

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680021092.5

[51] Int. Cl.

A01N 43/54 (2006.01)

A01N 43/62 (2006.01)

A61K 31/55 (2006.01)

C07D 239/42 (2006.01)

C07D 401/04 (2006.01)

[43] 公开日 2008年6月11日

[11] 公开号 CN 101198253A

[22] 申请日 2006.4.13

[21] 申请号 200680021092.5

[30] 优先权

[32] 2005.4.13 [33] US [31] 60/670,744

[32] 2005.12.8 [33] US [31] 60/748,433

[32] 2006.4.12 [33] US [31] 11/402,502

[86] 国际申请 PCT/US2006/013773 2006.4.13

[87] 国际公布 WO2006/113304 英 2006.10.26

[85] 进入国家阶段日期 2007.12.13

[71] 申请人 布里斯托尔-迈尔斯斯奎布公司

地址 美国新泽西州

[72] 发明人 F·Y·李 R·魏因曼

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 张轶东 黄可峻

权利要求书4页 说明书16页 附图10页

[54] 发明名称

治疗癌症的组合、方法和组合物

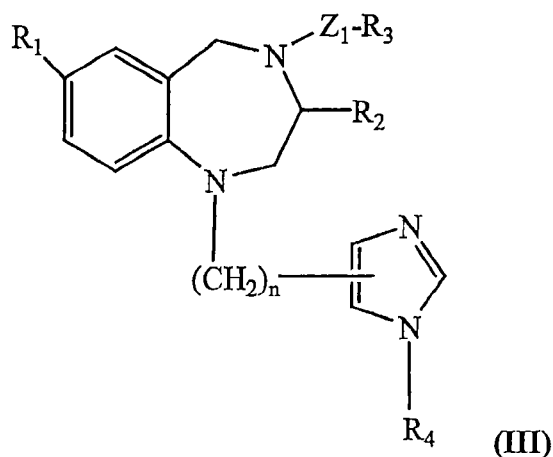
[57] 摘要

本发明涉及一种 BCR - ABL 抑制剂(例如 N - (2 - 氯 - 6 - 甲基苯基) - 2 - [[6 - [4 - (2 - 羟基乙基) - 1 - 哌嗪基] - 2 - 甲基 - 4 - 嘧啶基] 氨基] - 5 - 噻唑甲酰胺)、和/或其它 BCR/ABL 抑制剂、和干细胞选择性细胞毒剂(例如(R) - 2, 3, 4, 5 - 四氢 - 1 - (1H - 咪唑 - 4 - 基甲基) - 3 - (苯基甲基) - 4 - (2 - 噻吩基磺酰基) - 1H - 1, 4 - 苯并二氮杂草 - 7 - 腈盐酸盐)、和/或其它干细胞选择性细胞毒剂的组合、该组合的药物组合物以及使用该药物组合物治疗肿瘤疾病的方法。

1、一种治疗癌症的方法，其包括向需要该治疗的患者组合给药治疗有效量的：

- (a) 干细胞选择性的细胞毒剂或其药学上可接受的盐，和
- (b) 至少一种 BCR/ABL 抑制剂或其药学上可接受的盐。

2、权利要求 1 的方法，其中干细胞选择性的细胞毒剂为式 (III) 化合物



或其药学上可接受的盐，其中，

R_1 为 Cl、Br、CN、任选取代的苯基或任选取代的 2-、3-或 4-吡啶基；

R_2 为任选取代的低级烷基或者任选取代的芳烷基；

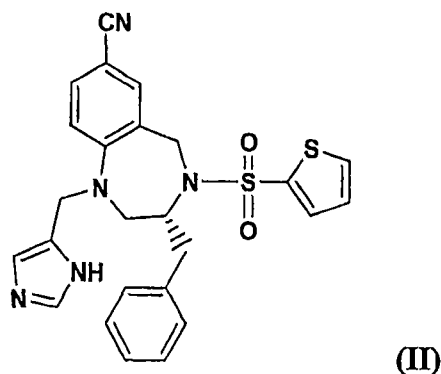
R_3 和 R_5 各自独立地为任选取代的低级烷基、任选取代的芳基或者任选取代的杂环；

R_4 为氢或低级烷基；

Z_1 为 CO、SO₂、CO₂ 或 SO₂N(R₅)-；和

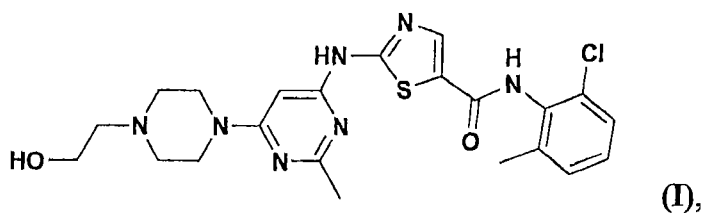
n 为 1 或 2。

3、权利要求 2 的治疗癌症的方法，其中式 (III) 化合物选自式 (II) 化合物



或其药学上可接受的盐。

4、权利要求 2 的治疗癌症的方法，其中 BCR/ABL 抑制剂选自式 (I) 化合物、伊马替尼、AMN-107、SKI 606、AZD0530 和 AP23464，或其药学上可接受的盐或水合物。

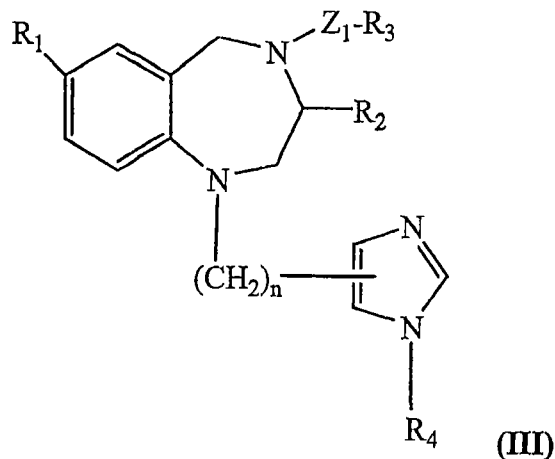


5、权利要求 1 的治疗癌症的方法，其中所述癌症选自慢性骨髓性白血病 (CML) 和费城染色体阳性的急性淋巴母细胞性白血病 (ALL)。

6、一种组合，其包括治疗有效量的：

- (a) 干细胞选择性细胞毒剂或其药学上可接受的盐，和
- (b) 至少一种 BCR/ABL 抑制剂或其药学上可接受的盐。

7、权利要求 6 的组合，其中干细胞选择性的细胞毒剂为式 (III) 化合物



或其药学上可接受的盐，其中，

R_1 为 Cl、Br、CN、任选取代的苯基或任选取代的 2-、3-或 4-吡啶基；

R_2 为任选取代的低级烷基，或者任选取代的芳烷基；

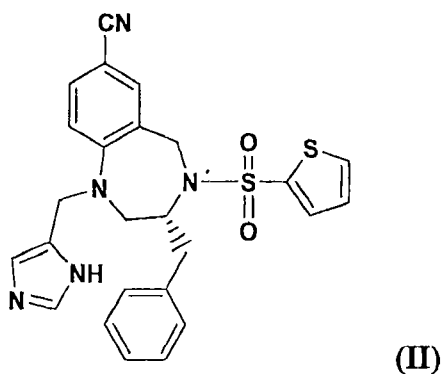
R_3 和 R_5 各自独立地为任选取代的低级烷基、任选取代的芳基或者任选取代的杂环；

R_4 为氢或低级烷基；

Z_1 为 CO、SO₂、CO₂ 或 SO₂N(R₅)-； 和

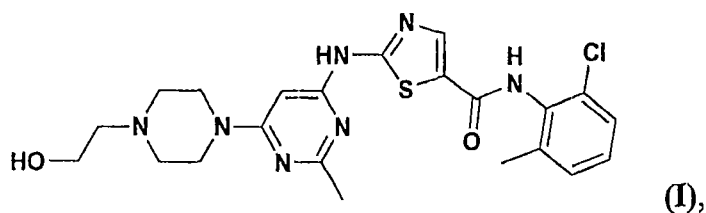
n 为 1 或 2。

8、权利要求 7 的组合，其中式 (III) 化合物选自式 (II) 化合物



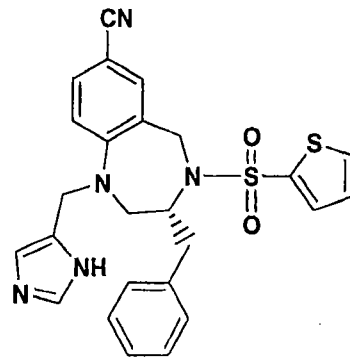
或其药学上可接受的盐。

9、权利要求 2 的组合，其中 BCR/ABL 抑制剂选自式 (I) 化合物、伊马替尼、AMN-107、SKI 606、AZD0530 和 AP23464，或其药学上可接受的盐或水合物。



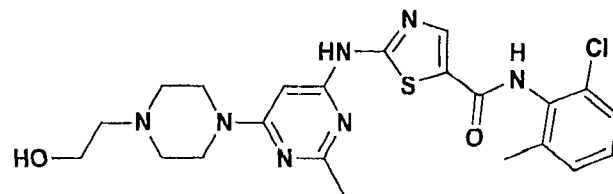
10、一种治疗癌症的方法，其包括向需要该治疗的患者组合给药治疗有效量的：

(a) 式 (II) 化合物，



(II)

或其药学上可接受的盐和
(b) 式 (I) 化合物



(I)

或其药学上可接受的盐或水合物。

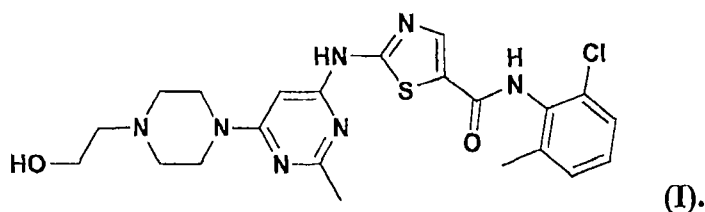
11、一种药物组合物，其包括药学上可接受的载体或稀释剂和权利要求 6-9 的各个组合的化合物中的至少一种。

