



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106474127 A

(43)申请公布日 2017. 03. 08

(21)申请号 201610906456.3

A61K 45/06(2006.01)

(22)申请日 2012.10.11

A61K 31/5377(2006.01)

(30)优先权数据

A61K 31/519(2006.01)

61/547,308 2011.10.14 US

A61P 35/00(2006.01)

(62)分案原申请数据

201280050535.9 2012.10.11

(71)申请人 诺华股份有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72)发明人 X·黄 C·夸德 H-Q·王

C·弗里特什 C·R·施奈尔

(74)专利代理机构 上海专利商标事务所有限公

司 31100

代理人 杨昀

(51)Int.Cl.

A61K 31/4439(2006.01)

权利要求书2页 说明书20页 附图9页

(54)发明名称

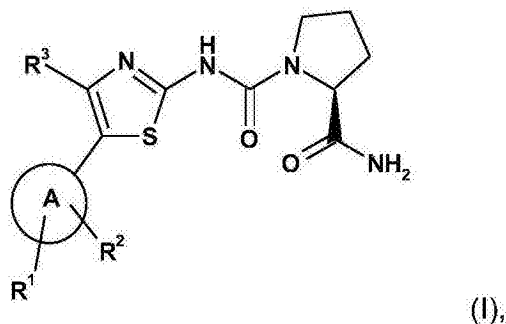
用于治疗增生性疾病的2-甲酰胺环氨基尿
素衍生物与Hsp90抑制剂的组合

(57)摘要

本发明涉及一种药物组合,所述组合包含式
(I)的2-甲酰胺环氨基尿素衍生化合物和热激蛋
白90的抑制剂,以及涉及这种组合在治疗增生性
疾病,更特别PI3K依赖性疾,更特别PI3K- α 依
赖性疾病中的应用。

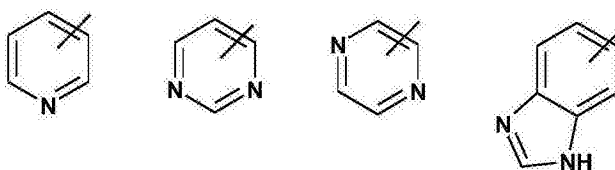
1. 一种药物组合, 所述组合包括:

(a) 式 (I) 的化合物,



其中

A代表选自下组的杂芳基:



R^1 代表下列取代基之一: (1) 未取代或取代的, 优选取代的 C_1 - C_7 -烷基, 其中所述取代基独立选自一个或多个, 优选1-9个下列部分: 氘、氟, 或者1-2个下列部分 C_3 - C_5 -环烷基; (2) 可选地, 取代的 C_3 - C_5 -环烷基, 其中所述取代基独立选自一个或多个, 优选1-4个下列部分: 氘、 C_1 - C_4 -烷基 (优选甲基)、氟、氰基、氨基羰基; (3) 可选地, 取代的苯基, 其中所述取代基独立选自一个或多个, 优选1-2个下列部分: 氘、卤基、氰基、 C_1 - C_7 -烷基、 C_1 - C_7 -烷基氨基、二 (C_1 - C_7 -烷基) 氨基、 C_1 - C_7 -烷氨基羰基、二 (C_1 - C_7 -烷基) 氨基羰基、 C_1 - C_7 -烷氧基; (4) 可选地, 单或双取代胺; 其中所述取代基独立选自下列部分: 氘、 C_1 - C_7 -烷基 (未取代或取代有一个或多个选自氘、氟、氯、羟基的取代基)、苯磺酰基 (未取代或取代有一个或多个, 优选一个 C_1 - C_7 -烷基、 C_1 - C_7 -烷氧基、二 (C_1 - C_7 -烷基) 氨基- C_1 - C_7 -烷氧基); (5) 取代的磺酰基; 其中所述取代基选自下列部分: C_1 - C_7 -烷基 (未取代或取代有一个或多个选自氘、氟的取代基)、吡咯烷基 (未取代或取代有一个或多个选自氘、羟基、氧代的取代基; 特别是一个氧代); (6) 氟、氯;

R^2 代表氢;

R^3 代表 (1) 氢, (2) 氟、氯, (3) 可选地, 取代的甲基, 其中所述取代基独立选自一个或多个, 优选1-3个下列部分: 氘、氟、氯、二甲氨基;

除了 (S)-吡咯烷-1,2-二羧酸2-酰胺1-({5-[2-(叔丁基)-嘧啶-4-基]-4-甲基-噻唑-2-基}-酰胺),

或其药学上可接受盐; 和

(b) 至少一种Hsp90抑制剂或其药学上可接受盐。

2. 如权利要求1所述的药物组合, 其特征在于, 所述试剂 (a) 选自 (S)-吡咯烷-1,2-二羧酸2-酰胺1-({4-甲基-5-[2-(2,2,2-三氟-1,1-二甲基-乙基)-吡啶-4-基]-噻唑-2-基}-酰胺) (化合物A) 或其药学上可接受盐。

3. 如权利要求1所述的药物组合, 其特征在于, 所述试剂 (b) 选自格尔德霉素衍生物、坦螺旋霉素 (17-烯丙氨基-17-脱甲氧基格尔德霉素) (也称为KOS-953和17-AAG); 根赤壳菌素; 6-氯-9-(4-甲氧基-3,5-二甲基吡啶-2-基甲基)-9H-嘌呤-2-胺甲磺酸盐 (也称为

CNF2024); IPI504; SNX5422; 5-(2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-4-(4-吗啉-4-基甲基-苯基)-异恶唑-3-羧酸乙酰胺(AUY922); 和(R)-2-氨基-7-[4-氟-2-(6-甲氧基-吡啶-2-基)-苯基]-4-甲基-7,8-二氢-6H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-5-酮(HSP990)或其药学上可接受盐。

4. 如权利要求1所述的药物组合,其特征在于,所述组合可同时、分开或顺序用于治疗增生性疾病。

5. 如权利要求4所述的药物组合,其特征在于,所述增生性疾病是胃癌;肺癌和支气管癌;前列腺癌;乳腺癌;胰腺癌;结肠癌;直肠癌;甲状腺癌;肝癌和肝内胆道癌;肾癌和肾盂癌;膀胱癌;子宫体癌;子宫颈癌;卵巢癌;多发性骨髓瘤;食道癌;急性骨髓性白血病;慢性骨髓性白血病;淋巴细胞性白血病;骨髓性白血病;脑癌;口腔及咽部癌;喉癌;小肠癌;非霍奇金淋巴瘤;黑素瘤;或结肠绒毛腺瘤。

6. 一种含权利要求1中所述的式I化合物或其药学上可接受盐和至少一种Hsp90抑制剂或其药学上可接受盐的药物组合,所述组合用于治疗增生性疾病。

7. 如权利要求1所述的药物组合在制备治疗增生性疾病的药物中的应用。

8. 如权利要求7所述的应用,其特征在于,所述增生性疾病是胃癌;肺癌和支气管癌;前列腺癌;乳腺癌;胰腺癌;结肠癌和直肠癌;甲状腺癌;肝癌和肝内胆道癌;肾癌和肾盂癌;膀胱癌;子宫体癌;子宫颈癌;卵巢癌;多发性骨髓瘤;食道癌;急性骨髓性白血病;慢性骨髓性白血病;淋巴细胞性白血病;骨髓性白血病;脑癌;口腔及咽部癌;喉癌;小肠癌;非霍奇金淋巴瘤;黑素瘤;和结肠绒毛腺瘤。

9. 如权利要求7所述的应用,其特征在于,所述式(I)化合物选自(S)-吡咯烷-1,2-二羧酸2-酰胺1-({4-甲基-5-[2-(2,2,2-三氟-1,1-二甲基-乙基)-吡啶-4-基]-噻唑-2-基}-酰胺)(化合物A)。

10. 如权利要求7所述的应用,其特征在于,所述Hsp90抑制剂选自格尔德霉素衍生物、坦螺旋霉素(17-烯丙氨基-17-脱甲氧基格尔德霉素)(也称为KOS-953和17-AAG);根赤壳菌素;6-氯-9-(4-甲氧基-3,5-二甲基吡啶-2-基甲基)-9H-嘌呤-2-胺甲磺酸盐(也称为CNF2024); IPI504; SNX5422; 5-(2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-4-(4-吗啉-4-基甲基-苯基)-异恶唑-3-羧酸乙酰胺(AUY922); 和(R)-2-氨基-7-[4-氟-2-(6-甲氧基-吡啶-2-基)-苯基]-4-甲基-7,8-二氢-6H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-5-酮(HSP990)。

11. 如权利要求7所述的应用,其特征在于,所述式(I)化合物和Hsp90抑制剂被配制作为单一药物组合物一起给药。

12. 如权利要求7所述的应用,其特征在于,所述式(I)化合物和Hsp90抑制剂被配制作为分开的组合物给药或顺序给药。

13. 一种药盒,所述药盒包括权利要求1中所述的式(I)化合物或其药学上可接受盐,以及药品说明书或标签,所述药品说明书或标签提供通过共给予至少一种Hsp90抑制剂或其药学上可接受盐来治疗增生性疾病的指导。

用于治疗增生性疾病的2-甲酰胺环氨基尿素衍生物与Hsp90抑制剂的组合

技术领域

[0001] 本发明涉及一种药物组合,所述组合包含式(I)的2-甲酰胺环氨基尿素衍生物和热激蛋白90的抑制剂,以及涉及这种组合在治疗增生性疾病,更特别PI3K依赖性疾病,更特别PI3K- α 依赖性疾病中的应用。

[0002] 发明背景

[0003] PI3K/Akt/mTOR通路就正常细胞而言是重要、严格调控的存活通路。磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)是广泛表达的脂激酶,其催化磷酸转移至肌醇脂质的D-3'位置以产生磷酸肌醇-3-磷酸(PIP)、磷酸肌醇-3,4-二磷酸(PIP₂)和磷酸肌醇-3,4,5-三磷酸(PIP₃)。这些PI3K催化反应的产物用作第二信使,且在关键的细胞过程,包括细胞生长、分化、运动、增殖和存活中发挥重要作用。

[0004] 所述两种1类PI3K中,1A类PI3K是由p110催化亚单位(α, β, δ 同种型)与调节亚单位组成型相联组成的异二聚体,所述调节亚单位可以是p85 α 、p55 α 、p50 α 、p85 β 或p55 γ 。1B亚类具有一个家族成员,即由p110 γ 催化亚单位与2个调节亚单位p101或p84之一相联组成的异二聚体(Fruman等,Annu Rev.Biochem.67:481(1998);Suire等,Curr.Biol.15:566(2005))。

[0005] 许多情况中,PIP₂和PIP₃将AKT募集至质膜,其在该处用作许多对生长和存活重要的胞内信号通路的节点(Fantl等,Cell 69:413-423(1992);Bader等,Nature Rev.Cancer 5:921(2005);Vivanco和Sawyer,Nature Rev.Cancer 2:489(2002))。PI3K的异常调节通常经AKT激活而增加存活,这是人类癌症中最普遍的事件之一且已显示在多个水平发生。肿瘤抑制基因PTEN使肌醇环3'位的磷酸肌醇去磷酸化并由此拮抗PI3K活性,该基因在多种肿瘤中功能缺失。在其它肿瘤中,p110 α 同种型PIK3CA和AKT的基因被扩增,并且已在数种人类癌症中证实其基因产物的蛋白表达增加。此外,已在广泛多样化的人类癌症中以相当高频率描述了激活下游信号通路的PIK3CA的体细胞错义突变(Kang等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 102:802(2005);Samuels等,Science 304:554(2004);Samuels等,Cancer Cell 7:561-573(2005))。因此,已知PI3K α 抑制剂在治疗增殖性疾病和其它病症中具有特殊价值。

[0006] 此外,热激蛋白90(Hsp90)被认为是一种抗癌靶标。Hsp90是一种高丰度且必需的蛋白,其用作分子伴侣以确保客户蛋白的构象稳定性、形状和功能。Hsp90伴侣家族由4个成员组成:均位于细胞溶质的Hsp90 α 和Hsp90 β ,位于内质网的GRP94,和位于线粒体的TRAP1。Hsp90是构成约1%-2%总蛋白的丰富细胞伴侣。

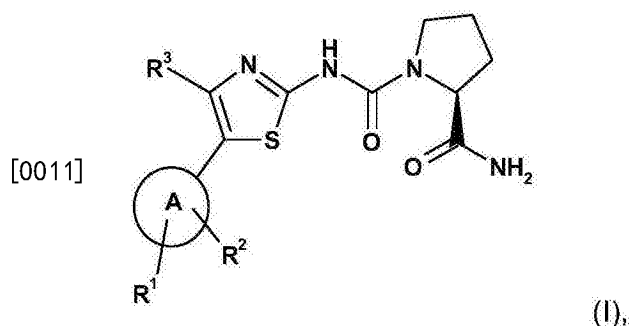
[0007] Hsp90在所述应激蛋白中是独特的,因为其不为大部分多肽的生源合成所需要。Hsp90与原癌蛋白(称为“客户蛋白”)形成复合体,所述蛋白是在生长控制、细胞存活和组织发育中起关键作用的构象上不稳定的信号转导子。这种结合防止这些客户蛋白降解。Hsp90客户蛋白亚组如Raf、AKT、磷酸化AKT、CDK4和EGFR家族(包括ErbB2)是关键性参与细胞生长、分化和调亡的致癌信号分子,这些是在癌细胞中的所有重要过程。抑制Hsp90的固有ATP酶活性破坏了Hsp90-客户蛋白相互作用,导致其通过泛素蛋白酶体途径降解。

[0008] 在其N末端结构域有保守ATP结合位点的Hsp90伴侣属于小ATP酶亚族,称为DNA旋转酶、Hsp90、组氨酸激酶和MutL (GHKL) 亚族。Hsp90的伴侣(折叠)活性取决于其ATP酶活性,该活性对于经分离酶而言是弱的。然而,已显示Hsp90与称作共伴侣的蛋白质结合时,其ATP酶活性增强。因此,在体内,Hsp90蛋白作为大的、动态蛋白复合体的亚单位。Hsp90对于真核细胞存活是必需的,且其在许多肿瘤中过度表达。

[0009] 尽管对于增生性疾病患者而言有许多治疗选择,仍需要有效且安全的治疗剂和需要其在联合治疗中的优选应用。意外发现式(I)的特异性2-甲酰胺环氨基尿素衍生物与Hsp90抑制剂联用时引发强烈抗增殖活性和体内抗肿瘤应答,所述化合物已在WO 2010/029082中描述。用Hsp90抑制剂和PI3K抑制剂(特别是式(I)的高特异性PI3K α 抑制剂化合物)共治疗癌细胞特别有效,因为其组合近端通路组分如受体酪氨酸激酶(主要通过Hsp90抑制来靶向)与也在信号级联顶端附近作用的另一抑制剂(PI3K抑制剂)。Hsp90抑制的额外益处可源自其对PI3K/Akt/mTOR通路内其他信号转导组分的影响,例如对AKT和pAKT的影响,和其对许多客户蛋白的广泛影响。

