-(3-苄氧基-苯基)-6-乙基-7-(3-吡咯烷-1-基甲基-环丁基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

顺式-5-(3-苄氧基-苯基)-6-乙基-7-[3-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-环丁基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

顺式-7-(3-氮杂环丁烷-1-基甲基-环丁基)-6-乙基-5-{3-[(Z)-2-乙-(E)-亚基-己-3,5-二烯基氧基]-苯基}-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺;

顺式-1-{3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-6-乙基-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基}-哌啶-4-醇;

顺式-((R)-1-(3-[4-氨基-5-(3-苄氧基-苯基)-6-乙基-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-环丁基甲基)-吡咯烷-2-基)-甲醇; 和

顺式-5-(3-苄氧基-苯基)-6-乙基-7-{3-[(四氢-吡喃-4-基氨基)-甲基]-环丁基}-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺。

在这些化合物中，反式-5-(3-苄氧基-苯基)-7-(3-吡咯烷-1-基甲基-环丁基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基胺(ADW)是最优选的。这些化合物的制备参见 WO 02/092599。

根据本发明，使用的优选的 PDGF 受体抑制剂是 EP0564409 中描述的那些，并且最优选 4-(4-甲基哌嗪-1-基甲基)-N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基)-嘧啶-2-基氨基]-苯基]-苯甲酰胺(STI-571) 或其盐，特别是 WO99/03854 中描述的 β -结晶形式的甲烷磺酸盐。

本发明的组合可以用于治疗以过度增殖为特征的疾病。这种疾病包括癌症例如，实体瘤，如肺癌，特别是非小细胞肺癌、前列腺癌，肠胃基质瘤和胶质细胞瘤，以及白血病，包括慢性骨髓白血病(CML)和急性淋巴细胞白血病(ALL)。其他可以治疗的增殖疾病可以是非恶性的，例如动脉粥样硬化、血栓病、牛皮癣、硬化性皮炎(sclerodermitis)和纤维化。

另外，本发明的组合(例如这里示例的 STI-571 和 ADW)的协同作用在治疗下述原因引起的疾病方面也可以显示出有益的效果：移植例如异体移植，特别是组织排斥，例如特别是闭塞性的细支气管炎(OB)，即异体肺移植的慢性排斥。与没有 OB 的病人相比，有 OB 的病人经常表现为气管肺泡灌洗液中的 PDGF 浓度升高。这些化合物的组合也可以有效的治疗与血管平滑肌细胞迁移和增殖有关的疾病，例如再狭窄和动脉硬化。它们也能抑制血管发生。所有的这些过度增殖疾病都详细记载于 EP 0 564 409、WO 97/02266、WO 99/03854 和 WO 98/35958，或者上面提到的其他参考文献中。

尽管希望不受任何理论的限制，但是，申请人观察到协同作用的一个方面是，当组合使用组织特异性或非特异性的生长因子受体抑制剂时，可以包括用第一种抑制剂抑制细胞生长到细胞周期的特别阶段，然后用第二种抑制剂处理这些生长受到抑制的细胞。STI-571 是已经发现的能够停止肿瘤细胞生长的生长抑制剂。在某些情况下，肿瘤可以适应并绕过生长抑制。向生长受抑制的细胞添加具有特异性的细胞毒剂，可以阻碍绕过生长抑制的能力。申请人认为，对于细胞复制周期已经停止的目的细胞而言，

组织非特异性的生长因子受体活化抑制剂起了细胞毒剂的作用。例如, STI-571 是组织特异性的生长因子受体活化抑制剂的一个例子, 它是产生 CML 的致癌融合蛋白 bcr/abl 的有效抑制剂。但是, 在进行中的临床实验中发现, 危重的 CML 病人和复发的费城染色体阳性急性淋巴细胞白血病 (Ph⁺-ALL) 病人对 STI-571 只是显示出暂时反应, 然后有短时间的耐受性。预期可以通过与组织非特异性生长因子受体抑制剂如 IGF1 受体抑制剂 ADW 共同施用来避免该耐受性。

