



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201242597 A1

(43)公開日：中華民國 101 (2012) 年 11 月 01 日

(21)申請案號：101108478

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 03 月 13 日

(51)Int. Cl. : *A61K31/4025 (2006.01)*
A61K31/517 (2006.01)
A61P35/00 (2006.01)

C07D405/10 (2006.01)
A61K31/7068 (2006.01)

(30)優先權：2011/03/14 美國

61/452,197

(71)申請人：皮拉馬爾生命科學有限公司 (印度) PIRAMAL LIFE SCIENCES LIMITED (IN)
印度

(72)發明人：阿葛瓦爾 維納 AGARWAL, VEENA (US)；巴拉卡瑞夏南 阿隆
BALAKRISHNAN, ARUN (IN)；約希 卡潘那 珊傑 JOSHI, KALPANA SANJAY
(IN)；派瑞亞沙米 葛瑞得哈倫 PERIYASAMY, GIRIDHARAN (IN)；拉瑟斯 瑪
基 RATHOS, MAGGIE (IN)；夏爾瑪 蘇梅栩 SHARMA, SOMESH (US)

(74)代理人：蔡清福；蔡馭理

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：32 項 圖式數：9 共 93 頁

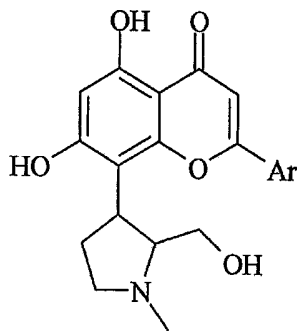
(54)名稱

治療胰臟癌有協同作用的醫藥組合

A SYNERGISTIC PHARMACEUTICAL COMBINATION FOR THE TREATMENT OF PANCREATIC
CANCER

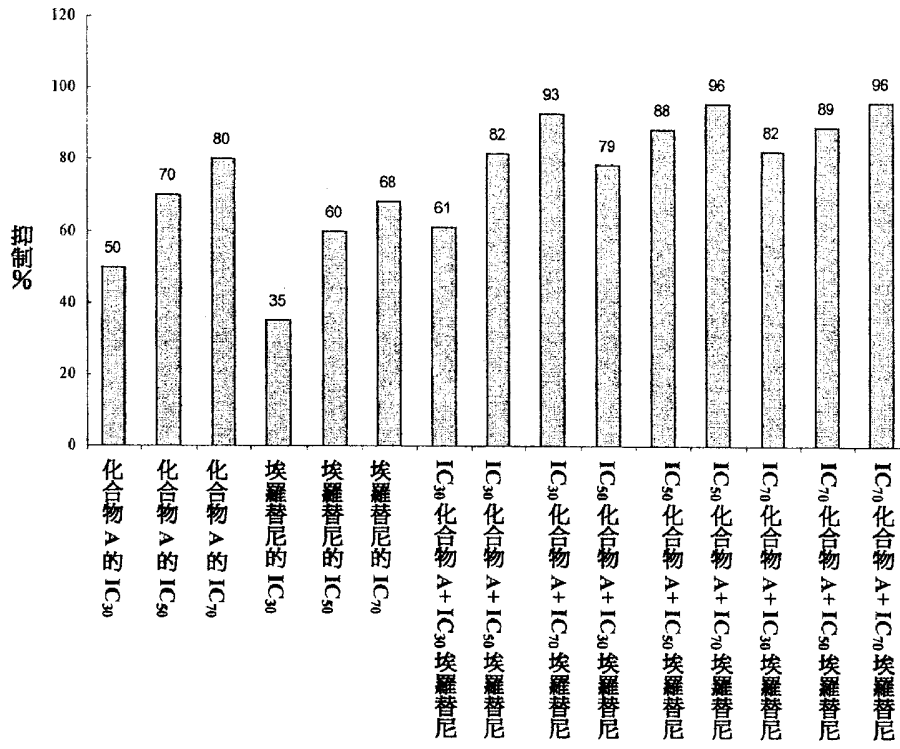
(57)摘要

按照本發明，有提供了一種有用於治療胰臟癌的醫藥組合，其包含選自分子式 I 化合物的 CDK
抑制劑；



分子式 I

以及能夠抑制表皮細胞生長因子受體 (EGFR) 激酶活性的化合物。本發明也提供了一種組
合，其中有用於治療胰臟癌的所述醫藥組合更包含吉西他濱。本發明也提供了一種用於在個體中治
療胰臟癌的方法，包含將所述醫藥組合投藥至所述個體。





(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201242597 A1

(43)公開日：中華民國 101 (2012) 年 11 月 01 日

(21)申請案號：101108478

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 03 月 13 日

(51)Int. Cl. : *A61K31/4025 (2006.01)*

C07D405/10 (2006.01)

A61K31/517 (2006.01)

A61K31/7068 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2011/03/14 美國

61/452,197

(71)申請人：皮拉馬爾生命科學有限公司 (印度) PIRAMAL LIFE SCIENCES LIMITED (IN)
印度

(72)發明人：阿葛瓦爾 維納 AGARWAL, VEENA (US)；巴拉卡瑞夏南 阿隆
BALAKRISHNAN, ARUN (IN)；約希 卡潘那 珊傑 JOSHI, KALPANA SANJAY
(IN)；派瑞亞沙米 葛瑞得哈倫 PERIYASAMY, GIRIDHARAN (IN)；拉瑟斯 瑪
基 RATHOS, MAGGIE (IN)；夏爾瑪 蘇梅栩 SHARMA, SOMESH (US)

(74)代理人：蔡清福；蔡馭理

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：32 項 圖式數：9 共 93 頁

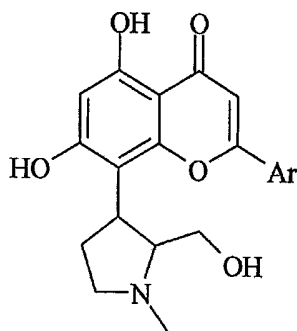
(54)名稱

治療胰臟癌有協同作用的醫藥組合

A SYNERGISTIC PHARMACEUTICAL COMBINATION FOR THE TREATMENT OF PANCREATIC
CANCER

(57)摘要

按照本發明，有提供了一種有用於治療胰臟癌的醫藥組合，其包含選自分子式 I 化合物的 CDK
抑制劑；



分子式 I

以及能夠抑制表皮細胞生長因子受體 (EGFR) 激酶活性的化合物。本發明也提供了一種組
合，其中有用於治療胰臟癌的所述醫藥組合更包含吉西他濱。本發明也提供了一種用於在個體中治
療胰臟癌的方法，包含將所述醫藥組合投藥至所述個體。

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

[0001] 本發明有關一種用於治療胰臟癌的醫藥組合。本發明特別有關一種用以治療胰臟癌且包含週期蛋白依賴型激酶抑制劑以及能夠抑制表皮細胞生長因子受體 (EGFR) 激酶活性的化合物的醫藥組合，該週期蛋白依賴型激酶抑制劑選自分子式I化合物 (如本文中所述) 或其藥學可接受的鹽類或溶劑化物。本發明更有關對於所述組合包括吉西他濱或其鹽類，以用於治療胰臟癌。本發明也有關包含所述組合的醫藥組合物；用於在個體中治療胰臟癌的方法，該方法包含將所述醫藥組合投藥至所述個體。

【先前技術】

[0002] 癌症是一群特徵為細胞生長的異常控制的疾病。癌細胞可侵入附近的組織，並可經由血流以及淋巴系統擴散至身體的其他部位。有不同類型的癌症，例如膀胱癌、乳癌、大腸癌、直腸癌、頭頸癌、子宮內膜癌、腎 (腎細胞) 癌、白血病、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、胰臟癌、前列腺癌、甲狀腺癌、皮膚癌、非何杰金氏淋巴瘤以及黑色素瘤。雖然所有類型的癌症是致病的，胰臟癌仍分別是北美以及歐洲癌症相關死亡率的第四以及第五常見死因，估計在美國每年發生有38,000個新案例，以及在歐洲有接近58,000個新案例 (J. Clin. Oncol.; Volume 27 No. 13, 2231 - 2237 (2009))。事實上，胰臟癌具有極差的預後，其整體5年存活率低於5% (Pharmacol Ther 1999; 82: 241 - 250)。

此外，具有局部晚期與轉移性胰臟癌的病患具有不佳的預後，且一般太晚診斷出而來不及以手術或放射性療法治療。化療對於一些具有晚期胰臟癌的病患可提供症狀的緩解，但目前為止其對於存活的影响仍不太大。就歷史上而言，5-氟尿嘧啶（5-FU）為晚期胰臟癌的系統性治療的藥物選擇，但在以電腦斷層掃描（CT）評估腫瘤反應的時期中所執行的單一用藥研究中，反應率很少超過20%，中位數的存活時間為4.2 - 5.5個月（J.

Clin. Oncol.; 15:2403 - 2413（1997））。相較於5-FU，使用吉西他濱（Gemzar[®]）的第一線治療產生適度的中位數存活優勢（5.7個月相對於4.4個月），且在隨機的臨床試驗中對於有具有症狀、晚期疾病的病患的緩和顯得較有效。

雖然吉西他濱的系統性投藥已與臨床益處以及具有晚期疾病的病患中的存活延長有關，客觀的腫瘤反應發生在少於10%的病患中，且存活時間一般少於6個月（J.

