(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 102665418 B
(45)授权公告日 2014.10.29

(21)申请号 201080055873.2

(22)申请日 2010.10.08

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2012.06.08

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2010/051907 2010.10.08

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2011/044414 EN 2011.04.14

(73)专利权人 葛兰素史密斯克莱有限责任公司
地址 美国宾夕法尼亚州

(72)发明人 M. 邓布尔 T. 吉尔默 R. 库马
S. 拉奎尔 P.F. 勒博维茨
S.R. 莫里斯

(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所 11105
代理人 孔宪静

(51)Int.Cl.
A61K 31/425(2006.01)
A61K 31/506(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)

(56)对比文件
CN 101421265 A,2009.04.29, 说明书第1-306页.
WO 0042003 A1,2000.07.20, 第1-69页.
WO 2005121142 A1,2005.12.22, 第1-319页.

审查员 梁艳辉

权利要求书1页 说明书25页

(54)发明名称

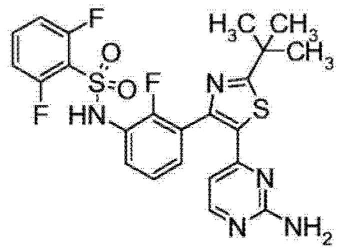
组合

(57)摘要

本发明涉及一种治疗人的癌症的方法，以及涉及一种用于这种治疗的药物组合。具体地，该方法是关于癌症治疗方法，包括向有此需要的人给药N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺或其可药用盐和N-{(1S)-2-氨基-1-[(3,4-二氟苯基)甲基]乙基}-5-氯-4-(4-氯-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-呋喃甲酰胺或其可药用盐。

1. 一种组合，其由以下组分组成：

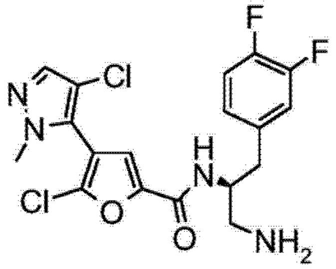
(i) 结构 (I) 的化合物：



(I)；

或其可药用盐；和

(ii) 结构 (II) 的化合物：



(II)

或其可药用盐。

2. 根据权利要求 1 的组合，其中所述结构 (I) 的化合物为甲磺酸盐的形式。

3. 一种组合试剂盒，其包含根据权利要求 1 或权利要求 2 的组合以及一种或多种可药用载体。

4. 根据权利要求 1 或权利要求 2 的所述的组合或者根据权利要求 3 所述的组合试剂盒在制备用于治疗癌症或癌前期综合征的一种或多种药物中的用途。

5. 用于治疗癌症或癌前期综合征的根据权利要求 1 或权利要求 2 所述的组合或者根据权利要求 3 所述的组合试剂盒。

6. 用于治疗癌症或癌前期综合征的组合或者组合试剂盒，其由治疗有效量的 N-{3-[5-(2- 氨基 -4- 嘧啶基)-2-(1,1- 二甲基乙基)-1,3- 噻唑 -4- 基]-2- 氟苯基 }-2,6- 二氟苯磺酰胺或其可药用盐和 N-{(1S)-2- 氨基 -1-[(3,4- 二氟苯基) 甲基] 乙基 }-5- 氯 -4-(4- 氯 -1- 甲基 -1H- 吡唑 -5- 基)-2- 呋喃甲酰胺或其可药用盐的组合组成，

其中所述组合在规定的期间内给药，和

其中所述组合给药一段持续时间。

7. 根据权利要求 4 所述的用途或根据权利要求 5 至 6 中任一项所述的组合或组合试剂盒，其中所述癌症为 Ras/Raf 野生型或突变型和 PI3K/PTEN 野生型或突变型。

8. 根据权利要求 4 所述的用途或者根据权利要求 5 至 6 中任一项所述的组合或组合试剂盒，其中所述癌症选自卵巢癌、乳腺癌、胰腺癌和前列腺癌。

组合

技术领域

[0001] 本发明涉及治疗哺乳动物癌症的方法，以及涉及用于这种治疗的组合。具体地，该方法涉及包括B-Raf抑制剂：N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺或其可药用盐和Akt抑制剂：N-{(1S)-2-氨基-1-[(3,4-二氟苯基)甲基]乙基}-5-氯-4-(4-氯-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-呋喃甲酰胺或其可药用盐的新组合，含有该组合的药物组合物，以及在治疗癌症中使用该组合的方法。

[0002] 发明背景

[0003] 对过度增殖疾病包括癌症的有效治疗一直是肿瘤学领域的目标。一般而言，癌症由控制细胞分裂、分化和细胞凋亡的正常过程中的失调而产生。凋亡（程序性细胞死亡）在胚胎发育和各种疾病的发病机制中起重要作用，所述疾病如变性神经元疾病（degenerative neuronal diseases）、心血管疾病和癌症。一种最常见的涉及激酶调节凋亡的研究途径是从细胞表面生长因子受体向细胞核的细胞信号传导（Crews and Erikson,Cell,74:215-17,1993）。

[0004] 酶的一个重要的大家族是蛋白激酶家族。存在约500种不同的已知的蛋白激酶。蛋白激酶起到催化不同的蛋白质中氨基酸侧链磷酸化的作用，其是通过向所述氨基酸侧链转移ATP-Mg^{2+}复合物的γ-磷酸盐来进行催化。这些酶控制细胞内部中的大量的信号处理，从而通过蛋白质中的丝氨酸、苏氨酸以及酪氨酸残基的羟基的反向磷酸化控制细胞功能、生长、分化以及破坏（凋亡）。研究证明蛋白激酶是多种细胞功能的关键调节剂，所述细胞功能包括信号转导、转录调节、细胞运动、以及细胞分裂。也已经显示一些致癌基因编码蛋白激酶，表明激酶在肿瘤生成过程中起重要作用。这些过程是高度调节的，通常通过复杂的互相结合的途径来调节，其中每个激酶本身受到一种或多种激酶调节。因此，异常的或不适当的蛋白激酶活性可能会导致与此类异常激酶活性相关的疾病状态的增加，所述疾病包括良性和恶性的增殖性病症，以及由免疫和神经系统不适当激活导致的疾病。由于它们的生理学关联性、多样性以及普遍性，蛋白激酶已经变成了最重要的和在生物化学和医学研究中得到广泛研究的一类酶。

[0005] 酶的蛋白激酶家族通常被分成两个主要的亚族：蛋白酪氨酸激酶和蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶，基于它们磷酸化氨基酸残基来分类。蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶（PSTK）包括环AMP-和环GMP-依赖性蛋白激酶、钙和磷脂依赖性蛋白激酶、钙-和钙调蛋白依赖性蛋白激酶、酪蛋白激酶、细胞分裂周期蛋白激酶等。这些激酶通常是细胞质的或与细胞的颗粒部分关联，可能是通过锚定蛋白关联。异常的蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性涉及或有可能涉及大量病理学问题，例如类风湿性关节炎、银屑病、感染性休克、骨丢失、多种癌症以及其它增殖性疾病。因此，丝氨酸/苏氨酸激酶和它们是其中的一部分的信号转导途径是药物设计的重要靶标。酪氨酸激酶磷酸化酪氨酸残基。在细胞调节中，酪氨酸激酶起到相当重要的作用。这些激酶包括分子（诸如生长因子以及激素）的一些受体，包括表皮生长因子受体、胰岛素受体、血小板衍生的生长因子受体等。研究已经显示多种酪氨酸激酶是跨膜蛋白质，

并且它们的受体域位于细胞外部以及它们的激酶域在内部。还在进行大量的工作以识别酪氨酸激酶的调节因子(modulator)。

[0006] 促细胞分裂剂-活化的蛋白质激酶(MAPK)/细胞外信号调节激酶(ERK)(下文称为MEK)已知与介导Raf-MEK-ERK信号传导途径的激酶的细胞增殖的调节相关,并且Raf家族(B-Raf,C-Raf等)激活MEK家族(MEK-1,MEK-2等)和MEK家族激活ERK家族(ERK-1和ERK-2)。

[0007] 经常观察到在癌症特别是结肠直肠癌、胰腺癌、肺癌、乳腺癌等中的Raf-MEK-ERK信号传导途径的激活。

[0008] 在高比例的人黑素瘤(Davies(2002),同上)和甲状腺癌(Cohen等J.Nat.Cancer Inst.(2003)95(8)625-627和Kimura等Cancer Res.(2003)63(7)1454-1457)中发现了天然存在的激活MAPK信号通路的B-Raf激酶的突变。由于Raf家族激酶在这些癌症中所起的作用以及对大量临床前期药物和治疗性药物包括选择性靶向抑制B-Raf激酶活性的药物(King A.J.,等,(2006)Cancer Res.66:11100-11105)的探索性研究,通常认为Raf家族激酶的抑制剂可用于治疗这些癌症或与Raf激酶有关的其它病症。

[0009] 凋亡(程序性细胞死亡)在胚胎发育和各种疾病的发病机制中起重要作用,所述疾病如变性神经元疾病(degenerative neuronal diseases)、心血管疾病和癌症。最近的研究工作已经识别了在程序性细胞死亡的调节或执行中所涉及的各种促细胞凋亡和抗细胞凋亡的基因产物。抗细胞凋亡的基因例如Bcl2或Bcl-x_L的表达抑制由各种刺激所引起的细胞凋亡。另一方面,促细胞凋亡的基因例如Bax或Bad的表达导致程序性细胞死亡(Adams等Science,281:1322-1326(1998))。程序性细胞死亡的执行通过caspase-1相关的蛋白酶包括caspase-3、caspase-7、caspase-8和caspase-9等介导(Thornberry等,Science,281:1312-1316(1998))。

[0010] 磷酯酰肌醇3'-OH激酶(PI3K)/Akt/PKB途径对于调节细胞存活/细胞死亡似乎是重要的(Kulik等,Mol.Cell.Biol.17:1595-1606(1997);Franke等,Cell,88:435-437(1997);Kauffmann-Zeh等,Nature 385:544-548(1997),Hemmings Science,275:628-630(1997);Dudek等,Science,275:661-665(1997))。存活因子如血小板衍生的生长因子(PDGF)、神经生长因子(NGF)和胰岛素样生长因子-1(IGF-1)通过诱导PI3K的活性在各种条件下促进细胞存活(Kulik等,1997,Hemmings 1997)。活化的PI3K导致磷酯酰肌醇(3,4,5)-三磷酸的生成(PtdIns(3,4,5)-P3),其反过来与活化的PI3K结合,并促进丝氨酸/苏氨酸激酶Akt的活化,丝氨酸/苏氨酸激酶Akt含有普列克底物蛋白同源(PH)-结构域(Franke等,Cell,81:727-736(1995);Hemmings Science,277:534(1997);Downward,Curr.Opin.Cell Biol.10:262-267(1998),Alessi等,EMBO J.15:6541-6551(1996))。PI3K或显性阴性Akt/PKB突变体的特定抑制剂消除了这些生长因子或细胞因子的存活-促进活性。先前已经公开了PI3K的抑制剂(LY294002或wortmannin)通过上游激酶来阻断Akt/PKB的活化。另外,组成性活性PI3K或Akt/PKB突变体的引入促进在任何条件下的细胞存活,其中细胞通常会经历细胞凋亡(Kulik等1997,Dudek等1997)。

[0011] 在人肿瘤中Akt水平的分析显示Akt2在大量的卵巢癌(J.Q.Cheung等,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.89:9267-9271(1992))和胰腺癌(J.Q.Cheung等,Proc.Natl.Acad.

