



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101998865 A

(43) 申请公布日 2011.03.30

(21) 申请号 200880118363.8

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2008.11.26

A61K 45/06 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61K 31/517 (2006.01)

61/004,561 2007.11.28 US

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 35/04 (2006.01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

A61K 31/4709 (2006.01)

2010.05.28

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2008/013172 2008.11.26

(87) PCT申请的公布数据

WO2009/073139 EN 2009.06.11

(71) 申请人 OSI 制药公司

地址 美国纽约

(72) 发明人 安德鲁·约翰·加顿

马里兰·罗森菲尔德·弗兰克林

(74) 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限
责任公司 11219

代理人 刘慧 杨青

权利要求书 9 页 说明书 26 页 附图 12 页

(54) 发明名称

使用 EGFR 激酶抑制剂与 C-KIT 抑制剂的组
合治疗

(57) 摘要

本发明提供了治疗患者中的肿瘤或肿瘤转移的组合物和方法，其包括在存在或不存在另外的药剂或治疗诸如其他抗癌药物或放射疗法的情况下，同时或按序地将治疗有效量的 EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂的组合施用至患者。可以用于实施本发明的 EGFR 激酶抑制剂的优选示例是化合物盐酸厄洛替尼（也称为 TARCEV A[®]）。可以用于实施本发明的 KIT 激酶抑制剂的优选示例是 OSI-930 和 OSI-817。

1. 治疗患者中的肿瘤或肿瘤转移的方法,所述方法包括同时或按序地将治疗有效量的 EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂的组合施用至所述患者。

2. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述 EGFR 激酶抑制剂是厄洛替尼且所述 KIT 激酶抑制剂是 3-[(喹啉-4-基甲基)氨基]-N-[4-(三氟甲氧基)苯基]噻吩-2-甲酰胺或其药学上可接受的盐。

3. 如权利要求 1 所述的方法,其中患者是因 NSCL 或胰腺癌而被治疗的人类。

4. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述 EGFR 激酶抑制剂和所述 KIT 激酶抑制剂在同一种制剂中被共同施用至患者。

5. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述 EGFR 激酶抑制剂和所述 KIT 激酶抑制剂在不同的制剂中被共同施用至患者。

6. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述 EGFR 激酶抑制剂和所述 KIT 激酶抑制剂通过相同的途径被共同施用至患者。

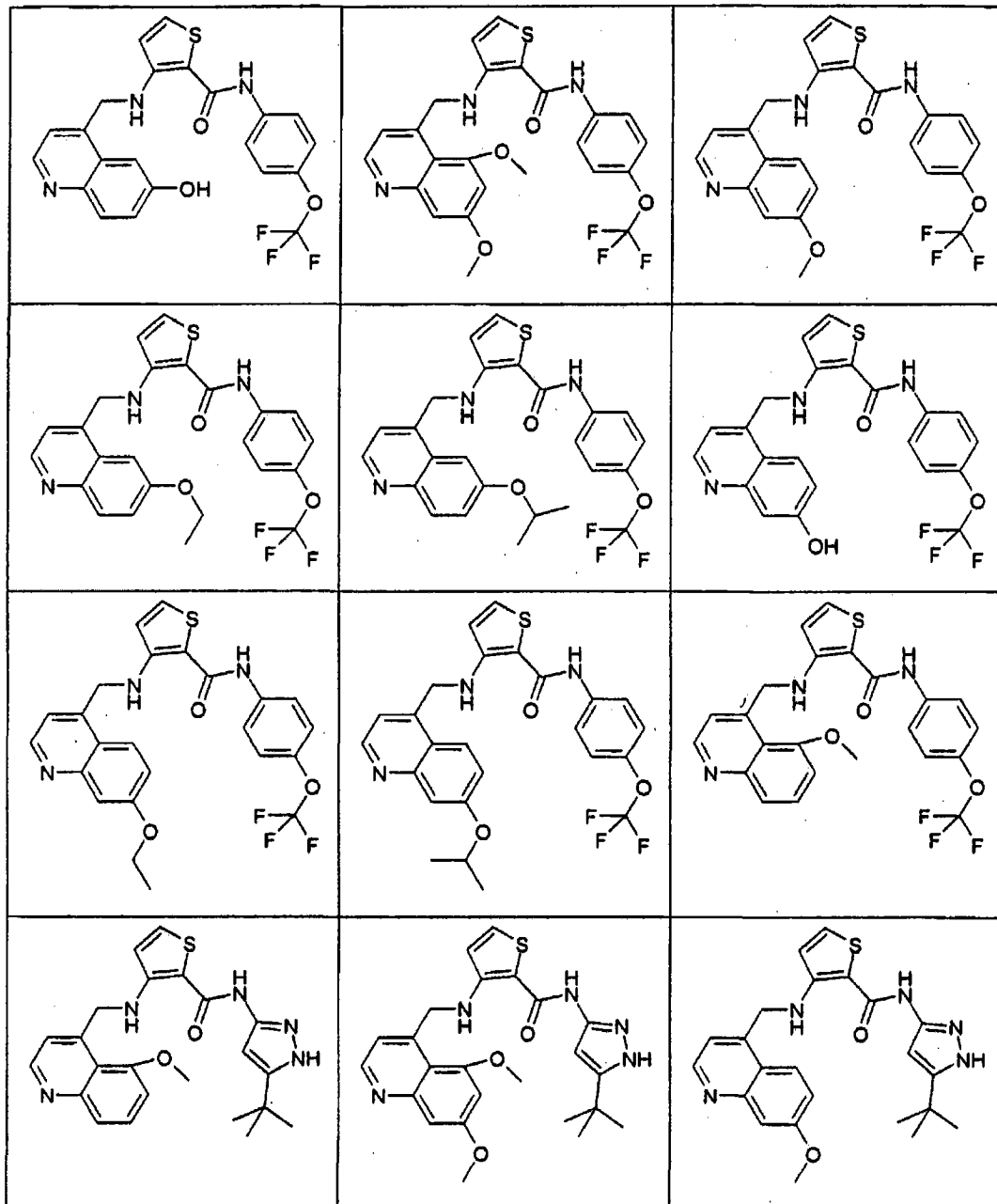
7. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述 EGFR 激酶抑制剂和所述 KIT 激酶抑制剂通过不同的途径被共同施用至患者。

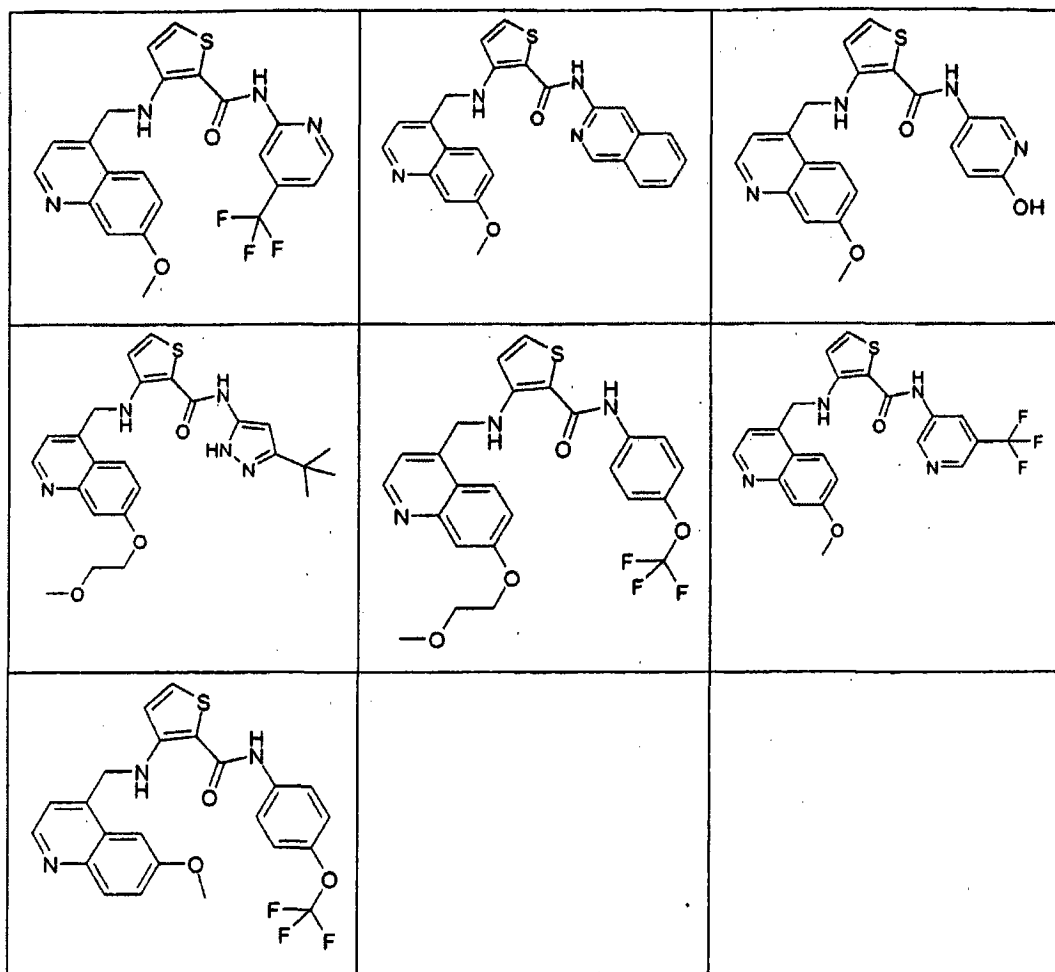
8. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述 EGFR 激酶抑制剂是有机小分子、特异性结合至 EGFR 的抗体或抗体片段。

9. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述 EGFR 激酶抑制剂包括厄洛替尼或其盐。

10. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述 KIT 激酶抑制剂包括 3-[(喹啉-4-基甲基)氨基]-N-[4-(三氟甲氧基)苯基]噻吩-2-甲酰胺或其药学上可接受的盐。

11. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述 KIT 激酶抑制剂选自:



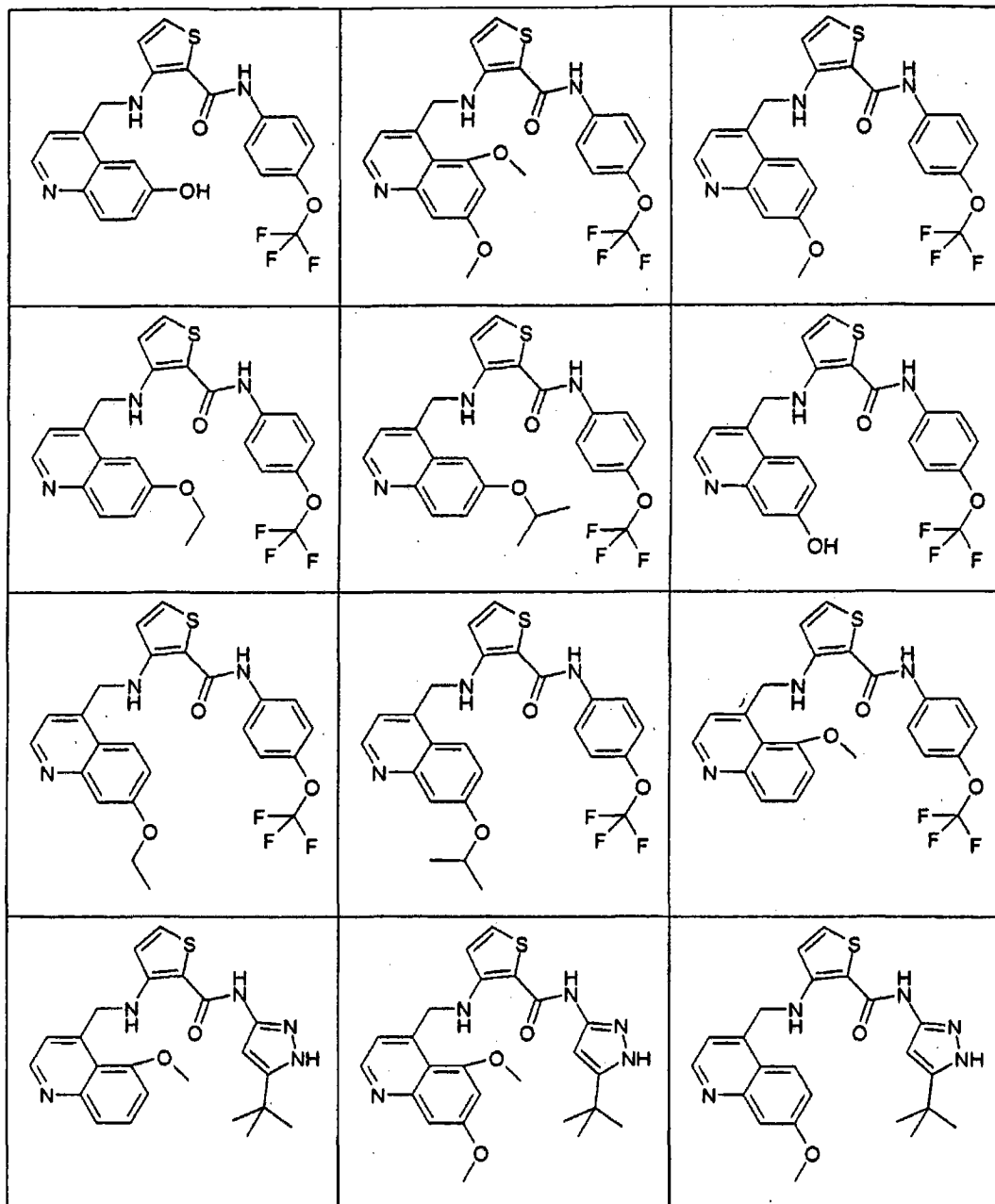


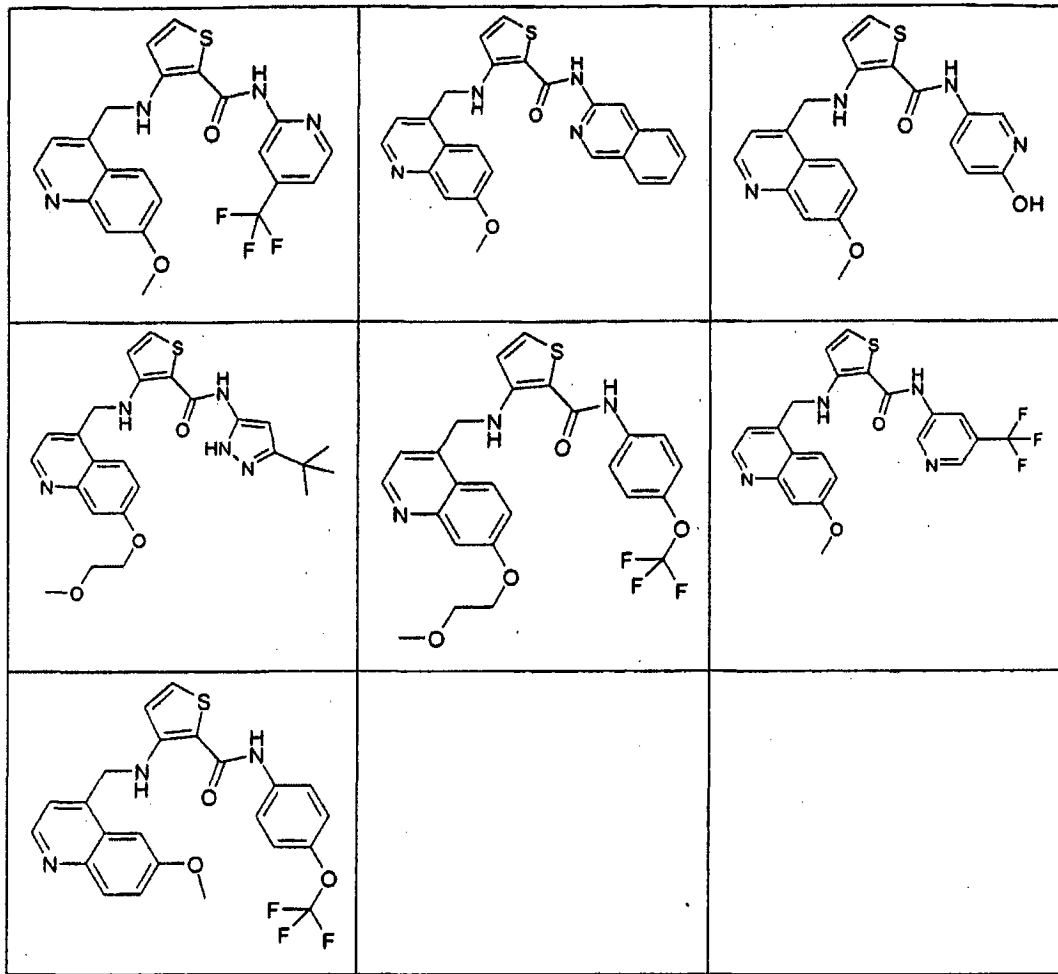
12. 如权利要求 1 所述的方法,所述方法另外包括将一种或多种其他抗癌剂施用至所述患者。

13. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述施用至所述患者是同时的。

14. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述施用至所述患者是按序的。

15. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述 EGFR 激酶抑制剂是厄洛替尼且所述 KIT 激酶抑制剂选自下述物质或其药学上可接受的盐:





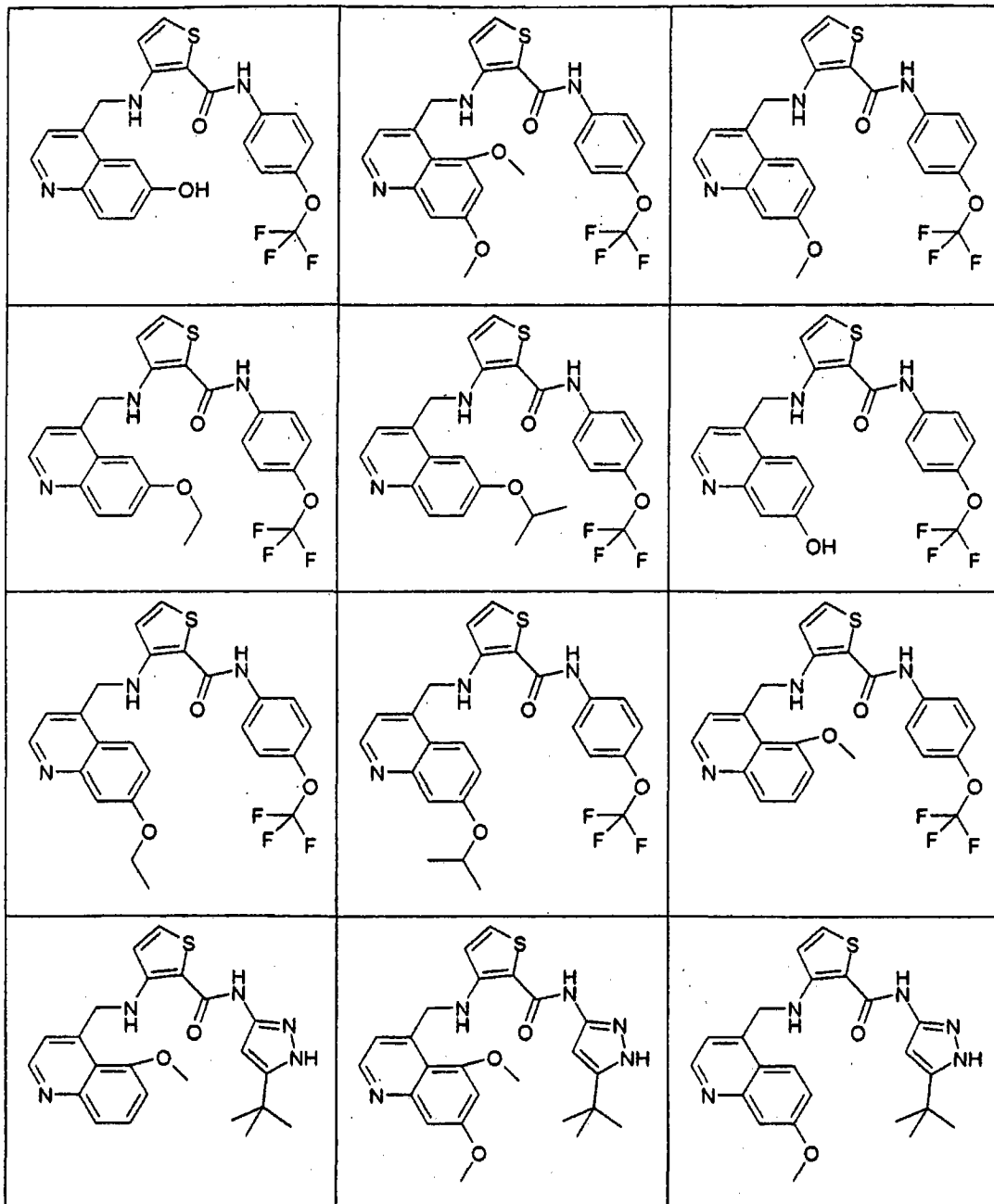
16. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述肿瘤或肿瘤转移的细胞对用作为单一药剂的 EGFR 抑制剂进行的治疗是相对不敏感的或难治的。