治疗癌症的组合、方法和组合物

本申请根据 35 条§119(e)的规定要求 2005 年 12 月 8 日提交的美国临时申请号 60/748,433 和 2005 年 4 月 13 日提交的美国临时申请号 60/670,744 的优先权，其内容结合入本文作为参考。

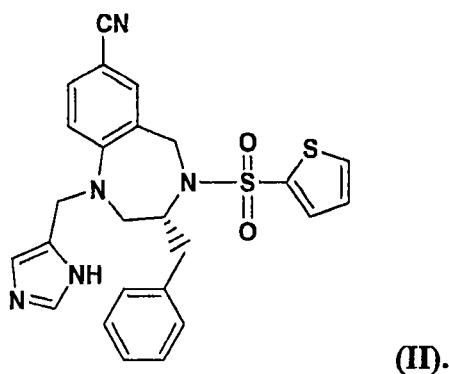
本发明涉及治疗癌症的组合、药物组合物和使用药物组合物治疗肿瘤和免疫疾病的方法。

式 (I) 化合物，N-(2-氯-6-甲基苯基)-2-[[6-[4-(2-羟基乙基)-1-哌嗪基]-2-甲基-4-嘧啶基]氨基]-5-噻唑甲酰胺是一种蛋白酪氨酸激酶抑制剂，例如 Src 激酶抑制剂，并且可以用于治疗免疫和肿瘤疾病。式 (I) 化合物还被称作达萨替尼或 BMS-354825。式 (I) 化合物还是 BCR/ABL 抑制剂和/或 ABL 抑制剂。抑制 Src 和/或 BCR/ABL 的化合物可以用于治疗癌症，例如 CML 和 ALL。



之前，2003 年 7 月 22 日颁证的美国专利号 6,596,746 中已经对式 (I) 化合物及其制备进行了描述，其结合入本文作为参考。该化合物是一种理想的一水合结晶形式，例如 2005 年 2 月 4 日申请的美国专利申请系列号 11/051,028 中所作的描述，该文献结合入本文作为参考。可选择地，式 (I) 化合物还可以以其它结晶形式存在：作为纯化合物或者作为溶剂化物。

式 (II) 化合物，(R)-2,3,4,5-四氢-1-(1H-咪唑-4-基甲基)-3-(苯基甲基)-4-(2-噻吩基磺酰基)-1H-1,4-苯并二氮杂䓬-7-腈盐酸盐是一种抗-癌剂。式 (II) 化合物还被称作 BMS-214662。式 (II) 化合物是一种细胞毒剂，其已知能够优先杀死非-增殖型癌细胞。式 (II) 化合物还可以用于杀死干细胞。



美国专利 No. 6,012,029 中描述了式 (II) 化合物、其制备及其用途, 其结合入本文作为参考。2004 年 2 月 19 日公布的 WO2004/015130 中也描述了式 (II) 化合物的用途, 其结合入本文作为参考。

发明概述

因此, 本发明的实施方案涉及式 (II) 化合物、休眠细胞的选择性细胞毒剂与 BCR/ABL 抑制剂相结合的组合。

此外, 本发明的实施方案涉及包括干细胞的选择性细胞毒剂与 BCR/ABL 抑制剂相组合的组合。

此外, 本发明的实施方案涉及包括干细胞的选择性细胞毒剂和 BCR/ABL 抑制剂的组合用于制备癌症治疗药物的用途。

本发明的实施方案涉及药物组合物, 其包括下列物质的组合: 药学上可接受的载体化合物和治疗有效量的式 (II) 或式 (III) 的组合化合物以及 BCR/ABL 抑制剂。

本发明可以在不偏离其精神和本质的情况下以其它特定形式表达。本发明还包括本文中描述的本发明的可选方面的所有组合。应该理解, 本发明的任意和所有实施方案都可以与任意的其它实施方案结合, 用以描述本发明的另外实施方案。此外, 实施方案的任意要素都可以与任意实施方案的任意和所有其它要素结合, 用以描述另外的实施方案。

附图简述

图 1 显示恶性细胞生长动力学和药物灵敏性 - 假设达萨替尼和 BMS-214662 具有协同治疗的潜力。

图 2 显示 BMS-214662 能够大量杀死体内的克隆源性肿瘤细胞, 而且对于非-增殖细胞特别有效。(A) 用 FACS 分析法分析肿瘤异种移植

物，其证明只有 20%的肿瘤细胞增殖。绝大部分肿瘤细胞处于非-增殖（GO）生长阶段。通过向带有 HCT-116 人类结肠癌的小鼠体内连续皮下输液而对固体肿瘤内的肿瘤细胞进行长时间的 BrdU 标记(24 h)，从而鉴别非-增殖细胞。(B) BMS-214662 杀死>90%的克隆源性细胞，绝大多数这种细胞为非-增殖细胞。(C) BMS-214662 杀死休眠细胞的能力大于杀死增殖细胞的能力。

图 3 显示达萨替尼在增殖细胞(P)中的细胞毒性大于在休眠细胞(Q)中的细胞毒性。达萨替尼在休眠 K562 细胞中的 IC₅₀>11.2 nM，在增殖 K562 细胞中为 0.69 nM。

图 4 显示 BMS-214662 在休眠细胞(Q)中的细胞毒性比在增殖细胞(P)中的细胞毒性大。BMS-214662 杀死休眠 K562 细胞(IC₅₀=0.7 μM)的能力大于杀死增殖型 K562 细胞(IC₅₀=47.5 μM)的能力，通过细胞生长(A)和克隆源性细胞存活试验(B)测定杀死两种细胞的能力分别为 68-倍和 4-倍。

图 5 显示达萨替尼和 BMS-214662 的组合具有抗击 K562 CML 细胞培养物的协同细胞毒性，所述细胞培养物既包括增殖细胞又包括非-增殖细胞。(A)保守的等效线图显示达萨替尼和 BMS-214662 之间具有高水平的协同作用。中心数据点相对于等效线图的位置表明了协同作用的水平。该数据点离左侧越远协同作用越大。(B)对组合指数(CI)的分析确证了这种协同作用。位于 CI 阈值 1 之下的任何位置均为具有协同作用；位于该阈值之上的任何位置则为不具有协同作用。使用 CalcuSyn™ 软件（剑桥，英国）计算 CI。

图 6 显示 BMS-214662 对小鼠和对人的药物影响的比较。在小鼠体内使用 40-80 mg/kg 剂量的 BMS-214662 时与人体的药代动力学最相近。附图显示了静脉内(IV)注射大丸药之后血浆的药代动力学。代表性的人体药代动力学来自于研究项目 CA158003，即输液 BMS-214662 1-小时的剂量-增加型研究。

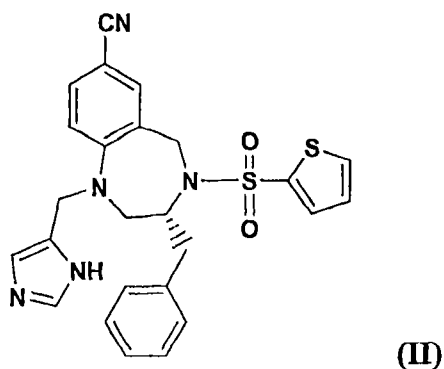
图 7 显示 BMS-214662 提高了体内的达萨替尼活性。在小鼠 CML 模型中达萨替尼和 BMS-214662 组合产生比单独的达萨替尼(P=0.0157)或单独的 BMS-214662(P=0.0002)更好的抗-白血病活性。使人类肿瘤异种移植物(由 CML 细胞系繁殖而来)保持在 Balb/c nu/nu 裸鼠或 SCID 小鼠中，并且随皮下(SC)移植而繁殖。在开始治疗之前(Wt1)和给药最后的

治疗药剂之后(Wt2)称重动物。体重差别(Wt2-Wt1)提供了对与治疗相关的毒性的测量。按照下述方式估计肿瘤重量(mg): 肿瘤重量=(长度×宽度²)/2。利用 Gehan's generalized Wilcoxon 试验对各组的体内功效进行比较。

图 8 显示可以在人类中获得用以提高达萨替尼体内功效所需的 BMS-214662 药物效果。对于(A) 24-小时输液和(B) 1-小时输液(CA1 58-003)而言都可以获得这种效果。

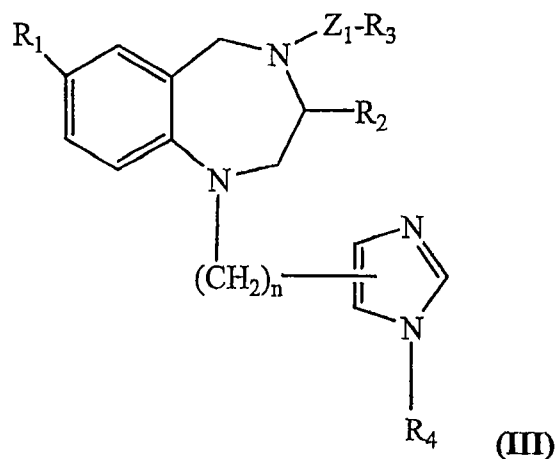
本发明实施方案的详述

在本发明的一个实施方案中, 本发明涉及一种式 (II) 化合物,



或其药学上可接受的盐与 BCR/ABL 抑制剂或其药学上可接受的盐的组合。

可选地, 本发明涉及一种式 (III) 化合物或其药学上可接受的盐与 BCR/ABL 抑制剂或其药学上可接受的盐的组合,



式 (III) 中

R_1 为 Cl、Br、CN、任选取代的苯基或任选取代的 2-、3-或 4-吡啶基;

R_2 为任选取代的低级烷基或者任选取代的芳烷基;

R_3 和 R_5 各自独立地为任选取代的低级烷基、任选取代的芳基或者任选取代的杂环;

R_4 为氢或低级烷基;

