

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **022982**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2016.04.29

(51) Int. Cl. *A01N 43/78* (2006.01)
A61K 31/425 (2006.01)

(21) Номер заявки
201270526

(22) Дата подачи заявки
2010.10.08

(54) КОМБИНАЦИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ИЛИ ПРЕДРАКОВЫХ СИНДРОМОВ

(31) **61/249,803**

(32) **2009.10.08**

(33) **US**

(43) **2012.12.28**

(86) **PCT/US2010/051907**

(87) **WO 2011/044414 2011.04.14**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ГЛЭКСОСМИТКЛАЙН ЭлЭлСи (US)

(72) Изобретатель:
**Дамбл Мелисса, Джилмер Тона,
Кумар Ракеш, Лакерр Сильви,
Лебовиц Питер Ф., Моррис Шэннон
Рене (US)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

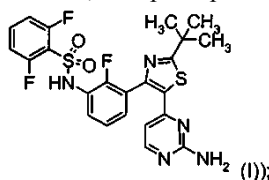
(56) **WO-A2-2007084391**

US-B2-6750217

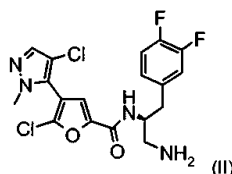
TSAI et al. Discovery of a selective inhibitor of oncogenic B-Raf kinase with potent antimelanoma activity. PNAS, 2008, vol 105(8), pp 3041-3046; Abstract; pg 3041-3043; pg 3046

US-A1-20050113423

(57) Изобретение относится к способу лечения рака у человека и к фармацевтическим комбинациям, применяемым при таком лечении. В частности, способ относится к способу лечения рака, который включает введение человеку, если это ему необходимо, N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамида, которое представлено структурой I



или его фармацевтически приемлемой соли; и N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамида, которое представлено структурой II



или его фармацевтически приемлемой соли.

B1

022982

022982

B1

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к способу лечения рака у млекопитающего и к комбинациям, применяемым при таком лечении. В частности, способ относится к новой комбинации, включающей ингибитор B-Raf: N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамид или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор Akt: N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамид или его фармацевтически приемлемую соль, к фармацевтическим композициям, включающим эту комбинацию, и к способам применения таких комбинаций при лечении рака.

Уровень техники

Эффективное лечение гиперпролиферативных заболеваний, включающих рак, является важнейшей проблемой современной онкологии. Обычно рак возникает вследствие дисрегулирования нормальных процессов, которые контролируют деление клеток, дифференцировку и апоптотическую гибель клеток. Апоптоз (запрограммированная гибель клеток) играет существенную роль в эмбриональном развитии и патогенезе различных заболеваний, таких как дегенеративные нейрональные заболевания, сердечно-сосудистые заболевания и рак. Одним из хорошо изученных сигнальных путей, который включает киназное регулирование апоптоза, является клеточная передача сигнала от рецепторов фактора роста на поверхности клетки к ядру (Crews and Erikson, Cell, 74:215-17, 1993).

Важным обширным семейством ферментов является семейство протеинкиназных ферментов. Известно около 500 различных протеинкиназ. Протеинкиназы служат в качестве катализаторов реакции фосфорилирования боковой цепи аминокислоты в различных белках в результате переноса γ -фосфата комплекса АТР- Mg^{2+} в указанную боковую цепь аминокислоты. Эти ферменты регулируют большинство процессов передачи сигнала внутри клеток, тем самым управляя функцией, ростом, дифференцировкой и гибелью (апоптозом) клетки путем обратимой реакции фосфорилирования гидроксильных групп сериновых, треониновых и тирозиновых остатков в белках. Исследования показали, что протеинкиназы являются главными регуляторами многих клеточных функций, включающих сигнальную трансдукцию, транскрипционное регулирование, клеточную подвижность и деление клеток. Кроме того, было показано, что ряд онкогенов кодируют протеинкиназы, что указывает на то, что киназы играют некоторую роль в онкогенезе. Эти процессы являются в высокой степени регулируемые, часто с помощью сложных перекрывающихся сигнальных путей, в которых каждая киназа сама по себе регулируется с помощью одной или более киназ. Следовательно, аномальная или неадекватная активность протеинкиназы может способствовать возникновению болезненных состояний, связанных с такой аномальной киназной активностью, включающих доброкачественные и злокачественные пролиферативные заболевания, так же как и заболевания, возникающие вследствие неадекватной активности иммунной и нервной систем. Вследствие их физиологической значимости, многообразия и повсеместного присутствия протеинкиназы стали одним из самых важных и широко изучаемых семейств ферментов в биохимических и медицинских исследованиях.

Семейство протеинкиназных ферментов обычно подразделяют на два главных подсемейства: протеинтирозинкиназы и протеинсерин/треонинкиназы, в зависимости от того, какой остаток аминокислоты они фосфорилируют.

Протеинсерин/треонинкиназы (PSTK) включают циклические АМФ- и циклические ГМФ-зависимые протеинкиназы, кальций- и фосфолипидзависимую протеинкиназу, кальций- и кальмодулин-зависимые протеинкиназы, калсеинкиназы, протеинкиназы цикла клеточного деления и другие. Эти киназы являются обычно цитоплазматическими или связанными с твердыми фракциями клеток, по-видимому, с помощью якорных белков. Аномальная активность протеинсерин/треонинкиназы приводит или возможно приводит к ряду патологий, таких как ревматоидный артрит, псориаз, септический шок, потеря костной массы, многие виды рака и другие пролиферативные заболевания. Следовательно, протеинсерин/треонинкиназы и пути сигнальной трансдукции, частью которого они являются, представляют собой важные объекты в процессе разработки лекарственных средств. Тирозинкиназы фосфорилируют тирозиновые остатки. Тирозинкиназы играют не менее важную роль в клеточной регуляции. Эти киназы включают различные рецепторы для молекул, таких как факторы роста и гормоны, включая рецептор эпидермального фактора роста, инсулиновый рецептор, рецептор фактора роста тромбоцитов и другие. Исследования показали, что многие тирозинкиназы являются трансмембранными белками, чьи рецепторные домены расположены на наружной поверхности клетки, а киназные домены внутри клетки. Кроме того, также проводится много исследований по выявлению модуляторов тирозинкиназ.

Известно, что митоген-активируемая (MAP) протеинкиназа/внеклеточная сигнал-регулируемая киназа (ERK) (именуемые далее в описании изобретения как MEK) играет активную роль в регуляции пролиферации клеток в качестве киназы, которая является промежуточным звеном пути сигнальной трансдукции Raf-MEK-ERK, и семейство Raf (B-Raf, C-Raf и другие) активирует семейство MEK (MEK-1, MEK-2 и другие), и семейство MEK активирует семейство ERK (ERK-1 и ERK-2).

Часто наблюдается активация пути сигнальной трансдукции Raf-MEK-ERK при раке, в частности при колоректальном раке, раке поджелудочной железы, раке легких, раке молочной железы и других подобных раках.

Естественные мутации В-Raf киназы, которая активирует сигнальный путь MAPK, были обнаружены в случае большинства меланом (Davies (2002) *supra*) и раков щитовидной железы у человека (Cohen et al. *J. Nat. Cancer Inst.* (2003) 95(8), 625-627 и Kimura et al. *Cancer Res.* (2003) 63(7), 1454-1457). Вследствие той роли, которую играют киназы семейства Raf в случае этих раков, и на основании поисковых исследований ряда доклинических и терапевтических средств, включающих средство, селективно направленное на ингибирование активности В-Raf киназы (King A.J., et al., (2006) *Cancer Res.* 66: 11100-11105), является общепризнанным, что ингибиторы киназ семейства Raf могут применяться для лечения таких раков или других состояний, связанных с Raf киназой.

Апоптоз (запрограммированная гибель клеток) играет существенную роль в эмбриональном развитии и патогенезе различных заболеваний, таких как дегенеративные нейрональные заболевания, сердечно-сосудистые заболевания и рак. Недавнее исследование позволило идентифицировать различные про- и антиапоптотические генные продукты, которые принимают участие в регуляции или осуществлении запрограммированной гибели клеток. Экспрессия антиапоптотических генов, таких как Bcl2 или Bcl-x_L, ингибирует апоптотическую гибель клеток, вызываемую различными стимулирующими воздействиями. С другой стороны, экспрессия про-апоптотических генов, таких как Bax или Bad, приводит к запрограммированной гибели клеток (Adams et al. *Science*, 281: 1322-1326 (1998)). Осуществление запрограммированной гибели клеток опосредуется каспаза-1 родственными протеиназами, включающими каспаза-3, каспаза-7, каспаза-8 и каспаза-9 и другие (Thornberry et al. *Science*, 281: 1312-1316 (1998)).

По-видимому, для регуляции выживания клеток/гибели клеток важным является сигнальный путь "фосфатидилинозит 3'-ОН киназа (PI3K)/Akt/PKB" (Kulik et al. *Mol.Cell.Biol.* 17: 1595-1606 (1997); Franke et al. *Cell*, 88: 435-437 (1997); Kauffmann-Zeh et al. *Nature* 385: 544-548 (1997) Hemmings *Science*, 275: 628-630 (1997); Dudek et al., *Science*, 275: 661-665 (1997)). Факторы выживаемости, такие как фактор роста тромбоцитов (PDGF), фактор роста нервов (NGF) и инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-I), способствуют выживаемости клетки при воздействии различных условий в результате индуцирования активности PI3K (Kulik et al. 1997, Hemmings 1997). Активация PI3K приводит к продуцированию фосфатидилинозит-(3,4,5)-трифосфата (PtdIns (3,4,5)-P₃), который, в свою очередь, связывает, и тем самым способствует активации серин/треонинкиназы Akt, которая содержит плекстрин гомологичный (PH)-домен (Franke et al. *Cell*, 81:727-736 (1995); Hemmings *Science*, 277: 534 (1997); Downward, *Curr. Opin. Cell Biol.* 10: 262-267 (1998), Alessi et al., *EMBO J.* 15: 6541-6551 (1996)). Специфические ингибиторы PI3K или доминантно негативные Akt/PKB мутанты разрушают активность этих факторов роста или цитокинов, способствующую выживанию клеток. Ранее уже было показано, что ингибиторы PI3K (LY294002 или вортманнин) блокируют активацию Akt/PKB с помощью киназ верхнего уровня. Кроме того, введение конститутивно активных PI3K или Akt/PKB мутантов способствует выживанию клеток в условиях, при которых клетки обычно претерпевают апоптотическую гибель (Kulik et al. 1997, Dudek et al. 1997).