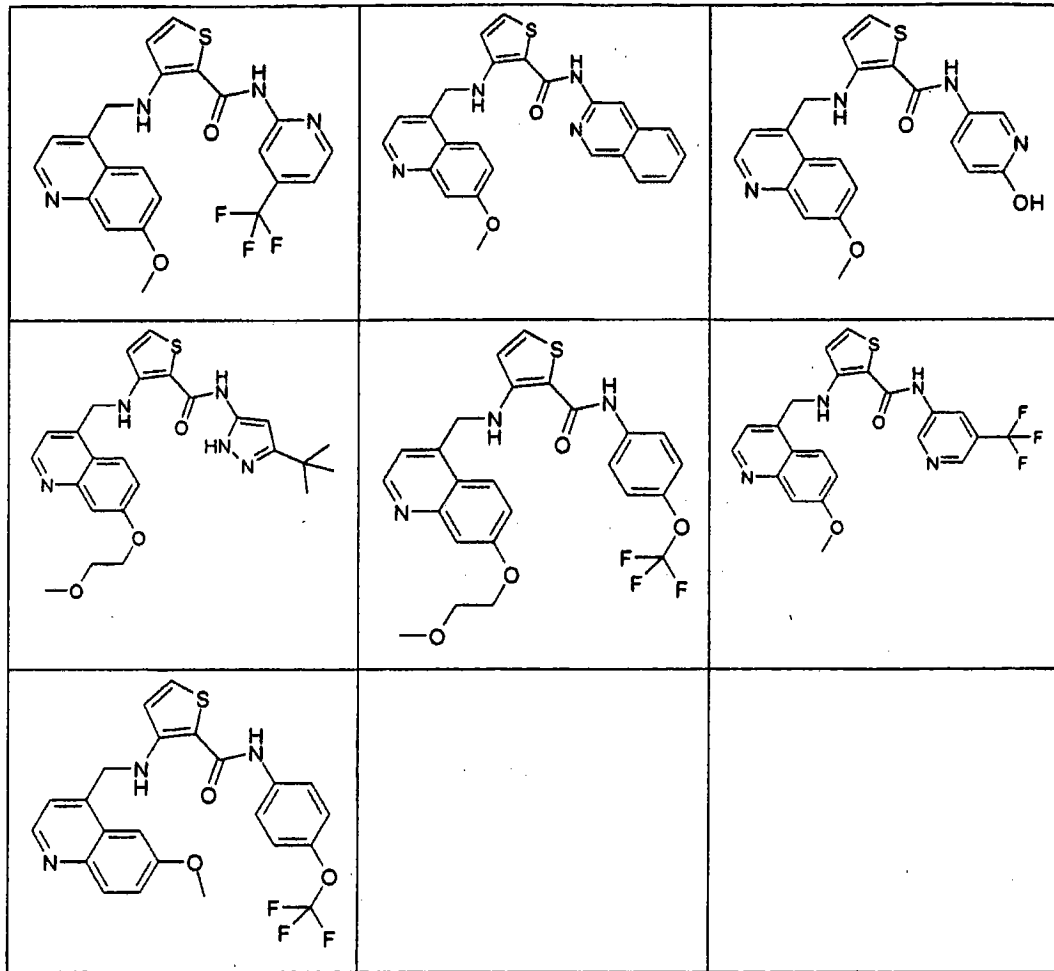
17. 一种治疗癌症的方法,所述方法包括将一定量的 EGFR 激酶抑制剂或其药学上可接受的盐施用至需要这种治疗的受试者,直到对这种 EGFR 抑制剂来说,所述癌症是难治的;以及之后施用一定量的 KIT 激酶抑制剂或其药学上可接受的盐。

18. 如权利要求 17 所述的方法,其中所述 EGFR 激酶抑制剂包括厄洛替尼或其盐。

19. 如权利要求 17 所述的方法,其中所述 KIT 激酶抑制剂包括 3-[(喹啉-4-基甲基)氨基]-N-[4-(三氟甲氧基)苯基]噁吩-2-甲酰胺或其药学上可接受的盐。

20. 如权利要求 17 所述的方法,其中所述 KIT 激酶抑制剂选自下述物质或其药学上可接受的盐:





21. 如权利要求 17 所述的方法,所述方法另外包括将一种或多种其他抗癌剂施用至所述患者。

22. 如权利要求 17 所述的方法,其中所述 EGFR 激酶抑制剂是厄洛替尼且所述 KIT 激酶抑制剂包括 3-[(喹啉-4-基甲基)氨基]-N-[4-(三氟甲氧基)苯基]噻吩-2-甲酰胺或其药学上可接受的盐。

23. 如权利要求 17 所述的方法,其中当已经开始施用所述 KIT 激酶抑制剂时,将 EGFR 抑制剂与所述 KIT 激酶抑制剂组合施用。

24. 如权利要求 17 所述的方法,其中所述癌症选自肺癌、胰腺癌、结肠癌或乳腺癌。

25. 用于治疗对用作为单一药剂的 EGFR 激酶抑制剂进行的治疗是难治的患者中的肿瘤或肿瘤转移的方法,所述方法包括同时或按序地将治疗有效量的 EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂的组合施用至所述患者。

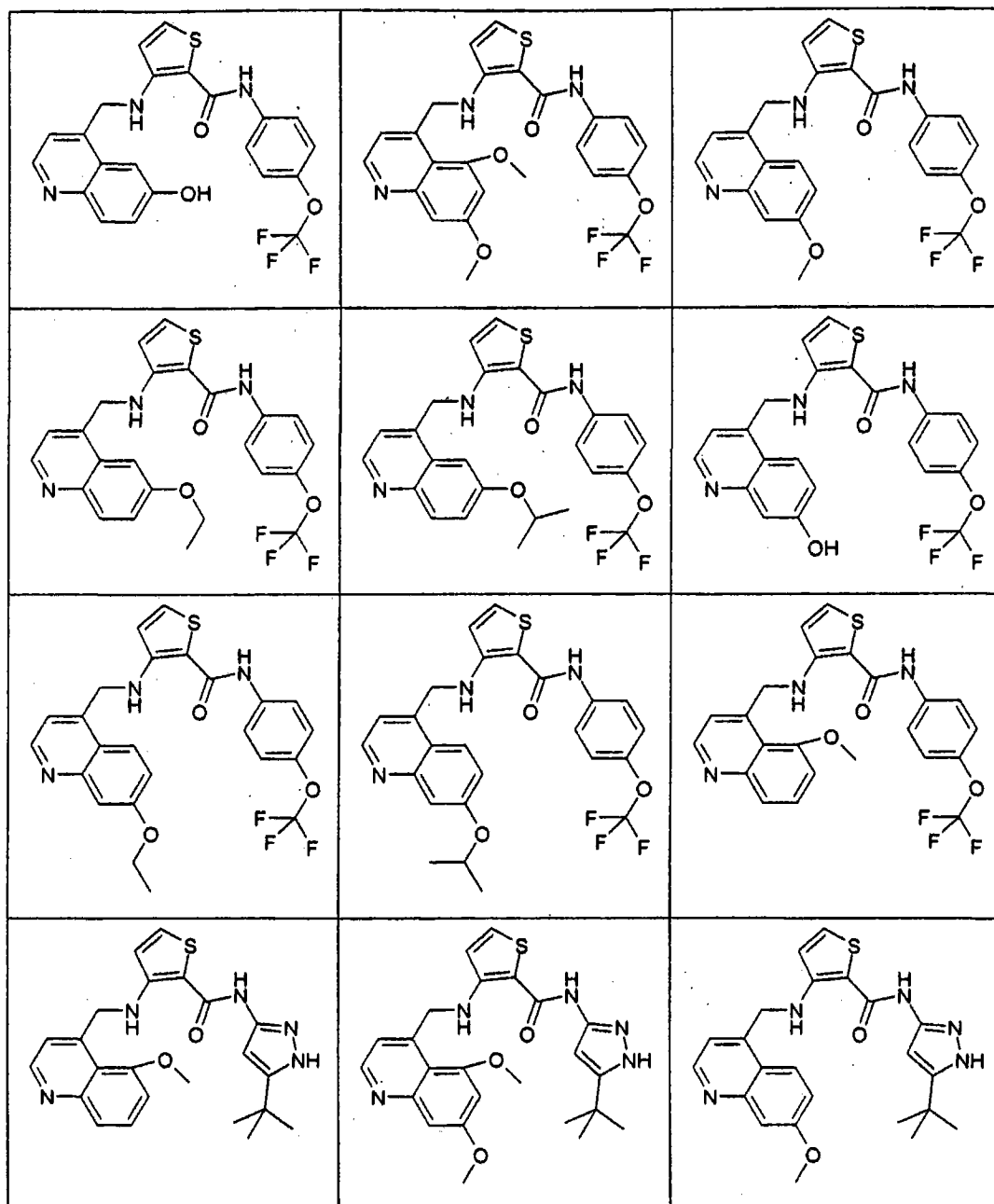
26. 如权利要求 25 所述的方法,其中所述 EGFR 激酶抑制剂是厄洛替尼且所述 KIT 激酶抑制剂是 3-[(喹啉-4-基甲基)氨基]-N-[4-(三氟甲氧基)苯基]噻吩-2-甲酰胺或其药学上可接受的盐。

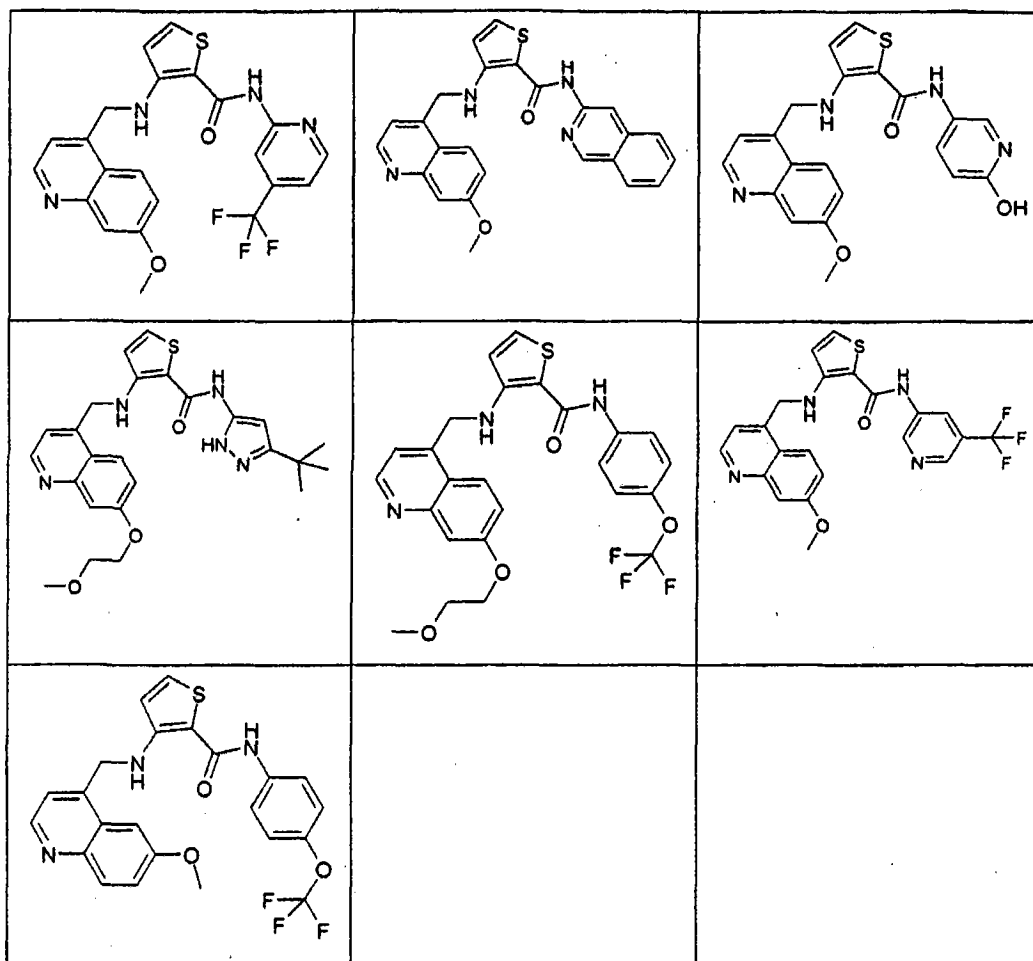
27. 药物组合物,其包括药学上可接受的载体或赋形剂以及作为活性成分的 EGFR 激酶抑制剂和 KIT 激酶抑制剂或其药学上可接受的盐。

28. 如权利要求 27 所述的药物组合物,其中所述 EGFR 激酶抑制剂包括厄洛替尼或其盐。

29. 如权利要求 28 所述的药物组合物,其中所述 KIT 激酶抑制剂包括 3-[(喹啉-4-基甲基)氨基]-N-[4-(三氟甲氧基)苯基]噻吩-2-甲酰胺或其药学上可接受的盐。

30. 如权利要求 28 所述的药物组合物,其中所述 KIT 激酶抑制剂选自下述物质或其药学上可接受的盐:





31. 如权利要求 27 所述的药物组合物,其中所述 EGFR 激酶抑制剂是厄洛替尼且所述 KIT 激酶抑制剂是 3-[(喹啉-4-基甲基)氨基]-N-[4-(三氟甲氧基)苯基]噻吩-2-甲酰胺或其药学上可接受的盐。

使用 EGFR 激酶抑制剂与 C-KIT 抑制剂的组合治疗

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求享有 2007 年 11 月 28 日提交的美国临时申请第 61/004, 561 号的权益, 该临时申请在此通过引用全文并入。

技术领域

[0003] 本发明涉及用于治疗癌症患者的组合物和方法。癌症是由不规则生长、缺乏分化和能够侵入局部组织以及转移来表征的各种各样细胞恶性病的一般叫法。这些肿瘤恶性病 (neoplastic malignancy) 以不同的发病程度影响体内的每一个组织和器官。

背景技术

[0004] 过去数十年来, 已经研制出多种治疗剂来治疗不同种类的癌症。最普遍使用的抗癌剂的类型包括: DNA-烷化剂 (如, 环磷酰胺、异环磷酰胺)、抗代谢物 (如, 甲氨蝶呤、叶酸拮抗剂和 5-氟尿嘧啶、嘧啶拮抗剂)、微管破坏剂 (如, 长春新碱、长春碱、紫杉醇)、DNA 嵌入剂 (如, 多柔比星、道诺霉素、顺铂) 以及激素治疗 (如, 他莫昔芬、氟他胺)。最近以来, 基因靶向治疗, 诸如蛋白-酪氨酸激酶抑制剂 (如, 伊马替尼; EGFR 激酶抑制剂, 厄洛替尼) 已经逐渐用在癌症治疗中。

[0005] 表皮生长因子受体 (EGFR) 家族包括参与诸如分化和增殖的细胞响应的四种密切相关的受体 (HER1/EGFR、HER2、HER3 和 HER4)。EGFR 激酶的过度表达, 或其配体 TGF- α 通常与许多癌症相关, 所述癌症包括乳腺癌、肺癌、结肠癌、卵巢癌、肾细胞癌、膀胱癌、头颈癌、胶质母细胞瘤和星形细胞瘤, 且被认为促使这些肿瘤的恶性生长。还已经发现 EGFR 基因 (EGFR vIII) 中的特定的缺失突变增强了细胞成瘤性。EGFR 刺激的信号传导路径的活化促进了可能促进癌症的多个过程, 如增殖、血管生成、细胞运动和侵入、减少的细胞凋亡和诱发耐药性。增强的 HER1/EGFR 表达经常与晚期疾病、转移和预后不良有关。例如, 在 NSCLC 和胃癌中, 增强的 HER1/EGFR 表达已经显示出与高转移率、差的肿瘤分化和增强的细胞增殖有关。

[0006] 在 NSCLC 和胶质母细胞瘤中, 已经观察到活化受体的内在蛋白酪氨酸激酶活性和 / 或增强下游信号传导的突变。然而, 突变在作为赋予 EGF 受体抑制剂如厄洛替尼 (TARCEVA®) 或吉非替尼 (IRESSA™) 敏感性的主要机理中的作用一直是引起争论的。最近, 已经报道全长 EGF 受体的突变形式来预测对 EGF 受体酪氨酸激酶抑制剂吉非替尼的响应性 (Paez, J. G. 等人 (2004) Science 304:1497-1500; Lynch, T. J. 等人 (2004) N. Engl. J. Med. 350:2129-2139)。细胞培养研究已经显示出表达 EGF 受体的突变形式的细胞系 (即, H3255) 对由 EGF 受体酪氨酸激酶抑制剂吉非替尼引起的生长抑制更敏感, 且要求高得多的浓度的吉非替尼来抑制表达野生型 EGF 受体的肿瘤细胞系。这些观察结果暗示了 EGF 受体的特定的突变形式可以反映对 EGF 受体抑制剂更大的敏感性, 但并不能确认完全无响应的表型。

[0007] 用作直接抑制 EGFR 的激酶活性的抗肿瘤剂的化合物, 以及通过阻断 EGFR 活化

来降低 EGFR 激酶活性的抗体的研制是集中研究尝试的领域 (de Bono J. S. 和 Rowinsky, E. K. (2002) Trends in Mol. Medicine 8 :S 19-S26 ;Dancey, J. 和 Sausville, E. A. (2003) Nature Rev. Drug Discovery 2 :92-313)。若干研究已经证明、公开或暗示了,一些 EGFR 激酶抑制剂,当与某些其他抗癌剂或化疗剂或治疗组合使用时,可改善肿瘤细胞或瘤形成的杀死 (如 Herbst, R. S. 等人 (2001) Expert Opin. Biol. Ther. 1 :719-732 ;Solomon, B. 等人 (2003) Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 55 :713-723 ;Krishnan, S. 等人 (2003) Frontiers in Bioscience 8, e1-13 ;Grunwald, V. 和 Hidalgo, M. (2003) J. Nat. Cancer Inst. 95 :851-867 ;Seymour L. (2003) Current Opin. Investig. Drugs 4(6) :658-666 ;Khalil, M. Y. 等人 (2003) Expert Rev. Anticancer Ther. 3 :367-380 ;Bulgaru, A. M. 等人 (2003) Expert Rev. Anticancer Ther. 3 :269-279 ;Dancey, J. and Sausville, E. A. (2003) Nature Rev. Drug Discovery 2 :92-313 ;Ciardiello, F. 等人 (2000) Clin. Cancer Res. 6 :2053-2063 ;以及专利公布号 US2003/0157104)。

[0008] 厄洛替尼 (如盐酸厄洛替尼,也称为 TARCEVA®或 OSI-774) 是可口服利用的 EGFR 激酶的抑制剂。在体外,厄洛替尼已经表现出抵抗许多人类肿瘤细胞系中的 EGFR 激酶的相当大的抑制活性,包括结肠癌和乳腺癌 (Moyer J. D. 等人 (1997) Cancer Res. 57 :4838), 且临床前评价已经表现出抵抗许多表达 EGFR 的人类肿瘤异种移植物的活性 (Pollack, V. A. 等人 (1999) J. Pharmacol. Exp. Ther. 291 :739)。最近,厄洛替尼已经表现出在许多适应症的 I 期和 II 期临床试验中的有前途的活性,包括头颈癌 (Soulieres, D. 等人 (2004) J. Clin. Oncol. 22 :77), NSCLC (Perez-Soler R 等人 (2001) Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 20 :310a, 摘要 1235), CRC (Oza, M. 等人 (2003) Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 22 :196a, 摘要 785) 和 MBC (Winer, E. 等人 (2002) Breast Cancer Res. Treat. 76 :51-15a, 摘要 445)。在 III 期临床试验中,厄洛替尼单一疗法显著延长了存活期,延缓了疾病发展并使患有晚期的、难治疗的 NSCLC 的患者的与肺癌有关的症状恶化延迟 (Shepherd, F. 等人 (2005) N. Engl. J. Med. 353(2) :123-132)。虽然大多数厄洛替尼的临床试验数据与其在 NSCLC 中的用途相关,但是来自 I 期 /II 期研究的初步结果已经证明了厄洛替尼和卡培他滨 / 厄洛替尼组合疗法在患有多种人类实体瘤类型的患者中的有前途的活性,包括 CRC (Oza, M. 等人 (2003) Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 22 :196a, 摘要 785) 和 MBC (Jones, R. J. 等人 (2003) Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 22 :45a, 摘要 180)。在 2004 年 11 月,美国食品和药品管理局 (FDA) 批准 TARCEVA®用于在至少一种先前的化疗方案失效之后来治疗患有局部晚期的或转移的非小细胞肺癌 (NSCLC)。TARCEVA®是表皮生长因子受体 (EGFR) 类的唯一药物以表现出在 III 期临床试验中的晚期 NSCLC 患者存活率提高。

[0009] 抗肿瘤药物将理想地选择性杀死癌细胞,且具有相对于其针对非恶性细胞的毒性的宽治疗指数。抗肿瘤药物还保留了其针对恶性细胞的功效,即使在暴露于药物下延长的时间之后。遗憾地是,目前的化疗中没有一种具有这种理想的特性。的确,大多数方案具有非常窄的治疗指数。而且,暴露于稍微亚致死浓度的化疗剂下的癌细胞通常将会产生对这种剂的耐药性,且还通常产生对若干其他抗肿瘤剂的交叉耐药性。另外,对任何给定的癌症类型来说,通常不能预测哪一位患者可能对特定的治疗做出响应,即使采用新的基因靶向疗法,诸如 EGFR 激酶抑制剂,因而需要相当多的反复试验,通常以给患者带来相当大的风险和不适为代价,以便找到最有效的疗法。

[0010] 因而,存在对更有效地治疗瘤形成和其他增殖性疾病,以及用于确定肿瘤将会对哪种治疗做出响应的更有效的方式的需求。用于增强现有药物的疗效的策略涉及这些药物的施用方案的变化,以及它们与其他抗癌剂或生化调节剂组合的应用。组合疗法作为能够相对于使用治疗相关剂量的单独每一种药剂带来更大的功效并减轻副作用的方法是众所周知的。在一些情形中,药物组合的功效是加和的(组合的功效约等于单独每一种药物的效果的总和),但在其他情形中,效果是协同的(组合的功效大于给定的单独每一种药物的效果的总和)。

[0011] 诸如厄洛替尼的靶特异性疗法通常与具有比常规细胞毒性剂低的毒性有关,且因此适于使用在组合方案中。在与贝伐珠单抗(Mininberg, E. D. 等人(2003)Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 22 :627a,摘要 2521)和吉西他滨(Dragovich, T., (2003)Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 22 :223a,摘要 895)组合的厄洛替尼的 I/II 期研究中已经观察到有前途的结果。最近的 NSCLC III 期试验数据已经显示出与标准化疗组合的第一线的厄洛替尼或吉非替尼并不能提高存活率(Gatzemeier, U., (2004)Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 23 :617(摘要 7010); Herbst, R. S., (2004)Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 23 :617(摘要 7011); Giaccone, G. 等人(2004)J. Clin. Oncol. 22 :777; Herbst, R. 等人(2004)J. Clin. Oncol. 22 :785)。然而,胰腺癌 III 期试验已经显示出与吉西他滨组合的第一线的厄洛替尼并不能提高存活率(OSI Pharmaceuticals/Genentech/Roche Pharmaceuticals PressRelease, 9/20/04)。因此,EGFR 抑制剂与其他抗癌剂的组合允许对肿瘤细胞的增强的治疗性处理。

[0012] 2,3-取代的噻吩的化合物是 c-Kit 原癌基因的抑制剂(也称为 Kit、CD-117、干细胞因子受体、肥大细胞因子受体),参见美国专利第 6,949,563 号和美国专利申请公布第 US 2005/0154014 号。c-Kit 原癌基因被认为在胚胎发生、黑素生成、血细胞生成和肥大细胞增生症的发病、胃肠道肿瘤和其他实体瘤以及某些白血病,包括 AML 方面是重要的。

[0013] 已知细胞通过其 DNA 的一部分转变成癌基因(即,活化时,导致恶性肿瘤细胞形成的基因)而变成癌性的。许多致癌基因编码蛋白,这些蛋白是能够引起细胞转变的异常蛋白-酪氨酸激酶。通过不同的途径,正常原癌基因酪氨酸激酶的过度表达还可以导致增殖性疾病,有时候导致恶性表型。作为替代,相同的细胞类型内的受体酪氨酸激酶及其配体的共表达还可以导致恶性转变。