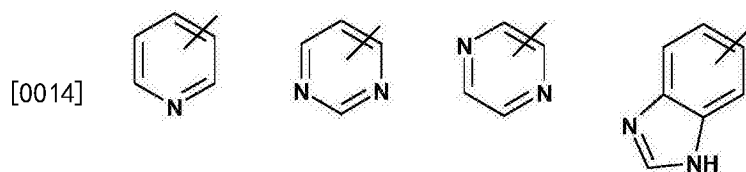
发明内容

[0010] 本发明涉及一种药物组合,所述组合包括(a)式(I)的化合物,



[0012] 其中

[0013] A代表选自下组的杂芳基:



[0015] R^1 代表下列取代基之一: (1) 未取代或取代的,优选取代的 C_1 - C_7 -烷基,其中所述取代基独立选自一个或多个,优选1-9个下列部分:氘、氟,或者1-2个下列部分 C_3 - C_5 -环烷基中的; (2) 可选地,取代的 C_3 - C_5 -环烷基,其中所述取代基独立选自一个或多个,优选1-4个下列部分:氘、 C_1 - C_4 -烷基(优选甲基)、氟、氰基、氨基羰基; (3) 可选地,取代的苯基,其中所述取代基独立选自一个或多个,优选1-2个下列部分:氘、卤基、氰基、 C_1 - C_7 -烷基、 C_1 - C_7 -烷基氨基、二(C_1 - C_7 -烷基)氨基、 C_1 - C_7 -烷氨基羰基、二(C_1 - C_7 -烷基)氨基羰基、 C_1 - C_7 -烷氧基; (4) 可选地,单或双取代胺;其中所述取代基独立选自下列部分:氘、 C_1 - C_7 -烷基(未取代或取代有一个或多个选自氘、氟、氯、羟基的取代基)、苯磺酰基(未取代或取代有一个或多个,优选一个 C_1 - C_7 -烷基、 C_1 - C_7 -烷氧基、二(C_1 - C_7 -烷基)氨基- C_1 - C_7 -烷氧基); (5) 取代的磺酰基;其中所述取代基选自下列部分: C_1 - C_7 -烷基(未取代或取代有一个或多个选自氘、氟的取代基)、

吡咯烷基(未取代或取代有一个或多个选自氘、羟基、氧代的取代基;特别是一个氧代);(6) 氟、氯;

[0016] R^2 代表氢;

[0017] R^3 代表(1)氢,(2)氟、氯,(3)可选地,取代的甲基,其中所述取代基独立选自一个或多个,优选1-3个下列部分:氘、氟、氯、二甲氨基;

[0018] 除了(S)-吡咯烷-1,2-二羧酸2-酰胺1-({5-[2-(叔丁基)-噻唑-4-基]-4-甲基-噻唑-2-基}-酰胺),

[0019] 或其药学上可接受盐;和(b)至少一种Hsp90抑制剂或其药学上可接受盐。所述组合可用于在治疗增生性疾病中的同步、分开或顺序应用。

[0020] 在优选的实施方式中,本发明的药物组合包括选自(S)-吡咯烷-1,2-二羧酸2-酰胺1-({4-甲基-5-[2-(2,2,2-三氟-1,1-二甲基-乙基)-吡啶-4-基]-噻唑-2-基}-酰胺) (“化合物A”)的式(I)化合物或其药学上可接受盐。

[0021] 本发明的药物组合包括至少一种靶向,减少或抑制Hsp90的固有ATP酶活性和/或通过泛素蛋白酶体通路降解、靶向、减少或抑制Hsp90客户蛋白的化合物。这类化合物称为“热激蛋白90抑制剂”或“Hsp90抑制剂”。适用于本发明的Hsp90抑制剂示例包括但不限于格尔德霉素衍生物、坦螺旋霉素(Tanespimycin)(17-烯丙氨基-17-脱甲氧基格尔德霉素)(也称为KOS-953和17-AAG);根赤壳菌素;6-氯-9-(4-甲氧基-3,5-二甲基吡啶-2-基甲基)-9H-嘌呤-2-胺甲磺酸盐(也称为CNF2024);IPI504;SNX5422;5-(2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-4-(4-吗啉-4-基甲基-苯基)-异恶唑-3-羧酸乙酰胺(AUY922);和(R)-2-氨基-7-[4-氟-2-(6-甲氧基-吡啶-2-基)-苯基]-4-甲基-7,8-二氢-6H-吡啶并[4,3-d]噻唑-5-酮(HSP990)。

[0022] 本发明还涉及一种药物组合物,所述组合物包含式(I)化合物或其药学上可接受盐和至少一种Hsp90抑制剂或其药学上可接受盐。在一个实施方式中,本发明的药物组合物用于治疗增生性疾病。

[0023] 本发明还涉及药物组合物在制备治疗增生性疾病的药物中的应用,所述组合物包含式(I)化合物或其药学上可接受盐和至少一种Hsp90抑制剂或其药学上可接受盐。

[0024] 本发明还涉及在有此需要的对象中治疗增生性疾病的方法,所述方法包括给予所述对象治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受盐、和至少一种Hsp90抑制剂或其药学上可接受盐。根据本发明,式(I)化合物和Hsp90抑制剂可作为单一药物组合物、作为分开的组合物、或顺序给予。

[0025] 本发明还涉及一种药盒,所述药盒包含权利要求1所述的式(I)化合物或其药学上可接受盐和至少一种Hsp90抑制剂或其药学上可接受盐。

附图说明

[0026] 图1显示化合物A针对PIK3CA突变胃癌细胞系HGC-27的抗肿瘤活性。

[0027] 图2显示携带HGC-27的小鼠中载剂和化合物A处理组的平均体重。

[0028] 对于图1和2中的体内测试,携带HGC-27皮下异种移植物的雌性无胸腺小鼠用化合物A(Cmpd A)或载剂按所示剂量和方案处理。处理在肿瘤细胞移植后12天开始,且连续12天。统计肿瘤体积变化,用单因素方差分析,事后邓尼特(post hoc Dunnett's)来进行(* $p < 0.05$ 相比载剂对照)。

[0029] 图3显示以下物质针对PIK3CA突变胃癌细胞HGC-27的抗肿瘤活性: 载剂, 12.5mg/kg 每日一次口服(qd)的单一试剂化合物A, 50mg/kg 每周二次静脉给予(2qw)的单一试剂AUY922, 化合物A与AUY922的组合。数值表示为均值±SEM; 样本大小(n=10只小鼠/组)。(*p<0.05, 相较载剂对照组和单一试剂治疗有显著抑制(曼-怀氏等级和检验, 事后学生纽曼-科伊尔斯检验(Mann-Whitney Rank Sum Test post hoc Student Newman Kuels test))。

[0030] 图4显示携带PIK3CA突变胃癌细胞系HGC-27的小鼠中, 载剂、12.5mg/kg 化合物A、50mg/kg AUY922和25mg/kg 化合物A与50mg/kg AUY922的组合处理组的平均校正体重变化(由关于各单独动物的以百分比表示的测量日体重和第12天初始体重间的比例来表示[二者都通过减去原发性肿瘤重量来校正])。

[0031] 图5显示以下物质针对PIK3CA突变胃癌细胞HGC-27的抗肿瘤活性: 载剂, 25mg/kg 每日一次口服的单一试剂化合物A, 50mg/kg 每周二次静脉给予的单一试剂AUY922, 化合物A与AUY922的组合。数值表示为均值±SEM; 样本大小(n=10只小鼠/组)。(*p<0.05, 相较载剂对照组和单一试剂治疗有显著抑制(曼-怀氏等级和检验, 事后邓恩检验)。

[0032] 图6显示携带PIK3CA突变胃癌细胞系HGC-27的小鼠中, 载剂、25mg/kg 化合物A、50mg/kg AUY922和25mg/kg 化合物A与50mg/kg AUY922的组合处理组的平均校正体重变化(由关于各单独动物的以百分比表示的测量日体重和第12天初始体重间的比例来表示[二者都通过减去原发性肿瘤重量来校正])。

[0033] 图7显示以下物质针对PIK3CA突变胃癌细胞HGC-27的抗肿瘤活性: 载剂, 50mg/kg 每日一次口服的单一试剂化合物A, 50mg/kg 每周二次静脉给予的单一试剂AUY922, 化合物A与AUY922的组合。数值表示为均值±SEM; 样本大小(n=10只小鼠/组)。(*p<0.05, 相较载剂对照组和单一试剂治疗有显著抑制(曼-怀氏等级和检验, 事后学生纽曼-科伊尔斯检验)。

[0034] 图8显示携带PIK3CA突变胃癌细胞系HGC-27的小鼠中, 载剂、50mg/kg 化合物A、50mg/kg AUY922和50mg/kg 化合物A与50mg/kg AUY922的组合处理组的平均校正体重变化(由关于各单独动物的以百分比表示的测量日体重和第12天初始体重间的比例来表示[二者都通过减去原发性肿瘤重量来校正])。

[0035] 图9显示以下物质针对A375黑素瘤肿瘤细胞系的(a) 肿瘤生长分数和(b) 平均体重变化: 载剂/安慰剂(n=5), 40mg/kg 每日一次口服的单一试剂化合物A(n=7), 50mg/kg 每周二次静脉给予的单一试剂AUY922(n=8), 和40mg/kg 每日一次口服化合物A与50mg/kg AUY922的组合(n=5)。

[0036] 发明详述

[0037] 提供下列一般定义以更好理解本发明:

[0038] “卤素”(或“卤基”)表示氟、溴、氯或碘, 特别是氟、氯。卤素取代的基团和部分如由卤素取代的烷基(卤烷基)可以是单、多或全卤化的。

[0039] “杂原子”是碳和氢以外的原子, 优选氮(N)、氧(O)或硫(S), 特别是氮。

[0040] “含碳基团”、部分或分子包含1-7, 优选1-6, 更优选1-4, 最优选1或2个碳原子。碳原子大于1的任何非环含碳基团或部分为直链或支链。

[0041] 前缀“低级”或“C₁-C₇”表示有多至且包括最多7个, 特别是多至且包括最多4个碳原子的基团, 所讨论的基团为线性或者有一个或多个分支的支链。

[0042] “烷基”指直链或支链烷基, 优选代表直链或支链C₁₋₁₂烷基, 特别优选代表直链或

支链 C_{1-7} 烷基；例如甲基，乙基，正或异丙基，正、异、仲或叔丁基，正戊基，正己基，正庚基，正辛基，正壬基，正癸基，正十一基，正十二基，特别优选甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基和异丁基。烷基可以未被取代或取代的。示例性取代基包括但不限于氘、羟基、烷氧基、卤基和氨基。经取代烷基的示例是三氟甲基。环烷基也可以是烷基的取代基。这种情况的一个示例是部分(烷基)-环丙基或烷二基(alkandiyl)-环丙基，如 $-CH_2-$ 环丙基。 C_1-C_7 烷基优选是具有从1个(且包括1个)到多至7个(且包括7个)，优选从1个(且包括1个)到4个(且包括4个)碳原子的烷基，且为线性或分支的；低级烷基优选是丁基如正丁基、仲丁基、叔丁基，丙基如正丙基或异丙基，乙基或优选甲基。

[0043] 其他基团如“烷氧基”、“烷氧基烷基”、“烷氧基羰基”、“烷氧基-羰基烷基”、“烷基磺酰基”、“烷基磺(alkylsulfoxy)”、“烷基氨基”、“卤烷基”的各烷基部分应具有与上述“烷基”定义中所述相同的含义。

[0044] “烷二基”指通过2个不同碳原子结合所述部分的直链或支链烷二基，其优选代表直链或支链 C_{1-12} 烷二基，特别优选代表直链或支链 C_{1-6} 烷二基；例如甲烷二基($-CH_2-$)、1,2-乙烷二基($-CH_2-CH_2-$)、1,1-乙烷二基($(-CH(CH_3)-)$)、1,1-,1,2-,1,3-丙烷二基和1,1-,1,2-,1,3-,1,4-丁烷二基，特别优选甲烷二基、1,1-乙烷二基、1,2-乙烷二基、1,3-丙烷二基、1,4-丁烷二基。

[0045] “烯二基”指通过2个不同碳原子结合所述分子的直链或支链烯二基，其优选代表直链或支链 C_{2-6} 烯二基；例如 $-CH=CH-$ 、 $-CH=C(CH_3)-$ 、 $-CH=CH-CH_2-$ 、 $-C(CH_3)=CH-CH_2-$ 、 $-CH=C(CH_3)-CH_2-$ 、 $-CH=CH-C(CH_3)H-$ 、 $-CH=CH-CH=CH-$ 、 $-C(CH_3)=CH-CH=CH-$ 、 $-CH=C(CH_3)-CH=CH-$ ，特别优选 $-CH=CH-CH_2-$ 、 $-CH=CH-CH=CH-$ 。烯二基可被取代或未取代。

[0046] “环烷基”指饱和或部分饱和、单环、稠合多环或螺多环状碳环，每一碳环具有3至12个环原子。环烷基的示例性实例包括以下部分：环丙基、环丁基、环戊基和环己基。环烷基可未被取代或取代；示例性取代基在烷基的定义中提供，且还可包括烷基本身(如甲基)。部分如 $-(CH_3)$ 环丙基视作取代的环烷基。

[0047] “芳基”指具有6个或更多碳原子的芳族同素环系统(即仅碳作为环形成原子)；芳基优选是具有6-14个环碳原子，更优选6-10个环碳原子的芳族部分，如苯基或萘基，优选苯基。芳基可以未取代或取代有一个或多个，优选多至3个，更优选多至2个取代基，所述取代基独立选自下述未取代或取代的杂环基，特别是吡咯烷基，如吡咯烷，氧代吡咯烷基，如氧代-吡咯烷， C_1-C_7 烷基-吡咯烷基，2,5-二- $(C_1-C_7$ 烷基)吡咯烷基，如2,5-二- $(C_1-C_7$ 烷基)-吡咯烷，四氢呋喃、苯硫基， C_1-C_7 烷基吡唑烷基，吡啶基、 C_1-C_7 烷基哌啶基、哌啶、经氨基或N-单-或N,N-二-[低级烷基、苯基、 C_1-C_7 烷酰基和/或苯基-低级烷基]-氨基取代的哌啶、未取代或经环碳原子结合的N-低级烷基取代的哌啶基、哌嗪、低级烷基哌嗪、吗啉代、硫吗啉代、S-氧-硫吗啉代或S,S-二氧硫吗啉代； C_1-C_7 烷基、氨基- C_1-C_7 烷基、N- C_1-C_7 烷酰基、氨基- C_1-C_7 烷基、N- C_1-C_7 链烷磺酰基-氨基- C_1-C_7 烷基、氨甲酰- C_1-C_7 烷基、[N-单-或N,N-二- $(C_1-C_7$ 烷基)-氨甲酰]- C_1-C_7 烷基、 C_1-C_7 链烷亚磺酰基- C_1-C_7 烷基、 C_1-C_7 链烷磺酰基- C_1-C_7 烷基、苯基、萘基、单-到三- $[C_1-C_7$ 烷基、卤基和/或氰基]-苯基或者单-到三- $[C_1-C_7$ 烷基、卤基和/或氰基]-萘基； C_3-C_8 -环烷基、单-到三- $[C_1-C_7$ 烷基和/或羟基]- C_3-C_8 -环烷基；卤基、羟基、低级烷氧基、低级烷氧基-低级烷氧基、(低级烷氧基)-低级烷氧基-低级烷氧基、卤代- C_1-C_7 烷氧基、苯氧基、萘氧基、苯基-或萘基-低级烷氧基；氨基- C_1-C_7 -