通过观察小分子的信号转导抑制剂 STI-571 和 ADW 对 sis 3T3 细胞、ras 3T3 细胞和 U343 神经胶质瘤细胞的影响, 发现组合抑制血小板衍生的生长因子受体信号和胰岛素类生长因子信号可以在体内协同抑制细胞生长。

猴肉瘤病毒转化的 NIH/3T3(sis 3T3)成纤维细胞能分泌一种有效的促生长活性剂, 它在促有丝分裂方面与血小板衍生的生长因子相当。分泌的 p28v-sis 通过活化 PDGF 受体来刺激 sis-转化的自分泌细胞的生长。

与 sis3T3 细胞中分泌蛋白通过细胞受体的激酶发生作用相比, 申请人发现单独或者一起使用 ADW 和 STI-571 都只对 ras 3T3 细胞产生很小的效果。这不值得奇怪, 因为虽然 ras 蛋白对于胰岛素介导的胞质激酶(Raf-1, MAPK 和 RSK) 的活化是必须的和充分的, 但是它们并不与这些药物相互作用, 也不受它们的抑制。膜结合的 Ras 活性的决定因素是它结合鸟嘌呤核苷酸 GDP 和 GTP 的能力。 <http://ethesis.helsinki.fi/julkaisut/laa/haart/vk/kivinen/review.html#1>。

第一方面, 本发明涉及一种组合, 例如组合制剂或药物组合物, 它含有(a)组织非特异性生长因子受体抑制剂, 特别是上文中提到的那些, 尤其是提到的优选的那些, 和(b)组织特异性生长因子受体抑制剂, 特别是上文中提到的那些, 尤其是提到的优选的那些, 其中活性成分(a)和(b)在每种情况下都是游离形式或药学上可接受的盐的形式, 可以同时的、并行的、单独的或先后的使用。

术语“组合制剂”特别定义为“药盒(kit of parts)”, 是指上面定义的

组分对(a)和(b)可以是剂量相互独立的,或者可以同时的、并行的、单独的或先后的使用不同量的组分(a)和(b)的不同固定组合。药盒的组分可以,例如,同时施用或先后交错施用,即以相同的或不同的时间间隔在不同的时间点施用药盒的组分。在组合制剂中,要施用的组分(a)和(b)总量的比例可以改变,例如以便适应要治疗的病人亚群的需要或单个病人的需要,因为病人会由于特殊疾病、病的严重程度、年龄、性别、体重等原因而有不同的需要。

在一个优选的方面,本发明涉及一种组合,它含有(a)组织非特异性生长因子受体抑制剂,特别是上文中提到的那些,尤其是提到的优选的那些,或这些抑制剂的药学上可接受的盐,和(b)组织特异性生长因子受体抑制剂,特别是上文中提到的那些,尤其是提到的优选的那些,或这些抑制剂的药学上可接受的盐,它用于治疗哺乳动物、尤其是人的疾病,特别是以细胞过度增殖为特征的疾病,例如尤其是癌症,特别是下述癌症:慢性骨髓白血病、急性淋巴细胞白血病、非小细胞肺癌、前列腺癌、肠胃基质瘤和胶质细胞瘤。

本发明上下文中的术语“治疗”是指预防性的治疗和治疗性的或改善病况的治疗,包括治疗有感染疾病风险或怀疑感染了疾病的病人以及患病的或确诊为有病症的病人。

在所披露的内容中,如果没有特别说明,在合适的和有利的情况下,提到的组织非特异性生长因子受体抑制剂和组织特异性生长因子受体抑制剂应当理解为包括所述化合物的游离形式或其盐,特别是药学上可接受的盐,或其任意结晶形式,包括水合物或溶剂化物。

在另一方面,本发明涉及组织非特异性生长因子受体抑制剂与组织特异性生长因子受体抑制剂组合在制备药物中的应用,所述组织非特异性生长因子受体抑制剂特别是指上文中提到的那些,尤其是提到的优选的那些,或其药学上可接受的盐,,所述组织特异性生长因子受体抑制剂特别是指上文中提到的那些,尤其是提到的优选的那些,或其药学上可接受的盐,所述药物用于治疗哺乳动物、尤其是人的疾病,特别是以细胞过度增殖为