Анализ уровней Akt в опухолях человека показал, что Akt2 повышенно экспрессируется в значительном числе случаев рака яичника (J. Q. Cheung et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89: 9267-9271 (1992)) и рака поджелудочной железы (J. Q. Cheung et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93: 3636-3641 (1996)). Аналогично, было обнаружено, что Akt3 повышенно экспрессируется в клеточных линиях рака молочной железы и рака предстательной железы (Nakatani et al. *J. Biol.Chem.* 274: 21528-21532 (1999)). Было показано, что Akt-2 повышенно экспрессируется в 12% случаев рака яичника, и что амплификация Akt происходит особенно часто в 50% случаев недифференцированных опухолей, что указывает на то, что Akt может также быть связана с агрессивностью опухоли (Bellacosa, et al., *Int. J. Cancer*, 64, pp. 280-285, 1995). Сообщалось о повышенной активности Akt1 киназы при раке молочной железы, раке яичника и раке предстательной железы (Sun et al. *Am. J. Pathol.* 159:431-7 (2001)).

Опухолевой супрессор, то есть белок и липидная фосфатаза PTEN, который специфически удаляет 3' фосфат из PtdIns (3,4,5)-P₃, является негативным регулятором сигнального пути PI3K/Akt (Li et al. *Science* 275: 1943-1947 (1997), Stambolic et al. *Cell* 95: 29-39 (1998), Sun et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96: 6199-6204 (1999)). Генеративные мутации PTEN вызывают раковые синдромы у человека, такие как болезнь Коудена (Liaw et al. *Nature Genetics* 16: 64-67 (1997)). PTEN уничтожается в большом проценте случаев опухолей человека, и линии опухолевых клеток без функционирующего PTEN характеризуются повышенными уровнями активированной Akt (Li et al. *supra*, Guldberg et al. *Cancer Research* 57: 3660-3663 (1997), Risinger et al. *Cancer Research* 57: 4736-4738 (1997)).

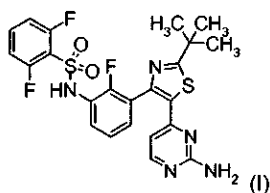
Эти исследования показывают, что сигнальный путь PI3K/Akt играет важную роль в регуляции выживаемости клеток или апоптоза в онкогенезе и/или при раке.

Следовательно, существует необходимость в разработке новой терапии, которая бы обеспечивала более эффективное и/или улучшенное лечение человека, страдающего от поражающих воздействий рака.

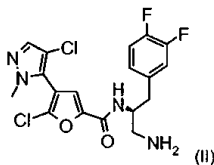
Сущность изобретения

Один вариант осуществления этого изобретения предлагает комбинацию, включающую:

(i) соединение структуры (I)



или его фармацевтически приемлемую соль;
и (ii) соединение структуры (II)



или его фармацевтически приемлемую соль.

Один вариант осуществления этого изобретения предлагает способ лечения рака у человека, если это для него необходимо, который включает введение *in vivo* такому человеку терапевтически эффективного количества комбинации N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамида или его фармацевтически приемлемой соли, предпочтительно метансульфонатной соли, и N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамида или его фармацевтически приемлемой соли.

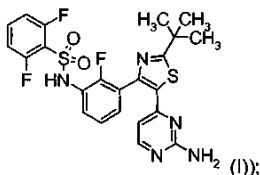
Один вариант осуществления по этому изобретению предлагает способ лечения рака у человека, если это для него необходимо, который включает введение *in vivo* такому человеку терапевтически эффективного количества комбинации N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамида или его фармацевтически приемлемой соли, предпочтительно метансульфонатной соли, и N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамида или его фармацевтически приемлемой соли, где комбинацию вводят в определенный период времени, и где комбинацию вводят в течение некоторой продолжительности во времени.

Один вариант осуществления по этому изобретению предлагает способ лечения рака у человека, если это для него необходимо, который включает введение *in vivo* такому человеку терапевтически эффективного количества комбинации N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамида или его фармацевтически приемлемой соли, предпочтительно метансульфонатной соли, и N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамида или его фармацевтически приемлемой соли, где соединения комбинации вводят последовательно.

Подробное описание изобретения

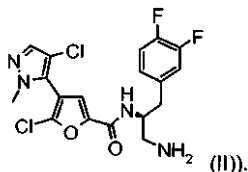
Настоящее изобретение относится к комбинациям, которые обладают антипролиферативным действием. Предпочтительно, чтобы способ относился к способу лечения рака путем совместного введения N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамида или его фармацевтически приемлемой соли, предпочтительно метансульфонатной соли (в дальнейшем в этом документе соединения А или его фармацевтически приемлемой соли, предпочтительно метансульфонатной соли),

которое представлено структурой I



и N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамида или его фармацевтически приемлемой соли (в дальнейшем в этом документе соединения В или его фармацевтически приемлемой соли),

которое представлено структурой II



Соединение А, раскрытое и заявленное вместе с его фармацевтически приемлемыми солями, применяется в качестве ингибитора активности B-Raf, в частности, при лечении рака, в Международной заявке No. PCT/US2009/042682, поданной 4 мая 2009 г., номер международной публикации WO

2009/137391, и опубликованной 12 ноября 2009 г., содержание которой приводится здесь путем ссылки на нее, соединение А является соединением примера 58. Соединение А может быть получено, как описано в Международной заявке No. PCT/US2009/042682.

Предпочтительно, чтобы соединение А находилось в форме метансульфонатной соли. Эта солевая форма может быть получена любым специалистом в этой области на основе описания Международной заявки No. PCT/US2009/042682, поданной 4 мая 2009 г.

Соединение В, раскрытое и заявленное вместе с его фармацевтически приемлемыми солями, применяется в качестве ингибитора активности АКТ, в частности, при лечении рака, в Международной заявке No. PCT/US2008/053269, поданной 7 февраля 2008 г.; номер международной публикации WO 2008/098104 и опубликованной 14 августа 2008 г., содержание которой приводится здесь путем ссылки на нее, соединение В является соединением примера 224. Соединение В может быть получено, как описано в Международной заявке No. PCT/US2008/053269.

Введение терапевтически эффективного количества комбинаций по изобретению имеет преимущество относительно входящих в комбинацию индивидуальных соединений, которое заключается в том, что комбинации будут обеспечивать одно или более из следующих улучшений свойств по сравнению с индивидуальным введением терапевтически эффективного количества входящего в комбинацию соединения: i) более сильное противоопухолевое действие, чем у самого активного средства в отдельности, ii) синергетическую или исключительно высокую синергетическую противоопухолевую активность, iii) схему дозирования, которая обеспечивает более высокую противоопухолевую активность при более низкой степени побочного действия, iv) снижение токсического действия, v) расширение терапевтического окна или vi) повышение биодоступности одного или обоих входящих в комбинацию соединений.

Соединения по изобретению могут содержать один или более хиральных атомов или же могут существовать в виде двух энантиомеров. Соответственно соединения по этому изобретению включают смеси энантиомеров, так же как и очищенные энантиомеры или энантиомерно обогащенные смеси. Кроме того, следует иметь в виду, что все таутомеры и смеси таутомеров входят в объем соединения А и его фармацевтически приемлемых солей и соединения В и его фармацевтически приемлемых солей.

Соединения по изобретению могут образовывать сольват, под которым подразумевают комплекс с переменной стехиометрией, образуемый растворимым веществом (в этом изобретении соединение А или его соль и/или соединение В или его соль) и растворителем. Такие растворители для цели изобретения не должны отрицательно влиять на биологическую активность растворенного вещества. Примеры подходящих растворителей включают, не ограничиваясь перечисленными, воду, метанол, диметилсульфоксид, этанол и уксусную кислоту. Предпочтительно, чтобы используемым растворителем являлся фармацевтически приемлемый растворитель. Предпочтительно, чтобы используемым растворителем являлась вода.

Фармацевтически приемлемые соли соединений по изобретению могут быть легко получены любыми специалистами в этой области.

Кроме того, в изобретении предлагается способ лечения рака с использованием комбинации по изобретению, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль и/или соединение В или его фармацевтически приемлемую соль вводят в виде пролекарств. Фармацевтически приемлемые пролекарства соединений по изобретению могут быть легко получены любыми специалистами в этой области.

Когда речь идет о схеме дозирования, то термин "сутки", "в сутки" и другие подобные термины относятся к времени в рамках одного календарного дня, который начинается в полночь и заканчивается в следующую полночь.

Под используемым в описании заявки термином "лечение" и его производными подразумевают лекарственную терапию. Когда речь идет о конкретном состоянии, лечение означает: (1) улучшение или предотвращение одного или более биологических проявлений состояния, (2) подавляющее воздействие (а) на одну или более точек в биологическом сигнальном каскаде, который приводит к состоянию или обуславливает состояние, или (b) на одно или более биологических проявлений состояния, (3) облегчение одного или более симптомов, эффектов или побочных эффектов, связанных с состоянием или его лечением, или (4) замедление развития состояния или одного или более биологических проявлений состояния. При этом предполагается, что этот термин охватывает и профилактическое лечение. Для специалиста является очевидным, что "предотвращение" не является однозначным термином. Следует иметь в виду, что в медицине "предотвращение" относится к профилактическому введению лекарственного средства для значительного снижения вероятности возникновения или снижения тяжести состояния или его биологического проявления или для отсрочки возникновения такого состояния или его биологического проявления. Профилактическое лечение является уместным, например, когда считается, что для субъекта существует высокая степень риска развития рака, то есть, когда субъект имеет плохой семейный анамнез по заболеванию раком или когда субъект подвергался воздействию канцерогенного вещества.