[0014] 受体酪氨酸激酶是大型酶,其横跨细胞膜且具有 i) 用于诸如 KIT 配体的生长因子(也称为干细胞因子(SCF)、Steel 因子(SLF)或肥大细胞生长因子(MGF))的细胞外结合域, ii) 跨膜结构域,以及 iii) 细胞内部分,其作为激酶起作用以使蛋白内的特异性酪氨酸残基磷酸化。将 KIT 配体结合到 KIT 酪氨酸激酶导致受体的同源二聚、KIT 酪氨酸激酶活性的活化以及随后多种蛋白底物的磷酸化,它们中的许多是细胞内信号转导的效应器。这些事件可以导致增强的细胞增殖或促进提高的细胞存活率。在一些受体激酶存在下,还可以发生受体的异源二聚。

[0015] 已知这种激酶在诸如乳腺癌、头颈癌、诸如结肠癌、直肠癌、胃癌的胃肠道癌、白血病和卵巢癌、支气管癌、肺癌或胰腺癌的常见的人类癌症中是通常异常表达的。已经有文献报道 Kit 激酶表达在多种人类恶性病中,诸如肥大细胞增多症/肥大细胞白血病、胃肠道间质肿瘤(GIST)、小细胞肺癌(SCLC)、鼻自然杀伤/T-细胞淋巴瘤、睾丸癌(精原细胞瘤)、甲状腺癌、恶性黑素瘤、卵巢癌、腺样囊性癌、急性髓性白血病(AML)、乳腺癌、少儿 T-细胞急

性淋巴细胞白血病、血管肉瘤、间变性大细胞性淋巴瘤、子宫内膜癌和前列腺癌。KIT 的激酶活性已经牵连在这些和另外的肿瘤（包括乳腺癌、SCLC、GIST、生殖细胞肿瘤、肥大细胞白血病、成神经细胞瘤、AML、黑素瘤和卵巢癌）中的好几种的病理生理学。

[0016] 已经报道了肿瘤细胞中的 KIT 活化的若干机理，包括活化突变、由其配体引起的受体激酶的自泌性和旁泌性活化、蛋白 - 酪氨酸磷酸酶活性的丧失以及由其他激酶引起的交叉活化。由活化突变引起的转化机理被认为包括二聚物形成和激酶域的增大的内在活性，两者都导致基本的配体非依赖性的激酶活化，且可以改变底物特异性。Kit 蛋白的多于 30 种的活化突变已经与人类的高度恶性的肿瘤有关。

[0017] 因此，已经认为受体酪氨酸激酶的抑制剂可用作哺乳动物癌细胞生长的选择性抑制剂。例如，Gleevec™（也称为甲磺酸伊马替尼或 ST1571）是一种抑制 BCR-ABL 融合基因产物的激酶活性的 2- 苯基嘧啶酪氨酸激酶抑制剂，其最近被美国食品药品监督管理局批准用来治疗 CML。除了抑制 BCR-ABL 激酶外，Gleevec™ 还抑制 KIT 激酶和 PDGF 受体激酶，尽管其对 KIT 激酶的所有突变同工型并不都是有效的。Gleevec™ 抑制了 M07e 人类白血病细胞的由 Kit 配体刺激的生长，在这些条件下这也导致凋亡。相比之下，M07e 人类白血病细胞的由 GM-CSF 刺激的生长并不受 Gleevec™ 的影响。而且，在最近使用 Gleevec™ 来治疗患有 GIST（其中 KIT 激酶参与细胞转化的疾病）的患者的临床研究中，许多患者已经显示出明显的改善。此外，美国专利第 6, 949, 563 号和公开的美国专利申请第 2005/0154014 号公开了（2- 羧基酰胺基）（3- 氨基）噻吩化合物是 KIT 激酶的可能的抑制剂。上面的研究证明了 KIT 激酶抑制剂是如何能够应用于治疗肿瘤细胞的。

[0018] 尽管取得了上述治疗进展，但是依然存在对许多人类癌症的改善的治疗的重大需求。本文描述的本发明提供了新的抗癌组合疗法，其是对当 EGFR 激酶抑制剂或 KIT 激酶抑制剂单独施用时的功效的提高。具体地说，本发明涉及用表皮生长因子受体（EGFR）激酶抑制剂和 KIT 激酶抑制剂来组合治疗癌症的方法，该方法产生了加和的或协同的抗肿瘤效果。

发明内容

[0019] 本发明提供了治疗患者中的肿瘤或肿瘤转移的方法，所述方法包括在存在或不存在另外的药剂或治疗诸如其他抗癌药物或放射疗法的情况下，同时或按序地将治疗有效量的产生加和的或协同的抗肿瘤效果的 EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂的组合施用至患者。

[0020] 可以用于实施本发明的 EGFR 激酶抑制剂的优选示例是化合物盐酸厄洛替尼（也称为 TARCEVA®）。

[0021] 可以用于实施本发明的 KIT 激酶抑制剂的优选示例是化合物 3-[(喹啉 -4- 基甲基) 氨基]-N-[4-(三氟甲氧基) 苯基] 噻吩 -2- 甲酰胺（也称为 OSI-930）。

附图说明

[0022] 图 1 :OSI-930、厄洛替尼以及 OSI-930 与厄洛替尼的组合对小鼠中的 H2122 NSCLC 肿瘤异种移植物的生长的影响。

[0023] 图 2 :OSI-930、厄洛替尼以及 OSI-930 与厄洛替尼的组合对携带 H2122 NSCLC 肿

瘤异种移植物的老鼠的体重的影响。

[0024] 图 3 :OSI-930、厄洛替尼以及 OSI-930 与厄洛替尼的组合对 H441 细胞的肿瘤体积的影响。

[0025] 图 4 :OSI-930、厄洛替尼以及 OSI-930 与厄洛替尼的组合对携带 H441 NSCLC 异种移植物的老鼠的体重的影响。

[0026] 图 5 :OSI-817、厄洛替尼以及 OSI-817 与厄洛替尼的组合对 H441 细胞的肿瘤体积的影响。

[0027] 图 6 :OSI-817、厄洛替尼以及 OSI-817 与厄洛替尼的组合对携带 H441 NSCLC 异种移植物的老鼠的体重的影响。

[0028] 图 7 :OSI-930、厄洛替尼以及 OSI-930 与厄洛替尼的组合对小鼠中的 HT29 CRC 肿瘤异种移植物的生长的影响。

[0029] 图 8 :OSI-930、厄洛替尼以及 OSI-930 与厄洛替尼的组合对携带 HT29 异种移植物的老鼠的体重的影响。

[0030] 图 9 :提供了在进展后治疗背景 (treatment beyond progression setting) 中由本发明的组合疗法引起的中位肿瘤倍增时间的数据的表。

[0031] 图 10 :在进展后治疗背景中, OSI-930、厄洛替尼以及 OSI-930 与厄洛替尼的组合对小鼠中的 H292 NSCLC 肿瘤异种移植物的生长的影响。

[0032] 图 11 :提供了在进展后治疗背景中由本发明的组合疗法引起的中位肿瘤倍增时间的数据的表。

[0033] 图 12 :在 GEO 模型中,在进展后治疗背景中, OSI-930、厄洛替尼以及 OSI-930 与厄洛替尼的组合对小鼠中的肿瘤异种移植物的生长的影响。

[0034] 发明详述

[0035] 在动物中,术语“癌症”指的是存在具有致癌细胞的典型特征的细胞,所述典型特征诸如不受控制的增殖、永生、转移可能性、快速生长和增殖速率以及某些特征形态特征。通常,癌症细胞将呈肿瘤的形式,但这种细胞可以单独存在于动物内,或可以作为独立的细胞诸如白血病细胞在血流中循环。

[0036] 正如本文中使用的,如在“肿瘤细胞生长”的上下文中,除非另外标明,否则“细胞生长”按照肿瘤学中通常使用的来使用,其中该术语主要与细胞数目的增长有关,当细胞繁殖(即,增殖)的速率大于细胞死亡(如,由于凋亡或坏死)的速率时,通过细胞繁殖可以发生细胞数目的增长,以产生细胞群体的尺寸的增大,尽管此增长的小部分在某些情况下也可能是由于细胞尺寸或单个细胞的细胞质体积的增大。因而,抑制细胞生长的药剂可以确实通过抑制增殖或刺激细胞死亡,或者两者来实现抑制细胞生长,使得这两个相反过程之间的平衡得到改变。

[0037] 正如本文中使用的,除非另外标明,否则“肿瘤生长”或“肿瘤转移生长”按照肿瘤学中通常使用的来使用,其中该术语主要与肿瘤或肿瘤转移的质量或体积的增大有关,此增大主要是因为肿瘤细胞生长。

[0038] 正如本文中使用的,除非另外标明,否则术语“异常细胞生长”指的是独立于正常的调节机理(如,接触抑制的丧失)的细胞生长。这包括下述的异常生长:(1) 通过表达突变的酪氨酸激酶或过度表达受体酪氨酸激酶而增殖的肿瘤细胞(肿瘤);(2) 发生异常酪氨

酸激酶活化的其他增殖性疾病的良性和恶性细胞；(4) 通过受体酪氨酸激酶而增殖的任何肿瘤；(5) 通过异常丝氨酸 / 苏氨酸激酶活化而增殖的任何肿瘤；以及 (6) 发生异常丝氨酸 / 苏氨酸激酶活化的其他增殖性疾病的良性和恶性细胞。

[0039] 正如本文中使用的,除非另外标明,否则术语“治疗 (treating)”意指部分或完全地逆转、减轻、抑制患者中的肿瘤、肿瘤转移或其他致癌细胞或肿瘤细胞的进展或预防患者中的肿瘤、肿瘤转移或其他致癌细胞或肿瘤细胞的生长。正如本文中使用的,除非另外标明,否则术语“治疗 (treatment)”指的是治疗行为。

[0040] 如当应用于癌症时,短语“治疗方法”及其等同形式指的是被设计成减少或消除动物中的癌细胞的数目或减轻癌症的症状的行为过程或途径。癌症或另外的增殖性病证的“治疗方法”并不必意指癌细胞或其他病症将会实际上被消除,也不必意指细胞数目或病症实际上将会被减少,或不必意指癌症或其他病症的症状将会被减轻。通常,将会施行治疗癌症的方法,即使成功的可能性低,但尽管这样,已知患者的医治历程和预计的存活预期,该方法仍被认为是总体有益的行为过程。

[0041] 术语“治疗有效药剂”意指将会引起由研究者、兽医、医生或其他临床医师正在寻找的组织、系统、动物或人类的生物学或医学响应的组合物。

[0042] 术语“治疗有效量”或“有效量”意指将会引起由研究者、兽医、医生或其他临床医师正在寻找的组织、系统、动物或人类的生物学或医学响应的主题化合物或组合的量。

[0043] 本文中的数据证明了 EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂的组合的抗肿瘤效果优于任一种抑制剂本身的抗肿瘤效果,且 KIT 激酶抑制剂与 EGFR 激酶抑制剂的共同施用可以有效治疗患有晚期癌症,诸如,如 NSCL 癌症的患者。当 EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂被组合使用来抑制肿瘤细胞生长时,观察到了协同效应。

[0044] 因此,本发明提供了治疗患者中的肿瘤或肿瘤转移的方法,该方法包括同时或按序地将治疗有效量的 EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂的组合施用至所述患者。本发明还提供了治疗患者中的肿瘤或肿瘤转移的方法,该方法包括同时或按序地将协同有效的、治疗量的 EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂的组合施用至所述患者。本发明还提供了治疗患者中的肿瘤或肿瘤转移的方法,该方法包括同时或按序地将治疗有效量的 EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂的组合施用至所述患者,其中所述 EGFR 激酶抑制剂是厄洛替尼,其中所述 KIT 激酶抑制剂是 3-[(喹啉-4-基甲基)氨基]-N-[4-(三氟甲氧基)苯基]噻吩-2-甲酰胺 (OSI-930) 或 (OSI-817)。

[0045] 对于上述方法,优选的 EGFR 激酶抑制剂的示例将是厄洛替尼,包括其药学上可接受的盐或多晶型物。在这些方法中,可以同时地或按序地与 EGFR 激酶抑制剂和 KIT 激酶抑制剂共同施用一种或多种另外的抗癌剂或治疗,如由给药医师结合涉及单个患者的任何另外的情况判断为合适的。

[0046] 在上述方法的进一步的实施方案中,待治疗的患者对用作为单一药剂的 EGFR 激酶抑制剂进行的治疗是难治的。因而,例如,在一个实施方案中,本发明提供了用于治疗对用作为单一药剂的 EGFR 激酶抑制剂进行的治疗是难治的患者中的肿瘤或肿瘤转移的方法,所述方法包括同时或按序地将治疗有效量的 EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂的组合施用至所述患者。医学领域的技术人员将会理解,存在多种为什么患者对用作为单一药剂的 EGFR 激酶抑制剂进行的治疗可能是难治的原因,其中一个原因是患者中的肿瘤细胞对

供试的 EGFR 激酶抑制剂的抑制相对不敏感。也可能是患者可能对用一种类型的 EGFR 激酶抑制剂进行治疗是难治的,但却对用另一种类型的 EGFR 激酶抑制剂进行治疗是敏感的。

[0047] 根据此实施方案,即使当开始新的治疗时,用厄洛替尼持续治疗患有进行性疾病的患者可能是有益的。此现象的机理是未知的。然而,本发明的发明人已经发现当与任何一种单一药剂相比时,在 EGFR 治疗最初失效之后,持续用与 KIT 激酶抑制剂组合的厄洛替尼进行治疗提供了惊人的且统计学上显著的益处。根据此实施方案,在采用 EGFR 抑制剂治疗的患者中观察到进行性疾病之后,开始采用与 KIT 激酶抑制剂的组合疗法。

[0048] 本发明还提供了治疗患者中的肺癌、胰腺癌、结肠癌或乳腺癌细胞的异常细胞生长的方法,该方法包括同时或按序地将治疗有效量的 EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂的组合施用至所述患者。

[0049] 医学领域的技术人员将会理解,将治疗有效量的 EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂的组合施用至所述患者的准确方式将会由主治医师决定。施用模式包括剂量、与其他抗癌剂的组合、给药时机和频率等,施用模式可能受到患者对 EGFR 激酶抑制剂的可能的响应的诊断、以及患者的状况和病史的影响。因而,即使诊断患有据预测对作为单一药剂的 EGFR 激酶抑制剂相对敏感的肿瘤的患者仍可从用 EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂的组合、该组合尤其是与其他抗癌剂或可以改变肿瘤对 EGFR 激酶抑制剂的敏感性的其他药剂的组合进行治疗中获益。

[0050] 在本发明方法的一个实施方案中, KIT 激酶抑制剂与 EGFR 激酶抑制剂被同时施用。在本发明方法的另一个实施方案中, KIT 激酶抑制剂在 EGFR 激酶抑制剂之前被施用。在本发明方法的另一个实施方案中, KIT 激酶抑制剂在 EGFR 激酶抑制剂之后被施用。在本发明方法的另一个实施方案中, KIT 激酶抑制剂在施用 EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂的组合之前被预先施用。

[0051] 本发明还提供了治疗患者中的肿瘤或肿瘤转移的方法,该方法包括同时或按序地将治疗有效量的 EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂的组合以及此外将一种或多种其他细胞毒性剂、化疗剂或抗癌剂或增强这些药剂的效果的化合物施用至患者。

[0052] 在本发明的上下文中,其他细胞毒性剂、化疗剂或抗癌剂或增强这些药剂的效果的化合物包括,如烷化剂或具有烷基化作用的药剂,诸如环磷酰胺 (CTX; 如 CYTOXAN[®])、瘤可宁 (CHL; 如 LEUKERAN[®])、顺铂 (CisP; 如 PLATINOL[®])、白消安 (如 MYLERAN[®])、美法仑、卡莫司汀 (BCNU)、链脲佐菌素、三胺嗪 (TEM)、丝裂霉素 C 等; 抗代谢物, 诸如甲氨蝶呤 (MTX)、依托泊甙 (VP16; 如 VEPESID[®])、6- 巯嘌呤 (6MP)、6- 硫鸟嘌呤 (6TG)、阿糖胞苷 (Ara-C)、5- 氟尿嘧啶 (5-FU)、卡培他滨 (如 XELODA[®])、氮烯唑胺 (DTIC) 等; 抗菌素, 诸如放线菌素 D、多柔比星 (DXR; 如 ADRIAMYCIN[®])、柔红霉素 (道诺霉素)、博来霉素、光神霉素等; 生物碱, 诸如长春花生物碱, 诸如长春新碱 (VCR)、长春花碱等; 以及其他抗肿瘤剂, 诸如紫杉醇 (如 TAXOL[®]) 以及紫杉醇衍生物, 细胞抑制剂, 糖皮质激素, 诸如地塞米松 (DEX; 如 DECADRON[®]) 和皮质类固醇, 诸如强的松, 核苷酶抑制剂, 诸如羟基脲、氨基酸耗尽酶, 诸如天门冬酰胺酶、亚叶酸以及其他叶酸衍生物, 以及类似的、多样的抗肿瘤剂。下面的药剂也可以用作另外的药剂: 氨磷汀 (amifostine) (如 ETHYOL[®])、放线菌素 D、二氯甲二乙胺 (氮芥)、链脲佐菌素、环磷酰胺、环己亚硝脲 (CCNU)、亚德利亚霉素脂肪 (如 DOXIL[®])、吉西他滨 (如 GEMZAR[®])、柔红霉素脂质体 (如 DAUNOXOME[®])、普鲁卡胺、丝裂霉素、多

烯紫衫醇(如 TAXOTERE®)、阿地白介素、卡铂、奥沙利铂、克拉立滨、喜树碱、CPT11(伊立替康)、10-羟基-7-乙基-喜树碱(SN38)、氟尿苷、氟达拉滨、异环磷酰胺、伊达比星、美司纳、β干扰素、α干扰素、米托蒽醌、托泊替康、亮丙瑞林、甲地孕酮、美法仑、巯基嘌呤、普卡霉素、米托坦、培门冬酶、喷司他丁(pentostatin)、哌血生、普卡霉素、他莫昔芬、替尼泊甙、鞣内脂、硫鸟嘌呤、硫替派、尿嘧啶氮芥、长春瑞滨、瘤可宁。

[0053] 本发明还提供了治疗患者中的肿瘤或肿瘤转移的方法,该方法包括同时或按序地将治疗有效量的 EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂的组合以及此外还有一种或多种抗激素剂施用至所述患者。正如本文中使用的,术语“抗激素剂”包括起到调节或抑制对肿瘤的激素作用的天然的或合成的有机化合物或肽化合物。

[0054] 抗激素剂包括,如:类固醇受体拮抗剂、抗雌激素剂,诸如他莫昔芬、雷洛昔芬、芳香化酶抑制 4(5)-咪唑类、其他芳香化酶抑制剂、42-羟基他莫昔芬、曲沃昔芬、雷洛昔芬、LY 117018、奥那斯酮和托瑞米芬(如 FARESTON®);抗雄激素剂,诸如氟他胺、尼鲁他胺、比卡鲁胺、丙瑞林和戈舍瑞林;以及上述物质中的任一种的药学上可接受的盐、酸或衍生物;糖蛋白激素的激动剂和/或拮抗剂,诸如促卵泡激素(FSH)、促甲状腺激素(TSH)和促黄体生成激素(LH)以及 LHRH(促黄体生成激素-释放激素);LHRH 激动剂醋酸戈舍瑞,以 ZOLADEX®(AstraZeneca)购得;LHRH 拮抗剂 D-丙氨酸酰胺 N-乙酰基-3-(2-萘基)-D-丙氨酸基-4-氯-D-苯基丙氨酸基-3-(3-吡啶基)-D-丙氨酸基-L-丝氨酸基-N6-(3-吡啶基羰基)-L-赖氨酸基-N6-(3-吡啶基羰基)-D-赖氨酸基-L-亮氨酸基-N6-(1-甲基乙基)-L-赖氨酸基-L-辅氨酸(如 ANTIDE®, Ares-Serono);LHRH 拮抗剂醋酸加尼瑞克;类固醇抗雄激素剂醋酸环丙氯地孕酮(CPA)和醋酸甲地孕酮,以 MEGACE®购得(Bristol-Myers Oncology);非类固醇抗雄激素剂,氟他胺(2-甲基-N-[4,20-硝基-3-(三氟甲基)苯基丙酰胺],以 EULEXIN®购得(Schering Corp.);非类固醇抗雄激素剂,尼鲁他胺,(5,5-二甲基-3-[4-硝基-3-(三氟甲基-4'-硝基苯基)-4,4-二甲基-咪唑烷-2-酮]);以及用于其他非许可性受体的拮抗剂,诸如用于 RAR、RXR、TR、VDR 等的拮抗剂。

[0055] 化疗方案中上述细胞毒性剂和其他抗癌剂的使用通常在癌症治疗领域中被充分表征,且它们在本文中的用途落入基于监测耐受性和功效以及用于控制施用途径和剂量的相同考虑,且做一些调整。例如,细胞毒性剂的实际剂量可以根据通过使用组织培养法确定的患者的培养细胞响应来改变。通常,与不存在另外的其他药剂时使用的量相比,该剂量将是减少的。

[0056] 有效的细胞毒性剂的典型剂量可以在由制造商推荐的范围内,且由体外响应或动物模型中的响应表明时,该剂量可以减少高达约 1 个数量级的浓度或量。因而,实际的剂量将取决于医生的判断、患者的状况以及基于主要的培养的恶性细胞或组织培养的组织样品的体外响应或合适的动物模型中观察到的响应的治疗方法的功效。

[0057] 本发明还提供了一种治疗患者中的肿瘤或肿瘤转移的方法,该方法包括同时或按序地将治疗有效量的 EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂的组合以及还有一种或多种血管生成抑制剂施用至所述患者。

[0058] 抗血管生成剂(anti-angiogenic agent)包括,如 VEGFR 抑制剂,诸如 SU-5416 和 SU-6668(Sugen Inc. of South San Francisco, Calif., USA),或如国际申请号 W0 99/24440、W0 99/62890、W0 95/21613、W0 99/61422、W0 98/50356、W0 99/10349、W0