烷氧基、低级链烷酰氧基、苯甲酰氧基、萘甲酰氧基、甲酰 (CHO)、氨基、N-单-或N,N-二-(C₁-C₇-烷基)-氨基、C₁-C₇-链烷酰氨基、C₁-C₇-链烷磺酰氨基、羧基、低级烷氧基羰基,例如:苯基-或萘基-低级烷氧基羰基,如苄氧羰基;C₁-C₇-链烷酰基,如乙酰基、苯甲酰基、萘甲酰基、氨甲酰基、N-单-或N,N-二取代氨甲酰基,如N-单-或N,N-二取代氨甲酰基,其中所述取代基选自低级烷基、(低级烷氧基)-低级烷基和羟基-低级烷基;脞基、胍基、脲基、巯基、低级烷基硫代、苯基-或萘基硫代、苯基-或萘基-低级烷基硫代、低级烷基-苯基硫代、低级烷基-萘基硫代、卤代-低级烷基巯基、硫代(-SO₃H)、低级链烷磺酰、苯基-或萘基-磺酰、苯基-或萘基-低级烷磺酰基、烷基苯磺酰、卤代-低级烷磺酰基,如三氟甲烷磺酰;磺酰胺基、苯并磺酰胺基、叠氮基、叠氮-C₁-C₇-烷基,特别是叠氮甲基、C₁-C₇-链烷磺酰、氨磺酰、N-单-或N,N-二-(C₁-C₇-烷基)-氨磺酰、吗啉磺酰基、硫代吗啉磺酰、氰基和硝基;其中上述作为取代烷基(以及本文提及的取代芳基、杂环基等)的取代基或部分取代基的各苯基或萘基(也在苯氧基或萘氧基中)本身未取代或取代有一个或多个,例如多至3个,优选1或2个独立选自以下的取代基:卤基、卤代-低级烷基如三氟甲基、羟基、低级烷氧基、叠氮基、氨基、N-单-或N,N-二-(低级烷基和/或C₁-C₇-烷酰基)-氨基、硝基、羧基、低级烷氧基羰基、氨甲酰基、氰基和/或氨磺酰。

[0048] “杂环基”指杂环基团,其为不饱和(=环中携带最高可能数的共轭双键)、饱和或部分饱和且优选为单环或在本发明更广泛方面为二环、三环或螺环;具有3-24个,更优选4-16个,最优选5-10个且最优选5或6个环原子;其中一个或多个,优选1-4个,尤其1或2个环原子是杂原子(因而剩余环原子是碳)。该键合环(即连接分子的环)优选具有4-12个,尤其5-7个环原子。术语杂环基还包括杂芳基。杂环基团(杂环基)可未取代或取代有一个或多个,尤其1-3个取代基,所述取代基独立选自上文对于取代烷基所定义的取代基和/或选自一个或多个以下取代基:氧代(=O)、硫代羰基(=S)、亚氨基(=NH)、亚氨基-低级烷基。此外,杂环基特定是选自下组的杂环基团:环氧乙烷基、氮杂环丙烷基(aziriny1)、氮丙啶基、1,2-氧硫杂环戊基、噻吩基(=苯硫基)、呋喃基、四氢呋喃基、吡喃基、硫代吡喃基、噻蒎基、异苯并呋喃基、苯并呋喃基、色烯基、2H-吡咯基、吡咯基、吡咯啉基、吡咯烷基、咪唑基、咪唑烷基、苯并咪唑基、吡唑基、吡嗪基、吡唑烷基、噻唑基、异噻唑基、二噻唑基、恶唑基、异恶唑基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、哌啶基、哌嗪基、哒嗪基、吗啉基、硫代吗啉基、(S-氧或S,S-二氧)-硫代吗啉基、吡嗪基、氮杂环庚烷基(azepany1)、二氮杂环庚烷基,特别是1,4-二氮杂环庚烷基、异吡啶基、3H-吡啶基、吡啶基、苯并咪唑基、香豆基、吡啶基、三唑基、四唑基、嘌呤基、4H-喹啉基、异喹啉基、喹啉基、四氢喹啉基、四氢异喹啉基、十氢喹啉基、八氢异喹啉基、苯并呋喃基、二苯并呋喃基、苯并噻吩基、二苯并噻吩基、酞嗪基、萘啶基、喹啉基、喹啉基、喹啉基、噻吩基、蝶啶基、呋喃基、β-呋喃基、菲啶基、吡啶基、萘嵌间二氮杂苯基、菲罗啉基、呋喃基、吩嗪基、吩噻嗪基、吩恶嗪基、色烯基、异苯并二氢吡喃基、苯并二氢吡喃基、苯并[1,3]二氧杂环戊烯-5-基和2,3-二氢-苯并[1,4]二氧杂环己烯-6-基,这些基团中的每一个未取代或取代有一个或多个,优选多至3个取代基,所述取代基选自上文就取代芳基所提及的那些和/或选自一个或多个以下取代基:氧代(=O)、硫代羰基(=S)、亚氨基(=NH)、亚氨基-低级烷基。

[0049] “芳基烷基”指经烷基如甲基或乙基结合分子的芳基,优选苯乙基或苄基,特别是苄基。类似地,环烷基-烷基和杂环基-烷基代表经烷基结合分子的环烷基或经烷基结合分

子的杂环基。各情况中,芳基、杂环基、环烷基和烷基可如上所述被取代。

[0050] “盐”(以“其盐”表示)可单独或以与游离化合物如式(I)化合物的混合物形式存在,且优选为药学上可接受盐。从有碱性氮原子的式(I)化合物,优选使用有机或无机酸式来形成(I)化合物的所述盐,例如作为酸加成盐。例如,合适的无机酸是氢卤酸,如盐酸、硫酸或磷酸。例如,合适的有机酸是羧酸或磺酸,如富马酸或甲磺酸。出于分离或纯化目的,还能使用药学上不可接受的盐,例如苦味酸盐或高氯酸盐。对于治疗应用,仅使用药学上可接受盐或游离化合物(在可以药物制品形式应用时),因此这些是优选的。考虑到游离形式的新型化合物与采用其盐形式的那些化合物,包括例如在纯化或鉴定新型化合物中能用作中间体的那些盐之间的密切关系,应理解上下文中提及游离化合物也指对应盐(在适当和有利时)。式(I)化合物的盐优选药学上可接受盐;合适的形成反离子的药学上可接受盐在本领域已知。

[0051] “组合”指一个单位剂型的固定组合,或联合给药的非固定组合,后者中式(I)化合物和组合伴侣(如下述另一药物,也称为“治疗剂”或“助剂”)可同时独立给药或在时间间隔内分开给药,特别是当这些间隔使组合伴侣能显示合作如协同效应时。本文所用的术语“联合给药”等意在涵盖向单个有此需要的对象(如患者)给予选定组合伴侣,旨在包括试剂不必需通过相同给药途径或同时给药的治疗方案。术语“固定组合”指活性成分如式(I)化合物和组合伴侣,均以单个实体或剂量形式同时给予患者。术语“非固定组合”或“多组分药盒(kit of parts)”指活性成分如式(I)化合物和组合伴侣,均作为分不开的实体同步、同时或顺序(无特定时间限制)给予患者,其中所述给药在患者体内提供治疗有效水平的所述2种化合物。后者还用于鸡尾酒疗法,例如给予3种或更多活性成分。

[0052] “治疗”包括预防(防止)和治疗性处理以及延迟疾病或病症进展。术语“预防”指防止涉及增生性疾病的疾病发生或复发。本文所用的术语“延迟进展”指将所述组合给予处于待治疗增生性疾病前期或早期的患者,其中患者诊断为例如相应疾病的预形式,或患者处于例如医学治疗中的某一状态,或由意外导致的状态,在该状态下可能相应疾病会发展。

[0053] “对象”意在包括动物。对象示例包括哺乳动物,例如人、狗、牛、马、猪、绵羊、山羊、猫、小鼠、兔、大鼠和转基因非人动物。在某些实施方式中,所述对象是人,例如患有、有风险患有、或潜在能患有脑肿瘤疾病的人。特别优选所述对象是人。

[0054] “药物制品”或“药物组合物”指含有至少一种待给予哺乳动物如人的治疗化合物的混合物或溶液,从而防止、治疗或控制影响哺乳动物的特定疾病或病症。

[0055] “共给予”、“共给药”或“联合给药”等意在涵盖向单一患者给予选定治疗剂,旨在包括试剂不必需通过相同给药途径或同时给药的治疗方案。

[0056] “药学上可接受”指在合理医学判断范围内的那些化合物、物质、组合物和/或剂型,其适合接触哺乳动物特别是人的组织,而不引起过度毒性、刺激、过敏反应和其他问题并发症,与合理的效益/风险比相称。

[0057] “治疗有效”优选涉及针对增生性疾病进展的治疗有效量,或更广泛意义上,预防有效量。

[0058] “单一药物组合物”指配制用于将有效量的2种治疗剂递送给患者的单个载体或载剂。单个载剂设计成递送有效量的各试剂,以及药学上可接受载体或赋形剂。在一些实施方式中,所述载剂是片剂、胶囊剂、丸剂或贴剂。在其他实施方式中,所述载剂是溶液或混悬

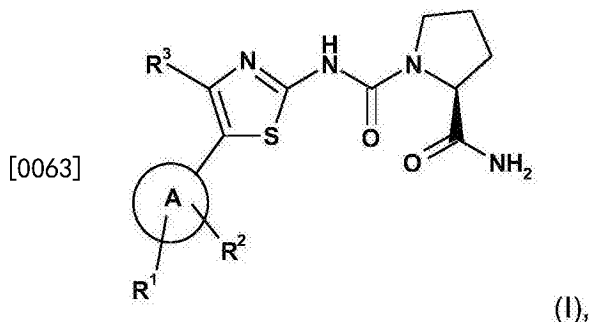
液。

[0059] “剂量范围”指特定试剂可接受变化量的上限和下限。通常,采用指定范围内任何量的试剂剂量能给予接受治疗的患者。

[0060] 术语“约”或“大致”通常指给定值或范围的20%以内,更优选10%以内,最优选仍在5%以内。或者,特别是在生物学系统中,术语“约”指给定值的大致对数范围(即数量级)内,优选因子2。

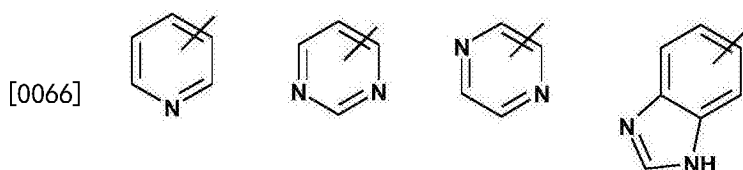
[0061] 本发明涉及一种药物组合,所述组合包括(a)下述式(I)化合物,或其药学上可接受盐;和(b)至少一种Hsp90抑制剂或其药学上可接受盐。所述组合可同时、分开或顺序用于治疗增生性疾病。

[0062] 适用于本发明的特定2-甲酰胺环氨基尿素衍生化合物、其制备和包含其的合适药物制剂描述于W0 2010/029082且包括式(I)化合物



[0064] 其中

[0065] A代表选自下组的杂芳基:



[0067] R^1 代表下列取代基之一:(1)未取代或取代的,优选取代的 C_1 - C_7 -烷基,其中所述取代基独立选自一个或多个,优选1-9个下列部分:氘、氟,或者1-2个下列部分 C_3 - C_5 -环烷基;(2)可选地,取代的 C_3 - C_5 -环烷基,其中所述取代基独立选自一个或多个,优选1-4个下列部分:氘、 C_1 - C_4 -烷基(优选甲基)、氟、氰基、氨基羰基;(3)可选地,取代的苯基,其中所述取代基独立选自一个或多个,优选1-2个下列部分:氘、卤基、氰基、 C_1 - C_7 -烷基、 C_1 - C_7 -烷基氨基、二(C_1 - C_7 -烷基)氨基、 C_1 - C_7 -烷氨基羰基、二(C_1 - C_7 -烷基)氨基羰基、 C_1 - C_7 -烷氧基;(4)可选地,单或双取代胺;其中所述取代基独立选自下列部分:氘、 C_1 - C_7 -烷基(未取代或取代有一个或多个选自氘、氟、氯、羟基的取代基)、苯磺酰基(未取代或取代有一个或多个,优选一个 C_1 - C_7 -烷基、 C_1 - C_7 -烷氧基、二(C_1 - C_7 -烷基)氨基- C_1 - C_7 -烷氧基);(5)取代的磺酰基;其中所述取代基选自下列部分: C_1 - C_7 -烷基(未取代或取代有一个或多个选自氘、氟的取代基)、吡咯烷基(未取代或取代有一个或多个选自氘、羟基、氧代的取代基;特别是一个氧代);(6)氟、氯;

[0068] R^2 代表氢;

[0069] R^3 代表(1)氢,(2)氟、氯,(3)可选地,取代的甲基,其中所述取代基独立选自一个或多个,优选1-3个下列部分:氘、氟、氯、二甲氨基;

[0070] 除了(S)-吡咯烷-1,2-二羧酸2-酰胺1-(5-[2-(叔丁基)-噻啉-4-基]-4-甲基-噻唑-2-基)-酰胺)。

[0071] 式(I)化合物定义中所用的基团和符号具有W0 2010/029082中所公开的含义,所述专利通过引入全文纳入。

[0072] 如W02010/029082所公开,发现这些式(I)的2-甲酰胺环氨基尿素衍生化合物对磷脂酰肌醇3-激酶(或PI3K)有显著抑制活性。这些式(I)的化合物具有作为PI3K抑制剂的有利药理学性质,且相较 β 和/或 δ 和/或 γ 亚型,显示出对PI3-激酶 α 亚型的高选择性。

[0073] 用于本发明的优选式(I)化合物是W02010/029082特定描述的化合物。本发明的特别优选化合物是(S)-吡咯烷-1,2-二羧酸2-酰胺1-(4-甲基-5-[2-(2,2,2-三氟-1,1-二甲基-乙基)-吡啶-4-基]-噻唑-2-基)-酰胺(化合物A)或其药学上可接受盐。(S)-吡咯烷-1,2-二羧酸2-酰胺1-(4-甲基-5-[2-(2,2,2-三氟-1,1-二甲基-乙基)-吡啶-4-基]-噻唑-2-基)-酰胺)的合成描述于W02010/029082的实施例15。

[0074] 本发明的药物组合包括至少一种靶向,减少或抑制Hsp90的固有ATP酶活性和/或通过泛素蛋白酶体通路降解、靶向、减少或抑制Hsp90客户蛋白的化合物。这类化合物称为“热激蛋白90抑制剂”或“Hsp90抑制剂”。