Sci.U.S.A.93:3636-3641(1996))中超量表达。类似地,发现Akt3在乳腺癌和前列腺癌细胞系中超量表达(Nakatani等,J.Biol.Chem.274:21528-21532(1999)。证明了Akt-2在12%的卵巢癌中超量表达,并且Akt的扩增在50%的未分化肿瘤中特别常见,认为Akt可能也与肿瘤攻击有关(Bellacosa等,Int.J.Cancer,64,pp.280-285,1995)。已报导了在乳腺癌、卵巢癌和前列腺癌中增加的Akt1激酶活性(Sun等,Am.J.Pathol.159:431-7(2001))。

[0012] 肿瘤抑制剂PTEN(特定除去PtdIns(3,4,5)-P3的3'磷酸的蛋白质和脂质磷酸酯酶)是PI3K/Akt途径的负调节剂(Li等,Science 275:1943-1947(1997),Stambolic等,Cell 95:29-39(1998),Sun 等,Proc.Nati.Acad.Sci.U.S.A.96:6199-6204(1999))。由于PTEN的种系突变引起人癌症综合征,例如考登病(Liaw等,Nature Genetics 16:64-67(1997))。在高百分比的没有功能性PTEN的人肿瘤和肿瘤细胞系中去除PTEN显示活化的Akt水平升高(Li等,同上,Guldberg等,Cancer Research 57:3660-3663(1997),Risinger等Cancer Research 57:4736-4738(1997))。

[0013] 这些观察证实了PI3K/Akt途径在调节肿瘤发生和/或癌症中的细胞存活或凋亡中起重要作用。

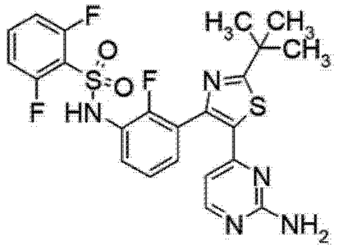
[0014] 有用的是提供一种新的疗法,该疗法向受癌症作用的个体提供更有效的和/或增强的治疗。

发明内容

[0015] 本发明的一个实施方案提供了一种组合,其含有:

[0016] (i)结构(I)的化合物:

[0017]

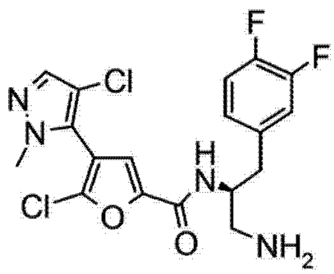


(I)

[0018] 或其可药用盐,和

[0019] (ii)结构(II)的化合物:

[0020]



(II)

[0021] 或其可药用盐。

[0022] 本发明的一个实施方案提供了一种治疗需要的人中的癌症的方法,其包括向该人体内给药治疗有效量的N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻

唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺或其可药用盐（适当地为其甲磺酸盐）和N-{(1S)-2-氨基-1-[(3,4-二氟苯基)甲基]乙基}-5-氯-4-(4-氯-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-呋喃甲酰胺或其可药用盐的组合。

[0023] 本发明的一个实施方案提供了一种治疗需要的人中癌症的方法，其包括向该人体内给药治疗有效量的N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺或其可药用盐（适当地为其甲磺酸盐）和N-{(1S)-2-氨基-1-[(3,4-二氟苯基)甲基]乙基}-5-氯-4-(4-氯-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-呋喃甲酰胺或其可药用盐的组合，

[0024] 其中所述组合在规定的期间内给药，和

[0025] 其中所述组合给药一段持续时间。

[0026] 本发明的一个实施方案提供了一种治疗需要的人中的癌症的方法，其包括向该人体内给药治疗有效量的N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺或其可药用盐（适当地为其甲磺酸盐）和N-{(1S)-2-氨基-1-[(3,4-二氟苯基)甲基]乙基}-5-氯-4-(4-氯-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-呋喃甲酰胺或其可药用盐的组合，

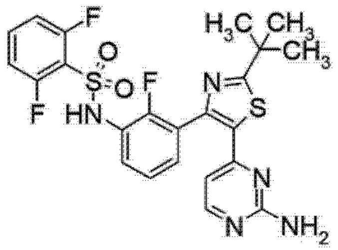
[0027] 其中顺序给药所述组合中的各化合物。

[0028] 发明详述

[0029] 本发明涉及显示抗增殖活性的组合。适当地，该方法涉及通过共同给药下列化合物治疗癌症的方法：N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺、或其可药用盐（适当地为其甲磺酸盐）（下文称为化合物A或其可药用盐，适当地为其甲磺酸盐），

[0030] 该化合物由结构I表示：

[0031]

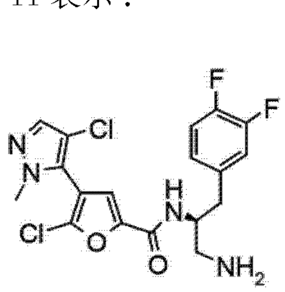


(I))；

[0032] 和N-{(1S)-2-氨基-1-[(3,4-二氟苯基)甲基]乙基}-5-氯-4-(4-氯-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-呋喃甲酰胺或其可药用盐（下文称为化合物B或其可药用盐），

[0033] 该化合物由结构II表示：

[0034]



(II)) 。

[0035] 在国际申请PCT/US2009/042682号（国际申请日2009年5月4日；国际公开WO

2009/137391 号，国际公开日 2009 年 11 月 12 日）中公开并要求保护化合物 A 及其可药用盐，它们特别在癌症治疗中用作 B-Raf 活性的抑制剂，该文献的全文公开在此引入作为参考，化合物 A 为实施例 58 的化合物。化合物 A 可以根据国际申请 PCT/JP2005/011082 号中的说明制备。

[0036] 合适地，化合物 A 呈甲磺酸盐的形式。本领域技术人员可以根据国际申请 PCT/US2009/042682 号（国际申请日 2009 年 5 月 4 日）中的说明制备该盐形式。

[0037] 在国际申请 PCT/US2008/053269 号（国际申请日 2008 年 2 月 7 日；国际公开号 WO 2008/098104，国际公开日 2008 年 8 月 14 日）中公开并要求保护化合物 B 及其可药用盐，它们特别在癌症治疗中用作 AKT 活性的抑制剂，该文献的全文公开在此引入作为参考，化合物 B 为实施例 224 的化合物。化合物 B 可以根据在国际申请 PCT/US2008/053269 号中的说明制备。

[0038] 给药治疗有效量的本发明的组合相对于单个的组分化合物是有利的，因为与单独给药治疗有效量的的组分化合物相比，该组合将会提供一个或多个下列改进的性质：i) 与活性最大的单个药物 (agent) 相比有更高的抗癌作用，ii) 协同的或高度协同的抗癌活性，iii) 提供增强的抗癌活性和减少的副作用的给药方案，iv) 毒性作用减少，v) 治疗窗口增加，或者 vi) 组分化合物中的一个或两者的生物利用度增加。

[0039] 本发明的各化合物可以含有一个或多个手性原子，或者可以以两个对映异构体存在。因此，本发明的化合物包括对映异构体的混合物以及纯化的对映异构体或对映异构体富集的混合物。还应当理解所有的互变异构体和互变异构体的混合物均包括在化合物 A 和其可药用盐以及化合物 B 和其可药用盐的范围内。

[0040] 本发明的化合物可以形成溶剂化物，其可以理解为由溶质（在本发明中，化合物 A 或其盐和/或化合物 B 或其盐）和溶剂形成的各种化学计量的复合物。用于本发明目的的这些溶剂不可以干扰溶质的生物学活性。合适溶剂的实例包括但不限于：水、甲醇、二甲基亚砜、乙醇和乙酸。适当地，所使用的溶剂为可药用的溶剂。适当地，所用的溶剂为水。

[0041] 本领域技术人员可以容易地制备本发明化合物的可药用盐。

[0042] 本发明还包括使用本发明的组合治疗癌症的方法，其中给药以前药形式的化合物 A 或其可药用盐和/或化合物 B 或其可药用盐。本领域技术人员可以容易地制备本发明化合物的可药用前药。

[0043] 当涉及给药方案 (dosing protocol) 时，术语“天”、“每天”等是指日历上一天内的时间，其从子夜开始，结束于下一个子夜。

[0044] 如本文所使用的，术语“治疗”及其相关表述表示治疗性治疗。当涉及具体的病症时，治疗表示：(1) 改善或预防该病症的一个或多个生物学表现的状况，(2) 干扰 (a) 引起或响应于该病症的生物学级联中的一个或多个点，或 (b) 该病症的一个或多个生物学表现，(3) 减轻与该病症或其治疗相关联的一个或多个症状、作用或副作用，或者 (4) 减缓该病症的进展，或者减缓该病症的一个或多个生物学表现。由此，也包括了预防性治疗。本领域技术人员将会理解“预防”不是绝对的术语。在医学中，将“预防”理解为预防性给药以基本上减少病症或其生物学表现的可能性或严重性，或者以延缓这种病症或其生物学表现的开始。例如，当受治疗者被认为处于患癌症的高风险时，例如当受治疗者具有强大的癌症家族史时或者当受治疗者已经暴露于致癌物质时，预防性治疗是合适的。

[0045] 如本文所使用的，术语“有效量”表示产生例如研究者或临床医师所寻求的组织、系统、动物或人的生物学或药学响应的药物或药用制剂的量。此外，术语“治疗有效量”表示，与没有接受该量的相应受治疗者相比，引起疾病、病症或副作用的改进治疗、治愈、预防或减轻的量，或者引起疾病或病症的进展的速率降低的量。该术语还包括在其范围内有效地增强正常生理功能的量。