Clin. Oncol.; 15:2403 - 2413（1997））。然而，因為大部分腫瘤細胞對於藥物的預先存在化學抗性或獲得的化學抗性，在這時期，已觀察到使用吉西他濱治療胰臟癌不能顯著地改善胰臟癌病患的病症（Oncogene; 22(21): 3243-51（2003））。在胰臟癌治療中使用吉西他濱作為單一用藥的臨床試驗評論文章中，已報導了在2,704個病患中，使用世界衛生組織建議的毒性分級評估肺毒性與過敏毒性。依照此研究，7.4%的病患具有輕微的症狀（等級1），7.6%的病患經歷了活動時的呼吸困難（等級2），在3.1%的治療病患中發生休息時的呼

吸困難（等級3）以及0.8%的病患需要絕對臥床休息（等級4）（J. Pancreas (Online) 2008; 9(6):708-714）。因此，由於在使用吉西他濱作為單一療法治療的病患中所報告的毒性作用，使用吉西他濱治療引起了不安。已有嘗試結合吉西他濱與幾種其他的細胞毒性藥物或藥劑，且來自在晚期與轉移性胰臟癌中吉西他濱與順鉑、5-FU、愛萊諾迪肯以及奧沙利鉑結合的第二期研究結果已暗示可增進功效。

然而，這些組合的第三期試驗尚未確認它們相對於單一藥劑吉西他濱的優勢。此外，與吉西他濱/5-FU、吉西他濱/愛萊諾迪肯、吉西他濱/順鉑以及吉西他濱/奧沙利鉑組合有關的存活時間似乎相等於或只略為優於與吉西他濱單一用藥有關的存活時間（J. Clin. Oncol.: Vol. 24 No. 3 327 - 329 (2006)）。吉西他濱與埃羅替尼（Tarceva[®]）（一種口服生物可利用的EGFR酪胺酸抑制劑）的組合當在動物模型中測試時只顯示出累加效果（J Clin Invest 1992; 90: 1352 - 1360）。然而，對於吉西他濱以及埃羅替尼的組合相比上吉西他濱單獨使用，牽涉以吉西他濱以及埃羅替尼的組合治療569個具有未治療不能動手術的胰臟癌病患的隨機第三期試驗展現了小但顯著的存活優勢（Oncology (Williston Park) 2003; 17: 11 - 16）。這是在胰臟癌中對於任何組合療法顯示出存活優勢的第一個試驗，並導致食品藥物管理局（FDA）在2005年核准在胰臟癌的前線療法中的組合。更近期，比較具有晚期胰臟癌的病患隨機接受吉西他濱加上EGFR抑制劑，埃羅替尼，或只接受吉西他

濱的第三期臨床試驗分別顯示了6.2比上5.9個月的中位數存活以及23%比上17%的一年存活率的顯著改進 (Semin. Oncol. 2005;32:5-6)。已有涉及將第二標靶劑(即貝伐單抗)加至吉西他濱與厄洛替尼的組合的臨床試驗，以進一步改善具有轉移性胰臟癌的病患的後果的報告。然而，觀察到的是，將貝伐單抗加至吉西他濱-埃羅替尼組合在具有轉移性胰臟癌的病患中並未導致整體存活率在統計學上的顯著改善 (J. Clin. Oncol.; 27: 2231 - 2237 (2009))。

此外，已發現CDK抑制劑，特別是黃酮衍生物，有協同作用地使人類胰臟細胞株中的吉西他濱的細胞毒性反應變得可能 (PCT申請公開編號WO 2008/139271)。在美國公開專利申請編號US 2010-0048503中報導了包含VEGF受體激酶抑制劑以及埃羅替尼或吉西他濱的組合，該組合展現良好的抗腫瘤活性。

基於可用於胰臟癌，特別是用於局部晚期或轉移性的胰臟癌的現有治療選擇的討論，很顯然不管至今所做過的努力，仍有需要找到新的醫療方法，不僅提供功效的改進，也對於受胰臟癌之苦的病患提供增加的存活優勢。此外，從上述的討論，也很清楚的是，雖然涉及具有不同作用機制的抗癌劑組合的規則可在一些組合的例子中有作用，以相同的方式對於其他抗癌劑的組合可能沒有作用，且這種組合可能不總是導致具有有利醫療效果的組合。然而，本文中所描述的本發明提供了具有改進功效的藥物組合以及用以在胰臟癌的治療中使用該藥物組合的方法。本案發明人已發現已知抗癌劑的組合，包含

能夠抑制EGFR激酶活性的化合物以及選自分子式I（如本文中所述）所表示的化合物的週期蛋白依賴型激酶抑制劑；當使用於胰臟癌的治療中時提供了出乎意料之外的較佳功效。當用於胰臟癌的治療中時，將已知細胞毒性劑，吉西他濱，加入前述組合更改進了該組合的功效。

【發明內容】

[0003] 在一方面中，本發明有關一種醫藥組合，該醫藥組合包含選自分子式I表示的化合物的週期蛋白依賴型激酶（CDK）抑制劑以及能夠抑制EGFR激酶活性的化合物；用於治療胰臟癌。

在另一方面中，本發明有關一種用於在個體中治療胰臟癌的方法，包含將醫療有效量的週期蛋白依賴型激酶（CDK）抑制劑結合醫療有效量的能夠抑制EGFR激酶活性的化合物投藥至該個體，該CDK抑制劑是選自分子式I表示的化合物。

在更另一方面中，本發明有關一種醫藥組合物，包含醫療有效量的選自分子式I表示的化合物的週期蛋白依賴型激酶（CDK）抑制劑以及醫療有效量的能夠抑制EGFR激酶活性的化合物；用於治療胰臟癌。

在另一進一步方面中，本發明有關一種醫藥組合，包含選自分子式I表示的化合物的週期蛋白依賴型激酶（CDK）抑制劑；以及能夠抑制EGFR激酶活性的化合物；其中所述組合在胰臟癌的治療中展現協同作用。

在更另一進一步方面中，本發明有關該醫藥組合，包含選自分子式I表示的化合物的週期蛋白依賴型激酶（CDK

) 抑制劑；以及能夠抑制EGFR激酶活性的化合物；更包含吉西他濱；用於治療胰臟癌。

在更另一方面中，本發明有關該醫藥組合物，包含醫療有效量的選自分子式I表示的化合物的週期蛋白依賴型激酶（CDK）抑制劑以及醫療有效量的能夠抑制EGFR激酶活性的化合物；更包含醫療有效量的吉西他濱；用於治療胰臟癌。

在更另一方面中，本發明有關一種用於在個體中治療胰臟癌的方法，包含將醫療有效量的週期蛋白依賴型激酶（CDK）抑制劑結合醫療有效量的能夠抑制EGFR激酶活性的化合物投藥至該個體；更與吉西他濱結合投藥。

在更另一進一步方面中，本發明有關一種套組，包含選自分子式I表示的化合物的週期蛋白依賴型激酶（CDK）抑制劑；能夠抑制EGFR激酶活性的化合物以及隨選地吉西他濱；其中所述套組可更包括包裝說明書，該包裝說明書包含指示使用組合治療作為用以治療胰臟癌的方法的印刷指令。

從以下的詳細描述，本發明的其他方面以及進一步的應用範圍將變得顯而易見。

【實施方式】

[0004] 本發明部分基於CDK抑制劑使能夠抑制表皮細胞生長因子受體（EGFR）激酶活性的化合物變得可能並與其產生協同作用、增強該化合物的效力、改進該化合物的耐受度及/或減少該化合物所導致的副作用的識別，以用於治療胰臟癌，該CDK抑制劑選自分子式I的化合物。

本發明所包含的為具有協同作用的醫藥組合，其中當用

於治療胰臟癌時，該組合的醫療功效大於加成。較佳地，這種組合也減少或避免不想要的或反效果。在某些具體實施例中，相對於投藥CDK抑制劑或能夠抑制表皮細胞生長因子受體（EGFR）激酶活性的化合物或吉西他濱，本發明所包含的組合提供了改進的整體治療。

因此，本發明有關設計用以在個體中治療或控管胰臟癌的醫藥組合，其中該組合包含選自分子式I化合物的CDK抑制劑與能夠抑制表皮細胞生長因子受體（EGFR）激酶活性的化合物的組合，以及所述組合更包含加入其中的吉西他濱。特別是，本發明提供了在個體中預防或控管胰臟癌的方法，包含將醫療有效量的選自分子式I化合物的CDK抑制劑與醫療有效量的能夠抑制表皮細胞生長因子受體（EGFR）激酶活性的化合物的組合投藥至所述個體。

除非另外指出，此揭露內容上下文內的前文以及後文中所使用的一般用語較佳具有下述意義。因此，本發明上下文中所使用的一般用語的定義提供於下文中：

除非上下文清楚地另外指出，單數形式「一（a）」、「一（an）」以及「該」包括複數指稱。

如本文中所使用的用辭「週期蛋白依賴型激酶（CDK）抑制劑」或「CDK抑制劑」意指展現對抗一或更多種已知週期蛋白依賴型激酶活性的化合物。在本發明的上下文中，CDK抑制劑是一種美國申請案公開編號20070015802A1以及PCT專利公開編號W02007148158中所揭露的吡咯啶取代的黃酮化合物，其應用的全部內容併入於本文中以為參考。根據本發明的CDK抑制劑特別

選自如下文中所描述的分式I化合物或其藥學可接受的鹽類或溶劑化物。此外，如本文中所使用的用語「CDK抑制劑」可意指分式I化合物及/或如分式IA（如本文下面所描述）中所指出的分式I化合物的(+)-反式異構物及/或該分式I化合物的藥學可接受鹽類或溶劑化物或該分式I化合物的(+)-反式異構物。

如本文中所使用的用語「能夠抑制EGFR激酶活性的化合物」意指藉由在細胞以及組織中抑制、阻斷、對抗或以其他方式阻斷EGFR激酶活性而作用的化合物。「表皮細胞生長因子受體（EGFR）」是穿膜酪胺酸激酶受體的ErbB家族的一員，其包括ErbB1（或HER1，或EGFR）、ErbB2（或HER2/neu）、ErbB3（或HER3）以及ErbB4（或HER4）。EGFR的表現在許多正常上皮組織中是常見的，且EGFR的表現在包括胰臟癌的數種實體腫瘤中是提升的。

如本文中使用的，用語「組合」或「醫藥組合」，意指抗癌劑，即CDK抑制劑以及能夠抑制EGFR激酶活性的化合物的組合投藥，或抗癌劑，即該CDK抑制劑以及能夠抑制EGFR激酶活性的化合物以及吉西他濱的組合投藥；該抗癌劑可同時獨立地投藥，或在尤其允許該組合作伙伴顯現協同作用的時間間隔內分開投藥。