[0075] 合适的Hsp90抑制剂包括但不限于:

[0076] (a) 格尔德霉素衍生物、坦螺旋霉素(17-烯丙氨基-17-脱甲氧基格尔德霉素)(也称为KOS-953和17-AAG),可获自LLC(密苏里州圣路易斯)的西格玛奥德里奇公司(Sigma-Aldrich Co),并公开于美国专利号4,261,989,出版日期1981年4月14日,所述专利通过引用纳入本申请,和其他格尔德霉素相关化合物;

[0077] (b) 根赤壳菌素,可获自LLC(密苏里州圣路易斯)的西格玛奥德里奇公司;

[0078] (c) 6-氯-9-(4-甲氧基-3,5-二甲基吡啶-2-基甲基)-9H-嘌呤-2-胺甲磺酸盐(也称为CNF2024)(康福玛治疗公司(Conforma Therapeutics Corp.));

[0079] (d) IPI504;

[0080] (e) SNX5422;

[0081] (f) 5-(2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-4-(4-吗啉-4-基甲基-苯基)-异恶唑-3-羧酸乙酰胺(AUY922),其结构和生产过程公开于PCT申请号W004/072051,2004年8月26日发表,所述申请通过引用在此纳入本申请;和

[0082] (g) (R)-2-氨基-7-[4-氟-2-(6-甲氧基-吡啶-2-基)-苯基]-4-甲基-7,8-二氢-6H-吡啶并[4,3-d]噻啉-5-酮(HSP990),其结构和生产过程公开于美国专利申请公开号2007-0123546,2007年5月31日发表,所述申请通过引用在此纳入本申请;

[0083] 和其药学上可接受盐。

[0084] 用于本发明的优选Hsp90抑制剂是5-(2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-4-(4-吗啉-4-基甲基-苯基)-异恶唑-3-羧酸乙酰胺(AUY922)和(R)-2-氨基-7-[4-氟-2-(6-甲氧基-吡啶-2-基)-苯基]-4-甲基-7,8-二氢-6H-吡啶并[4,3-d]噻啉-5-酮(HSP990)或其药学上可接受盐。

[0085] 如同其药学上可接受盐,也包括上述化合物的对应外消旋物、非对映异构体、对映体、互变异构体以及对应晶型变型(存在时),例如其中公开的溶剂合物、水合物和多晶型物。用作本发明组合物中活性成分的化合物可如所引用文献所述分别制备和给予。本发明

还包括多于2种上述单独活性成分的组合,即本发明范围内的药物组合能包括3种活性成分或更多。

[0086] 在本发明的一个实施方式中,所述药物组合包括(I)化合物即(S)-吡咯烷-1,2-二羧酸2-酰胺1-({4-甲基-5-[2-(2,2,2-三氟-1,1-二甲基-乙基)-吡啶-4-基]-噻唑-2-基}-酰胺)或其药学上可接受盐,和选自下组的至少一种Hsp90抑制剂:5-(2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-4-(4-吗啉-4-基甲基-苯基)-异恶唑-3-羧酸乙酰胺(AUY922)、(R)-2-氨基-7-[4-氟-2-(6-甲氧基-吡啶-2-基)-苯基]-4-甲基-7,8-二氢-6H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-5-酮(HSP990),或其药学上可接受盐。

[0087] 在本发明的一个实施方式中,所述药物组合包括(I)化合物即(S)-吡咯烷-1,2-二羧酸2-酰胺1-({4-甲基-5-[2-(2,2,2-三氟-1,1-二甲基-乙基)-吡啶-4-基]-噻唑-2-基}-酰胺)或其药学上可接受盐,和至少一种Hsp90抑制剂5-(2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-4-(4-吗啉-4-基甲基-苯基)-异恶唑-3-羧酸乙酰胺(AUY922)或其药学上可接受盐。

[0088] 现在意外发现所述式(I)化合物(α -特异性PI3K抑制剂)和至少一种Hsp90抑制剂的组合具有有益治疗特性,使其能特别用于治疗增生性疾病,特别是癌症。

[0089] 一方面,本发明提供一种药物组合,所述组合包括(a)式(I)化合物,特别是化合物(S)-吡咯烷-1,2-二羧酸2-酰胺1-({4-甲基-5-[2-(2,2,2-三氟-1,1-二甲基-乙基)-吡啶-4-基]-噻唑-2-基}-酰胺)或其药学上可接受盐,和(b)至少一种Hsp90抑制剂或其药学上可接受盐,用于治疗增生性疾病,特别是癌症。

[0090] 一方面,本发明提供药物组合在制备治疗增生性疾病的药物中的应用,所述组合包括式(I)化合物或其药学上可接受盐和至少一种Hsp90抑制剂或其药学上可接受盐。

[0091] 一方面,本发明还涉及在有此需要的对象中治疗增生性疾病的方法,所述方法包括给予所述对象治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受盐、和至少一种Hsp90抑制剂或其药学上可接受盐。根据本发明,式(I)化合物和Hsp90抑制剂可作为单一药物组合物、作为分开的组合物、或顺序给予。

[0092] 本发明优选用于治疗患有增生性疾病如癌的哺乳动物,特别是人。

[0093] 为证明式(I)化合物和至少一种Hsp90抑制剂的组合特别适合有效治疗增生性疾病,具有良好治疗范围和其他优势,临床试验能以技术人员已知的方式实施。

[0094] 合适的临床研究是例如在增生性疾病患者中的开放标签、剂量递增研究。这些研究特别证明本发明组合中活性成分的协同作用。所述有益效果能通过本领域技术人员已知的这些研究结果直接确定。这类研究特别适于比较使用活性成分的单一疗法与本发明组合的效果。优选地,试剂(a)的剂量上升直至达到最大耐受剂量,试剂(b)用固定剂量给药。或者,试剂(a)以固定剂量给药而试剂(b)剂量上升。各患者每日或间歇性接受试剂(a)的剂量。所述治疗功效能在这类研究中确定,如12、18或24周后每6周评估症状评分。

[0095] 给予本发明的药物组合不仅产生有益效果,如协同治疗效果,例如涉及缓解、延迟疾病进展或抑制症状,还产生进一步令人惊讶的有益效果,如与仅应用本发明组合中所用试剂(a)或试剂(b)之一的单一疗法相比,副作用更少、生命质量改善或发病率降低。

[0096] 另一益处是能使用更低剂量的本发明组合的活性成分,例如不仅所需剂量通常更小,而且应用频率更低,这可能减少副作用发生率或严重程度。这与待治疗患者的期望和要求一致。

[0097] 本发明的一个目标是提供一种药物组合物,所述组合物包含对靶向或预防增生性疾病共同治疗有效的量的本发明各组合伴侣试剂(a)和试剂(b)。一方面,本发明涉及一种药物组合物,所述组合物包含式(I)化合物或其药学上可接受盐和至少一种Hsp90抑制剂或其药学上可接受盐。在一个实施方式中,本发明的药物组合物用于治疗增生性疾病。根据本发明,试剂(a)和试剂(b)可在单一药物组合物中共同给予,或在一个联合单位剂型或二个分开的单位剂型中分开给予,或顺序给予。所述单位剂型还可以是固定组合。

[0098] 本发明的用于分开给予试剂(a)和试剂(b)或以固定组合(即含至少2个组合伴侣(a)和(b)的单一盖仑制剂组合物)给予的药物组合物可以本身已知的方式制备并且适合经肠例如口服或直肠、局部、和胃肠外给予对象,包括哺乳动物(温血动物),如人,包括治疗有效量的至少一个单独药理活性组合伴侣,如上所示,或者联合一种或多种药学上可接受载体或稀释剂,特别适于经肠或胃肠外应用。合适的药物组合物包含例如约0.1%-约99.9%,优选约1%-约60%的活性成分。

[0099] 用于经肠或胃肠外给药的联合治疗所用药物组合物是例如采用单位剂型的那些,如糖衣片剂、片剂、胶囊或栓剂、安瓶、注射溶液或注射混悬液。局部给药是例如给予皮肤或眼睛,如采用洗剂、凝胶、软膏剂或乳膏形式,或者经鼻或栓剂形式。除非另有说明,这些以本身已知的方式制备,例如通过常规混合、粒化、包糖衣、溶解或冻干工艺。应理解单独剂量的各剂型所含试剂(a)或试剂(b)的单位内容物本身不需形成有效量,因为所需有效量能通过给予多个剂量单位来达到。

[0100] 药物组合物可包括一种或多种药学上可接受载体或稀释剂,且可通过混合1种或2种组合伴侣与药学上可接受载体或稀释剂用常规方式生产。药学上可接受稀释剂的示例包括但不限于乳糖、右旋糖、甘露醇、和/或甘油、和/或润滑剂和/或聚乙二醇。药学上可接受粘合剂的示例包括但不限于硅酸镁铝、淀粉如玉米、小麦或米淀粉、明胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和/或聚乙烯吡咯烷酮,如需要,药学上可接受崩解剂包括但不限于淀粉、琼脂、藻酸或其盐如藻酸钠、和/或泡腾混合物、或吸附剂、染料、增味剂和甜味剂。还可能使用可胃肠外给药形式或输液形式的本发明化合物。所述药物组合物可以无菌和/或可包括赋形剂例如防腐剂、稳定剂、润湿剂和/或乳化剂、增溶剂、调节渗透压的盐和/或缓冲液。

[0101] 特定地,治疗有效量的本发明组合的各组合伴侣可同时或顺序或以任何顺序给药,所述组分可单独或作为固定组合给药。例如,本发明的预防或治疗增生性疾病的方法可包括:同时或以任何顺序依序,以共同治疗有效量,优选以协同有效量,例如以对应于本文所述的量的每日或间歇性剂量(i)给予采用游离或药学上可接受盐形式的第一试剂(a);和(ii)给予采用游离或药学上可接受盐形式的试剂(b)。本发明组合的各组合伴侣可在治疗过程中的不同时间分开给药,或以分开或单一组合形式同时给药。此外,术语“给药”还包括使用在体内如此转变成组合伴侣的组合伴侣前药。因此,应理解本发明包括所有这类同步或交替治疗的方案且也可相应地解释术语“给药”。

[0102] 本发明组合所用各组合伴侣试剂(a)或试剂(b)的有效剂量可根据所用特定化合物或药物组合物、给药模式、待治疗病症、待治疗病症的严重程度而变化。因此,本发明组合的剂量方案根据多种因素进行选择,所述因素包括患者的类型、物种、年龄、重量、性别和医学状况;待治疗病症的严重程度;给药途径;患者的肾和肝功能;和所用特定化合物。掌握普通技术的医师、临床医生或兽医能容易确定和处方防止、对抗或阻滞病症发展所需的有效

量药物。在产生功效范围内实现药物浓度的最优精度需要基于药物对靶位点可用性动力学的方案。这包括考虑药物的分布、平衡和清除。

[0103] 出于本发明目的,治疗有效剂量一般是以单一或分开剂量给予用药对象的每日总剂量。式(I)化合物给予用药对象的日剂量范围可为例如约0.05-约50mg/kg接受者体重,优选约0.1-25mg/kg接受者体重,更优选约0.5-10mg/kg接受者体重。对于70kg人的给药,式(I)化合物的剂量范围最优选每日约35-700mg。试剂(b)给予用药对象的日剂量范围可为例如约0.001-1000mg/kg接受者体重,更优选约1.0-30mg/kg接受者体重。剂量单位组合物可包含所述量的其约数以补足日剂量。

[0104] 另一益处是能使用更低剂量的本发明组合的活性成分,例如不仅所需剂量通常更小,而且应用频率更低,或能用于减少副作用发生率。这与待治疗患者的期望和要求一致。

[0105] 式(I)化合物和HSP90抑制剂的组合能单独使用或与至少一种其他药学活性化合物联用于这些病症。这些活性化合物能与相同药物制剂联合或采用“多组分药盒”联合制剂的形式,在此意义上,所述组合伴侣可独立给药或通过使用有不同组合伴侣量的不同固定组合,即同时或在不同时间点给药。于是,多组分药盒的部分能例如同时或按时间顺序交错给药,即在不同时间点和对于多组分药盒的任何部分具有相等或不同的时间间隔。可引用与式(I)化合物和至少一种HSP90抑制剂的组合联用的化合物非限制性例子是细胞毒性化疗药物,如阿那曲唑、盐酸阿霉素、氟他胺、地塞米松、多西他赛、顺铂、紫杉醇等。此外,嘧啶基氨基苯甲酰胺化合物和HSP90抑制剂的组合能联合其他信号转导抑制剂或其他癌基因靶向药物,预期会产生显著协同作用。

[0106] 本发明的组合特别用于治疗增生性疾病。术语“增生性疾病”包括但不限于癌症、肿瘤、增生、再狭窄、心脏肥厚、免疫紊乱和炎症。

[0107] 可用本发明组合治疗的增生性疾病示例是例如癌症,包括例如肉瘤;肺癌;支气管癌;前列腺癌;乳腺癌(包括散发性乳腺癌和Cowden病患者);胰腺癌;胃肠癌或胃癌;结肠癌;直肠癌;结直肠腺瘤;甲状腺癌;肝癌;肝内胆道癌;肝细胞癌;肾上腺癌;胃癌;胶质瘤;成胶质细胞瘤;子宫内膜癌;肾癌;肾盂癌;膀胱癌;子宫体癌;子宫颈癌;阴道癌;卵巢癌;多发性骨髓瘤;食道癌;白血病;急性骨髓性白血病;慢性骨髓性白血病;淋巴细胞性白血病;骨髓性白血病;脑癌;口腔及咽部癌;喉癌;小肠癌;非霍奇金淋巴瘤;黑素瘤;结肠绒毛腺瘤;瘤形成;上皮性瘤形成;淋巴瘤;乳腺癌;基底细胞癌;鳞状细胞癌;光化性角化病;颈部或头部肿瘤;真性红细胞增多症;原发性血小板增多症;骨髓纤维化伴髓样化生;和瓦尔登-施特伦病(Walden stroem disease)。

[0108] 其他示例包括真性红细胞增多症、原发性血小板增多症、骨髓纤维化伴髓样化生、哮喘、COPD、ARDS、吕弗勒综合症、嗜酸性粒细胞肺炎、寄生虫(特别是后生动物)感染(包括热带嗜酸粒细胞增多症)、支气管肺曲菌病、结节性多动脉炎(包括变应性肉芽肿性血管炎)、嗜酸细胞肉芽肿、影响药物反应引起的气道的嗜酸性粒细胞相关疾病、牛皮癣、接触性皮炎、特应性皮炎、斑秃、多形性红斑、疱疹样皮炎、硬皮病、白癜风、超敏性血管炎、荨麻疹、大疱性类天疱疮、红斑狼疮、天疱疮、获得性大疱性表皮松解、自身免疫血液病(如溶血性贫血、再生障碍性贫血、纯红细胞贫血和特发性血小板减少)、全身性红斑狼疮、多软骨炎、硬皮病、韦格纳肉芽肿病、皮炎、慢性活动性肝炎、重症肌无力、史蒂芬森症候群、特发性口炎性腹泻、自身免疫性炎症性肠病(如溃疡性结肠炎和克罗恩氏病)、内分泌眼病、格雷夫