[0046] 如本文所使用的，术语“组合”及其相关表述表示同时给药或者以任何分开的顺序给药治疗有效量的化合物 A 或其可药用盐和化合物 B 或其可药用盐。优选地，如果给药不是同时的，那么所述化合物以紧密相邻的时间给药。此外，化合物是否以相同的剂型给药是无关紧要的，例如一个化合物可以局部给药，另一个化合物可以口服给药。适当地，这两个化合物均口服给药。

[0047] 如本文所使用的，术语“组合试剂盒”，表示用于给药根据本发明的化合物 A 或其可药用盐和化合物 B 或其可药用盐的一种或多种药物组合物。当该两种化合物同时给药时，所述组合试剂盒可以含有在单个药物组合物如片剂或在分开的药物组合物中的化合物 A 或其可药用盐和化合物 B 或其可药用盐。当不同时给药所述化合物时，所述组合试剂盒将含有在分开的药物组合物中的化合物 A 或其可药用盐和化合物 B 或其可药用盐。该组合试剂盒可以包括在分开的药物组合物中，在单个包装中或在分开包装中的分开药物组合物中的化合物 A 或其可药用盐和化合物 B 或其可药用盐。

[0048] 在一个方面中提供了包含下列成分的组合试剂盒：

[0049] 化合物 A 或其可药用盐，以及可药用载体；和

[0050] 化合物 B 或其可药用盐，以及可药用载体。

[0051] 在本发明的一个实施方案中，该组合试剂盒包含下列成分：

[0052] 化合物 A 或其可药用盐，以及可药用载体；和

[0053] 化合物 B 或其可药用盐，以及可药用载体，

[0054] 其中各成分以适于顺序、分开和/或同时给药的形式提供。

[0055] 在一个实施方案中，该组合试剂盒包含：

[0056] 第一容器，其包含化合物 A 或其可药用盐以及可药用载体；和

[0057] 第二容器，其包含化合物 B 或其可药用盐以及可药用载体；和

[0058] 用于容纳所述第一容器和第二容器的容器装置。

[0059] 所述“组合试剂盒”还可以提供说明书，如剂量和给药说明书。这些剂量和给药说明书可以为向医师提供的资料 (kind)，例如药物产品标签，或者它们可以为由医师提供的资料，如向患者提供的说明书。

[0060] 除非另有说明，在本文所述的所有给药方案中，给药化合物的方案没有必要在治疗开始时开始，也没有必要在治疗结束时终止，仅要求给药该两种化合物的连续天数以及任选仅给药组分化合物中的一种的连续天数，或者所指明的给药方案 - 包括所给予的化合物量，在治疗过程中的一些点发生。

[0061] 如本文所使用的，术语“化合物 A^2”表示 --- 化合物 A 或其可药用盐 ---。

[0062] 如本文所使用的，术语“化合物 B^2”表示 --- 化合物 B 或其可药用盐 ---。

[0063] 本文所使用的术语“负荷剂量 (loading dose)”，应理解为表示向受治疗者给药高于维持剂量以例如快速增加药物的血液浓度的化合物 A 或化合物 B 的单个剂量或短期治疗

方案。适当地，这里使用的短期治疗方案可以为 1 至 14 天 ；适当地为 1 至 7 天 ；适当地为 1 至 3 天 ；适当地为三天 ；适当地为两天 ；适当地为一天。在一些实施方案中，所述“负荷剂量”可以将药物的血液浓度增加到治疗有效水平。在一些实施方案中，所述“负荷剂量”可以将药物的血液浓度增加到与药物的维持剂量相关的治疗有效水平。所述“负荷剂量”可以每天给药一次，或每天给药多于一次（例如，每天最多 4 次）。适当地，所述“负荷剂量”可以一天给药一次。适当地，所述负荷剂量为维持剂量的 2 至 100 倍的量 ；适当地为 2 至 10 倍 ；适当地为 2 至 5 倍 ；适当地 2 倍 ；适当地 3 倍 ；适当地 4 倍 ；适当地 5 倍。适当地，所述负荷剂量给药 1 至 7 天 ；适当地 1 至 5 天 ；适当地 1 至 3 天 ；适当地 1 天 ；适当地 2 天 ；适当地 3 天，接着进行维持剂量给药方案。

[0064] 本文所使用的术语“维持剂量”，应理解为表示连续 (serially) 给药（例如，至少两次）的剂量，并用于将化合物的血液浓度水平缓慢增加至治疗有效水平或者维持该治疗有效水平。所述维持剂量一般每天给药一次，维持剂量的每日剂量低于所述负荷剂量的全部每日剂量。

[0065] 适当地，本发明的组合“在规定的期间内”给药。

[0066] 如本文所使用的术语“规定的期间 (specified period)”及其类似表达，表示给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的一个以及给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的另一个之间的时间间隔。除非另有说明，规定的期间可以包括同时给药。当一天一次给药本发明的两个化合物时，规定的期间是指在一天内给药化合物 A^2 和化合物 B^2 的时间安排 (timing)。当给药本发明的一个或两个化合物一天多于一次时，基于首次给药各化合物的具体日期计算规定的期间。在计算规定的期间时，不考虑在该具体日期中接着首次给药的所有本发明化合物的给药。

[0067] 适当地，如果在“规定的期间”内给药所述化合物而不同时给药，它们均可以在彼此相隔约 24 小时内给药 - 在该情况中，所述规定的期间将为约 24 小时 ；适当地，它们均可以在彼此相隔约 12 小时内给药 - 在该情况中，所述规定的期间将为约 12 小时 ；适当地，它们均可以在彼此相隔约 11 小时内给药 - 在该情况中，所述规定的期间将为约 11 小时 ；适当地，它们均可以在彼此相隔约 10 小时内给药 - 在该情况中，所述规定的期间将为约 10 小时 ；适当地，它们均可以在彼此相隔约 9 小时内给药 - 在该情况中，所述规定的期间将为约 9 小时 ；适当地，它们均可以在彼此相隔约 8 小时内给药 - 在该情况中，所述规定的期间将为约 8 小时 ；适当地，它们均可以在彼此相隔约 7 小时内给药 - 在该情况中，所述规定的期间将为约 7 小时 ；适当地，它们均可以在彼此相隔约 6 小时内给药 - 在该情况中，所述规定的期间将为约 6 小时 ；适当地，它们均可以在彼此相隔约 5 小时内给药 - 在该情况中，所述规定的期间将为约 5 小时 ；适当地，它们均可以在彼此相隔约 4 小时内给药 - 在该情况中，所述规定的期间将为约 4 小时 ；适当地，它们均可以在彼此相隔约 3 小时内给药 - 在该情况中，所述规定的期间将为约 3 小时 ；适当地，它们可以在彼此相隔约 2 小时内给药 - 在该情况中，所述规定的期间将为约 2 小时 ；适当地，它们均可以在彼此相隔约 1 小时内给药 - 在该情况中，所述规定的期间将为约 1 小时。如本文所使用的，化合物 A^2 和化合物 B^2 的给药相隔小于约 45 分钟被认为是同时给药。

[0068] 适当地，当本发明的组合给药一段“规定的期间”时，各化合物共同给药一段“持续时间”。

[0069] 如本文所使用的术语“持续时间”及其类似表述，表示本发明的两个化合物在“规定的期间”内给药指定数目的连续天数，任选接着仅给药一种组分化合物一定的连续天数。

[0070] 关于“规定的期间”给药：

[0071] 适当地，两个化合物在规定的期间内给药至少一天 - 在该情况中，所述持续时间为至少一天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 3 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 3 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 5 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 5 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 7 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 7 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 14 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 14 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 30 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 30 天。

[0072] 适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少 1 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 1 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 2 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 2 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 3 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 3 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 5 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 5 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 7 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 7 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 14 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 14 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 30 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 30 天。当在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药超过 30 天时，该治疗被认为是长期治疗，并且将会持续直到改变事件 (altering event)，如癌症情况的重新评定或者患者的病症的改变、证明改变治疗方案 (protocol) 是正确的。

[0073] 进一步关于“规定的期间”给药：

[0074] 适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少 1 天，接着给药仅化合物 A^2 至少 1 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 2 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少 1 天，接着仅给药化合物 A^2 至少 2 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 3 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少 1 天，接着仅给药化合物 A^2 至少 3 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 4 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少 1 天，接着仅给药化合物 A^2 至少 4 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 5 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少 1 天，接着仅给药化合物 A^2 至少 5 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 6 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少 1 天，接着仅给药化合物 A^2 至少 6 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 7 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少 1 天，接着仅给药化合物 A^2 至少 7 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 8 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 2 天，接着仅给药化合物 A^2 至少 1 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 3 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 2 天，接着仅给药化合物 A^2 至少连续 2 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 4 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连

续2天，接着仅给药化合物A^2至少连续3天-在该情况中，所述持续时间为至少5天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续2天，接着仅给药化合物A^2至少连续4天-在该情况中，所述持续时间为至少6天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续2天，接着仅给药化合物A^2至少连续5天 - 在该情况中，所述持续时间为至少7天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续2天，接着仅给药化合物A^2至少连续6天 - 在该情况中，所述持续时间为至少8天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续2天，接着仅给药化合物A^2至少连续7天 - 在该情况中，所述持续时间为至少9天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续3天，接着仅给药化合物A^2至少1天 - 在该情况中，所述持续时间为至少4天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续3天，接着仅给药化合物A^2至少连续2天 - 在该情况中，所述持续时间为至少5天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续3天，接着仅给药化合物A^2至少连续3天 - 在该情况中，所述持续时间为至少6天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续3天，接着仅给药化合物A^2至少连续4天 - 在该情况中，所述持续时间为至少7天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续3天，接着仅给药化合物A^2至少连续5天 - 在该情况中，所述持续时间为至少8天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续3天，接着仅给药化合物A^2至少连续6天 - 在该情况中，所述持续时间为至少9天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续3天，接着仅给药化合物A^2至少连续7天-在该情况中，所述持续时间为至少10天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续4天，接着仅给药化合物A^2至少1天-在该情况中，所述持续时间为至少连续5天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续4天，接着仅给药化合物A^2至少连续2天-在该情况中，所述持续时间为至少连续6天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续4天，接着仅给药化合物A^2至少连续3天-在该情况中，所述持续时间为至少连续7天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续4天，接着仅给药化合物A^2至少连续4天-在该情况中，所述持续时间为至少连续8天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续4天，接着仅给药化合物A^2至少连续7天-在该情况中，所述持续时间为至少连续11天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续5天，接着仅给药化合物A^2至少1天 - 在该情况中，所述持续时间为至少连续6天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续5天，接着仅给药化合物A^2至少连续2天 - 在该情况中，所述持续时间为至少连续7天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续5天，接着仅给药化合物A^2至少连续3天 - 在该情况中，所述持续时间为至少连续8天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续5天，接着仅给药化合物A^2至少连续4天 - 在该情况中，所述持续时间为至少连续9天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续5天，接着仅给药化合物A^2至少连续5天 - 在该情况中，所述持续时间为至少连续10天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续7天，接着仅给药化合物A^2至少连续2天 - 在该情况中，所述持续时间为至少连续9天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续14天，接着仅给药化合物A^2至少