97/32856、W097/22596、W0 98/54093、W0 98/02438、W0 99/16755 和 W0 98/02437 以及美国专利第 5,883,113 号、第 5,886,020 号、第 5,792,783 号、第 5,834,504 号和第 6,235,764 号中所描述的;VEGF 抑制剂,诸如 IM862(Cytran Inc.of Kirkland,Wash.,USA);angiozyme,一种来自核酶的合成核酶(Boulder,Colo.)和 Chiron(Emeryville,Calif);以及对 VEGF 的抗体,诸如贝伐单抗(如 AVASTFNTM, Genentech, South San Francisco, CA),对 VEGF 的重组的人源化抗体;整联蛋白受体拮抗剂和整联蛋白拮抗剂,诸如 $\alpha_v\beta_3$ 、 $\alpha_v\beta_5$ 和 $\alpha_v\beta_6$ 整联蛋白及其亚型,如西仑吉肽(EMD121974)或抗整联蛋白抗体,诸如 $\alpha_v\beta_3$ 特异性人源化抗体(如, VITAXIN[®]);因子诸如 IFN- α (美国专利第 41530,901 号、第 4,503,035 号 和第 5,231,176 号);血管抑制剂和血纤维蛋白溶酶原片段(如 kringle1-4、kringle 5、kringle 1-3(O' Reilly, M. S. 等人(1994)Cell 79 :315-328;Cao 等人(1996)J. Biol. Chem. 271 :29461-29467;Cao 等人(1997)J. Biol. Chem. 272 :22924-22928);内皮抑制素(O' Reilly, M. S. 等人(1997)Cell 88 :277;以及国际专利公布号 W0 97/15666);凝血栓蛋白(TSP-1;Frazier, (1991)Curr. Opin. Cell Biol. 3 :792);血小板因子 4(PF4);血纤维蛋白溶酶原活性剂/尿激酶抑制剂;尿激酶受体拮抗剂;肝素酶;烟曲霉素类似物,诸如 TNP-4701;苏拉明和苏拉明类似物;血管抑制性类固醇;bFGF 拮抗剂;flt-1 和 flt-1 拮抗剂;抗血管生成剂(anti-angiogenesis agent),诸如 MMP-2(基质-金属蛋白酶 2)抑制剂和 MMP-9(基质-金属蛋白酶 9)抑制剂。有用的基质-金属蛋白酶抑制剂的示例描述在国际专利公布号 W0 96/33172、W0 96/27583、W098/07697、W0 98/03516、W0 98/34918、W0 98/34915、W0 98/33768、W0 98/30566、W0 90/05719、W0 99/52910、W0 99/52889、W0 99/29667 和 W0 99/07675、欧洲专利公布号 818,442、780,386、1,004,578、606,046 和 931,788;英国专利公布号 9912961 以及美国专利第 5,863,949 号 和第 5,861,510 号中。优选的 MMP-2 和 MMP-9 抑制剂是具有一些抑制 MMP-1 的活性或无抑制 MMP-1 的活性的那些。更优选地,是相对于其他基质-金属蛋白酶(即 MMP-1、MMP-3、MMP-4、MMP-5、MMP-6、MMP-7、MMP-8、MMP-10、MMP-11、MMP-12 和 MMP-13)选择性地抑制 MMP-2 和 / 或 MMP-9 的那些。

[0059] 本发明还提供了一种治疗患者中的肿瘤或肿瘤转移的方法,该方法包括同时或按序地将治疗有效量的 EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂的组合以及还有一种或多种肿瘤细胞促凋亡剂或凋亡刺激剂施用至患者。

[0060] 本发明还提供了一种治疗患者中的肿瘤或肿瘤转移的方法,该方法包括同时或按序地将治疗有效量的 EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂的组合以及还有一种或多种信号转导抑制剂施用至所述患者。

[0061] 信号转导抑制剂包括,如:erbB2 受体抑制剂,诸如结合到 erbB2 受体上的有机分子或抗体,如曲妥珠单抗(如 HERCEPTIN[®]);其他蛋白酪氨酸-激酶的抑制剂,如伊马替尼(imatinib)(如 GLEEVEC[®]);ras 抑制剂;raf 抑制剂;MEK 抑制剂;mTOR 抑制剂;细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂;蛋白激酶 C 抑制剂;以及 PDK-1 抑制剂(参见 Dancey, J. 和 Sausville, E. A. (2003)Nature Rev. Drug Discovery 2 :92-313,关于描述这种抑制剂的若干示例,以及它们在治疗癌症的临床试验中的用途)。

[0062] ErbB2 受体抑制剂包括如:ErbB2 受体抑制剂,诸如 GW-282974(Glaxo Wellcome plc)、单克隆抗体诸如 AR-209(Aronex Pharmaceuticals Inc.of The Woodlands, Tex., USA) 和 2B-1(Chiron)、以及 erbB2 抑制剂,诸如描述在国际公布号 W0 98/02434、W0

99/35146、WO 99/35132、WO 98/02437、WO 97/13760 和 WO 95/19970 以及美国专利第 5,587,458 号、第 5,877,305 号、第 6,465,449 号、第 6,541,481 号、第 6,890,924 号和第 6,844,349 号中的那些。

[0063] 因而,本发明还提供了一种治疗患者中的肿瘤或肿瘤转移的方法,该方法包括同时或按序地将治疗有效量的 EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂的组合以及还有抗-HER2 抗体或其免疫治疗活性片段施用至所述患者。

[0064] 本发明还提供了一种治疗患者中的肿瘤或肿瘤转移的方法,该方法包括同时或按序地将治疗有效量的 EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂的组合以及还有一种或多种另外的抗增殖剂施用至所述患者。

[0065] 另外的抗增殖剂包括,如:酶法尼基蛋白转移酶的抑制剂和受体酪氨酸激酶 PDGFR 的抑制剂,包括美国专利第 6,080,769 号、第 6,194,438 号、第 6,258,824 号、第 6,586,447 号、第 6,071,935 号、第 6,495,564 号、第 6,150,377 号、第 6,596,735 号和第 6,479,513 号以及国际专利公布 WO 01/40217 中公开并要求保护的化合物。

[0066] 本发明还提供了一种治疗患者中的肿瘤或肿瘤转移的方法,该方法包括同时或按序地将治疗有效量的 EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂的组合以及还有 COX II(环氧合酶 II)抑制剂施用至患者。有用的 COX-II 抑制剂的示例包括阿来昔布 (alecoxib) (如, CELEBREX™)、伐地昔布和罗非昔布。

[0067] 本发明还提供了一种治疗患者中的肿瘤或肿瘤转移的方法,该方法包括同时或按序地将治疗有效量的 EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂的组合以及使用放射或放射药物的附加治疗施用至患者。

[0068] 放射源可以是在待治疗的患者的外部或内部。当该放射源是在患者外部时,该疗法被称为外部激光辐射疗法 (EBRT)。当该放射源是在患者内部时,治疗被称为近距放射疗法 (BT)。使用在本发明上下文中的放射性原子可以选自包括下述物质,但不限于下述物质的组:镭-137、铯-137、铀-235、钚-239、金-198、钴-60、铜-64、镓-67、碘-125、碘-131 和 钷-153。若根据本发明的 EGFR 激酶抑制剂是抗体时,还可以用这种放射性同位素来标记抗体。

[0069] 放射疗法是用于控制不能切除的或不能施行手术的肿瘤和/或肿瘤转移的标准治疗。当放射疗法已经结合化疗时,看到了改善的结果。放射疗法是基于下述原理:递送至靶区域的高剂量放射将会导致肿瘤和正常组织内的可繁殖的细胞死亡。放射剂量方案通常根据放射吸收剂量 (Gy)、时间和放射分割 (fractionation) 确定,且必须由肿瘤学家仔细确定。患者接受的放射量将会取决于各种考虑因素,但两个最重要的因素是肿瘤相对于身体的其他关键结构或器官的位置以及肿瘤遍布的程度。患者经受放射疗法的典型治疗过程将会是 1 到 6 周时间段的治疗时间表,且递送至患者的总剂量在 10Gy 到 80Gy 之间,每一日的分割放射为约 1.8Gy 到 2.0Gy,每周 5 次。辅助放射疗法的参数包含在国际专利公布 WO 99/60023 中。

[0070] 本发明还提供了一种治疗患者中的肿瘤或肿瘤转移的方法,该方法包括同时或按序地将治疗有效量的 EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂的组合以及使用能够增强抗肿瘤免疫响应的一种或多种剂的附加治疗施用至患者。

[0071] 能够增强抗肿瘤免疫响应的药剂包括,如:CTLA4(细胞毒性淋巴细胞抗原 4) 抗体

(如, MDX-CTLA4), 以及能够阻断 CTLA4 的其他药剂。可以使用在本发明中的特定的 CTLA4 抗体包括美国专利第 6, 682, 736 号中描述的那些。

[0072] 本发明还提供了一种减少由使用 EGFR 激酶抑制剂或 KIT 激酶抑制剂来治疗患者中的肿瘤或肿瘤转移引起的副作用的方法, 该方法包括同时或按序地将治疗有效量的 EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂的组合施用至患者, 该量有效产生加和的或协同的抗肿瘤效果且有效地抑制肿瘤的生长。

[0073] 本发明还提供了一种用于治疗癌症的方法, 该方法包括将 (i) 第一有效量的 EGFR 激酶抑制剂或其药学上可接受的盐; 和 (ii) 第二有效量的 KIT 激酶抑制剂施用至需要这种治疗的受治疗者。

[0074] 本发明还提供了一种用于治疗癌症的方法, 该方法包括将 (i) 第一亚治疗量的 EGFR 激酶抑制剂或其药学上可接受的盐; 和 (ii) 第二亚治疗量的 KIT 激酶抑制剂施用至需要这种治疗的受治疗者。

[0075] 本发明还提供了一种用于治疗癌症的方法, 该方法包括将 (i) 第一有效量的 EGFR 激酶抑制剂或其药学上可接受的盐; 和 (ii) 第二亚治疗量的 KIT 激酶抑制剂施用至需要这种治疗的受治疗者。

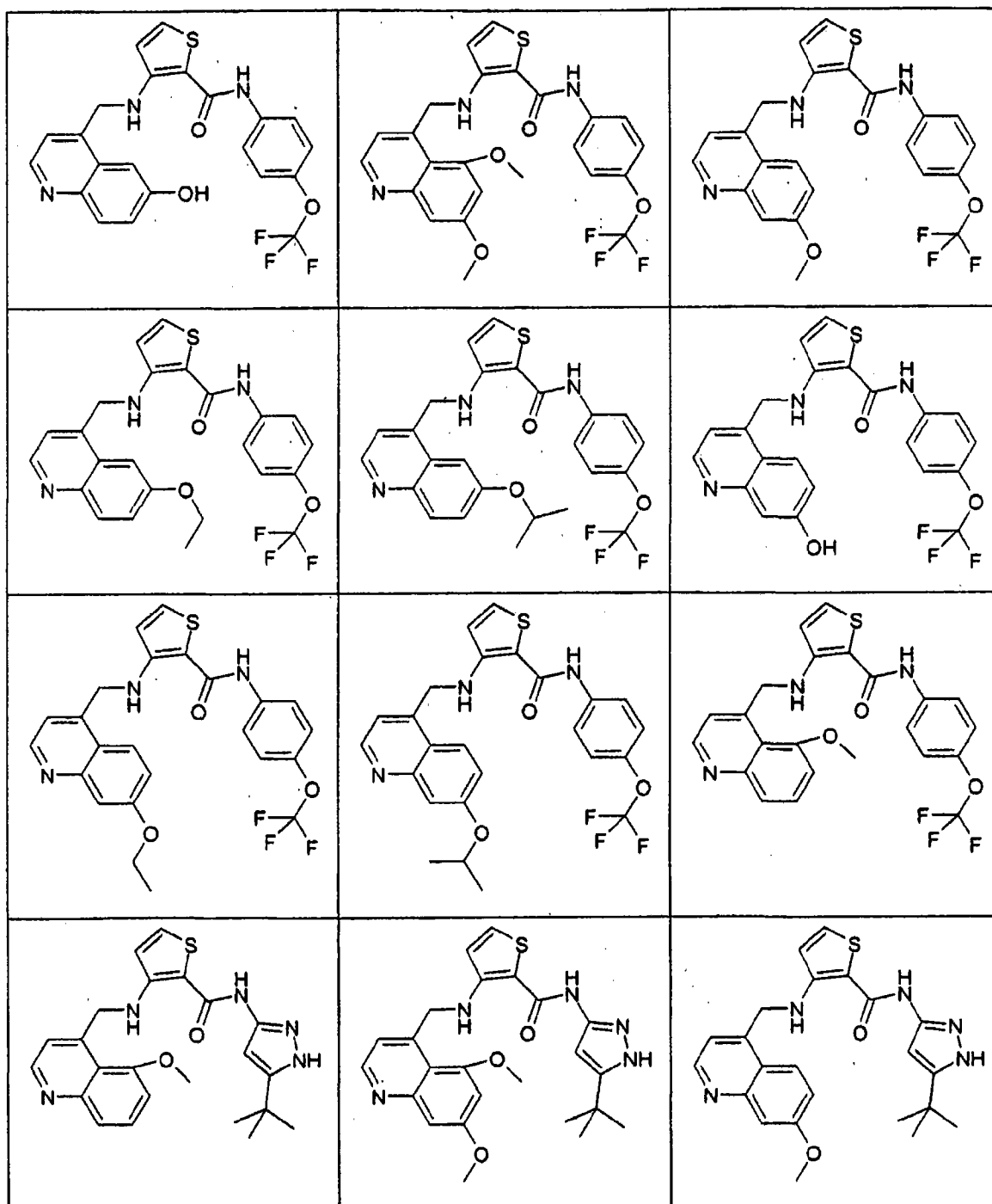
[0076] 本发明还提供了一种用于治疗癌症的方法, 该方法包括将 (i) 第一亚治疗量的 EGFR 激酶抑制剂或其药学上可接受的盐; 和 (ii) 第二有效量的 KIT 激酶抑制剂施用至需要这种治疗的受治疗者。

[0077] 在所述方法中, 施用第一量和第二量的顺序可以是同时的或按序的, 即 KIT 激酶抑制剂可以在 EGFR 激酶抑制剂之前, 在 EGFR 抑制剂之后或与 EGFR 激酶抑制剂同时被施用。在这些方法中的每一种的一个可选择的实施方案中, 癌症对由作为单一药剂的诸如厄洛替尼的 EGFR 激酶抑制剂引起的抑制具有低敏感性或是相对不敏感的或难治疗的。

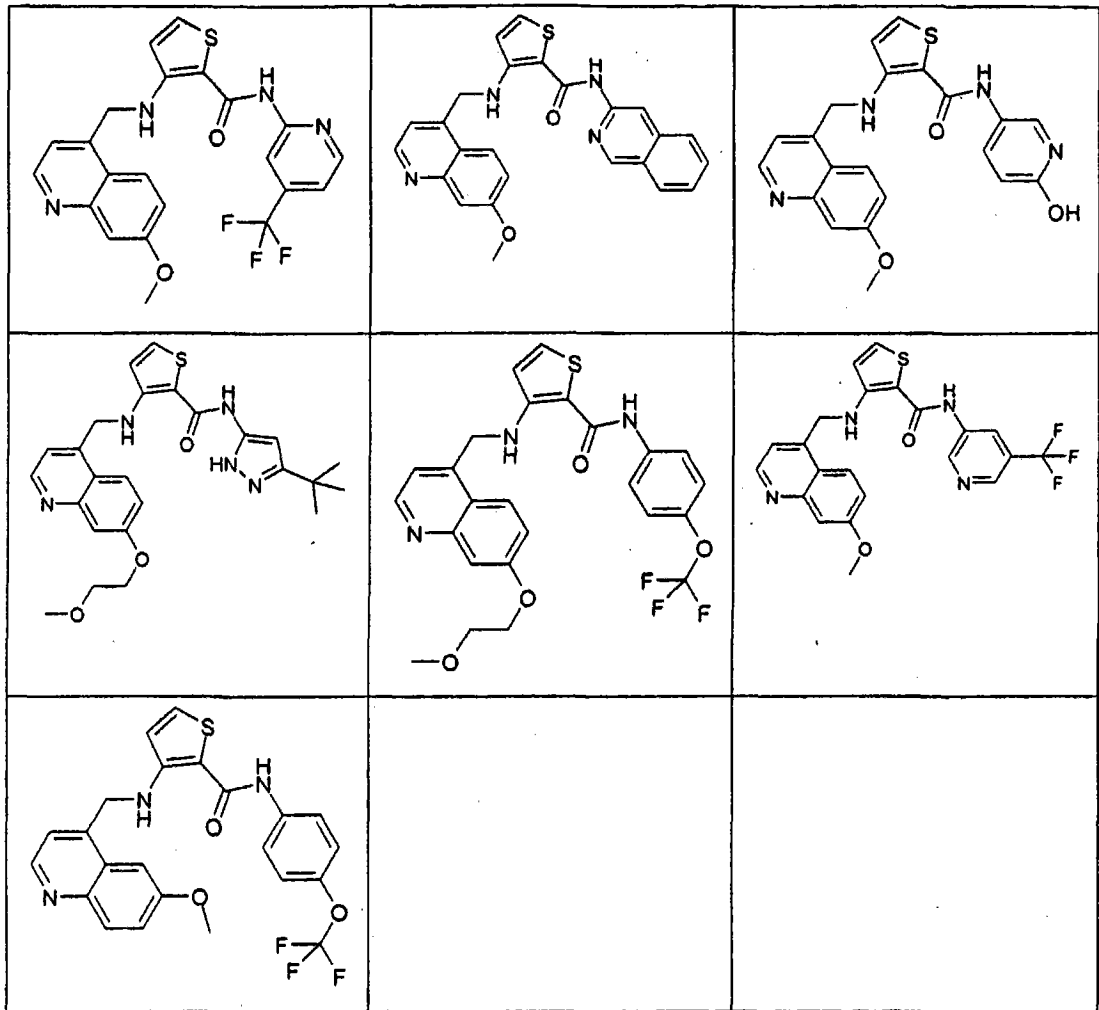
[0078] 在本发明的上下文中, 药剂或疗法的“有效量”是如上所定义的。药剂或疗法的“亚治疗量”是小于该药剂或疗法的有效量的量, 但当与有效量的或亚治疗量的另一种药剂或疗法组合时, 其可以产生内科医生所期望的结果, 这是因为, 如所得到的功效效果中的协同效应或减少的副作用。

[0079] 对上述方法来说, 优选的 EGFR 激酶抑制剂的示例将是厄洛替尼, 包括其药学上可接受的盐或多晶形物; 且优选的 KIT 激酶抑制剂的示例是 3-[(喹啉-4-基甲基)氨基]-N-[4-(三氟甲氧基)苯基]噁吩-2-甲酰胺 (OSI-930)。其他特定的 KIT 激酶抑制剂包括美国专利申请第 US2005/0154014 号中描述的那些, 包括下述化合物:

[0080]



[0081]



[0082] 3-[(喹啉-4-基甲基)氨基]-N-[4-(三氟甲氧基)苯基]噻吩-2-甲酰胺(也称为 OSI-930)在美国专利第 6,949,563 号中被公开为肿瘤细胞的治疗中的 KIT 激酶抑制剂。在美国专利申请第 US 2005/0154014 号的公布中,OSI-817 被公开为肿瘤细胞的治疗中的 KIT α 激酶抑制剂。

[0083] 另外,本发明提供了一种药物组合物,该药物组合物包括在药学上可接受的载体中产生协同的抗肿瘤效果的 EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂的组合。

[0084] 正如本文中使用的,术语“患者”优选指的是基于任何目的而需要用 EGFR 激酶抑制剂进行治疗的人类,且更优选需要这种治疗来治疗癌症或癌前状态或损害的人类。然而,术语“患者”还可以指的是非人类的动物,优选是哺乳动物,诸如狗、猫、马、牛、猪、羊和非人类的灵长类动物以及别的动物,它们需要用 EGFR 激酶抑制剂进行治疗。

[0085] 在一个优选的实施方案中,患者是需要治疗癌症、癌前状态或损害、或异常细胞生长的其他形式的人类。癌症优选是通过施用 EGFR 激酶抑制剂可部分或完全治疗的任何癌症。癌症可以是,如: NSCL 癌症、乳腺癌、结肠癌、胰腺癌、肺癌、支气管肺泡细胞癌、骨癌、皮肤癌、头颈癌、皮肤黑素瘤或眼内黑素瘤、子宫癌、卵巢癌、直肠癌、肛门区域的癌症、胃癌、胃癌 (gastric cancer)、子宫癌、输卵管癌、子宫内膜癌、阴道癌、外阴癌、霍奇金病、食道癌、小肠癌、内分泌系统癌、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、尿道癌、阴茎癌、前列腺癌、膀胱癌、输尿管癌、肾癌、肾细胞癌、肾盂癌、间皮瘤、肝细胞癌、胆道癌、慢性或急性白血病、淋巴细胞淋巴瘤、中枢神经系统 (CNS) 的瘤、脊髓轴肿瘤、脑干胶质瘤、多形性胶

质母细胞瘤、星形细胞瘤、神经鞘瘤、室管膜瘤、髓母细胞瘤、脑膜瘤、鳞状细胞癌、垂体腺瘤、包括上述癌症中的任何一种的难治疗的形式，或上述癌症中的一种或多种的组合。癌前状态或损害包括，例如由以下组成的组：口腔粘膜白斑、光化性角化病（日光性角化病）、结肠或直肠的癌前息肉、胃粘膜上皮异型增生、腺瘤型异型增生、遗传性非息肉性结肠癌综合征（HNPCC）、巴瑞特氏食道症、膀胱异型增生和癌前子宫颈状态。

[0086] 正如本文中使用的，术语“难治疗的”用于定义对于其来说治疗（如，化疗药物、生物剂和 / 或放疗）已经被证明是无效的癌症。难治疗的癌症肿瘤可以收缩，但并不是到治疗被认为是有效的程度。然而，通常，肿瘤保持其被治疗之前的相同尺寸（稳定的疾病），或其生长（进行性疾病）。

[0087] 基于本发明的目的，“共同施用 (co-administration)” 和“共同施用 (co-administering)” EGFR 激酶抑制剂和 KIT 激酶抑制剂（两种组分在下文被称为“两种活性剂”）指的是两种活性剂的任何施用，单独地或一起，其中两种活性剂作为被设计为获得组合疗法的益处的合适剂量方案的一部分被施用。因而，两种活性剂可以作为同一种药物组合物的各部分或在不同的药物组合物中被施用。KIT 激酶抑制剂可以在施用 EGFR 激酶抑制剂之前，同时或之后被施用，或以其一些组合被施用。若 EGFR 激酶抑制剂以重复的间隔，如在治疗的标准过程中被施用至患者，那么 KIT 激酶抑制剂可以在每一次施用 EGFR 激酶抑制剂之前、同时或之后被施用，或以其一些组合被施用，或以与 EGFR 激酶抑制剂治疗有关的不同的间隔被施用，或在用 EGFR 激酶抑制剂治疗的过程之前，治疗的过程中的任何时间或治疗的过程之后以单一剂量被施用。