特征的疾病，例如尤其是癌症，特别是下述癌症：慢性骨髓白血病、急性淋巴细胞白血病、非小细胞肺癌、前列腺癌、肠胃基质瘤和胶质细胞瘤。

本发明还涉及组织特异性生长因子受体抑制剂与组织非特异性生长因子受体抑制剂组合在制备药物中的应用，所述组织特异性生长因子受体抑制剂特别是指上文中提到的那些，尤其是提到的优选的那些，或其药学上可接受的盐，所述组织非特异性生长因子受体抑制剂特别是指上文中提到的那些，尤其是提到的优选的那些，或其药学上可接受的盐，所述药物用于治疗哺乳动物、尤其是人的疾病，特别是以细胞过度增殖为特征的疾病，例如尤其是癌症，特别是下述癌症：慢性骨髓白血病、急性淋巴细胞白血病、非小细胞肺癌、前列腺癌、肠胃基质瘤和胶质细胞瘤。

在进一方面，本发明涉及一种药物组合物，它含有(a)一个或多个单位剂量形式的组织非特异性生长因子受体抑制剂，特别是上文中提到的那些，尤其是提到的优选的那些，或其药学上可接受的盐，和(b)一个或多个单位剂量形式的组织特异性生长因子受体抑制剂，特别是上文中提到的那些，尤其是提到的优选的那些，或其药学上可接受的盐，以及至少一种药学上可接受的载体。

本发明还涉及本发明的组合在制备药物组合物中的应用，所述药物组合物用于治疗哺乳动物、尤其是人的疾病，特别是以细胞过度增殖为特征的疾病，例如尤其是癌症，特别是下述癌症：慢性骨髓白血病、急性淋巴细胞白血病、非小细胞肺癌、前列腺癌、肠胃基质瘤和胶质细胞瘤。

另一方面，本发明还涉及一种治疗哺乳动物、尤其是人的以细胞过度增殖为特征的疾病的方法，所述疾病例如尤其是癌症，特别是下述癌症：慢性骨髓白血病、急性淋巴细胞白血病、非小细胞肺癌、前列腺癌、肠胃基质瘤和胶质细胞瘤，它包括同时的、并行的、单独的或先后的给哺乳动物施用治疗有效量的(a)组织非特异性生长因子受体抑制剂，特别是上文中提到的那些，尤其是提到的优选的那些，或其药学上可接受的盐，和(b)组织特异性生长因子受体抑制剂，特别是上文中提到的那些，尤其是提到的优选的那些，或其药学上可接受的盐。

本发明还涉及一种商业包或产品，它含有(a)组织非特异性生长因子受体抑制剂，特别是上文中提到的那些，尤其是提到的优选的那些，或其药学上可接受的盐，和(b)组织特异性生长因子受体抑制剂，特别是上文中提到的那些，尤其是提到的优选的那些，或其药学上可接受的盐，以及指导同时的、并行的、单独的或先后的使用它们治疗哺乳动物、尤其是人的疾病的说明书，所述疾病特别是以细胞过度增殖为特征的疾病，例如尤其是癌症，特别是下述癌症：慢性骨髓白血病、急性淋巴细胞白血病、非小细胞肺癌、前列腺癌、肠胃基质瘤和胶质细胞瘤。

本发明还涉及一种商业包或产品，它含有组织非特异性生长因子受体抑制剂，特别是上文中提到的那些，尤其是提到的优选的那些，或其药学上可接受的盐，以及指导与组织特异性生长因子受体抑制剂、特别是上文中提到的那些、尤其是提到的优选的那些或其药学上可接受的盐联合使用用于治疗哺乳动物、尤其是人的疾病的说明书，所述疾病特别是以细胞过度增殖为特征的疾病，例如尤其是癌症，特别是下述癌症：慢性骨髓白血病、急性淋巴细胞白血病、非小细胞肺癌、前列腺癌、肠胃基质瘤和胶质细胞瘤，或者