Z_1 为 CO、 SO_2 、 CO_2 或 $SO_2N(R_5)-$; 和

n 为 1 或 2。

在另一个实施方案中, 本发明涉及一种组合, 其中 BCR/ABL 抑制剂选自式 (I) 化合物、伊马替尼、AMN-107、SKI 606、AZD0530 和 AP23848(ARIAD)。

在另一个实施方案中, 本发明涉及一种其中 BCR/ABL 抑制剂为式 (I) 化合物的组合。

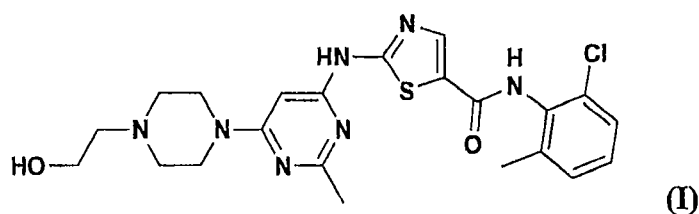
在本发明的另一个实施方案中, 本发明涉及一种治疗癌症的方法, 其包括向需要该治疗的患者组合给药治疗有效量的:

(a) 式(II)化合物或式(III)化合物; 和

(b) 至少一种选自 BCR/ABL 抑制剂组的化合物。

在另一个实施方案中, 本发明涉及一种治疗 CML 和/或 ALL 的方法。

在另一个实施方案中, 本发明涉及一种治疗癌症的方法, 其中 BCR/ABL 抑制剂为式(I)化合物



或其药学上可接受的盐或水合物。

在另一个实施方案中, 本发明涉及一种治疗癌症的方法, 其中 BCR/ABL 抑制剂选自式(I)化合物、伊马替尼、AMN-107、SKI 606、AZD0530 和 AP23848 (ARIAD)。

在另一个实施方案中, 本发明涉及一种药物组合物, 其包括治疗有

效量的单独的或相互组合的式(II)化合物或式(III)化合物或其药学上可接受的盐和 BCR/ABL 抑制剂。

在另一个实施方案中，本发明涉及一种可用于治疗癌症的药物试剂盒，其包括治疗有效量的：

- (a) 式(II)化合物或(III)化合物或其药学上可接受的盐；和，
- (b) 至少一种选自 BCR/ABL 抑制剂的化合物。

在另一个实施方案中，本发明涉及一种药物试剂盒，其中 BCR/ABL 抑制剂选自式(I)化合物、伊马替尼、AMN-107、SKI 606、AZD0530 和 AP23848 (ARIAD)。

在另一个实施方案中，本发明涉及一种治疗 CML 和/ALL 的试剂盒。

在本发明的另一个实施方案中，BCR/ABL 抑制剂为式(I)化合物。

在本发明的另一个实施方案中，本发明涉及一种干细胞选择性的细胞毒性试剂或其药学上可接受的盐与 BCR/ABL 抑制剂或其药学上可接受的盐的组合。

在本发明的另一个实施方案中，本发明涉及一种肿瘤干细胞（白血病干细胞）选择性的细胞毒剂或其药学上可接受的盐与 BCR/ABL 抑制剂或其药学上可接受的盐的组合。

在本发明的另一个实施方案中，本发明涉及一种治疗癌症的方法，其包括向需要治疗的患者组合给药治疗有效量的：

- (a) 干细胞选择性的细胞毒剂；和
- (b) 至少一种选自 BCR/ABL 抑制剂的化合物。

在另一个实施方案中，本发明涉及一种药物组合物，其包括治疗有效量的单独或相互组合的干细胞选择性的细胞毒剂或其药学上可接受的盐和 BCR/ABL 抑制剂。

在另一个实施方案中，本发明涉及一种可用于治疗癌症的药物试剂盒，其包括治疗有效量的：

- (a) 干细胞选择性细胞毒剂或其药学上可接受的盐；和
- (b) 至少一种选自 BCR/ABL 抑制剂组的化合物。

在另一个实施方案中，本发明涉及一种式(II)和/或式(III)化合物与 BCR/ABL 抑制剂的组合，其中式(II)和/或式(III)化合物为 FT 抑制剂和/或 RabGGTase 抑制剂。

在另一个实施方案中，干细胞选择性细胞毒活性和 BCR/ABL 活性可以存在于单一的化合物中，该化合物显示出两种活性。

在本发明的另一个实施方案中，本发明涉及

(a) 干细胞选择性的细胞毒剂；和

(b) 至少一种选自 BCR/ABL 抑制剂组的化合物；

在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

在另一个实施方案中，本发明涉及一种包括下述物质的组合

(a) 干细胞选择性细胞毒剂；和

(b) 至少一种选自 BCR/ABL 抑制剂组的化合物；

所述组合作为组合制剂同时、分别或依次用于治疗。

在本发明的另一个实施方案中，本发明涉及干细胞选择性的细胞毒剂在制备用于治疗癌症的药物中的用途，其中病人还接受至少一种选自 BCR/ABL 抑制剂组的化合物的治疗。

在本发明的另一个实施方案中，本发明涉及至少一种选自 BCR/ABL 抑制剂组的化合物在制备用于治疗癌症的药物中的用途，其中病人还接受干细胞选择性的细胞毒剂的治疗。

本发明还可以借助不偏离其精神和实质特征的其它具体形式来体现。本发明还包括本文中指出的本发明优选方面的所有组合。应该理解，本发明的任何和所有实施方案都可以与任何其它实施方案相组合，用以描述其它甚至更优选的本发明实施方案。此外，实施方案的任何要素都意图与任意实施方案的任何和所有其它要素相组合，用以描述另外的实施方案。

定义

如本文中所用的，“药学上可接受的盐”是指公开的化合物的衍生物，其中母体化合物通过形成其酸或碱盐而发生改变。药学上可接受的盐的例子包括但不限于碱性残基例如胺的无机或有机酸盐；酸性残基例如羧酸的碱或有机盐；等等。药学上可接受的盐包括母体化合物的传统的无毒盐或季铵盐，其由例如无毒无机或有机酸形成。例如，这种传统的无毒盐包括衍生自无机酸的那些盐，所述无机酸例如为盐酸、氢溴酸、硫酸、氨基磺酸、磷酸、硝酸等；由有机酸制备的盐，所述有机酸例如为醋酸、丙酸、琥珀酸、羟基乙酸、硬脂酸、乳酸、苹果酸、酒石

酸、柠檬酸、抗坏血酸、棕榈酸、马来酸、羟基马来酸、苯基乙酸、谷氨酸、苯甲酸、水杨酸、磺胺酸、2-乙酰基苯甲酸、富马酸、甲苯磺酸、乙二磺酸、草酸、羟乙磺酸等。

可以利用常规化学方法由含有碱性或酸性部分的母体化合物合成本发明的药学上可接受的盐。通常，这种盐可以按照下述方式制备：使这些化合物的游离酸或碱形式与计量量的适当碱或酸在水或有机溶剂或二者的混合物中反应，有机溶剂通常优选无水介质，例如醚、醋酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈。适合的盐的明细可以在 *Remington's Pharmaceutical sciences*, 17 版, Mack 出版公司, 伊斯顿, PA, 1985, 1418 页中找到，其内容据此结合进来作为参考。

措辞“药学上可接受的”在本文中用来指下述那些化合物、物质、组合物和/或剂型：在合理的医学判断范围内，其适合用来与人类和动物的身体组织接触而不会带来过分的毒性、辐射、过敏反应或其它问题或并发症，其具有适当的利益/风险比。

用在组合中的化合物可以另外以溶剂化物、水合物或多晶型形式存在。这种其它形式的用途也意图包括在本发明内。

“治疗有效量”意图包括单独的本发明化合物的量或要求保护的化合物组合的量，或者与可以有效治疗患者的癌症的其它活性成分相组合的本发明化合物的量。可以对组合中的每个化合物的量进行选择，这样在给药该组合时，组合的作用就可以有效治疗患者的癌症。

如本文中所用的，“治疗”包括治疗哺乳动物尤其是人类的疾病状态，其包括：(a) 预防哺乳动物出现疾病-状态，尤其是在哺乳动物可能出现疾病-状态但是还未诊断出处于疾病-状态时；(b) 抑制疾病-状态，即使其停止发展；和/或(c) 缓解疾病-状态，即使疾病-状态衰退。

“干细胞”是能够自我更新和维持肿瘤生长和变异的极少的休眠细胞。

在一个实施方案中，“干细胞选择性的细胞毒剂”是杀死干细胞而不杀死增殖细胞的试剂。

在对示例性实施方案进行下列描述的过程中本发明的其它特征将会变得显而易见，这些示例性实施方案用以说明本发明但是并不意图对其进行限制。

已经证实 BCR/ABL 激酶抑制剂，例如式 (I) 化合物和伊马替尼可

以高度有效地防御 PH-阳性/依赖型 CML 和 ALL 白血病，包括在大多数病人体内产生完全的细胞生成应答。但是，使用伊马替尼时几乎没有病人能够获得症状的完全缓解。在大部分病人体内明显还有残余疾病，其显示为 PCT 阳性。这是因为存在休眠（非-增殖）的原生白血病干细胞，其对因 BCR/ABL 抑制而产生的细胞-杀死作用具有耐受性。有证据表明，非-增殖型白血病细胞和原生干细胞分别耐受 BCR/ABL 抑制剂，例如式 (I) 化合物和伊马替尼。

在 CML 的治疗中主要要考虑的是在疾病各阶段对批准药剂伊马替尼甲磺酰酯的耐受，最常见的耐受原因是 BCR-ABL 的变异（但是其它机理也已经被证实）。试验试剂例如达萨替尼（BMS-354825）是一种新的、口服的、多-靶标的 BCR-ABL 和 SRC 激酶或 AMN107 的激酶抑制剂，其靶向于 BCR-ABL 而非 SRC，该试验试剂经设计用以给出所有或部分机理而且其目前正处于临床试验阶段。对于 DML 而言第二个要考虑的是 BCR-ABL-阳性细胞或“残余疾病”持续作用于大多数进行伊马替尼治疗的病人体内，包括那些具有完全细胞生长应答的细胞。骨髓研究表明残余疾病至少部分存在于原生 CD34+祖细胞区室中，这说明伊马替尼可能不能有效地防御这些细胞群(Bhatia 等人, Blood 101: 4701, 2003)。而且，在 CD34+/BCR-ABL+祖细胞中检测到若干耐受伊马替尼的 ABL 激酶域突变(Chu 等人, Blood 105: 2093, 2005)，其为疾病最终复发的关键。CD34+原生 CML 祖细胞的特点是休眠性(Elrick 等, Blood 105: 1862, 2005)。