用語「雙重組合」一般意指兩種已知抗癌劑的組合，包含選自分式I所表示的化合物的週期蛋白依賴型激酶抑制劑以及能夠抑制EGFR激酶活性的化合物。該用語也可意指抗癌劑（即CDK抑制劑以及能夠抑制EGFR激酶活性的化合物）的組合投藥。

用辭「三重組合」意指已知抗癌劑的組合，抗癌劑包含吉西他濱、能夠抑制EGFR激酶活性的化合物以及選自分子式I所表示的化合物的週期蛋白依賴型激酶抑制劑。該用語也可意指抗癌劑(即吉西他濱、CDK抑制劑以及能夠抑制EGFR激酶活性的化合物)的組合投藥。

如本文中所使用的，用語「協同作用的」意指使用此發明的方法以及組合所達成的效果大於使用抗癌劑(即CDK抑制劑、能夠抑制EGFR激酶活性的化合物以及吉西他濱)作為單一療法所造成的效果的加成。有利的是，這種協同作用在相同的劑量提供了較好的功效，及/或預防或延遲多重藥物抗性的增強。

關於治療胰臟癌的「醫療有效量」意指能夠在接受本發明組合的個體中引起一或更多個下述效果的量：(i) 抑制腫瘤生長至某種程度，包括，減緩以及完全的生長停滯；(ii) 減少腫瘤細胞數；(iii) 減小腫瘤大小；(iv) 抑制(即，減少、減緩或完全停止)腫瘤細胞浸潤至週邊器官中；(v) 抑制(即減少、減緩或完全停止)轉移；(vi) 增強抗腫瘤的免疫反應，其可，但不一定導致腫瘤的退化或排斥；及/或(vii) 緩解一或更多種與胰臟癌相關的症候至某種程度。

如本文中所使用的用語「個體」意指動物，較佳為哺乳動物，最佳為人類，其需要胰臟癌的治療。在本發明的上下文中，該用語個體可與用語病患交換使用。

如本文中所使用的，用辭「無反應的/難治的」用以描述具有胰臟癌的個體或病患已使用目前可用以治療胰臟癌的癌症療法治療，例如化療、放射性療法、手術、荷爾

蒙療法及/或生物療法/免疫療法，其中該療法在臨床上不足以治療該病患，使得這些病患需要額外的有效療法，例如維持對療法不敏感。該用辭也可描述對療法具有反應但遭受副作用、復發、發展出抗性等等之苦的個體或病患。在各種具體實施例中，「無反應的/難治的」意指癌細胞的至少一些重要部分沒被殺死，或它們的細胞分裂停滯。在這種上下文中使用本技術領域所接受的「難治的」的意義，可藉由本技術領域已知用於分析對於癌細胞治療有效性的任何方法而在活體中或試管中做出癌細胞是否為「無反應的/難治的」的決定。在各種具體實施例中，癌症為「無反應的/難治的」，其中癌細胞數沒有被顯著地減少或已增加。

如本文中所使用的，用語「使…變得可能」意指醫療劑在其常用或核准的劑量下在功效上的改進。在本發明的上下文中，該醫療劑為抗癌劑，例如能夠抑制EGFR激酶活性的化合物或吉西他濱。

如本文中所使用的，用語「控管 (manage)」、「控管 (managing)」以及「控管 (management)」意指當投藥至病患或個體時，所述病患或個體得自本發明醫藥組合的有利效果，以預防胰臟癌的進展或惡化。

如本文中所使用的，用語「過度表現」意指在細胞中，例如癌細胞，基因及/或其編碼的蛋白質的過度表現。「過度表現」蛋白質的癌細胞是相較於相同組織類型的非癌細胞，具有顯著較高的那種蛋白質量的細胞。

如本文中所使用的用語「劑量形式」應意指藥物被製造以及配給的物理形式，例如錠劑、膠囊或注射劑。

如本文中所使用的用語「活性成分」應意指選自分子式I化合物的CDK抑制劑或能夠抑制EGFR激酶活性的化合物或吉西他濱。當以複數形式（即active ingredients）使用時，該用語「活性成分」應意指選自分子式I化合物的CDK抑制劑與能夠抑制EGFR激酶活性的化合物以及吉西他濱的組合。該用語「活性成分」可與用語「醫療劑」交換使用。

用語「藥學可接受的」意指由聯邦或州政府的管理機構核准，或列於美國藥典或其他一般識別的藥典中以用於在動物中使用，且更特別是在人類中使用。用語「載體」意指本發明化合物用以投藥的稀釋液、佐劑、賦形劑或運送工具。

現在已發現，包含選自分子式I化合物（如本文中所描述）的CDK抑制劑以及能夠抑制EGFR激酶活性的化合物的醫藥組合；當使用於治療癌症，特別是胰臟癌時，展現了協同作用。特別是，比起當埃羅替尼以及該分子式I的CDK抑制劑中的任一種單獨用以治療胰臟癌時，當與分子式I的CDK抑制劑組合使用時，能夠抑制EGFR激酶活性的化合物（例如埃羅替尼）產生了顯著較好的效果。

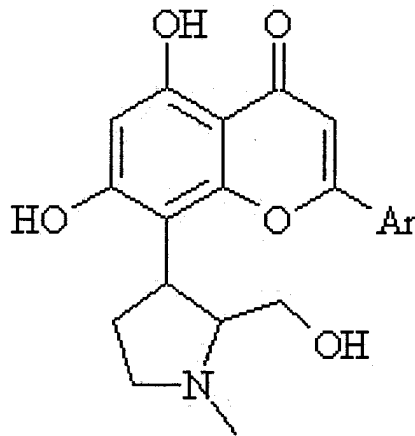
本發明人也已觀察到的是，包含選自分子式I化合物（如本文中所描述）的CDK抑制劑以及能夠抑制EGFR激酶活性的化合物的醫藥組合的協同作用更藉由將已知細胞毒性劑、吉西他濱或其藥學可接受的鹽類加至所述組合而被增強。因此，本發明也在其範圍中包含一醫藥組合，該醫藥組合包含選自分子式I化合物（如本文中所描述）的CDK抑制劑；能夠抑制EGFR激酶活性的化合物以及吉西他

濱或其藥學可接受的鹽類；用於治療胰臟癌。

用於本發明醫藥組合中的CDK抑制劑選自如本文下面所描述的分式I化合物。該分式I化合物為有希望的CDK抑制劑，其可抑制許多癌細胞的增殖。

在一個具體實施例中，本發明醫藥組合中所使用的CDK抑制劑選自下述分式I所表示的化合物，

[0005]

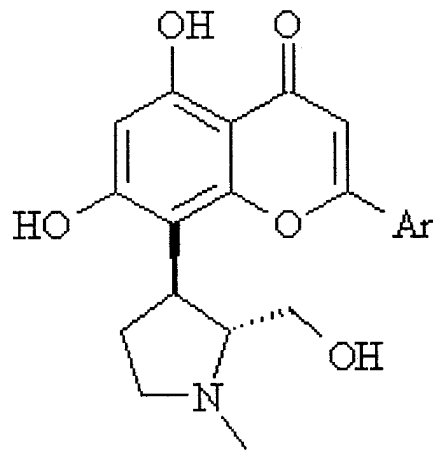


分子式I

其中Ar是苯基，其為未取代的或被1、2或3個相同或不同的取代基取代，該取代基選自：鹵素；硝基、氰基、C1-C4-烷基、三氟甲基、羥基或C1-C4-烷氧基；或其藥學可接受的鹽類或溶劑化物。

在本發明的具體實施例中，CDK抑制劑是分子式I化合物的(+)-反式異構物，如同下面分子式IA中所指出，

[0006]



分子式 IA

其中Ar是苯基，其為未取代的或被1、2或3個相同或不同的取代基取代，該取代基選自：鹵素、硝基、氰基、C1-C4-烷基、三氟甲基、羥基或C1-C4-烷氧基；或其藥學可接受的鹽類或溶劑化物。

在另一個具體實施例中，本發明醫藥組合中所使用的CDK抑制劑是分子式I化合物，其中苯基被1、2或3個相同或不同的取代基取代，該取代基選自：氯、溴、氟或碘、C1-C4-烷基或三氟甲基；或其藥學可接受的鹽類或溶劑化物。

在另一個具體實施例中，本發明醫藥組合中所使用的CDK抑制劑是分子式I化合物，其中苯基被1、2或3個鹵素取代，該鹵素選自氯、溴、氟或碘；或其藥學可接受的鹽類或溶劑化物。

在另一個具體實施例中，本發明醫藥組合中所使用的CDK抑制劑是分子式I化合物，其中苯基被氯取代；或其藥學可接受的鹽類或溶劑化物。

在另一個具體實施例中，本發明醫藥組合中所使用的CDK抑制劑是分子式I化合物，其中苯基被2個不同的取代基

取代，該取代基選自氯以及三氟甲基；或其藥學可接受的鹽類或溶劑化物。

本領域的技術人員將領略的是，由分子式I化合物所表示的CDK抑制劑含有至少兩個掌性中心，且因此，以兩種不同光學異構物（即(+)或(-)鏡像異構物）的形式存在。所有的這種鏡像異構物以及其混合物（包括消旋混合物）被包括在本發明的範圍內。該分子式I化合物的鏡像異構物可藉由併入於本文中以為參考的PCT申請案公開編號W02004004632、W02008007169以及W02007148158中所揭露的方法而獲得，或該分子式I化合物的鏡像異構物也可藉由本技術領域所熟知的方法來獲得，例如掌性HPLC以及酵素解析。或者，該分子式I化合物的鏡像異構物可藉由使用光學活性的起始材料來合成。

分子式I化合物的製造，該分子式I化合物可為藥學可接受的鹽類以及溶劑化物的形式，以及含有上述化合物的口服及/或非口服醫藥組合物的製造大體上揭露於PCT申請案公開編號W02004004632中。此專利（其併入於本文中以為參考）揭露了由分子式I所表示的CDK抑制劑展現了顯著的抗癌功效。

如同本文上述中所指出，分子式I的CDK抑制劑可以它們的鹽類形式來使用。較佳的分子式I化合物的鹽類包括鹽酸鹽、甲磺酸以及三氟醋酸鹽。

因此，在另一個具體實施例中，本發明醫藥組合中所使用的CDK抑制劑選自(+)-反式-2-(2-氯-苯基)-5,7-二羥基-8-(2-羥基-甲基-1-甲基-吡咯啶-3-基)-苯並哌喃-4-酮鹽酸鹽（本文中指稱為化合物A）或(+)-反式