本发明还涉及一种商业包或产品，它含有组织特异性生长因子受体抑制剂，特别是上文中提到的那些，尤其是提到的优选的那些，或其药学上可接受的盐，以及指导与非组织特异性生长因子受体抑制剂、特别是上文中提到的那些、尤其是提到的优选的那些或其药学上可接受的盐联合使用用于治疗哺乳动物、尤其是人的疾病的说明书，所述疾病特别是以细胞过度增殖为特征的疾病，例如尤其是癌症，特别是下述癌症：慢性骨髓白血病、急性淋巴细胞白血病、非小细胞肺癌、前列腺癌、肠胃基质瘤和胶质细胞瘤。

另一方面，本发明还涉及上文描述的组合、药物组合物、商业包或产品、应用或方法，其中所述组织非特异性生长因子受体抑制剂或组织特异性生长因子受体抑制剂还包括蛋白、小分子、反义核酸、多糖、类脂中的任意一种或其组合。

根据本发明，病人使用治疗有效量的组织非特异性生长因子受体抑制剂或组织特异性生长因子受体抑制剂，以治疗例如慢性骨髓白血病、急性淋巴细胞白血病、非小细胞肺癌、前列腺癌、肠胃基质瘤和胶质细胞瘤，每一种疾病都根据各药物的合适的剂量方案使用。本领域的普通技术人员有能力确定各组合组分的合适的药物有效量。

组织特异性的和非特异性的生长因子受体抑制剂可以通过本领域公知的方法制备和施用，例如上面引用的文献所描述的。如果它们在市场上可以得到，那么它们可以以销售时的形式施用。

可以按照下面的方法施用本发明的药物制剂：

剂量：药物组合物在制剂中含有约 0.0001% 至约 95% 的活性组分，单一剂型的剂量形式优选包括约 10% 至约 90% 的制剂，不是单一剂型的剂量形式优选包括约 10% 至约 60% 的每一组分。单位剂量形式，例如糖衣丸、片剂、安瓿、胶囊，含有约 5mg 至约 1.5g 的活性成分，优选约 5mg 至约 1g。

活性成分的剂量取决于要治疗的温血动物的种类、体重、年龄和个体状态、个体的药物代谢动力学环境、要治疗的疾病和给药途径。优选地，对于约 70kg 体重的患者，施用组分(a)和/或(b)的任何一种的日剂量是从约 10mg 至约 2500mg，更优选的是从约 50mg 至约 2000mg，最优选的是从约 100mg 至约 1500mg。儿童根据其皮肤表面积适当降低剂量(作为参考，70kg 体重的成年人的皮肤表面积是 1.73m^2)。

给药途径：制剂的施用可以是口服、包括粘膜施用的透皮施用或肠胃外施用。

制剂：药物组合物以已知的方式制备，例如通过常规的混合、制粒、成型、溶解或冻干工艺。例如，口服的药物组合物可以通过将活性组分与一种或多种固体或液体载体混合来获得，必要时，对得到的混合物进行造粒和加工混合物或药粒，如果必要或合适的话，还可加入另外的赋形剂，以分别形成药片或糖衣丸芯或溶液。

合适的载体特别是填充剂，例如糖，如乳糖、蔗糖、甘露醇或山梨醇，

纤维素制品和/或磷酸钙，如磷酸三钙或磷酸氢钙，和结合剂，例如淀粉，如玉米淀粉、小麦淀粉、水稻淀粉或马铃薯淀粉、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和/或聚乙烯吡咯烷酮，和/或，如果需要的话，还可加入崩解剂，例如上述的淀粉，还包括羧甲基淀粉，交联聚乙烯吡咯烷酮或褐藻酸或其盐，如褐藻酸钠。其他的赋形剂特别是流动调节剂和润滑剂，例如硅酸、滑石、硬脂酸或其盐，如硬脂酸镁或钙，和/或聚乙二醇，或其衍生物。