我们推测 BCR-ABL 抑制剂例如伊马替尼不能有效地杀死处于该非-增殖状态的 CML 细胞。通过对增殖型 K562 细胞和因营养损耗而处于休眠的细胞中的伊马替尼或达萨替尼的细胞毒性进行比较而对上述推测进行试验。通过细胞群的形成评价细胞毒性。伊马替尼(IC₅₀ 250-500 nM)和达萨替尼(IC₅₀ <1.00 nM)有效地杀死了增殖型 K562 细胞。但是，处于休眠培养状态的细胞的耐受性要大得多，这说明这些抑制剂在根除休眠的 CD34+祖细胞时不怎么有效。

BMS-214662 是处于 I 阶段临床开发的 FTI。与许多其它 FTI 不同，BMS-214662 对于各种人类肿瘤细胞都显示出很强的细胞毒活性，特别地，其细胞毒对于防御源于上皮的非-增殖型癌细胞具有高度选择性(Lee 等, Proceedings of the AACR 42: 260s, 2001)。

现在我们对在 K562 CML 细胞中的类似的选择性进行说明。BMS-214662 杀死休眠细胞(IC₅₀=0.7 uM)的能力比杀死增殖型 K562 细胞(IC₅₀=47.5 uM)的能力强 68-倍。由于 BCR-ABL 抑制剂和 BMS-214662 靶向于不同的细胞群(增殖型对比休眠型),因此当这些试剂结合使用时可能产生积极的治疗性相互作用。对休眠 K562 培养物的体外研究表明,在临床容易获得的浓度下由 BMS-214662 和达萨替尼组合可以制备得到超过加和值的细胞毒性(%细胞杀死:单独的达萨替尼=0%,单独的 BMS-214662=21%,组合=71%)。将 SC 移植到 SCID 小鼠中得到 K562 异种移植物,抗 K562 异种移植物的体内研究也显示 BMS-214662 和达萨替尼组合比单独的达萨替尼(P=0.0157)或单独的 BMS-214662(P=0.0002)产生更好的抗-白血病活性。这些结果突出显示了 BMS-214662 用于靶向休眠的祖细胞区室的潜在实用性,其中 BMS-214662 与靶向试剂例如达萨替尼组合后既经历 BCR-ABL-依赖型耐受机理又经历非-BCR-ABL-依赖型耐受机理,而且可能产生更持久的应答并抑制耐受性的出现。

与之前公开的使用单纯的抗肿瘤试剂治疗癌症的方法相比,包括本发明的方法的两种或多种抗-癌剂的选择性程度给治疗带来了优越性。尤其,使用具有互补的、基本上非-重叠的活性的两种或多种独立药物活性成分时,人们可以利用本发明的治疗方法独立且精确地改变组合的活性而无需合成具有特殊药物活性特性的单一药物。此外,这种组合能有效地靶向于增殖和非-增殖细胞。

BCR/ABL 抑制剂可以与式 II 化合物或式(III) 化合物同时或在之前或之后给药。在本发明的一个实施方案中,在式 I 化合物之前给药 BCR/ABL 抑制剂。如本文中所述的,术语“同时的”或“同时地”意指 BCR/ABL 抑制剂和式 II 化合物或式(III)化合物彼此均在 24 小时内、12 小时内、6 小时内或 3 小时内或更短时间内,或者基本上同时给药。

除了式(II)化合物或式(III)化合物与上述 BCR/ABL 抑制剂的组合之外,该组合还可以另外与至少一种附加试剂组合给药,所述附加试剂选自抗-增殖型细胞毒剂和抗-增殖型细胞抑制试剂,和/或使细胞成为“非-增殖型”或“休眠型”试剂,所述“非-增殖型”或“休眠型”在本文中指“抗-增殖型细胞抑制试剂”或“休眠试剂”,其可以任选给药于需要该治疗的病人。抗-增殖型细胞抑制试剂可以与上述组合或放射性治疗或细胞毒剂同

时或依次给药。

本发明的实施方案提供治疗和/或协同治疗各种癌症的方法，所述癌症包括但不限于下列癌症：

- 癌，包括膀胱癌(包括加速型和转移型膀胱癌)、乳腺癌、结肠癌(包括结肠直肠癌)、肾癌、肝癌、肺癌(包括小细胞和非-小细胞肺癌和肺腺癌)、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、泌尿生殖器管癌、淋巴系统癌、直肠癌、喉癌、胰腺癌(包括外分泌胰腺癌)、食道癌、胃癌、胆囊癌、宫颈癌、甲状腺癌和皮肤癌(包括鳞状上皮细胞癌)；

- 淋巴系的造血肿瘤，包括白血病、急性淋巴母细胞性白血病、急性淋巴性白血病、B-细胞淋巴瘤、T-细胞淋巴瘤、Hodgkins 淋巴瘤、非-Hodgkins 淋巴瘤、毛状细胞淋巴瘤、组织细胞淋巴瘤和 Burkitts 淋巴瘤；

- 骨髓系的造血肿瘤，包括急性和慢性骨髓性白血病、骨髓发育异常综合征、骨髓性白血病和早幼粒细胞性白血病；

- 中枢和外围神经系统肿瘤，包括星形细胞瘤、成神经细胞瘤、神经胶质瘤和神经鞘病；

- 间叶细胞源肿瘤，包括纤维肉瘤、横纹肌肉瘤和骨肉瘤；以及

- 其它肿瘤，包括黑素瘤、着色性干皮病、角化棘皮瘤、精原细胞瘤、甲状腺小囊癌和畸胎瘤。

本发明用于治疗加速型或转移型膀胱癌、胰腺癌、前列腺癌、非-小细胞肺癌、结肠直肠癌和乳腺癌。

本发明提供用于治疗 and/或协同治疗各种非-癌的增殖型疾病的方法。所述组合可用于治疗 GIST、乳腺癌、胰腺癌、结肠癌、NSCLC、CML 和 ALL (急性淋巴母细胞性白血病或费城染色体阳性急性淋巴母细胞性白血病)、肉瘤和各种小儿癌症。

本发明的组合可以用于治疗癌症，例如慢性骨髓性白血病 (CML)、胃肠基质肿瘤 (GIST)、小细胞肺癌 (SCLC)、非-小细胞肺癌 (NSCLC)、卵巢癌、黑素瘤、肥大细胞病、生殖细胞癌肿瘤、急性骨髓性白血病 (AML)、小儿肉瘤、乳腺癌、结肠直肠癌、胰腺癌、前列腺癌和其它已知的与蛋白酪氨酸激酶有关的癌，例如 SRC、BCR-ABL 和 c-KIT。本发明的化合物还可以用于治疗对靶向于 BCR-ABL 和 c-KIT，例如 Gleevec® (伊马替尼，STI-571) 的化疗试剂敏感和耐受的癌。

如本文中所述的，措辞“放射治疗”包括但不限于 x-射线或伽马射

线，其为由外部施加的源例如光束传送而来的射线，或者为通过植入小的放射性源传送而来的射线。放射治疗还可以被认为是抗-增殖型细胞毒剂。

如本文中所述的，措辞“抗-肿瘤试剂”与“化疗试剂”同义，其指防止癌细胞繁殖的化合物（即，抗-增殖试剂）。通常，本发明的试剂分为两类，抗-增殖型细胞毒剂和抗-增殖型细胞抑制试剂。细胞毒剂通过下述方式防止癌细胞繁殖：（1）干预细胞复制 DNA 的能力和（2）诱使癌细胞中的细胞死亡和/或凋亡。抗-增殖型细胞抑制或休眠试剂通过对细胞信号转换过程进行调节、干预或抑制而产生作用，而该信号转换过程调节细胞的增殖。大部分化疗试剂为细胞毒剂并且靶向于增殖型细胞。

可以与本发明的组合组合使用的试剂在 WO2005/013938 中进行了描述，其全文据此结合入本文作为参考。

对本领域熟练技术人员而言，安全有效地给药大部分这些化疗试剂的方法是公知的。此外，标准文献中也对其给药方式进行了描述。例如，许多化疗试剂的给药方式在“Physicians' Desk Reference”（PDR），例如 1996 版（Medical Economics company, Montvale, NJ07645-1742, USA）中进行了描述；其内容结合入本文作为参考。

本发明的实施方案还包括可用于治疗癌症的药物组合物，其包括给药治疗有效量的本发明的组合，并且包括或不包括药学上可接受的载体或稀释剂。本发明的药物组合物包括式 II 化合物、式(III)化合物和/或干细胞选择性细胞毒剂以及 BCR/ABL 抑制剂。本发明的药物组合物另外还包括任选的抗-增殖型细胞毒剂、任选的休眠试剂和药学上可接受的载体。本发明的组合物还可以进一步包括一种或多种药学上可接受的其它成分，例如明矾、稳定剂、抗菌剂、缓冲剂、着色剂、调味剂、助剂，等等。本发明的组合的化合物和本发明的组合物可以口服给药或肠道外给药，包括经静脉内、肌肉内、腹膜内、皮下、直肠和局部途径给药。

对于口服使用的情况，本发明的组合的化合物和组合物可以例如以片剂或胶囊、粉末、可分散的颗粒或扁胶囊形式给药，或者作为水溶液或悬浮液给药。在口服用的片剂的情况下，通常使用的载体包括乳糖、玉米淀粉、碳酸镁、滑石和糖，而且通常加入润滑剂，例如硬脂酸镁。对于以胶囊形式口服给药的情况，可用的载体包括乳糖、玉米淀粉、碳酸镁、滑石和糖。当将含水悬浮液用于口服给药时，通常加入乳化剂和