连续 7 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少连续 21 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 30 天，接着仅给药化合物 A^2 至少连续 7 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少连续 37 天。适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药连续 1 至 3 天，接着仅给药化合物 A^2 连续 3 至 7 天。适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药连续 3 至 6 天，接着仅给药化合物 A^2 连续 1 至 4 天。适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药连续 5 天，接着仅给药化合物 A^2 连续 2 天。适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药连续 2 天，接着仅给药化合物 A^2 连续 3 至 7 天。

[0075] 进一步关于“规定的期间”给药：

[0076] 适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少 1 天，接着仅给药化合物 B^2 至少 1 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 2 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少 1 天，接着仅给药化合物 B^2 至少 2 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 3 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少 1 天，接着仅给药化合物 B^2 至少 3 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 4 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少 1 天，接着仅给药化合物 B^2 至少 4 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 5 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少 1 天，接着仅给药化合物 B^2 至少 5 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 6 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少 1 天，接着仅给药化合物 B^2 至少 6 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 7 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少 1 天，接着仅给药化合物 B^2 至少 7 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 8 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 2 天，接着仅给药化合物 B^2 至少 1 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 3 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 2 天，接着仅给药化合物 B^2 至少连续 2 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 4 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 2 天，接着仅给药化合物 B^2 至少连续 3 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 5 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 2 天，接着仅给药化合物 B^2 至少连续 4 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 6 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 2 天，接着仅给药化合物 B^2 至少连续 5 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 7 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 2 天，接着仅给药化合物 B^2 至少连续 6 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 8 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 2 天，接着仅给药化合物 B^2 至少连续 7 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 9 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 3 天，接着仅给药化合物 B^2 至少 1 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 4 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 3 天，接着仅给药化合物 B^2 至少连续 2 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 5 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 3 天，接着仅给药化合物 B^2 至少连续 3 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 6 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 3 天，接着仅给药化合物 B^2 至少连续 4 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 7 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 3 天，接着仅给药化合物

B^2 至少连续 5 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 8 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 3 天，接着仅给药化合物 B^2 至少连续 6 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 9 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 3 天，接着仅给药化合物 B^2 至少连续 7 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少 10 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 4 天，接着仅给药化合物 B^2 至少 1 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少连续 5 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 4 天，接着仅给药化合物 B^2 至少连续 2 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少连续 6 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 4 天，接着仅给药化合物 B^2 至少连续 3 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少连续 7 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 4 天，接着仅给药化合物 B^2 至少连续 4 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少连续 8 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 4 天，接着仅给药化合物 B^2 至少连续 7 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少连续 11 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 5 天，接着仅给药化合物 B^2 至少 1 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少连续 6 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 5 天，接着仅给药化合物 B^2 至少连续 2 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少连续 7 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 5 天，接着仅给药化合物 B^2 至少连续 3 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少连续 8 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 5 天，接着仅给药化合物 B^2 至少连续 4 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少连续 9 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 5 天，接着仅给药化合物 B^2 至少连续 5 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少连续 10 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 7 天，接着仅给药化合物 B^2 至少连续 2 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少连续 9 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 14 天，接着仅给药化合物 B^2 至少连续 7 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少连续 21 天；适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药至少连续 30 天，接着仅给药化合物 B^2 至少连续 7 天 - 在该情况中，所述持续时间为至少连续 37 天。适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药连续 1 至 3 天，接着仅给药化合物 B^2 连续 3 至 7 天。适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药连续 3 至 6 天，接着仅给药化合物 B^2 连续 1 至 4 天。适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药连续 5 天，接着仅给药化合物 B^2 连续 2 天。适当地，在治疗过程中，两个化合物在规定的期间内给药连续 2 天，接着仅给药化合物 B^2 连续 3 至 7 天。

[0077] 进一步关于“规定的期间”给药：

[0078] 适当地，在治疗过程中，化合物 A^2 和化合物 B^2 将在规定的期间内在 7 天周期中给药 1 至 3 天，在 7 天周期的其他天将仅给药化合物 A^2。适当地，该 7 天的方案重复 2 个周期或 14 天；适当地 4 个周期或 28 天；适当地连续给药。

[0079] 适当地，在治疗过程中，化合物 A^2 和化合物 B^2 将在规定的期间内在 7 天周期中给药 1 至 3 天，在 7 天周期的其他天将仅给药化合物 B^2。适当地，该 7 天的方案重复 2 个周期或 14 天；适当地 4 个周期或 28 天；适当地连续给药。

[0080] 适当地，在治疗过程中，化合物 A^2 和化合物 B^2 将在规定的期间内在 7 天周期中给

药 3 天，在 7 天周期的其他天将仅给药化合物 A^2。适当地，该 7 天的方案重复 2 个周期或 14 天；适当地 4 个周期或 28 天；适当地连续给药。

[0081] 适当地，在治疗过程中，化合物 A^2 和化合物 B^2 将在规定的期间内在 7 天周期中给药 3 天，在 7 天周期的其他天将仅给药化合物 B^2。适当地，该 7 天的方案重复 2 个周期或 14 天；适当地 4 个周期或 28 天；适当地连续给药。

[0082] 适当地，在治疗过程中，化合物 A^2 和化合物 B^2 将在规定的期间内在 7 天周期中给药 2 天，在 7 天周期的其他天将仅给药化合物 A^2。适当地，该 7 天的方案重复 2 个周期或 14 天；适当地 4 个周期或 28 天；适当地连续给药。

[0083] 适当地，在治疗过程中，化合物 A^2 和化合物 B^2 将在规定的期间内在 7 天周期中给药 2 天，在 7 天周期的其他天将仅给药化合物 B^2。适当地，该 7 天的方案重复 2 个周期或 14 天；适当地 4 个周期或 28 天；适当地连续给药。

[0084] 适当地，在治疗过程中，化合物 A^2 和化合物 B^2 将在规定的期间内在 7 天周期中给药 1 天，在 7 天周期的其他天将仅给药化合物 A^2。适当地，该 7 天的方案重复 2 个周期或 14 天；适当地 4 个周期或 28 天；适当地连续给药。

[0085] 适当地，在治疗过程中，化合物 A^2 和化合物 B^2 将在规定的期间内在 7 天周期中给药 1 天，在 7 天周期的其他天将仅给药化合物 B^2。适当地，该 7 天的方案重复 2 个周期或 14 天；适当地 4 个周期或 28 天；适当地连续给药。

[0086] 适当地，在治疗过程中，化合物 A^2 和化合物 B^2 将在规定的期间内在 14 天周期中给药 1 至 5 天，在 14 天周期的其他天将仅给药化合物 A^2。适当地，该 14 天的方案重复 2 个周期或 28 天；适当地连续给药。

[0087] 适当地，在治疗过程中，化合物 A^2 和化合物 B^2 将在规定的期间内在 14 天周期中给药 1 至 5 天，在 14 天周期的其他天将仅给药化合物 B^2。适当地，该 14 天的方案重复 2 个周期或 28 天；适当地连续给药。

[0088] 适当地，如果所述化合物不在“规定的期间内 (during a specifiled period)”给药，那么它们就顺序给药。如本文所使用的术语“顺序给药”及其相关表述，表示给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的一个连续两天或更多天，接着给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的另一个连续两天或更多天。同样地，本发明还包括在顺序给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的一个以及给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的另一个之间所使用的休药期。如本文所使用的，休药期为在顺序给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的一个之后和在给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的另一个之前不给药化合物 A^2 也不给药化合物 B^2 的间隔天数。休药期为选自以下的一段天数：1 天、2 天、3 天、4 天、5 天、6 天、7 天、8 天、9 天、10 天、11 天、12 天、13 天和 14 天。

[0089] 适当地，如果所述化合物不在“规定的期间内 (during a specifiled period)”给药，那么它们就顺序给药。如本文所使用的术语“顺序给药”及其相关表述，表示一天一次给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的一个连续一天或多天，接着一天一次给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的另一个连续一天或多天。同样地，本发明还包括在顺序给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的一个与化合物 A^2 和化合物 B^2 中的另一个之间所使用的休药期。如本文所使用的，休药期为在顺序给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的一个之后和在给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的另一个之前不给药化合物 A^2 也不给药化合物 B^2 的间隔天数。休药期为选自以下的一段天数：1 天、2 天、3 天、4 天、5 天、6 天、7 天、8 天、9 天、10 天、11 天、12 天、13 天和 14 天。

[0090] 关于顺序给药(sequential administration):

[0091] 适当地,给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的一个连续 2 至 30 天,接着任选的休药期,接着给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的另一个连续 2 至 30 天。适当地,给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的一个连续 2 至 21 天,接着任选的休药期,接着给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的另一个连续 2 至 21 天。适当地,给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的一个连续 2 至 14 天,接着 1 至 14 天的休药期,接着给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的另一个连续 2 至 14 天。适当地,给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的一个连续 3 至 7 天,接着 3 至 10 天的休药期,接着给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的另一个连续 3 至 7 天。

[0092] 适当地,给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的一个连续 1 至 30 天,接着任选的休药期,接着给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的另一个连续 1 至 30 天。适当地,给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的一个连续 1 至 21 天,接着任选的休药期,接着给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的另一个连续 1 至 21 天。适当地,给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的一个连续 1 至 14 天,接着 1 至 14 天的休药期,接着给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的另一个连续 1 至 14 天。适当地,给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的一个连续 2 至 7 天,接着 2 至 10 天的休药期,接着给药化合物 A^2 和化合物 B^2 中的另一个连续 2 至 7 天。