Используемый в описании изобретения термин "эффективное количество" обозначает такое количество лекарственного или фармацевтического средства, которое будет вызывать биологическую или лечебную ответную реакцию ткани, системы, животного или человека, которую стремятся достичь, на-

пример, ученый или врач. Кроме того, термин "терапевтически эффективное количество" обозначает любое количество, которое по сравнению с соответствующим субъектом, который не получал такого количества, приводит в результате к улучшению лечения, исцелению, предотвращению или облегчению заболевания, расстройства, или побочного эффекта, или снижению темпов развития заболевания или расстройства. Этот термин также включает в себя количества, эффективные для усиления нормальной физиологической функции.

Под используемым в описании изобретения термином "комбинация" и его производными подразумевают либо одновременное введение, либо любой способ раздельного последовательного введения терапевтически эффективного количества соединения А или его фармацевтически приемлемой соли и соединения В или его фармацевтически приемлемой соли. В случае если введение не является одновременным, предпочтительно, чтобы соединения вводились друг за другом как можно с меньшим временным интервалом. Кроме того, нет необходимости во введении соединений в одной и той же лекарственной форме, например одно соединение может быть введено местно, а другое соединение может быть введено перорально. Предпочтительно, чтобы оба соединения вводились перорально.

Под используемым в описании изобретения термином "комбинированный набор" подразумевают фармацевтическую композицию или фармацевтические композиции, которые используют для введения соединения А или его фармацевтически приемлемой соли и соединения В или его фармацевтически приемлемой соли согласно изобретению. Когда оба соединения вводят одновременно, комбинированный набор может содержать соединение А или его фармацевтически приемлемую соль и соединение В или его фармацевтически приемлемую соль в одной единственной фармацевтической композиции, такой как таблетка, или в отдельных фармацевтических композициях. Когда соединения вводят не одновременно, комбинированный набор будет содержать соединение А или его фармацевтически приемлемую соль и соединение В или его фармацевтически приемлемую соль в отдельных фармацевтических композициях. Комбинированный набор может включать соединение А или его фармацевтически приемлемую соль и соединение В или его фармацевтически приемлемую соль в отдельных фармацевтических композициях в одной единственной упаковке или в отдельных фармацевтических композициях в отдельных упаковках.

В одном аспекте предлагается комбинированный набор, включающий компоненты: соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вместе с фармацевтически приемлемым носителем и соединение В или его фармацевтически приемлемую соль вместе с фармацевтически приемлемым носителем.

В одном варианте осуществления изобретения комбинированный набор включает следующие компоненты: соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вместе с фармацевтически приемлемым носителем и соединение В или его фармацевтически приемлемую соль вместе с фармацевтически приемлемым носителем, где компоненты находятся в форме, которая удобна для последовательного, раздельного и/или одновременного введения.

В одном варианте осуществления комбинированный набор включает первый контейнер, содержащий соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вместе с фармацевтически приемлемым носителем, и второй контейнер, содержащий соединение В или его фармацевтически приемлемую соль вместе с фармацевтически приемлемым носителем, и упаковочное средство для указанного первого и второго контейнеров.

"Комбинированный набор" может быть также снабжен инструкцией, например инструкциями по дозированию и применению. Такими инструкциями по дозированию и применению могут быть инструкции, которые предназначаются для врача, например, в виде этикетки на фармацевтическом продукте, или они могут быть инструкциями, которые выдаются врачом, такие как инструкции для пациента.

Если не определено иначе, то во всех описанных в изобретении схемах дозирования режим дозирования вводимых соединений не должен начинаться с началом лечения и заканчиваться с окончанием лечения, и необходимым является только количество идущих подряд дней, в течение которых вводят оба соединения, и необязательное количество идущих подряд дней, в течение которых вводят только одно из входящих в комбинацию соединений, или указанная схема дозирования, включающая количество вводимого соединения, осуществляется в некоторый момент времени в процессе курса лечения.

Используемый в описании изобретения термин "соединение А²" обозначает соединение А или его фармацевтически приемлемую соль.

Используемый в описании изобретения термин "соединение В²" обозначает соединение В или его фармацевтически приемлемую соль.

Следует иметь в виду, что используемый в описании изобретения термин "ударная доза" означает вводимую субъекту разовую дозу или кратковременный режим введения соединения А или соединения В в более высокой дозе, чем поддерживающая доза, например для быстрого повышения уровня концентрации лекарственного средства в крови. Предпочтительно, чтобы используемый в изобретении кратковременный режим составлял: от 1 до 14 дней; предпочтительно от 1 до 7 дней; предпочтительно от 1 до 3 дней; предпочтительно в течение трех дней; предпочтительно в течение двух дней; предпочтительно в течение одного дня. В некоторых вариантах осуществления "ударная доза" может увеличивать концентрацию лекарственного средства в крови до терапевтически эффективного уровня. В некоторых вариантах осуществления "ударная доза" может увеличивать концентрацию лекарственного средства в крови до

терапевтически эффективного уровня совместно с поддерживающей дозой лекарственного средства. "Ударная доза" может быть введена один раз в сутки или более чем один раз в сутки (например, до 4 раз в сутки). Предпочтительно, чтобы "ударную дозу" вводили один раз в сутки. Предпочтительно, чтобы ударная доза превышала поддерживающую дозу в количественном выражении от 2 до 100 раз; предпочтительно от 2 до 10 раз; предпочтительно от 2 до 5 раз; предпочтительно в 2 раза; предпочтительно в 3 раза; предпочтительно в 4 раза; предпочтительно в 5 раз. Предпочтительно, чтобы ударную дозу вводили в течение от 1 до 7 дней; предпочтительно от 1 до 5 дней; предпочтительно от 1 до 3 дней; предпочтительно в течение 1 дня; предпочтительно в течение 2 дней; предпочтительно в течение 3 дней, после чего осуществляли схему поддерживающего дозирования.

Следует иметь в виду, что используемый в описании изобретения термин "поддерживающая доза" означает периодически вводимую дозу (например по меньшей мере дважды), которая предназначена либо для медленного повышения уровней концентрации соединения в крови до терапевтически эффективного уровня, либо для поддержания такого терапевтически эффективного уровня. Поддерживающую дозу обычно вводят один раз в сутки, и суточная доза для поддерживающей дозы составляет меньшую величину, чем суммарная суточная доза для ударной дозы.

Предпочтительно, чтобы комбинации по этому изобретению вводили в "определенный период времени".

Под используемым в описании изобретения термином "определенный период времени" и его производными подразумевается интервал времени между введением одного соединения A^2 и соединения B^2 и другого соединения A^2 и соединения B^2 . Если не определено иначе, то определенный период времени может включать одновременное введение. Когда оба соединения по изобретению вводят один раз в сутки, определенный период времени относится к установленному времени введения соединения A^2 и соединения B^2 в течение одних суток. Когда одно или оба соединения по изобретению вводят более чем один раз в сутки, определенный период времени рассчитывают исходя из первого введения каждого соединения в определенный день. Все введения соединения по изобретению, которые следуют за первым введением в течение определенного дня, не учитываются при расчете определенного периода времени.

Если соединения вводят в "определенный период времени" и не вводят одновременно, то предпочтительно, чтобы их оба вводили с интервалом приблизительно 24 ч друг от друга - в этом случае определенный период времени будет составлять приблизительно 24 ч; предпочтительно, чтобы их оба вводили с интервалом приблизительно 12 ч друг от друга - в этом случае определенный период времени будет составлять приблизительно 12 ч; предпочтительно, чтобы их оба вводили с интервалом приблизительно 11 ч друг от друга - в этом случае определенный период времени будет составлять приблизительно 11 ч; предпочтительно, чтобы их оба вводили с интервалом приблизительно 10 ч друг от друга - в этом случае определенный период времени будет составлять приблизительно 10 ч; предпочтительно, чтобы их оба вводили с интервалом приблизительно 9 ч друг от друга - в этом случае определенный период времени будет составлять приблизительно 9 ч; предпочтительно, чтобы их оба вводили с интервалом приблизительно 8 ч друг от друга - в этом случае, определенный период времени будет составлять приблизительно 8 ч; предпочтительно, чтобы их оба вводили с интервалом приблизительно 7 ч друг от друга - в этом случае определенный период времени будет составлять приблизительно 7 ч; предпочтительно, чтобы их оба вводили с интервалом приблизительно 6 ч друг от друга - в этом случае, определенный период времени будет составлять приблизительно 6 ч; предпочтительно, чтобы их оба вводили с интервалом приблизительно 5 ч друг от друга - в этом случае, определенный период времени будет составлять приблизительно 5 ч; предпочтительно, чтобы их оба вводили с интервалом приблизительно 4 ч друг от друга - в этом случае, определенный период времени будет составлять приблизительно 4 ч; предпочтительно, чтобы их оба вводили с интервалом приблизительно 3 ч друг от друга - в этом случае, определенный период времени будет составлять приблизительно 3 ч; предпочтительно, чтобы их оба вводили с интервалом приблизительно 2 ч друг от друга - в этом случае, определенный период времени будет составлять приблизительно 2 ч; предпочтительно, чтобы их оба вводили с интервалом приблизительно 1 ч друг от друга - в этом случае, определенный период времени будет составлять приблизительно 1 ч. Используемое в изобретении введение соединения A^2 и соединения B^2 с интервалом менее чем приблизительно 45 мин рассматривается как одновременное введение.