/或悬浮剂。此外，还可以向口服组合物中加入甜味剂和/或调味剂。对于肌肉内、腹膜内、皮下和静脉内使用的情况而言，通常使用活性成分的无菌溶液，而且应该适当调整和缓冲溶液的 pH。对于静脉内使用的情况而言，为了使制剂具有等渗压，应该调节溶质的总浓度。在本发明的另一个实施方案中，将组合的化合物或其药学上可接受的盐与用于静脉内给药的磺基丁基醚-7- β -环式糊精或 2-羟基丙基- β -环式糊精一起配制。

为了制备根据本发明的栓剂，首先融化低沸点蜡，例如脂肪酸甘油酯混合物或可可油，并且例如通过搅拌而将活性成分均匀分散在蜡中。然后将熔融混合物方便地倾注到一定大小的铸模中并使其冷却而固化。

液体制剂包括溶液、悬浮液和乳液。这种制剂的例子是用于肠道外注射的水或水/丙二醇溶液。液体制剂还可以包括用于鼻内给药的溶液。

适于吸入给药的气溶胶制剂包括溶液和粉末形式的固体，其可以与药学上可接受的载体，例如惰性压缩气体组合。

还包括意图使其进行下述转化的液体制剂：在即将使用之前转化为用于口服或肠道外给药的液体制剂。

这种液体形式包括溶液、悬浮液和乳液。

在本文中描述的组合化合物还可以经皮肤传送。可以采用乳霜、洗液、气溶胶和/或乳液形式，而且可以按照本领域中用于该目的的常规方式将经皮肤给药的组合物包括在皮肤贴基质中或者为储存形式。

组合还可以与其它公知的疗法组合使用，其中疗法的选择是因为其针对所治疗的病症具有特殊的抗病用途。

如果将药物制成固定剂量，则所用的本发明的组合组合物中的活性成分应在本领域熟练技术人员已知的剂量范围内。可选地，组合的化合物可以以适当剂量分别给药。

本发明的实施方案涉及式(II)化合物或式(III)化合物与 BCR/ABL 抑制剂的组合，(式 III 化合物为 FTI 抑制剂，但是该化合物的活性可能不依赖于特定的作用机理)，其中式(II)化合物或式(III)化合物为休眠细胞的选择性细胞毒剂，而且其可以用作干细胞的选择性细胞毒剂。BCR/ABL 抑制剂，例如式(I)化合物和伊马替尼已知可以治疗增殖型癌细胞，并因此可以有效地治疗诸如 CML 和 ALL 的癌。但是，BCR/ABL 抑制剂，例

如式(I)化合物和伊马替尼已知不能影响休眠细胞和干细胞。因此,休眠细胞的选择性细胞毒剂或干细胞的选择性细胞毒剂与 BCR/ABL 抑制剂的组合可以用于除去或根除由耐药性白血病干细胞引起的残余疾病。

BCR/ABL 抑制剂的例子包括但不限于式(I)化合物、伊马替尼(Gleevec®、STI-571、Novartis)、AMN-107 (Novartis)、SKI 606 (Schering Plough)、AZD0530 (Astra Zeneca)和 AP23848 (ARIAD)。其它 BCR/ABL 抑制剂可以通过本领域熟练技术人员已知的方法确定。

本发明的实施方案进一步涉及式(II)化合物或其药学上可接受的盐与式(I)化合物或其可接受的盐和/或其水合物的组合。

本发明的实施方案进一步涉及一种治疗 CML 和/或 ALL 的方法,其包括给药式(II)化合物与式(I)化合物的组合。本发明进一步由休眠细胞的选择性细胞毒剂或干细胞的选择性细胞毒剂与 BCR/ABL 抑制剂(其中,BCR/ABL 抑制剂可以为 Src 抑制剂和/或 BCR/ABL 抑制剂)的组合来体现。休眠细胞的选择性细胞毒剂由式(II)和式(III)化合物代表。其它干细胞的选择性细胞毒剂可以由下述方法确定。

干细胞的分离:多性 Ph⁺干细胞为原生的、休眠的,并且在培养物中保持若干天不应答细胞因子。在不含补充了生长因子的血清的培养物中,使用 CFSE 跟踪细胞的分裂,使用 CD34 跟踪分化并使用膜联蛋白 V 跟踪细胞的凋亡,可以通过荧光-活化的细胞分类技术分离非-增殖型、CD34⁺CML 干细胞(Erllick 等,2004, BLOOD 在线提前公开,2004年11月4日)。

然后用研究用的试剂处理干细胞,以确定试剂能否杀死干细胞。

研究构思和方法:

- 使 K562 细胞保持在 RPMI-1640 和 10% FCS 中
- 将增殖(P)细胞定义为:在第 0 天培养开始后第 2 天获得的处于对数增长阶段的细胞,培养开始的浓度为 3×10^4 细胞/mL
- 将休眠(Q)细胞定义为:在培养开始后第 8 天获得的处于休眠生长阶段的细胞,培养开始的浓度为 3×10^4 细胞/mL 并且培养基不变
- 在结果部分的单个附图说明中对其它方法进行了详细说明。

结果:

图 2. BMS-214662 在体内杀死大量克隆源性肿瘤细胞,并且对非-增殖型细胞特别有效。(A)用 FACS 分析法分析肿瘤的异种移植物,其显

示只有 20%的肿瘤细胞为增殖型。大部分肿瘤细胞处于非-增殖(G0)生长阶段。通过向带有 HCT-116 人类结肠癌的小鼠体内连续皮下输液而对固体肿瘤内的肿瘤细胞进行长时间的 BrdU 标记(24 h), 从而鉴别非-增殖细胞。(B) BMS-214662 杀死>90%的克隆源性细胞, 绝大多数这种细胞为非-增殖细胞。(C) BMS-214662 杀死休眠细胞的能力大于杀死增殖细胞的能力。

- 在对伊马替尼-敏感和耐受的 CML 的处理中, 达萨替尼是一种比 BMS-214662 更有效的试剂, 但是其不能根除非-增殖干细胞

- BMS-214662 优先防御非-增殖而非增殖型白血病干细胞。

- 达萨替尼和 BMS-214662 在体外和体内均具有高度的协同性

- 在临床上获得用以使 BMS-214662 提高达萨替尼的抗-白血病活性所需的血浆水平

- 这些结果突出显示, 在对 CML 的处理中靶向休眠白血病干细胞的 BMS-214662 与达萨替尼组合的潜在治疗实用性, 而达萨替尼靶向耐受伊马替尼的 BCR-ABL-依赖型和-独立型机理

- 在伊马替尼-耐受型/-不耐受型 CML 和费城染色体阳性的急性淋巴细胞性白血病(Ph+ALL)中进行达萨替尼单疗阶段 II 的试验-'START'项目-, 该项目现已结束; 此次会议上将提供原始数据, 而且长期的试验工作还在继续进行。

参考文献

1. Schindler T 等, *Science* 2000; 289: 1938-42
2. Gorre ME 等, *Science* 2001; 293: 876-80
3. Shah NP 等, *Science* 2004; 305: 399-401
4. Bhatia R 等, *Blood* 2003; 101: 4701-7
5. Li S 等, ASH 年会 2005; 海报陈述 1990
6. Chu S 等, *Blood* 2005; 105: 2093-8
7. Elrick LJ 等, *Blood* 2005; 105: 1862-6
8. O'Hare T 等, *Cancer Res* 2005; 65: 4500-5
9. Shah NP 等, *Science* 2004; 305: 399-401
10. Talpaz M 等, *J Clin Oncol* 2005; 23(16S): 564s (摘要 6519)
11. Sawyers CL 等, *J Clin Oncol* 2005; 23(16S): 565s (摘要 6520)

-
12. Peng C 等, ASH 年会 2005; 海报陈述 2861
 13. Copland M 等, ASH 年会 2005; 口头陈述 695
 14. Lee FYF 等, Proceedings of the AACR 2001; 42: 260s
 15. Copland M 等, ASH 年会 2005; 口头陈述 693