[0093] 适当地,化合物 B^2 首先连续给药,接着任选的休药期,接着给药化合物 A^2。适当地,给药化合物 B^2 连续 3 至 21 天,接着任选的休药期,接着给药化合物 A^2 连续 3 至 21 天。适当地,给药化合物 B^2 连续 3 至 21 天,接着 1 至 14 天的休药期,接着给药化合物 A^2 连续 3 至 21 天。适当地,给药化合物 B^2 连续 3 至 21 天,接着 3 至 14 天的休药期,接着给药化合物 A^2 连续 3 至 21 天。适当地,给药化合物 B^2 连续 21 天,接着任选的休药期,接着给药化合物 A^2 连续 14 天。适当地,给药化合物 B^2 连续 14 天,接着 1 至 14 天的休药期,接着给药化合物 A^2 连续 14 天。适当地,给药化合物 B^2 连续 7 天,接着 3 至 10 天的休药期,接着给药化合物 A^2 连续 7 天。适当地,给药化合物 B^2 连续 3 天,接着 3 至 14 天的休药期,接着给药化合物 A^2 连续 7 天。适当地,给药化合物 B^2 连续 3 天,接着 3 至 10 天的休药期,接着给药化合物 A^2 连续 3 天。

[0094] 适当地,化合物 B^2 首先连续给药,接着任选的休药期,接着给药化合物 A^2。适当地,给药化合物 B^2 连续 1 至 21 天,接着任选的休药期,接着给药化合物 A^2 连续 1 至 21 天。适当地,给药化合物 B^2 连续 3 至 21 天,接着 1 至 14 天的休药期,接着给药化合物 A^2 连续 3 至 21 天。适当地,给药化合物 B^2 连续 3 至 21 天,接着 3 至 14 天的休药期,接着给药化合物 A^2 连续 3 至 21 天。适当地,给药化合物 B^2 连续 21 天,接着任选的休药期,接着给药化合物 A^2 连续 14 天。适当地,给药化合物 B^2 连续 14 天,接着 1 至 14 天的休药期,接着给药化合物 A^2 连续 14 天。适当地,给药化合物 B^2 连续 7 天,接着 3 至 10 天的休药期,接着给药化合物 A^2 连续 7 天。适当地,给药化合物 B^2 连续 3 天,接着 3 至 14 天的休药期,接着给药化合物 A^2 连续 7 天。适当地,给药化合物 B^2 连续 3 天,接着 3 至 10 天的休药期,接着给药化合物 A^2 连续 3 天。

[0095] 适当地,化合物 A^2 首先连续给药,接着任选的休药期,接着给药化合物 B^2。适当地,给药化合物 A^2 连续 3 至 21 天,接着任选的休药期,接着给药化合物 B^2 连续 3 至 21 天。适当地,给药化合物 A^2 连续 3 至 21 天,接着 1 至 14 天的休药期,接着给药化合物 B^2 连续 3 至 21 天。适当地,给药化合物 A^2 连续 3 至 21 天,接着 3 至 14 天的休药期,接着给药化合物 B^2

连续 3 至 21 天。适当地，给药化合物 A^2 连续 21 天，接着任选的休药期，接着给药化合物 B^2 连续 14 天。适当地，给药化合物 A^2 连续 14 天，接着 1 至 14 天的休药期，接着给药化合物 B^2 连续 14 天。适当地，给药化合物 A^2 连续 7 天，接着 3 至 10 天的休药期，接着给药化合物 B^2 连续 7 天。适当地，给药化合物 A^2 连续 3 天，接着 3 至 14 天的休药期，接着给药化合物 B^2 连续 7 天。适当地，给药化合物 A^2 连续 3 天，接着 3 至 10 天的休药期，接着给药化合物 B^2 连续 3 天。

[0096] 适当地，化合物 A^2 首先连续给药，接着任选的休药期，接着给药化合物 B^2。适当地，给药化合物 A^2 连续 1 至 21 天，接着任选的休药期，接着给药化合物 B^2 连续 1 至 21 天。适当地，给药化合物 A^2 连续 3 至 21 天，接着 1 至 14 天的休药期，接着给药化合物 B^2 连续 3 至 21 天。适当地，给药化合物 A^2 连续 3 至 21 天，接着 3 至 14 天的休药期，接着给药化合物 B^2 连续 3 至 21 天。适当地，给药化合物 A^2 连续 21 天，接着任选的休药期，接着给药化合物 B^2 连续 14 天。适当地，给药化合物 A^2 连续 14 天，接着 1 至 14 天的休药期，接着给药化合物 B^2 连续 14 天。适当地，给药化合物 A^2 连续 7 天，接着 3 至 10 天的休药期，接着给药化合物 B^2 连续 7 天。适当地，给药化合物 A^2 连续 3 天，接着 3 至 14 天的休药期，接着给药化合物 B^2 连续 7 天。适当地，给药化合物 A^2 连续 3 天，接着 3 至 10 天的休药期，接着给药化合物 B^2 连续 3 天。适当地，给药化合物 A^2 连续 7 天，接着给药化合物 $B^2$1 天。适当地，给药化合物 A^2 连续 6 天，接着给药化合物 $B^2$1 天。适当地，给药化合物 $B^2$1 天，接着给药化合物 A^2 连续 7 天。适当地，给药化合物 $B^2$1 天，接着给药化合物 A^2 连续 6 天。

[0097] 应当理解，“规定的期间”给药和“顺序”给药可以接着重复给药 (dosing) 或者可以接着交替的给药方案，休药期可以在重复给药或交替的给药方案之前。

[0098] 适当地，作为本发明组合的一部分的化合物 A^2 的给药量为选自约 10mg 至约 300mg 的量。适当地，所述量选自约 30mg 至约 280mg ；适当地，所述量选自约 40mg 至约 260mg ；适当地，所述量选自约 60mg 至约 240mg ；适当地，所述量选自约 80mg 至约 220mg ；适当地，所述量选自约 90mg 至约 210mg ；适当地，所述量选自约 100mg 至约 200mg ；适当地，所述量选自约 110mg 至约 190mg ；适当地，所述量选自约 120mg 至约 180mg ；适当地，所述量选自约 130mg 至约 170mg ；适当地，所述量选自约 140mg 至约 160mg ；适当地，该量可以为约 150mg。因此，作为本发明组合的一部分的化合物 A^2 的给药量为选自约 10mg 至约 300mg 的量。例如，作为本发明组合的一部分的化合物 A^2 的给药量合适地选自 ：10mg、20mg、30mg、40mg、50mg、60mg、70mg、80mg、85mg、90mg、95mg、100mg、105mg、110mg、115mg、120mg、125mg、130mg、135mg、140mg、145mg、150mg、155mg、160mg、165mg、170mg、175mg、180mg、185mg、190mg、195mg、200mg、205mg、210mg、215mg、220mg、225mg、230mg、235mg、240mg、245mg、250mg、255mg、260mg、265mg、270mg、275mg、280mg、285mg、290mg、295mg 和 300mg。适当地，一天 1-4 次给药所选量的化合物 A^2。适当地，一天两次给药所选量的化合物 A^2。适当地，一天一次给药所选量的化合物 A^2。适当地，化合物 A^2 的给药将以负荷剂量开始。适当地，该负荷剂量将为维持剂量的 2 至 100 倍的量 ；适当地 2 至 10 倍 ；适当地 2 至 5 倍 ；适当地为 2 倍 ；适当地为 3 倍 ；适当地为 4 倍 ；适当地为 5 倍。适当地，所述负荷剂量给药 1 至 7 天 ；适当地 1 至 5 天 ；适当地 1 至 3 天 ；适当地为 1 天 ；适当地为 2 天 ；适当地为 3 天，接着为维持剂量给药方案。

[0099] 适当地，作为本发明组合的一部分的化合物 B^2 的给药量为选自约 5mg 至约 500mg

的量；适当地，所述量选自约 25mg 至约 400mg；适当地，所述量选自约 30mg 至约 375mg；适当地，所述量选自约 35mg 至约 350mg；适当地，所述量选自约 40mg 至约 300mg；适当地，所述量选自约 45mg 至约 275mg；适当地，所述量选自约 50mg 至约 250mg；适当地，所述量选自约 55mg 至约 225mg；适当地，所述量选自约 60mg 至约 200mg；适当地，所述量选自约 65mg 至约 175mg；适当地，所述量选自约 70mg 至约 150mg；适当地，所述量选自约 50mg 至约 300mg；适当地，所述量选自约 75mg 至约 150mg；适当地，该量为约 100mg。因此，作为本发明组合的一部分的化合物 B^2 的给药量为选自约 5mg 至约 500mg 的量。例如，作为本发明组合的一部分的化合物 B^2 的给药量可以为 5mg、10mg、15mg、20mg、25mg、30mg、35mg、40mg、45mg、50mg、55mg、60mg、65mg、70mg、75mg、80mg、85mg、90mg、95mg、100mg、105mg、110mg、115mg、120mg、125mg、130mg、135mg、140mg、145mg、150mg、175mg、200mg、225mg、250mg、275mg、300mg、325mg、350mg、375mg、400mg、425mg、450mg、475mg 或 500mg。适当地，一天两次给药所选量的化合物 B^2。适当地，一天一次给药所选量的化合物 B^2。适当地，化合物 A^2 的给药将从负荷剂量开始。适当地，该负荷剂量将为维持剂量的 2 至 100 倍的量；适当地 2 至 10 倍；适当地 2 至 5 倍；适当地为 2 倍；适当地为 3 倍；适当地为 4 倍；适当地为 5 倍。适当地，所述负荷剂量给药 1 至 7 天；适当地 1 至 5 天；适当地 1 至 3 天；适当地为 1 天；适当地为 2 天；适当地为 3 天，接着为维持剂量给药方案。

[0100] 适当地，作为本发明组合的一部分的化合物 B^2 的给药量为选自约 75mg 至约 1,000mg 的量；适当地，所述量选自约 100mg 至约 900mg；适当地，所述量选自约 150mg 至约 850mg；适当地，所述量选自约 200mg 至约 800mg；适当地，所述量选自约 250mg 至约 750mg；适当地，所述量选自约 300mg 至约 6000mg；适当地，该量可以为约 450mg。因此，作为本发明组合的一部分的化合物 B^2 的给药量为选自约 75mg 至约 1,000mg 的量。例如，作为本发明组合的一部分的化合物 B^2 的给药量可以为 75mg、100mg、125mg、150mg、175mg、200mg、225mg、250mg、275mg、300mg、325mg、350mg、375mg、400mg、425mg、450mg、475mg、500mg、525mg、550mg、575mg、600mg、625mg、650mg、675mg、700mg、725mg、750mg、775mg、800mg、825mg、850mg、875mg、900mg、925mg、950mg、975mg 或 1,000mg。适当地，一天两次给药所选量的化合物 B^2。适当地，一天一次给药所选量的化合物 B^2。

