



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104812415 A

(43) 申请公布日 2015. 07. 29

(21) 申请号 201380061889. 8

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2013. 11. 26

A61K 45/06(2006. 01)

(30) 优先权数据

A61K 31/4184(2006. 01)

61/731, 174 2012. 11. 29 US

A61K 31/506(2006. 01)

61/731, 555 2012. 11. 30 US

A61P 35/00(2006. 01)

61/755, 520 2013. 01. 23 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2015. 05. 27

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2013/071852 2013. 11. 26

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/085381 EN 2014. 06. 05

(71) 申请人 诺华股份有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72) 发明人 D·波特 C·艾梅里 L·谭

P·叶拉米里-拉奥

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 杨春刚 黄革生

权利要求书2页 说明书23页 附图8页

(54) 发明名称

药物组合

(57) 摘要

本发明涉及一种药物组合,其包含(a) 蛋白激酶C(PKC) 抑制剂化合物或其药学上可接受的盐,和(b) 至少一种有丝分裂原活化的蛋白激酶(MEK) 抑制剂或药学上可接受的盐,以及任选的药学上可接受的载体,所述组合用于同时、分开或依序施用;所述组合在治疗增生性疾病中的用途;和治疗患有增生性疾病的受试者的方法,所述方法包括施用治疗有效量的所述组合。

1. 一种药物组合,其包含以下或由以下组成:

(a) 蛋白激酶 C(PKC) 抑制剂化合物,或其药学上可接受的盐,和

(b) 有丝分裂原活化的蛋白激酶 (MEK) 抑制剂化合物,或其药学上可接受的盐。

2. 如权利要求 1 所述的药物组合,其中所述 PKC 抑制剂化合物是选自由以下组成的群组

3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮;

3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(哌嗪-1-基)-喹啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮

3-[2-氯-7-[(二甲基氨基)甲基]-1-萘基]-4-[7-[2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基]-1H-吡啶-3-基]-1H-吡咯-2,5-二酮;

3-[3-(4,7-二氮杂-螺[2,5]辛-7-基)-异喹啉-1-基]-4-(7-甲基-1H-吡啶-3-基)-吡咯-2,5-二酮,和

(9S)-9-[(二甲基氨基)甲基]-6,7,10,11-四氢-9H,18H-5,21:12,17-二桥亚甲基二苯并-[e,k]吡咯并[3,4-h][1,4,13]氧杂二氮杂环十六碳炔-18,20(19H)-二酮,

鲁伯斯塔,和

和 12-(2-氰基乙基)-6,7,12,13-四氢-13-甲基-5-氧代-5H-吡啶并(2,3-a)吡咯并(3,4-c)-呋喃

或其药学上可接受的盐。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的药物组合,其中所述 MEK 抑制剂化合物是选自由以下组成的群组

6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸(2-羟基乙氧基)-酰胺、(S)-5-氟-2-(2-氟-4-(甲基硫基)苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-甲酰胺、PD0325901、PD-184352、RDEA119、GSK1120212、XL518、AS-701255、AS-701173、AS703026、RDEA436、E6201、R04987655、JTP-74057、RG7167 和 RG7420,

或其药学上可接受的盐。

4. 如权利要求 1-3 中任一项所述的药物组合,其中所述 PKC 抑制剂化合物是 3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮或其药学上可接受的盐。

5. 如前述权利要求中任一项所述的药物组合,其中所述 MEK 抑制剂化合物是 6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸(2-羟基乙氧基)-酰胺或(S)-5-氟-2-(2-氟-4-(甲基硫基)苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-甲酰胺或其药学上可接受的盐。

6. 如前述权利要求中任一项所述的药物组合,其中所述 PKC 抑制剂化合物是 3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮或其药学上可接受的盐,并且所述 MEK 抑制剂化合物是 6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸(2-羟基乙氧基)-酰胺或其药学上可接受的盐。

7. 如前述权利要求中任一项所述的药物组合,其还包含至少一种药学上可接受的载体。

8. 如前述权利要求中任一项所述的药物组合,其用于同时、分开或依序施用。

9. 如前述权利要求中任一项所述的药物组合,其用于治疗增生性疾病。

10. 如权利要求 1-8 中任一项所述的药物组合在制备用于治疗增生性疾病的药物中的用途。

11. 如权利要求 9 所述的药物组合或如权利要求 10 所述的用途,其中所述增生性疾病是癌症。

12. 如权利要求 9 所述的药物组合或如权利要求 10 所述的用途,其中所述增生性疾病是黑素瘤,例如葡萄膜黑素瘤、转移性葡萄膜黑素瘤和 GNAQ 或 GNA11 突变型葡萄膜黑素瘤。

13. 如权利要求 1-8 中任一项所述的药物组合,其中 (a) 所述 PKC 抑制剂化合物和 (b) MEK 抑制剂化合物是以协同有效量提供来治疗增生性疾病。

14. 一种用于治疗增生性疾病的方法,其包括向患有增生性疾病的有需要的患者同时、分开或依序施用治疗有效量的 PKC 抑制剂化合物或其药学上可接受的盐与至少一种 MEK 抑制剂化合物或其药学上可接受的盐的组合。

15. 一种用于治疗增生性疾病的方法,其包括向患有增生性疾病的有需要的患者同时、分开或依序施用治疗有效量的所述 PKC 抑制剂化合物 3-(1H- 吡啶 -3- 基)-4-[2-(4- 甲基 - 哌嗪 -1- 基)- 喹唑啉 -4- 基]-1H- 吡咯 -2, 5- 二酮或其药学上可接受的盐与选自包含 6-(4- 溴 -2- 氟苯基氨基)-7- 氟 -3- 甲基 -3H- 苯并咪唑 -5- 羧酸 (2- 羟基乙氧基)- 酰胺、(S)-5- 氟 -2-(2- 氟 -4-(甲基硫基) 苯基氨基)-N-(2- 羟基丙氧基)-1- 甲基 -6- 氧代 -1, 6- 二氢吡啶 -3- 甲酰胺、PD0325901、PD-184352、RDEA119、GSK1120212、XL518、AS-701255、AS-701173、AS703026、RDEA436、E6201、R04987655、JTP-74057、RG7167 或 RG7420 的群组的至少一种 MEK 抑制剂化合物或其药学上可接受的盐的组合。

16. 如权利要求 14 或 15 所述的方法,其中所述增生性疾病是黑素瘤,优选是葡萄膜黑素瘤、转移性葡萄膜黑素瘤和 GNAQ 或 GNA11 突变型葡萄膜黑素瘤,更优选是 GNAQ 或 GNA11 突变型葡萄膜黑素瘤。

17. 一种组合制剂,其包含 (a) PKC 抑制剂化合物 3-(1H- 吡啶 -3- 基)-4-[2-(4- 甲基 - 哌嗪 -1- 基)- 喹唑啉 -4- 基]-1H- 吡咯 -2, 5- 二酮或其药学上可接受的盐的一种或多种单位剂型,和 (b) MEK 抑制剂化合物或其药学上可接受的盐的一种或多种单位剂型。

18. 一种药物组合物,其包含如权利要求 1-7 中任一项所述的组合和至少一种药学上可接受的载体。

19. 如权利要求 18 所述的药物组合物,其中所述 PKC 抑制剂和 MEK 抑制剂是以协同有效量提供来治疗增生性疾病。

20. 一种商业包装,其包含如权利要求 1-7 中任一项所述的药物组合作为治疗剂,以及关于其同时、分开或依序施用以用于延迟增生性疾病的进展或治疗增生性疾病的说明书。

药物组合

发明领域

[0001] 本发明涉及一种药物组合,其包含 (a) 蛋白激酶 C(PKC) 抑制剂化合物或其药学上可接受的盐,和 (b) 一种或至少一种有丝分裂原活化的蛋白激酶 (MEK) 抑制剂化合物或其药学上可接受的盐,以及任选的至少一种药学上可接受的载体;所述组合在治疗或预防增生性疾病,如癌症中的用途;和治疗患有增生性疾病,如癌症的受试者的方法,所述方法包括施用治疗有效量的所述组合。

[0002] 本发明还涉及一种药物组合,其包含 (a) 蛋白激酶 C(PKC) 抑制剂化合物 3-(1H- 吡啶 -3- 基)-4-[2-(4- 甲基 - 哌嗪 -1- 基)- 喹唑啉 -4- 基]-1H- 吡咯 -2, 5- 二酮或其药学上可接受的盐,和 (b) 选自包含 6-(4- 溴 -2- 氟苯基氨基)-7- 氟 -3- 甲基 -3H- 苯并咪唑 -5- 羧酸 (2- 羟基乙氧基)- 酰胺、(S)-5- 氟 -2-(2- 氟 -4-(甲基硫基) 苯基氨基)-N-(2- 羟基丙氧基)-1- 甲基 -6- 氧代 -1, 6- 二氢吡啶 -3- 甲酰胺、PD0325901、PD-184352、RDEA119、GSK1120212、XL518、AS-701255、AS-701173、AS703026、RDEA436、E6201、R04987655、JTP-74057、RG7167 或 RG7420 的群组的至少一种有丝分裂原活化的蛋白激酶 (MEK) 抑制剂化合物或其药学上可接受的盐,以及任选的至少一种药学上可接受的载体;所述组合在治疗或预防增生性疾病,如癌症中的用途;和治疗患有增生性疾病,如癌症的受试者的方法,所述方法包括施用治疗有效量的所述组合。

[0003] 发明背景

[0004] 葡萄膜黑素瘤是在眼睛的色素部分中,具体来说在虹膜、睫状体或脉络膜中产生的恶性赘生物。葡萄膜黑素瘤的疗法包括用摘出术或近距离放射疗法进行的局部疗法。近半患者发展转移性疾病,典型地到肝脏且通常到肺和骨骼,且新的转移的发生率继续随时间增加,表明所述疾病正在缓慢生长。患有转移性疾病的患者的后果不容乐观。迄今尚未认可针对这种疾病的疗法。

[0005] 影响编码异三聚体 G 蛋白复合物的 G 蛋白 α 亚单位的两种基因 (GNAQ 和 GNA11) 之一的突变发现于大多数肿瘤中 (Van Raamsdonk CD,Bezrookove V,Green G 等,Nature(2009);457:599-601 和 Van Raamsdonk CD,Griewank KG 等(2010),N Eng J Med;363:2191-9)。所鉴定的突变是影响其它 G 蛋白的活化突变的典型。

[0006] 尽管对于患有癌症的患者存在多个治疗选项,但仍需要有效且安全的治疗剂且需要可针对癌症的有效长期治疗施用的新的组合疗法。

[0007] 本发明人现已发现,这些 G 蛋白下游的信号传导级联的抑制可适用于治疗增生性疾病,如癌症,例如具有 G α 突变 (GNA11/GNAQ) 的肿瘤,且具体来说,葡萄膜黑素瘤、转移性葡萄膜黑素瘤和 GNAQ 或 GNA11 突变型葡萄膜黑素瘤。

[0008] 现已发现,蛋白激酶 C(PKC) 抑制剂化合物和 MEK 抑制剂化合物的组合可有效延迟增生性疾病的进展或治疗增生性疾病,尤其是葡萄膜黑素瘤、转移性葡萄膜黑素瘤和 GNAQ 或 GNA11 突变型葡萄膜黑素瘤。

[0009] 现已意外发现,有效量的蛋白激酶 C(PKC) 抑制剂(例如 3-(1H- 吡啶 -3- 基)-4-[2-(4- 甲基 - 哌嗪 -1- 基)- 喹唑啉 -4- 基]-1H- 吡咯 -2, 5- 二酮)或

其药学上可接受的盐（例如其乙酸盐）与有效量的至少一种 MEK 抑制剂化合物（例如 6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸(2-羟基乙氧基)-酰胺或(S)-5-氟-2-(2-氟-4-(甲基硫基)苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-甲酰胺,更优选地 6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸(2-羟基乙氧基)-酰胺)的组合意外地改善增生性疾病,具体为癌症,且更具有为葡萄膜黑素瘤、转移性葡萄膜黑素瘤和 GNAQ 或 GNA11 突变型葡萄膜黑素瘤的治疗。

[0010] 当同时、依序或分开施用,优选的蛋白激酶 C(PKC)抑制剂化合物和优选的 MEK 抑制剂化合物以协同方式相互作用以强烈地抑制细胞增生且在葡萄膜黑素瘤模型中意外地有效。这种意外的协同反应允许各化合物所需的剂量降低,使得副作用减少且所述化合物在治疗中的长期临床有效性增强。

[0011] 发明概述

[0012] 本发明提供可适用于抑制具有 G α 突变(GNA11/GNAQ)的肿瘤的细胞生长且适用于治疗增生性疾病,具体为癌症,且更具有为葡萄膜黑素瘤、转移性葡萄膜黑素瘤和 GNAQ 或 GNA11 突变型葡萄膜黑素瘤的药物组合和治疗方法。

[0013] 本发明提供包含以下的药物组合:(a)蛋白激酶 C(PKC)抑制剂或其药学上可接受的盐,和(b)至少一种有丝分裂原活化的蛋白激酶(MEK)抑制剂,以及任选的至少一种药学上可接受的载体。

[0014] 本发明还提供由以下组成的药物组合:(a)蛋白激酶 C(PKC)抑制剂或其药学上可接受的盐,和(b)一种有丝分裂原活化的蛋白激酶(MEK)抑制剂,以及任选的至少一种药学上可接受的载体。

[0015] 在上述组合中,所述 PKC 抑制剂化合物可选自由以下组成的群组

[0016] 3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹唑啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮;

[0017] 3-(1,4-二氢-1H-吡啶-3-基)-4-[2-(哌嗪-1-基)-喹唑啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮;

[0018] 3-[2-氯-7-[(二甲基氨基)甲基]-1-萘基]-4-[7-[2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基]-1H-吡啶-3-基]-1H-吡咯-2,5-二酮;

[0019] 3-[3-(4,7-二氮杂-螺[2,5]辛-7-基)-异喹啉-1-基]-4-(7-甲基-1H-吡啶-3-基)-吡咯-2,5-二酮,

[0020] (9S)-9-[(二甲基氨基)甲基]-6,7,10,11-四氢-9H,18H-5,21:12,17-二桥亚甲基二苯并-[e,k]吡咯并[3,4-h][1,4,13]氧杂二氮杂环十六碳炔-18,20(19H)-二酮,

[0021] 鲁伯斯塔(ruboxistaurin),和

[0022] 和 12-(2-氰基乙基)-6,7,12,13-四氢-13-甲基-5-氧代-5H-吡啶并(2,3-a)吡咯并(3,4-c)-咪唑,

[0023] 或其药学上可接受的盐。

[0024] 在上述组合中,所述 MEK 抑制剂化合物可独立地选自所述 PKC 抑制剂且可选自由以下组成的群组

[0025] 6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸(2-羟基乙氧基)-酰胺、(S)-5-氟-2-(2-氟-4-(甲基硫基)苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-1-甲