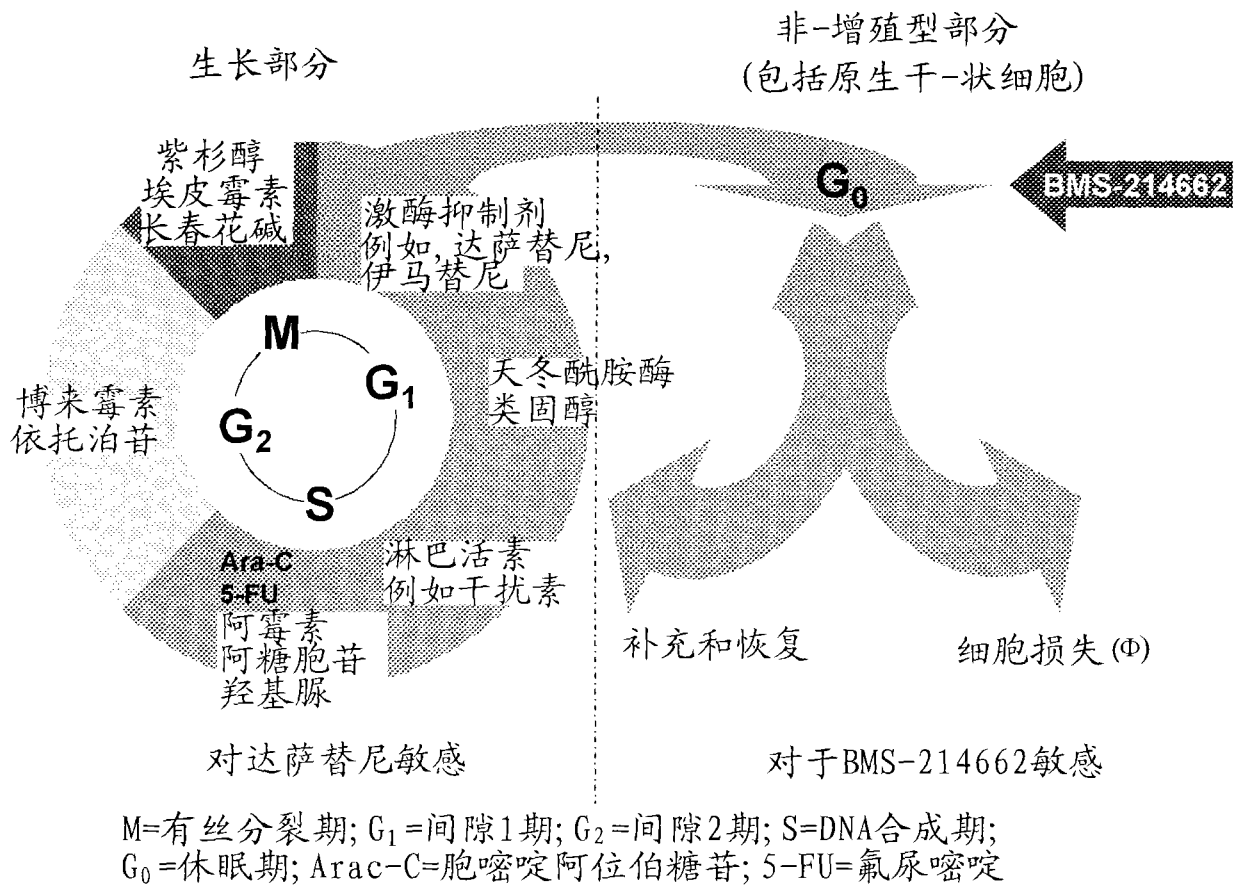
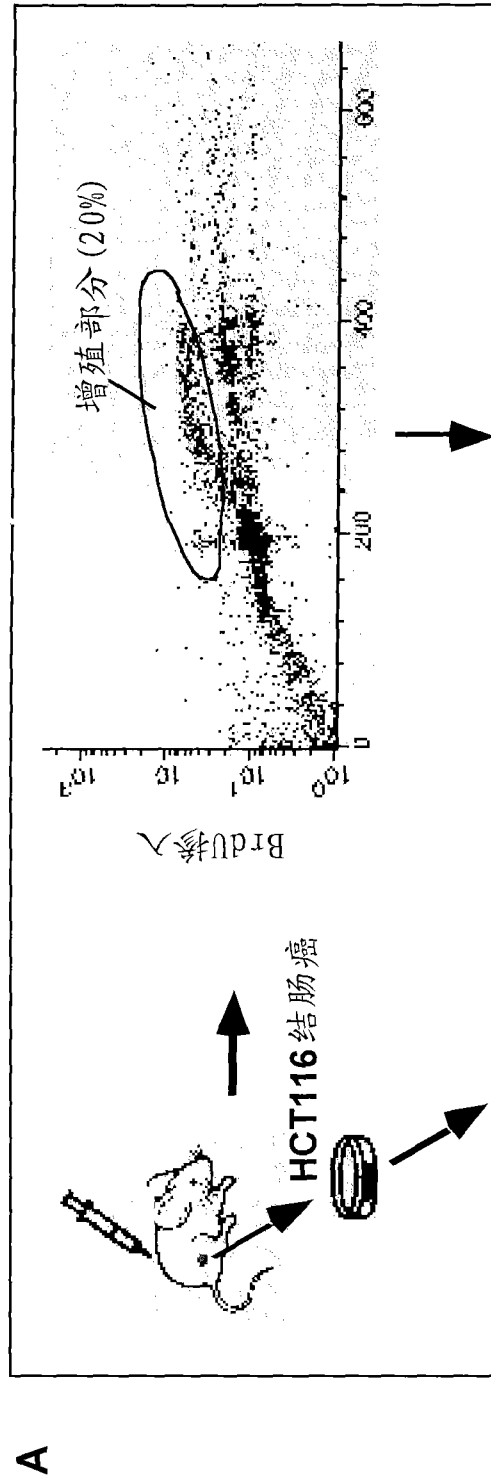


图 1



BrdU=5-溴-2-脱氧尿苷

图 2

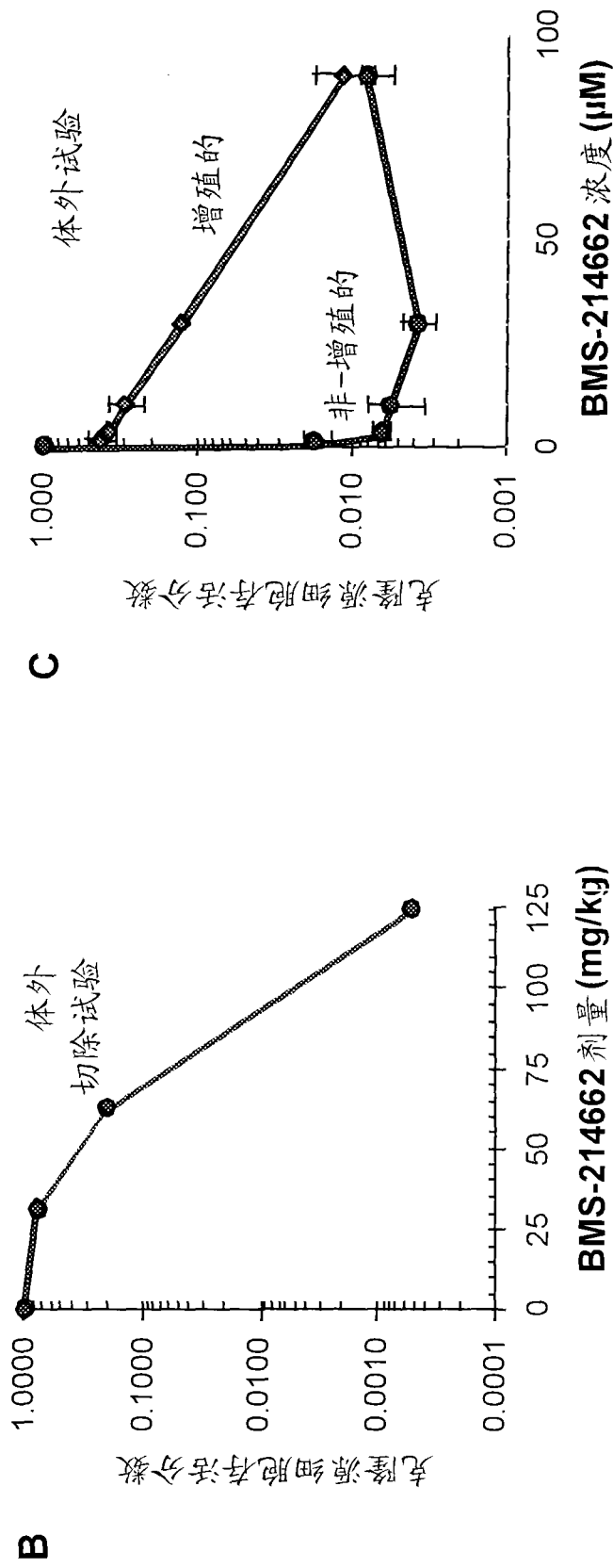


图 2 (续)