[0088] EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂通常将会以为待治疗的患者提供癌症的更有效的治疗（从功效和安全性方面）的药剂方案施用至患者，如本领域已知的以及如国际专利公布号 WO 01/34574 中公开的。在进行本发明的治疗方法中，EGFR 激酶抑制剂与 KIT 激酶抑制剂可以以本领域已知的任何有效的方式来施用，诸如口服、局部、静脉内、腹膜内、肌肉内、关节内、皮下、鼻内、眼内、经阴道、经直肠或皮内途径，这取决于待治疗的癌症类型、被使用的 EGFR 激酶抑制剂或 KIT 激酶抑制剂的类型（如，小分子、抗体、RNAi、核酶或反义结构）以及开处方的医生基于，如出版的临床研究的结果做出的医学判断。

[0089] 被施用的 EGFR 激酶抑制剂的量和 EGFR 激酶抑制剂的施用时间将取决于待治疗患者的类型（人种、性别、年龄、体重等）和病情、待治疗疾病或病情的严重程度及施途径。例如，可以向患者施用的小分子 EGFR 激酶抑制剂的剂量范围为每天或每周 0.001mg/kg 体重至 100mg/kg 体重，以单一剂量或分开剂量或通过连续输注（参见例如国际专利公布号 WO 01/34574）。特别地，可以向患者施用的盐酸厄洛替尼的剂量范围为每天 5mg-200mg，或每周 100mg-1600mg，以单一剂量或分开剂量或通过连续输注。优选的药剂量为 150mg/天。可以向患者施用的基于抗体的 EGFR 激酶抑制剂或反义 RNAi 或核酶构建物的剂量范围为每天或每周 0.1mg/kg 体重至 100mg/kg 体重，以单一剂量或分开剂量或通过连续输注。在某些情况下，低于上述范围下限的药剂水平可能是高于足够量的，而在其他情况下，仍然可以使用更大剂量而不会引起任何有害副作用。

[0090] EGFR 激酶抑制剂和 KIT 激酶抑制剂可以通过相同或不同的途径，以多种不同的剂型分别施用或一起施用。例如，EGFR 激酶抑制剂优选口服或胃肠外施用。KIT 激酶抑制剂优选地口服或胃肠外施用。当 EGFR 激酶抑制剂是盐酸厄洛替尼 (TARCEVA®) 时，口服施用

是优选的。EGFR 激酶抑制剂和 KIT 激酶抑制剂都可以以单剂量或多剂量施用。在一个实施方案中，KIT 激酶抑制剂首先作为预治疗施用，接着施用两种药剂（EGFR 激酶抑制剂和 KIT 激酶抑制剂）的组合，分别施用或组合在一种制剂中一起施用。

[0091] EGFR 激酶抑制剂和 KIT 激酶抑制剂可以与多种药学上可接受的惰性载体以下述形式施用：片剂、胶囊、锭剂、糖锭剂、硬糖剂、粉剂、喷雾剂、乳膏剂、药膏、栓剂、胶状物、凝胶剂、糊剂、洗剂、软膏剂、酞剂、糖浆剂以及类似形式。这样的药剂型的施用可以以单剂量或多剂量进行。载体包括固体稀释剂或填充剂、无菌水性介质和各种无毒的有机溶剂等。口服的药物组合物可以适当地被增甜和 / 或调味。

[0092] EGFR 激酶抑制剂和 KIT 激酶抑制剂可以与多种药学上可接受的惰性载体一起混合成下述形式：喷雾剂、乳膏剂、药膏、栓剂、胶状物、凝胶剂、糊剂、洗剂、软膏剂以及类似形式。这样的剂型的施用可以以单剂量或多剂量进行。载体包括固体稀释剂或填充剂、无菌水性介质和各种无毒的有机溶剂等。

[0093] 应当选择包含蛋白质的激酶抑制剂的所有制剂，以避免所述抑制剂的变性和 / 或降解和生物活性的丧失。

[0094] 制备包含 EGFR 激酶抑制剂的药物组合物的方法是本领域已知的，且描述在例如国际专利公布号 WO 01/34574 中。制备包含 KIT 激酶抑制剂的药物组合物的方法也是本领域众所周知的（例如参见美国专利第 6, 949, 563 号和美国专利申请公布第 US 2005/0154014 号）。考虑到本发明的教导，制备包含 EGFR 激酶抑制剂和 KIT 激酶抑制剂两者的药物组合物的方法从上述引用的出版物和其他已知参考文献来看将是明显的，所述参考文献比如 Remington' s Pharmaceutical Sciences (雷明顿药物科学)，Mack Publishing Company, Easton, Pa., 第 18 版 (1990)。

[0095] 对于口服施用 EGFR 激酶抑制剂或 KIT 激酶抑制剂而言，将包含活性剂中的一种或两种的片剂与各种赋形剂、连同各种崩解剂以及制粒粘合剂中的任一种混合，所述赋形剂比如例如微晶纤维素、柠檬酸钠、碳酸钙、磷酸二钙和甘氨酸，所述崩解剂比如淀粉（且优选玉米淀粉、马铃薯淀粉或木薯淀粉）、海藻酸和某些复合硅酸盐，所述制粒粘合剂如聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖、明胶和阿拉伯树胶。另外，润滑剂比如硬脂酸镁、十二烷基硫酸钠和滑石通常对于制备片剂目的是非常有用的。还可以将类似类型的固体组合物作为填充剂应用于明胶胶囊中；在这一点上，优选的物质还包括乳糖 (lactose) 或乳糖 (milk sugar) 以及高分子量聚乙二醇。当期望水性混悬剂和 / 或酞剂用于口服施用时，EGFR 或 KIT 激酶抑制剂可以与各种甜味剂或调味剂、着色物质或染料混合，且如果期望，也可混入乳化剂和 / 或助悬剂连同这样的稀释剂如水、乙醇、丙二醇、甘油及其各种类似组合。

[0096] 对于胃肠外施用活性剂中的任一种或两种而言，可以应用包含活性剂或其相应水溶性盐的在芝麻油或花生油或在水性丙二醇中的溶液，以及无菌水溶液。这样的无菌水溶液优选地合适地被缓冲，且也优选地例如用足量的盐水或葡萄糖使其等渗。这些特定的水溶液特别适于静脉内、肌内、皮下和腹膜内注射应用。油性溶液适于关节内、肌内和皮下注射应用。所有这些溶液在无菌条件下的制备都容易通过本领域技术人员熟知的标准药物技术来完成。应当选择用于施用蛋白质的激酶抑制剂所选的任何胃肠外制剂，以避免所述抑制剂的变性和生物活性的丧失。

[0097] 另外，根据标准药物实践，通过如乳膏剂、洗剂、胶状物、凝胶剂、糊剂、软膏剂、油

膏剂等可以局部施用活性剂中的任一种或两种。例如,可以制备包含约 0.1% (w/v) 至约 5% (w/v) 浓度的 EGFR 激酶抑制剂或 KIT 激酶抑制剂的局部制剂。

[0098] 对于兽医学目的,可以使用如上所述的任一种形式和通过任一种途径分别或一起施用所述活性剂。在一个优选的实施方案中,以胶囊、丸剂、片剂、液体兽用灌药 (drench)、经注射、作为灌注物 (pour-on)、或喷滴剂 (spot on) 或作为植入物的形式施用 EGFR 激酶抑制剂。作为可选择的方案,EGFR 激酶抑制剂可以与动物性饲料一起施用,为了该目的,可以准备浓缩饲料添加剂或预混合料用于普通动物饲料。所述 KIT 激酶抑制剂优选地以液体兽用顿服药、经注射或作为植入物的形式施用。这样的制剂是根据标准兽医实践以常规方式制备的。

[0099] 本发明进一步提供一种试剂盒,其包括包含 EGFR 激酶抑制剂和 KIT 激酶抑制剂两者的单个容器。本发明进一步提供一种试剂盒,其包括包含 EGFR 激酶抑制剂的第一容器和包含 KIT 激酶抑制剂的第二容器。在一个优选的实施方案中,所述试剂盒容器可以进一步包括药学上可接受的载体。所述试剂盒可以进一步包括无菌稀释剂,其优选地贮存在单独的另外的容器中。所述试剂盒可以进一步包括包装说明书,其包括印刷的说明书,该说明书指导使用所述组合疗法作为治疗癌症的方法。所述试剂盒还可以包括另外的容器,该容器包含另外的抗癌剂、增强这种药剂作用的试剂或改善治疗的功效或耐受性的其他化合物。

[0100] 正如本文中使用的,术语“EGFR 激酶抑制剂”指本领域目前已知的或未来将验明的任一种 EGFR 激酶抑制剂,且其包括当施用至患者时,导致抑制与患者的 EGF 受体活化相关的生物活性的任一种化学实体,所述生物活性包括以其他方式由结合其天然配体的 EGFR 引起的下游生物学作用中任一种。这样的 EGFR 激酶抑制剂包括可以阻断 EGFR 活化或 EGFR 活化的下游生物学作用中的任一种的任何试剂,EGFR 活化的下游生物学作用与治疗患者的癌症相关。这样的抑制剂可以通过直接结合受体的胞内域并抑制其激酶活性起作用。可选择地,这样的抑制剂可以通过如下方式起作用:其占据 EGF 受体的配体结合部位或其部分,从而使受体难以接近其天然配体,从而防止或减少其正常生物活性。可选择地,这样的抑制剂可以通过调节 EGFR 多肽的二聚作用,或 EGFR 多肽与其他蛋白质的相互作用,或增加 EGFR 的遍在蛋白化作用和细胞内吞 (endocytotic) 降解起作用。EGFR 激酶抑制剂包括但不限于低分子量抑制剂、抗体或抗体片段、肽或 RNA 适配体、反义构建物、小的抑制性 RNA (即通过 dsRNA 的 RNA 干涉;RNAi) 和核酶。在一个优选的实施方案中,所述 EGFR 激酶抑制剂是有机小分子或特异性结合至人 EGFR 的抗体。

[0101] EGFR 激酶抑制剂包括,例如喹唑啉 EGFR 激酶抑制剂、吡啶并嘧啶 EGFR 激酶抑制剂、嘧啶并嘧啶 EGFR 激酶抑制剂、吡咯并嘧啶 EGFR 激酶抑制剂、吡唑并嘧啶 EGFR 激酶抑制剂、苯基氨基嘧啶 EGFR 激酶抑制剂、羟吡啶 EGFR 激酶抑制剂、吡啶并咪唑 EGFR 激酶抑制剂、酞嗪 EGFR 激酶抑制剂、异黄酮 EGFR 激酶抑制剂、喹啉酮 (quinalone) EGFR 激酶抑制剂和 tyrphostin EGFR 激酶抑制剂,比如在下述专利出版物中描述的那些,及所述 EGFR 激酶抑制剂的所有药学上可接受的盐和溶剂合物:国际专利公布号:WO 96/33980、WO96/30347、WO 97/30034、WO 97/30044、WO 97/38994、WO 97/49688、WO 98/02434、WO 97/38983、WO 95/19774、WO 95/19970、WO97/13771、WO 98/02437、WO 98/02438、WO 97/32881、WO 98/33798、WO 97/32880、WO 97/3288、WO 97/02266、WO 97/27199、WO 98/07726、WO 97/34895、WO 96/31510、WO 98/14449、WO 98/14450、WO98/14451、WO

95/09847、WO 97/19065、WO 98/17662、WO 99/35146、WO 99/35132、WO 99/07701 和 WO 92/20642 ;欧洲专利申请 EP 520722、EP 566226、EP 787772、EP 837063 和 EP 682027 ;美国专利第 5,747,498 号、第 5,789,427 号、第 5,650,415 号和第 5,656,643 号 ;第 6,900,221 号和德国专利申请号 DE 19629652。低分子量 EGFR 激酶抑制剂的另外的非限制性示例包括在 Traxler, P., 1998, Exp. Opin. Ther. Patents 8(12) :1599-1625 中描述的任一种 EGFR 激酶抑制剂。

[0102] 根据本发明可以使用的低分子量 EGFR 激酶抑制剂的特别优选的示例包括 [6,7-二(2-甲氧基乙氧基)-4-喹唑啉-4-基]-(3-乙炔基苯基)胺(也称为 OSI-774、厄洛替尼或 TARCEVA®(盐酸厄洛替尼);OSI Pharmaceuticals/Genentech/Roche)(美国专利第 5,747,498 号;国际专利公布第 WO 01/34574 号和 Moyer, J. D. 等人(1997) Cancer Res. 57 :4838-4848);CI-1033(以前称为 PD1 83805;Pfizer)(Sherwood 等人, 1999, Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 40 :723);PD-158780(Pfizer);AG-1478(University of California);CGP-59326(Novartis);PKI-166(Novartis);EKB-569(Wyeth);GW-2016(也称为 GW-572016 或二甲苯磺酸拉帕替尼;GSK);和吉非替尼(也称为 ZD 1839 或 IRESSA™;Astrazeneca)(Woodburn 等人, 1997, Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 38 :633)。根据本发明可以使用的特别优选的低分子量 EGFR 激酶抑制剂为 [6,7-二(2-甲氧基乙氧基)-4-喹唑啉-4-基]-(3-乙炔基苯基)胺(即厄洛替尼)、其盐酸盐(即盐酸厄洛替尼, TARCEVA®)或其他的盐形式(例如甲磺酸厄洛替尼)。

[0103] EGFR 激酶抑制剂还包括,例如具有对 EGFR 激酶的活性的多种激酶抑制剂,即抑制 EGFR 激酶和一种或多种另外的激酶的抑制剂。这样的化合物的示例包括 EGFR 和 HER2 抑制剂 CI-1033(以前称为 PD183805;Pfizer);EGFR 和 HER2 抑制剂 GW-2016(也称为 GW-572016 或拉帕替尼二甲苯磺酸盐;GSK);EGFR 和 JAK 2/3 抑制剂 AG490(一种酪氨酸磷酸化抑制剂);EGFR 和 HER2 抑制剂 ARRY-334543(ArrayBioPharma);BrBW-2992, 一种不可逆双重 EGFR/HER2 激酶抑制剂(Boehringer Ingelheim Corp.);EGFR 和 HER2 抑制剂 EKB-569(Wyeth);VEGF-R2 和 EGFR 抑制剂 ZD6474(也称为 ZACTIMA™;AstraZeneca Pharmaceuticals),及 EGFR 和 HER2 抑制剂 BMS-599626(Bristol-Myers Squibb)。

[0104] 基于抗体的 EGFR 激酶抑制剂包括任一种抗 EGFR 抗体或抗体片段,其可以通过其天然配体部分地或完全地阻断 EGFR 活化。基于抗体的 EGFR 激酶抑制剂的非限制性示例包括在以下文献中描述的那些:Modjtahedi, H. 等人, 1993, Br. J. Cancer 67 :247-253;Teramoto, T. 等人, 1996, Cancer 77 :639-645;Goldstein 等人, 1995, Clin. Cancer Res. 1 :1311-1318;Huang, S. M. 等人, 1999, Cancer Res. 15 :59(8) :1935-40;以及 Yang, X. 等人, 1999, Cancer Res. 59 :1236-1243。因此,所述 EGFR 激酶抑制剂可以是单克隆抗体 Mab E7.6.3(Yang, X. D. 等人(1999) Cancer Res. 59 :1236-43)或 Mab C225(ATCC Accession No. HB-8508)或具有其结合特异性的抗体或抗体片段。合适的单克隆抗体 EGFR 激酶抑制剂包括但不限于 IMC-C225(也称为西妥昔单抗或 ERBITUX™;Imclone Systems)、ABX-EGF(Abgenix)、EMD 72000(Merck KgaA, Darmstadt)、RH3(York Medical Bioscience Inc.)和 MDX-447(Medarex/Merck KgaA)。

[0105] 可以根据已知的方法,通过向选择的宿主动物,例如猪、牛、马、兔、山羊、绵羊和小

鼠施用合适的抗原或抗原决定部位来提高另外的基于抗体的 EGFR 激酶抑制剂或 KIT 激酶抑制剂。可以使用本领域已知的各种助剂增加抗体产生。

[0106] 尽管在实施本发明中所用的抗体可以是多克隆抗体,但是单克隆抗体是优选的。可以使用提供用于在培养物中的传代细胞系产生抗体分子的任何技术制备和分离抗 EGFR 或 KIT 的单克隆抗体。用于产生和分离的技术包括但不限于最初由 Kohler 和 Milstein 描述的杂交瘤技术 (Nature, 1975, 256 :495-497) ;人 B- 细胞杂交瘤技术 (Kosbor 等人, 1983, Immunology Today 4 :72 ;Cote 等人, 1983, Proc. Nati. Acad. Sci. USA 80 :2026-2030) ;和 EBV- 杂交瘤技术 (Cole 等人, 1985, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc. 第 77-96 页)。

[0107] 可选择地,描述的用于产生单链抗体的技术(参见,例如美国专利第 4,946,778 号)可以适合于产生抗 EGFR 或抗 Kit 单链抗体。用于实施本发明的基于抗体的 EGFR 激酶抑制剂或 KIT 激酶抑制剂还包括抗 EGFR 或抗 Kit 抗体片段,该片段包括但不限于 F(ab')₂ 片段和 Fab 片段,所述 F(ab')₂ 片段可以通过胃蛋白酶消化完整的抗体分子产生,所述 Fab 片段可以通过还原 F(ab')₂ 片段的二硫键产生。可选择地,可以构建 Fab 和 / 或 scFv 表达库(参见,例如 Huse 等人, 1989, Science 246 :1275-1281) 以能够快速验明具有对 EGFR 或 Kit 的期望特异性的片段。

[0108] 用于产生和分离单克隆抗体和抗体片段的技术是本领域熟知的,且其描述在以下文献中:Harlow 和 Lane, 1988, Antibodies :A Laboratory Manual (抗体:实验室手册), Cold Spring Harbor Laboratory 和 J. W. Goding, 1986, Monoclonal Antibodies :Principles and Practice (单克隆抗体:原理和实践), Academic Press, London。人化的抗 EGFR 抗体和抗体片段也可以根据已知的技术制备,比如描述在 Vaughn, T. J. 等人, 1998, Nature Biotech. 16 :535-539 和其中引用的参考文献中的那些,且这样的抗体或其片段也可用于实施本发明。

[0109] 可选择地,用于本发明的 EGFR 激酶抑制剂或 KIT 激酶抑制剂可以为肽或 RNA 适配体。这样的适配体可以例如与 EGFR 的胞外域或胞内域相互作用,以抑制细胞的 EGFR 激酶活性。与胞外域相互作用的适配体是优选的,因为对于这样的适配体,穿过靶细胞的质膜不是必需的。适配体也可以与 EGFR 的配体(例如 EGF、TGF- α) 相互作用,使得其活化 EGFR 的能力受抑制。用于选择合适的适配体的方法是本领域众所周知的。这样的方法已经用于选择与 EGFR 家族成员相互作用或抑制其的肽和 RNA 适配体(例如,参见 Buerger, C. 等人 (2003) J. Biol. Chem. 278 :37610-37621 ;Chen, C-H. B. 等人 (2003) Proc. Natl. Acad. Sci. 100 :9226-9231 ;Buerger, C. 和 Groner, B. (2003) J. Cancer Res. Clin. Oncol. 129(12) :669-675. Epub 2003 Sep 11.)。

[0110] 可选择地,用于本发明的 EGFR 激酶抑制剂或 KIT 激酶抑制剂可以基于反义寡核苷酸构建物。反义寡核苷酸,包括反义 RNA 分子和反义 DNA 分子,将通过结合其而直接阻断 EGFR mRNA 翻译,且从而阻止蛋白翻译或增加 mRNA 降解,因而降低了 EGFR 激酶蛋白的水平且从而降低了其在细胞中的活性。例如,可以通过例如常规磷酸二酯技术合成至少约 15 个碱基且互补至编码 EGFR 的 mRNA 转录序列的唯一区域的反义寡核苷酸,并通过例如静脉注射或输注施用。使用反义技术特别地抑制已知其序列的基因的基因表达的方法是本领域熟知的(例如,参见美国专利第 6,566,135 号;第 6,566,131 号;第 6,365,354 号;第

6, 410, 323 号 ;第 6, 107, 091 号 ;第 6, 046, 321 号和第 5, 981, 732 号)。

[0111] 小干扰 RNA (siRNA) 也可以起到用于本发明的 EGFR 激酶抑制剂或 KIT 激酶抑制剂的作用。可以通过用小双链 RNA (dsRNA) 或引起产生小双链 RNA 的载体或构建物接触肿瘤、受治疗者或细胞来减少 EGFR 基因表达, 从而特别地抑制 EGFR 的表达 (即 RNA 干涉或 RNAi)。对于序列已知的基因, 用于选择合适的编码 dsRNA 或 dsRNA 的载体的方法是本领域众所周知的 (例如, 参见 Tuschl, T. 等人 (1999) *Genes Dev.* 13 (24) :3191-3197 ;Elbashir, S. M. 等人 (2001) *Nature* 411 :494-498 ;Hannon, G. J. (2002) *Nature* 418 :244-251 ;McManus, M. T. 和 Sharp, P. A. (2002) *Nature Reviews Genetics* 3 :737-747 ;Bremmelkamp, T. R. 等人 (2002) *Science* 296 :550-553 ;美国专利第 6, 573, 099 号和第 6, 506, 559 号 ;和国际专利公布号 WO 01/36646、WO 99/32619 和 W001/68836)。

[0112] 核酶也可以起到作为本发明的 EGFR 激酶抑制剂或 KIT 激酶抑制剂的作用。核酶是能够催化特异性裂解 RNA 的酶的 RNA 分子。核酶作用的机制包括将核酶分子序列特异性杂交至互补目标 RNA, 接着内切核苷酸裂解。因此, 设计的特别有效地催化 EGFR mRNA 序列的内切核苷酸裂解的发夹式 (hairpin) 或锤头式 (hammerhead) 基序核酶分子可用于本发明的范围内。在任何潜在 RNA 目标的特异性核酶切割位点最初是通过扫描核酶切割位点的目标分子验明的, 所述目标分子典型地包括下述序列、GUA、GUU 和 GUC。一旦验明, 可以评价对应于包含切割位点的目标基因区域的约 15 个和 20 个核糖核苷酸的短 RNA 序列的预测结构特点, 比如二级结构, 所述结构特点可导致寡核苷酸序列不合适。可以通过使用例如核糖核酸酶保护测定来试验其与互补寡核苷酸的杂交可达性来评价候选目标的适合性。

[0113] 可以通过已知的方法制备用作 EGFR 激酶抑制剂或 KIT 激酶抑制剂的反义寡核苷酸和核酶。这些包括用于化学合成的技术, 比如例如通过固相亚磷酸胺化学合成。可选择地, 反义 RNA 分子可以通过体外或体内转录编码 RNA 分子的 DNA 序列产生。这样的 DNA 序列可以引入到多种载体中, 该载体能加入合适的 RNA 聚合酶促进剂, 比如 T7 或 SP6 聚合酶促进剂。作为增加细胞内稳定性和半衰期的方法, 可以引入对本发明的寡核苷酸的各种修饰。可能的修饰包括但不限于, 将核糖核苷酸或脱氧核糖核苷酸的旁侧序列加入到所述分子的 5' 和 / 或 3' 端, 或者使用所述寡核苷酸主链内的磷硫酰或 2' -O- 甲基而非磷酸二酯酶键。