斯病、肉状瘤病,肺泡炎、慢性过敏性肺炎、多发性硬化、原发性胆汁性肝硬化、葡萄膜炎(前葡萄膜炎和后葡萄膜炎)、间质性肺纤维化、银屑病性关节炎、肾小球性肾炎、心血管疾病、动脉粥样硬化、高血压、深静脉血栓形成、中风、心肌梗塞、不稳定型心绞痛、血栓栓塞,肺栓塞、溶血栓性病、急性动脉缺血、外周血栓性闭塞、和冠状动脉疾病、再灌注损伤、视网膜病如糖尿病视网膜病变或高压氧诱发的视网膜病变、表征为高眼内压或眼房水分泌的病症,如青光眼。

[0109] 在一个实施方式中,由本发明组合治疗的增生性疾病是能通过抑制HSP90和/或PI3K来有益治疗的癌症,包括例如胃癌、肺癌和支气管癌;前列腺癌;乳腺癌;胰腺癌;结肠癌;直肠癌;甲状腺癌;肝癌和肝内胆道癌;肾癌和肾盂癌;膀胱癌;子宫体癌;子宫颈癌;卵巢癌;多发性骨髓瘤;食道癌;急性骨髓性白血病;慢性骨髓性白血病;淋巴细胞性白血病;骨髓性白血病;脑癌;口腔及咽部癌;喉癌;小肠癌;非霍奇金淋巴瘤;黑素瘤;和结肠绒毛腺瘤。

[0110] 在一个实施方式中,由本发明组合治疗的增生性疾病是食道癌、胃肠癌或胃癌。

[0111] 提及肿瘤、肿瘤疾病、肉瘤、癌或癌症时,也任选地或另外暗指在原器官或组织和/或任何其他位置的转移,而无论肿瘤和/或转移的位置如何。

[0112] 本发明组合特别用于治疗增生性疾病,特别是癌症和其他恶性肿瘤,其由磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)尤其是PI3K的 α 亚基、和/或Hsp90(或取决于PI3K或Hsp90的那些)介导。增生性疾病可包括显示PI3K α 过表达或扩增、PIK3CA体细胞突变或者PTEN种系突变或体细胞突变或者p85突变和易位(用于上调p85-p110复合体)的那些。

[0113] 在一个实施方式中,本发明涉及治疗增生性疾病的方法,所述方法包括给予所述对象治疗有效量的以下物质:选自(S)-吡咯烷-1,2-二羧酸2-酰胺1-({4-甲基-5-[2-(2,2,2-三氟-1,1-二甲基-乙基)-吡啶-4-基]-噻唑-2-基}-酰胺)的式(I)化合物(化合物A)或其药学上可接受盐,和选自下组的至少一种Hsp90抑制剂:格尔德霉素衍生物、坦螺旋霉素(17-烯丙氨基-17-脱甲氧基格尔德霉素)(也称为KOS-953和17-AAG);根赤壳菌素;6-氯-9-(4-甲氧基-3,5-二甲基吡啶-2-基甲基)-9H-嘌呤-2-胺甲磺酸盐(也称为CNF2024);IPI504;SNX5422;5-(2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-4-(4-吗啉-4-基甲基-苯基)-异恶唑-3-羧酸乙酰胺(AUY922);和(R)-2-氨基-7-[4-氟-2-(6-甲氧基-吡啶-2-基)-苯基]-4-甲基-7,8-二氢-6H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-5-酮(HSP990)或其药学上可接受盐。

[0114] 本发明还涉及一种药盒,所述药盒包括式(I)化合物,特别是(S)-吡咯烷-1,2-二羧酸2-酰胺1-({4-甲基-5-[2-(2,2,2-三氟-1,1-二甲基-乙基)-吡啶-4-基]-噻唑-2-基}-酰胺)或其药学上可接受盐,和至少一种Hsp90抑制剂或其药学上可接受盐,以及药品说明书或其他标签,其包括治疗增生性疾病的指导。

[0115] 本发明还涉及一种药盒,所述药盒包括式(I)化合物,特别是(S)-吡咯烷-1,2-二羧酸2-酰胺1-({4-甲基-5-[2-(2,2,2-三氟-1,1-二甲基-乙基)-吡啶-4-基]-噻唑-2-基}-酰胺)或其药学上可接受盐,和药品说明书或其他标签,其包括通过共给予至少一种Hsp90抑制剂或其药学上可接受盐来治疗增生性疾病的指导。

[0116] 下列实施例阐明上述发明;然而,它们不意在以任何方式限制本发明。本发明药物组合的有益效果还能通过相关领域技术人员已知的其他测试模型来确定。

[0117] 实施例1-化合物A在雌性无胸腺裸小鼠的HGC-27胃癌异种移植物模型中的效果

[0118] 在雌性Hsd:无胸腺Nude-FoxN1tm裸小鼠中进行实验,治疗开始时约为8-12周龄。所有动物购自哈伦公司(Harlan,马萨诸塞州南伊斯顿)且在优化卫生条件下饲养于顶部过滤微隔离笼内(每笼最多5只动物),可随意获得食物和水。

[0119] HGC-27细胞是有PIK3CA突变(c1624G>A,p.E542K)和PTEN缺失的人胃癌细胞,所述细胞在含1%非必需氨基酸、有10%热灭活FCS的MEM培养基中生长,并在5%CO₂加湿空气中37℃孵育。细胞培养试剂购自英杰公司(Invitrogen,加利福尼亚州卡尔斯巴德)。

[0120] 通过将处于200μl (100μl PBS+100μl基质胶)中的5x10⁶细胞(产品货号354234,马萨诸塞州贝德福德的BD生物科学(BD Bioscience))皮下注入动物右侧腋下来体内建立HGC-27肿瘤。当肿瘤达到约230mm³的平均大小时(细胞注射后第12天)开始功效实验。

[0121] 化合物A在0.5%甲基纤维素(MC)中配制。将80mg化合物A加入16ml 0.5%MC,随后搅拌/涡旋并在浴槽式超声发生器中超声处理1h以获得5mg/ml均匀悬液。0.5%MC用于稀释5mg/ml溶液至2.5mg/ml和1.25mg/ml以给药。化合物A或载剂以10ml/kg体积口服给药。此悬液在室温稳定一周。

[0122] AUY922甲磺酸盐在D5水中配制。游离碱化合物的校正因子是1.21。为制备50mg/kg游离碱AUY922,将60.5mg AUY922甲磺酸盐加入5.0ml D5水,随后在水浴超声发生器中超声处理直到该溶液清澈。AUY922以5ml/kg体积每周二次静脉给药(i.v.)。每次新鲜制备AUY922。

[0123] 肿瘤体积用卡尺测量并根据下式确定:长度x直径²x π/6。抗肿瘤活性表示为T/C%,其根据下式确定:(所治疗动物的平均肿瘤体积变化/对照动物的平均肿瘤体积变化)x 100。消退(%)根据下式计算:((治疗结束时的平均肿瘤体积-治疗开始时的平均肿瘤体积)/治疗开始时的平均肿瘤体积)x100。每周二次记录体重和肿瘤体积。

[0124] 适当时,数据表示为均值±SEM。对于所有测试,显著性水平设为p<0.05。对于肿瘤体积,治疗组和载剂对照组之间的比较用单因素方差分析然后邓尼特检验完成。治疗组之间的肿瘤体积比较用克罗斯考尔-瓦里斯单因素方差分析事后学生纽曼-科伊尔斯检验或邓恩检验完成。第一实验中,化合物A以12.5mg/kg、25mg/kg和50mg/kg剂量每日口服给予HGC-27皮下异种移植物、肿瘤携带裸小鼠。载剂对照由接受每日口服给药10ml/kg 0.5%MC和每周二次静脉给药5ml/kg D5W的动物组成。

[0125] 以12.5mg/kg、25mg/kg和50mg/kg每日一次口服给予的化合物A分别产生39.4%、35.5%和7.1%的T/C%(图1)。以50mg/kg游离碱剂量每周二次给予的AUY922产生60.5%的T/C%(图3)。12.5mg/kg化合物A和50mg/kg游离碱的AUY922的组合产生16.6%的T/C%(图3)。25mg/kg化合物A和50mg/kg游离碱的AUY922的组合引起29.48%肿瘤消退(图5);50mg/kg化合物A和50mg/kg游离碱的AUY922的组合引起85.1%肿瘤消退(图7)。第23天是肿瘤测量的最后一天。

[0126] 相较载剂治疗组,50mg/kg剂量的化合物A产生统计上显著的抗肿瘤效果(p<0.05, ANOVA,事后邓尼特检验)。(见图1)。以12.5、25和50mg/kg每日一次口服给予的化合物A相较载剂(1309±169mm³的平均肿瘤体积变化)分别产生515±85mm³、465±111mm³、和93±77mm³的平均肿瘤体积变化(p<0.05, ANOVA和事后邓尼特检验)(见图1)。AUY922产生792.2±159mm³的平均肿瘤体积变化。

[0127] 以12.5、25和50mg/kg每日一次口服给予的化合物A与以50mg/kg每周二次给予的

AUY922的组合分别产生 $217 \pm 68 \text{mm}^3$ ($p < 0.05$, 相较载剂和2种单一试剂, 通过克罗斯考尔-瓦里斯ANOVA事后学生纽曼-科伊尔斯检验)、 $-68 \pm 36 \text{mm}^3$ ($p < 0.05$, 相较载剂和AUY922治疗组, 通过克罗斯考尔-瓦里斯单因素方差分析事后邓恩检验) 和 $-196 \pm 21 \text{mm}^3$ ($p < 0.05$, 相较载剂和2种单一试剂, 通过克罗斯考尔-瓦里斯单因素方差分析事后学生纽曼-科伊尔斯检验) 的平均肿瘤体积变化 (见图3、5和7)。

[0128] 化合物A在12.5、25和50mg/kg剂量下耐受良好, 如载剂治疗组 ($7.8 \pm 1.4\%$) 和化合物A治疗组 (分别为 $5.3 \pm 1.4\%$ 、 $2.2 \pm 1.1\%$ 、和 $-1.1 \pm 1.6\%$) 的体重变化所证明。AUY922治疗组引起 $6.6 \pm 2.6\%$ 的体重变化。

[0129] 以12.5、25和50mg/kg每日一次口服给予的化合物A与以50mg/kg每周二次给予的AUY922的组合在所有剂量下可耐受 ($0.9 \pm 1.5\%$ 、 $-3.0 \pm 2.4\%$ 、 $8.06 \pm 2.4\%$) (见图4、6和8)。

[0130] 实施例2-化合物A在雌性无胸腺裸小鼠的HGC-27胃癌异种移植物模型中的效果

[0131] 遵循实施例1所述过程, 有以下修改:

[0132] 在500万HGC-27细胞的肿瘤细胞移植后第20天开始治疗, 此时平均肿瘤体积为 316mm^3 ($164\text{--}485 \text{mm}^3$)。向动物给予以下物质: (a) 载剂对照, 其由接受每日口服给药10ml/kg 0.5%MC和每周二次静脉给药5ml/kg D5W的动物组成; (b) 每周二次静脉给药的50mg/kg AUY922, (c) 以25mg/kg或50mg/kg每天一次口服给药的化合物A, (d) 以50mg/kg每周二次静脉给药的AUY922和以25mg/kg每天一次口服给药的化合物A的组合, 或(e) 以50mg/kg每周二次静脉给药的AUY922和以50mg/kg每天一次口服给药的化合物A的组合。治疗持续14天。

[0133] 此实验中, 25和50mg/kg的化合物A引起显著肿瘤生长抑制, 分别产生11%T/C ($p < 0.05$ 相比载剂) 和10%T/C ($p < 0.05$ 相比载剂)。50mg/kg AUY922产生57%T/C, 其相较载剂治疗组不显著。25和50mg/kg化合物A与50mg/kg AUY922的组合分别产生-11%T/T0 ($p < 0.05$ 相比载剂或AUY922治疗组) 和-57%T/T0 ($p < 0.05$ 分别相比载剂、AUY922或化合物A治疗组)。

[0134] 实施例3-化合物A在雌性无胸腺裸小鼠的NCI-N87胃癌异种移植物模型中的效果

[0135] 在雌性Hsd:无胸腺Nude-nu CPB小鼠中进行实验, 治疗开始时约为10-12周龄。所有动物获自哈伦公司(德国温克尔曼)且在优化卫生条件下饲养于Makrolon III型笼内(每笼最多5只动物), 可随意获得食物和水。

[0136] NCI-N87细胞是人胃癌细胞, 在增补有以下物质的含4.5g/l葡萄糖的DMEM培养基中生长: 10%热灭活FCS、2mM L-谷氨酰胺、1mM丙酮酸钠。所述细胞在5%CO₂加湿空气中37℃孵育。细胞用胰蛋白酶(0.25%w/v)-EDTA(0.53mM)收获, 重悬于培养基(有添加剂)并用Casy®系统计数。细胞培养试剂购自百康特(BioConcept, 瑞士阿尔施维尔)。

[0137] 通过用23号针皮下注射 $8 \times 10^6\text{--}1 \times 10^7$ 细胞(处于含50%v/v基质胶的HBSS)来建立NCI-N87肿瘤。当肿瘤确立且达到 $180\text{--}210 \text{mm}^3$ 时, 动物随机分入治疗组并开始治疗。

[0138] 化合物A在NMP/PEG300/Solutol HS15/水(10:30:20:40%体积/体积)中配制。所述化合物首先充分溶于NMP, 临给予动物前立即加入水。化合物A和载剂以10ml/kg的体积给予。此悬液在室温稳定一周。

[0139] AUY922甲磺酸盐在D5水(含5%葡萄糖的水)中配制。所有AUY922剂量指游离碱等同物。AUY922以10ml/kg体积每周二次静脉给药。

[0140] 适当时, 数据表示为均值 $\pm$ SEM。对于所有测试, 显著性水平设为 $p < 0.05$ 。对于肿瘤

体积,治疗组和载剂对照组之间的比较用单因素方差分析然后邓尼特检验完成。成对比较用单因素方差分析然后图基检验完成。治疗期开始和结束之间组内体重变化的显著性水平用配对t检验测定。治疗和载剂对照组之间的 Δ 体重比较通过单因素方差分析然后事后邓尼特检验进行。计算用GraphPad Prism 4for windows(GraphPad软件公司(GraphPad Software Inc.))进行。

[0141] 另外,药物相互作用的粗略估算用Clarke R.,“Issues in experimental design and endpoint analysis in the study of experimental cytotoxic agents in vivo in breast cancer and other models(乳腺癌和其他模型中体内实验细胞毒剂研究的实验设计和终点分析问题)”,Breast Cancer Res.Treat.,46,255-78(1997)所述方法完成。这适用于 Δ TV(肿瘤体积)。

[0142] 治疗组之间的肿瘤体积比较用克罗斯考尔-瓦里斯单因素方差分析事后学生纽曼-科伊尔斯检验或邓恩检验完成。

[0143] 第一实验:

[0144] 雌性无胸腺裸小鼠用50mg/kg化合物A每日一次口服单独,或与每周二次静脉给药的50mg/kg AUY922组合治疗。载剂对照由接受每日口服给药NMP/PEG300/Solutol HS15/水(10:30:20:40%体积/体积)混合物与静脉给药10ml/kg 5%葡萄糖水溶液的动物组成。

[0145] 作为单一试剂,化合物A产生统计上显著抗肿瘤效果,T/C为4.2%($p<0.05$,单因素方差分析,事后邓尼特检验)且平均肿瘤体积变化($\text{mm}^3 \pm \text{SEM}$)为 -15.1 ± 21.4 。用作单一试剂的AUY922(50mg/kg)产生7%肿瘤消退,与化合物A联合时产生72.3%消退。2种效果都与载剂对照显著不同($p<0.05$,ANOVA)。

[0146] 载剂对照产生 248.9 ± 20.4 的平均肿瘤体积变化($\text{mm}^3 \pm \text{SEM}$)。用作单一试剂的AUY922(50mg/kg)产生 -15.1 ± 21.4 的平均肿瘤体积变化($\text{mm}^3 \pm \text{SEM}$)。用作单一试剂的化合物A产生 1.4 ± 18.8 的平均肿瘤体积变化($\text{mm}^3 \pm \text{SEM}$)。AUY922和化合物A的组合产生 -155.8 ± 14.7 的平均肿瘤体积变化($\text{mm}^3 \pm \text{SEM}$)。另外,用所述组合治疗的组与化合物A和AUY922都作为单一试剂给药显著不同($p<0.05$,单因素方差分析,事后图基检验)。

[0147] 此外,用Clarke R.(1997)所述方法分析可能的化合物相互作用指示用AUY922和化合物A组合的协同抗肿瘤效果:

[0148]

	载剂	化合物 A (A)	AUY922 (B)	组合 (AB)	A/C	B/C	A/C x B/C	AB/C	差异	结果
Δ TV	248.9	1.4	-15.1	-155.8	0.006	-0.061	0.000	-0.626	-0.63	协同

[0149] 对于化合物A、B或组合AB(有载剂对照组C),当计算 $AB/C > A/C \times B/C$,累加效应: $AB/C = A/C \times B/C$ 时,则预测拮抗作用,当 $AB/C < A/C \times B/C$ 时,则预测协同相互作用。

[0150] 治疗期间所有组内的体重变化在统计上显著($p<0.05$,配对t检验),除了用单一试剂化合物A治疗的组。所述联合化疗组的体重变化与载剂组的体重变化显著不同(单因素方

差分析,事后邓尼特检验)。

[0151] 第二实验:

[0152] 第二功效实验中,肿瘤模型建立如同第一实验,使用相同治疗组,加入一个用12.5mg/kg剂量单一试剂化合物A治疗的组,和另一用相同剂量化合物A与AUY922组合(50mg/kg,每周二次静脉内)治疗的组。

[0153] 作为单一试剂的AUY922产生统计上显著的抗肿瘤效果,T/C为4.7% ($p < 0.05$, ANOVA)。作为单一试剂,化合物A在低(12.5mg/kg, T/C=30.3%)剂量不产生统计上显著的抗肿瘤效果,但所述效果在高(50mg/kg)剂量变得显著,产生1.2%消退 ($p < 0.05$, ANOVA)。与AUY922(50mg/kg)联用时,低(12.5mg/kg)和高(50mg/kg)剂量的化合物A产生统计上显著的抗肿瘤效果,分别有17.5和59.6%消退。比较所述组合组与单一试剂治疗时,发现以12.5mg/kg给药的化合物A与所述组合组之间有显著差异。

[0154] 载剂对照产生 378.5 ± 57.5 的平均肿瘤体积变化($\text{mm}^3 \pm \text{SEM}$)。用作单一试剂的AUY922(50mg/kg)产生 17.9 ± 11.0 的平均肿瘤体积变化($\text{mm}^3 \pm \text{SEM}$)。用作单一试剂的化合物A在12.5mg/kg剂量下产生的平均肿瘤体积变化($\text{mm}^3 \pm \text{SEM}$)为 114.9 ± 43.9 (统计上不显著),50mg/kg剂量下为 -2.3 ± 15.2 。AUY922和化合物A(12.5mg/kg)的组合产生 -34.8 ± 19.5 的平均肿瘤体积变化($\text{mm}^3 \pm \text{SEM}$)。AUY922和化合物A(50mg/kg)的组合产生 -116.2 ± 8.3 的平均肿瘤体积变化($\text{mm}^3 \pm \text{SEM}$)。另外,高剂量组合组(以50mg/kg给药的化合物A)与这2种单一试剂都显著不同 ($p < 0.05$, ANOVA)。

[0155] 化合物相互作用分析用Clarke所述方法(公式细节参见表3-1)进行并显示2种组合中都发生协同相互作用,如下所示:

[0156] -以12.5mg/kg给药的化合物A的Clarke组合指数=-0.11,

[0157] -以50mg/kg给药的化合物A的组合指数=-0.31。

[0158] 治疗期间载剂、化合物A治疗(12.5mg/kg)和所述组合(以50mg/kg给药化合物A)的组内体重变化在统计上显著 ($p < 0.05$, 配对t检验)。化合物A(50mg/kg)治疗组和所述组合组的体重变化与载剂组的体重变化显著不同(单因素方差分析,事后邓尼特检验)。

[0159] 第三实验:

[0160] 第三功效实验中,肿瘤模型建立如同第二实验。

[0161] 此实验中,AUY922作为单一试剂给药,产生统计上显著的抗肿瘤效果,T/C为14% ($p < 0.05$, ANOVA)。2种剂量的化合物A(12.5和50mg/kg,每日一次口服)都产生统计上显著的抗肿瘤效果,分别引起37.8%的T/C和6.4%消退 ($p < 0.05$, ANOVA)。所述2个组合组中也获得显著效果,分别以12.5和50mg/kg给药的化合物A以及50mg/kg AUY922引起37.4和63.1%消退。

[0162] 载剂对照产生 195.4 ± 22.9 的平均肿瘤体积变化($\text{mm}^3 \pm \text{SEM}$)。用作单一试剂的AUY922(50mg/kg)产生 27.4 ± 10.2 的平均肿瘤体积变化。用作单一试剂的化合物A在12.5mg/kg剂量下产生的平均肿瘤体积变化($\text{mm}^3 \pm \text{SEM}$)为 73.9 ± 17.6 ,50mg/kg剂量下为 -13.3 ± 6.7 。AUY922和化合物A(12.5mg/kg)的组合产生 -78.4 ± 7.4 的平均肿瘤体积变化($\text{mm}^3 \pm \text{SEM}$)。AUY922和化合物A(50mg/kg)的组合产生 -132.0 ± 7.9 的平均肿瘤体积变化($\text{mm}^3 \pm \text{SEM}$)。2个组合组还都与2个单一试剂组显著不同 ($p < 0.05$, ANOVA事后图基检验),但所述单一试剂彼此没有差异。

[0163] 化合物相互作用分析用Clarke1997所述方法进行并显示2种组合中的协同相互作用,如下所示:

[0164] -以12.5mg/kg给药的化合物A的Clarke组合指数=-0.45,

[0165] -以50mg/kg给药的化合物A的组合指数=-0.67。

[0166] 治疗期间载剂、化合物A治疗(12.5mg/kg)和所述组合(以50mg/kg给药化合物A)的组内体重变化在统计上显著($p < 0.05$, 配对t检验)。2个组合化疗组中以及化合物A(50mg/kg)治疗组中的体重变化与载剂组的体重变化显著不同(单因素方差分析,事后邓尼特检验)。

[0167] 实施例4-化合物A在雌性无胸腺裸小鼠的KYSE-70食管鳞状细胞癌异种移植物模型中的效果

[0168] 在雌性Hsd:无胸腺Nude-nu CPB小鼠中进行实验,治疗开始时约为10-12周龄。通过用23号针将含 7.5×10^6 KYSE-70细胞(其为食管鳞状细胞癌细胞)的100 μ l细胞悬液皮下注入小鼠右侧腋下来建立KYSE-70肿瘤。移植后十(10)天,出现肿瘤。当肿瘤在移植后约10天确立且达到约156mm³时(最小86mm³,最大218mm³),选择48只动物并随机分入6个治疗组($n = 8$)。

[0169] 安慰剂对照配制为10ml/kg的250 μ l NMP、750 μ l PEG300、500 μ l Solutol HS15和1000 μ l水,用于每日一次口服递送(安慰剂1),配制为10ml/kg的2.5ml葡萄糖,用于每周二次静脉递送(安慰剂2)。

[0170] 化合物A在NMP/PEG300/Solutol HS15/水(10:30:20:40%体积/体积)中配制。所述化合物首先充分溶于NMP,临给予动物前立即加入水。化合物A或载剂以10ml/kg体积口服给药。此悬液在室温稳定一周。

[0171] AUY922甲磺酸盐在D5水(含5%葡萄糖的水)中配制。所有AUY922剂量指游离碱等同物。AUY922以10ml/kg体积每周二次静脉给药。

[0172] 各组小鼠用以下治疗之一处理24天:(a)安慰剂1和安慰剂2(组1), (b) 12.5mg/kg化合物A每日一次口服给药(组2), (c) 50mg/kg化合物A每日一次口服给药(组3), (d) 50mg/kg AUY922每周二次静脉给药(组4), (e) 12.5mg/kg化合物A每日一次口服给药和50mg/kg AUY922每周二次静脉给药的组合(组5), 或(f) 50mg/kg化合物A每日一次口服给药和50mg/kg AUY922每周二次静脉给药的组合(组6)。

[0173] 抗肿瘤活性表示为T/C%,根据下式确定:(所治疗动物的平均肿瘤体积变化/对照动物的平均肿瘤体积变化) $\times 100$ 。

[0174] 下列抗肿瘤活性数据通过遵循上述实验操作而获得:

组号	T/C [%]				
	第 10 天	第 14 天	第 17 天	第 21 天	第 24 天
1	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
2	100.0	-7.1	74.0	40.6	47.5
3	100.0	-49.3	-2.7	-40.1	-10.9
4	100.0	145.3	144.4	131.8	141.1
5	100.0	-17.0	54.6	18.1	43.1
6	100.0	-53.7	-15.9	-39.5	-18.7

[0175] 实施例5-化合物A在雌性无胸腺裸小鼠的A375黑素瘤细胞癌异种移植物模型中的效果

[0177] 在重约20-25g的雌性Harlan Hsd:Npa无胸腺裸小鼠中进行实验。通过在小鼠背部皮下注射 4×10^6 A375细胞(黑素瘤细胞)来建立A375肿瘤。移植后十(10)天,出现肿瘤。移植后约30天,选择32只动物并随机分入4个治疗组(n=8)。

[0178] 安慰剂对照配制为1%羧甲基纤维素(CMC),用于每日一次口服递送(安慰剂1),配制为10ml/kg的2.5ml葡萄糖,用于每周二次静脉或腹膜内递送(安慰剂2)。

[0179] 化合物A通过溶于含5% (v/v) 吐温-80的1% (w/v) 羧甲基纤维素(CMC)而配制为40mg/kg剂量的化合物A。化合物A或载剂以10mg/ml体积每日一次口服给药。

[0180] AUY922在D5水(含5%葡萄糖的水)中配制。所有AUY922剂量指游离碱等同物。AUY922以10mg/ml体积和50mg/kg剂量每周二次静脉给药。

[0181] 各组小鼠用以下治疗之一处理11天:(a) 安慰剂1和安慰剂2(组1), (b) 40mg/kg化合物A每日一次口服给药(组2), (c) 50mg/kg AUY922每周二次静脉给药(组3), (e) 40mg/kg化合物A每日一次口服给药和50mg/kg AUY922每周二次静脉给药的组合(组4)。

[0182] 适当时,数据表示为均值 $\pm$ SEM。对于所有测试,显著性水平设为 $p < 0.05$ 。治疗组之间的肿瘤体积比较用克罗斯考尔-瓦里斯单向方差分析秩检验或图基检验完成。

[0183] 遵循上述实验过程,所治疗小鼠的平均肿瘤生长分数和平均体重变化示于图9。

[0184] 实施例6-化合物A在雌性无胸腺裸小鼠的A375黑素瘤细胞癌异种移植物模型中的效果

[0185] 在重约20-25g的雌性Harlan Hsd:Npa无胸腺裸小鼠中进行实验。通过在小鼠背部皮下注射 4×10^6 A375细胞(黑素瘤细胞)来建立A375肿瘤。移植后十(10)天,出现肿瘤。移植后约30天,选择32只动物并随机分入4个治疗组(n=8)。

[0186] 安慰剂对照配制为1%羧甲基纤维素(CMC),用于每日一次口服递送(安慰剂1),配制为10ml/kg的2.5ml葡萄糖,用于每周二次静脉或腹膜内递送(安慰剂2)。

[0187] 化合物A通过溶于含5% (v/v) 吐温-80的1% (w/v) 羧甲基纤维素(CMC)而配制为40mg/kg剂量的化合物A。化合物A或载剂以10mg/ml体积每日一次口服给药。

[0188] AUY922在D5水(含5%葡萄糖的水)中配制。所有AUY922剂量指游离碱等同物。AUY922以10mg/ml体积和50mg/kg剂量每周二次静脉给药。

[0189] 各组小鼠用以下治疗之一处理11天:(a) 安慰剂1和安慰剂2(组1), (b) 40mg/kg化

合物A每日一次口服给药(组2), (c) 50mg/kg AUY922每周二次静脉给药(组3), (d) 40mg/kg 化合物A每日一次口服给药和50mg/kg AUY922每周二次静脉给药的组合(组4)。

[0190] 适当时, 数据表示为均值 $\pm$ SEM。对于所有测试, 显著性水平设为 $p < 0.05$ 。治疗组之间的肿瘤体积比较用克罗斯考尔-瓦里斯单向方差分析秩检验或图基检验完成。