Когда комбинацию по изобретению вводят в течение "определенного периода времени", то предпочтительно, чтобы соединения совместно вводились в течение некоторой "продолжительности во времени".

Под используемым в описании изобретения термином "продолжительность во времени" и его производными подразумевается то, что оба соединения по изобретению вводят в "определенный период времени" в течение указанного количества идущих подряд дней, за которыми необязательно следует количество идущих подряд дней, когда вводят только одно из входящих в композицию соединений.

Относительно "определенного периода времени" введения предпочтительно, чтобы оба соединения вводили в определенный период времени в течение по меньшей мере одного дня - в этом случае продолжительность времени будет составлять по меньшей мере один день; предпочтительно, чтобы в процессе курса лечения оба соединения вводили в определенный период времени в течение по меньшей мере 3

[illegible]

[illegible][illegible]

10 дней, и затем вводили соединение В² в течение 3 идущих подряд дней.

Предпочтительно, чтобы соединение А² вводили в этой последовательности первым, затем следовал необязательный день отдыха от приема лекарственного средства, и затем вводили соединение В². Предпочтительно, чтобы соединение А² вводили в течение от 1 до 21 идущих подряд дней, затем следовал необязательный день отдыха от приема лекарственного средства, и затем вводили соединение В² в течение от 1 до 21 идущих подряд дней. Предпочтительно, чтобы соединение А² вводили в течение от 3 до 21 идущих подряд дней, затем следовал день отдыха от приема лекарственного средства в течение от 1 до 14 дней, и затем вводили соединение В² в течение от 3 до 21 идущих подряд дней. Предпочтительно, чтобы соединение А² вводили в течение от 3 до 21 идущих подряд дней, затем следовал день отдыха от приема лекарственного средства в течение от 3 до 14 дней, и затем вводили соединение В² в течение от 3 до 21 идущих подряд дней. Предпочтительно, чтобы соединение А² вводили в течение 21 идущих подряд дней, затем следовал необязательный день отдыха от приема лекарственного средства, и затем вводили соединение В² в течение 14 идущих подряд дней. Предпочтительно, чтобы соединение А² вводили в течение 14 идущих подряд дней, затем следовал день отдыха от приема лекарственного средства в течение от 1 до 14 дней, и затем вводили соединение В² в течение 14 идущих подряд дней. Предпочтительно, чтобы соединение А² вводили в течение 7 идущих подряд дней, затем следовал день отдыха от приема лекарственного средства в течение от 3 до 10 дней, и затем вводили соединение В² в течение 7 идущих подряд дней. Предпочтительно, чтобы соединение А² вводили в течение 3 идущих подряд дней, затем следовал день отдыха от приема лекарственного средства в течение от 3 до 14 дней, и затем вводили соединение В² в течение 7 идущих подряд дней. Предпочтительно, чтобы соединение А² вводили в течение 3 идущих подряд дней, затем следовал день отдыха от приема лекарственного средства в течение от 3 до 10 дней, и затем вводили соединение В² в течение 3 идущих подряд дней. Предпочтительно, чтобы соединение А² вводили в течение 7 идущих подряд дней, и затем вводили соединение В² в течение 1 дня. Предпочтительно, чтобы соединение А² вводили в течение 6 идущих подряд дней, и затем вводили соединение В² в течение 1 дня. Предпочтительно, чтобы соединение В² вводили в течение 1 дня, и затем вводили соединение А² в течение 7 идущих подряд дней. Предпочтительно, чтобы соединение В² вводили в течение 1 дня, и затем вводили соединение А² в течение 6 идущих подряд дней.

Следует иметь в виду, что введение в "определенный период времени" и "последовательное" введение могут сопровождаться повторным дозированием или могут сопровождаться измененной схемой дозирования, и повторному дозированию или измененной схеме дозирования может предшествовать день отдыха от приема лекарственного средства.

Предпочтительно, чтобы количество соединения А², вводимого в качестве части комбинации согласно настоящему изобретению, составляло количество, выбранное из величины приблизительно от 10 до приблизительно 300 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 30 до приблизительно 280 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 40 до приблизительно 260 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 60 до приблизительно 240 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 80 до приблизительно 220 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 90 до приблизительно 210 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 100 до приблизительно 200 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 110 до приблизительно 190 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 120 до приблизительно 180 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 130 до приблизительно 170 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 140 до приблизительно 160 мг; предпочтительно, чтобы количество составляло 150 мг. Соответственно количество соединения А², вводимого в качестве части композиции согласно настоящему изобретению, будет составлять количество, выбранное из величины приблизительно от 10 до приблизительно 300 мг. Например, предпочтительно, чтобы количество соединения А², вводимого в качестве части композиции согласно настоящему изобретению, выбирали из 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 205, 210, 215, 220, 225, 230, 235, 240, 245, 250, 255, 260, 265, 270, 275, 280, 285, 290, 295 и 300 мг. Предпочтительно, чтобы выбранное количество соединения А² вводили от 1 до 4 раз в сутки. Предпочтительно, чтобы выбранное количество соединения А² вводили два раза в сутки. Предпочтительно, чтобы выбранное количество соединения А² вводили один раз в сутки. Предпочтительно, чтобы введение соединения А² начинали с ударной дозы. Предпочтительно, чтобы ударная доза была от 2 до 100 раз больше, чем поддерживающая доза; предпочтительно от 2 до 10 раз; предпочтительно от 2 до 5 раз; предпочтительно в 2 раза; предпочтительно в 3 раза; предпочтительно в 4 раза; предпочтительно в 5 раз. Предпочтительно, чтобы ударную дозу вводили в течение от 1 до 7 дней; предпочтительно от 1 до 5 дней; предпочтительно от 1 до 3 дней; предпочтительно в течение 1 дня; предпочтительно в течение 2 дней; предпочтительно в течение 3 дней, а затем осуществляли схему поддерживающего дозирования.

Предпочтительно, чтобы количество соединения В², вводимого в качестве части комбинации согласно настоящему изобретению, составляло количество, выбранное из величины приблизительно от 5

до приблизительно 500 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 25 до приблизительно 400 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 30 до приблизительно 375 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 35 до приблизительно 350 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 40 до приблизительно 300 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 45 до приблизительно 275 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 50 до приблизительно 250 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 55 до приблизительно 225 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 60 до приблизительно 200 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 65 до приблизительно 175 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 70 до приблизительно 150 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 50 до приблизительно 300 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 75 до приблизительно 150 мг; предпочтительно, чтобы количество составляло приблизительно 100 мг. Соответственно количество соединения B^2 , вводимого в качестве части композиции согласно настоящему изобретению, будет составлять количество, выбранное из величины приблизительно от 5 до приблизительно 500 мг. Например, количество соединения B^2 , вводимого в качестве части комбинации согласно настоящему изобретению, может составлять 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475 или 500. Предпочтительно, чтобы выбранное количество соединения B^2 вводили два раза в сутки. Предпочтительно, чтобы выбранное количество соединения B^2 вводили один раз в сутки. Предпочтительно, чтобы введение соединения A^2 начинали с ударной дозы. Предпочтительно, чтобы ударная доза была от 2 до 100 раз больше, чем поддерживающая доза; предпочтительно от 2 до 10 раз; предпочтительно от 2 до 5 раз; предпочтительно в 2 раза; предпочтительно в 3 раза; предпочтительно в 4 раза; предпочтительно в 5 раз. Предпочтительно, чтобы ударную дозу вводили в течение от 1 до 7 дней; предпочтительно от 1 до 5 дней; предпочтительно от 1 до 3 дней; предпочтительно в течение 1 дня; предпочтительно в течение 2 дней; предпочтительно в течение 3 дней, а затем осуществляли схему поддерживающего дозирования.

Предпочтительно, чтобы количество соединения B^2 , вводимого в качестве части комбинации согласно настоящему изобретению, составляло количество, выбранное из величины приблизительно от 75 до приблизительно 1000 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 100 до приблизительно 900 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 150 до приблизительно 850 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 200 до приблизительно 800 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 250 до приблизительно 750 мг; предпочтительно, чтобы количество выбирали из величины приблизительно от 300 до приблизительно 600 мг; предпочтительно, чтобы количество составляло приблизительно 450 мг. Соответственно количество соединения B^2 , вводимое в качестве части комбинации согласно настоящему изобретению, будет составлять количество, выбранное из величины приблизительно от 75 до приблизительно 1000 мг. Например, количество соединения B^2 , вводимого в качестве части комбинации согласно настоящему изобретению, может составлять 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 525, 550, 575, 600, 625, 650, 675, 700, 725, 750, 775, 800, 825, 850, 875, 900, 925, 950, 975 или 1000 мг. Предпочтительно, чтобы выбранное количество соединения B^2 вводили два раза в сутки. Предпочтительно, чтобы выбранное количество соединения B^2 вводили один раз в сутки.

Все используемые в изобретении количества, устанавливаемые для соединения A^2 и соединения B^2 , приводятся как вводимое количество свободного и несольватированного содержащегося в дозе соединения, а не в форме его соли.

Способ по настоящему изобретению может быть также применен с другими терапевтическими способами лечения рака.

Для применения в терапии не исключено, что терапевтически эффективные количества комбинаций по настоящему изобретению могут быть введены непосредственно в виде только химического вещества, но предпочтительно, чтобы комбинации представляли собой фармацевтическую композицию или фармацевтические композиции. Соответственно изобретение дополнительно предлагает фармацевтические композиции, которые включают соединение A^2 и/или соединение B^2 , и один или более фармацевтически приемлемых носителей. Комбинациями по настоящему изобретению являются комбинации, описанные выше. Носитель (носители) должен быть приемлемым, в смысле того, что он должен быть совместим с другими ингредиентами лекарственной формы, удовлетворять технологическим требованиям приготовления лекарственной формы, и не оказывать вредного воздействия на реципиента. В соответствии с другим аспектом изобретения, предлагается также способ приготовления лекарственной формы, включающий смешение соединения A^2 и/или соединения B^2 с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями. Как уже было указано выше, такие элементы используемой фармацевтической комбинации могут быть представлены в виде отдельных фармацевтических композиций или приготовлены вместе в виде одной лекарственной формы.