-3-[2[(2-氯-4-三氟甲基-苯基)-5,7-二羥基-8-(2-羥基甲基-1-甲基-吡咯啉-3-基)]-苯並哌喃-4-酮鹽酸鹽 (本文中指稱為化合物B)。

在另一個進一步的具體實施例中，本發明醫藥組合中所使用的CDK抑制劑是(+)-反式-2-(2-氯-苯基)-5,7-二羥基-8-(2-羥基-甲基-1-甲基-吡咯啉-3-基)-苯並哌喃-4-酮鹽酸鹽 (化合物A)。

在另一個具體實施例中，本發明醫藥組合中所使用的CDK抑制劑是(+)-反式-3-[2[(2-氯-4-三氟甲基-苯基)-5,7-二羥基-8-(2-羥基甲基-1-甲基-吡咯啉-3-基)]-苯並哌喃-4-酮鹽酸鹽 (化合物B)。

根據本發明，包括在本發明醫藥組合中能夠抑制EGFR激酶活性的化合物可選自下述所組成的群組：吉非替尼 (也已知為IRESSA®或ZD1839；阿斯特捷利康)、埃羅替尼 (也已知為TARCEVA®或OSI-774；OSI Pharmaceuticals, Inc.)、拉帕替尼或二甲苯磺酸拉帕替尼 (也已知為GW572016或TYKERB®；葛蘭素史克藥廠)、AG 1478 (4-(3-氯苯胺基)-6,7-二甲氧基喹啉；A.G. 科技股份有限公司)、EKB-569 (培利替尼；惠氏製藥公司)、EKI-785 (惠氏製藥公司)、PKI-166 (諾華製藥公司)、二鹽酸卡奈替尼 (也已知為CI-1033；輝瑞)、D-69491 (也已知為SU11464；百特醫療產品股份有限公司(Baxter Oncology))、凡德他尼 (也已知為ZD6474或ZACTIMA®；阿斯特捷利康)、XL-147 (也已知為SAR-245408；艾克塞里克斯公司(Exelixis, Inc.))、阿法替尼 (百靈佳殷格翰公司(Boehringer

Ingelheim Corp.))、CUDC-101 (克里斯公司 (Curis Inc.))、S-222611 (鹽野義製藥股份有限公司)、AZD-8931 (阿斯特捷利康) 或來那替尼 (惠氏製藥公司)。

根據本發明的具體實施例，可於本發明醫藥組合中使用的能夠抑制EGFR激酶活性的化合物是選自埃羅替尼或拉帕替尼或其藥學可接受的鹽類。

埃羅替尼是EGFR抑制劑。此藥物仿倣吉非替尼 (Iressa®)，吉非替尼為此類型的第一個藥物。埃羅替尼特異性地標靶表皮細胞生長因子受體 (EGFR) 酪胺酸激酶，該激酶在各種形式的癌症中高度表現，且有時是突變的。其以可逆的方式結合至該受體的三磷酸腺苷 (ATP) 結合位置 (J Clin Oncol 2007; 25: 1960-1966)。埃羅替尼是商業可得的。

拉帕替尼是能夠可逆地抑制EGFR以及HER2的酪胺酸激酶活性的4-苯胺基喹啉衍生物。如同其他的小分子酪胺酸激酶抑制劑，拉帕替尼與ATP競爭其在酪胺酸激酶區域上的結合位置。在無細胞的生化激酶分析法中，拉帕替尼分別在10.8以及9.3 nmol/l的濃度下抑制了重組的EGFR以及HER2酪胺酸激酶達50% (IC50)。其作用為可逆的抑制劑，對於EGFR以及HER2分別具有3以及13 nmol/l的估計解離常數 (Ki) 值 [Drugs60 Suppl 1: 15-23]。拉帕替尼是商業可得的。

吉西他濱是指定為2'-去氧-2', 2'-二氟胞嘧啶的學名。其作為單鹽酸鹽以及作為β-異構物為商業可得的。吉西他濱也已知為健擇®，且為細胞毒性劑。其為一種導致

DNA合成受到抑制的抗代謝物。在美國專利編號4,808,614以及5,464,826中揭露了吉西他濱，它們關於如何合成以及使用吉西他濱用以治療敏感性癌症的教導併入於本文中以作為參考。作為單一藥劑的吉西他濱鹽酸鹽的商業配方被指出為用於具有胰臟局部晚期或轉移性腺癌的病患的第一線治療。吉西他濱為商業可得的。

在一個具體實施例中，本發明有關一種用於治療胰臟癌的醫藥組合，其中該組合包含選自分子式I化合物或其藥學可接受的鹽類或溶劑化物的週期蛋白依賴型激酶（CDK）抑制劑；選自埃羅替尼或拉帕替尼且能夠抑制EGFR激酶活性的化合物或其藥學可接受的鹽類。

在另一個具體實施例中，本發明針對一種用於治療胰臟癌的醫藥組合，其中該組合包含選自分子式I化合物或其藥學可接受的鹽類或溶劑化物的週期蛋白依賴型激酶（CDK）抑制劑以及埃羅替尼或其藥學可接受的鹽類。

在另一個具體實施例中，本發明針對一種用於治療胰臟癌的醫藥組合，其中該組合包含選自分子式I化合物或其藥學可接受的鹽類或溶劑化物的週期蛋白依賴型激酶（CDK）抑制劑以及拉帕替尼或其藥學可接受的鹽類。

在另一個具體實施例中，本發明針對一種用於治療胰臟癌的醫藥組合，其中該組合包含選自化合物A或化合物B的CDK抑制劑以及選自埃羅替尼或拉帕替尼且能夠抑制EGFR激酶活性的化合物或其藥學可接受的鹽類。

在另一個具體實施例中，本發明針對一種用於治療胰臟癌的醫藥組合，其中該組合包含化合物A以及埃羅替尼或

其藥學可接受的鹽類。

在另一個具體實施例中，本發明針對一種用於治療胰臟癌的醫藥組合，其中該組合包含化合物A以及拉帕替尼或其藥學可接受的鹽類。

在另一個具體實施例中，本發明在其範圍內將吉西他濱的內含物包含至包含選自分子式I化合物的CDK抑制劑以及選自埃羅替尼或拉帕替尼或其藥學可接受鹽類且能夠抑制EGFR激酶活性的化合物的醫藥組合。因此，在此具體實施例中，本發明有關一種醫藥組合，該醫藥組合包含選自分子式I化合物或其藥學可接受的鹽類或溶劑化物的CDK抑制劑；選自埃羅替尼或拉帕替尼且能夠抑制EGFR激酶活性的化合物或其藥學可接受的鹽類；以及吉西他濱。

在另一個具體實施例中，本發明針對一種用於治療胰臟癌的醫藥組合，其中該組合包含選自分子式I化合物或其藥學可接受的鹽類或溶劑化物的週期蛋白依賴型激酶（CDK）抑制劑；埃羅替尼或其藥學可接受的鹽類；以及吉西他濱或藥學可接受的鹽類。

在另一個具體實施例中，本發明針對一種用於治療胰臟癌的醫藥組合，其中該組合包含選自分子式I化合物或其藥學可接受的鹽類或溶劑化物的週期蛋白依賴型激酶（CDK）抑制劑；拉帕替尼或其藥學可接受的鹽類以及吉西他濱或其藥學可接受的鹽類。

在另一個具體實施例中，本發明針對一種用於治療胰臟癌的醫藥組合，其中該組合包含選自化合物A或化合物B的週期蛋白依賴型激酶（CDK）抑制劑；選自埃羅替尼或

拉帕替尼且能夠抑制EGFR激酶活性的化合物或其藥學可接受的鹽類；以及吉西他濱或其藥學可接受的鹽類。

在另一個具體實施例中，本發明針對一種用於治療胰臟癌的醫藥組合，其中該組合包含化合物A；埃羅替尼或其藥學可接受的鹽類以及吉西他濱或其藥學可接受的鹽類。

。

在另一個具體實施例中，本發明針對一種用於治療胰臟癌的醫藥組合，其中該組合包含化合物A；拉帕替尼或其藥學可接受的鹽類以及吉西他濱或其藥學可接受的鹽類。

。

在一個具體實施例中，包含選自分子式I化合物以及埃羅替尼或拉帕替尼的CDK抑制劑的醫藥組合，或包含該CDK抑制劑；埃羅替尼或拉帕替尼以及吉西他濱的醫藥組合；不專門限於那些藉由所述成分的物理聯結而獲得的組合，但也包含那些允許可同時、連續或在一段時間期間間隔而分開投藥的組合，以獲得該組合的最大功效。因此，該醫藥組合可同時或在一段時間期間間隔地投藥，用以有效治療胰臟癌。

在一個具體實施例中，本發明有關一種醫藥組合物，該醫藥組合物包含選自分子式I化合物或其藥學可接受的鹽類或溶劑化物的CDK抑制劑，以及選自埃羅替尼或拉帕替尼且能夠抑制EGFR激酶活性的化合物或其藥學可接受的鹽類；與藥學可接受的賦形劑或載體相結合。

在另一個具體實施例中，本發明有關一種醫藥組合物，該醫藥組合物包含選自分子式I化合物或其藥學可接受的鹽類或溶劑化物的CDK抑制劑以及埃羅替尼或其藥學可接

受的鹽類；與藥學可接受的賦形劑或載體相結合。

在另一個進一步的具體實施例中，本發明有關一種醫藥組合物，該醫藥組合物包含選自分子式I化合物或其藥學可接受的鹽類或溶劑化物的CDK抑制劑以及拉帕替尼或其藥學可接受的鹽類；與藥學可接受的賦形劑或載體相結合。

在另一個進一步的具體實施例中，本發明有關一種醫藥組合物，該醫藥組合物包含選自化合物A或化合物B的CDK抑制劑以及選自埃羅替尼或拉帕替尼的能夠抑制EGFR激酶活性的化合物或其藥學可接受的鹽類；與藥學可接受的賦形劑或載體相結合。