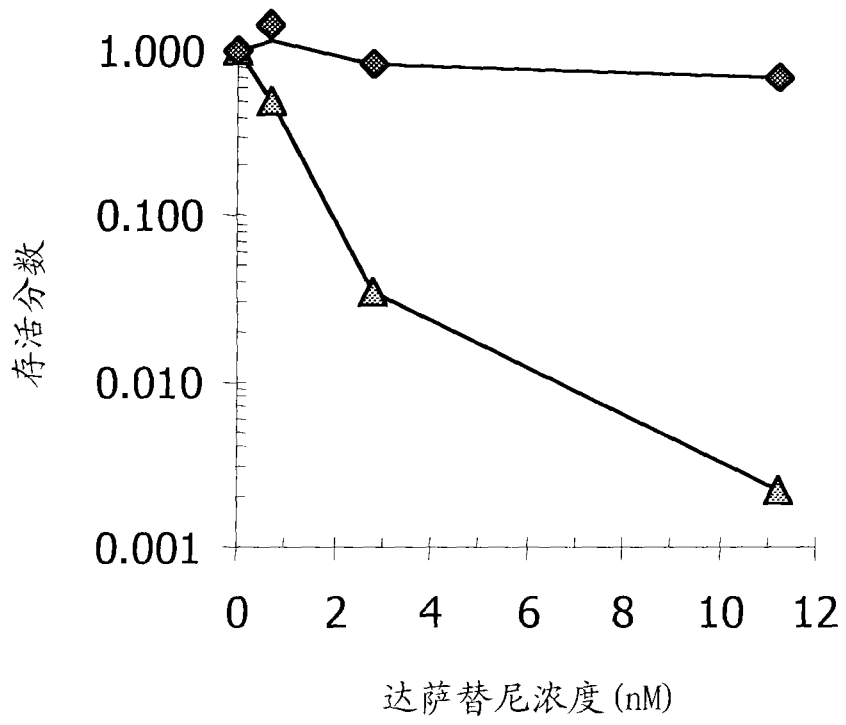


图 3

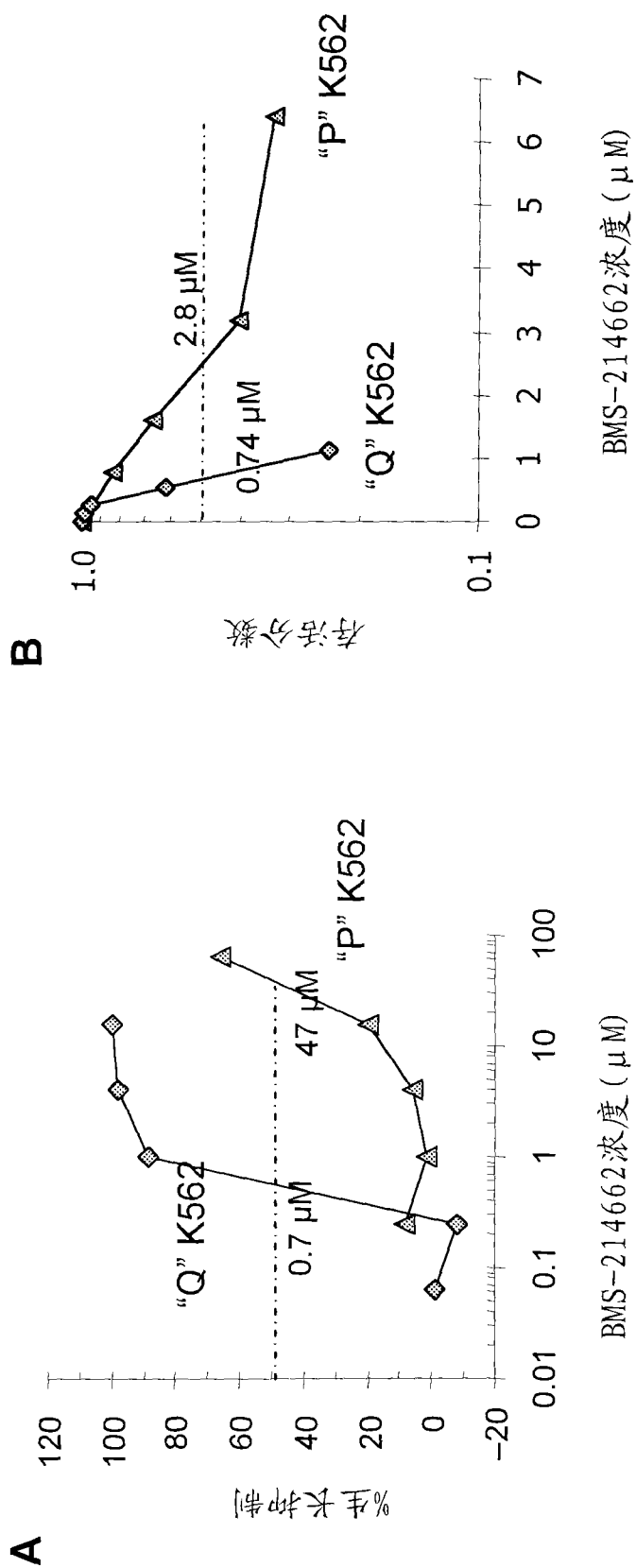
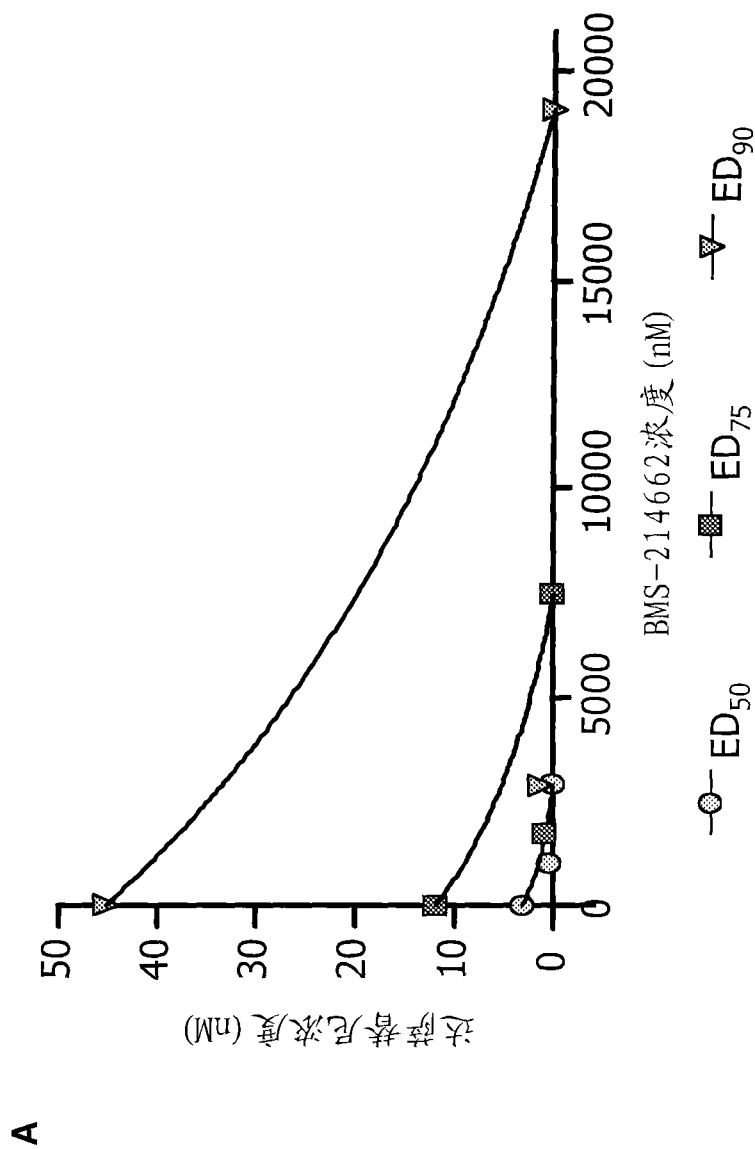


图 4



ED=有效剂量; 定义为对下标数字所示的细胞百分数产生细胞毒素作用所需的化合物量

图 5

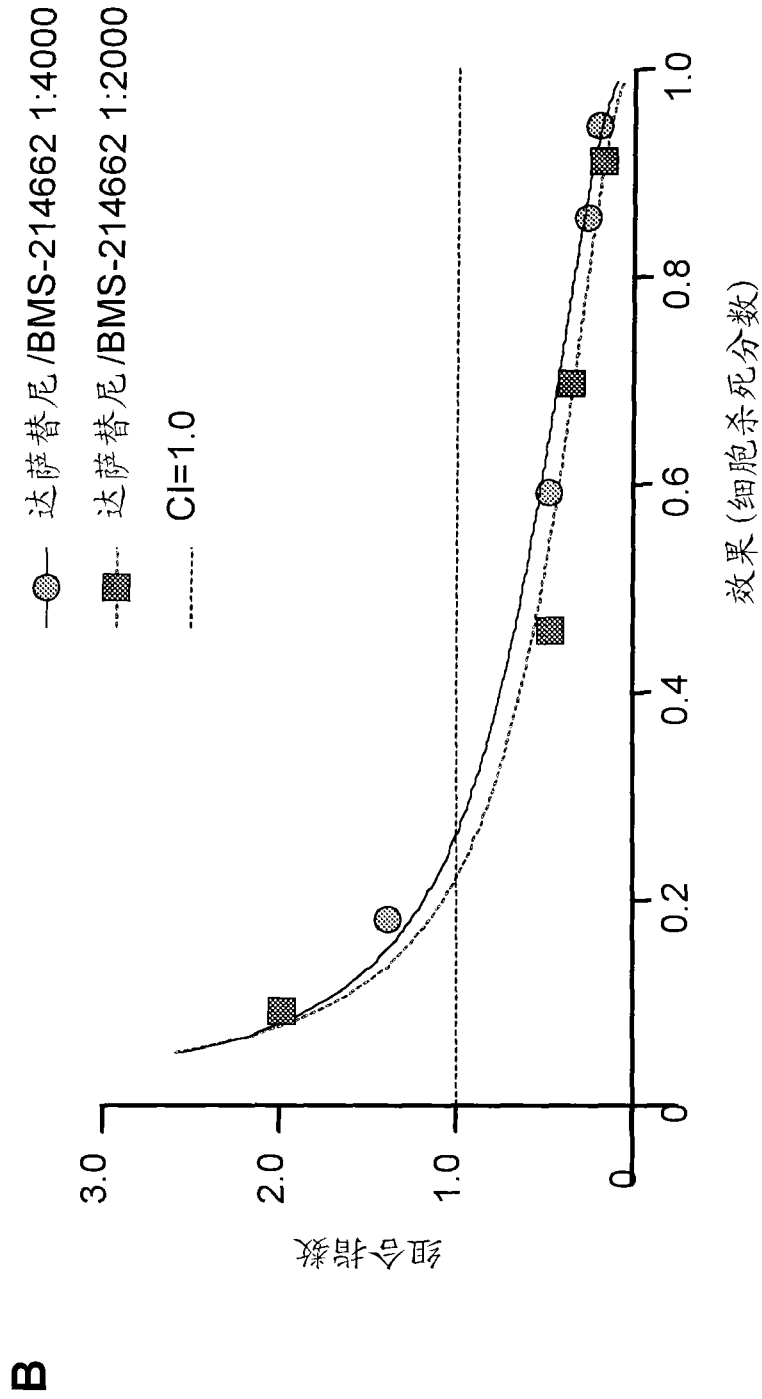


图 5 (续)