Лекарственные формы могут быть представлены формами разовых доз, содержащих заданное количество активного ингредиента в разовой дозе. Для специалистов в этой области известно, что количество активного ингредиента в разовой дозе будет зависеть от подвергаемого лечению состояния, способа введения и возраста, массы тела и состояния пациента. Предпочтительными формами разовых доз являются формы разовых доз, содержащих суточную дозу или субдозу, или соответствующую ее часть, активного ингредиента. Кроме того, такие лекарственные формы могут быть приготовлены с помощью любого из хорошо известных в фармацевтике способов.

Соединение A^2 и соединение B^2 могут быть введены с помощью любого соответствующего способа. Подходящие способы включают пероральный, ректальный, назальный, местный (включая буккальный и сублингвальный), вагинальный и парентеральный (включая подкожный, внутримышечный, внутривенный, интрадермальный, интратекальный и эпидуральный). Следует иметь в виду, что выбор предпочтительного способа будет зависеть, например, от состояния реципиента, которому вводят комбинацию, и вида подвергаемого лечению рака. Следует также иметь в виду, что каждое из вводимых лекарственных средств может быть введено одним и тем же способом или различными способами, и что соединения A^2 и соединение B^2 могут быть смешены вместе в фармацевтическую композицию/лекарственную форму.

Соединения или комбинации настоящего изобретения вводят в виде удобных лекарственных форм, таких как капсулы, таблетки или инъекционные препараты. Применяются твердые или жидкие фармацевтические носители. Твердые носители включают крахмал, лактозу, дигидрат сульфата кальция, гипс, сахарозу, тальк, желатин, агар, пектин, гуммиарабик, стеарат магния и стеариновую кислоту. Жидкие носители включают сироп, арахисовое масло, оливковое масло, физиологический раствор и воду. Аналогично, носитель может включать материал, обеспечивающий пролонгированное высвобождение, такой как глицерилмоностеарат или глицерилдистеарат, в чистом виде или вместе с воском. Количество твердого носителя варьирует в широких пределах, но, предпочтительно, чтобы оно составляло примерно от 25 мг до приблизительно 1 г на лекарственную форму. При использовании жидкого носителя предпочтительно, чтобы препарат представлял собой сироп, эликсир, эмульсию, капсулу из мягкого желатина, стерильную инъекруемую жидкость, например, в ампуле, или водную или неводную жидкую суспензию.

Например, для перорального введения в форме таблетки или капсулы активный лекарственный компонент может быть объединен с пероральным, нетоксичным фармацевтически приемлемым инертным носителем, таким как этанол, глицерин, вода и другие подобные вещества. Порошки получают путем измельчения соединения до подходящего тонкого порошка и смешения с аналогично измельченным фармацевтическим носителем, таким как съедобный углевод, такой как крахмал или маннит. Кроме того, могут также присутствовать вещество, корректирующее вкус и запах лекарственного средства, консервант, диспергирующее средство и окрашивающее средство.

Следует иметь в виду, что помимо упомянутых выше ингредиентов, лекарственные формы могут включать другие средства, обычно применяемые в этой области, принимая во внимание тип рассматриваемой лекарственной формы, например лекарственные формы, применяемые для перорального введения, могут включать вещества, корректирующие вкус и запах лекарственного средства.

Как было указано, терапевтически эффективные количества комбинаций по изобретению (соединение A^2 в комбинации с соединением B^2) вводят человеку. Обычно терапевтически эффективное количество вводимых средств настоящего изобретения будет зависеть от ряда факторов, включающих, например, возраст и массу тела субъекта, точно определенный диагноз состояния, требующего лечения, тяжесть состояния, вид лекарственной формы и способ введения. В конечном счете, терапевтически эффективное количество будет устанавливаться по усмотрению лечащего врача.

Комбинации по настоящему изобретению испытывают на эффективность, полезные и синергетические свойства в соответствии с известными методиками.

Предпочтительно, чтобы комбинации по изобретению испытывали на эффективность, полезные и синергетические свойства обычно в соответствии со следующей комбинацией исследований пролиферации клеток. Клетки высевают в 384-луночных планшетах при 500 клеток/луночка в питательных средах, соответствующих каждому типу клеток, дополненных 10% FBS (фетальной бычьей сыворотки) и 1% пенициллин/стрептомицин, и инкубируют в течение ночи при 37°C, 5% CO₂. Клетки обрабатывают в координатном порядке с помощью разбавленного раствора соединения A^2 (20 разбавлений, включая и отсутствие соединения, последовательно в 2 раза, начиная с 1-20 мкМ, в зависимости от комбинации) слева направо на 384-луночном планшете, а также обрабатывают с помощью соединения B^2 (20 разбавлений, включая и отсутствие соединения, последовательно в 2 раза, начиная с 1-20 мкМ, в зависимости от комбинации) сверху вниз на 384-луночном планшете, и инкубируют, как описано выше, в течение еще 72 ч. В некоторых случаях соединения добавляют в шахматном порядке, и время инкубирования может увеличиваться до 7 дней. Рост клеток определяют с помощью реагента CellTiter-Glo® в соответствии с протоколом фирмы-производителя, и сигналы считывают на ридере PerkinElmer Envision™ в люминесцентном режиме при 0,5-секундном считывании. Данные анализируют, как описано ниже.

Результаты выражают графически в виде процента при значении $t=0$ относительно концентрации

соединения (соединений). Значение $t=0$ нормализуют до 100%, и оно представляет собой число клеток, присутствующих в момент добавления соединения. Ответную реакцию клеток определяют для каждого соединения и/или комбинации соединения путем аппроксимации с помощью 4- или 6-параметрической кривой зависимости жизнеспособности клеток от концентрации с использованием дополнительного модуля IDBS XLfit для программного продукта Microsoft Excel, и определяя концентрацию, необходимую для 50% ингибирования клеточного роста (gIC_{50}). Делают поправку на фон путем вычитания значений для лунок, не содержащих клетки. Для каждой комбинации лекарственного средства рассчитывают Combination Index (CI) (индекс комбинирования), Excess Over Highest Single Agent (EOHSA) (превышение активности комбинации относительно одного лекарственного средства с самой высокой активностью) и Excess Over Bliss (EOBliss) (превышение активности комбинации относительно пробит-анализа Блисса) в соответствии с известными методами, например, описанными в публикации Chou and Talalay (1984) *Advances in Enzyme Regulation*, 22, 37 до 55; и в публикации Berenbaum, MC (1981) *Adv. Cancer Research*, 35, 269-335.

In vitro исследования комбинации BRAF и АКТ ингибиторов на линиях раковых клеток из разнообразных источников, кодирующих различные мутации в MAPK и АКТ/PI3K сигнальных путях.

Исследования по комбинированию лекарственных средств проводили на 384-луночных планшетах. Клетки высевали в 384-луночных планшетах при 500 клеток/лунка в питательных средах, соответствующих каждому типу клеток, дополненных 10% FBS и 1% пенициллин/стрептомицин, и инкубировали в течение ночи при 37°C, 5% CO₂. Шестнадцать концентраций, полученных в результате последовательного двукратного разбавления каждого лекарственного средства, исследовали в матричной форме на ингибирование клеточного роста. Испытуемые концентрации для соединения А (BRAF соединение) и соединения В (АКТ соединение) составляли 10 мкМ-0,3 нМ. Клетки обрабатывали с помощью комбинации соединений, и инкубировали при 37°C в течение 72 ч. Рост клеток определяли с помощью реагента CellTiter-Glo® в соответствии с протоколом фирмы-производителя, и сигналы считывают на ридере PerkinElmer Envision™ в люминесцентном режиме при 0,5-секундном считывании. Результаты выражали в виде процента ингибирования по сравнению с клетками, обработанными DMSO (диметилсульфоксидом), и делали поправку на фон путем вычитания значений для лунок, не содержащих клетки.

Ответную реакцию (процент ингибирования по сравнению с необработанными образцами и нормализованными только для среды) на воздействие соединения "А" при "а" концентрации (Ra) и ответную реакцию на воздействие соединения "В" при "b" концентрации (Rb) сравнивают с ответной реакцией на воздействие смеси соединений "А" и "В" при концентрациях "а" и "b", соответственно (Rab). Формула для EOHSA представляет собой

$Rab > 10\%$ самого высокого значения среди Ra и Rb = аддитивность

$Rab < -10\%$ самого высокого значения среди Ra и Rb = антагонизм

Согласно этой формуле, если Rab больше на 10% или более, чем самое высокое значение среди Ra и Rb, то комбинация лекарственных средств является аддитивной. Если Rab меньше на 10% или более, чем самое высокое значение среди Ra и Rb, то комбинация лекарственных средств является антагонистической.

Ряд комбинаций в матрице 16×16, приводящих к аддитивной ответной реакции при комбинированном лечении, был пронумерован и приведен в табл. 1. В этой таблице лекарственная комбинация для данной клеточной линии считалась обладающей положительным эффектом (закрашенные в серый цвет ячейки таблицы), если более чем 20% (51 комбинация из 256 испытываемых) испытываемых комбинаций проявили аддитивность, определяемую величиной Excess Over the Highest Single Agent (превышения активности комбинации относительно одного лекарственного средства с самой высокой активностью) больше чем 10% (10% EOHSA).