基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-甲酰胺、PD0325901、PD-184352、RDEA119、GSK1120212、XL518、AS-701255、AS-701173、AS703026、RDEA436、E6201、R04987655、JTP-74057、RG7167和RG7420,

[0026] 或其药学上可接受的盐,

[0027] 本发明还提供一种药物组合,其包含:(a)蛋白激酶C(PKC)抑制剂化合物3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹唑啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮(化合物A)或其药学上可接受的盐,和(b)选自包含6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸(2-羟基乙氧基)-酰胺(化合物B)、(S)-5-氟-2-(2-氟-4-(甲基硫基)苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-甲酰胺(化合物C)、PD0325901、PD-184352、RDEA119、GSK1120212、XL518、AS-701255、AS-701173、AS703026、RDEA436、E6201、R04987655、JTP-74057、RG7167或RG7420的群组的至少一种有丝分裂原活化的蛋白激酶(MEK)抑制剂或其药学上可接受的盐,以及任选的至少一种药学上可接受的载体。

[0028] 在本发明的一个优选实施方案中,所述组合搭配物为(a)PKC抑制剂化合物3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹唑啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮(化合物A)或其药学上可接受的盐,和(b)选自由6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸(2-羟基乙氧基)-酰胺(化合物B)或(S)-5-氟-2-(2-氟-4-(甲基硫基)苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-甲酰胺(化合物C)组成的群组的至少一种MEK抑制剂化合物或其药学上可接受的盐。

[0029] 在本发明的另一优选实施方案中,所述组合搭配物为(a)PKC抑制剂化合物3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹唑啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮(化合物A)或其药学上可接受的盐,和(b)MEK抑制剂化合物6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸(2-羟基乙氧基)-酰胺(化合物B)或其药学上可接受的盐。

[0030] 本发明还涉及一种组合制剂或一种药物组合物,其包含(a)PKC抑制剂化合物3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹唑啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮(化合物A)或其药学上可接受的盐,和(b)选自包含6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸(2-羟基乙氧基)-酰胺(化合物B)、(S)-5-氟-2-(2-氟-4-(甲基硫基)苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-甲酰胺(化合物C)、PD0325901、PD-184352、RDEA119、GSK1120212、XL518、AS-701255、AS-701173、AS703026、RDEA436、E6201、R04987655、JTP-74057、RG7167或RG7420的群组的至少一种MEK抑制剂或其药学上可接受的盐,以及任选的至少一种药学上可接受的载体。在一个实施方案中,本发明涉及一种组合制剂,其包含:(i)组合搭配物(a)的一种或多种单位剂型,和(ii)组合搭配物(b)的一种或多种单位剂型。

[0031] 本发明具体涉及一种适用于治疗或预防有需要的受试者的增生性疾病的药物组合,其包含(a)PKC抑制剂化合物3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹唑啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮(化合物A)或其药学上可接受的盐,和(b)选自包含6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸(2-羟基乙氧基)-酰胺(化合物B)、(S)-5-氟-2-(2-氟-4-(甲基硫基)苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-1-甲

基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-甲酰胺(化合物C)、PD0325901、PD-184352、RDEA119、GSK1120212、XL518、AS-701255、AS-701173、AS703026、RDEA436、E6201、R04987655、JTP-74057、RG7167或RG7420的群组的至少一种MEK抑制剂或其药学上可接受的盐,以及任选的至少一种药学上可接受的载体。

[0032] 本发明还涉及一种用于制备供治疗或预防有需要的受试者的增生性疾病用的药物组合物或药物的药物组合,其包含(a)PKC抑制剂化合物3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹唑啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮(化合物A)或其药学上可接受的盐,和(b)选自包含6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸(2-羟基乙氧基)-酰胺(化合物B)、(S)-5-氟-2-(2-氟-4-(甲基硫基)苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-甲酰胺(化合物C)、PD0325901、PD-184352、RDEA119、GSK1120212、XL518、AS-701255、AS-701173、AS703026、RDEA436、E6201、R04987655、JTP-74057、RG7167或RG7420的群组的至少一种MEK抑制剂或其药学上可接受的盐,以及任选的至少一种药学上可接受的载体。

[0033] 本发明还涉及PKC抑制剂3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹唑啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮(化合物A)或其药学上可接受的盐与选自包含6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸(2-羟基乙氧基)-酰胺(化合物B)、(S)-5-氟-2-(2-氟-4-(甲基硫基)苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-甲酰胺(化合物C)、PD0325901、PD-184352、RDEA119、GSK1120212、XL518、AS-701255、AS-701173、AS703026、RDEA436、E6201、R04987655、JTP-74057、RG7167或RG7420的群组的至少一种MEK抑制剂或其药学上可接受的盐的组合在制备用于治疗或预防增生性疾病用的药物组合物或药物中的用途

[0034] 本发明涉及一种治疗患有增生性疾病的受试者的方法,其包括向所述受试者施用包含(a)PKC抑制剂化合物3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹唑啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮(化合物A)或其药学上可接受的盐,和(b)选自包含6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸(2-羟基乙氧基)-酰胺(化合物B)、(S)-5-氟-2-(2-氟-4-(甲基硫基)苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-甲酰胺(化合物C)、PD0325901、PD-184352、RDEA119、GSK1120212、XL518、AS-701255、AS-701173、AS703026、RDEA436、E6201、R04987655、JTP-74057、RG7167或RG7420的群组的MEK抑制剂或其药学上可接受的盐,以及任选的至少一种药学上可接受的载体的组合,其量联合地在治疗上有效对抗增生性疾病。

[0035] 本发明还提供一种商业包装,其包含作为治疗剂的组合,所述组合包含(a)PKC抑制剂化合物3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹唑啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮(化合物A)或其药学上可接受的盐,和(b)选自包含6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸(2-羟基乙氧基)-酰胺(化合物B)、(S)-5-氟-2-(2-氟-4-(甲基硫基)苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-甲酰胺(化合物C)、PD0325901、PD-184352、RDEA119、GSK1120212、XL518、AS-701255、AS-701173、AS703026、RDEA436、E6201、R04987655、JTP-74057、RG7167或RG7420的群组的MEK抑制剂或其药学上可接受的盐,以及关于其同时、分开或依序施用以用于延迟增生性疾病的进展或治疗增生性疾病的说明书。

[0036] 上述组合还被提供用于同时、分开或依序施用,特别是用于治疗或预防增生性疾病。所述增生性疾病是癌症,且更具体为葡萄膜黑素瘤、转移性葡萄膜黑素瘤、GNAQ 或 GNA11 突变型葡萄膜黑素瘤和癌症,且更具体为葡萄膜黑素瘤、转移性葡萄膜黑素瘤和 GNAQ 或 GNA11 突变型转移性葡萄膜黑素瘤。

[0037] 附图简述

[0038] 图 1 示出 3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹唑啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮(化合物 A)和 6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸(2-羟基乙氧基)-酰胺(化合物 B)对葡萄膜黑素瘤体外增生的效应。葡萄膜黑素瘤细胞系在 6 天过程中的生长是通过 xCELLigence 技术在 0.5 μ M DMSO、0.5 μ M AEB071、0.5 μ M 化合物 B 或 0.5 μ M AEB071+0.5 μ M 化合物 B 存在下测量。在分别具有 GNAQ 和 GNA11 突变的 92.1 和 OMM1 细胞系中, AEB071 延迟细胞生长, 当与化合物 B 组合时, 这种效应增大。由于作为单一试剂的化合物 B 对两种葡萄膜黑素瘤细胞系 92.1 和 OMM1 的生长具有适度效应, 这两种试剂的组合令人意外地能够完全抑制两种细胞系的增生。

[0039] 图 2 示出对于 AEB071 和化合物 B 在 92.1 葡萄膜黑素瘤细胞系中的协同作用模式的深入观察, 且呈现这两种试剂之间的协同效应。示出这两种试剂之间的剂量矩阵; 上部图中示出相对于未处理的细胞对于细胞生长的效应, 中心图中示出过量抑制且下部图中示出相对于第 0 天标准化的生长抑制。单一试剂化合物 B 和 AEB071 在 92.1 中均具活性, 但重要的是, 组合这两种试剂会在较低剂量下产生大于叠加的反应量, 指示两种试剂一起的组合体外抑制葡萄膜黑素瘤细胞系 92.1 的增生比单独任一单个试剂更有效。

[0040] 图 3: 这些试剂的生物化学效应是在用 0.5 μ M AEB071、0.5 μ M 化合物 B 或 0.5 μ M 各试剂一起在葡萄膜黑素瘤细胞系 92.1 和 OMM-1 中处理之后分析。pMARCKS 的含量减少。化合物 B 添加至 AEB071 中对 pMARCKS 表达无进一步效应。用化合物 B 处理相同细胞导致 pERK1/2 含量降低, 如在 2 小时可见; 截至 24 小时, pERK1/2 的表达开始恢复。此外, 单一试剂化合物 B 处理导致在两种细胞系中随时间诱导 pMEK1/2 表达; 这在 48 小时处理后清楚地观察到。令人意外地, 只有 AEB071 和化合物 B 的组合产生 pERK1/2 和 pMEK1/2 的持续抑制。显著地, AEB071 明显地预防由化合物 B 单一试剂处理引起的 pMEK 诱导。因此, AEB071 和化合物 B 的组合导致 pMEK、pERK 和 pMARCKS 的持续磷酸蛋白抑制。

[0041] 图 4 示出 AEB071 和化合物 B 在 92.1 人类葡萄膜黑素瘤裸小鼠异种移植模型中的体内活性。AEB071 以 91mg/kg 每天 3 次给药 (TID) 来施用, 持续 21 天。由第 17 天 (所有小鼠均处于研究中的最后一天) 的肿瘤生长抑制测定功效。活性计算为肿瘤 / 对照组 (T/C), 即相对于媒介物处理小鼠在药物处理小鼠中从第 1 天至第 17 天的平均肿瘤体积变化百分比 (ΔT); 或计算为 T/T0, 即组平均肿瘤体积从第 1 天降低的百分比。如图 4 中所示, 单药疗法 AEB071 处理导致 3% T/C ($p < 0.01$) 且每天两次以 3.5mg/kg 给药的化合物 B 添加至 AEB071 方案中会产生 -22% T-T0 ($p < 0.001$ 中值活性, 但与单独 AEB071 相比不显著)。化合物 B 在这种体内模型中本身无活性, 其中 T/C 为 84%。用 AEB071 和化合物 B 处理因此在 92.1 体内葡萄膜黑素瘤模型中有效。

[0042] 图 5 示出在追踪持续 >70 天的 92.1 人类葡萄膜黑素瘤裸小鼠异种移植模型中的体内肿瘤生长。对小鼠给药持续 21 天, 接着停止处理且监测肿瘤向外生长。在给药期后

两周,肿瘤在 AEB071 单药疗法处理组中以控制速度进展,而在组合组中肿瘤以较慢速率进展。未计算肿瘤生长延迟,因为在初始生长期后每组有两个或两个以上肿瘤变成静态,但肿瘤向外生长速率的趋势指示 AEB071 加上化合物 B 组合肿瘤生长得比 AEB071 单一试剂慢。化合物 B 单一试剂处理的肿瘤因为缺乏功效而未监测。数据指示 AEB071 与化合物 B 的组合与任一单个试剂相比在葡萄膜黑素瘤的 92.1 体内模型中具有较大的反应量和持续时间。

[0043] 图 6 示出在 92.1 人类葡萄膜黑素瘤裸小鼠异种移植模型中与在 3.5mg/kg 下使用每天 2 次给药方案的化合物 B 组合,在 90.95、45.58 和 22.74mg/kg 下(相等于 80、40 和 20mg/kg 游离碱)使用每天 3 次给药(TID)持续 21 天的 AEB071 的体内活性。功效由第 22 天的肿瘤生长抑制测定。活性计算为肿瘤/对照组(T/C),即相对于媒介物处理小鼠在药物处理小鼠中从第 1 天至第 22 天的平均肿瘤体积变化百分比(ΔT);或计算为 T/T₀,即组平均肿瘤体积从第 1 天降低的百分比。如图 6 中所示,在 90.95mg/kg 下的单药疗法 AEB071 产生 18% T/C($p < 0.05$)。使用 45.5 和 22.7mg/kg 的 AEB071 单药疗法分别产生 52%和 92% T/C,和非显著中值抑制。添加以 3.5mg/kg 每天两次给药的化合物 B 以及 90.95 和 45.58mg/kg 的 AEB071 剂量分别产生 -52%和 -12% T-T₀($p < 0.001$)。化合物 B 在这种体内模型中本身无活性,其中 T/C 为 56%。高剂量组合产生四个偏回归。在与化合物 B 组合的 AEB071 的多个剂量下的处理在 92.1 体内葡萄膜黑素瘤模型中有效。所述组合的有效性以剂量依赖性方式增加,其中与化合物 B 组合的增加的 AEB071 剂量产生较大的反应量。

[0044] 发明详述

[0045] 本文中描述本发明的各个所列举的实施方案。应认识到,在各实施方案中指定的特征可与其它指定的特征组合以提供本发明的其它实施方案。

[0046] 本发明提供包含以下的药物组合:(a) 蛋白激酶 C(PKC) 抑制剂或其药学上可接受的盐,和 (b) 至少一种有丝分裂原活化的蛋白激酶 (MEK) 抑制剂,以及任选的至少一种药学上可接受的载体。

[0047] 本发明涉及所述药物组合进行同时、分开或依序施用以具体用于治疗或预防增生性疾病。

[0048] 除非另外明确规定,否则本文中使用的术语是由以下含义定义:

[0049] 除非另外指出,否则术语“包含”和“包括”在本文中以其开放性且非限制性意义使用。

[0050] 除非本文中另外指示或与本文明显相抵触,则在描述本发明的上下文中的术语“一种”和“所述”以及类似提及术语应理解为涵盖单数和复数。当复数形式用于化合物、盐等时,这个术语还用于意指单个化合物、盐等。

[0051] 术语“组合”或“药物组合”在本文中定义为指呈一种剂量单位形式的固定组合、非固定组合或用于组合施用的多组分试剂盒,其中 PKC 抑制剂化合物(例如化合物 A)或其药学上可接受的盐和至少一种 MEK 抑制剂化合物(例如化合物 B 或化合物 C)或其药学上可接受的盐可同时、在相同时间独立地或分开地在时间间隔内施用,使得组合搭配物展示合作(例如协同)效应。术语“固定组合”意指活性成分(例如化合物 A)和组合搭配物(例如化合物 B)以单个实体或剂量形式同时施用于患者。术语“非固定组合”意指活性成分(例如化合物 A)或其药学上可接受的盐和组合搭配物(例如化合物 B)或其药学上可接受的盐作为分开的实体同时、并行或在无特定时间限制下依序施用于患者,其中所述施用在于患者