糖衣丸芯可以包以合适的任选的肠溶包衣，它可以使用浓缩的糖溶液，该糖溶液可以含有阿拉伯胶、滑石、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙二醇和/或二氧化钛，或者使用在合适的有机溶剂或溶剂混合物中的包衣溶液，或者如果是制备肠溶衣的话，则可以使用合适的纤维素制品的溶液，例如乙酰基纤维素邻苯二甲酸酯或羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯。染料和色素也可以添加到片剂或糖衣丸的包衣中，例如为了识别的目的或标记不同剂量的活性成分。

口服的药物组合物是干填的由明胶制成的胶囊或软封的由明胶和增塑剂制成的胶囊，增塑剂可以为如甘油或山梨醇。干填的胶囊可以含有粒状的组分(a) 和/或(b)，例如与下述物质混合在一起，填充剂如玉米淀粉，粘合剂和/或助流剂，如滑石或硬脂酸镁，并且在合适时，还可以加入稳定剂(参见上面的“合适的载体”)。在软胶囊中，活性成分优选溶解在或悬浮在合适的液体赋形剂中，例如脂肪油，“Lauroglycol” (Gattefossé S. A., Saint Priest, 法国), egelucire (Gattefossé S. A., Saint Priest, 法国)或芝麻油，石蜡油或液态聚乙二醇，例如 PEG 300 或 400(Fluka, 瑞士)或聚丙二醇，它们每一种中都还可以加入稳定剂或清洗剂，或者将活性成分溶解在或悬浮在含有上述可溶性载体的水中，该载体可以为如甲基纤维素或甘露醇。

其他口服形式是，例如，以常见方式制备的含有活性组分的溶液或糖浆剂，例如悬浮液形式，其浓度为约 0.001%至 20%，优选约 0.001%至 2%，或者施用时能够提供合适的单一剂量的相似浓度，例如 0.5 至 10ml。如果

合适，例如，还可以是用于制备饮料(shake)(如牛奶)的粉状的或液体的浓缩物。这种浓缩物也可以包装成单一剂量。

透皮给药系统也是可行的，特别是对于中性活性成分。合适的剂型包括，例如，重量占约 0.0001%至约 2%的活性成分。例如，制剂中含有约 2%至 99.9999%(或添加其他物质到 100%)的短链脂肪醇。合适的醇包括乙醇、异丙醇、丙二醇和甘油。这些制剂还可以包括通量增强剂。合适的通量增强剂包括，例如，癸基甲基亚砷、二甲基亚砷和环酮、内酯、酞和酯。一些这样的通量增强剂也增加了活性剂的保留，从而提高了它在皮肤中的浓度。对于用于直接(局部)治疗的制剂，例如局部应用于皮肤的制剂，优选使用通量增强剂，它不但会增大透皮通量，而且还提高组分(a)和/或(b)在皮肤中的保留。已经报道某些环酮和内酯增强剂能增强局部保留，所以在用于局部施用活性剂时优选这样的增强剂。在全身性治疗的制剂中，优选使用通量增强剂，它可以在增大通量的同时缩小活性成分的局部保留。

合适的直肠施用的药物组合物是，例如由活性成分和栓剂基质组成的栓剂。合适的栓剂基质是，例如天然的或合成的甘油三酯、石蜡烃、聚乙二醇或高级烷醇。

对于注射施用，包括合适的、尤其是水溶形式的活性成分的水溶液，例如水溶性盐的形式，可以不加入盐或者加入盐，例如氯化钠，和/或糖醇，例如甘露醇，或含有粘度增强物质的水注射悬浮液，例如羧甲基纤维素钠，山梨醇和/或葡聚糖，并且适当时，还可加入稳定剂。活性剂以及合适时添加的赋形剂，也可以是冻干剂的形式，它在肠胃外施用前通过添加合适的溶剂制成溶液。这样使用的溶液(例如肠胃外使用的)也可以用作输注溶液。

制剂可以包括任意的活性剂，它们是本领域已知的常规用于一定的临床目的的化合物中的一种或多种。这里描述的病症可以用活性剂或者它们的药用盐的组合来治疗。可以以有效量的制剂给需要这种治疗的温血动物(如人)预防性的或治疗性的施用，优选以药物组合物的形式。