Таблица 1. Эффект комбинирования АКТ и BRAF ингибиторов на разнообразных линиях раковых клеток

Источник	Клеточные линии	MAPK	PI3K/PTEN	# комбинаций лекарственных средств на основе EOHSA	n
Кожа	A375P	BRAF ^{V600E}	WT/WT	48	19
Толстая кишка	RKO	BRAF ^{V600E}	mut/WT	123	48
Кожа	A101D	BRAF ^{V600E}	WT/mut	81	32
Кожа	SK-MEL-5	BRAF ^{V600E} /NRAS ^{Q61R}	WT/inc	92	36
Легкие	A-549	KRAS ^{G12S}	WT/WT	59	23
Толстая кишка	LoVo	KRAS ^{G12S}	WT/WT	70	27
Толстая кишка	HCT116	KRAS ^{G13S}	mut/WT	60	23
Кожа	SK-MEL-2	NRAS ^{G61K}	WT/WT	65	25
Легкие	H1299	NRAS ^{G61E}	WT/WT	46	18
Саркома	HT-1080	NRAS ^{G61K}	WT/WT	59	23
Молочная железа	MDA-MB-231	NRAS ^{G61K}	WT/WT	59	23

Эти данные показывают, что комбинация АКТ и BRAF ингибиторов обладает положительным эф-

фектом при воздействии на линии различных раковых клеток из разнообразных источников, независимо от мутационного статуса ключевых онкогенов в MAPK или AKT/PI3K сигнальных путях, так как многочисленные комбинации лекарственных средств (>20%) продемонстрировали ингибиторную активность >10% Excess Over Highest Single Agent (EOHSA) (превышение активности комбинации относительно одного лекарственного средства с самой высокой активностью).

In vitro ингибирование клеточного роста с помощью соединения А (BRAF соединение), соединения В (AKT соединения) и их комбинации в линиях опухолевых клеток.

Методы.

Клеточные линии и условия для их роста.

Линии клеток опухоли прямой кишки у человека Colo205, DLD1, HCC2998, HCT15, HCT8, HT29, KM-12, LS1034, LS174T, NCI-H508, RKO, SW1417, SW1463, SW480, SW837 и T84 и линии клеток меланомы у человека A375 получали из Американской коллекции типовых культур (ATCC). A375PF11 получали из A375, клеточные клоны 12R5-1, 12R5-3, 12R8-1, 12R8-3, 16R5-2, 16R6-3 и 16R6-4 являлись единственными клеточными клонами, полученными из смешанных популяций клеток A375PF11, которые выбирали для выращивания при концентрациях соединения А 1200 и 1600 нМ. Все клеточные линии культивировали в среде RPMI 1640, содержащей 10% фетальной телячьей сыворотки (FBS).

Исследование ингибирования клеточного роста и анализ данных по комбинированию.

Все клетки культивировали в течение как минимум 72 ч перед посевом клеток. Клетки исследовали в 96-луночном планшете для выращивания тканевых культур (NUNC 136102) в среде RPMI, содержащей 10% FBS, для всех клеток при 1000 клеток на лунку. Приблизительно через 24 ч после посева клетки подвергали воздействию десяти последовательно разбавляемых в три раза растворов соединения или комбинации двух соединений при постоянном мольном отношении соединения А к соединению В, равном 1:10, в среде RPMI, содержащей 10% FBS. Клетки инкубировали в присутствии соединений в течение 3 дней. Определяли уровни АТФ путем добавления Cell Titer Glo® (Promega) в соответствии с протоколом фирмы-изготовителя. Вкратце, Cell Titer Glo® добавляли в каждый планшет, инкубировали в течение 30 мин и затем считывали люминесцентный сигнал на планшетном ридере SpectraMax L при времени интегрирования 0,5 с.

Ингибирование клеточного роста оценивали после обработки с помощью соединения или комбинации соединений в течение трех дней и сравнивали с сигналом для клеток, обработанных с помощью плацебо (DMSO). Клеточный рост рассчитывали относительно контрольных лунок, обработанных плацебо (DMSO). Концентрацию соединения, которая ингибирует 50% контрольного роста клеток (IC_{50}), интерполировали на значение, когда для контрольного плацебо $y=50\%$, с использованием нелинейной регрессии с помощью уравнения $y=(A+(B-A)/(1+(C/x)^D))$, где А является минимальным значением ответной реакции (y_{min}), В является максимальным значением ответной реакции (y_{max}), С является точкой перегиба кривой (EC_{50}) и D является коэффициентом Хилла.

Влияния комбинирования на активность оценивали с помощью Combination Index (CI) (индекса комбинирования), который рассчитывали путем обратной интерполяции значений IC_{50} и с помощью уравнения для взаимно неисключающих лекарственных средств, выведенного Chou and Talalay (1):

$$CI = Da/IC_{50}(a) + Db/IC_{50}(b) + (Da \times Db) / (IC_{50}(a) \times IC_{50}(b))$$

где $IC_{50}(a)$ является IC_{50} для соединения А; $IC_{50}(b)$ является IC_{50} для соединения В; Da является концентрацией соединения А в комбинации с соединением В, которая ингибирует 50% клеточного роста; и Db является концентрацией соединения В в комбинации с соединением А, которая ингибирует 50% клеточного роста. Обычно, величина CI <0,9, между 0,9 и 1,1, или >1,1 указывает на синергизм, аддитивность и антагонизм соответственно. Обычно, чем меньше величина CI, тем в большей степени проявляется синергизм.

Влияние комбинирования на уровень ответной реакции количественно оценивали с помощью Excess Over Highest Single Agent (EOHSA) (превышения активности комбинации относительно одного лекарственного средства с самой высокой активностью) на основе концепции нелинейного смешения, подробно описанной в публикациях Peterson and Novick (2007) и Peterson (2010) [(2;3) [Peterson and Novick, 2007; Peterson, 2010]. Значения EOHSA определяют как увеличение положительной динамики (здесь, в "процентных пунктах" (ppts) различия), вызываемой комбинацией по сравнению с только одним лучшим средством при его уровне дозы в комбинации. Для обработки с помощью только одного лекарственного средства и с помощью комбинации клетки подвергали воздействию соединений при фиксированном соотношении доз, и экспериментальные данные аппроксимировали кривой зависимости "доза-эффект" и анализировали с использованием регрессионных моделей. При конкретных уровнях суммарной дозы IC_{50} наряду с кривой зависимости "доза-эффект" определяли дозу комбинации (соответствующую IC_{50}), для того чтобы сделать статистические выводы на основе EOHSA. Более конкретно, в результате проведения эксперимента делают вывод, что комбинация лекарственных средств, включающая лекарственное средство 1 при дозе d1 и лекарственное средство 2 при дозе d2 (то есть суммарная доза равна d1+d2) имеет положительное значение EOHSA, если средняя величина ответной реакции при комбинации является более высокой, чем средняя величина ответной реакции для лекарственного средства 1 при дозе d1 или

лекарственного средства 2 при дозе d2.

Результаты.

Эффект ингибирования клеточного роста при воздействии соединения А, то есть BRAF ингибитора, соединения В, то есть АКТ ингибитора, и их комбинации определяли на панели линий опухолевых клеток человека. Средние значения IC_{50} (по меньшей мере, из двух независимых экспериментов) и эффекты комбинации при значениях IC_{50} приведены в табл. 2 вместе с мутационным статусом BRAF, KRAS и PIK3CA.

Четыре клеточных линии толстой кишки с мутацией BRAF V600E проявляли чувствительность к соединению А со значениями IC_{50} между 0,018 и 3,316 мкМ и к соединению В со значениями IC_{50} между 0,290 и 2,587 мкМ. Комбинация соединения А и соединения В являлась в высокой степени синергетической со значением CI, равным 0,16 в RKO клетках как с мутациями BRAF V600E, так и с мутациями PIK3CA H1047R, и являлась умеренно синергетической или аддитивной в клеточных линиях SW1417, Colo205 и HT29. Другие 12 клеточных линий толстой кишки без BRAF V600E мутации были невосприимчивыми к воздействию соединения А (значения $IC_{50} > 5$ мкМ). Комбинация соединения А и соединения В показала усиленное ингибирование клеточного роста, характеризуемое значениями EOHSA от 17 до 54 prpts в этих клеточных линиях.

Для линий опухолевых меланомных клеток, приведенных в табл. 2, клетки A375PF11 с BRAF V600E мутацией являлись высоко чувствительными к воздействию соединения А ($IC_{50}=0,063$ мкМ), но невосприимчивыми к воздействию соединения В ($IC_{50} > 10$ мкМ). Комбинация соединения А и соединения В проявляла активность, аналогичную активности только одного соединения А в клетках A375PF11. Семь устойчивых к действию соединения А клонов (12R8-3, 12R8-1, 12R5-3, 16R5-2, 16R6-3, 16R6-4 и 12R5-1, полученные из линии меланомных клеток A375PF11) были невосприимчивыми к воздействию соединения В со значениями $IC_{50} \geq 7$ мкМ. Комбинация соединения А и соединения В показала усиленное ингибирование клеточного роста при относительно более высоких концентрациях (~1 мкМ) обоих соединения А и соединения В.