体内提供治疗有效含量的这两种化合物。后者还适用于鸡尾酒疗法,例如施用三种或三种以上活性成分。

[0052] 术语“蛋白激酶 C 抑制剂”在本文中定义为指靶向、减少或抑制蛋白激酶 C 的化合物。术语 PKC 一般是指同种型的整个家族:常规同种型: α 、 β ($\beta 1$ 和 $\beta 2$) 和 γ ;新颖同种型: δ 、 ϵ 、 η 和 θ ;和非典型同种型: ζ 和 τ/λ 。

[0053] 合适的 PKC 抑制剂包括顺丁烯二酰亚胺衍生物,如描述于美国专利号 5,545,636;5,668,152;5,672,681;5,698,578;5,710,145;6,645,970;7,220,774;7,235,555;美国公布号 2008/0318975;欧洲专利号 0776895B1;0817627B1;1449529B1;1337527B1;和 PCT 公布号 W003/082859;和 W007/006533 中的化合物。上文所引用的各参考文献是以引用的方式并入本文。

[0054] 所关注的特定 PKC 抑制剂化合物包括

[0055] 索曲妥林 (sotrastaurin) (还称为 AEB071 且描述于美国专利号 6,645,970 中),

[0056] 描述于 PCT 公布号 WO 2002/038561 或美国专利号 6,645,970) 的实施例 70 中的 3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(哌嗪-1-基)喹啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮,

[0057] 3-[2-氯-7-[(二甲基氨基)甲基]-1-萘基]-4-[7-[2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基]-1H-吡啶-3-基]-1H-吡咯-2,5-二酮 ((CAS 号 919992-85-1,描述于 PCT 公布号 W007/006533 和美国公布号 2008/0318975 中),

[0058] 3-[3-(4,7-二氮杂-螺[2,5]辛-7-基)-异喹啉-1-基]-4-(7-甲基-1H-吡啶-3-基)-吡咯-2,5-二酮 (描述于美国专利号 7,235,555 的实施例 69 中);

[0059] 鲁伯斯塔 ((9S)-9-[(二甲基氨基)甲基]-6,7,10,11-四氢-9H,18H-5,21:12,17-二桥亚甲基二苯并-[e,k]吡咯并[3,4-h][1,4,13]氧杂二氮杂环十六碳炔-18,20(19H)-二酮 (还称为 LY-333531 且描述于美国专利号 5,698,578 中)) 和鲁伯斯塔的甲磺酸盐 (描述于美国专利号 5,710,145 和欧洲专利号 0776895B1 中);

[0060] 和 12-(2-氰基乙基)-6,7,12,13-四氢-13-甲基-5-氧代-5H-吡啶并(2,3-a)吡咯并(3,4-c)-咪唑 (CAS 号 136194-77-9,可获自 Calbiochem® 且描述于美国专利号 5,489,608 中)。

[0061] 其它 PKC 抑制剂可选自由 AD 198、阿林卡森 (aprinocarsen)、巴拉诺 (balanol)、苔藓虫素 1、卡弗他丁 (baphostin)、西地芬戈 (cedefingol)、CGP 53353、白屈菜赤碱氯化物 (chelerythrine chloride)、环铂 (cycloplatin)、代卡替 (delcasertib)、恩扎妥林 (enzastaurin)、EP 70905、GF 109203X、格尼迪木灵 (gnidimacrin)、GO 6976、GO 7716、GO 7775、GO 7852、HO 0303、巨大戟醇甲基丁烯酸酯 (ingenol mebutate)、ISI 641、JTV 519、KAI 1678、LY 290181、LY 317644、米哚妥林 (midostaurin)、NA 0345、NPC 15437、NSC 639365、NSC 639366、NSC 646958、p XSC、RD 65071、RO 317549、RO 318220、RO 318425、RO 318830、RO 320432、沙芬戈 (Safingol)、SPC 104065、十字孢碱 (staurosporine)、替普瑞酮 (teprenone)、生育酚琥珀酸酯、UCN 01 和 UCN 1028C 组成的群组。在一些实施方案中,PKC 抑制剂是米哚妥林、恩扎妥林或十字孢碱。在一些实施方案中,PKC 抑制剂是描述于 PCT 公布号 WO 2002/038561 或美国专利号 6,645,970 的实施例 70 中) 的 3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(哌嗪-1-基)喹啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮),

[0062] 上文所引用的各参考文献是以引用的方式并入本文。

[0063] 术语“MEK 抑制剂”在本文中定义为指靶向、减少或抑制 MAP 激酶 MEK 的激酶活性的化合物。MEK 抑制剂的靶标包括但不限于 ERK。MEK 抑制剂的间接靶标包括但不限于细胞周期蛋白 D1。

[0064] 术语“药物组合物”在本文中定义为指含有至少一种待施用于受试者（例如哺乳动物或人类）的治疗剂的混合物或溶液，以便预防或治疗影响所述哺乳动物或人类的特定疾病或病况。

[0065] 术语“药学上可接受”在本文中定义为指在合理医学判断的范畴内适合与受试者（例如哺乳动物或人类）的组织接触而无过度毒性、刺激过敏反应和其它问题并发症，与合理的效益风险比相称的那些化合物、材料、组合物和 / 或剂型。

[0066] 如本文所用的术语“共施用”或“组合施用”是定义为涵盖向单个患者施用所选治疗剂，且意图包括其中试剂不必由相同施用途径或同时施用的治疗方案。

[0067] 如本文所用的术语“治疗”包含减轻、减少或缓解受试者的至少一种症状或实现疾病的进展延迟的治疗。举例来说，治疗可为病症的一种或多种症状减少或病症（如癌症）的完全根除。在本发明的含义内，术语“治疗”还表示抑制、延迟发作（即，在疾病的临床显现前的时期）和 / 或降低发展或恶化疾病的风险。术语“保护”在本文中用于意味预防、延迟或治疗或适当时预防、延迟和治疗受试者（例如哺乳动物或人类）中疾病的发展或持续或加重。

[0068] 如本文所用的术语“预防”包含预防至少一种与正在预防的状态、疾病或病症有关或由其引起的症状。

[0069] 如本文所用的术语“联合治疗活性”或“联合治疗效应”意指治疗剂可在待治疗的温血动物、尤其人类中以其偏好的时间间隔分开给予（以按时间顺序交错的方式，尤其顺序特定方式），仍显示（优选地协同）相互作用（联合治疗效应）。情况是否如此可尤其根据血液含量来测定，显示两种化合物至少在某些时间间隔期间存在于待治疗的人类的血液中。

[0070] 术语治疗剂的组合的“要学上有效量”或“临床有效量”是足以提供相比于用所述组合治疗的病症的基线临床可观察征候和症状的可观察改善的量。

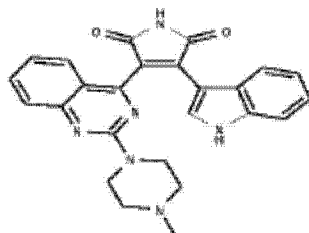
[0071] 如本文所用的术语“协同效应”是指两种治疗剂的作用，如式 (I) 化合物（例如化合物 A）和本发明的 MEK 抑制剂化合物（例如化合物 B），产生例如减慢增生性疾病（具体说来癌症）或其症状的症状性进展的效应，其大于独立施用的各药物的效应的简单相加。协同效应可例如使用合适的方法计算，如 Sigmoid-Emax 方程 (Holford, N. H. G. 和 Scheiner, L. B., Clin. Pharmacokinet. 6:429-453(1981))、Loewe 相加方程 (Loewe, S. 和 Muischnek, H., Arch. Exp. Pathol Pharmacol. 114:313-326(1926)) 和中效方程 (Chou, T. C. 和 Talalay, P., Adv. Enzyme Regul. 22:27-55(1984))。上文所提及的各方程可应用于实验数据以产生相应曲线图，从而帮助分析药物组合的效应。与上文所提及的方程相关的相应曲线图分别为浓度 - 效应曲线、等效线图解法曲线和联合指数曲线。

[0072] 如本文所用的术语“受试者”或“患者”包括动物，其能够患有或经受癌症或直接或间接地涉及癌症的任何病症。受试者的实例包括哺乳动物，例如人类、狗、牛、马、猪、绵羊、山羊、猫、小鼠、兔、大鼠和转基因非人类动物。在优选的实施方案中，受试者是人类，例如患有癌症、处于患有癌症的风险下或可能能够患有癌症的人类。

[0073] 术语“约”或“大约”应具有在给定的值或范围的 10% 内,更优选地在 5% 内的含义。

[0074] 本发明的药物组合可包含 PKC 化合物 3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹唑啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮(下文中称为(“化合物 A”)作为蛋白激酶 C 抑制剂。化合物 A 是式 I 的蛋白激酶 C(PKC) 抑制剂化合物

[0075]



(I),

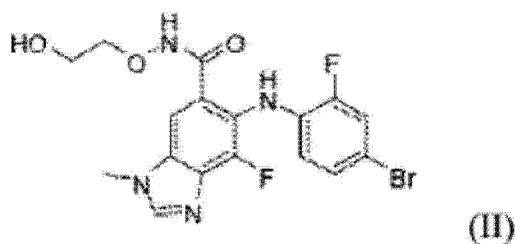
[0076] 化合物 A 描述于 W002/38561 和美国专利号 6,645,970 中。化合物 A 和其乙酸盐的合成描述于 WO W002/38561 的实施例 56 中,所述专利据此以引用的方式整体并入本文。

[0077] 当提及化合物 A 时,术语“盐”应理解为可单独存在或呈与式 (I) 的游离化合物的混合物形式存在的化合物 A 的盐且优选地为药学上可接受的盐。所述盐例如作为酸加成盐,优选地使用有机或无机酸,由具有碱性氮原子的式 (I) 化合物形成,尤其药学上可接受的盐。合适的无机酸例如为氢卤酸(如盐酸)、硫酸或磷酸。合适的有机酸例如为羧酸或磺酸,如乙酸、富马酸或甲烷磺酸。为达成分离或纯化目的,还有可能使用药学上不可接受的盐,例如苦味酸盐或高氯酸盐。关于治疗用途,只采用药学上可接受的盐或游离化合物(其中可以药物制剂形式应用),并且这些物质因此为优选的。鉴于呈游离形式的新颖化合物与呈其盐形式的那些化合物(包括可用作中间体的那些盐,例如在所述新颖化合物的纯化或鉴定中)之间的密切关系,上文和下文中对于所述游离化合物的任何提及均应理解为在适当且方便时还指相应盐。化合物 A 的盐优选地为药学上可接受的盐;形成药学上可接受的盐的合适的平衡离子为本领域中已知的。化合物 A 的最优选的盐是乙酸盐。

[0078] 本发明的药物组合可包含选自包含 6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸(2-羟基乙氧基)-酰胺、(S)-5-氟-2-(2-氟-4-(甲基硫基)苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-甲酰胺、PD0325901、PD-184352、RDEA119、GSK1120212、XL518、AS-701255、AS-701173、AS703026、RDEA436、E6201、R04987655、JTP-74057、RG7167 或 RG7420 的群组的 MEK 抑制剂化合物或其药学上可接受的盐。

[0079] MEK 抑制剂化合物 6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸(2-羟基乙氧基)-酰胺(化合物 B)是式 (II) 化合物

[0080]

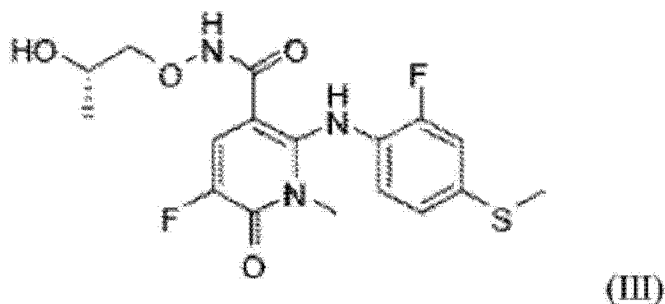


[0081] MEK 抑制剂化合物 6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸(2-羟基乙氧基)-酰胺(化合物 B) 描述于 PCT 申请号 W003/077914 中, 并且其制备方法已经描述于例如本文的实施例 18 中。

[0082] 除非如本文所公开, 否则用于本发明中的化合物可具有一个或多个不对称中心且可作为个别(R)-或(S)-立体异构体或作为其混合物产生, 如 PCT 申请号 W003/077914 中所描述。除非如另外指示, 否则本说明书和权利要求书中特定化合物的描述或命名意图包括其个别对映体、非对映体混合物、外消旋或其它形式。因此, 本发明还包括本发明化合物的所有所述异构体, 包括非对映体混合物和拆分的对映体。非对映体混合物可基于其物理化学差异通过本领域技术人员已知的方法, 例如通过色谱法或分步结晶分离为其个别非对映体。对映体可通过使对映体混合物通过与适当光学活性化合物(例如醇)反应而转化为非对映体混合物, 分离非对映体且将个别非对映体转化(例如水解)为相应的纯对映体来分离。用于测定立体化学和分离立体异构体的方法为本领域中众所周知的(参见“Advanced organic Chemistry”, 第 4 版, J. March. John Wiley and Sons, New York, 1992 的第 4 章中的论述)。

[0083] MEK 抑制剂化合物 (S)-5-氟-2-(2-氟-4-(甲基硫基)苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-甲酰胺(化合物 C) 是式 (III) 化合物

[0084]



[0085] MEK 抑制剂化合物 (S)-5-氟-2-(2-氟-4-(甲基硫基)苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-甲酰胺(化合物 C) 描述于 PCT 申请号 W02007/044084 的实施例 25-BB 中, 且其制备方法已经描述于其中。

[0086] 可用于本发明组合中的额外 MEK 抑制剂包括但不限于 PD0325901 (Pfizer) (参见 PCT 公布号 W002/06213)、PD-184352 (Pfizer)、RDE A119 (Ardea Biosciences)、GSK1120212 (GlaxoSmithKline) (参见 PCT 公布号 W005/121142)、XL518 (Exelexis)、AS-701255 (Merck Serono)、AS-701173 (Merck Serono)、AS703026 (Merck Serono)、RDEA436 (Ardea Biosciences)、E6201 (Eisai) (参见 Goto 等, Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 3331(2):485-495 (2009))、R04987655 (Hoffmann-La Roche)、JTP-74057、RG7167 和 / 或 RG7420。