[0114] KIT 激酶抑制剂可以是本领域目前已知的或未来将验明的任一种 KIT 激酶抑制剂, 且包括当施用至患者时导致抑制患者的 KIT 激酶的任一种化学实体。这样的 KIT 激酶抑制剂可以通过任何生物化学机制抑制 KIT 激酶, 所述生物化学机制包括例如在 ATP 结合位点竞争、在 KIT 激酶的催化部位竞争、非竞争性抑制、不可逆性抑制 (例如共价蛋白修饰) 或调节其他蛋白亚基或结合蛋白与 KIT 激酶的相互作用, 而在某种程度上导致抑制 KIT 激酶活性。KIT 激酶抑制剂的优选的示例包括 KIT 激酶活性的有机小分子抑制剂, 其特别地抑制 KIT 激酶或抑制 KIT 激酶和有限量的其他蛋白激酶活性, 例如 OSI-930、OSI-817。KIT 激酶抑制剂的特别的示例包括在美国专利第 6, 949, 563 号和美国专利申请公布第 US 2005/0154014 号中描述的那些。另外的示例包括 Gleevec™、SU6597、SU6668、SU6561、SU5416、SU6663、SU5614、SU11248、AG1295、AG 1296、帕唑帕尼 (GW786034)、索拉非尼、AMG706、EXEL-0862 和 AMN107。

[0115] 本发明还包括 EGFR 激酶抑制剂和 KIT 激酶抑制剂的组合在用于制备治疗需要其

的患者中的肿瘤或肿瘤转移的药物中的用途,其中所述组合中的每种抑制剂可以同时地或按序地施用至所述患者。本发明还包括 EGFR 激酶抑制剂和 KIT 激酶抑制剂的协同有效的组合在用于制备治疗需要其的患者中的肿瘤或肿瘤转移的药物中的用途,其中所述组合中的每种抑制剂可以同时或顺序施用至所述患者。本发明还包括 EGFR 激酶抑制剂和 KIT 激酶抑制剂的组合在用于制备治疗需要其的患者中的肿瘤或肿瘤转移的药物中的用途,其中所述 KIT 激酶抑制剂是 OSI-930 或 OSI-817,其中所述组合中的每种抑制剂可以同时或按序地施用至所述患者。在任一个上述用途的实施方案中,所述 EGFR 激酶抑制剂为厄洛替尼。在任一个上述用途的可选实施方案中,本发明还包括 EGFR 激酶抑制剂和 KIT 激酶抑制剂与另外的抗癌剂或增加这种药剂作用的试剂的组合在用于制备治疗需要其的患者中的肿瘤或肿瘤转移的药物中的用途,其中所述组合中的每种抑制剂可以同时或按序地施用至所述患者。在本文中,其他抗癌剂或增加这种药剂作用的试剂可以是当治疗患者时可以加入到所述 EGFR 激酶抑制剂和所述 KIT 激酶抑制剂中的任一种上列试剂。

[0116] 本发明还包括一种药物组合物,其由 EGFR 激酶抑制剂和 KIT 激酶抑制剂与药学上可接受的载体的组合组成。

[0117] 优选地,所述组合物由药学上可接受的载体和无毒的治疗有效量的 EGFR 激酶抑制剂和 KIT 激酶抑制剂的组合(包括其中每种组分的药学上可接受的盐)组成。

[0118] 而且,在这一优选的实施方案之内,本发明包括一种用于治疗疾病的药物组合物,应用其可引起抑制瘤细胞、良性或恶性肿瘤的生长或转移,所述药物组合物包含药学上可接受的载体和无毒的治疗有效量的 EGFR 激酶抑制剂和 KIT 激酶抑制剂的组合(包括其中每种组分的药学上可接受的盐)。

[0119] 术语“药学上可接受的盐”指由药学上可接受的无毒性碱或酸制备的盐。当本发明的化合物是酸性的时,其相应的盐可以由药学上可接受的无毒性碱方便地制备,所述碱包括无机碱和有机碱。来源于这样的无机碱的盐包括铝盐、铵盐、钙盐、铜(二价铜和亚铜)盐、三价铁盐、二价铁盐、锂盐、镁盐、锰(三价锰和二价锰)盐、钾盐、钠盐、锌盐和类似盐。特别优选的是铵盐、钙盐、镁盐、钾盐和钠盐。来源于药学上可接受的无毒的有机碱的盐包括伯胺盐、仲胺盐和叔胺盐、以及环胺盐和取代的胺的盐比如天然存在的胺和合成的被取代胺的盐。可以由其形成盐的其他药学上可接受的无毒的有机碱包括离子交换树脂,比如例如精氨酸、甜菜碱、咖啡因、胆碱、N, N' - 二苄基乙二胺、二乙胺、2- 二乙氨基乙醇、2- 二甲氨基乙醇、乙醇胺、乙二胺、N- 乙基吗啉、N- 乙基哌啶、葡糖胺(glucamine)、葡糖胺(glucosamine)、组氨酸、海巴胺(hydrabamine)、异丙胺、赖氨酸、甲基葡糖胺、吗啉、哌嗪、哌啶、多胺树脂、普鲁卡因、嘌呤、可可碱、三乙胺、三甲胺、三丙胺、氨基丁三醇和类似物。

[0120] 当本发明的化合物是碱性的时,其相应盐可以由药学上可接受的无毒酸方便地制备,所述酸包括无机酸和有机酸。这样的酸包括,例如乙酸、苯磺酸、苯甲酸、樟脑磺酸、柠檬酸、乙磺酸、富马酸、葡糖酸、谷氨酸、氢溴酸、盐酸、羟乙磺酸、乳酸、马来酸、苹果酸、扁桃酸、甲磺酸、粘酸、硝酸、扑酸、泛酸、磷酸、琥珀酸、硫酸、酒石酸、对甲苯磺酸和类似物。特别优选的是柠檬酸、氢溴酸、盐酸、马来酸、磷酸、硫酸和酒石酸。

[0121] 本发明的药物组合物包含作为活性成分的 EGFR 激酶抑制剂和 KIT 激酶抑制剂的组合(包括其中每种组分的药学上可接受的盐)、药学上可接受的载体和任选地其他治疗成分或助剂。其他治疗剂可以包括那些细胞毒性剂、化疗剂或抗癌剂、或如上列出的增加这

种药剂作用的试剂。所述组合物包括适于口服、直肠、局部和胃肠外（包括皮下、肌内和静脉内）施用的组合物，尽管在任何给定情况下，最合适的途径将取决于施用活性成分的特 定宿主及病症的性质和严重性。所述药物组合物可以方便地被给出为单元剂型，并且可以 通过药学领域中众所周知的任何方法制备。

[0122] 在实践中，可以根据常规药物混合技术，把作为密切混合物的活性成分的复合物 与药物载体混合起来，所述复合物由本发明的 EGFR 激酶抑制剂和 KIT 激酶抑制剂的组合 （包括其中每种组分的药学上可接受的盐）表示。所述载体可以采取多种形式，取决于期望 施用例如口服或胃肠外（包括静脉内）施用的制剂形式。因此，本发明的药物组合物可以 被给出为适于口服施用的分散单元，所述分散单元比如胶囊、扁囊剂或片剂，各自都包含预 定量的活性成分。进一步，所述组合物可以被给出为粉剂、颗粒剂、溶液、在水性溶液中的混 悬剂、非水性液体、水包油型乳剂或油包水型液体乳剂。除了上述列出的常见剂型，EGFR 激 酶抑制剂和 KIT 激酶抑制剂的组合（包括其中每种组分的药学上可接受的盐）也可以通过 控释工具和 / 或递送装置施用。所述组合的组合物可以通过任何药学方法制备。通常，这 样的方法包括使所述活性成分与构成一种或多种必需成分的载体混合的步骤。通常，所述 组合物是通过均匀地和紧密地混合所述活性成分与液体载体或细碎的固体载体或两者制 备的。然后，可以将所述产物方便地制成期望外观的形状。

[0123] 因此，本发明的药物组合物可以包括药学上可接受的载体与 EGFR 激酶抑制剂和 KIT 激酶抑制剂的组合（包括其中每种组分的药学上可接受的盐）。EGFR 激酶抑制剂和 KIT 激酶抑制剂的组合（包括其中每种组分的药学上可接受的盐）也可以与一种或多种其他治 疗活性化合物一起包括在药物组合物中。其他治疗活性化合物可以包括那些细胞毒性剂、 化疗剂或抗癌剂，或如上列出的增加这种药剂作用的试剂。

[0124] 因此，在本发明的一个实施方案中，药物组合物可以包含 EGFR 激酶抑制剂和 KIT 激酶抑制剂与抗癌剂的组合，其中所述抗癌剂选自：烷基化药物、抗代谢药、微管抑制剂、鬼 臼霉素、抗生素、亚硝基脲类、激素治疗剂、激酶抑制剂、肿瘤细胞细胞凋亡活化剂和抗血管 生成剂。

[0125] 应用的药物载体可以是例如固体、液体或气体。固体载体的示例包括乳糖、石膏 粉、蔗糖、滑石、明胶、琼脂、果胶、阿拉伯树胶、硬脂酸镁和硬脂酸。液体载体的示例为糖浆、 花生油、橄榄油和水。气体载体的示例包括二氧化碳和氮气。

[0126] 在制备用于口服剂型的组合物中，可以采用任何常见的药物介质。例如，水、二醇、 油、醇、调味剂、防腐剂、着色剂和类似物可用于形成口服液体制剂，比如混悬剂、酞剂和溶 液剂；而载体比如淀粉、糖、微晶纤维素、稀释剂、造粒剂、润滑剂、粘合剂、崩解剂和类似物 可用于形成口服固体制剂，比如粉剂、胶囊和片剂。因为片剂和胶囊易于施用，它们代表优 选的口 服剂量单元，由此采用固体药物载体。任选地，片剂可以通过标准的水性或非水性技 术包衣。

[0127] 包含本发明组合物的片剂可以通过任选地与一种或多种辅助成分或助剂压制或 模压制备。压制片剂可以通过在合适的机器中，压制自由流动形式比如粉末或颗粒的活性 成分，任选地与粘合剂、润滑剂、惰性稀释剂、表面活性剂或分散剂的混合物来制备。模压片 可以通过在合适的机器中，模压用惰性液体稀释剂润湿的粉末化合物来制备。每片优选地 包含约 0.05mg 至约 5g 的活性成分，每个扁囊剂或胶囊优选地包含约 0.05mg 至约 5g 的活

性成分。

[0128] 例如,预期用于口服施用至人类的制剂可以包含与合适的常规量的载体材料混合的约 0.5mg 至约 5g 的活性剂,所述载体可以占总组合物的约 5% 至约 95%。单元剂型通常将包含约 1mg 至约 2g 的活性成分,典型地为 25mg、50mg、100mg、200mg、300mg、400mg、500mg、600mg、800mg 或 1000mg。

[0129] 适于胃肠外施用的本发明的药物组合物可以被制备为活性化合物在水中的溶液剂或混悬剂。其可以包括合适的表面活性剂,比如例如羟丙基纤维素。还可以制备甘油、液体聚乙二醇及其混合物在油中的分散液。进一步地,其可以包括防腐剂,以防止微生物的有害生长。

[0130] 适于注射使用的本发明的药物组合物包括无菌水性溶液或分散液。而且,所述组合物可以是无菌粉末的形式,其可用于临时配制这样的无菌可注射溶液或分散液。在所有的情况下,最终可注射形式必须是无菌的,且必须是容易注射的有效液体。所述药物组合物必须在制备和储藏条件下是稳定的;因此,优选地应当经防腐吹了以防止微生物比如细菌和真菌的污染作用。所述载体可以是溶剂或分散介质,包含,例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇和液体聚乙二醇)、植物油及其合适的混合物。

[0131] 本发明的药物组合物可以是适于局部使用的形式,比如例如气雾剂、乳膏剂、软膏剂、洗剂、扑粉或类似物。进一步,所述组合物可以是适用于透皮装置的形式。这些制剂可以经由常规加工方法,利用本发明的 EGFR 激酶抑制剂和 KIT 激酶抑制剂的组合(包括其中每种组分的药学上可接受的盐)制备。作为一个示例,乳膏剂或软膏剂是通过将亲水性物质和水以及约 5 重量%至约 10 重量%的所述化合物一起混合以产生具有期望稠度的乳膏剂或软膏剂制备的。

[0132] 本发明的药物组合物可以是适于经直肠施用的形式,其中载体是固体。优选地,所述混合物形成单元剂量栓剂。合适的载体包括可可脂和本领域通常使用的其他物质。所述栓剂可以通过首先混合所述组合物与软化的或熔融的载体,接着在模具中冷却和成形来方便地形成。

[0133] 除了前述载体成分之外,视情况而定,如上所述的药物制剂可以包括一种或多种另外的载体成分,比如稀释剂、缓冲剂、调味剂、粘合剂、表面活性剂、增稠剂、润滑剂、防腐剂(包括抗氧化剂)和类似物。而且,其可以包括其他助剂,以使所述制剂与预期接受者的血液等渗。包含 EGFR 激酶抑制剂和 KIT 激酶抑制剂的组合(包括其中每种组分的药学上可接受的盐)也可被制备成粉末或液态浓缩物的形式。

[0134] 用于本发明的组合的化合物的剂量水平将接近如本文描述的,或者如本领域关于这些化合物所描述的。然而,应当理解,任何特定患者的具体剂量水平将取决于多种因素,包括年龄、体重、一般健康状况、性别、饮食、施用时间、施用途径、排泄速率、药物组合及进行治疗的特定疾病的严重性。

[0135] 根据随后试验详述将会更好地理解本发明。然而,在本领域技术人员应当容易理解,所讨论的具体方法和结果仅仅是作为权利要求书更充分描述的本发明的示例,而不应当被认为以任何方式限制本发明。

[0136] 实验详述:

[0137] 实施例 1

[0138] 在本文中, 本发明人测定了组合 EGFR 抑制剂厄洛替尼与小分子 KIT 激酶抑制剂 (OSI-930 或 OSI-817) 产生对肿瘤异种移植协同生长抑制的作用。与通常具有类似毒性的细胞毒素化疗剂不同, 限定它们的组合应用, 分子靶向剂倾向于具有不相重叠的毒性特征。因此, 设计靶向剂的混合物应当是临床可行的。特定组合的靶向剂的协同能力还可以使得减少每种单一试剂的剂量。在本文中, 证实了 KIT 激酶抑制剂与 EGFR 激酶抑制剂的组合可以有效地以协同方式抑制肿瘤异种移植的生长。因此, 组合 KIT 激酶抑制剂与 EGFR 激酶抑制剂比如厄洛替尼将在临床上用于患有肿瘤或瘤转移的患者。

[0139] 材料和方法

[0140] 药物: 选择性的 HER1/EGFR 激酶抑制剂厄洛替尼是由 OSI Pharmaceuticals, Melville, NY, USA 合成的, 为盐酸盐即盐酸厄洛替尼 (TARCEVA®)。KIT 激酶抑制剂 OSI-930 和 OSI-817 是由 OSI Pharmaceuticals, Melville, NY, USA. 合成的, 为游离碱。

[0141] 细胞系: 人癌细胞系购自 American Type Culture Collection (ATCC)。NSCLC 细胞系 H441 和 H2122 是在如 ATCC 规定的包含 10% FCS 的培养基中生长的。

[0142] 化合物对肿瘤生长的作用的测量: 在指数细胞生长期间, 从细胞培养瓶中收集细胞, 用无菌 PBS 洗涤两次, 计数并再悬浮在 PBS 中至合适的浓度, 之后皮下 (s. c.) 植入到雌性 nu/nu CD-1 小鼠的右侧腹上。建立肿瘤至尺寸为 $200 \pm 50 \text{mm}^3$, 之后随机分成每组 8 只小鼠的治疗组。如显示的口服施用 OSI-930、OSI-817、厄洛替尼或赋形剂。在研究期间, 每周两次测定体重, 同时使用游标卡尺测量肿瘤体积 $\{V = [\text{长度} \times (\text{宽度})^2] / 2\}$ 。在剂量施用期间, 每周两次通过下式确定肿瘤生长抑制 (% TGI): $\% \text{TGI} = (1 - (T_t / T_0 / C_t / C_0) / 1 - \{C_0 / C_t\}) \times 100$, 其中 T_t = 在时刻 t 治疗的平均肿瘤体积, T_0 = 在时刻 0 治疗的平均肿瘤体积, C_t = 在时刻 t 对照的平均肿瘤体积, C_0 = 在时刻 t 对照的平均肿瘤体积。将 OSI-930 和 OSI-817 作为单一试剂以 20mL/kg 剂量溶液的合适浓度配制在 100% 的 Labrafil 中。超声处理所有的药剂量溶液 30 分钟至完全溶解, 并保存在 5°C (冷藏) 下直至剂量施用。对于与厄洛替尼的组合研究, 通过如下方法将 OSI-930 和 OSI-817 配制在 0.1M HCl 中的 30% Captisol® (Cydex, Lenexa, Kansas) 中: 将 30g 的 Captisol 溶于 100ml 的 0.1M HCl (pH 不超过 1.5) 中, 在量瓶中称量需要量的 OSI-930 或 OSI-817, 接着向该量瓶中加入需要量的介质, 并超声处理 30 分钟。然后, 从超声处理器中移出小瓶, 放置到搅拌器上, 直至完全溶解。将得到的药物保存在 5°C (冷藏) 直至剂量施用。对于所有组合物研究, 以 2X 浓度配制药物, 使得在剂量施用时, 以 1 : 1 混合 OSI-930 或 OSI-817 与厄洛替尼, 然后一次口服剂量施用 20mL/kg 的溶液。

[0143] 结果

[0144] 试验单独的两种小分子 KIT 激酶抑制剂 (OSI-930 或 OSI-817) 和与 OSI-774 (TARCEVA®, 厄洛替尼) 的组合对于人肿瘤生长如免疫损害小鼠中的异种移植物的作用。

[0145] 如图 1 所示, 关于 H2122 细胞系, 当分别施用单独的厄洛替尼 (100mg/kg) 和单独的 OSI-930 (100mg/kg) 时, 在剂量施用第 14 天, 肿瘤体积为初始肿瘤体积的约 250% 和 120%。相反, 当以较低的 60mg/kg 剂量的每种化合物施用厄洛替尼和 OSI-930 的组合时, 肿瘤体积为初始肿瘤体积的约 80%。而且, 当以 100mg/kg 的每种化合物施用厄洛替尼和 OSI-930 的组合时, 肿瘤体积为初始肿瘤体积的约 50%。因此, OSI-930 和厄洛替尼的组合

引起异种移植瘤尺寸减小,而仅仅发现单独的所述化合物降低肿瘤生长率。

[0146] 在剂量施用期间根据评价动物体重所判断的,60mg/kg 的 OSI-930 和厄洛替尼的组合不会引起严重毒性(图 2)。因此,该组合增加了抗肿瘤活性,而不会增加毒性。在剂量施用期间,100mg/kg 每种化合物的 OSI-930 和厄洛替尼的组合引起体重减轻,但该作用是暂时的,在剂量施用期间之后,体重恢复正常。

[0147] 如图 3 和 4 所示,在 H441 NSCLC 异种移植瘤模型中,OSI-930 和厄洛替尼的组合以类似的方式更有效,并且如图 5 和 6 所示,在 H441NSCLC 异种移植瘤模型中,用厄洛替尼和 OSI-817 的组合观察到类似的作用。如图 7 和 8 所示,在 HT29CRC 异种移植瘤模型中,OSI-930 和厄洛替尼的组合更有效。

[0148] 实施例 2. 进展后治疗模式

[0149] 许多最初响应厄洛替尼治疗的患有 NSCLC 的患者,在一年的治疗期间,发展成进行性疾病。形成的临床资料表明,即使当开始新的治疗时,在患有进行性疾病的患者中继续厄洛替尼治疗可能仍是有益。该现象的机制目前仍是未知的。为了评价这一点,使用进行性疾病的临床前模型。该模型利用 NCI-H292 肿瘤异种移植瘤,其最初对厄洛替尼治疗的响应非常好。然而,用厄洛替尼治疗的约 30% 的小鼠证实了初始响应,然后,当持续厄洛替尼治疗时,其具有肿瘤再生长(发展)。

[0150] 产生对厄洛替尼敏感性降低的 H292 肿瘤的体内模型,并利用其研究引起进展后治疗现象的潜在机制。该小鼠肿瘤异种移植瘤模型是体内连续繁殖 H292 肿瘤产生的,当用厄洛替尼治疗时,所述 H292 肿瘤具有肿瘤发展。所述模型是通过如下方法引发的:在指数细胞生长期间从培养瓶中收集 NCI-H292 细胞,将其用无菌 PBS 洗涤两次,计数并将其再悬浮在 PBS 中达到合适的浓度,之后皮下(s. c.)植入到雌性 nu/nu CD-1 小鼠的右侧腹上。建立肿瘤至尺寸为 $200 \pm 50 \text{mm}^3$,之后随机分成厄洛替尼治疗组。在厄洛替尼治疗 28 天之后,切除具有厄洛替尼响应最小的肿瘤的小鼠的肿瘤,切成 1mm 片段,然后,将其植入首次用于实验的小鼠中。一旦如上所述开始建立肿瘤,再进行厄洛替尼治疗 28 天。重复前述过程,使最小响应的肿瘤体内连续传代 7 代。这导致 H292 肿瘤的体内模型对厄洛替尼的敏感性降低。使用该模型评价进展后治疗范例的潜在机制。

[0151] 为了进行临床前进展后治疗研究,在指数细胞生长期间从细胞培养瓶中收集 NCI-H292 细胞,将其用无菌 PBS 洗涤两次,计数并将其再悬浮在 PBS 中达到合适的浓度,之后皮下(s. c.)植入到雌性 nu/nuCD-1 小鼠的右侧腹上。建立肿瘤至尺寸为 $200 \pm 50 \text{mm}^3$,之后随机分成赋形剂对照或厄洛替尼治疗组。在口服剂量施用厄洛替尼 32 天之后,将最初响应厄洛替尼(如上所述证实的肿瘤生长抑制),然后开始肿瘤再生长(发展),同时仍然进行厄洛替尼治疗的小鼠随机再分类到下述组之一中,每组 $n = 8$: 1) 不再治疗;2) 维持厄洛替尼治疗;3) 取消厄洛替尼治疗,采用 OSI-930 治疗,或 4) 维持厄洛替尼治疗,并将 OSI-930 附加到治疗方案中。每只动物维持其指定的药剂量施用方案,直到分类时其肿瘤体积翻倍。在分类后 56 天,当除了所述组合组之外的所有小鼠的肿瘤体积翻倍时,基于所述数据进行 Dunnett's 检验的等级 ANOVA,以评价治疗方案的统计显著性。当进展中的小鼠取消厄洛替尼治疗且不再给予治疗时,它们的肿瘤在 7.5 天翻倍,这与对照肿瘤的生长不同。然而,维持厄洛替尼治疗延迟翻倍的时间至 19.6 天。如果停止厄洛替尼,OSI-930 引发的肿瘤翻倍时间为 30 天,在进展时,对厄洛替尼附加 OSI-930 延迟肿瘤翻倍时