在另一個進一步的具體實施例中，本發明有關一種醫藥組合物，該醫藥組合物包含化合物A以及埃羅替尼或其藥學可接受的鹽類；與藥學可接受的賦形劑或載體相結合。

在另一個進一步的具體實施例中，本發明有關一種醫藥組合物，該醫藥組合物包含化合物A以及拉帕替尼或其藥學可接受的鹽類；與藥學可接受的賦形劑或載體相結合。

根據一個具體實施例，本發明有關一種醫藥組合物，該醫藥組合物包含選自該分子式I化合物或其藥學可接受的鹽類或溶劑化物的CDK抑制劑以及選自埃羅替尼或拉帕替尼的能夠抑制EGFR激酶活性的化合物或其藥學可接受的鹽類；與藥學可接受的賦形劑或載體相結合；該組合物更包含吉西他濱或其藥學可接受的鹽類。因此，在此具體實施例中，本發明有關醫藥組合物，該醫藥組合物包

含選自分子式I化合物或其藥學可接受的鹽類或溶劑化物的CDK抑制劑；選自埃羅替尼或拉帕替尼的能夠抑制EGFR激酶活性的化合物或其藥學可接受的鹽類；以及吉西他濱；與藥學可接受的賦形劑或載體相結合。

在另一個具體實施例中，本發明有關一種醫藥組合物，該醫藥組合物包含選自分子式I化合物或其藥學可接受的鹽類或溶劑化物的CDK抑制劑；埃羅替尼或其藥學可接受的鹽類以及吉西他濱或其藥學可接受的鹽類；與藥學可接受的賦形劑或載體相結合。

在另一個進一步的具體實施例中，本發明有關一種醫藥組合物，該醫藥組合物包含選自分子式I化合物或其藥學可接受的鹽類或溶劑化物的CDK抑制劑；拉帕替尼或其藥學可接受的鹽類；以及吉西他濱或其藥學可接受的鹽類；與藥學可接受的賦形劑或載體相結合。

在另一個具體實施例中，本發明有關一種醫藥組合物，該醫藥組合物包含選自該化合物A或化合物B的CDK抑制劑；選自埃羅替尼或拉帕替尼的能夠抑制EGFR激酶活性的化合物或其藥學可接受的鹽類；以及吉西他濱或其藥學可接受的鹽類；與藥學可接受的賦形劑或載體相結合。

在另一個進一步的具體實施例中，本發明有關一種醫藥組合物，該醫藥組合物包含化合物A；埃羅替尼或其藥學可接受的鹽類；以及吉西他濱或其藥學可接受的鹽類；與藥學可接受的賦形劑或載體相結合。

在另一個進一步的具體實施例中，本發明有關一種醫藥組合物，該醫藥組合物包含化合物A；拉帕替尼或其藥學可接受的鹽類；以及吉西他濱或其藥學可接受的鹽類；

與藥學可接受的賦形劑或載體相結合。

根據一個具體實施例，本發明針對一種用於在個體中治療胰臟癌的方法，包含將醫療有效量的選自分子式I化合物或其藥學可接受的鹽類的CDK抑制劑；以及醫療有效量的選自埃羅替尼或拉帕替尼的能夠抑制EGFR激酶活性的化合物或其藥學可接受的鹽類投藥至所述個體；其中所述CDK抑制劑以及能夠抑制EGFR激酶活性的所述化合物被同時或循序投藥。

在另一個具體實施例中，本發明針對一種用於在個體中治療胰臟癌的方法，其包含將醫療有效量的選自分子式I化合物或其藥學可接受的鹽類的CDK抑制劑，以及醫療有效量的埃羅替尼或其藥學可接受的鹽類投藥至所述個體；其中所述CDK抑制劑以及埃羅替尼被同時或循序投藥。

在另一個進一步的具體實施例中，本發明針對一種用於在個體中治療胰臟癌的方法，包含將醫療有效量的選自分子式I化合物或其藥學可接受的鹽類的CDK抑制劑，以及醫療有效量的拉帕替尼或其藥學可接受的鹽類投藥至所述個體，其中所述CDK抑制劑以及拉帕替尼被同時或循序投藥。

在另一個進一步的具體實施例中，本發明針對一種用於在個體中治療胰臟癌的方法，包含將醫療有效量的選自化合物A或化合物B的CDK抑制劑以及醫療有效量的選自埃羅替尼或拉帕替尼的能夠抑制EGFR激酶活性的化合物或其藥學可接受的鹽類投藥至所述個體；其中所述化合物A或化合物B以及埃羅替尼被同時或循序投藥。

在另一個進一步的具體實施例中，本發明針對一種用於

在個體中治療胰臟癌的方法，包含將醫療有效量的化合物A以及醫療有效量的埃羅替尼或其藥學可接受的鹽類投藥至所述個體；其中所述化合物A以及埃羅替尼被同時或循序投藥。

在另一個進一步的具體實施例中，本發明針對一種用於在個體中治療胰臟癌的方法，包含將醫療有效量的化合物A以及醫療有效量的拉帕替尼或其藥學可接受的鹽類投藥至所述個體；其中所述化合物A以及拉帕替尼被同時或循序投藥。

在另一個具體實施例中，本發明針對一種用於在個體中治療胰臟癌的方法，包含將醫療有效量的該化合物A以及醫療有效量的埃羅替尼或其藥學可接受的鹽類投藥至所述個體；其中所述化合物A以及埃羅替尼被循序投藥，使得該化合物A在埃羅替尼之前或之後投藥。

在另一個進一步的具體實施例中，本發明針對一種用於在個體中治療胰臟癌的方法，包含將醫療有效量的化合物A以及醫療有效量的拉帕替尼或其藥學可接受的鹽類投藥至所述個體；其中化合物A以及拉帕替尼被循序投藥，使得該化合物A在拉帕替尼之前或之後投藥。

根據本發明的一個具體實施例，用於在個體中治療胰臟癌的所述方法；除了將醫療有效量的選自分子式I化合物或其藥學可接受的鹽類的CDK抑制劑以及醫療有效量的選自埃羅替尼或拉帕替尼且能夠抑制EGFR激酶活性的化合物或其藥學可接受的鹽類投藥至所述個體之外；更包含將醫療有效量的吉西他濱或其藥學可接受的鹽類投藥至該個體。因此，在此具體實施例中，本發明也有關一種

用於在個體中治療胰臟癌的方法，包含將醫療有效量的選自分子式I化合物或其藥學可接受的鹽類的CDK抑制劑；醫療有效量的選自埃羅替尼或拉帕替尼且能夠抑制EGFR激酶活性的化合物或其藥學可接受的鹽類；以及醫療有效量的吉西他濱或其藥學可接受的鹽類投藥至所述個體；其中所述CDK抑制劑、能夠抑制EGFR激酶活性的所述化合物以及吉西他濱被同時或循序投藥。

在另一個具體實施例中，本發明有關一種用於在個體中治療胰臟癌的方法，包含將醫療有效量的選自分子式I化合物或其藥學可接受的鹽類的CDK抑制劑；醫療有效量的選自埃羅替尼或拉帕替尼且能夠抑制EGFR激酶活性的化合物或其藥學可接受的鹽類；以及醫療有效量的吉西他濱或其藥學可接受的鹽類投藥至所述個體；其中所述CDK抑制劑、能夠抑制EGFR激酶活性的所述化合物以及吉西他濱被同時投藥。

在另一個具體實施例中，本發明有關一種用於在個體中治療胰臟癌的方法，包含將醫療有效量的選自分子式I化合物或其藥學可接受的鹽類的CDK抑制劑；醫療有效量的選自埃羅替尼或拉帕替尼且能夠抑制EGFR激酶活性的化合物或其藥學可接受的鹽類；以及醫療有效量的吉西他濱或其藥學可接受的鹽類投藥至所述個體；其中所述CDK抑制劑；能夠抑制EGFR激酶活性的所述化合物以及吉西他濱被循序投藥，使得吉西他濱在投藥所述CDK抑制劑以及能夠抑制EGFR激酶活性的所述化合物之前或之後被投藥。

根據另一個具體實施例，本發明針對一種用於在個體中

治療胰臟癌的方法，包含將醫療有效量的選自分子式I化合物或其藥學可接受的鹽類的CDK抑制劑；醫療有效量的埃羅替尼或其藥學可接受的鹽類；以及醫療有效量的吉西他濱或其藥學可接受的鹽類投藥至所述個體；其中該CDK抑制劑、埃羅替尼以及吉西他濱被同時或循序投藥。

根據另一個具體實施例，本發明針對一種用於在個體中治療胰臟癌的方法，包含將醫療有效量的選自分子式I化合物或其藥學可接受的鹽類的CDK抑制劑；醫療有效量的拉帕替尼或埃羅替尼的藥學可接受的鹽類；以及醫療有效量的吉西他濱或其藥學可接受的鹽類投藥至所述個體；其中該CDK抑制劑、拉帕替尼以及吉西他濱被同時或循序投藥。

根據另一個具體實施例，本發明針對一種用於在個體中治療胰臟癌的方法，包含將醫療有效量的選自分子式I化合物或其藥學可接受的鹽類的CDK抑制劑；醫療有效量的埃羅替尼或其藥學可接受的鹽類；以及醫療有效量的吉西他濱或其藥學可接受的鹽類投藥至所述個體；其中該CDK抑制劑、埃羅替尼以及吉西他濱被同時投藥。

根據另一個具體實施例，本發明針對一種用於在個體中治療胰臟癌的方法，包含將醫療有效量的選自分子式I化合物或其藥學可接受的鹽類的CDK抑制劑；醫療有效量的埃羅替尼或其藥學可接受的鹽類；以及醫療有效量的吉西他濱或其藥學可接受的鹽類投藥至所述個體；其中該CDK抑制劑、埃羅替尼以及吉西他濱被循序投藥，使得吉西他濱在投藥該CDK抑制劑以及埃羅替尼之前或之後被投藥。