[0087] 优选地,用于本发明组合中的 MEK 抑制剂化合物是选自由 6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸(2-羟基乙氧基)-酰胺(化合物 B)、(S)-5-氟-2-(2-氟-4-(甲基硫基)苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-甲酰胺(化合物 C)或其药学上可接受的盐组成的群组。

[0088] 可用于本发明组合中的 MEK 抑制剂化合物还是 PD0325901N-[2(R),3-二羟基丙氧基]-3,4-二氟-2-(2-氟-4-碘苯基氨基)苯甲酰胺(参见 PCT 公布号 W002/06213)。

[0089] 优选地,用于本发明组合中的 MEK 抑制剂化合物是 6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸(2-羟基乙氧基)-酰胺(化合物 B)或其药学上可接受的盐。

[0090] 如与 MEK 抑制剂相关,除非另外指示,否则术语“盐”包括可存在于本发明化合物中的酸性和碱性基团的盐。本质上呈碱性的本发明化合物能够与各种无机和有机酸形成各种盐。可用于制备本发明的所述碱性化合物的药学上可接受的酸加成盐的酸是形成无毒酸加成盐的那些酸,所述无毒酸加成盐即含有药学上可接受的阴离子的盐,如乙酸盐、苯甲酸盐、溴化物、氯化物、柠檬酸盐、富马酸盐、氢溴酸盐、盐酸盐、碘化物、乳酸盐、马来酸盐、扁桃酸盐、硝酸盐、草酸盐、水杨酸盐、琥珀酸盐和酒石酸盐。由于单一本发明化合物可包括一个以上酸性或碱性部分,本发明化合物可在单一化合物中包括单盐、二盐或三盐。

[0091] 就本发明化合物中的酸性部分而言,盐可通过用碱性化合物,具体说来无机碱处理本发明化合物来形成。优选的无机盐是由碱金属和碱土金属,如锂、钠、钾、钡和钙形成的那些盐。优选的有机碱盐包括例如铵、二苯甲基铵、苯甲基铵、2-羟基乙基铵、双(2-羟基乙基)铵、苯基乙基苯甲基胺、二苯甲基-亚乙基二胺和类似盐。酸性部分的其它盐可包括例如由普鲁卡因、奎宁和 N-甲基葡萄糖胺形成的那些盐,加上由碱性氨基酸,如甘氨酸、鸟氨酸、组氨酸、苯基甘氨酸、赖氨酸和精氨酸形成的盐。尤其优选的盐是本发明化合物的钠或钾盐。

[0092] 关于碱性部分,盐是通过用酸性化合物,具体说来无机酸处理本发明化合物来形成。优选的这种类型的无机盐可包括例如盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、磷酸盐或类似盐。优选的这种类型的有机盐可包括例如由乙酸、琥珀酸、柠檬酸、马来酸、富马酸、D-谷氨酸、乙醇酸、苯甲酸、肉桂酸和类似有机酸形成的盐。尤其优选的这种类型的盐是本发明化合物 B 的盐酸盐或硫酸盐。

[0093] 适用于本发明的化合物 B 和化合物 C 的额外药学上可接受的盐包括 PCT 申请号 W003/077914 和 PCT 申请号 W02007/044084 中公开的盐,所述申请据此均以引用的方式并入本申请中。

[0094] 除非文中另外规定或明确指示,否则提及适用于本发明药物组合的治疗剂包括所述化合物的游离碱,和所述化合物的所有药学上可接受的盐。

[0095] 由编号、通用名或商标名标识的化合物的结构可获自现行版的标准纲要“默克索引(The Merck Index)”或数据库,例如 Patents International(IMS World Publications)。其相应内容据此以引用的方式并入本文。

[0096] 在上文给出专利申请的引用的各情形下,与所述化合物相关的主题以引用的方式并入本申请中。用作本发明药物组合中的治疗剂的化合物可分别如引用的文献中所述制备和施用。如上文所陈述的两种分开的治疗剂的组合也在本发明的范畴内,即在本发明范畴

内的药物组合可能包括三种或三种以上治疗剂。

[0097] 包含 (a) PKC 抑制剂化合物或其药学上可接受的盐, 和 (b) 至少一种 MEK 抑制剂化合物或其药学上可接受的盐和任选地药学上可接受的载体的药物组合将在下文中称为本发明的组合。该术语还用于意指由 (a) PKC 抑制剂化合物或其药学上可接受的盐, 和 (b) 一种 MEK 抑制剂化合物或其药学上可接受的盐和任选地药学上可接受的载体组成的药物组合, 其中所述 PKC 抑制剂和所述 MEK 抑制剂化合物是仅有的治疗剂。

[0098] 本发明的组合的一个实例是一种药物组合, 其包含 (a) PKC 抑制剂化合物 3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹唑啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮 (化合物 A) 或其药学上可接受的盐, 和 (b) 选自包含 6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸 (2-羟基乙氧基)-酰胺 (化合物 B)、(S)-5-氟-2-(2-氟-4-(甲基硫基)苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-甲酰胺 (化合物 C)、PD0325901、PD-184352、RDEA119、GSK1120212、XL518、AS-701255、AS-701173、AS703026、RDEA436、E6201、R04987655、JTP-74057、RG7167 或 RG7420 的群组的至少一种 MEK 抑制剂化合物或其药学上可接受的盐, 以及任选的药学上可接受的载体。

[0099] 在本发明的一个优选实施方案中, 所述组合搭配物为 (a) PKC 抑制剂化合物 3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹唑啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮 (化合物 A) 或其药学上可接受的盐, 和 (b) 选自 6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸 (2-羟基乙氧基)-酰胺 (化合物 B) 或 (S)-5-氟-2-(2-氟-4-(甲基硫基)苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-甲酰胺 (化合物 C) 组成的群组的 MEK 抑制剂化合物或其药学上可接受的盐。

[0100] 在本发明的另一优选实施方案中, 所述组合搭配物为 (a) PKC 抑制剂化合物 3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹唑啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮 (化合物 A) 或其药学上可接受的盐, 和 (b) MEK 抑制剂化合物 6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸 (2-羟基乙氧基)-酰胺 (化合物 B) 或其药学上可接受的盐。

[0101] 在本发明的一个优选实施方案中, 所述组合搭配物为 (a) PKC 抑制剂化合物 3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹唑啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮 (化合物 A) 或其药学上可接受的盐, 和 (b) MEK 抑制剂化合物 (S)-5-氟-2-(2-氟-4-(甲基硫基)苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-甲酰胺 (化合物 C) 或其药学上可接受的盐。

[0102] 本发明还涉及一种组合制剂或一种药物组合物, 其包含 (a) PKC 抑制剂化合物, 例如 3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹唑啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮 (化合物 A), 或其药学上可接受的盐, 和 (b) 选自包含 6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸 (2-羟基乙氧基)-酰胺、(S)-5-氟-2-(2-氟-4-(甲基硫基)苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-甲酰胺、PD0325901、PD-184352、RDEA119、GSK1120212、XL518、AS-701255、AS-701173、AS703026、RDEA436、E6201、R04987655、JTP-74057、RG7167 或 RG7420 的群组的 MEK 抑制剂或其药学上可接受的盐, 以及任选的药学上可接受的载体。

[0103] 在一个实施方案中, 本发明涉及一种组合制剂, 其包含: (i) 组合搭配物 (a) 的一

种或多种单位剂型,和(ii)组合搭配物(b)的一种或多种单位剂型。

[0104] 本发明具体涉及适用于治疗或预防有需要的受试者的增生性疾病的本发明的组合。在本发明的这个实施方案中,本发明的组合是用于治疗或预防增生性疾病,其包括向所述受试者施用组合疗法,所述组合疗法包含有效量的 PKC 抑制剂,例如 3-(1H- 吡啶-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹唑啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮(化合物 A),或其药学上可接受的盐,和 MEK 抑制剂化合物,例如其选自包含 6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸(2-羟基乙氧基)-酰胺、(S)-5-氟-2-(2-氟-4-(甲基硫基)苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-甲酰胺、PD0325901、PD-184352、RDEA119、GSK1120212、XL518、AS-701255、AS-701173、AS703026、RDEA436、E6201、R04987655、JTP-74057、RG7167 或 RG7420 的群组,或其药学上可接受的盐。优选地,MEK 抑制剂化合物在治疗有效剂量下施用,所述剂量当组合时提供有益效应。所述施用可为同时或依序的。

[0105] 由本发明的组合治疗或预防的增生性疾病主要为肿瘤和/或癌症。增生性疾病的实例包括黑素瘤,更具体说来是葡萄膜黑素瘤、转移性葡萄膜黑素瘤、GNAQ 或 GNA11 突变型葡萄膜黑素瘤和癌症,且更具体说来是葡萄膜黑素瘤、转移性葡萄膜黑素瘤和 GNAQ 或 GNA11 突变型转移性葡萄膜黑素瘤。

[0106] 在本发明的一个实施方案中,所述增生性疾病是实体肿瘤。术语“实体肿瘤”尤其意指黑素瘤,具体说来是葡萄膜黑素瘤,例如转移性葡萄膜黑素瘤。此外,视肿瘤类型和所用的特定组合而定,可获得肿瘤体积的降低。本文所公开的组合还适合预防肿瘤的转移性扩散和微小转移的生长或发展。本文所公开的组合具体说来适用于治疗不良预后患者,尤其患有转移性葡萄膜黑素瘤的所述不良预后患者。

[0107] 在另一实施方案中,所述增生性疾病是黑素瘤,具体说来是葡萄膜黑素瘤,例如转移性葡萄膜黑素瘤。

[0108] 在另一实施方案中,所述增生性疾病是葡萄膜黑素瘤,例如转移性葡萄膜黑素瘤。

[0109] 应理解,本发明的组合可根据本发明单独用于治疗增生性疾病。

[0110] 已经发现,包含本发明的组合的组合疗法如与单药疗法相比意外地改善增生性疾病的治疗或预防。当同时、依序或分开施用时,PKC 抑制剂化合物 3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹唑啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮(化合物 A) 和 MEK 抑制剂化合物 6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸(2-羟基乙氧基)-酰胺(化合物 B) 协同地相互作用以抑制细胞增生。

[0111] 增生性疾病的本质是多因素的。在某些情况下,可组合具有不同作用机理的药物。然而,只考虑具有不同作用模式的治疗剂的任何组合未必产生具有有利效应的组合。

[0112] 本发明药物组合的施用不仅可例如关于缓解症状、延迟症状的进展或抑制症状产生有益效应,例如协同治疗效应,而且与仅应用本发明的组合中所用的药物治疗剂之一的单药疗法相比,产生其它令人意外的有益效应,例如较少副作用、改善的生活质量或降低的发病率。

[0113] 另一益处是可使用本发明的组合的治疗剂的较低剂量,例如所述剂量不仅经常需要较小,而且还不太频繁地应用,或可使用较低剂量以便减少用组合搭配物之一单独观察到的副作用的发生率。这与待治疗的患者的期望和需求一致。

[0114] 已确立的测试模型可显示,本发明的组合产生上文中所描述的有益效应。本领域技术人员完全能够选择相关测试模型来证实所述有益效应。本发明的组合的药理活性可例如在临床研究中或在基本上如上文所描述的测试程序中证实。

[0115] 合适的临床研究具体说来是例如在患有增生性疾病的患者中的开放标签、剂量递增研究。所述研究具体说来证实本发明的组合的治疗剂的协同作用。对于增生性疾病的有益效应可直接通过本领域技术人员已知的这些研究的结果测定。所述研究可具体说来适合于比较使用任一治疗剂的单药疗法和本发明的组合的效应。

[0116] 在一个实施方案中,PKC 抑制剂化合物 A 的剂量递增直到达到最大耐受剂量,且本发明的 MEK 抑制剂化合物是以固定剂量施用。或者,PKC 抑制剂化合物 A 可以固定剂量施用且至少本发明 MEK 抑制剂的剂量可递增。每一名患者可每天或间歇地接受本发明的 PKC 抑制剂化合物 A 和 / 或 MEK 抑制剂的剂量。治疗功效可在所述研究中,例如在 12、18 或 24 周后通过评估症状评分,例如每隔 6 周来测定。

[0117] 在一个优选实施方案中,MEK 抑制剂是化合物 B,或其药学上可接受的盐。在一个优选实施方案中,MEK 抑制剂是化合物 B。

[0118] 在一个优选实施方案中,MEK 抑制剂是化合物 C,或其药学上可接受的盐。

[0119] 通过测定一种或多种组分之间的协同相互作用,所述效应的最佳范围和各组分针对所述效应的绝对剂量范围可通过向需要治疗的患者施用在不同 w/w 比率范围和剂量下的组分来决定性地测量。

[0120] 在本发明的一个优选实施方案中,本发明的组合包含 PKC 抑制剂化合物 3-(1H-吡咯-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹唑啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮(化合物 A)或其药学上可接受的盐,和选自包含 6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸(2-羟基乙氧基)-酰胺(化合物 B)、(S)-5-氟-2-(2-氟-4-(甲基硫基)苯基氨基)-N-(2-羟基丙氧基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-甲酰胺(化合物 C)、PD0325901、PD-184352、RDEA119、GSK1120212、XL518、AS-701255、AS-701173、AS703026、RDEA436、E6201、R04987655、JTP-74057、RG7167 和 / 或 RG7420 的群组的 MEK 抑制剂化合物或其药学上可接受的盐,用于治疗或预防增生性疾病,例如葡萄膜黑素瘤、转移性葡萄膜黑素瘤和 GNAQ 或 GNA11 突变型葡萄膜黑素瘤,优选是在 GNAQ 或 GNA11 中具有突变的葡萄膜黑素瘤。

[0121] 一方面,本发明提供用于人类施用的协同组合,其包含 (a) PKC 抑制剂化合物 3-(1H-吡咯-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹唑啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮(化合物 A)或其药学上可接受的盐,和 (b) 本发明的 MEK 抑制剂化合物,优选地是化合物 B,或其药学上可接受的盐,在对应于例如以下实施例中所描述的肿瘤模型中所观察到的范围的组合范围(w/w)内,所述模型用于鉴定协同相互作用。

[0122] 另一方面,本发明提供用于人类施用的协同组合,其包含 (a) PKC 抑制剂化合物 3-(1H-吡咯-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹唑啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮(化合物 A)或其药学上可接受的盐,和 (b) 本发明的 MEK 抑制剂化合物,优选地是化合物 B,或其药学上可接受的盐,在对应于例如以下实施例中所描述的肿瘤模型中所观察到的范围的组合范围(w/w)内,所述模型用于鉴定协同相互作用。

[0123] 根据另一方面,本发明提供用于施用于人类的协同组合,其包含 (a) PKC 抑制剂

3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-噻唑啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮(化合物A)或其药学上可接受的盐,和(b)本发明的MEK抑制剂化合物,优选地是化合物B,或其药学上可接受的盐,其中各组分的剂量范围对应于合适的肿瘤模型(例如以下实施例中描述的肿瘤模型)中所观察到的协同范围,所述模型主要用于鉴定协同相互作用。