实施例：用小分子的信号转导抑制剂 STI-571 和 ADW 的组合研究抑

制血小板衍生的生长因子受体信号和胰岛素类生长因子信号对细胞生长的协同作用

筛选分析: 使用 5×10^3 细胞/孔的 12 孔组织培养盘进行 STI-571 和 ADW 的不同剂量组合的效果分析。将细胞涂布在含有 DMEM 和 10% 胎牛血清(FBS)的生长培养基上并吸附过夜。培养基再替换为不同剂量组合的含 STI-571($0 \mu\text{M}$ 、 $1 \mu\text{M}$ 、 $3 \mu\text{M}$)和 ADW($0 \mu\text{M}$ 、 $0.1 \mu\text{M}$ 、 $0.3 \mu\text{M}$ 、 $1 \mu\text{M}$)的 DMEM + 5% 贫血小板的血浆(PPP)。每 48 小时替换含有试剂的培养基。在第 5 天和第 8 天, 去除培养基并对细胞进行固定, 用 0.5% 结晶紫的 70% 甲醇溶液染色。结果如图 1 所示。结晶紫染色的细胞在没有任何试剂的培养基中呈现为致密完整的单层。随着 STI-571 量的增加, 单层中细胞的浓度呈现可视性地减少。对于单独的 ADW, 也观察到类似的现象。但是, 当即使是以很小的量向细胞中添加 ADW 时, 中等水平的 STI-571($1.0 \mu\text{M}$)也会使细胞生长急剧减少。在 $1 \mu\text{M}$ 的 STI-571 和 $0.3 \mu\text{M}$ 的 ADW 的情况下, 几乎没有观察到细胞。观察到的这种协同作用对于治疗以细胞过度增殖为特征的疾病是一个重大发现。

定量的生长抑制分析: 对于定量分析细胞生长的抑制, 可以通过直接计数残余的细胞数目(图 2)或基于 MTS 四氮唑化合物的减少导致的水溶性甲月替在 490 nm 处吸光度的改变进行细胞存活率分析(Promega CellTiter Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay), 测定组合使用 STI-571 和 ADW 的效果(图 3 和 4)。

对于细胞计数分析, 将 5×10^3 个细胞涂布到 100mm 细胞培养盘, 让其在 DMEM+10%FBS 中如上所述吸附过夜, 用 DMEM+5% PPP 中的试剂处理, 以一式三份进行。每 48 小时替换培养基和试剂。在第 5 天, 用胰蛋白酶消化细胞, 用血球计数器计数。图 2 显示了当 ADW 与 STI-571 一起用于 U343 人胶质瘤细胞时, 存活细胞数目急剧减少(图 2)。

对于基于 MTS 的细胞存活性分析, 将 5×10^3 个细胞涂布到 24 孔盘中的 DMEM + 10% FBS 过夜。然后将培养基替换为含有合适浓度的 STI-571 和/或 ADW 的 DMEM+5%PPP。每个条件以一式三份进行。处理后, 每

48 小时替换培养基和试剂，并使用 MTS 分析估计存活细胞的存活分数。图 3 表明，用 ADW 和 STI-571 组合处理 sis 3T3 成纤维细胞能提高细胞杀死率(图 3A)。在实验的剂量范围内，对照 ras-转化的成纤维细胞(ras 3T3 细胞)在用 ADW 处理后显示出降低的存活率，但是单独使用 STI-571 或与 ADW 组合使用对存活率都没有影响(图 3B)。在图 4 中，STI-571 的浓度是变化的，而 ADW 的浓度是恒定在 $1\ \mu\text{M}$ (下面的线)或 $0\ \mu\text{M}$ (上面的线)，观察到惊人的协同作用。