间超过 56 天。这证实了单一疗法与不再治疗两者之间的统计显著性（对于厄洛替尼， $p = 0.0048$ ，对于 OSI-930， $p < 0.0001$ ）。然而，厄洛替尼和 OSI-930 的组合比单独的厄洛替尼（ $p < 0.0001$ ）和单独的 OSI-930（ $p = 0.0002$ ）的单一疗法显著得多。将结果描述在图 9 和 10 中。因此，该数据证实了在进展中维持厄洛替尼治疗并附加 OSI-930 的统计学显著的益处。

[0152] 实施例 3. 进展后治疗, GEO 模型

[0153] 为了进行临床前进展后治疗研究, 在指数细胞生长期间从细胞培养瓶中收集 GEO 细胞, 用无菌 PBS 洗涤两次, 计数并将其再悬浮在 PBS 中达到合适的浓度, 之后皮下 (s. c.) 植入到雌性 nu/nu CD-1 小鼠的右侧腹上。建立肿瘤至尺寸为 $200 \pm 50 \text{mm}^3$, 之后随机分成赋形剂对照或厄洛替尼治疗组。在口服剂量施用厄洛替尼 15 天之后, 将最初响应厄洛替尼 (如上所述证实的肿瘤生长抑制), 然后开始肿瘤再生长 (发展), 同时仍然进行厄洛替尼治疗的小鼠随机再分类到下述组之一中, 每组 $n = 8$: 1) 不再治疗; 2) 维持厄洛替尼治疗; 3) 取消厄洛替尼治疗, 采用 OSI-930 治疗, 或 4) 维持厄洛替尼治疗, 并将 OSI-930 附加到治疗方案中。每只动物维持其指定的药剂量施用方案, 直到分类时的其肿瘤体积翻倍。在分类后 47 天, 当除了所述组合组之外的所有小鼠的肿瘤体积翻倍时, 基于所述数据进行标准 Kaplan-Meier 存活试验, 以评价治疗方案的统计显著性。当进展中的小鼠取消厄洛替尼治疗且不再给予治疗时, 它们的肿瘤在 11.6 天翻倍, 这与对照肿瘤的生长不同。维持厄洛替尼治疗延迟翻倍的时间至 16.7 天, 这与不再治疗相比较时是统计学不显著的 ($p = 0.08$)。如果停止厄洛替尼, OSI-930 引发的肿瘤翻倍时间为 23.5 天, 在进展时, 对厄洛替尼附加 OSI-930 延迟肿瘤翻倍时间超过 36 天。与不再治疗相比, 改变成 OSI-930 或联合 OSI-930 与厄洛替尼维持引起统计显著性 (对于 OSI-930, $p = 0.0047$, 对于厄洛替尼 +OSI-930, $p = 0.0015$)。而且, 厄洛替尼和 OSI-930 的组合比单独的厄洛替尼 ($p = 0.0004$) 和单独的 OSI-930 ($p = 0.0029$) 的单一疗法显著得多。将结果描述在图 11 和 12 中。因此, 该数据证实了在进展中维持厄洛替尼治疗并加入 OSI-930 的统计学显著的益处。

[0154] 缩写

[0155] EGF, 表皮生长因子; EGFR, 表皮生长因子受体; EMT, 上皮向间充质的转化; MET, 上皮向上皮的转化; NSCL, 非小细胞肺; NSCLC, 非小细胞肺癌; HNSCC, 头颈鳞状细胞癌; CRC, 结肠直肠癌; MBC, 转移性乳腺癌; Brk, 乳腺肿瘤激酶 (也称为蛋白酪氨酸激酶 6 (PTK6)); LC, 液相色谱; IGF-1, 胰岛素样生长因子-1; TGF α , 转化生长因子 α ; IC₅₀, 半数最大抑制浓度; pY, 磷酸酪氨酸; wt, 野生型; PI3K, 磷脂酰肌醇-3 激酶; GAPDH, 3-磷酸甘油醛脱氢酶; MAPK, 细胞分裂素活化蛋白激酶; PDK-1, 3-磷酸肌醇-依赖性蛋白激酶 1; Akt, 也称为蛋白激酶 B, 是病毒癌基因 v-Akt 的细胞同系物; mTOR, 雷帕霉素的哺乳动物靶点; 4EBP1, 真核翻译起始因子-4E (mRNA 帽-结合蛋白) 结合蛋白-1, 也称为 PHAS-I; p70S6K, 70kDa 的核糖体蛋白-S6 激酶; eIF4E, 真核翻译起始因子-4E (mRNA cap-结合蛋白); Raf, Raf 致癌基因的蛋白激酶产物; MEK, ERK 激酶, 也称为促细胞分裂素活化蛋白激酶激酶; ERK, 细胞外信号-调节蛋白激酶, 也称为细胞分裂素活化蛋白激酶; PTEN, “在染色体 10 上删除的磷酸酶和张力蛋白同系物”, 一种磷脂酰肌醇磷酸酯磷酸酶; pPROTEIN, 磷酸-PROTEIN, “PROTEIN” 可以是可被磷酸化的任一种蛋白, 例如 EGFR、ERK、S6 等; PBS, 磷酸缓冲盐水; TGI, 肿瘤生长抑制; WFI, 注射用水; SDS, 十二烷基硫酸钠; ErbB2, “v-erb-b2 成红细胞白血病病毒癌基因

同系物 2”，也称为 HER-2 ;ErbB3,“v-erb-b2 成红细胞白血病病毒癌基因同系物 3”，也称为 HER-3 ;ErbB4,“v-erb-b2 成红细胞白血病病毒癌基因同系物 4”，也称为 HER-4 ;FGFR,成纤维细胞生长因子受体 ;DMSO,二甲亚砜。