[0124] 本发明的一个目标是提供包含联合地在治疗上有效对抗增生性疾病的量的包含本发明的组合的药物组合物。在这种组合物中,所述组合搭配物(a)和(b)可在单一制剂或单位剂型中施用,并行地但分开地施用,或通过任何合适途径依序施用。单位剂型也可以是固定组合。

[0125] 用于分开施用两种组合搭配物或用于以固定组合(即,包含本发明的组合的单一盖伦制剂组合物)施用的药物组合物可以本身已知的方式制备且是适合于经肠(如经口或经直肠)和不经肠施用于哺乳动物(温血动物,包括人类)的那些组合物,其包含治疗有效量的单独至少一种药学上可接受的活性组合搭配物(例如上文所指示),或与一种或多种尤其适合于经肠或不经肠应用的药学上可接受的载体组合。

[0126] 所述新颖药物组合物含有、可含有约0.1%至约99.9%,优选地约1%至约60%的治疗剂。

[0127] 用于经肠或不经肠施用的用于组合疗法的合适药物组合物是例如呈单位剂型的那些组合物,如包覆糖衣的片剂、片剂、胶囊或栓剂或安瓿。如果未另外指示,那么这些组合物是以本身已知的方式,例如借助于各种常规混合、粉碎、直接压缩、粒化、包覆糖衣、溶解、冻干工艺或本领域技术人员显而易知的制造技术来制备。应了解,含于各剂型的个别剂量中的组合搭配物的单位含量无需单独构成有效量,因为必需的有效量可通过施用多个剂量单位来实现。

[0128] 含有试剂组合或试剂组合的个别试剂的单位剂型可呈封入胶囊(例如明胶胶囊)内的微片剂形式。为此,可使用用于药物制剂中的明胶胶囊,如可获自Pfizer的硬明胶胶囊(称为CAPSUGEL)。

[0129] 本发明的单位剂型可任选地还包含用于药品的额外常规载体或赋形剂。所述载体的实例包括但不限于崩解剂、粘合剂、润滑剂、助流剂、稳定剂和填充剂、稀释剂、着色剂、调味剂和防腐剂。本领域普通技术人员可关于剂型的特定所需特性通过常规实验并且无任何不当负荷来选择一种或多种上述载体。所用的各载体的量可在本领域中的常规范围内变化。以下均以引用的方式并入本文的参考文献公开用于配制口服剂型的技术和赋形剂。参见The Handbook of Pharmaceutical Excipients,第4版,Rowe等编,American Pharmaceuticals Association(2003);和Remington:the Science and Practice of Pharmacy,第20版,Gennaro编,Lippincott Williams&Wilkins(2003)。

[0130] 这些任选的额外常规载体可通过在粒化之前或期间将所述一种或多种常规载体并入初始混合物中,或通过组合所述一种或多种常规载体与呈口服剂型的包含试剂组合或试剂组合的个别试剂的颗粒组合而并入口服剂型中。在后一实施方案中,组合的混合物可进一步掺合,例如通过V型掺混器,且随后压缩或模制成片剂,例如单片片剂,通过胶囊封装,或填充至药包中。

[0131] 药学上可接受的崩解剂的实例包括但不限于淀粉;粘土;纤维素;海藻酸盐;胶;交联聚合物,例如交联聚乙烯吡咯烷酮或交联聚维酮,例如来自International Specialty

Products(Wayne,NJ) 的 POLYPLASDONE XL;交联羧甲基纤维素钠 (cross-linked sodium carboxymethylcellulose) 或交联羧甲基纤维素钠 (croscarmellose sodium),例如来自 FMC 的 AC-DI-SOL;和交联羧甲基纤维素钙;大豆多糖;和瓜尔胶。崩解剂可以所述组合物的约 0 重量%至约 10 重量%的量存在。在一个实施方案中,崩解剂是以组合物的约 0.1 重量%至约 5 重量%的量存在。

[0132] 药学上可接受的粘合剂的实例包括但不限于淀粉;纤维素和其衍生物,例如微晶纤维素,例如来自 FMC(Philadelphia,PA) 的 AVICEL PH、来自 Dow Chemical Corp. (Midland,MI) 的羟基丙基纤维素、羟基乙基纤维素和羟基丙基甲基纤维素 METHOCEL;蔗糖;右旋糖;玉米糖浆;多糖;和明胶。粘合剂可以所述组合物的约 0 重量%至约 50 重量%,例如 2-20 重量%的量存在。

[0133] 药学上可接受的润滑剂和药学上可接受的助流剂的实例包括但不限于胶状二氧化硅、三硅酸镁、淀粉、滑石、磷酸三钙、硬脂酸镁、硬脂酸铝、硬脂酸钙、碳酸镁、氧化镁、聚乙二醇、粉末状纤维素和微晶纤维素。润滑剂可以所述组合物的约 0 重量%至约 10 重量%的量存在。在一个实施方案中,润滑剂可以组合物的约 0.1 重量%至约 1.5 重量%的量存在。助流剂可以约 0.1 重量%至约 10 重量%的量存在。

[0134] 药学上可接受的填充剂和药学上可接受的稀释剂的实例包括但不限于糖粉、可压缩糖、葡萄糖结合剂 (dextrate)、糊精、右旋糖、乳糖、甘露醇、微晶纤维素、粉末状纤维素、山梨醇、蔗糖和滑石。填充剂和 / 或稀释剂例如可以所述组合物的约 0 重量%至约 80 重量%的量存在。

[0135] 在一个实施方案中,本发明还涉及用于制备供治疗或预防有需要的受试者的增生性疾病用的药物组合物或药物的本发明的组合。

[0136] 在另一实施方案中,本发明涉及 PKC 抑制剂化合物 3-(1H- 吡啶 -3- 基)-4-[2-(4- 甲基 - 哌嗪 -1- 基)- 喹唑啉 -4- 基]-1H- 吡咯 -2, 5- 二酮 (化合物 A) 或其药学上可接受的盐,和 (b) 选自包含 6-(4- 溴 -2- 氟苯基氨基)-7- 氟 -3- 甲基 -3H- 苯并咪唑 -5- 羧酸 (2- 羟基乙氧基)- 酰胺、(S)-5- 氟 -2-(2- 氟 -4-(甲基硫基) 苯基氨基)-N-(2- 羟基丙氧基)-1- 甲基 -6- 氧代 -1, 6- 二氢吡啶 -3- 甲酰胺、PD0325901、PD-184352、RDEA119、GSK1120212、XL518、AS-701255、AS-701173、AS703026、RDEA436、E6201、R04987655、JTP-74057、RG7167 或 RG7420 的群组的至少一种 MEK 抑制剂化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗或预防有需要的受试者的增生性疾病用的药物组合物或药物中的用途。优选是选自 6-(4- 溴 -2- 氟苯基氨基)-7- 氟 -3- 甲基 -3H- 苯并咪唑 -5- 羧酸 (2- 羟基乙氧基)- 酰胺 (化合物 B) 或 (S)-5- 氟 -2-(2- 氟 -4-(甲基硫基) 苯基氨基)-N-(2- 羟基丙氧基)-1- 甲基 -6- 氧代 -1, 6- 二氢吡啶 -3- 甲酰胺 (化合物 C) 的 MEK 抑制剂。

[0137] 根据本发明,治疗有效量的本发明的组合的各组合搭配物可同时或依序并且以任何顺序施用,且所述组分可分开地或作为固定组合施用。例如,根据本发明的治疗增生性疾病的方法可包括 (i) 施用呈游离或药学上可接受的盐形式的第一试剂 (a) 和 (ii) 施用呈游离或药学上可接受的盐形式的试剂 (b),其同时或以任何顺序依序,以联合地治疗有效量,优选地以协同有效量,例如以对应于本文所述量的每天或间接剂量施用。本发明的组合的各组合搭配物可在治疗过程期间的不同时间分开地或以分次或单一组合形式并行地施

用。此外,术语“施用”还涵盖使用组合搭配物的前药,所述前药体内原样转化为所述组合搭配物。本发明因此应了解为包含同时或交替治疗的所有所述方案并且术语“施用”应相应地加以解释。

[0138] 用于本发明的组合中的组合搭配物的有效剂量可根据所采用的特定化合物或药物组合物、施用模式、所治疗的病况和所治疗的病况的严重程度而变化。因此,本发明的组合的给药方案是根据多种因素来选择,包括施用途径和患者的肾和肝功能。一般技术的临床医生或医师可容易地确定和开出缓解、阻遏或抑制病况的进展所需的单一治疗剂的有效量。

[0139] 可产生功效而无毒性的本发明的组合的组合搭配物(a)和(b)的最佳比率、个别和组合剂量和浓度是基于所述治疗剂可用于靶标位点的动力学,并且可使用本领域技术人员已知的方法来确定。

[0140] 各组合搭配物的有效剂量可需要更频繁施用所述化合物中的一种,如与组合中的其它化合物相比。因此,为了允许适当给药,包装的药物产品可含有一种或多种含有化合物的组合的剂型,和一种或多种含有化合物的组合之一而非所述组合的其它化合物的剂型。

[0141] 当用于本发明的组合中的组合搭配物以作为单一药物市售的形式应用时,如果本文中未另外提及,那么其剂量和施用模式可与各别市售药物的包装插页上提供的信息一致。

[0142] PKC抑制剂化合物化合物A可每天以单剂量或分剂量施用于合适的受试者,单剂量或分剂量的有效剂量在每天每千克体重约0.05至约50mg,优选地约0.1-25mg/kg/天,更优选地约0.5-10mg/kg/天的范围内。对于70kg的人而言,这将相当于每天约35-700mg的优选剂量范围。

[0143] MEK抑制剂化合物化合物B可每天以单剂量或分剂量施用于合适的受试者,单剂量或分剂量的有效剂量在每天每千克体重约0.001至约100mg,优选地约1至约35mg/kg/天的范围内。对于70kg的人而言,这将相当于约0.05至7g/天,优选地约0.05至约2.5g/天的优选剂量范围。

[0144] MEK抑制剂化合物化合物C可每天以单剂量或分剂量施用于合适的受试者,单剂量或分剂量的有效剂量在每天每千克体重约0.001至约100mg,优选地约1mg/kg/天至约35mg/kg/天的范围内。对于70kg的人而言,这将相当于约0.07至2.45g/天,优选地约0.05至约1.0g/天的优选剂量范围。

[0145] 用于治疗增生性疾病的各组合搭配物的最佳剂量可凭经验针对各个体使用已知方法来测定且将视多种因素而定,包括但不限于疾病的增进程度;个体的年龄、体重、一般健康状况、性别和饮食;施用的时间和途径;和个体所采用的其它药疗法。最佳剂量可使用本领域中众所周知的常规测试和程序来确立。

[0146] 可与载体材料组合产生单一剂型的各组合搭配物的量将视所治疗的个体和特定施用模式而变化。在一些实施方案中,含有如本文所述的试剂的组合的单位剂型将含有当所述试剂单独施用时典型地施用的所述组合的各试剂的量。

[0147] 给药频率可视所用的化合物和待治疗或预防的特定病况而变化。一般来说,足以提供有效疗法的最小剂量的使用是优选的。患者一般可使用本领域技术人员将熟悉的适合于所治疗或预防的病况的测定来监测治疗有效性。

[0148] 本发明涉及一种治疗患有增生性疾病的受试者的方法,其包括向所述受试者施用本发明的组合,其量联合地在治疗上有效对抗增生性疾病。具体说来,待用本发明的组合治疗的增生性疾病是选自黑素瘤、葡萄膜黑素瘤、转移性葡萄膜黑素瘤、GNAQ 或 GNA11 突变型葡萄膜黑素瘤和 GNAQ 或 GNA11 突变型转移性葡萄膜黑素瘤。

[0149] 此外,治疗可包含手术或放射疗法。

[0150] 本发明还涉及用于治疗增生性疾病,具体说来癌症,如葡萄膜黑素瘤、转移性葡萄膜黑素瘤、GNAQ 或 GNA11 突变型葡萄膜黑素瘤和癌症,且更具体说来葡萄膜黑素瘤、转移性葡萄膜黑素瘤和 GNAQ 或 GNA11 突变型转移性葡萄膜黑素瘤的本发明的组合。

[0151] 本发明还提供一种商业包装,其包含作为治疗剂的本发明的组合,以及关于其同时、分开或依序施用以用于延迟有需要的受试者的增生性疾病的进展或治疗增生性疾病的说明书。

[0152] 以下实施例说明上述发明;然而,其不意图以任何方式限制本发明的范畴。本发明的药物组合的有益效应也可通过所述领域技术人员本身已知的其它测试模型来测定。

实施例

[0153] 实施例 1

[0154] 细胞系和细胞培养物

[0155] 92.1 和 OMM-1 葡萄膜黑素瘤细胞系是在补充有 10% 胎牛血清的 Roswell Park Memorial Institute 培养基 (RPMI 1640) (美国模式培养物保藏所 (American Type Culture Collection) (ATCC#30-2001)) 中培养且在 37°C /5% 二氧化碳下温育。92.1 细胞系具有 GNAQ 突变,且 OMM1 细胞系在 GNA11 中具有突变。

[0156] 用于体外实验的化合物制备

[0157] 3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹唑啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮(下文中 AEB071)和 6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸(2-羟基乙氧基)-酰胺(下文中化合物 B)的化学储备液在二甲亚砜(DMSO)中以 10mM 的最终浓度制备。

[0158] 通过 xCELLigence 进行增生测量

[0159] 用 xCELLigence 实时细胞分析器连续地监测葡萄膜细胞的生长。E-plate(Roche#05232368001)与以每孔每 100 μ l 有 3000 个细胞的最终浓度添加的细胞一起温育。每隔 2 小时测量阻抗,持续 24 小时。24 小时后,DMSO、化合物 B、AEB071 或两种化合物以每种化合物 1 μ M 的最终浓度添加至孔中,达到 120 μ l 的总体积。每隔 2 小时测量阻抗,历经 7 天。数据针对化合物添加前的第 0 天进行标准化。

[0160] 示出 3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-喹唑啉-4-基]-1H-吡咯-2,5-二酮(化合物 A)和 6-(4-溴-2-氟苯基氨基)-7-氟-3-甲基-3H-苯并咪唑-5-羧酸(2-羟基乙氧基)-酰胺(化合物 B)对葡萄膜黑素瘤体外增生的效应(图 1)。葡萄膜黑素瘤细胞系在 6 天过程中的生长是通过 xCELLigence 技术在 0.5 μ M DMSO、0.5 μ M AEB071、0.5 μ M 化合物 B 或 0.5 μ M AEB071+0.5 μ M 化合物 B 存在下测量。在分别具有 GNAQ 和 GNA11 突变的 92.1 和 OMM1 细胞系中,AEB071 延迟细胞生长;当与化合物 B 组合时,这种效应增大。单一试剂化合物 B 对两种葡萄膜黑素瘤细胞系 92.1 和 OMM1 的生长具有适度效应;