图 1

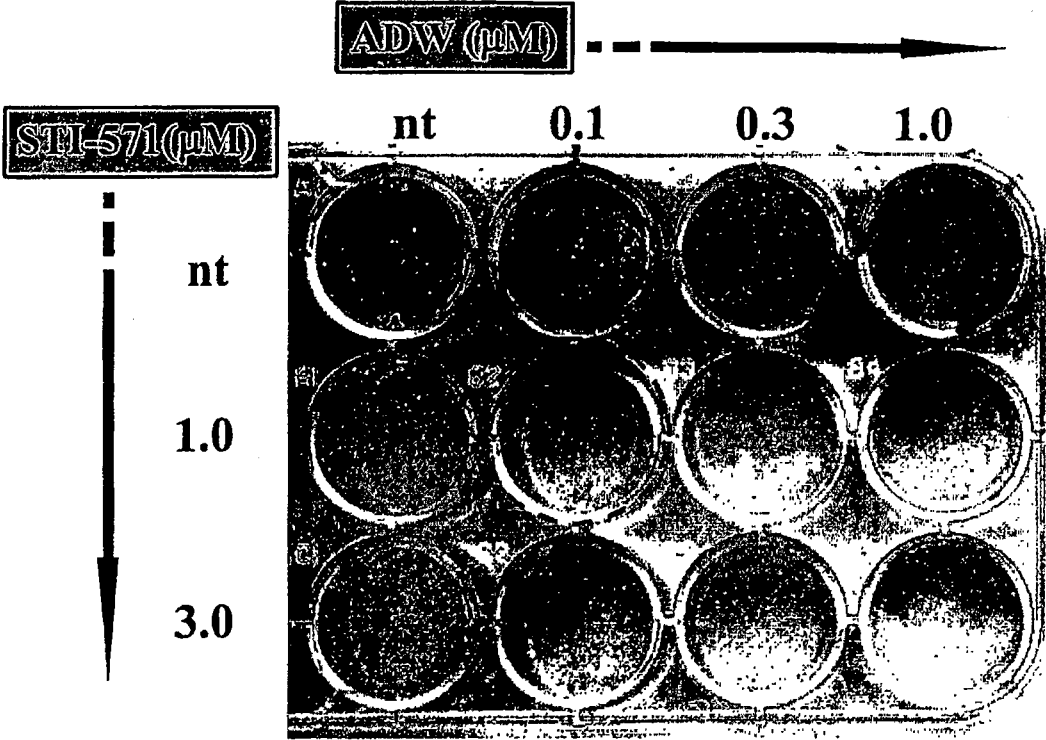


图 2

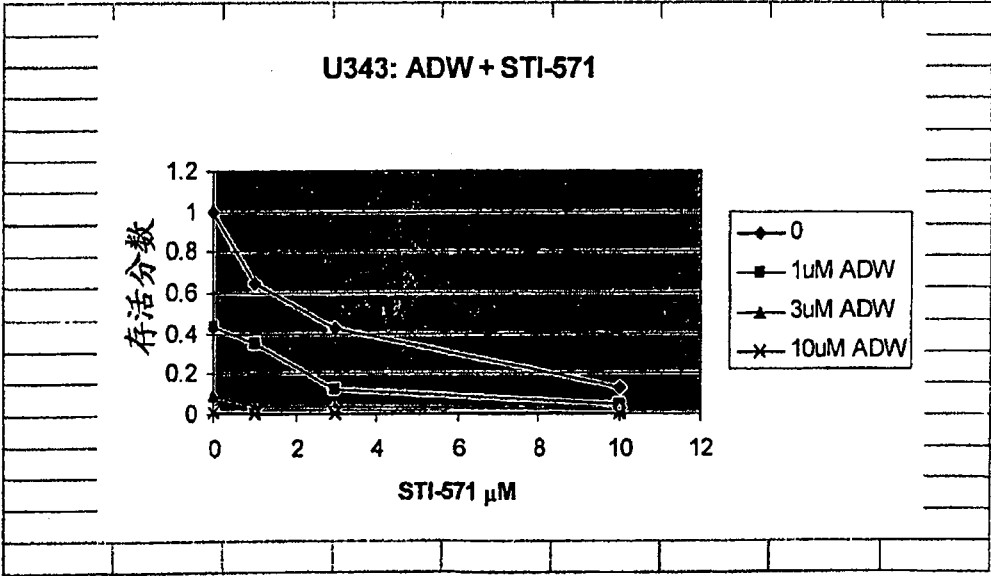


图 3A