[0101] 如本文所使用的，针对化合物 A^2 和化合物 B^2 详细说明的所有量均为每剂量给药游离的或未成盐的和未溶剂化的化合物的量。

[0102] 本发明的方法还可以与其他治疗癌症的治疗方法一起使用。

[0103] 尽管对于治疗应用而言，治疗有效量的本发明的组合可以以粗化学品 (raw chemical) 给药，但是优选该组合以一种或多种药物组合物存在。因此，本发明还提供药物组合物，其包括化合物 A^2 和／或化合物 B^2 以及一种或多种可药用载体。本发明的组合如上文所述。所述载体在以下方面必须是可接受的：与制剂中其他成分相容，能够形成药用制剂以及对其接受者无害。根据本发明的其他方面，还提供了制备药物制剂的方法，该方法包括混合化合物 A^2 和／或化合物 B^2 与一种或多种可药用载体。如上文所示，所用药物组合中的这些要素可以存在于分开的药物组合物中，或者一起配制成一种药物制剂。

[0104] 药物制剂可以以含有预定量的活性成分／单位剂量的单位剂型存在。如本领域技术人员所已知的，活性成分的量／剂量取决于所治疗的病症，给药途径和患者的年龄、体重和状况。优选的单位剂量的制剂为那些含有每日剂量或亚剂量或其合适部分的活性成分的

单位剂量制剂。此外，这些药物制剂可以通过药物领域公知的任何方法制备。

[0105] 化合物 A^2 和化合物 B^2 可以通过任何适合的途径给药。合适的途径包括经口、经直肠、经鼻、局部（包括含服（buccal）和舌下）、经阴道和肠胃外（包括皮下、肌内、静脉内、真皮内、鞘内和硬膜外）。可以理解优选途径可随着例如该组合的受治疗者的状况和所治疗的癌症而变化。还可以理解各个药物可以通过相同或不同的途径给药，化合物 A^2 和化合物 B^2 可以一起配制成药物组合物 / 制剂。

[0106] 将本发明的化合物或组合混合成方便的剂型，如胶囊、片剂或可注射制剂。可以使用固体或液体药用载体。固体载体包括：淀粉、乳糖、硫酸钙二水合物、石膏粉、蔗糖、滑石、明胶、琼脂、果胶、阿拉伯胶、硬脂酸镁和硬脂酸。液体载体包括糖浆、花生油、橄榄油、盐水和水。类似地，载体可以包括延时释放材料，如单独的或与蜡混合的甘油单硬脂酸酯或甘油二硬脂酸酯。固体载体的量变化范围广，但是优选从约 25mg 至约 1g/ 剂量单位。当使用液体载体时，该制剂合适的为糖浆、酏剂、乳剂、软明胶胶囊剂、无菌可注射液体（如安瓿）或者含水或非含水液体混悬剂的形式。

[0107] 例如，对于片剂或胶囊剂形式的口服给药，活性药物组分可以与口服的、无毒的可药用载体如乙醇、甘油、水等混合。粉末剂可以通过将所述化合物研磨成合适的细小尺寸并与类似粉末化的药用载体（如可食用碳水化合物，例如，淀粉或甘露醇）混合而制备。还可以存在调味剂、防腐剂、分散剂和着色剂。

[0108] 应当理解，除了上述成分之外，所述制剂还可以含有在本领域中与所关注制剂类型相关的其他试剂，例如那些适于口服给药的试剂可以包括调味剂。

[0109] 如所说明的，将治疗有效量的本发明组合（化合物 A^2 与化合物 B^2 组合）给药于人。典型地，给药的治疗有效量的本发明药物将取决于许多因素，包括，例如，受治疗者的年龄和重量、需要治疗的精确病症、该病症的严重程度、制剂的性质和给药途径。最后，治疗有效量依据主治医师的决定。

[0110] 根据已知的方法测试本发明的组合的功效、有利和协同性质。

[0111] 适当地，一般根据以下的联合细胞增殖试验测试本发明的组合的功效、有利和协同性质。在 384- 孔板中在适于各细胞类型、且补充了 10%FBS 和 1% 青霉素 / 链霉素的培养基中以 500 细胞 / 孔将细胞铺板，并在 37° C、5%CO_2 温育过夜。在 384 孔板上从左往右使用化合物 A^2 的各稀释液（20 个稀释液，包括无化合物、1-20 μM 2- 倍稀释液，根据组合）以格栅方式处理细胞，并在 384 孔板上从上向下用化合物 B^2(20 个稀释液，包括无化合物、1-20 μM 2- 倍稀释液，根据组合）处理，并如上再温育 72 小时。在一些情况中，以交错方式添加化合物，并且可以将温育时间延长到最多达 7 天。使用CellTiter-Glo®试剂根据制造商的实验规范测量细胞生长，在 PerkinElmer EnVision™ 读取器上读取信号（设为发光模式，0.5 秒一个读数）。如下所述对数据进行分析。

[0112] 结果表达为 t=0 时的值的百分比，并且针对化合物浓度作图。t=0 时的值归一化为 100%，并且表示添加化合物时存在的细胞数。各个化合物和 / 或化合物组合的细胞响应如下确定：使用用于 Microsoft Excel 软件的 IDBS XLfit plug-in 对细胞存活力 - 浓度进行 4- 或 6- 参数曲线拟合，并确定 50% 抑制细胞生长所需要的浓度 (gIC_{50})。背景校正通过减去不含细胞的孔中的值来进行。对于各药物组合，组合指数 (Combination Index,CI)、超过最高单药物的量 (Excess Over Highest Single Agent,EOHSA) 和超过Bliss的量 (Excess

Over Bliss，EOBliss）根据例如记载于 Chou and Talalay(1984)Advances in Enzyme Regulation,22,37 至 55；和 Berenbaum,MC(1981)Adv.Cancer Research,35,269-335 中的已知方法计算。

[0113] BRAF 和 AKT 抑制剂对于来自编码在 MAPK 和 AKT/PI3K 途径中的不同突变的多种来源的癌症细胞系的体外组合研究

[0114] 在 384 孔板中进行了药物组合实验。在适合每种细胞类型的补充了 10%FBS 和 1% 青霉素／链霉素的培养基中以 500 细胞／孔将细胞铺板，并在 37° C、5%CO_2 温育过夜。以矩阵的方式检测了 16 种浓度的每个药物的 2 倍稀释液对细胞生长的抑制。针对化合物 A(BRAF 化合物）和化合物 B(AKT 化合物）的试验浓度为 10μM~0.3nM。用化合物组合处理细胞并在 37° C 温育 72 小时。使用 CellTiter-Glo® 试剂根据制造商的实验规范测量细胞生长，在 PerkinElmer EnVision™ 读取器上读取信号（设为发光模式，0.5 秒一个读数）。结果是以相对于利用 DMSO 处理的细胞的抑制百分比的形式表示的，并且背景校正通过减去不含细胞的孔中的值来进行。

[0115] 将化合物“A”在“a”浓度的响应 (R_a)（相对于未处理样品的抑制百分比且单独针对培养基归一化）以及化合物“B”在“b”浓度的响应 (R_b) 与化合物“A”和化合物“B”的混合物分别在浓度“a”和“b”的响应 (R_{ab}) 进行比较。对于 EOHSA 的公式为：

[0116] R_{ab} 比 R_a 和 R_b 中较高值大 10%= 相加效应

[0117] R_{ab} 比 R_a 和 R_b 中较高值小 10%= 拮抗效应

[0118] 使用该公式，如果 R_{ab} 高于 R_a 和 R_b 中最高值 10% 或更多，则认为药物组合具有“相加效应”。如果 R_{ab} 小于 R_a 和 R_b 中最高值 10% 或更多，则认为药物组合具有“拮抗效应”。

[0119] 在 16X16 矩阵中响应与组合处理的相加效应方式的组合的数的列举和总结在表 1 中。在该表中，我们标出对于给定细胞系有益的组合（灰色方框），只要测试组合中的 20%(256 个测试组合中的 51 个组合）显示相加效应，通过其大于 10% 超过最高单药物的量 (10%EOHSA) 来确定。

[0120] 表 1:AKT 和 BRAF 抑制剂对于多种癌症细胞系的组合效应

[0121]

来源	细胞系	MAPK	PI3K/PTEN	药物组合#w EOHSA	%
Skin	A375P	$BRAF^{V600E}$	WT/WT	48	19
Colon	RKO	$BRAF^{V600E}$	mut/WT	123	48
Skin	A101D	$BRAF^{V600E}$	WT/mut	81	32
Skin	SK-MEL-5	$BRAF^{V600E}$ $NRAS^{G12V}$	WT/inc	92	36
Lung	A-549	$KRAS^{G12S}$	WT/WT	59	23
Colon	LoVo	$KRAS^{G13D}$	WT/WT	70	27
Colon	HCT116	$KRAS^{G13D}$	mut/WT	60	23
Skin	SK-MEL-2	$NRAS^{Q61R}$	WT/WT	65	25
Lung	H1299	$NRAS^{Q61R}$	WT/WT	46	18
Sarcoma	HT-1080	$NRAS^{Q61K}$	WT/WT	59	23
Breast	MDA-MB-231	$NRAS^{Q61K}$	WT/WT	59	23

[0122] 这些数据表明AKT和BRAF抑制剂的组合对于多种癌症细胞系是有效的，多种癌症细胞系是来自独立于在MAPK或AKT/PI3K途径中的关键致癌基因的突变状态的多种来源，因为多种药物组合(>20%)显示抑制活性>10%超过最高单药物的量(EOHSA)。

[0123] 化合物A(BRAF化合物)、化合物B(AKT化合物)和它们的组合在肿瘤细胞系中的体外细胞生长抑制

[0124] 方法：

[0125] 细胞系和生长条件

[0126] 人结肠肿瘤细胞系Colo205、DLD1、HCC2998、HCT15、HCT8、HT29、KM-12、LS1034、LS174T、NCI-H508、RKO、SW1417、SW1463、SW480、SW837和T84，以及人黑素瘤细胞系A375来自ATCC。A375PF11来自A375、12R5-1、12R5-3、12R8-1、12R8-3、16R5-2、16R6-3和16R6-4，它们是来自A375PF11细胞的混合种群的单细胞克隆，选择其在浓度1200和1600nM的化合物A中生长。所有的细胞系在含有10%胎牛血清(FBS)的RPMI 1640培养基中培养。