非常显著的是这两种试剂的组合能够完全抑制两种细胞系的增生。

[0161] 实施例 2

[0162] 细胞系和细胞培养物

[0163] 根据实施例 1

[0164] 用于体外实验的化合物制备

[0165] 根据实施例 1。

[0166] 组合剂量矩阵中的细胞增生

[0167] 细胞以每孔每 100 μ l 培养基 3000 个细胞的密度接种于 96 孔板 (Costar#3904) 中且温育过夜,接着添加化合物。在适当培养基中新鲜制备化合物储备液且通过电子多通道移液管一式三份手动添加至板中。细胞用单独化合物或用 AEB071 和化合物 B 的组合处理,针对在 0.039 μ M 至 10 μ M 范围内的十点稀释以 1:2 稀释。细胞活力在化合物添加时且在 144 小时处理后通过经由 Cell Titer Glo (Promega#G7571) 根据制造商的方案定量细胞 ATP 含量来分析。板在发光板读取器 (Victor X4, Perkin Elmer) 上读数。生长的相对抑制使用 XLFit 来计算且针对无化合物的孔标准化。关于生长抑制,在计算抑制之前减去第 0 天的值。通过 Chalice 软件 (<http://chalice.zaliscus.com/documentation/analyzer/index.jsp>) 分析数据以计算生长抑制、抑制和 HSA 过量。

[0168] 结果

[0169] 与化合物 B 组合的 AEB071 的抗增生效应是归因于这两种试剂之间的协同作用,如图 2 所显示。图 2 提供对于 92.1 细胞系中这两种试剂之间的协同作用模式的深入观察。示出这两种试剂之间的剂量矩阵;上部图中示出相对于未处理的细胞对于细胞生长的效应,中心图中示出过量抑制 (HSA) 且下部图中示出相对于第 0 天标准化的生长抑制。计算生长抑制、抑制和 HAS 过量的方法为本领域中已知的。

[0170] 单一试剂化合物 B 和 AEB071 均在细胞系 92.1 中具活性,但重要的是,组合这两种试剂会在较低剂量下产生大于叠加的反应量。例如,0.16 μ M 单一试剂化合物 B 产生 57% 生长抑制,并且单一试剂 AEB071 在 0.16 μ M 下产生 19% 生长抑制,但在这些剂量下组合这两种试剂产生 82% 的生长抑制 (图 2,上部图)。这种剂量组合代表过量抑制 25,如图 2 中间图中可见。关于所有剂量组合的抑制和过量抑制值可见于图 2 中。关于图 2 下部图中所示的生长抑制百分比的计算,考虑在 3 天测定期间细胞的生长速率。100% 指示停滞,意味着细胞在测定过程期间既不生长也未死亡,过量值 100 指示死亡,200 是完全细胞死亡,且低于 100 的值指示从测定开始至第 3 天终点的生长。

[0171] 实施例 3:在药物处理葡萄膜黑素瘤细胞系 92.1 和 OMM1 之后通过蛋白质免疫印迹获得的生物化学概况。

[0172] 葡萄膜黑素瘤细胞用 0.5 μ M AEB071、0.5 μ M 化合物 B、两种化合物或单独 DMSO 温育。细胞在含有 PhosStop 磷酸酶抑制剂混合物片剂 (Roche Diagnostics#04906837001) 和完全蛋白酶抑制剂混合物片剂 (Roche Diagnostics#11836145001) 的 M-PER 哺乳动物蛋白萃取缓冲液中处理 2、4、8、24 或 48 小时之后溶解。蛋白质在 4-12% Bis-Tris NuPAGE SDS 凝胶 (Invitrogen#WG1403Bx10) 上分离且随后使用干燥印迹系统 (Invitrogen iBLOT) 转移至硝基纤维素膜。蛋白质用抗 p44/42MAPK (Cell Signaling Technologies#4377)、抗 pMARCKS (Cell Signaling Technologies#2741)、抗 pMEK1/2 (Cell Signaling

Technologies#9121) 和抗 β 肌动蛋白 (Ambion#AM4202) 的 1:1000 稀释液检测。 β 肌动蛋白使用适当二次抗体和红外染料检测系统 (Odyssey IRDye, LI-COR) 根据制造商的方案检测。所有其它蛋白均使用抗兔 -HRP 二次抗体检测且用 SuperSignal West Dura 化学发光底物 (Thermo Scientific#34076) 在 Syngene 成像系统上显影。

[0173] 结果

[0174] 这些试剂的生物化学效应是在用 0.5 μ M AEB071、0.5 μ M 化合物 B 或 0.5 μ M 各试剂一起在葡萄膜黑素瘤细胞系 92.1 和 OMM-1 中处理之后分析。pMARCKS 的含量减少 (图 3)。化合物 B 添加至 AEB071 中对 pMARCKS 表达无进一步效应。用化合物 B 处理相同细胞导致 pERK1/2 含量降低, 如在 2 小时可见; 截至 24 小时, pERK1/2 的表达开始恢复。此外, 单一试剂化合物 B 处理导致在两种细胞系中随时间诱导 pMEK1/2 表达; 这在 48 小时处理后清楚地观察到。令人意外地, 只有 AEB071 和化合物 B 的组合产生 pERK1/2、pMEK1/2 的持续抑制。显著地, AEB071 明显地预防由化合物 B 单一试剂处理引起的 pMEK 诱导。AEB071 和化合物 B 的组合与任一单一试剂相比抑制路径组分至较大量和持续时间。

[0175] 使用具有 GNAQ 突变的 92.1 人类葡萄膜黑素瘤裸小鼠异种移植模型来分析 AEB071、化合物 B 以及 AEB071 和化合物 B 的组合的体内活性, 如实施例 4、5 和 6 中所示。如从所获得的结果可见, 在化合物 B 与 AEB071 之间观察到的体外协同作用转化成体内功效。如图 4 中所示, 单药疗法 AEB071 处理导致 3% T/C ($p < 0.01$), 每天两次以 3.5mg/kg 给药的化合物 B 添加至 AEB071 方案中会产生 -22% T-T0 ($p < 0.001$ 中值活性, 但与单独 AEB071 相比不显著)。化合物 B 本身无活性, 其中 T/C 为 84%。这两种化合物的组合强烈地预防葡萄膜黑素瘤 92.1 模型中的体内肿瘤生长。此外, 在与化合物 B 组合的 AEB071 的多个剂量下的处理在 92.1 体内葡萄膜黑素瘤模型中有效, 如图 6 所示。所述组合的有效性以剂量依赖性方式增加, 其中与化合物 B 组合的增加的 AEB071 剂量产生较大的反应量。

[0176] 实施例 4: 评估 92.1 人类葡萄膜黑素瘤裸小鼠异种移植模型中的体内活性。

[0177] 用于体内实验的化合物制备

[0178] NVP-AEB071 (还称为 AEB071) (乙酸盐, 87.96% 游离碱) 粉末添加至 20% 聚乙二醇 400 (PEG400): 4.5% 0.1M HCl: 75.5% 含 5% 右旋糖的水 (D5W) (指定为媒介物 1) 中, 且搅拌以获得澄清红色溶液。NVP- 化合物 B (还称为化合物 B) 配制为含 1% 羧甲基纤维素: 0.5% Tween® 80 的去离子水中的均质悬浮液。每周一次针对各化合物制备新鲜悬浮液且存储在 4°C 下。

[0179] 小鼠

[0180] 雌性无胸腺裸小鼠 (Cr1:NU(Ncr)-Foxn1nu, Charles River) 为 9 周龄, 且在研究的 D1, 具有 20.6-26.9g 的体重 (BW) 范围。所述动物无限制地喂食水 (反渗透, 1ppm Cl) 和由 18.0% 粗蛋白质、5.0% 粗脂肪和 5.0% 粗纤维组成的 NIH 31 改质和照射的 Lab Diet®。所述小鼠圈养在处于 20-22°C (68-72°F) 和 40-60% 湿度下的静态微隔离器中以 12 小时光循环照射的 Enrich-o' cobs™ 实验室动物垫料上。DRS-NC 特定地遵从实验动物护理和使用指南 (Guide for Care and Use of Laboratory Animals) 关于约束、管理、手术程序、喂养和流体规则和兽医护理的建议。DRS-NC 的动物程式由国际实验动物饲养评估认证协会 (Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care (AAALAC) International) 认证, 从而确保遵从关于实验动物护理和使用的已接受标准。

[0181] 肿瘤植入和测量

[0182] 92.1 葡萄膜黑素瘤细胞在指数生长期收集, 且再悬浮于具有 50 % Matrigel™(BD Biosciences) 的冷 PBS(磷酸盐缓冲生理盐水) 中。各小鼠在右侧腹中皮下接种 5×10^6 个细胞 (0.2 mL 细胞悬浮液)。当肿瘤的平均体积接近所需的 100–150 mm³ 范围时, 在两个维度中用卡尺测量肿瘤以监测生长。肿瘤尺寸 (mm³) 如下计算:

[0183] 肿瘤体积 = $(w^2 \times l) / 2$

[0184] 其中 w = 肿瘤的宽度 (mm) 且 l = 肿瘤的长度 (mm)。肿瘤重量可能通过假设 1 mg 等效于 1 mm³ 肿瘤体积来估计。在肿瘤细胞植入后 12 天 (在研究的第 1 天 (D1)), 将个别肿瘤体积为 108–256 mm³ 的动物分成 6 个组 ($n = 10$ / 组), 其中组平均肿瘤体积为 153–159 mm³。

[0185] AEB071 以 91 mg/kg 每天 3 次 (TID) 给药来施用, 持续 21 天。由第 17 天 (所有小鼠均处于研究中的最后一天) 的肿瘤生长抑制测定功效。活性计算为肿瘤 / 对照组 (T/C), 即相对于媒介物处理小鼠在药物处理小鼠中从第 1 天至第 17 天的平均肿瘤体积变化百分比 (ΔT); 或计算为 T/T_0 , 即组平均肿瘤体积从第 1 天降低的百分比。如图 4 中所示, 单药疗法 AEB071 处理产生 3% T/C ($p < 0.01$)。每天两次以 3.5 mg/kg 给药的化合物 B 添加至 AEB071 方案中会产生 -22% T- T_0 ($p < 0.001$ 中值活性, 但与单独 AEB071 相比不显著)。化合物 B 本身无活性, 其中 T/C 为 84%。

[0186] 实施例 5

[0187] 用于体内实验的化合物制备

[0188] 根据实施例 4

[0189] 小鼠

[0190] 根据实施例 4

[0191] 肿瘤植入和测量

[0192] 根据实施例 4

[0193] 实施例 6

[0194] 用于体内实验的化合物制备

[0195] 根据实施例 4

[0196] 小鼠

[0197] 根据实施例 4

[0198] 肿瘤植入和测量

[0199] 根据实施例 4

[0200] AEB071 单药疗法在给药期期间产生几乎完全的平均肿瘤停滞, 而所述组合引起适度的平均肿瘤减小。在给药期后两周, 肿瘤在 AEB071 单药疗法处理组中以控制速度进展, 而在组合组中肿瘤较缓慢地进展 (图 5)。

[0201] 图 5 示出在追踪持续 >70 天的 92.1 人类葡萄膜黑素瘤裸小鼠异种移植模型中的体内肿瘤生长。对小鼠给药持续 21 天, 接着停止处理且监测肿瘤向外生长。在给药期后两周, 肿瘤在 AEB071 单药疗法处理组中以控制速度进展, 而在组合组中肿瘤以较慢速率进展。未计算肿瘤生长延迟, 因为在初始生长期后每组有两个或两个以上肿瘤变成静态, 但肿瘤向外生长速率的趋势指示 AEB071 加上化合物 B 组合肿瘤生长得比 AEB071 单一试剂慢, 化合物 B 单一试剂处理的肿瘤因为缺乏功效而未监测。这一数据指示 AEB071 与化合物 B

的组合与任一单个试剂相比在葡萄膜黑素瘤的体内 92.1 模型中具有较大的反应量。

[0202] 图 6 示出,在与化合物 B 组合的 AEB071 的多个剂量下的处理在使用 92.1 葡萄膜黑素瘤模型的另一体内研究中有效。所述组合的有效性以剂量依赖性方式增加,其中与化合物 B 组合的增加的 AEB071 剂量产生较大的反应量。在 92.1 人类葡萄膜黑素瘤裸小鼠异种移植模型中,与在 3.5mg/kg 下使用每天 2 次给药的化合物 B 组合, AEB071 在 90.95、45.58 和 22.74mg/kg 下(相等于 80、40 和 20mg/kg 游离碱)使用每天 3 次给药(TID)施用,持续 21 天。功效由第 22 天的肿瘤生长抑制测定。活性计算为肿瘤/对照组(T/C),即相对于媒介物处理小鼠在药物处理小鼠中从第 1 天至第 22 天的平均肿瘤体积变化百分比(ΔT);或计算为 T/T0,即组平均肿瘤体积从第 1 天降低的百分比。如图 6 中所示,在 90.95mg/kg 下的单药疗法 AEB071 产生 18% T/C($p<0.05$)。使用 45.5 和 22.7mg/kg 的单药疗法分别产生 52%和 92% T/C,和非显著中值抑制。添加以 3./kg 每天两次给药的化合物 B 以及 90.95 和 45.58mg/kg 的 AEB071 剂量分别产生 -52%和 -12% T-T0($p<0.001$)。化合物 B 在这种体内模型中本身无活性,其中 T/C 为 56%。高剂量组合产生四个偏回归。

[0203] 结论

[0204] 由此提供的实验证据表明组合的 PKC 和 MEK 抑制在葡萄膜黑素瘤中是协同且有效的。这种组合因此有益于活化 GNAQ 或 GNA11 突变的设定,因为活化任一基因的突变均导致对于 PKC 信号传导的依赖性。组合这些试剂是体外抗增生性且体内有效的。葡萄膜黑素瘤细胞系中的 PKC 抑制使 pMARCKS 减少,但对 pERK1/2 含量具有适度效应。单一试剂 MEK 抑制能够阻断 pERK1/2,然而 pMEK1/2 含量随时间诱导,其中 MEK 抑制剂导致 pERK1/2 再活化。只有 MEK 和 PKC 抑制的组合能够实现 MARCKS、ERK1/2 和 MEK1/2 的持续减少的磷酸化。