[0191] 遵循上述实验过程, 所治疗小鼠的平均肿瘤生长分数和平均体重变化示于图9。

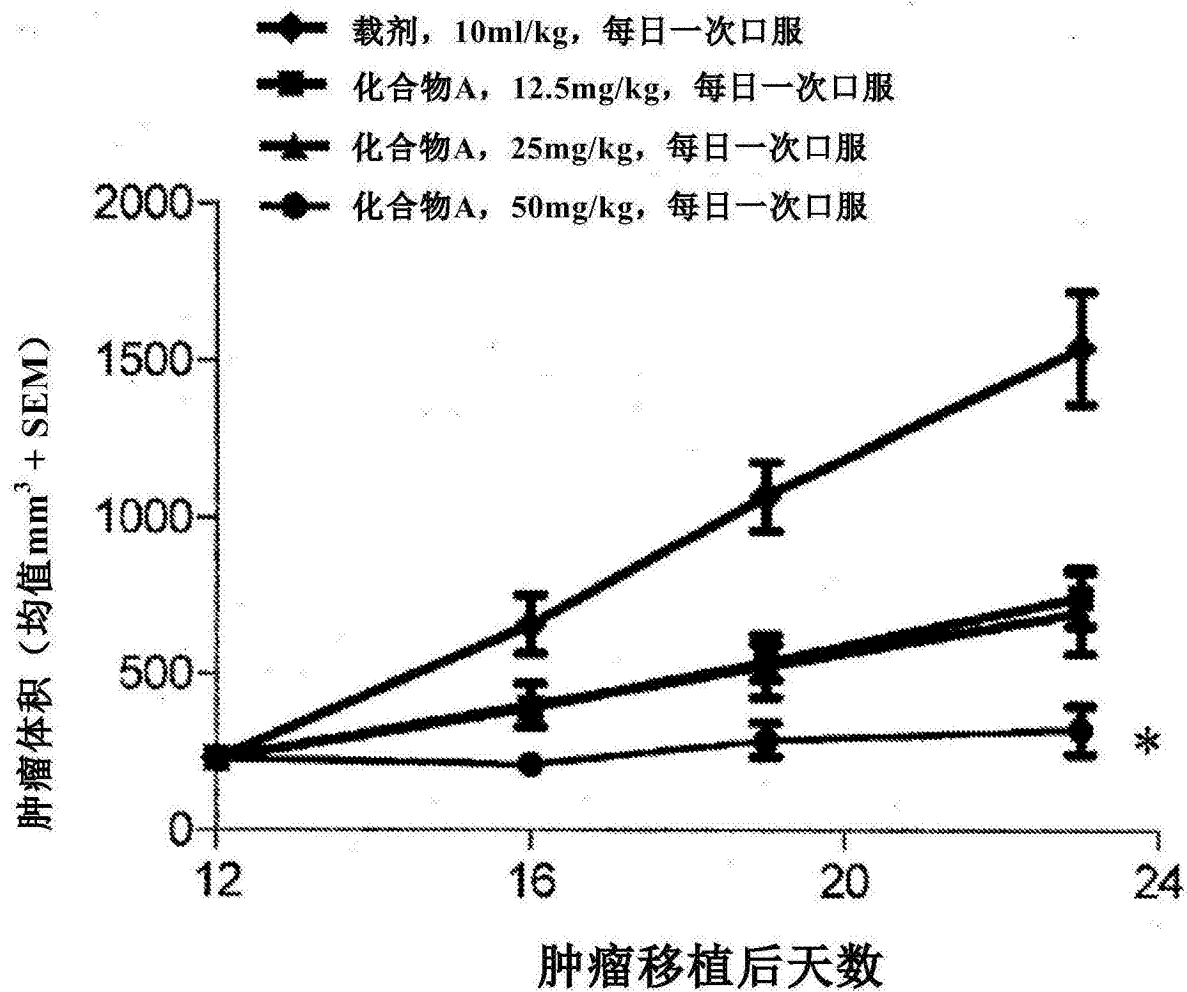


图1

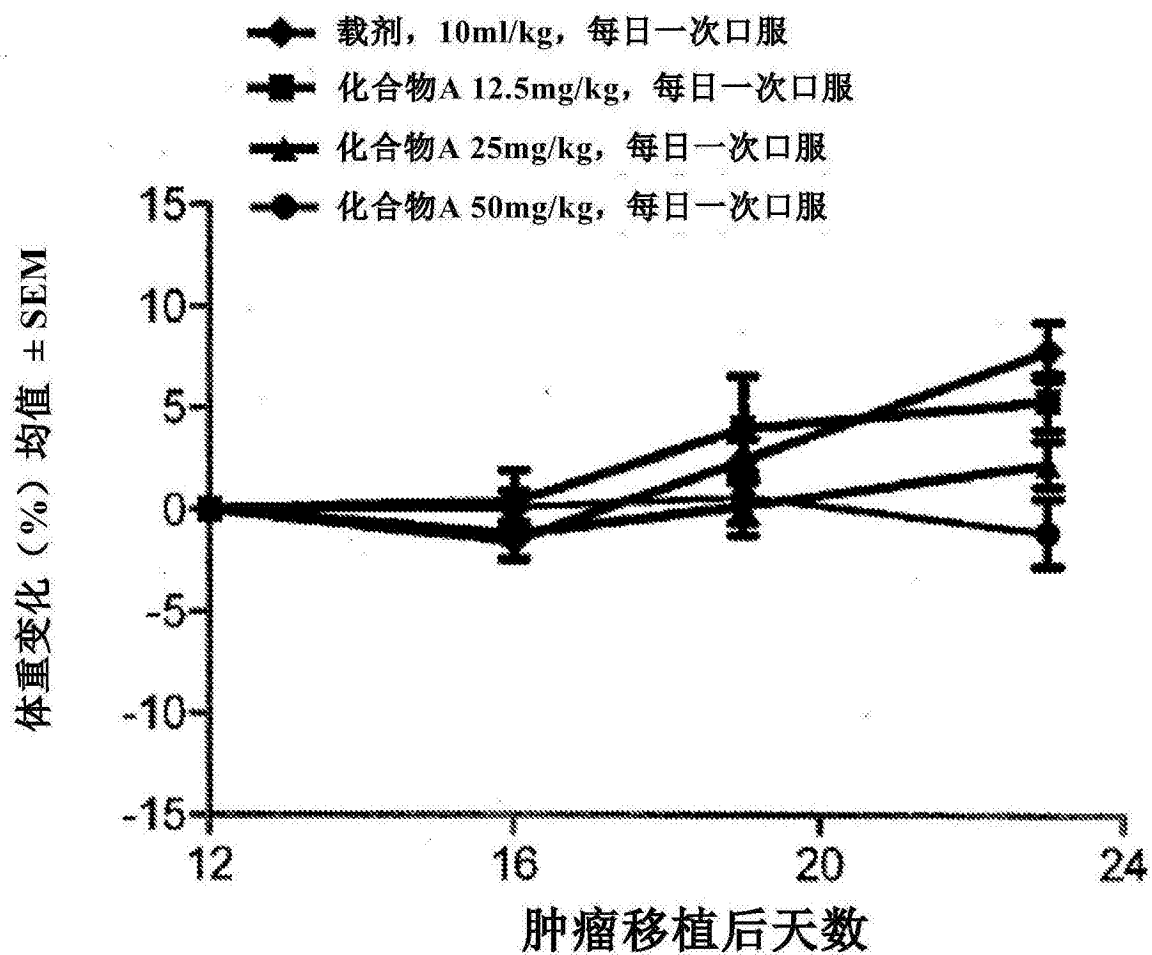


图2

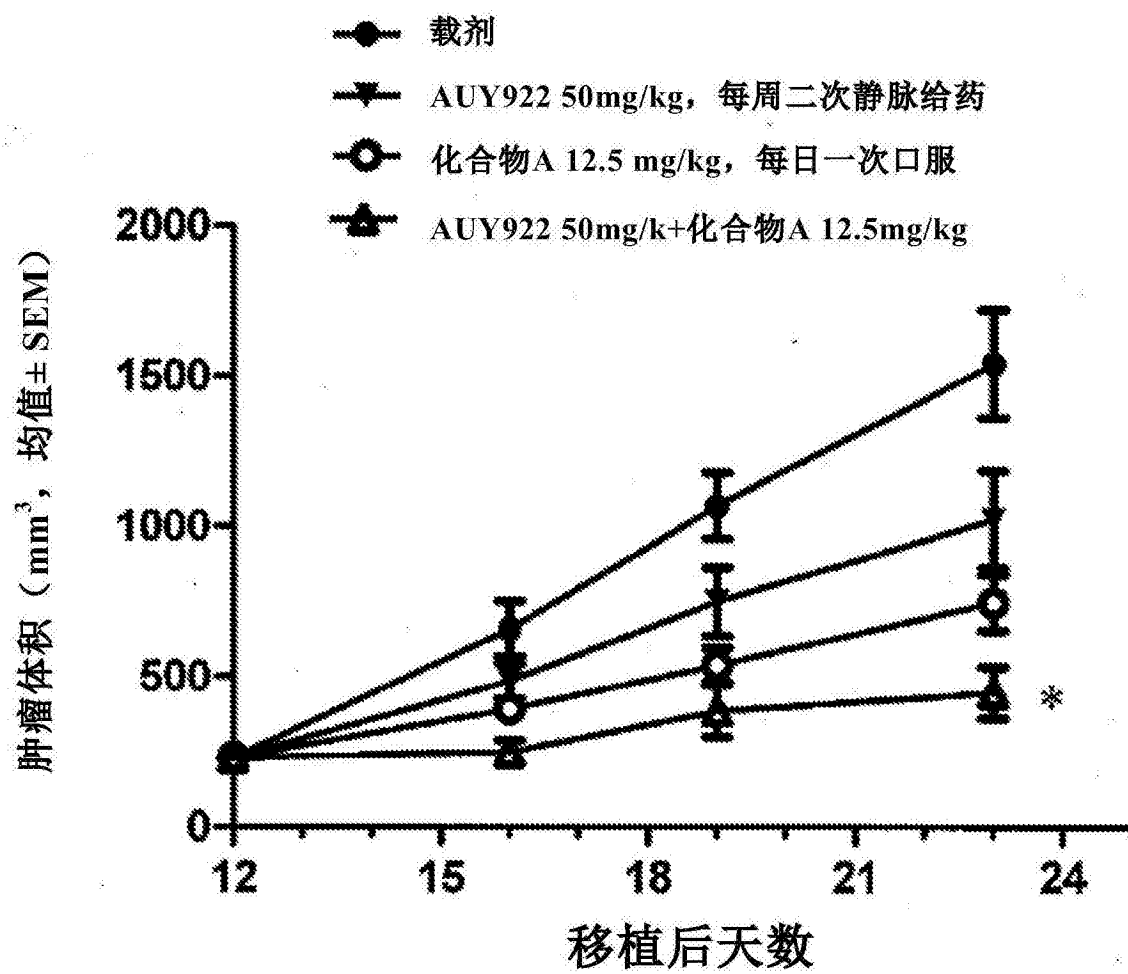


图3

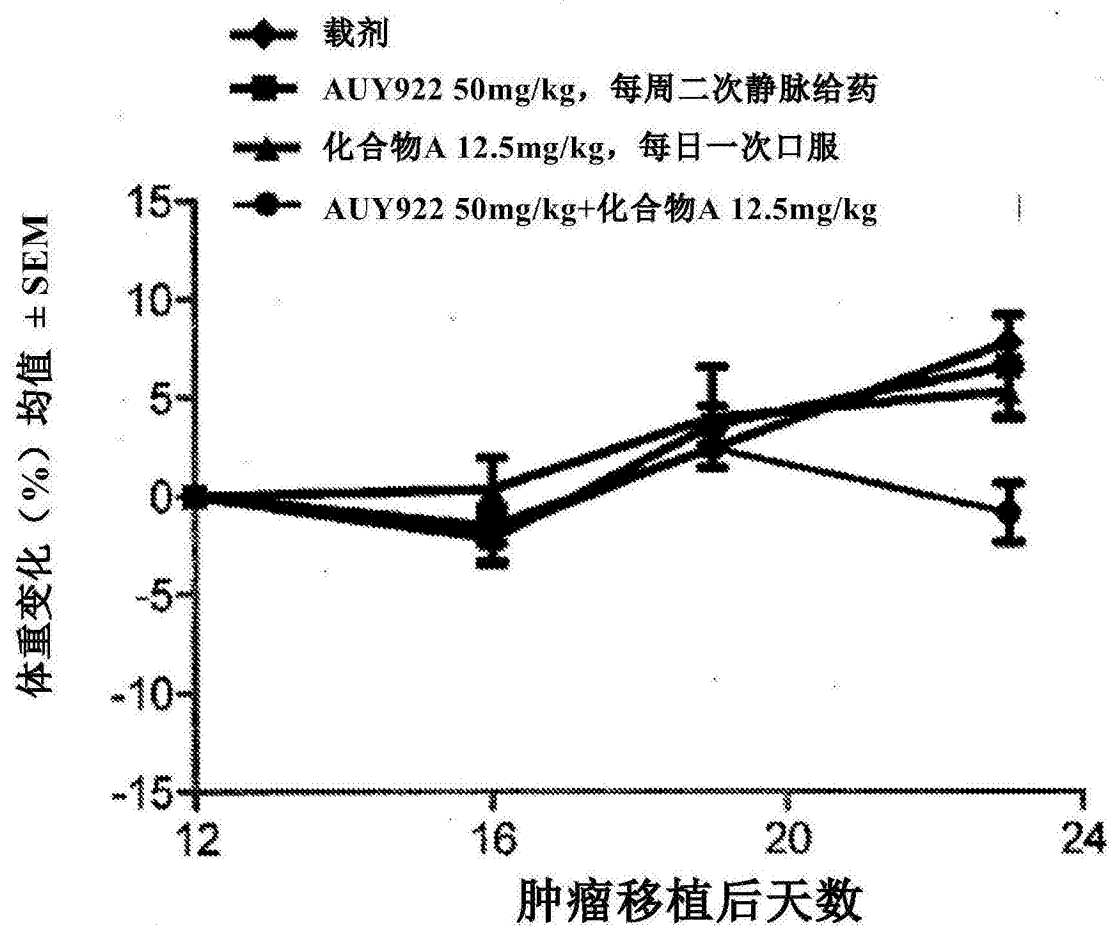


图4