根據另一個具體實施例，本發明針對一種用於在個體中治療胰臟癌的方法，包含將醫療有效量的選自分子式I化合物或其藥學可接受的鹽類的CDK抑制劑；醫療有效量的拉帕替尼或其藥學可接受的鹽類；以及醫療有效量的吉西他濱或其藥學可接受的鹽類投藥至所述個體；其中該CDK抑制劑、拉帕替尼以及吉西他濱被循序投藥，使得吉西他濱在投藥該CDK抑制劑以及拉帕替尼之前或之後被投藥。

根據另一個具體實施例，本發明有關一種用於在個體中治療胰臟癌的方法，包含將醫療有效量的選自化合物A或化合物B的CDK抑制劑；醫療有效量的選自埃羅替尼或拉帕替尼且能夠抑制EGFR激酶活性的化合物或其藥學可接受的鹽類；以及醫療有效量的吉西他濱或其藥學可接受的鹽類投藥至所述個體；其中所述CDK抑制劑、能夠抑制EGFR激酶活性的所述化合物以及吉西他濱被同時或循序投藥。

根據另一個具體實施例，本發明有關一種用於在個體中治療胰臟癌的方法，包含將醫療有效量的化合物A；醫療有效量的埃羅替尼或其藥學可接受的鹽類；以及醫療有效量的吉西他濱或其藥學可接受的鹽類投藥至所述個體；其中所述化合物A、埃羅替尼以及吉西他濱被同時或循序投藥。

根據另一個具體實施例，本發明有關一種用於在個體中治療胰臟癌的方法，包含將醫療有效量的化合物A；醫療有效量的埃羅替尼或其藥學可接受的鹽類；以及醫療有效量的吉西他濱或其藥學可接受的鹽類投藥至所述個體

；其中所述化合物A、埃羅替尼以及吉西他濱被同時投藥。

根據另一個具體實施例，本發明有關一種用於在個體中治療胰臟癌的方法，包含將醫療有效量的化合物A；醫療有效量的埃羅替尼或其藥學可接受的鹽類；以及醫療有效量的吉西他濱或其藥學可接受的鹽類投藥至所述個體；其中所述化合物A、埃羅替尼以及吉西他濱被循序投藥，使得吉西他濱在投藥化合物A以及埃羅替尼之前或之後被投藥。

根據另一個具體實施例，本發明有關一種用於在個體中治療胰臟癌的方法，包含將醫療有效量的化合物A；醫療有效量的拉帕替尼或其藥學可接受的鹽類；以及醫療有效量的吉西他濱或其藥學可接受的鹽類投藥至所述個體；其中所述化合物A、拉帕替尼以及吉西他濱被同時或循序投藥。

根據另一個具體實施例，本發明有關一種用於在個體中治療胰臟癌的方法，包含將醫療有效量的化合物A；醫療有效量的拉帕替尼或其藥學可接受的鹽類；以及醫療有效量的吉西他濱或其藥學可接受的鹽類投藥至所述個體；其中所述化合物A、拉帕替尼以及吉西他濱被同時投藥。

根據另一個具體實施例，本發明有關一種用於在個體中治療胰臟癌的方法，包含將醫療有效量的化合物A；醫療有效量的拉帕替尼或其藥學可接受的鹽類；以及醫療有效量的吉西他濱或其藥學可接受的鹽類投藥至所述個體；其中所述化合物A、拉帕替尼以及吉西他濱被循序投藥。

，使得吉西他濱在投藥化合物A以及拉帕替尼之前或之後被投藥。

由分子式I的CDK抑制劑、選自埃羅替尼或拉帕替尼且能夠抑制EGFR激酶活性的化合物以及吉西他濱組成的三重組合的投藥可產生比單獨使用該分子式I的CDK抑制劑、埃羅替尼/拉帕替尼以及吉西他濱的任何一個所達成的效果還好，比該分子式I的CDK抑制劑以及埃羅替尼或該分子式I的CDK抑制劑以及拉帕替尼的組合所達成的效果還好的效果，例如抗癌效果。

在一個具體實施例中，包含在組合中的成分可能因為它們不同的物理以及化學特性而必須以不同的途徑投藥。

例如，分子式I的CDK抑制劑可被口服地或非口服地投藥，以產生並維持好的其血中含量，而吉西他濱以及能夠抑制EGFR激酶的化合物可被口服地或非口服地、藉由靜脈內、皮下或肌肉內途徑來投藥。

意欲用於藥學用途的組合以及組合物可根據本技術領域中已知用以製造醫藥組合以及組合物的任何方法來製備，例如Remington - The Science and Practice of Pharmacy (第21版) (2005)、Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics (第11版) (2006) 以及由Allen et al., Lippincott Williams & Wilkins編輯的Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (第9版) (2011)、Solid-State Chemistry of Drugs (第2版) (1999)，其每個併入於本文中以為參考。

本文中所描述的組合物可為適合用於口服投藥的形式，例如為錠劑或膠囊，用於鼻腔投藥或藉由吸入投藥，例如為粉末或溶液，用於非口服注射（包括靜脈內、皮下、肌肉內、血管內或輸注），例如為無菌溶液、懸浮液或乳狀液，用於局部投藥，例如為軟膏或乳霜，用於直腸投藥，例如為栓劑，或投藥途徑可為藉由直接注射入腫瘤中或藉由區域性運送或藉由局部運送。

對於口服用途，分子式I的CDK抑制劑可以，例如，錠劑或膠囊、粉末、可分散的顆粒或膠囊的形式，或為水溶液或懸浮液而投藥。在用於口服用途的錠劑的例子中，常使用的載體包括乳糖、玉米澱粉、碳酸鎂、滑石以及糖，以及常加入潤滑劑，例如硬脂酸鎂。對於以膠囊形式的口服投藥，有用的載體包括乳糖、玉米澱粉、碳酸鎂、滑石以及糖。

對於肌肉內、腹膜內、皮下以及靜脈內的用途，常使用活性成分（如本文中所描述的CDK抑制劑或該能夠抑制EGFR激酶活性的化合物或吉西他濱）的無菌溶液，且該溶液的pH應被適當地調整以及緩衝。

在較佳的具體實施例中，本發明組合中含有的醫療劑是按照常規程序而配製成適合靜脈內投藥至人類的醫藥組合物。典型地，用於靜脈內投藥的本發明組合中含有的醫療劑為在無菌等張水緩衝液中的溶液。當必要時，該組合物可也包括助溶劑。用於靜脈內投藥的組合物可隨選地包括局部麻醉劑，例如利諾卡因，以減輕在注射部位的疼痛。一般而言，以單位劑量形式分開或混合在一起而供應成分，例如，作為在密封容器中的凍乾粉末或

無水濃縮劑，例如指出活性劑的量的安瓿或囊袋。當本發明組合中含有的一或更多種醫療劑是藉由輸注而投藥時，其可，例如，使用含有無菌藥學等級的水或食鹽水的輸注瓶來配施。當本發明組合中含有的醫療劑是藉由注射而投藥時，可提供用於注射的無菌水或食鹽水的安瓿，以使該成分可在投藥之前混合。

用於口服運送的組合物可為錠劑、菱形錠、水性或油狀懸浮液、顆粒、粉末、乳狀液、膠囊、糖漿或酏劑的形式。口服投藥的組合物可含有一或更多種隨選的藥劑，例如，甜味劑，例如果糖、阿斯巴甜或糖精；調味劑，例如薄荷、冬青油或櫻桃；著色劑；以及防腐劑，以提供製藥上可口的製備品。此外，其中錠劑或藥丸形式，可塗層組合物以延遲在腸胃道中的崩解以及吸收，藉此在延長的時間期間提供持續的作用。在滲透性活性驅動化合物周圍的選擇性穿透膜也適合用於包含在本發明組合中的口服投藥化合物或抗癌劑。在這些後者的平台中，來自該膠囊附近環境的流體被該驅動化合物（抗癌劑）吸收，該驅動化合物膨脹以經由孔洞取代該劑或劑組合物。這些運送平台可提供必要零級運送的特徵，相反於立即釋放配方的尖峰特徵。也可使用時間延遲材料，例如單硬脂酸甘油或硬脂酸甘油。口服組合物可包括標準的運送工具，例如甘露糖醇、乳糖、澱粉、硬脂酸鎂、糖精鈉、纖維素、碳酸鎂等。這種運送工具較佳為製藥等級。

此外，此發明醫藥組合中含有的化合物（抗癌劑）的效果可藉由適當的配方來延遲或延長。例如，可製備該化

合物的緩慢可溶的小顆粒，並併入錠劑或膠囊中。該技術可藉由製造數種不同溶解速率的小顆粒並以該小顆粒的混合物填充膠囊來改進。可使用抗溶解一段可預測時間的薄膜來塗層錠劑或膠囊。甚至是非口服的製備品可藉由將該化合物（抗癌劑）溶解或懸浮於允許其可在血清中緩慢分散的油狀或乳化運送工具中而做成為長效的。

藉由相同或不同的途徑以及以廣泛的各種不同的劑量形式，能夠抑制EGFR激酶活性的化合物當在雙重組合中使用時可與分子式I的CDK抑制劑一起或當在三重組合中使用時可與分子式I的CDK抑制劑以及吉西他濱一起或分開投藥。例如，能夠抑制EGFR激酶活性的化合物較佳以口服或非口服投藥，其中當能夠抑制EGFR激酶活性的化合物是埃羅替尼HCl（TARCEVA®）時，口服投藥是較佳的。

能夠抑制EGFR激酶活性的化合物可使用為錠劑、膠囊、菱形錠、喉片、硬糖果、粉末、噴霧、乳霜、油膏、栓劑、果凍、凝膠、膏狀物、乳液、軟膏、醃劑、糖漿以及諸如此類形式的各種藥學可接受的鈍性載體來投藥。這種劑量形式的投藥以單一或多重劑量來進行。載體包括固體稀釋劑或填充劑、無菌水介質以及各種無毒有機溶劑，等等。口服的醫藥組合物可被適當地增甜及/或調味。