[0205] 实施例 7

[0206] 这是 AEB071 和化合物 B 的组合的多中心、多国、非盲研究。合格的患者是诊断患有转移性葡萄膜黑素瘤的患者。所述研究具有两个部分。Ib 期是剂量递增研究并且 II 期是从 Ib 期获得的 MTD/RP2D {MTD(最大耐受剂量)/RP2D(推荐 2 期剂量)} 的随机化双组、平行组评估。所述研究是设计为开放标签的(非盲),因为所有患者在所述研究的 Ib 期部分中均接受与加入相同剂量群组内的其它患者相同的剂量,且只在 II 期研究中接受 BID(每天两次)针对 AEB071 和化合物 B 组合的 MTD/RP2D,或 BID(每天两次)45mg 化合物 B。

[0207] 在 Ib 期和 II 期中评估的研究性治疗由 II 期中 AEB071 和化合物 B 或作为单一试剂的化合物 B 组成。所述研究性治疗以单调固定的剂量施用,且不根据体重或体表面积施用。

[0208] 所有患者均以 28 天时程(一个周期)每天接受治疗,各周期之间不中断。可对各患者继续进行治疗,直至其不再得到益处或经历显著副作用,而由研究人员需要撤药、中止或撤回同意。

[0209] Ib 期是设计为测定组合疗法的 MTD(最大耐受剂量)和 RP2D(推荐 2 期剂量)的剂量递增研究。

[0210] AEB071 和化合物 B 在 Ib 期研究中施用于所有患者,且组合剂量将通过增加与 30mg 剂量的化合物 B 组合的 AEB071 的剂量来评估安全性。

[0211] 本研究的 II 期部分的目标是通过使用肿瘤尺寸的目标测量来分析疾病反应,且进一步表征安全性和耐受性。为了有助于这一评估,患者在中心以 1:1 形式随机化为接受

BID 针对 AEB071 和化合物 B 组合的 MTD/RP2D 或仅 BID (每天两次) 45mg 化合物 B。

[0212] AEB071 和化合物 B 在各 28 天周期期间均以下表中规定的剂量每天经口 BID (每天两次) 施用。

[0213] 表 : 剂量和治疗时程

[0214]

研究治疗	药物形式和 施用途径	剂量(总日剂量) mg		频率和/或 方案
		I 期	II 期	
AEB071	用于经口 使用的片剂	400 (800)	RP2D (2xRP2D)	每天(28天周期)
化合物 B	用于经口 使用的片剂	30 (60)	45 (90)	每天(28天周期)