[0127] 细胞生长抑制检测和组合数据分析

[0128] 所有的细胞均至少培养72小时，然后细胞铺板。在对所有细胞都在含10%FBS的RPMI培养基的96孔组织培养板(NUNC 136102)中以1000细胞/孔检测细胞。铺板后约24小时，使细胞暴露于化合物的十个三倍的系列稀释液，或者暴露于在含10%FBS的RPMI培养基中的，以化合物A对化合物B的恒定摩尔比为1:10的这两个药物的组合的十个三倍系列稀释液。细胞在化合物的存在下温育3天。通过添加Cell Titer Glo® (Promega)根据制造商的实验规范确定ATP水平。简单来说，将Cell Titer Glo®加入各板中，温育30分钟，然后在SpectraMax L光吸收酶标仪(plate reader)上读取发光信号(0.5秒整合时间)。

[0129] 在用化合物或各化合物的组合处理三天后，与用载体(DMSO)处理的细胞比较信号，以此评估细胞生长的抑制。计算相对于用载体(DMSO)处理的对照孔细胞的细胞生长。

当 y=50% 载体对照时用非线性回归内插 (interpolate) 得到抑制 50% 对照细胞生长的化合物浓度 (IC_{50})，公式为 y=(A+(B-A)/(1+(C/x)^D)))，其中 A 为最小响应 (y_{min})，B 为最大响应 (y_{max})，C 为曲线的拐点 (EC_{50})，D 为希尔系数 (Hill coefficient)。

[0130] 对效能的组合作用使用组合指数 (CI) 评估，组合指数使用后向插入 (back-interpolated) 的 IC_{50} 值以及 Chou 和 Talalay 推导的彼此非排他性方程 (1) 计算：

[0131] $CI=Da/IC_{50}(a)+Db/IC_{50}(b)+(DaxDb)/(IC_{50}(a)xIC_{50}(b))$

[0132] 其中 $IC_{50}(a)$ 为化合物 A 的 IC_{50}；$IC_{50}(b)$ 为化合物 B 的 IC_{50}；Da 为化合物 A 在抑制 50% 细胞生长的与化合物 B 组合中的浓度；Db 为化合物 B 在抑制 50% 细胞生长的与化合物 A 组合中的浓度。一般而言，CI 值 <0.9，在 0.9 和 1.1 之间，或者 >1.1，分别表明协同效应、相加效应和拮抗效应。一般而言，CI 数越小，协同效应的强度越大。

[0133] 对响应程度的组合作用通过超过最高单药物的量 (EOHSA) 定量表示，其基于非线性混合的概念，如 Peterson and Novick(2007) 和 Peterson(2010)[(2；3)[Peterson and Novick, 2007；Peterson, 2010] 所详细描述的。EOHSA 值定义为，由所述组合产生的相比于最佳单个药物在该组合中的组分剂量水平时的改善的增加（在此，表示为‘百分比点’(ppt) 差异）。对于单个药物和组合治疗，将细胞暴露于固定的剂量比的化合物，并且将剂量响应曲线拟合于实验数据，并且使用回归模型进行分析。在沿着剂量响应曲线上指定的 IC_{50} 总剂量水平处，确定剂量组合（相应于 IC_{50}）以作出 EOHSA 统计学结论。更具体地，对于涉及以剂量 d1 的药物 1 和以剂量 d2 的药物 2 的组合药物实验，（即总剂量等于 d1+d2），如果组合时的平均响应好于对剂量 d1 的药物 1 或剂量 d2 的药物 2 的平均响应，被认为具有正 EOHSA。

[0134] 结果：

[0135] 在一组人肿瘤细胞系中确定 BRAF 抑制剂化合物 A、AKT 抑制剂化合物 B 和它们的组合引起的细胞生长抑制作用。关于 BRAF、KRAS 和 PIK3CA 突变状态的平均 IC_{50}（来自至少两个独立的实验）和在各 IC_{50} 处的组合作用总结于表 2 中。

[0136] 具有 BRAF V600E 突变的四个结肠细胞系对化合物 A 敏感，其 IC_{50} 在 0.018μM 和 3.316μM 之间，并且对化合物 B 敏感，其 IC_{50} 在 0.290μM 和 2.587μM 之间。化合物 A 和化合物 B 的组合在具有 BRAF V600E 和 PIK3CAH1047R 两个突变的 RKO 细胞中显示出高度的协同效应，其 CI 值为 0.16，并且在 SW1417、Colo205 和 HT29 细胞系中显示出适中的协同效应或相加效应。没有 BRAF V600E 突变的其它 12 个结肠细胞系对化合物 A 敏感 (IC_{50}>5μM)。化合物 A 和化合物 B 的组合在这些细胞系中显示出增加的细胞生长抑制，其通过 17 至 54ppt 的 EOHSA 值证明。

[0137] 对于表 2 中所列举的黑素瘤肿瘤细胞系，具有 BRAF V600E 突变的 A375PF11 细胞对化合物 A 高度敏感 (IC_{50}=0.063μM)，但是对化合物 B 不敏感 (IC_{50}>10μM)。在 A375PF11 细胞中，化合物 A 和化合物 B 的组合显示出与单独使用化合物 A 相类似的活性。7 个化合物 A 抗性克隆（来自 A375PF11 黑素瘤细胞系的 12R8-3、12R8-1、12R5-3、16R5-2、16R6-3、16R6-4 和 12R5-1）对化合物 B 敏感，具有 $IC_{50}\geq 7\mu M$。化合物 A 和化合物 B 的组合在化合物 A 和化合物 B 都为相对高的浓度 (~1μM) 下显示出提高的细胞生长抑制。

[0138] 表 2. 化合物 A、化合物 B 和它们的组合在人肿瘤细胞系中对细胞生长的抑制

[0139] 表 2.

[0140]

细胞系		突变状态			IC50值,微摩尔(平均值±标准差)			组合作用	
					单个药物		化合物A或B		
		BRAF	KRAS	PIK3CA	化合物A	化合物B	1:1摩尔比组合	CI	EOHSA
结肠	RKO	V600E	WT	H1047R	3.136 ± 3.466	0.290 ± 0.078	0.038 ± 0.012	0.16 ± 0.02	26 ± 2
	SW1417	V600E	WT	WT	0.101 ± 0.031	2.587 ± 1.757	0.065 ± 0.025	0.69 ± 0.03	4 ± 1
	HT29	V600E	WT	P449T	0.028 ± 0.007	0.503 ± 0.073	0.023 ± 0.001	0.95 ± 0.27	2 ± 4
	Colo205	V600E	WT	WT	0.018 ± 0.003	0.908 ± 0.605	0.017 ± 0.002	0.97 ± 0.01	2 ± 1
	NCI-H508	G596R	WT	E545K	>10	0.234 ± 0.247	0.103 ± 0.088	N/A	19 ± 11
	HCT8	WT	G13D	E545K	>10	0.527 ± 0.038	0.236 ± 0.036	N/A	15 ± 2
	KM-12	WT	WT	WT	>10	1.412 ± 0.961	0.503 ± 0.266	N/A	20 ± 9
	HCT15	WT	G13D	D549N, E545K	>10	4.205 ± 0.834	0.610 ± 0.039	N/A	38 ± 3
	HCC2998	WT	A146T	WT	>10	2.912 ± 1.447	0.686 ± 0.043	N/A	21 ± 4
	DLD1	WT	G13D	E545K,D549N	>10	>10	0.762 ± 0.083	N/A	32 ± 3
	LS174T	WT	G12D	H1047R	>10	3.746 ± 0.945	0.946 ± 0.202	N/A	39 ± 11
	SW480	WT	G12C	WT	>10	5.625 ± 1.853	1.441 ± 1.022	N/A	26 ± 3
	LS1034	WT	A146T	WT	>10	6.393 ± 3.554	1.519 ± 0.524	N/A	17 ± 0
	SW1463	WT	G12C	WT	>10	5.230 ± 7.396	2.797 ± 2.174	N/A	54 ± 5
	SW837	WT	G12C	WT	5.437 ± 7.669	>10	3.582 ± 0.554	N/A	25 ± 14
	T84	WT	G13D	E542K	>10	>10	5.121 ± 2.507	N/A	50 ± 0
黑素瘤	F11	BRAF_V600E	WT	NT	0.063 ± 0.004	>10	0.090 ± 0.021	1.443 ± 0.245	-5 ± 4
	16R5-2	BRAF_V600E	WT	NT	>10	7.050 ± 1.326	0.897 ± 0.071	N/A	32 ± 1
	16R6-4	BRAF_V600E	WT	NT	>10	>10	1.122 ± 0.063	N/A	41 ± 13
	12R5-1	BRAF_V600E	WT	NT	>10	>10	1.176 ± 0.014	N/A	65 ± 7
	12R5-3	BRAF_V600E	WT	NT	>10	>10	1.229 ± 0.394	N/A	44 ± 20
	12R8-3	BRAF_V600E	WT	NT	>10	>10	1.271 ± 0.142	N/A	55 ± 6
	12R8-1	BRAF_V600E	WT	NT	>10	>10	1.667 ± 0.125	N/A	45 ± 0
	16R6-3	BRAF_V600E	WT	NT	>10	>10	1.720 ± 0.300	N/A	42 ± 5

[0141] 表 2 关键词:

[0142] IC_{50}:在等摩尔化合物 B 存在下,引起细胞生长减少 50% 的化合物的浓度或化合物 A 的浓度;

[0143] CI= 组合指数;N/A= 无法获得;NT= 未测试。

[0144] EOHSA:超过最高单药物的量,以百分比形式测定。

[0145] F11:A375PF11。

[0146] 文献表

[0147] (1)Chou TC,Talalay P.Quantitative analysis of dose-effect relationships:the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors.Adv Enzyme Regul1984;22:27-55。

[0148] (2)Peterson JJ,Novick SJ.Nonlinear blending:a useful general concept for the assessment of combination drug synergy.J Recept Signal Transduct Res2007;27(2-3):125-46。

[0149] (3)Peterson J.A Review of Synergy Concepts of Nonlinear Blending and Dose-Reduction Profiles.Frontiers of Bioscience S2,483-503.2010。