Таблица 2. Ингибирование клеточного роста с помощью соединения А, соединения В и их комбинации в линиях опухолевых клеток человека

Клеточные линии	Мутационный статус				Значения IC_{50} в микромолях (среднее \pm стандартное отклонение)			Эффекты комбинирования	
	BRAF	KRAS	PIK3CA		Только одно средство		Соединение А или В в комбинации при мольном отношении 1:1	CI	EOHSA
					Соединение А	Соединение В			
Толстая кишка	RKO	V600E	WT	H1047R	3,136 \pm 3,466	0,290 \pm 0,078	0,038 \pm 0,012	0,16 \pm 0,02	26 \pm 2
	SW1417	V600E	WT	WT	0,101 \pm 0,031	2,587 \pm 1,757	0,065 \pm 0,025	0,69 \pm 0,03	4 \pm 1
	HT29	V600E	WT	P449T	0,028 \pm 0,007	0,503 \pm 0,073	0,023 \pm 0,001	0,95 \pm 0,27	2 \pm 4
	Colo205	V600E	WT	WT	0,018 \pm 0,003	0,908 \pm 0,605	0,017 \pm 0,002	0,97 \pm 0,01	2 \pm 1
	NCI-H508	G596R	WT	E545K	>10	0,234 \pm 0,247	0,103 \pm 0,088	N/A	19 \pm 11
	HCT8	WT	G13D	E545K	>10	0,527 \pm 0,038	0,236 \pm 0,036	N/A	15 \pm 2
	KM-12	WT	WT	WT	>10	1,412 \pm 0,961	0,503 \pm 0,266	N/A	20 \pm 9
	HCT15	WT	G13D	D549N, E545K	>10	4,205 \pm 0,834	0,610 \pm 0,039	N/A	38 \pm 3
	HCC2998	WT	A146T	WT	>10	2,912 \pm 1,447	0,686 \pm 0,043	N/A	21 \pm 4
	DL1	WT	G13D	E545K, D549N	>10	>10	0,762 \pm 0,083	N/A	32 \pm 3
	LS1747	WT	G12D	H1047R	>10	3,746 \pm 0,945	0,946 \pm 0,202	N/A	39 \pm 11
	SW480	WT	G12C	WT	>10	5,625 \pm 1,853	1,441 \pm 1,022	N/A	26 \pm 3
	LS1034	WT	A146T	WT	>10	6,393 \pm 3,554	1,519 \pm 0,524	N/A	17 \pm 0
	SW1463	WT	G12C	WT	>10	5,230 \pm 7,396	2,797 \pm 1,174	N/A	54 \pm 5
	SW837	WT	G12C	WT	5,437 \pm 7,689	>10	3,582 \pm 0,554	N/A	25 \pm 14
	T84	WT	G13D	E542K	>10	>10	5,121 \pm 2,507	N/A	50 \pm 0
Меланома	F11	BRAF_V600E	WT	NT	0,063 \pm 0,004	>10	0,090 \pm 0,021	1,443 \pm 0,245	~5 \pm 4
	16R5-2	BRAF_V600E	WT	NT	>10	7,050 \pm 1,326	0,897 \pm 0,071	N/A	32 \pm 1
	16R6-4	BRAF_V600E	WT	NT	>10	>10	1,122 \pm 0,063	N/A	41 \pm 13
	12R5-1	BRAF_V600E	WT	NT	>10	>10	1,176 \pm 0,014	N/A	65 \pm 7
	12R5-3	BRAF_V600E	WT	NT	>10	>10	1,229 \pm 0,394	N/A	44 \pm 20
	12R8-3	BRAF_V600E	WT	NT	>10	>10	1,271 \pm 0,142	N/A	55 \pm 6
	12R8-1	BRAF_V600E	WT	NT	>10	>10	1,667 \pm 0,125	N/A	45 \pm 0
	16R6-3	BRAF_V600E	WT	NT	>10	>10	1,720 \pm 0,300	N/A	42 \pm 5

Пояснения к табл. 2.

IC_{50} - концентрация соединения (соединений) или концентрация соединения А в присутствии эквивалентного количества соединения В, которая снижает клеточный рост на 50%;

CI - Combination Index (индекс комбинирования); N/A - неприменимо; NT - не тестировали.

EOHSA - Excess over Highest Single Agent (превышение активности комбинации относительно одного лекарственного средства с самой высокой активностью), измеряемое в процентах.

F11 - A375PF11.

Список цитируемой литературы.

- 1) Chou TC, Talalay P. Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. Adv Enzyme Regul 1984; 22: 27-55.
- 2) Peterson JJ, Novick SJ. Nonlinear blending: a useful general concept for the assessment of combination drug synergy. J Recept Signal Transduct Res 2007; 27(2-3): 125-46.
- 3) Peterson J. A Review of Synergy Concepts of Nonlinear Blending and Dose-Reduction Profiles. Frontiers of Bioscience S2, 483-503. 2010.

Так как комбинации по настоящему изобретению проявляют активность в описанных выше исследованиях, они обладают высокой терапевтической полезностью при лечении рака.

Предпочтительно, чтобы настоящее изобретение относилось к способу лечения или облегчения тя-

жести рака, выбранного из рака мозга (глиом), глиобластом, астроцитом, мультиформной глиобластомы, синдрома Баннаяна-Зонана, болезни Коудена, болезни Лермитта-Дуклоса, рака молочной железы, отечно-инфильтративного рака молочной железы, опухоли Вильмса, саркомы Юинга, рабдомиосаркомы, эпендимомы, медуллобластомы, рака толстой кишки, рака головы и шеи, рака почек, рака легких, рака печени, меланомы, рака яичника, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, саркомы, остеосаркомы, миелоидной опухоли, рака щитовидной железы, лимфобластного Т-клеточного лейкоза, хронического миелолейкоза, хронического лимфолейкоза, волосатоклеточного лейкоза, острого лимфобластного лейкоза, острого миелобластного лейкоза, хронического нейтрофильного лейкоза, острого лимфобластного Т-клеточного лейкоза, плазматомы, иммунобластной крупноклеточной лейкемии, лейкемии клеток мантийной зоны, множественной миеломы, мегакариобластного лейкоза, множественной миеломы, острого мегакариоцитарного лейкоза, промиелоцитарного лейкоза, эритролейкоза, злокачественной лимфомы, лимфомы Ходжкина, неходжкинской лимфомы, лимфобластной Т-клеточной лимфомы, лимфомы Беркитта, фолликулярной лимфомы, нейробластомы, рака мочевого пузыря, уротелиального рака, рака легких, рака женских наружных половых органов, рака шейки матки, рака эндометрия, рака почек, мезотелиомы, рака пищевода, рака слюнной железы, гепатоцеллюлярного рака, рака желудочно-кишечного тракта, рака носоглотки, рака щеки, рака полости рта, GIST (гастроинтестинальной стромальной опухоли) и рака яичка.

Предпочтительно, чтобы настоящее изобретение относилось к способу лечения или облегчения тяжести рака, выбранного из рака мозга (глиом), глиобластом, астроцитом, мультиформной глиобластомы, синдрома Баннаяна-Зонана, болезни Коудена, болезни Лермитта-Дуклоса, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака головы и шеи, рака почек, рака легких, рака печени, меланомы, рака яичников, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, саркомы и рака щитовидной железы.

Предпочтительно, чтобы настоящее изобретение относилось к способу лечения или облегчения тяжести рака, выбранного из рака яичников, рака молочной железы, рака поджелудочной железы и рака предстательной железы.

Предпочтительно, чтобы настоящее изобретение относилось к способу лечения или облегчения тяжести предраковых синдромов у млекопитающего, включая человека, где предраковый синдром выбирают из интраэпителиальной цервикальной неоплазии, моноклональной гаммапатии неустановленной этиологии (MGUS), синдрома миелодисплазии, апластической анемии, патологического изменения шейки матки, невусов кожи (предмеланомы), внутриэпителиальной (внутрипротоковой) неоплазии предстательной железы (PIN), протоковой карциномы *in situ* (DCIS), полипов толстой кишки и тяжелой формы гепатита или цирроза.

Предпочтительно, чтобы настоящее изобретение относилось к способу лечения или облегчения тяжести рака, который является или немутантным, или следствием мутации *Raf*, и или немутантным, или следствием мутации *PI3K/Pten*. Он включает пациентов с немутантными как *Raf*, так и *PI3K/PTEN*, с мутантными как *Raf*, так и *PI3K/PTEN*, с мутантной *Raf* и немутантным *PI3K/PTEN*, и с немутантной *Raf* и мутантным *PI3K/PTEN*.

Под термином "немутантный тип (дикий тип)" в науке подразумевают полипептидную или полинуклеотидную последовательность, которая возникает в нативной популяции без генетической модификации. Так же как под термином "мутантный" в науке подразумевают полипептидную или полинуклеотидную последовательность, имеющую по меньшей мере одну модификацию для аминокислоты или нуклеиновой кислоты, по сравнению с соответствующей аминокислотой или нуклеиновой кислотой, обнаруживаемой в немутантном полипептиде или полинуклеотиде соответственно. Термин "мутантный" включает однонуклеотидный полиморфизм (SNP), когда существует только одно отличие в паре оснований в последовательности в цепочке нуклеиновой кислоты по сравнению с самой повсеместно обнаруживаемой (немутантной) цепочкой нуклеиновой кислоты.

Раки, которые являются или немутантными, или следствием мутации *Raf*, и/или немутантными, или следствием мутации *PI3K/PTEN*, выявляются с помощью хорошо известных методов.

Например, опухолевые клетки, которые являются немутантными или которые являются следствием мутации *Raf* или *PI3K/PTEN*, могут быть выявлены путем методов амплификации ДНК и секвенирования, методов детекции ДНК и РНК, включающих, не ограничиваясь перечисленными, нозерн-блоттинг и саузерн-блоттинг соответственно, и/или путем различных технологий с использованием биочипов и матриц. Немутантные и мутантные полипептиды могут быть обнаружены с помощью ряда методов, включающих, не ограничиваясь перечисленными, иммунодиагностические методы, такие как иммуноферментный анализ, вестерн-блоттинг или иммуноцитохимия. Предпочтительно, чтобы можно было бы использовать активированную пирофосфоролизом полимеризацию (PAP) и/или методы полимеразной цепной реакции (PCR). Liu, Q et al; Human Mutation 23: 426-436 (2004).

Это изобретение предлагает комбинацию, включающую N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамид или его фармацевтически приемлемую соль и N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамид или его фармацевтически приемлемую соль.

Кроме того, это изобретение также предлагает комбинацию, включающую N-{3-[5-(2-амино-4-

пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамид или его фармацевтически приемлемую соль и N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамид или его фармацевтически приемлемую соль, для применения в терапии.