[0215] 施用药物, 同时由现场工作人员检查肿瘤评估。如果发现患者发生进展, 那么立即停止治疗。

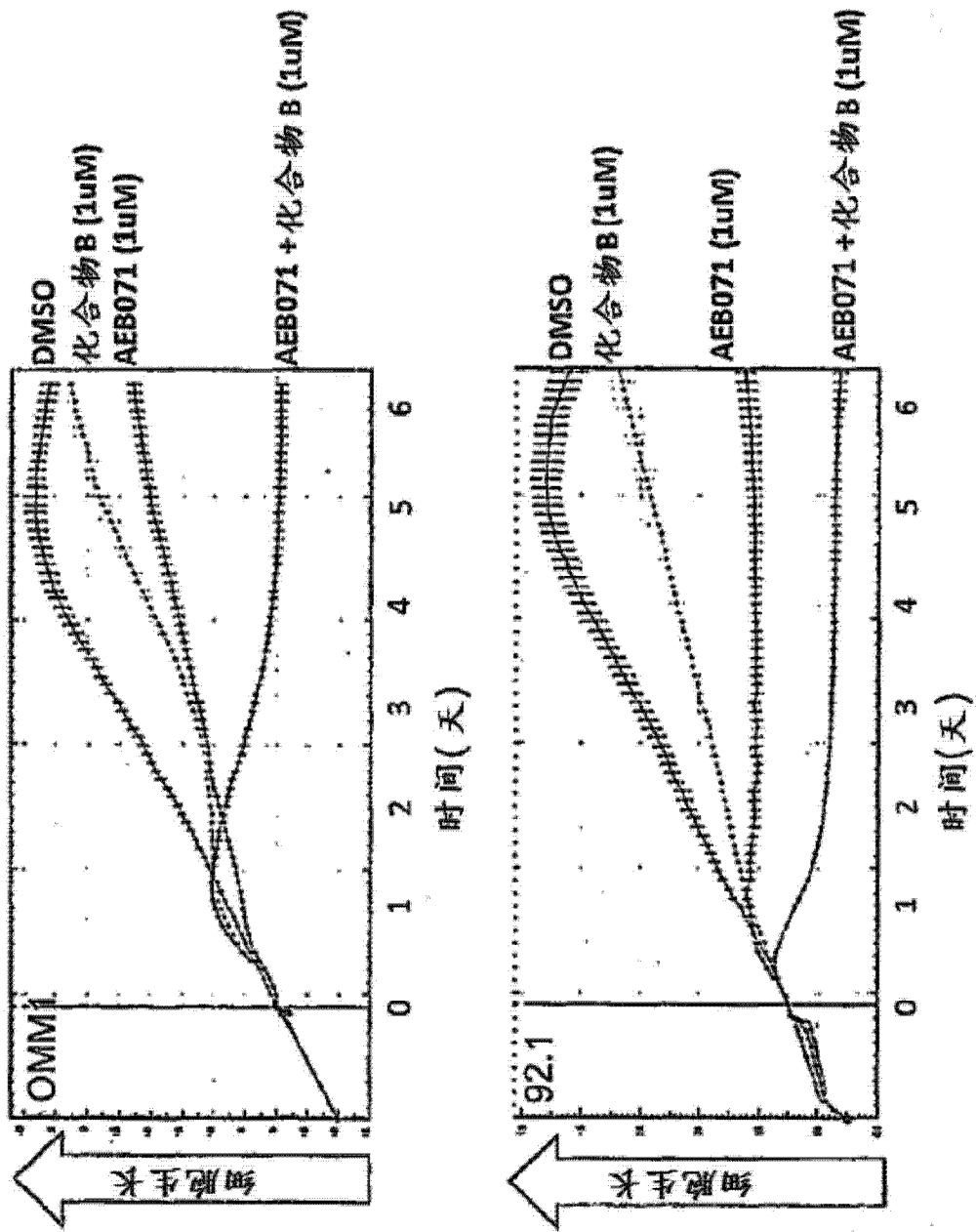


图 1

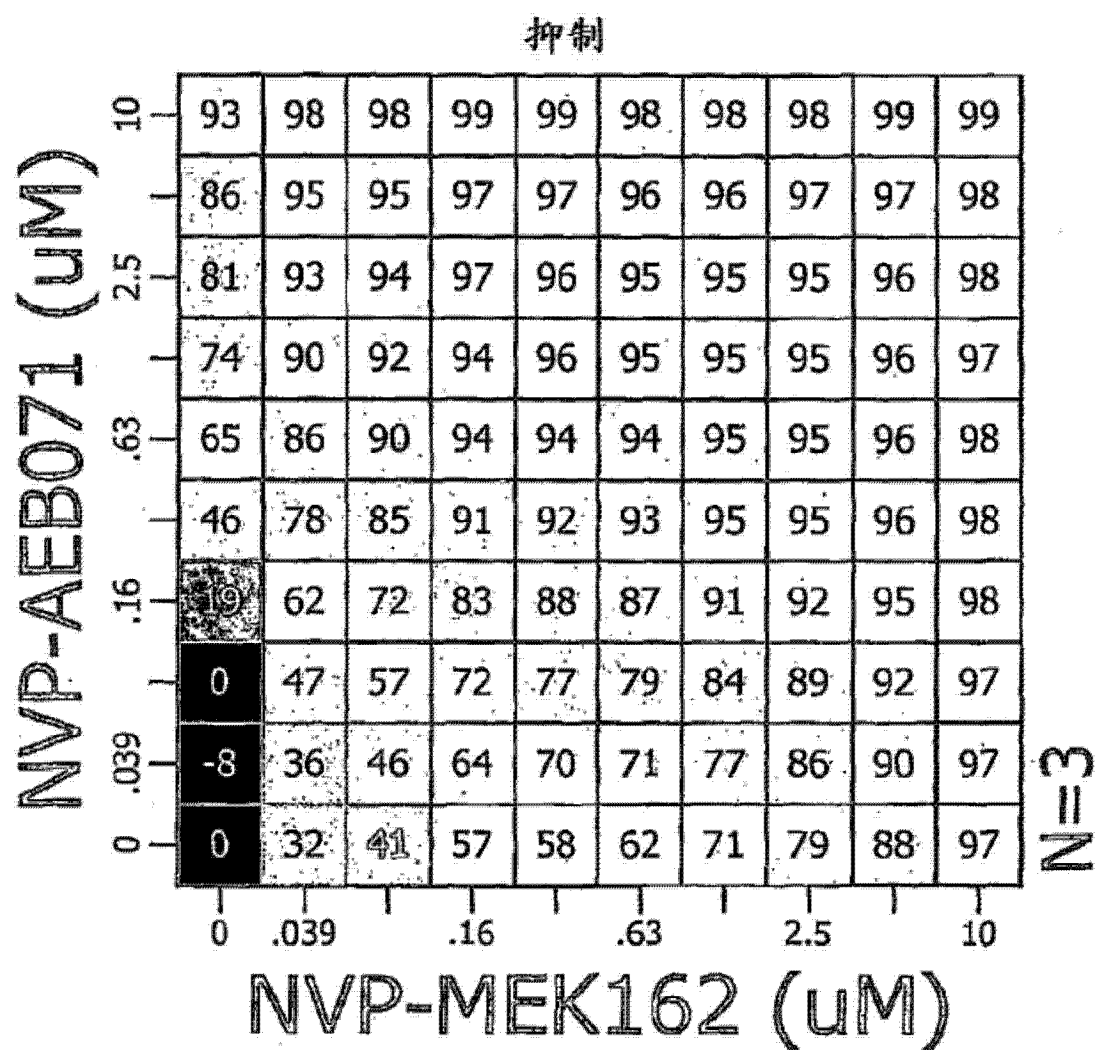


图 2A

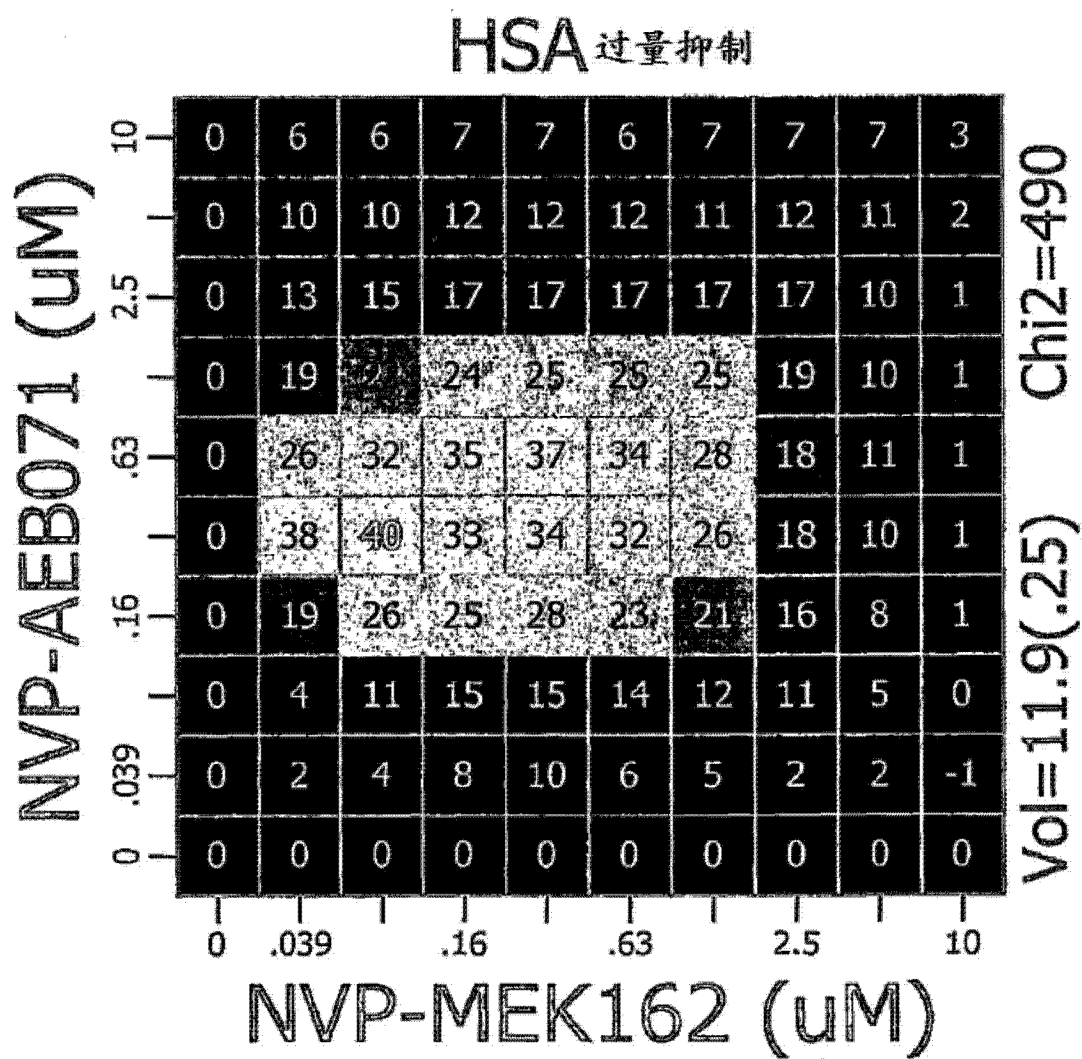


图 2B

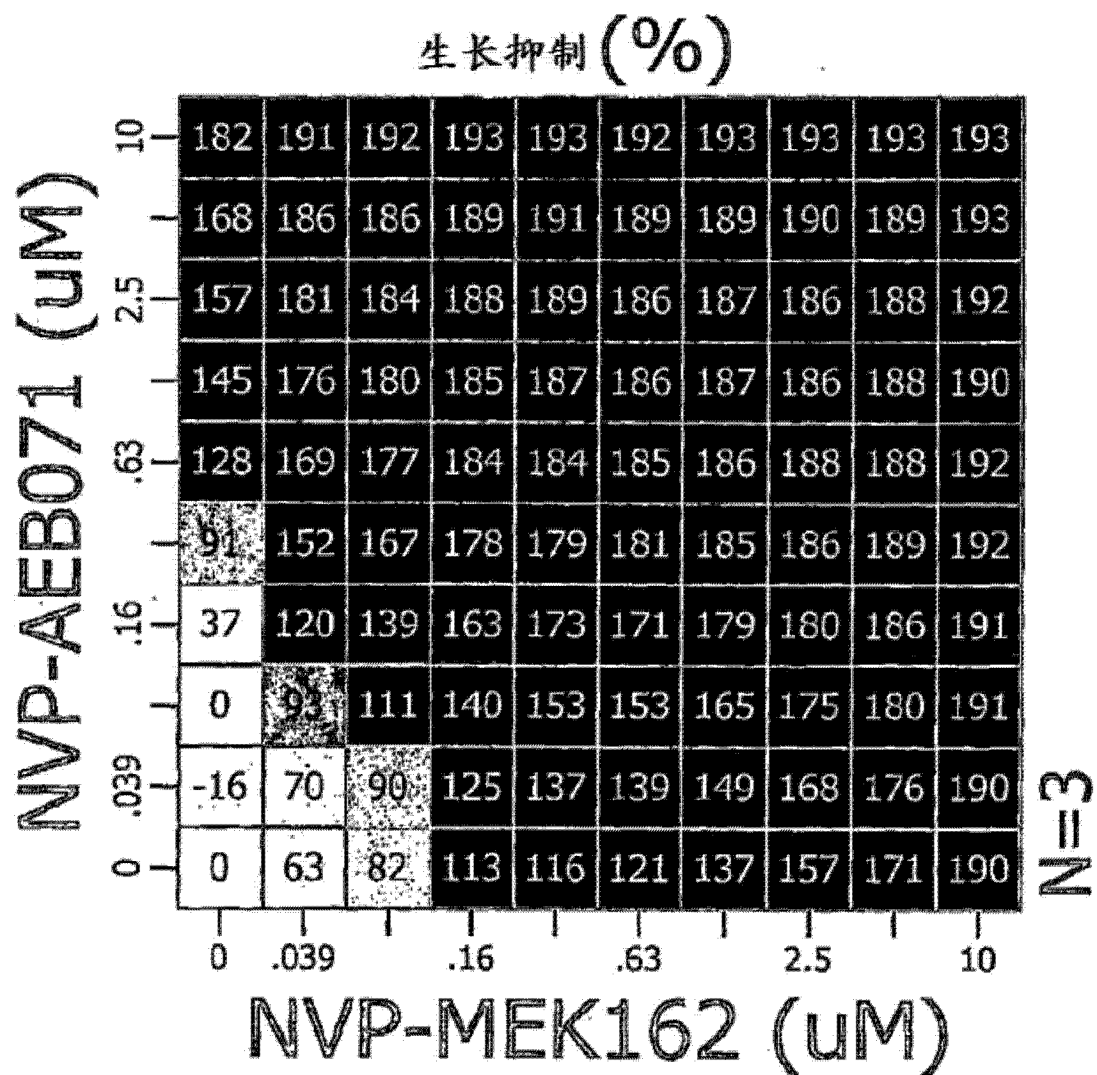


图 2C

		0.5μM AEB071 0.5μM 化合物 B DMSO		pMARCKS (Ssr152/156)	pERK1/2 (T18202/Y204)	pMEK1/2 (S217/221)	β-肌动蛋白			
48小时	AEB + 化合物 B									
	化合物 B									
	AEB071									
	DMSO									
24小时	AEB + 化合物 B									
	化合物 B									
	AEB071									
	DMSO									
8小时	AEB + 化合物 B									
	化合物 B									
	AEB071									
	DMSO									
4小时	AEB + 化合物 B									
	化合物 B									
	AEB071									
	DMSO									
2小时	AEB + 化合物 B									
	化合物 B									
	AEB071									
	DMSO									
细胞系		92.1	OMM-1	92.1	OMM-1	92.1	OMM-1	92.1	OMM-1	

图 3

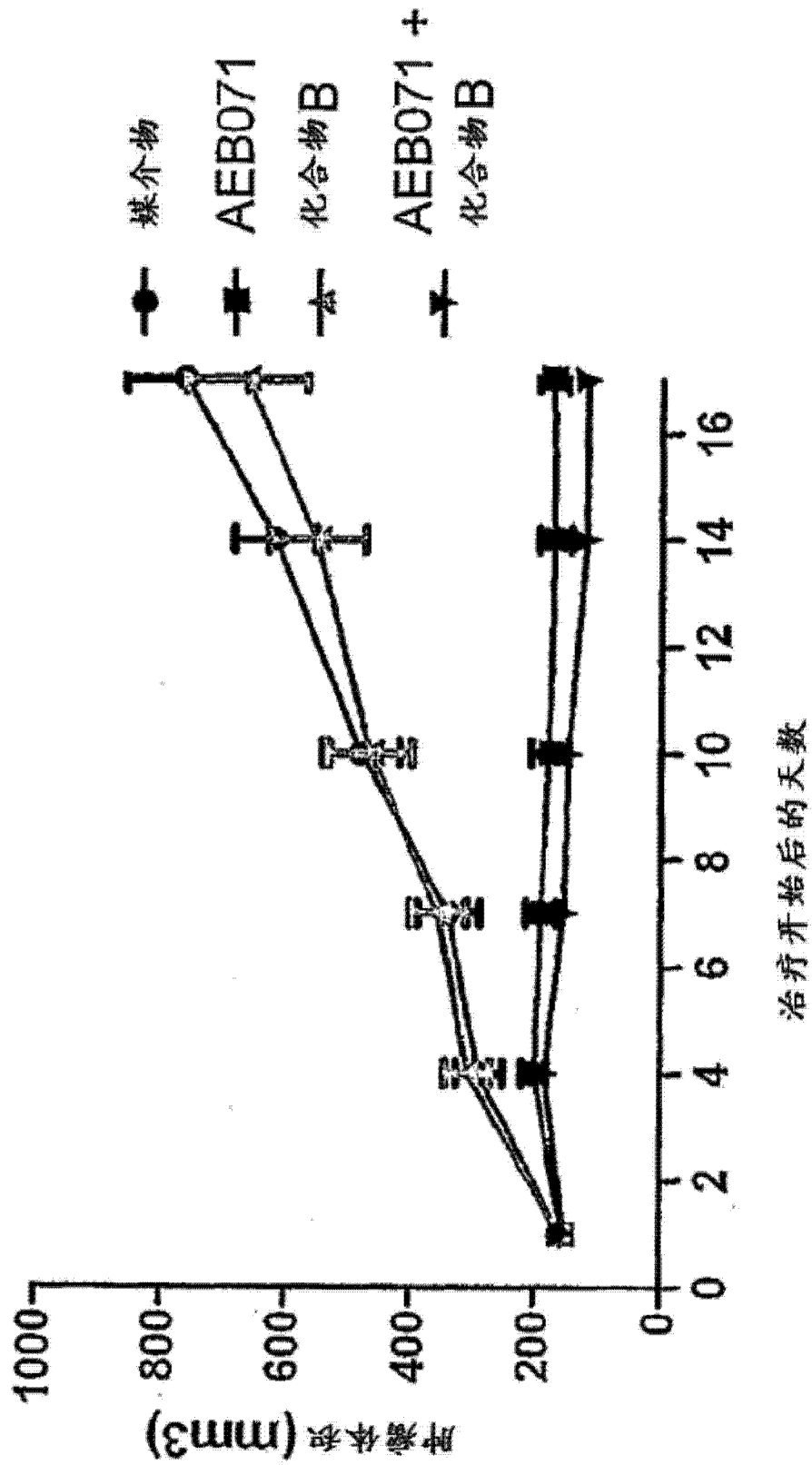


图 4

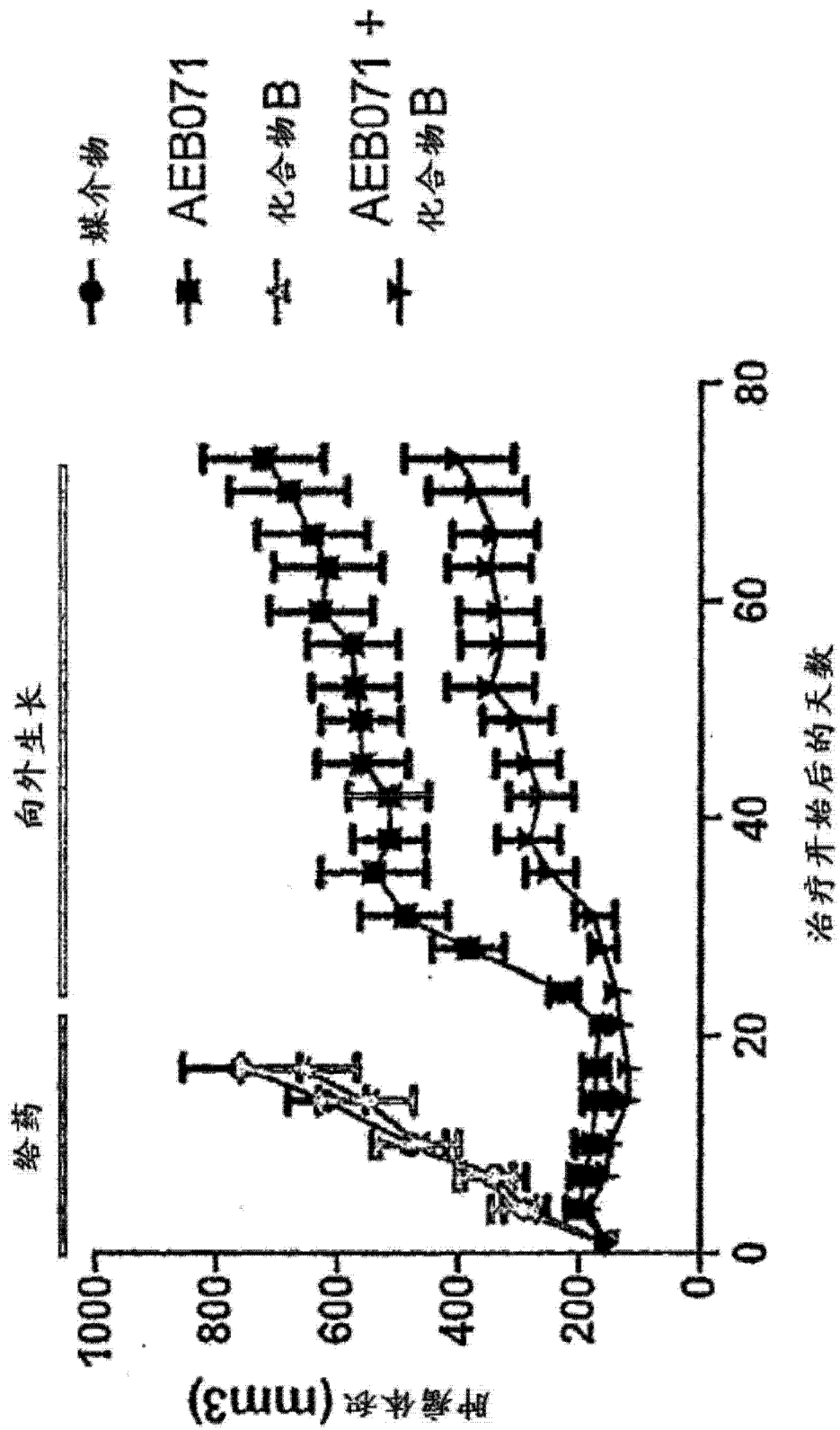


图 5

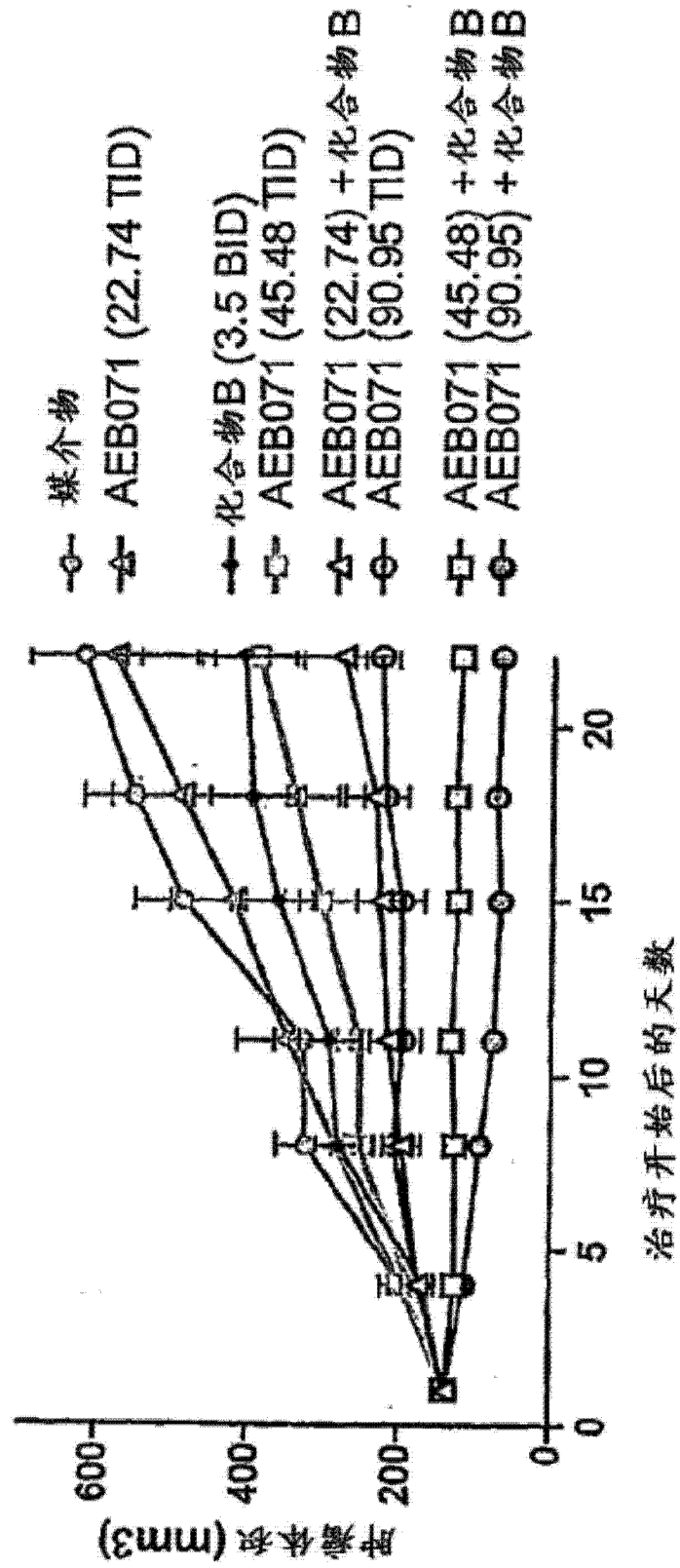


图 6