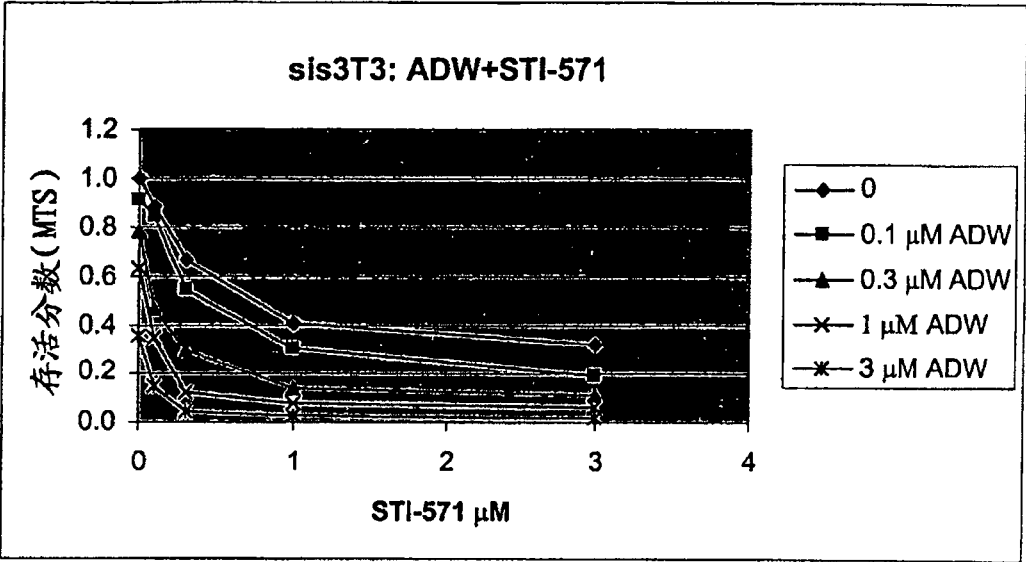


图 3B

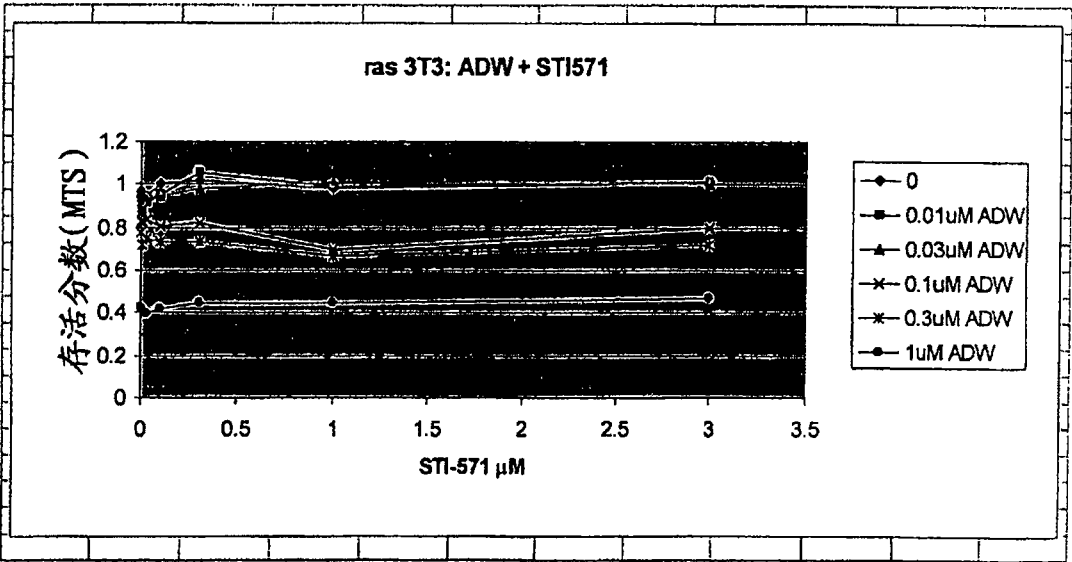


图 4