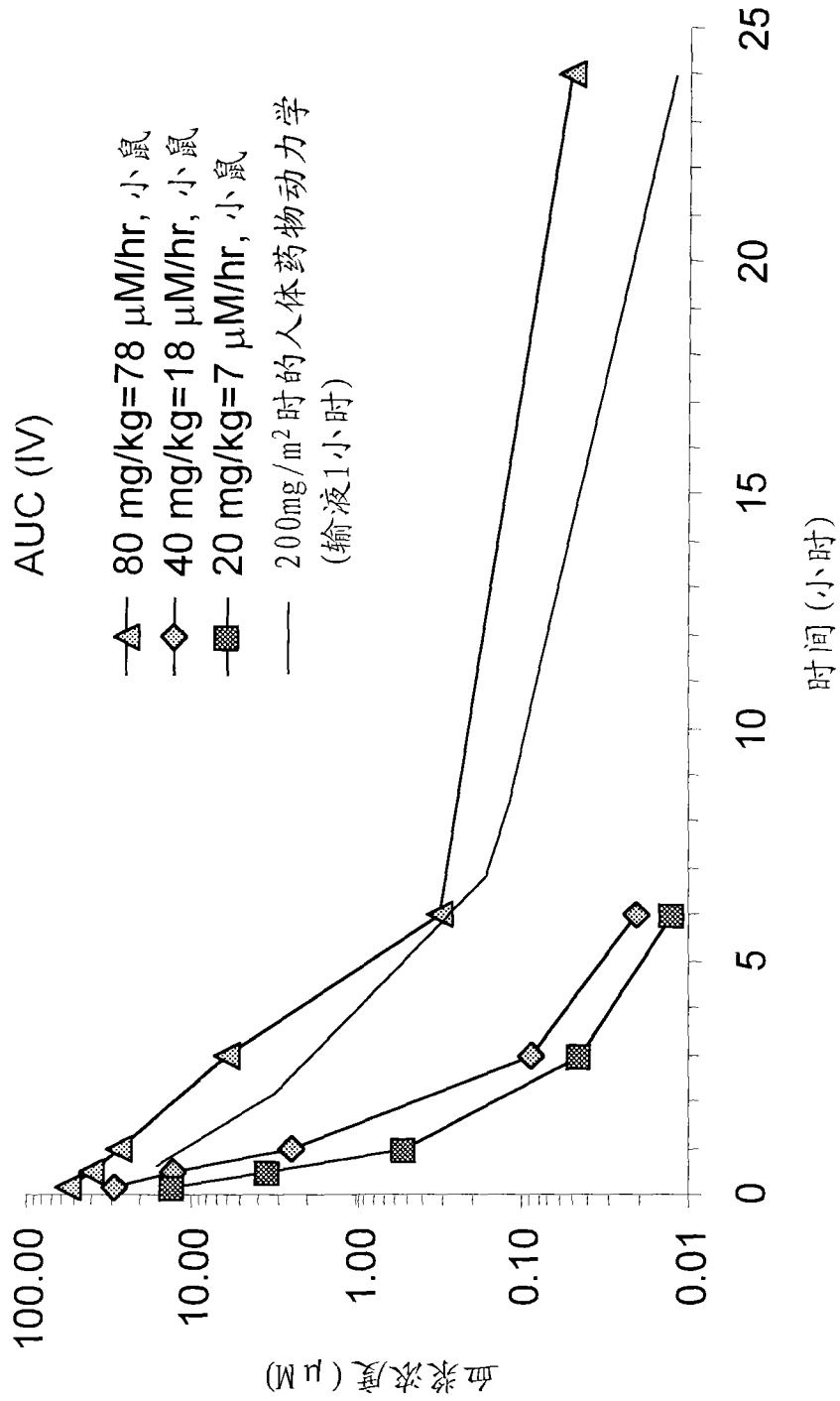


图 6

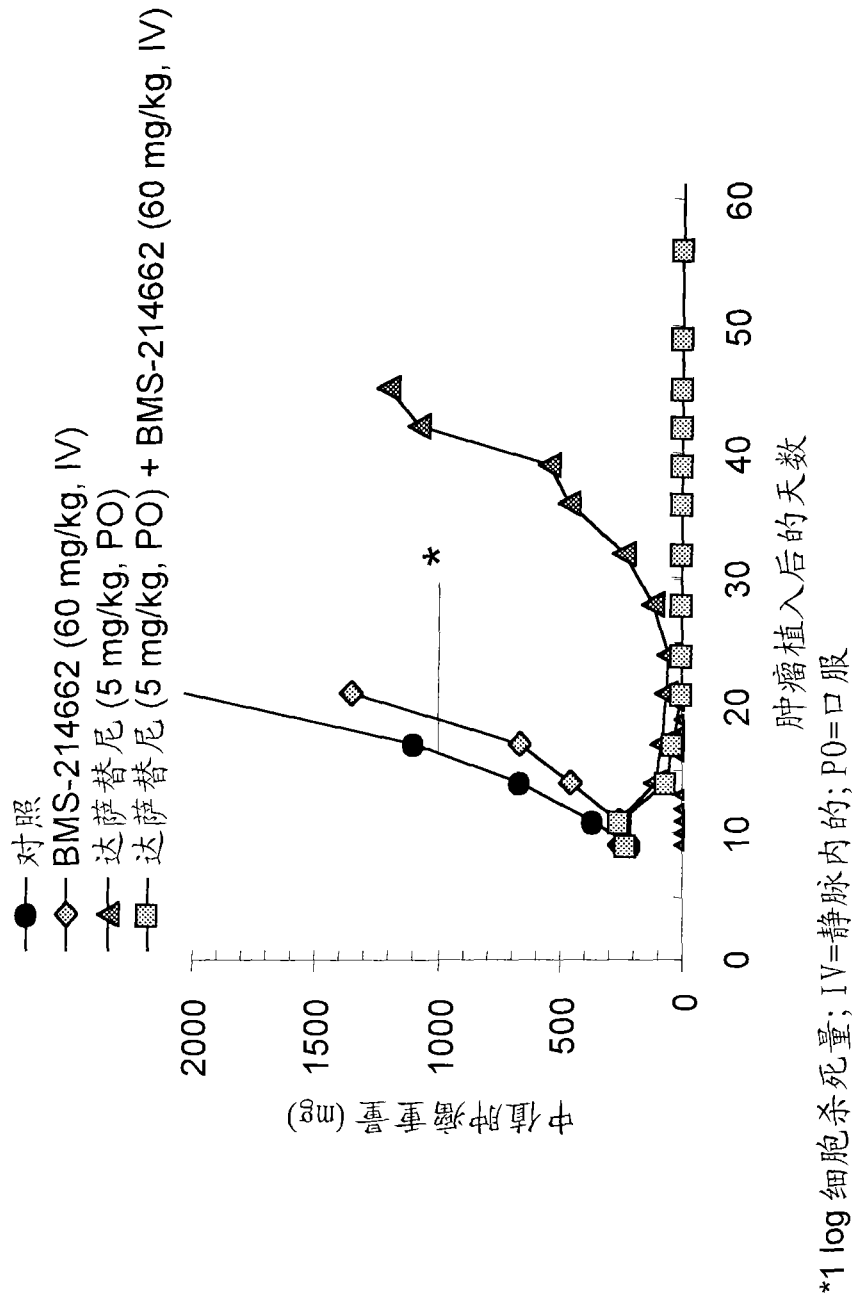
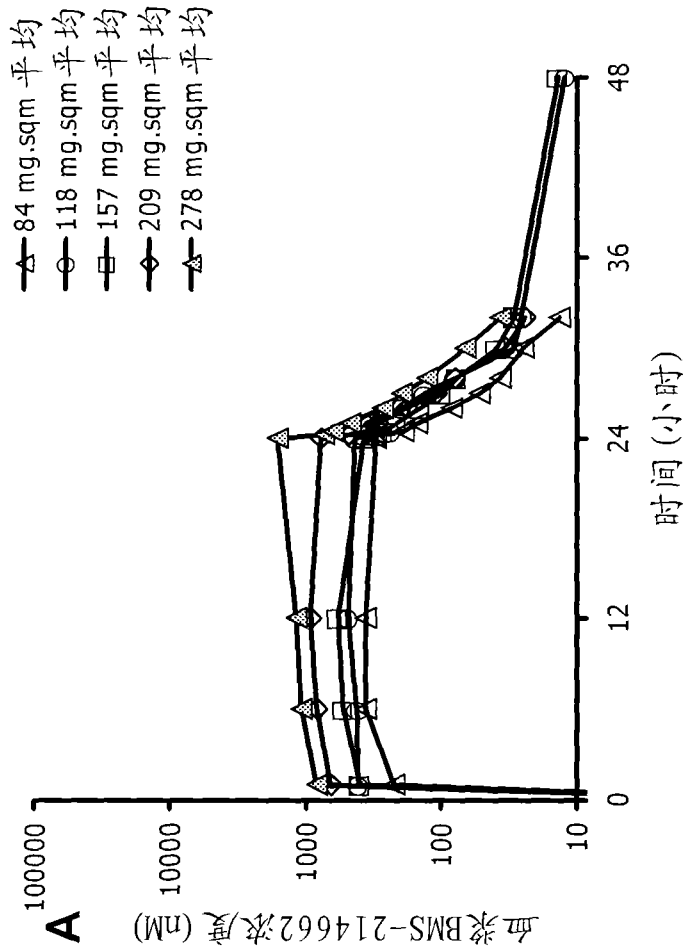
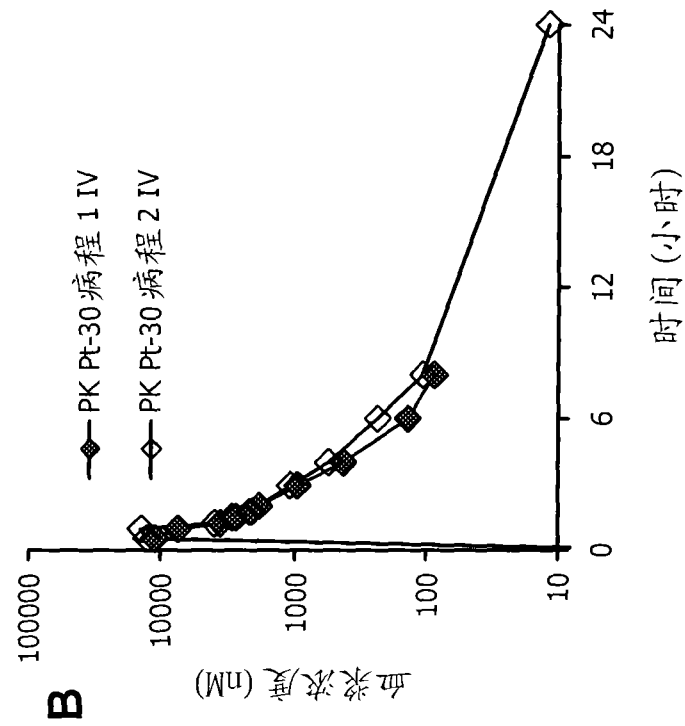


图 7



IV=静脉内的; PO=口服; PK Pt-30=由研究项目CA158003获得的病人#30的药物动力学

图 8