在另一個具體實施例中，本發明有關一種用於治療胰臟癌的方法，該方法包含將醫療有效量的所述組合投藥至需要這種治療的個體。因此，在本發明的方法中，藉由

將用以治療癌症的醫療量的吉西他濱與醫療有效量的選自分子式I化合物或其藥學可接受鹽類或溶劑化物的CDK抑制劑以及能夠抑制EGFR激酶活性化合物的組合投藥至個體(其中產生協同作用)而在該個體中治療胰臟癌。

當組合使用時，醫療劑(抗癌劑)，即選自分子式I化合物的CDK抑制劑、能夠抑制EGFR激酶活性的化合物(例如埃羅替尼或拉帕替尼以及吉西他濱)之間的協同作用在所選擇的胰臟細胞株中分析。實質上如實驗部分中所描述的，相較於任一醫療劑單獨使用，當以指出協同作用的組合使用時，使用固定或改變的醫療劑比例而在該細胞株中執行標準細胞毒性分析法。使用組合指數(CI)方法來分析結果，藉由該組合指數方法，小於1的CI值表示協同作用，等於1表示加成效果，以及大於1表示拮抗作用。

本發明包含用以在病患中治療或控管胰臟癌的方法，包含將選自分子式I化合物的CDK抑制劑與能夠抑制EGFR激酶的化合物以及進一步與吉西他濱的組合投藥至該病患。該用語「組合」不限於在確切相同的時間投藥醫療劑(抗癌劑)，其更意指選自分子式I化合物的CDK抑制劑以及其他的醫療劑循序並在一個時間間隔內被投藥至個體，使得該CDK抑制劑可與該其他的醫療劑一起作用，以提供比起如果它們是以另外的方法投藥還要多的好處。例如，可在相同的時間或在不同的時間點以任何順序相繼投藥每個醫療劑；然而，如果不在相同的時間投藥，它們應在足夠近的時間內被投藥，以提供想要的醫療效果。可以任何適當的形式以及藉由任何適合的投藥途徑

來分別投藥每個醫療劑。

在本發明的具體實施例中，該組合中含有的抗癌劑可以交錯的療法投藥，即，在週期療程期間在與能夠抑制EGFR激酶活性的化合物以及吉西他濱不同的時間給予CDK抑制劑。至少兩個抗癌劑的投藥時間差的範圍可為數分鐘、小時、天、週或更久。因此，該用語組合（或結合的）不一定意指在相同的時間或作為單一劑量或單一組合物而投藥，而是每個成分在想要的治療時期期間投藥。也可藉由不同的途徑來投藥抗癌劑。在一個具體實施例中，1個「週期」包括21天。這些療法或週期可依據期望而被重複或改變。其他的劑量療法以及改變是可預見的，並經由醫生的指導而決定。

在特定的具體實施例中，在其中兩種藥劑仍具活性的時段中投藥醫療劑。本領域的技術人員將能夠藉由決定所投藥的醫療劑的半衰期而決定這種時段。

如同本文先前所指出，可同時或循序投藥該醫藥組合物中含有的活性成分。

為了本發明醫藥組合中含有的醫療劑的有效投藥，特別是當使用雙重組合時，包括在25 mg至300 mg的一般劑量範圍中投藥埃羅替尼；以及在100 mg/m²/天至185 mg/m²/天的一般劑量範圍中投藥分子式I的CDK抑制劑，例如化合物A。

為了本發明醫藥組合中含有的醫療劑的有效投藥，特別是當使用三重組合時，包括在25 mg至300 mg的一般劑量範圍中投藥埃羅替尼；以及在100 mg/m²/天至200 mg/m²/天的一般劑量範圍中投藥分子式I的CDK抑制劑，

例如化合物A，以及在200mg/m²劑量至1000mg/m²劑量的一般劑量範圍中投藥吉西他濱。

本領域的技術人員將承認，在此發明的範圍以及精神內，數種改變是可能的。藉由參照下述非限制性的範例，將更詳細地描述本發明。下述範例進一步描繪了本發明，但當然不應以任何方式被理解為限制其範圍。

範例1：

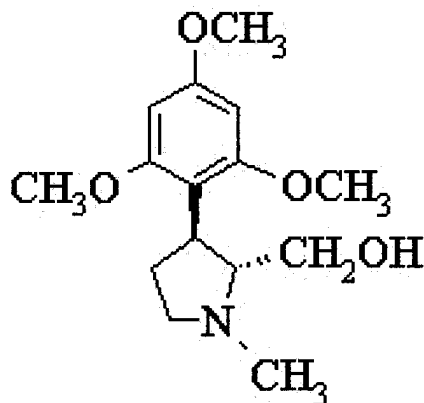
A) 用於製備CDK抑制劑分子式I化合物的一般程序：

可根據PCT專利公開編號W02004004632以及PCT專利公開編號W02007148158中所揭露的方法來製備分子式I化合物，其併入於本文中以為參考。

用於製備分子式I化合物或其藥學可接受鹽類的一般製程包含下述步驟：

(a) 在路易氏酸催化劑的存在下，使用醋酸酐處理分子式VIA的中間產物化合物的解析的鏡像異構性純的(-)-反式鏡像異構物，

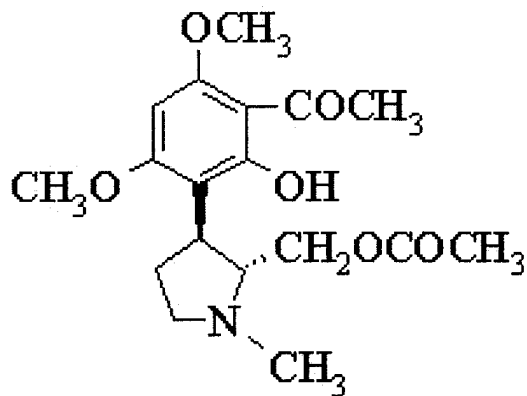
[0007]



VIA

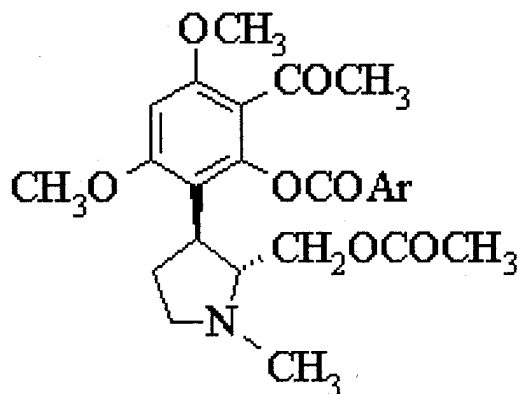
以獲得解析的分子式VIIA的乙醯化化合物，

[0008]



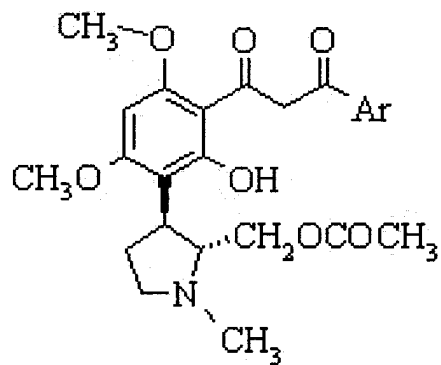
VIIA

(b) 在鹼以及溶劑的存在下，將解析的分子式VIIA的乙酰化化合物與分子式ArCOOH的酸或分子式ArCOCl的酸性氯化物或分子式(ArCO)₂O的酸酐或分子式ArCOOCH₃的酯反應，其中Ar是如同上述本文中關於分子式I化合物的定義，以獲得解析的分子式VIIIA化合物；



VIIIA

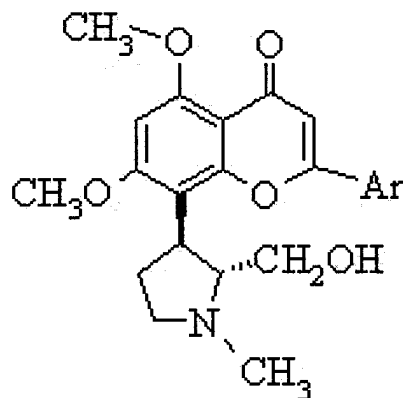
(c) 在適合的溶劑中以鹼處理該解析的分子式VIIIA化合物，以獲得相應的解析的b-二酮分子式IXA化合物；



IXA

其中Ar是如同上述所定義；

(d) 以酸(例如氫氯酸)處理該解析的b-二酮分子式IXA化合物，以獲得相應的分子式XA環化化合物，



XA

(e) 藉由在範圍為120-180°C的溫度下將分子式XA化合物與脫烷劑加熱而進行分子式XA化合物的脫烷作用，以獲得分子式I化合物的(+)-反式鏡像異構物以及，隨選地，將該標題化合物轉變成其藥學可接受的鹽類。

上述步驟(a)中所使用的路易氏酸催化劑可選自：BF₃、Et₂O、氯化鋅、氯化鋁以及氯化鈦。

製程步驟(b)中所使用的鹼可選自三乙胺、吡啶以及DCC-DMAP組合(N, N'-二環己基二亞胺以及4-二甲基胺基吡啶的組合)。

對於本領域的技術人員將顯而易見的是，分子式 VIIIA 化合物變成相應的 b-二酮分子式 IXA 化合物的重排已知為貝克-文卡塔拉曼 (Baker-Venkataraman) 重排 (J. Chem. Soc., 1381 (1933) 以及 Curr. Sci., 4, 214 (1933))。