[0150] 由于本发明的组合在上述测定中具有活性，因此它们在癌症治疗中显示出有利的治疗实用性。

[0151] 适当地，本发明涉及治疗选自下列的癌症或减轻其严重性的方法：脑癌（神经胶质瘤）、恶性胶质瘤、星形细胞瘤、多形性恶性胶质瘤、Bannayan-Zonana 综合征、考登病、Lhermitte-Duclos 病、乳腺癌、炎性乳腺癌、维尔姆斯肿瘤、尤因肉瘤、横纹肌肉瘤、室管膜细胞瘤、成神经管细胞瘤、结肠癌、头颈癌、肾癌、肺癌、肝癌、黑素瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、肉瘤、骨肉瘤、骨巨细胞瘤、甲状腺癌，

[0152] 淋巴母细胞 T 细胞白血病、慢性髓细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、毛细胞白血病、急性成淋巴细胞性白血病、急性髓细胞性白血病、慢性中性粒细胞性白血病、急性淋巴母细胞 T 细胞性白血病、浆细胞瘤、免疫母细胞大细胞白血病、套细胞白血病、多发性骨髓瘤巨核母细胞白血病、多发性骨髓瘤、急性巨核细胞白血病、前髓细胞性白血病、红白血病，

[0153] 恶性淋巴瘤、何杰金淋巴瘤、非-何杰金淋巴瘤、淋巴母细胞T细胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤，

[0154] 神经母细胞瘤、膀胱癌、膀胱上皮癌、肺癌、外阴癌、子宫颈癌、子宫内膜癌、肾癌、间皮瘤、食管癌、唾液腺癌、肝细胞癌、胃癌、鼻咽癌、颊癌、口腔癌、GIST（胃肠道间质瘤）和睾丸癌。

[0155] 适当地，本发明涉及治疗选自下列的癌症或减轻其严重性的方法：脑癌（神经胶质瘤）、恶性胶质瘤、星形细胞瘤、多形性恶性胶质瘤、Bannayan-Zonana 综合征、考登病、Lhermitte-Duclos 病、乳腺癌、结肠癌、头颈癌、肾癌、肺癌、肝癌、黑素瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、肉瘤和甲状腺癌。

[0156] 适当地，本发明涉及治疗选自下列的癌症或减轻其严重性的方法：卵巢癌、乳腺癌、胰腺癌和前列腺癌。

[0157] 适当地，本发明涉及治疗哺乳动物包括人中的癌前期综合征或减轻其严重性的方法，其中所述癌前期综合征选自：宫颈上皮内瘤变、意义未明的单克隆丙种球蛋白病(MGUS)、骨髓增生异常综合征、再生障碍性贫血、宫颈病变、皮肤痣（前黑素体）、前列腺上皮内（导管内）肿瘤(PIN)、导管原位癌(DCIS)、结肠息肉和严重的肝炎或肝硬化。

[0158] 适当地，本发明涉及治疗 Raf 野生型或突变型的癌症和 PI3K/PTEN 野生型或突变型的癌症或减轻其严重性的方法。该方法包括 Raf 和 PI3K/PTEN 均为野生型、Raf 和 PI3K/PTEN 均为突变型、Raf 为突变型和 PI3K/PTEN 为野生型以及 Raf 为野生型和 PI3K/PTEN 为突变型的患者。

[0159] 术语“野生型”，如本领域中所理解的，是指在未经基因修饰的天然种群中存在的多肽或多核苷酸序列。本领域中还应当理解的是，“突变型”包括，分别与野生型多肽或多核苷酸中相应的氨基酸或核酸相比，具有至少一个对氨基酸或核酸的修饰的多肽或多核苷酸序列。在术语突变型中包括单核苷酸多态性(SNP)，其中，与最普遍存在的（野生型）核酸链相比，单个碱基对差异存在于核酸链序列中。

[0160] 通过已知的方法鉴定 Raf 野生型或突变型癌症和 PI3K/PTEN 野生型或突变型癌

症。

[0161] 例如，野生型或突变型的 Raf 或 PI3K/PTEN 肿瘤细胞可以通过 DNA 扩增和测序技术、DNA 和 RNA 检测技术（分别包括但不限于 RNA 印迹 (Northern blot) 和 DNA 印迹 (Southern blot)）和/或各种生物芯片和阵列技术鉴定。野生型和突变型多肽可以通过多种技术包括但不限于免疫诊断学技术如ELISA、蛋白质印迹(Western blot)、免疫细胞化学进行检测。合适地，可使用焦磷酸解-激活的聚合反应 (PAP) 和/或 PCR 方法。Liu,Q 等人 ;Human Mutation 23:426-436(2004)。

[0162] 本发明提供了一种包含 N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺或其可药用盐和 N-{(1S)-2-氨基-1-[(3,4-二氟苯基)甲基]乙基}-5-氯-4-(4-氯-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-呋喃甲酰胺或其可药用盐的组合。

[0163] 本发明还提供了一种包含 N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺或其可药用盐和 N-{(1S)-2-氨基-1-[(3,4-二氟苯基)甲基]乙基}-5-氯-4-(4-氯-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-呋喃甲酰胺或其可药用盐的组合，其用于治疗。

[0164] 本发明还提供了一种包含 N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺或其可药用盐和 N-{(1S)-2-氨基-1-[(3,4-二氟苯基)甲基]乙基}-5-氯-4-(4-氯-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-呋喃甲酰胺或其可药用盐的组合，其用于治疗癌症。

[0165] 本发明还提供了一种药物组合物，其包含 N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺或其可药用盐和 N-{(1S)-2-氨基-1-[(3,4-二氟苯基)甲基]乙基}-5-氯-4-(4-氯-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-呋喃甲酰胺或其可药用盐的组合。

[0166] 本发明还提供了一种组合试剂盒，其包含 N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺或其可药用盐和 N-{(1S)-2-氨基-1-[(3,4-二氟苯基)甲基]乙基}-5-氯-4-(4-氯-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-呋喃甲酰胺或其可药用盐。

[0167] 本发明还提供了包含 N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺或其可药用盐和 N-{(1S)-2-氨基-1-[(3,4-二氟苯基)甲基]乙基}-5-氯-4-(4-氯-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-呋喃甲酰胺或其可药用盐的组合在制备药物中的用途。

[0168] 本发明还提供了包含 N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺或其可药用盐和 N-{(1S)-2-氨基-1-[(3,4-二氟苯基)甲基]乙基}-5-氯-4-(4-氯-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-呋喃甲酰胺或其可药用盐的组合在制备治疗癌症的药物中的用途。

[0169] 本发明还提供了治疗癌症的方法，其包括向需要的受治疗者给药 N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺或其可药用盐和 N-{(1S)-2-氨基-1-[(3,4-二氟苯基)甲基]乙基}-5-氯-4-(4-氯-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-呋喃甲酰胺或其可药用盐的组合。

[0170] 下面的实施例仅用于解释本发明，不以任何方式限制本发明的范围。

[0171] 实验说明

[0172] 实施例 1- 胶囊组合物

[0173] 按照下面表 I 中所示比例，将各成分填充标准双部分硬明胶胶囊中，制备用于给药本发明组合的口服剂型。

[0174] 表 I

[0175]

成分	量
N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺甲磺酸盐(化合物 A 的甲磺酸盐)	100mg
N-{(1S)-2-氨基-1-[(3,4-二氟苯基)甲基]乙基}-5-氯-4-(4-氯-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-呋喃甲酰胺(化合物 B)	300mg
甘露醇	250 mg
滑石	125 mg
硬脂酸镁	8 mg

[0176] 实施例 2- 胶囊组合物

[0177] 按照下面表 II 中所示比例，将各成分填充标准双部分硬明胶胶囊中，制备用于给药本发明化合物之一的口服剂型。

[0178] 表 II

[0179]

成分	量
N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺甲磺酸盐(化合物 A 的甲磺酸盐)	100mg
甘露醇	55 mg
滑石	16 mg
硬脂酸镁	4 mg

[0180] 实施例 3- 胶囊组合物

[0181] 按照下面表 III 中所示比例，将各成分填充标准双部分硬明胶胶囊中，制备用于给药本发明化合物之一的口服剂型。

[0182] 表 III

成分	量
[0183] N-{(1S)-2-氨基-1-[(3,4-二氟苯基)甲基]乙基}-5-氯-4-(4-氯-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-呋喃甲酰胺(化合物 B)	300mg
甘露醇	250mg
滑石	125mg
硬脂酸镁	8mg

[0184] 实施例 4- 片剂组合物

[0185] 用 10% 的明胶溶液，将下面表 IV 所示的蔗糖、微晶纤维素和本发明组合中的化合物按所示的比例混合和造粒。将湿的颗粒筛分，干燥，并与淀粉、滑石和硬脂酸混合；然后筛分并压制成片剂。

[0186] 表 IV

成分	量
[0187] *N*-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺甲磺酸盐(化合物 A 的甲磺酸盐)	100mg
N-{(1S)-2-氨基-1-[(3,4-二氟苯基)甲基]乙基}-5-氯-4-(4-氯-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-呋喃甲酰胺(化合物 B)	300mg
微晶纤维素	300mg
蔗糖	10mg
淀粉	40mg
[0188] 滑石	20mg
硬脂酸	5mg

[0189] 实施例 5- 片剂组合物

[0190] 用 10% 的明胶溶液，将下面表 V 所示的蔗糖、微晶纤维素和本发明组合中的一种化合物按所示的比例混合和造粒。将湿的颗粒筛分，干燥，并与淀粉、滑石和硬脂酸混合；然后筛分并压制成片剂。

[0191] 表 V

成分	量
N-{3-[5-(2-氨基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺甲磺酸盐(化合物 A 的甲磺酸盐)	100mg

[0192]

微晶纤维素	30mg
蔗糖	4mg
淀粉	2mg
滑石	1mg
硬脂酸	0.5mg

[0193] 实施例 6- 片剂组合物

[0194] 用 10% 的明胶溶液，将下面表 VI 所示的蔗糖、微晶纤维素和本发明组合中的一种化合物按所示的比例混合和造粒。将湿的颗粒筛分，干燥，并与淀粉、滑石和硬脂酸混合；然后筛分并压制成片剂。

[0195] 表 VI

[0196]

成分	量
N-{(1S)-2-氨基-1-[(3,4-二氟苯基)甲基]乙基}-5-氯-4-(4-氯-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-呋喃甲酰胺(化合物 B)	300mg

[0197]

微晶纤维素	300mg
蔗糖	40mg
淀粉	20mg
滑石	10mg
硬脂酸	5mg

[0198] 尽管上面已经说明了本发明的优选实施方案，但是应当理解，本发明并不限于本文中所公开的明确说明，而且保留在权利要求书范围内的所有修改的权利。