Кроме того, это изобретение также предлагает комбинацию, включающую N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамид или его фармацевтически приемлемую соль и N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамид или его фармацевтически приемлемую соль, для применения при лечении рака.

Кроме того, это изобретение также предлагает фармацевтическую композицию, включающую комбинацию N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамида или его фармацевтически приемлемой соли и N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамид или его фармацевтически приемлемой соли.

Кроме того, это изобретение также предлагает комбинированный набор, включающий N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамид или его фармацевтически приемлемую соль и N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамид или его фармацевтически приемлемую соль.

Кроме того, это изобретение также предлагает применение комбинации, включающей N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамид или его фармацевтически приемлемую соль и N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамид или его фармацевтически приемлемую соль, при получении лекарственного средства.

Кроме того, это изобретение также предлагает применение комбинации, включающей N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамид или его фармацевтически приемлемую соль и N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамид или его фармацевтически приемлемую соль, при получении лекарственного средства для лечения рака.

Кроме того, это изобретение также предлагает способ лечения рака, который включает введение комбинации N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамида или его фармацевтически приемлемой соли и N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамид или его фармацевтически приемлемой соли субъекту, если это ему необходимо.

Предполагается, что следующие далее примеры являются только иллюстрациями, и ни в коей мере не ограничивают объем изобретения.

Подробности эксперимента.

Пример 1. Композиция капсулы.

Пероральную лекарственную форму для введения комбинации по настоящему изобретению готовят путем заполнения стандартной состоящей из двух частей капсулы из твердого желатина ингредиентами в пропорциях, приведенных ниже в табл. I.

Таблица I

ИНГРЕДИЕНТЫ	КОЛИЧЕСТВА
N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамид метансульфонат (метансульфонатная соль Соединения А)	100 мг
N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамид (Соединение В)	300 мг
Маннит	250 мг
Тальк	125 мг
Стеарат магния	8 мг

Пример 2. Композиция капсулы.

Пероральную лекарственную форму для введения одного из соединений по настоящему изобретению готовят путем заполнения стандартной состоящей из двух частей капсулы из твердого желатина ингредиентами в пропорциях, приведенных ниже в табл. II.

Таблица II

ИНГРЕДИЕНТЫ	КОЛИЧЕСТВА
N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамид метансульфонат (метансульфонатная соль Соединения А)	100 мг
Маннит	55 мг
Тальк	16 мг
Стеарат магния	4 мг

Пример 3. Композиция капсулы.

Пероральную лекарственную форму для введения одного из соединений по настоящему изобретению готовят путем заполнения стандартной, состоящей из двух частей капсулы из твердого желатина ингредиентами в пропорциях, приведенных ниже в табл. III.

Таблица III

ИНГРЕДИЕНТЫ	КОЛИЧЕСТВА
N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамид (Соединение В)	300 мг
Маннит	250 мг
Тальк	125 мг
Стеарат магния	8 мг

Пример 4. Композиция таблетки.

Сахарозу, микрокристаллическую целлюлозу и соединения предлагаемой по изобретению комбинации, приведенные ниже в табл. IV, смешивают и гранулируют в приведенных пропорциях с 10% раствором желатина. Влажные гранулы просеивают, сушат, смешивают с крахмалом, тальком и стеариновой кислотой, затем просеивают и прессуют в таблетку.

Таблица IV

ИНГРЕДИЕНТЫ	КОЛИЧЕСТВА
N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамид метансульфонат (метансульфонатная соль Соединения А)	100 мг
N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамид (Соединение В)	300 мг
Микрокристаллическая целлюлоза	300 мг
Сахароза	10 мг
Крахмал	40 мг
Тальк	20 мг
Стеариновая кислота	5 мг

Пример 5. Композиция таблетки.

Сахарозу, микрокристаллическую целлюлозу и одно из соединений предлагаемой по изобретению комбинации, приведенные ниже в табл. V, смешивают и гранулируют в приведенных пропорциях с 10% раствором желатина. Влажные гранулы просеивают, сушат, смешивают с крахмалом, тальком и стеариновой кислотой, затем просеивают и прессуют в таблетку.

Таблица V

ИНГРЕДИЕНТЫ	КОЛИЧЕСТВА
N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамид метансульфонат (метансульфонатная соль Соединения А)	100 мг
Микрокристаллическая целлюлоза	30 мг
Сахароза	4 мг
Крахмал	2 мг
Тальк	1 мг
Стеариновая кислота	0,5 мг

Пример 6. Композиция таблетки.

Сахарозу, микрокристаллическую целлюлозу и одно из соединений предлагаемой по изобретению комбинации, приведенные ниже в табл. VI, смешивают и гранулируют в приведенных пропорциях с 10% раствором желатина. Влажные гранулы просеивают, сушат, смешивают с крахмалом, тальком и стеариновой кислотой, затем просеивают и прессуют в таблетку.

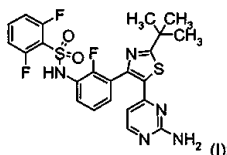
Таблица VI

ИНГРЕДИЕНТЫ	КОЛИЧЕСТВА
N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамид (Соединение В)	300 мг
Микрокристаллическая целлюлоза	300 мг
Сахароза	40 мг
Крахмал	20 мг
Тальк	10 мг
Стеариновая кислота	5 мг

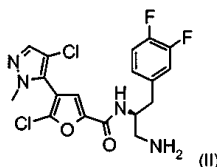
В приведенном выше описании по изобретению иллюстрируются предпочтительные варианты осуществления изобретения, но следует иметь в виду, что изобретение не ограничивается раскрываемыми в описании точными указаниями, и что сохраняется право на все модификации, которые подпадают под объем приведенных далее пунктов формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Комбинация для лечения рака или предраковых синдромов, включающая
(i) соединение структуры (I)



- (N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамид) или его фармацевтически приемлемую соль;
и (ii) соединение структуры (II)



- (N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамид) или его фармацевтически приемлемую соль.

2. Комбинация по п.1, где соединение структуры (I) находится в форме метансульфонатной соли, а соединение структуры (II) находится в форме гидрохлоридной соли.

3. Комбинация по п.1 или 2 вместе с фармацевтически приемлемым носителем или носителями.

4. Применение комбинации по любому из пп.1-3 при получении лекарственного средства для лечения рака или предраковых синдромов.

5. Применение по п.4, где рак либо является немутантным, либо является следствием мутации Ras/Raf, либо является следствием мутации PI3K/PTEN.

6. Применение по п.4, где рак выбран из рака яичника, рака молочной железы, рака поджелудочной железы и рака предстательной железы.

7. Применение комбинации по любому из пп.1-3 для лечения рака или предраковых синдромов.

8. Способ лечения рака или предраковых синдромов, включающий введение терапевтически эффективного количества комбинации N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамида или его фармацевтически приемлемой соли и N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамида или его фармацевтически приемлемой соли, где период между введениями указанных соединений составляет от 45 мин до 24 ч и где комбинацию вводят в течение продолжительности времени, составляющей от по меньшей мере 1 дня до по меньшей мере 30 дней.

9. Способ по п.8, где количество N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамида или его фармацевтически приемлемой соли выбрано из величины приблизительно от 10 до приблизительно 300 мг, и это количество вводится от 1 до 3 раз в сутки, и количество N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамида или его фармацевтически приемлемой соли выбрано из величины приблизительно от 10 до приблизительно 300 мг, и это количество вводится один раз в сутки.

10. Способ по п.8, где N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамида метансульфонат и N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамид или его фармацевтически приемлемая соль вводятся с интервалом 12 ч друг за другом в течение от 1 до 3 идущих подряд

дней, затем вводится N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамид метансульфонат в течение от 3 до 7 идущих подряд дней, и затем необязательно следует один или более циклов повторного дозирования.

11. Способ по п.8, где N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамида метансульфонат и N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамид или его фармацевтически приемлемая соль вводятся с интервалом 12 ч друг за другом в течение двух идущих подряд дней, затем вводится N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамид метансульфонат в течение от 4 до 6 идущих подряд дней, и затем необязательно следует один или более циклов повторного дозирования.

12. Способ по п.8, где N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамида метансульфонат и N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамид или его фармацевтически приемлемая соль вводятся с интервалом 12 ч друг за другом в течение 2 дней в семидневный период, а в течение других дней указанного семидневного периода вводятся либо N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамида метансульфонат в отдельности, и затем необязательно следует один или более циклов повторного дозирования; или вводится N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамид или его фармацевтически приемлемая соль в отдельности, и затем необязательно следует один или более циклов повторного дозирования.

13. Способ по п.8, где N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамида метансульфонат и N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамид или его фармацевтически приемлемая соль вводятся с интервалом 12 ч друг за другом в течение по меньшей мере 5 идущих подряд дней.

14. Способ по п.8, где N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамида метансульфонат и N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамид или его фармацевтически приемлемая соль вводятся с интервалом 12 ч друг за другом в течение 5 дней в четырнадцатидневный период, а в течение других дней указанного четырнадцатидневного периода вводится либо N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамида метансульфонат в отдельности, и затем необязательно следует один или более циклов повторного дозирования; или вводится N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамид или его фармацевтически приемлемая соль в отдельности, и затем необязательно следует один или более циклов повторного дозирования.

15. Способ по п.8 или 9, где соединение N-{3-[5-(2-амино-4-пиримидинил)-2-(1,1-диметилэтил)-1,3-тиазол-4-ил]-2-фторфенил}-2,6-дифторбензолсульфонамида метансульфонат сначала вводят в ударной дозе в течение от 1 до 3 дней, а затем вводят поддерживающую дозу соединения, и/или соединение N-{(1S)-2-амино-1-[(3,4-дифторфенил)метил]этил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-пиразол-5-ил)-2-фуранкарбоксамид или его фармацевтически приемлемая соль сначала вводится в ударной дозе в течение от 1 до 3 дней, а затем вводится поддерживающая доза соединения.