[0156] 引入作为参考

[0157] 在此,将本文公开的所有专利、公布的专利申请及其他参考文献特别地引入本文作为参考。

[0158] 等价物

[0159] 本领域技术人员将认识到或能仅仅使用常规实验来确定本文特别描述的本发明具体实施方案的许多等价物。这样的等价物预期被包括在下述权利要求书的范围内。

H2122 NSCLC异种移植物

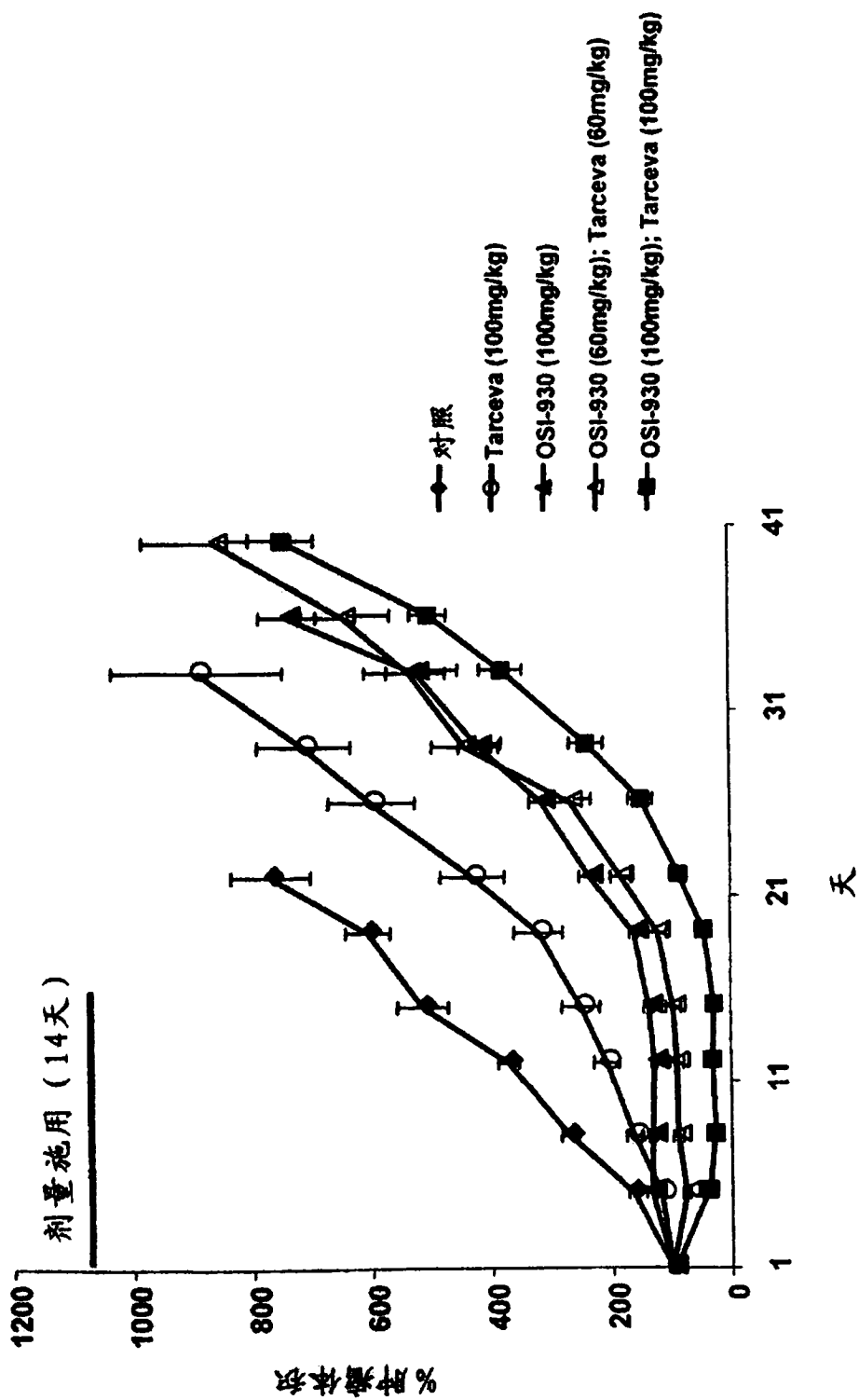


图 1

H2122 NSCLC异种移植物

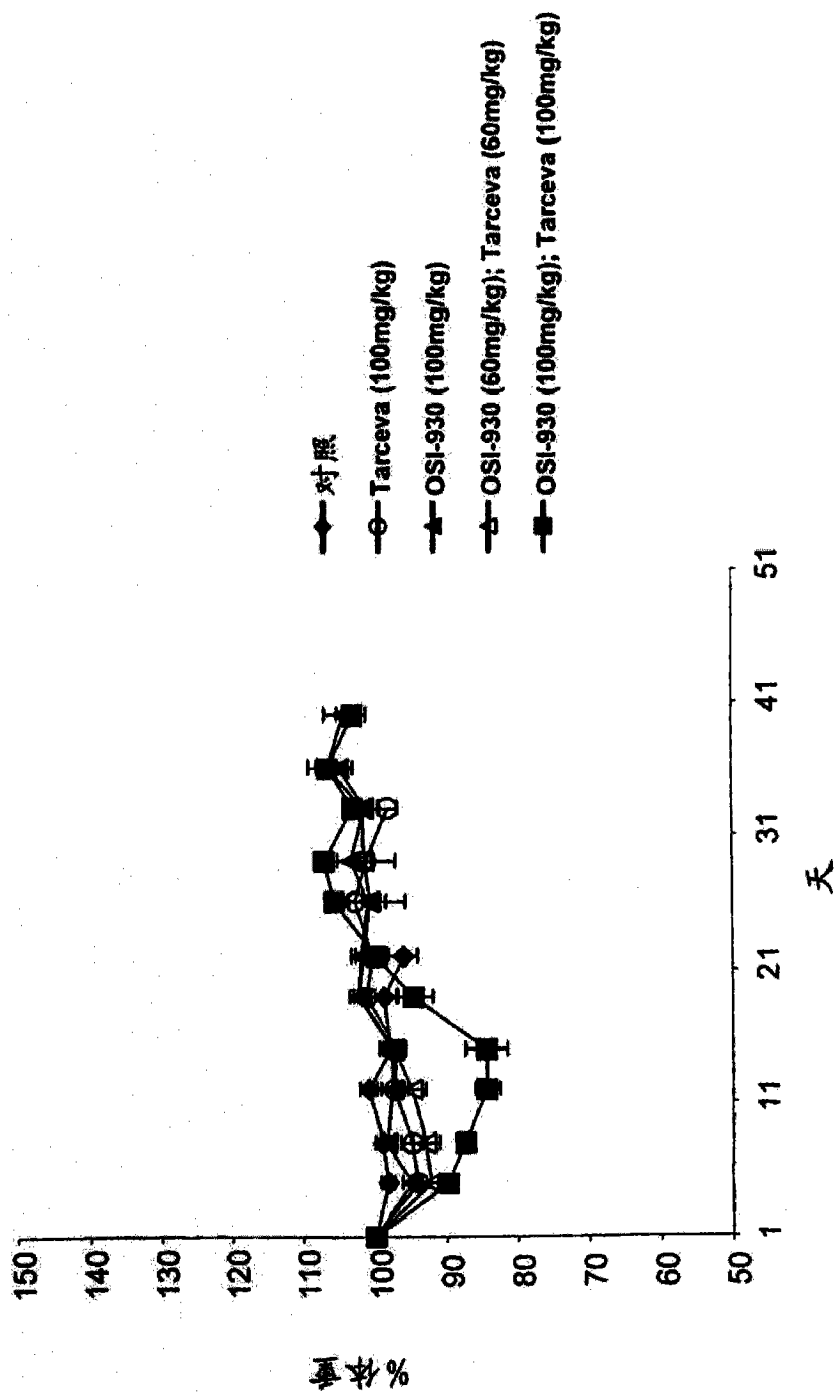


图 2

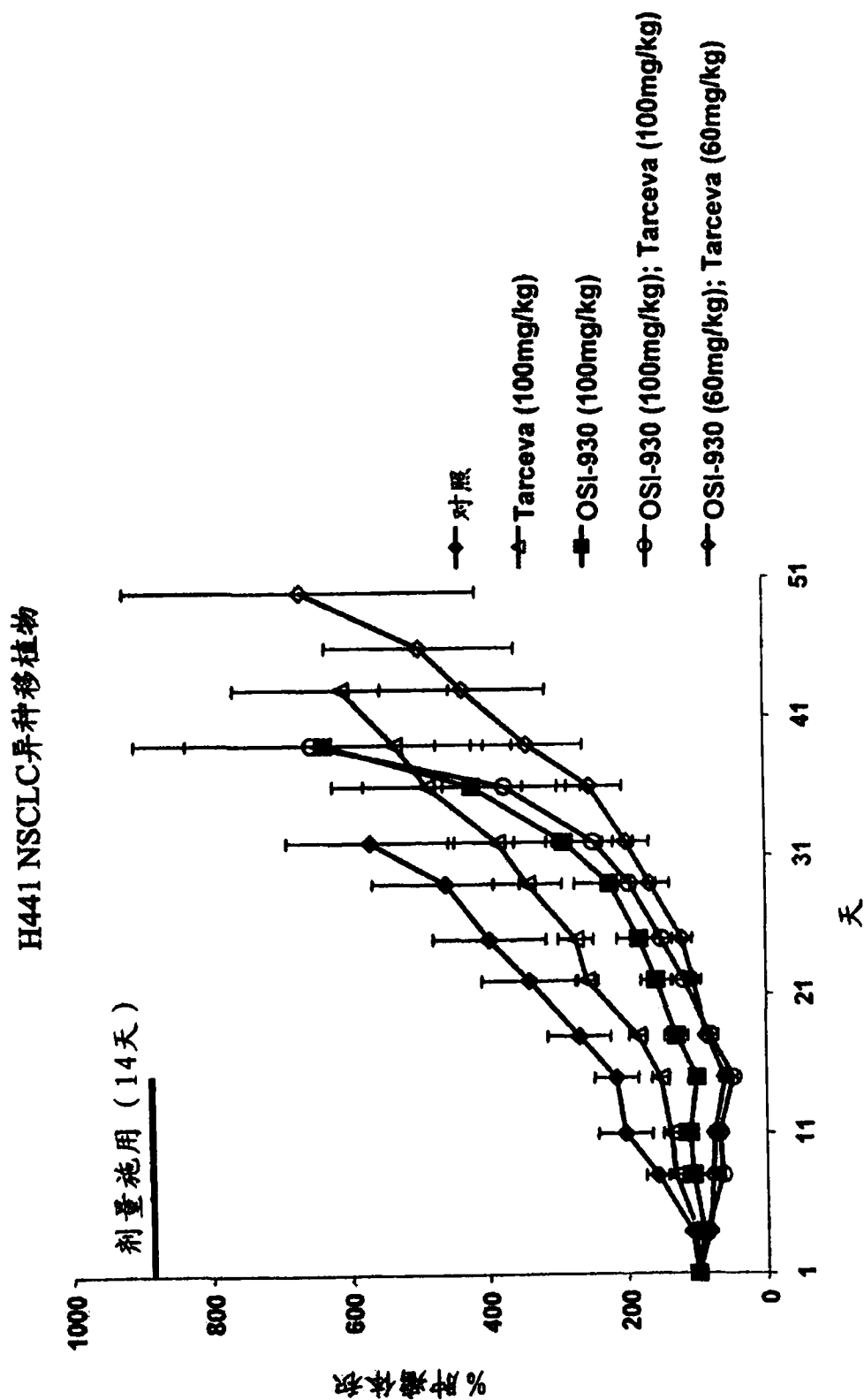


图 3

H441 NSCLC异种移植物

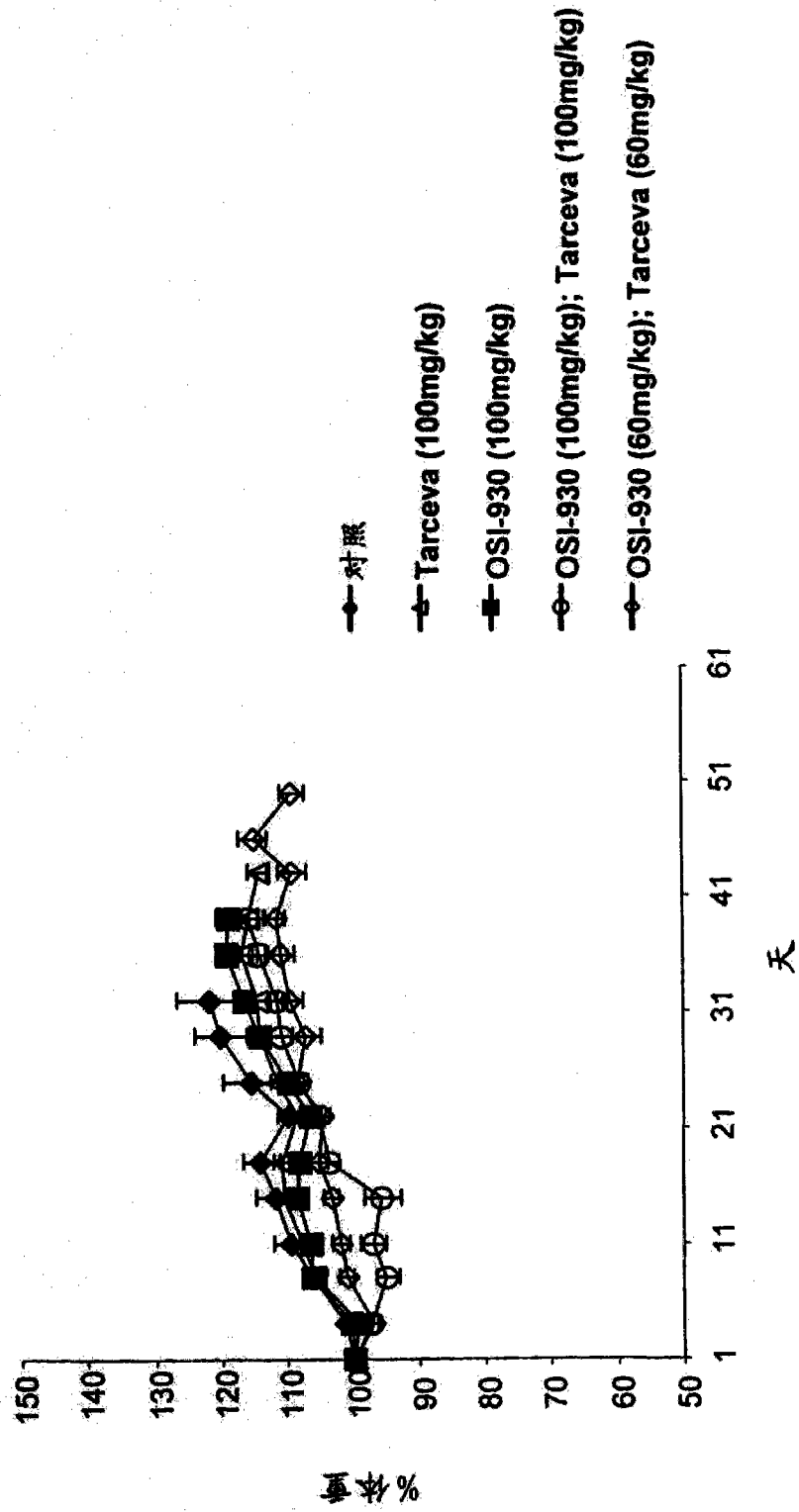


图 4

H441 NSCLC异种移植物

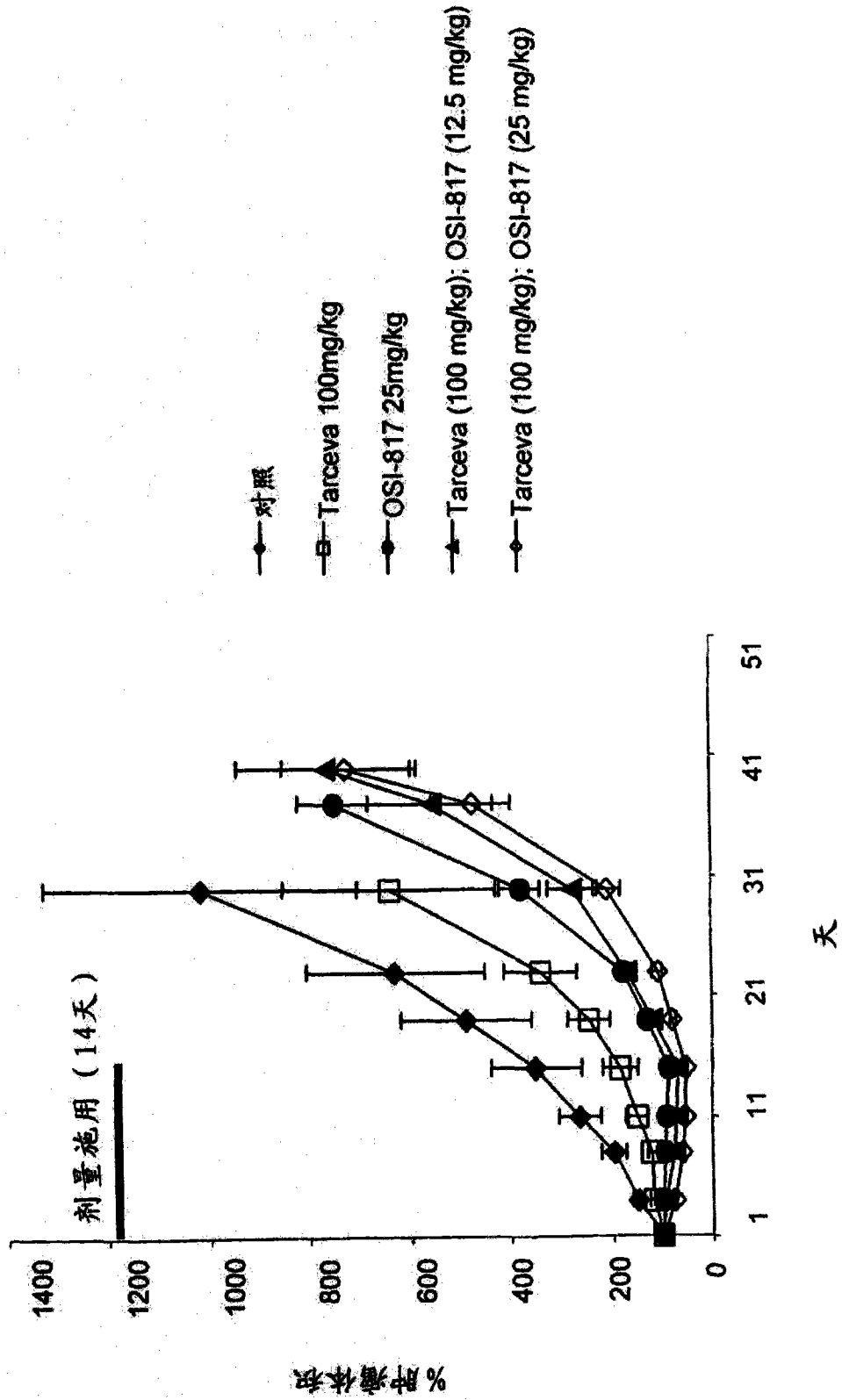


图 5

H441 NSCLC异种移植物

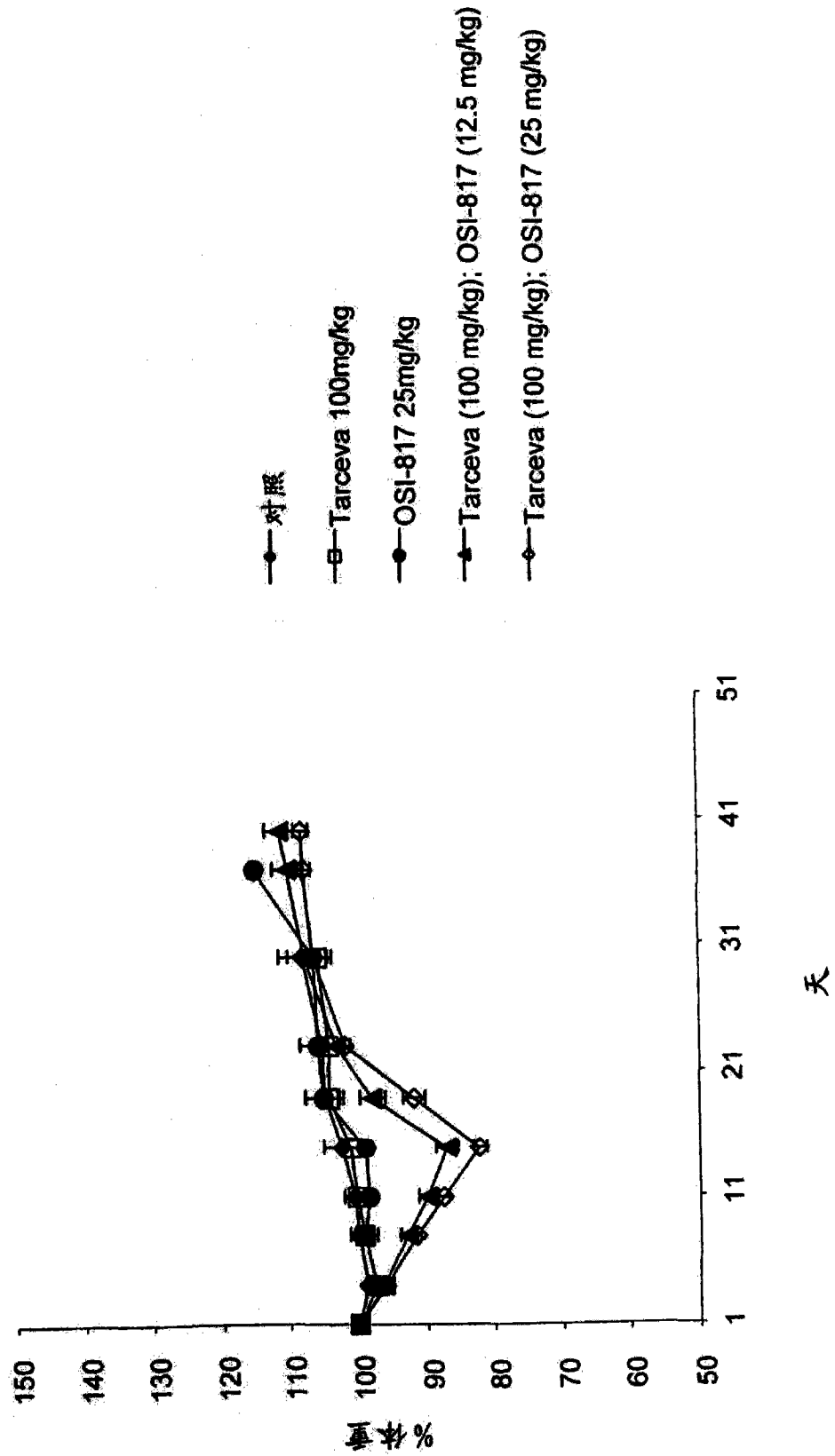


图 6

HT-29 CRC 异种移植物

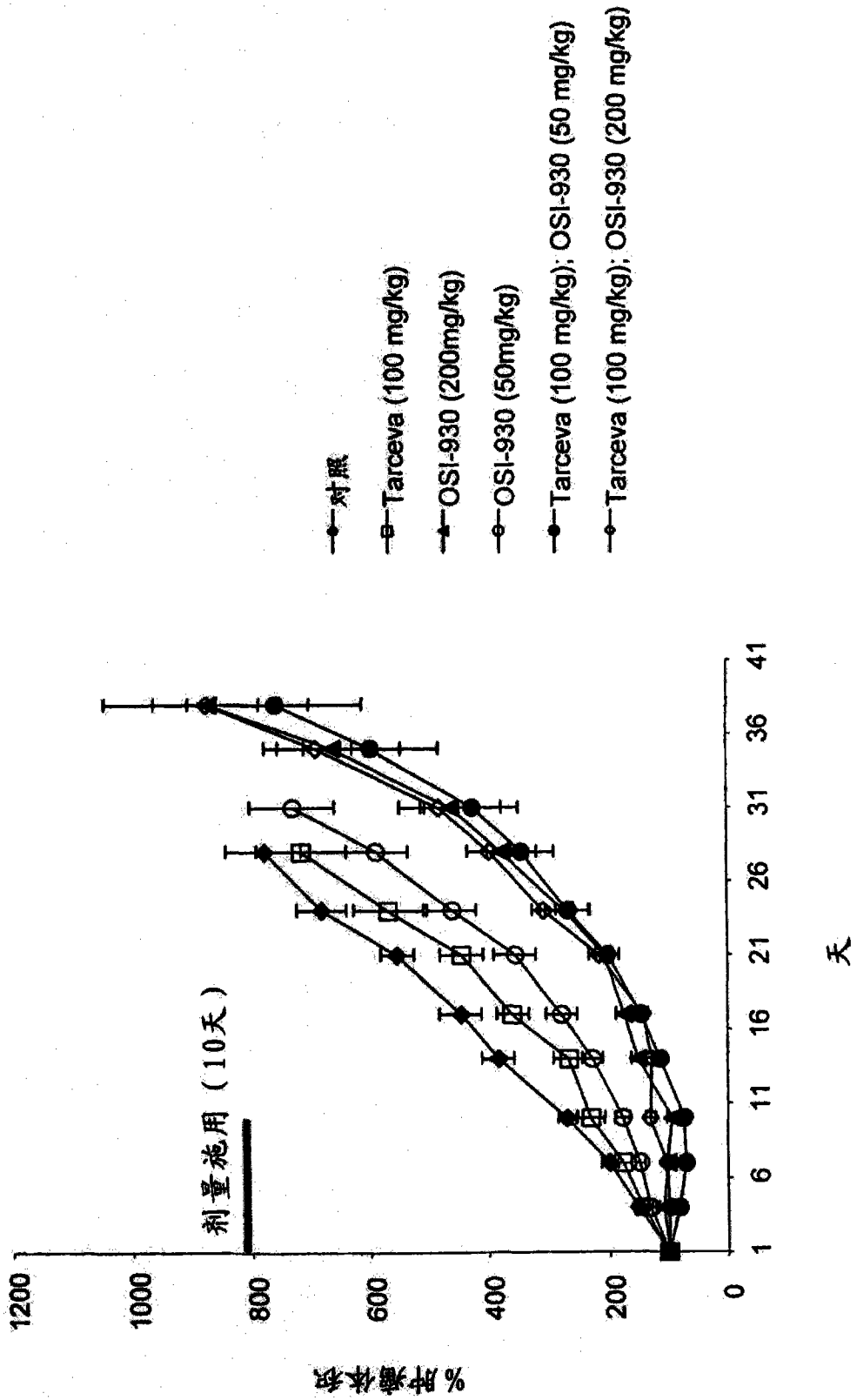


图 7

HT-29 CRC异种移植植物

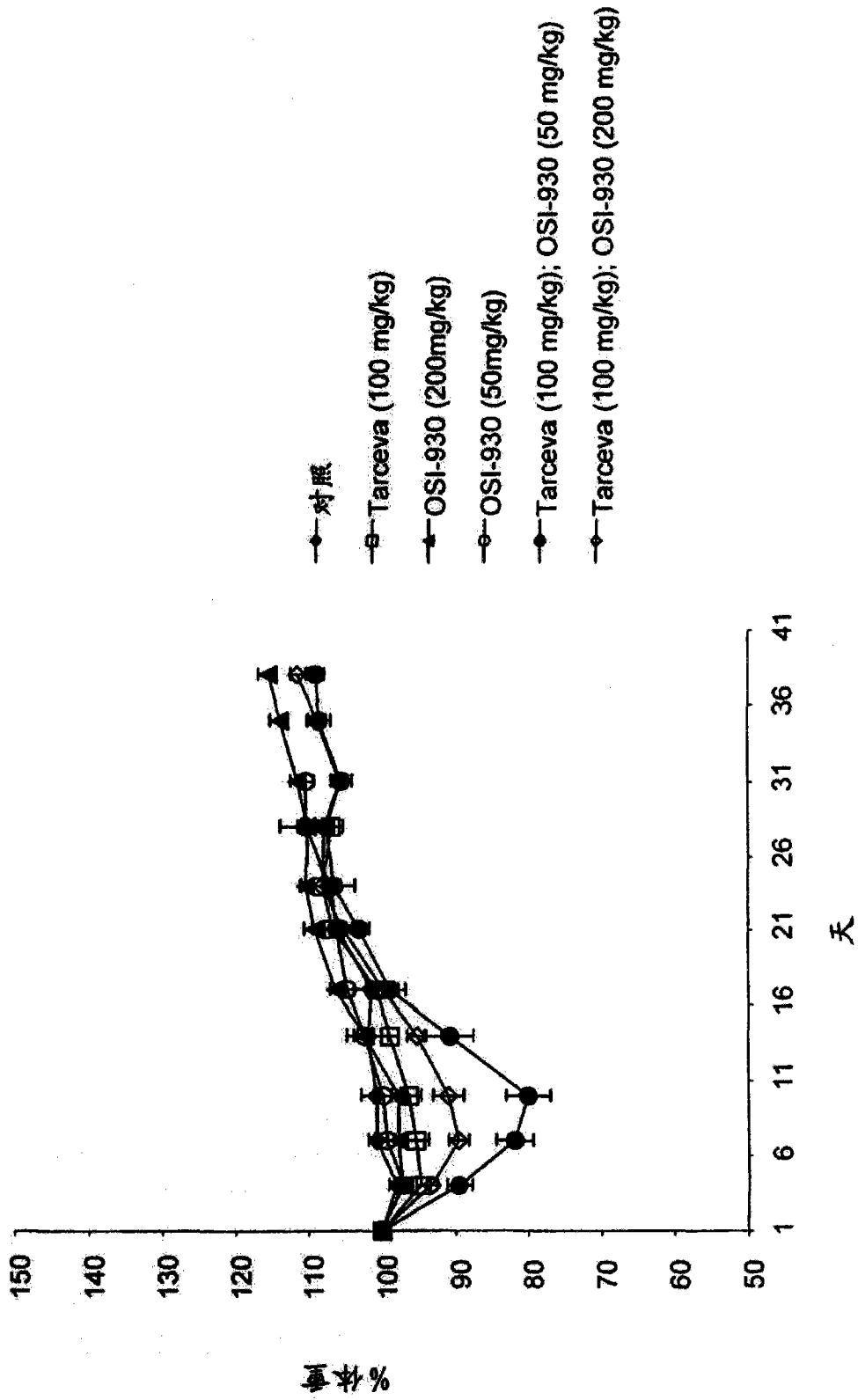


图 8

H292模型

治疗	中值肿瘤倍增时间 (天) [最小值, 最大值]	与无进一步的治疗的差的p值	与组合治疗的差的p值
无进一步的治疗	7.5 [5.8, 10.2]		
100 mg/kg Tarceva®	19.6 [7.2, 20.8]	0.0048	<0.0001
200 mg/kg OSI-930	30.0 [13.0, 33.7]	<0.0001	0.0002
100 mg/kg Tarceva® + 100 mg/kg OSI-930	>56 [37.55, >56]	<0.0001	

图 9

H292模型

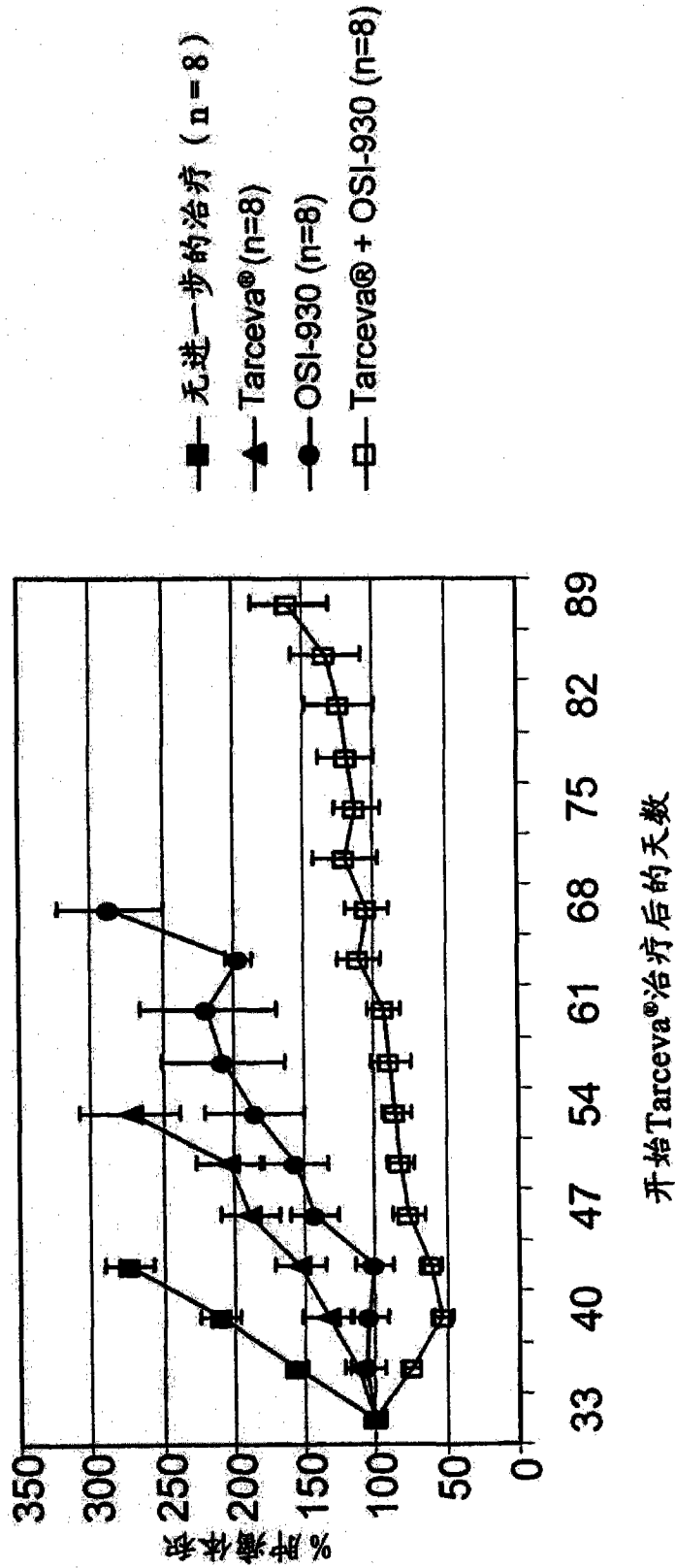


图 10

治疗	中值肿瘤倍增 时间 (天) [最小值, 最大值]	与无进一步 的治疗的 差的p值	与组合治疗 的差的p值
无进一步的治疗	11.6 [8.3, >18]		
100 mg/kg 厄洛替尼	16.7 [10.0, 21.6]	0.0834	0.0004
200 mg/kg OSI-930	23.5 [10.0, 32.0]	0.0047	0.0029
100 mg/kg 厄洛 替尼 + 100 mg/kg OSI-930	>36 [17.1, >36]	0.0015	

图 11

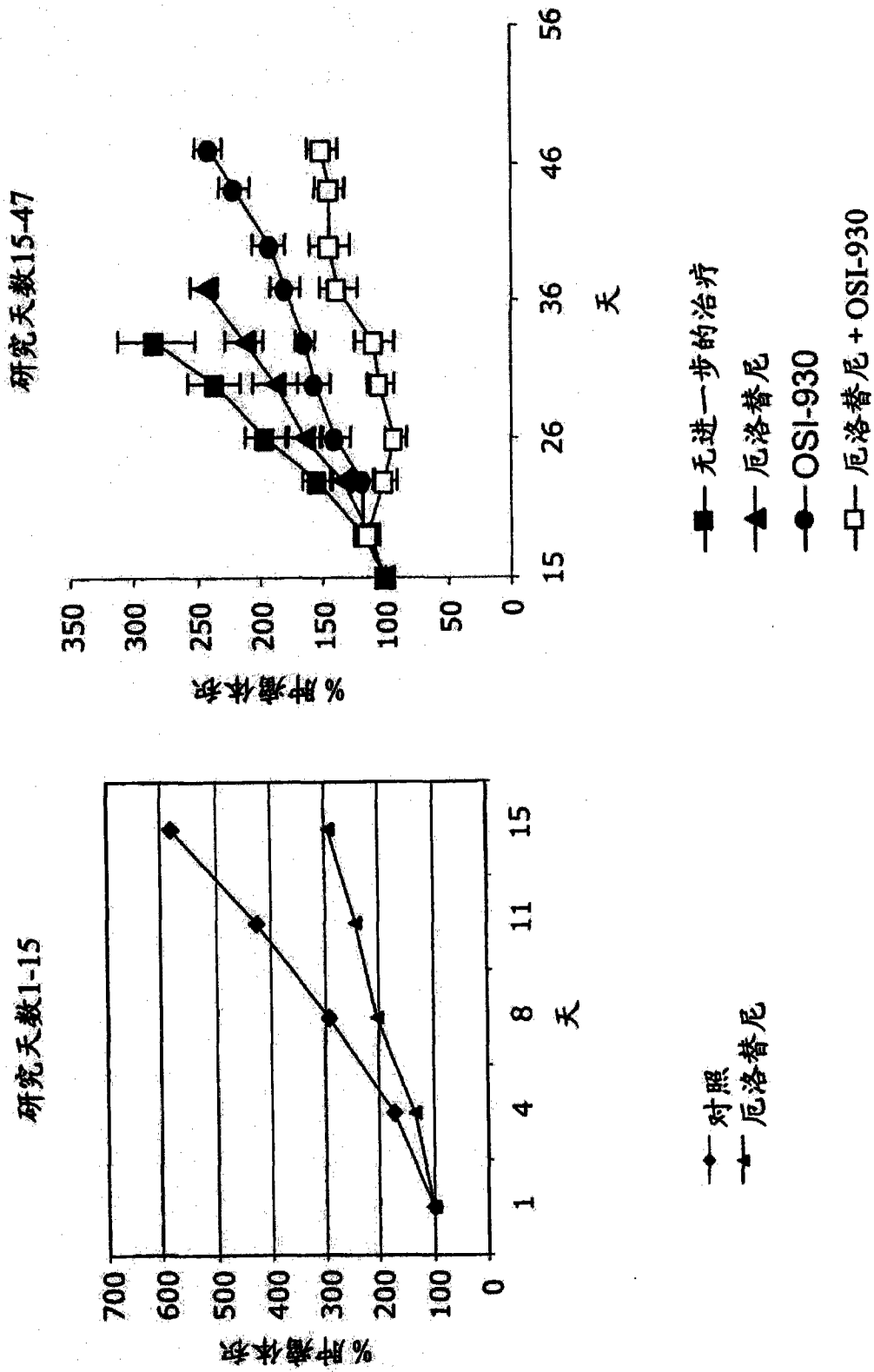


图 12