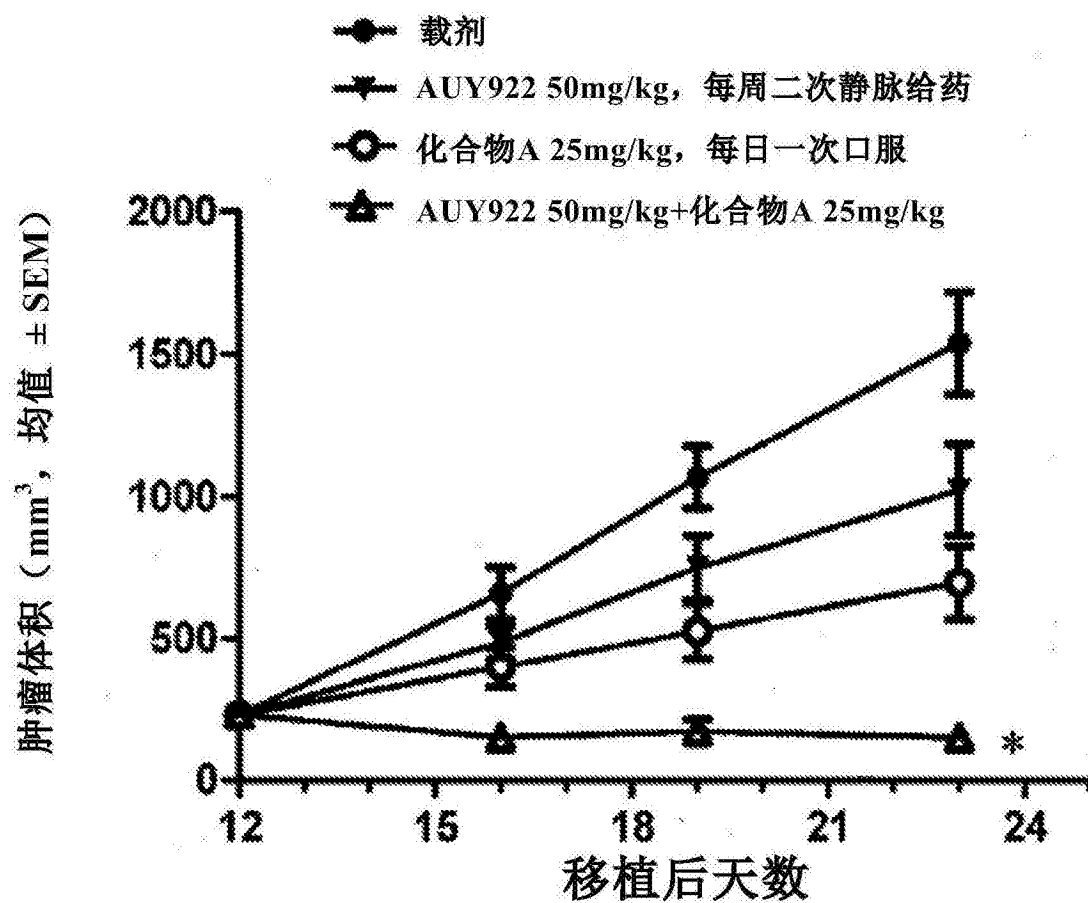


图5

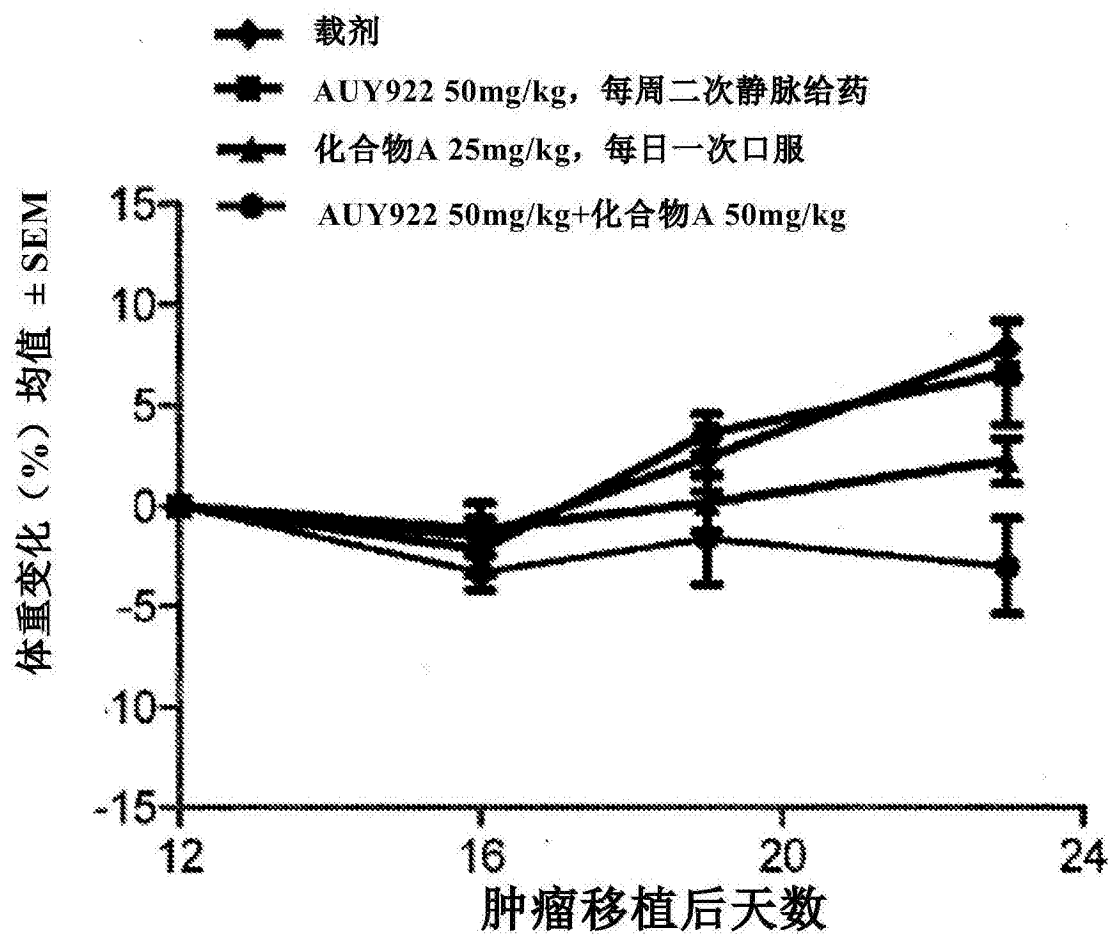


图6

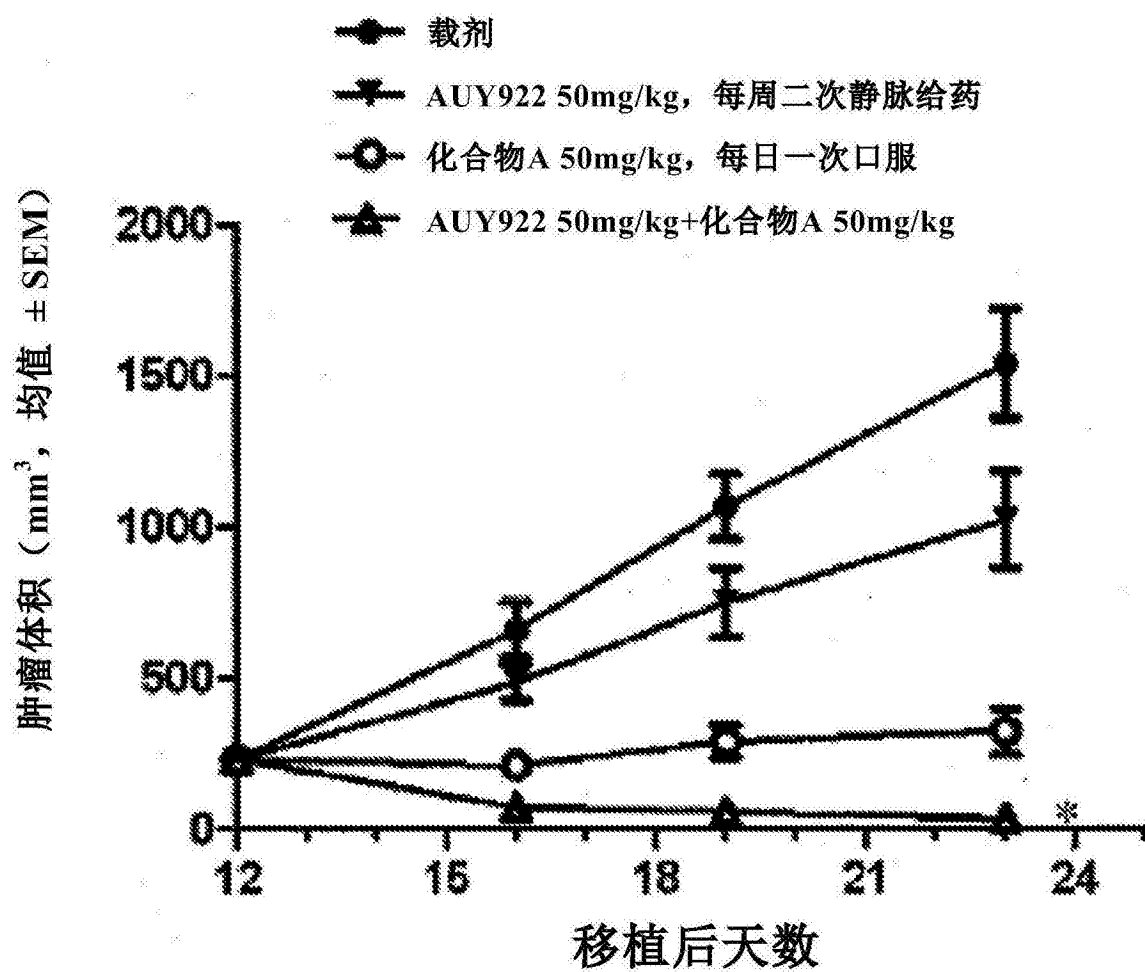


图7

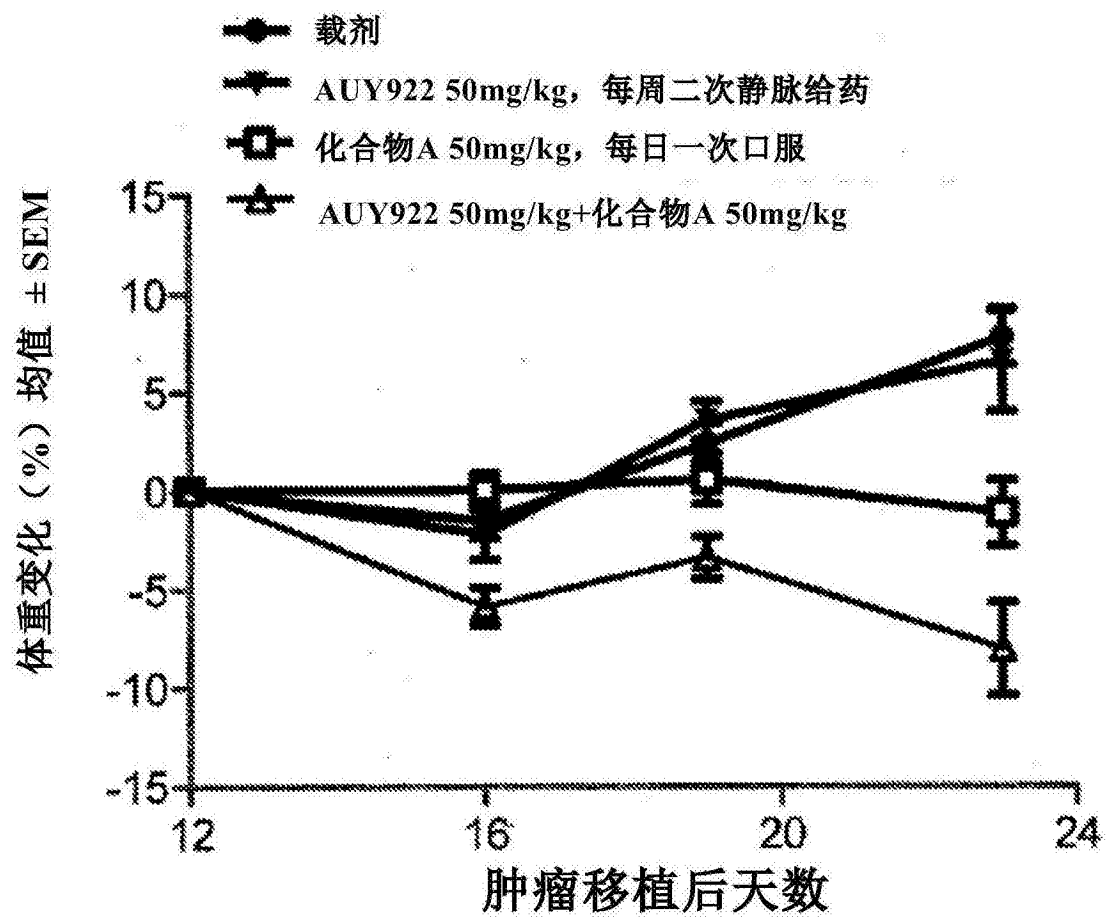


图8

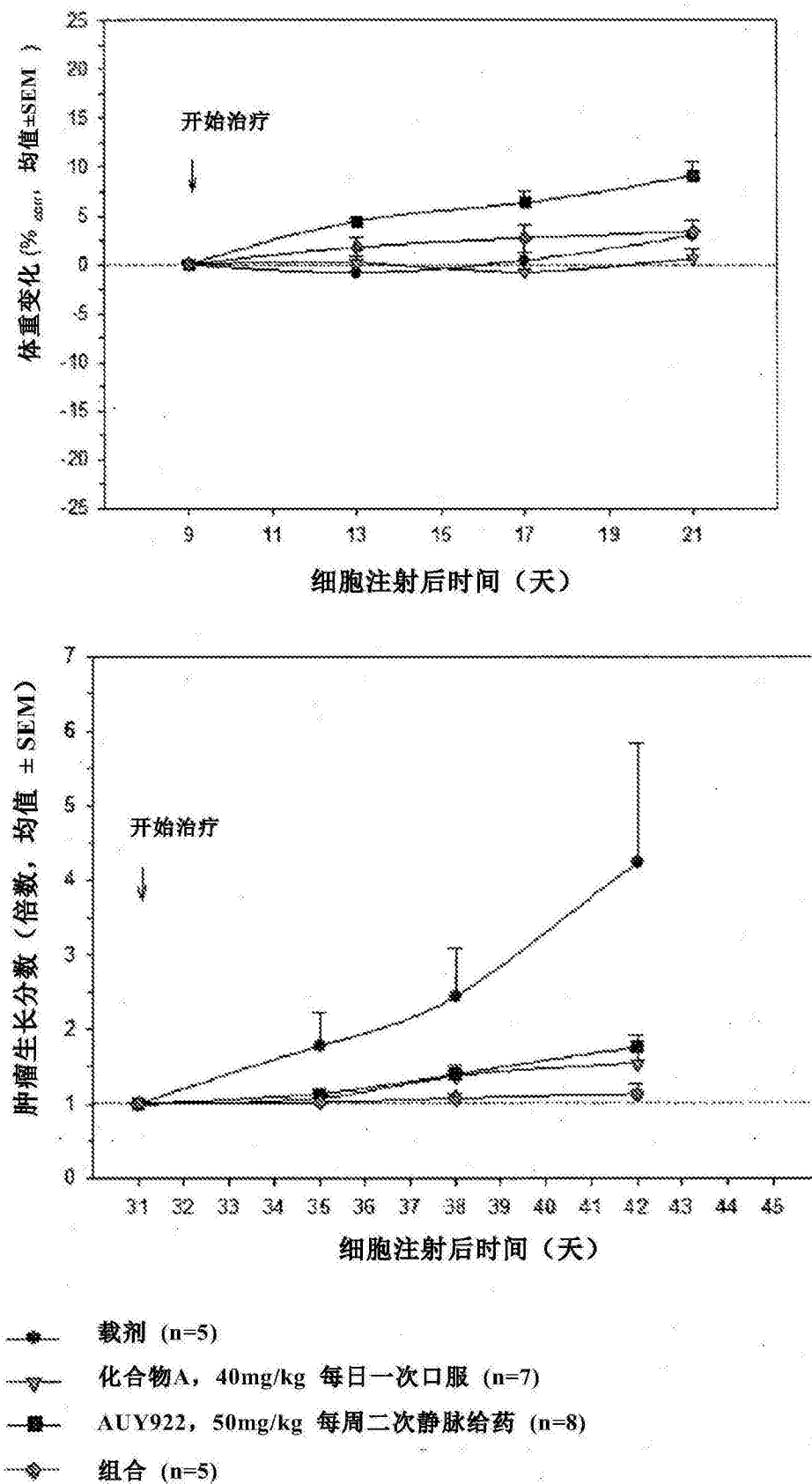


图9