製程步驟(c)中所使用的鹼可選自：六甲基二矽基胺基鋰、六甲基二矽基胺基鈉、六甲基二矽基胺基鉀、氫化鈉以及氫化鉀。較佳的鹼是六甲基二矽基胺基鋰。

製程步驟(e)中用於分子式 IXA 化合物的脫烷作用的脫烷劑可選自：吡啶鹽酸鹽、三溴化硼、三氟化硼乙醚以及三氟化鋁。較佳的脫烷劑是吡啶鹽酸鹽。

起始分子式 VIA 化合物的製備涉及將 1-甲基-4-哌啶酮與在冰醋酸中的 1, 3, 5-三甲氧基苯溶液反應，以產出 1-甲基-4-(2, 4, 6-三甲氧基苯基)-1, 2, 3, 6-四氫吡啶，其與三氟化硼二乙醚、硼氫化鈉以及四氫呋喃反應，以產出 1-甲基-4-(2, 4, 6-三甲氧基苯基)哌啶-3-醇。1-甲基-4-(2, 4, 6-三甲氧基苯基)哌啶-3-醇變成分子式 VIA 化合物的轉變涉及在氧親核劑(例如三乙胺、吡啶、碳酸鉀或碳酸鈉)的存在下，藉由以適當的試劑(例如 p-甲苯磺醯氯、甲烷磺醯氯、三氟甲磺酸酐或五氯化磷)進行處理，接著在氧親核劑的存在下，例如在醇類溶劑(例如異丙醇、乙醇或丙醇)中的醋酸鈉或醋酸鉀，藉由縮環作用而將存在於化合物 1-甲基-4-(2, 4, 6-三甲氧基苯基)哌啶-3-醇的哌啶環上的羥基轉變為脫離基，例如甲苯磺醯基、甲磺醯基、三氟甲磺酸鹽或鹵化物。

B) (+)-反式-2-(2-氯苯基)-5, 7-二羥基-8-(2-羥基甲基-1-甲基-吡咯啉-3-基)-苯並哌喃-4-酮鹽酸鹽 (化合物A) 的製備

將熔融的吡啶鹽酸鹽 (4.1 g, 35.6 mmol) 加至(+)-反式-2-(2-氯-苯基)-8-(2-羥基甲基-1-甲基-吡咯啉-3-基)-5, 7-二甲氧基-苯並哌喃-4-酮 (0.4 g, 0.9 mmol) 中, 並在180°C下加熱1.5 h。將反應混合物冷卻至25°C, 以MeOH (10 mL) 稀釋, 並使用Na₂CO₃鹼化至pH 10。過濾該混合物, 並濃縮有機層。將殘餘物懸浮於水中 (5 mL), 攪拌30 min, 將其過濾以及乾燥, 以獲得化合物(+)-反式-2-(2-氯-苯基)-5, 7-二羥基-8-(2-羥基甲基-1-甲基-吡咯啉-3-基)-苯並哌喃-4-酮。

產量: 0.25 g (70%);

IR (KBr): 3422, 3135, 1664, 1623, 1559 cm⁻¹;

¹H NMR (CDCl₃, 300MHz): δ 7.56 (d, 1H),

7.36 (m, 3H), 6.36 (s, 1H), 6.20 (s, 1H),

4.02 (m, 1H), 3.70 (m, 2H), 3.15 (m, 2H),

2.88 (m, 1H), 2.58 (s, 3H), 2.35 (m, 1H),

1.88 (m, 1H); MS (ES⁺): m/z 402 (M+1);

分析: C₂₁H₂₀N₂O₅ C, 62.24 (62.71); H, 5.07

(4.97); N, 3.60 (3.48); Cl, 9.01 (8.83)。

將如上所獲得的化合物 (0.2 g, 0.48 mmol) 懸浮於IPA (5 mL) 中, 並加入3.5 % HCl (25 mL)。將該懸浮液加熱以得到澄清的溶液。將該溶液冷卻, 並過濾固體, 以獲得化合物(+)-反式-2-(2-氯苯基)-5, 7-二羥基-8-(2-羥基甲基-1-甲基-吡咯啉-3-基)-苯並哌喃

-4-酮鹽酸鹽。

產量：0.21 g (97 %) ; mp: 188 - 192 °C ; [

α]D₂₅ = +21.3° (c = 0.2, 甲醇) ;

¹H NMR (CD₃OD, 300MHz): δ 7.80 (d, 1H),

7.60 (m, 3H), 6.53 (s, 1H), 6.37 (s, 1H),

4.23 (m, 1H), 3.89 (m, 2H), 3.63 (m, 1H),

3.59 (dd, 1H), 3.38 (m, 1H), 2.90 (s, 3H),

2.45 (m, 1H), 2.35 (m, 1H); MS (ES⁺): m/z

402 (M + 1) (游離鹼)。

將此化合物進行掌性HPLC。使用管柱手性柱OD-H (250 x 4.6 mm) 以及具有TFA (0.4%) 的溶劑系統己烷：乙醇 (92：08) 來完成掌性HPLC。以

1mL/min的溶劑流速在264nm下記錄結果。如第3圖中所描繪的，該掌性HPLC顯示了100% e. e的化合物(+)-反式-2-(2-氯-苯基)-5, 7-二羥基-8-(2-羥基-甲基-1-甲基-吡咯啉-3-基)-苯並哌喃-4-酮鹽酸鹽。

C) (+)-反式-2-(2-氯-4-三氟甲基-苯基)-5, 7-二羥基-8-(2-羥基-甲基-1-甲基-吡咯啉-3-基)-苯並哌喃-4-酮鹽酸鹽 (化合物B) 的製備

將化合物(+)-反式-2-(2-氯-4-三氟甲基-苯基)-8-(2-羥基-甲基-1-甲基吡咯啉-3-基)-5, 7-二甲氧基-苯並哌喃-4-酮 (0.25 g, 0.5 mmol)、吡啶鹽酸鹽 (0.25 g, 2.16 mmol) 以及催化量的喹啉的混合物於180°C下加熱2.5小時的時間。以甲醇 (25 mL) 稀釋反應混合物，並以固體Na₂CO₃鹼化至pH 10。過濾該反應混合物，並以甲醇沖洗。濃縮有機層，並使用在氯仿中的0.1% 氫以

及4.5%甲醇作為洗提液，而藉由管柱層析純化殘餘物，以產出為黃色固體的化合物(+)-反式-2-(2-氯-4-三氟甲基苯基)-5,7-二羥基-8-(2-羥基-甲基-1-甲基吡咯啉-3-基)-苯並哌喃-4-酮。

產量：0.15 g (63.7%)；

¹H NMR (CDCl₃, 300MHz): δ 7.99 (m, 2H), 7.83 (d, 1H), 6.65 (s, 1H), 6.41 (s, 1H), 4.24 (m, 1H), 3.90 (m, 2H), 3.70 (m, 1H), 3.60 (m, 1H), 3.41 (m, 1H), 2.99 (s, 3H), 2.54 (m, 1H), 2.28 (m, 1H); MS (ES⁺): m/z 470 (M+1)。

將上述獲得的化合物(0.1 g, 0.2 mmol)懸浮於甲醇(2 mL)中，並以醚化HCl處理以及將有機溶劑揮發，以產出化合物(+)-反式-2-(2-氯-4-三氟甲基-苯基)-5,7-二羥基-8-(2-羥基-甲基-1-甲基-吡咯啉-3-基)-苯並哌喃-4-酮鹽酸鹽。

產量：0.1g (92.8%)；

¹H NMR (CDCl₃, 300MHz): δ 8.02 (d, 2H), 7.83 (d, 1H), 6.64 (s, 1H), 6.41 (s, 1H), 4.23 (m, 1H), 3.73 (m, 2H), 3.68 (m, 1H), 3.51 (m, 1H), 3.39 (m, 1H), 2.99 (s, 3H), 2.54 (m, 1H), 2.31 (m, 1H)。

涉及使用由化合物A以及埃羅替尼組成的雙重組合的試管內研究

範例2：

使用碘化丙啶(PI)在細胞毒性分析法中化合物A與埃羅

替尼的組合研究

根據Anticancer Drugs, 1995, 6, 522-32中所提及的程序執行碘化丙啶螢光分析法 (PI)，其併入於本文中以為參考。

該分析法被發展用以定出人類腫瘤細胞株的試管內生長特徵，以及用以測試抗癌劑（「測試化合物」）的細胞毒性活性。使用碘化丙啶 (PI) 作為染料，其只穿透受損的細胞膜。由PI與雙股DNA形成嵌入錯合物，其造成螢光的放大。在將細胞於 -70°C 冷凍24 h之後，PI已進入導致總細胞族群數的總DNA。從只含有培養基以及碘化丙啶的無細胞孔洞中獲得背景讀值。

將人類胰臟癌細胞株，Panc-1以及AsPc-1（來源ATCC（美國菌種保存中心））以1500-3000個細胞/孔的密度播種於96孔盤中的180 μL 的MEM（最小必需培養基，SAFC，USA）以及RPMI 1460（Sigma，美國）中，其具有10% FCS（胎牛血清），並培養大約16 h，以允許細胞貼附。如第1a、1b、2a以及2b圖中所示，然後以相應於 IC_{30} 、 IC_{50} 或 IC_{70} 的不同濃度的化合物A與相應於 IC_{30} 、 IC_{50} 或 IC_{70} 的不同濃度的埃羅替尼（LC Laboratories，美國）處理該細胞，或單獨以不同濃度（ IC_{30} 、 IC_{50} 或 IC_{70} ）的化合物A或單獨以不同濃度（ IC_{30} 、 IC_{50} 或 IC_{70} ）的埃羅替尼處理該細胞。用於Panc-1以及AsPc-1細胞的化合物A以及埃羅替尼的 IC_{30} 、 IC_{50} 以及 IC_{70} 濃度被具體描述於如本文下面中所呈現的表3中。處理時期為72小時或96小時。將培養盤培養於 $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、潮濕的5% CO_2 培養箱中。以運送工具（DMSO

) 處理控制組孔洞。在培養時期結束時，從該孔洞移除培養基，並以磷酸鹽緩衝鹽水 (PBS) 沖洗。每個孔洞加入100 μ L的PI工作溶液 (7 μ g/mL)，並將該培養盤儲存於-80°C達大約16小時。將該培養盤解凍，並使用POLARstar optima plate reader (USA) 於536 nm的激發光以及590 nm的發散光測量螢光。

計算抑制百分比 (%)，並使用Compusyn軟體 (ComboSyn, Inc. USA) 決定組合指數。見Therapeutical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies, CHOU, Ting-Chao. Pharmacol. Rev., vol. 58, no. 3, pgs. 621-681 (2006)，其併入於本文中以為參考。組合指數 (C. I) 用以評估2個或更多個化合物之間的協同作用。C. I < 1代表該組合有協同作用，C. I = 1代表該組合是加成的，以及C. I > 1代表該組合是拮抗的。在本發明的一個具體實施例中，C. I是 < 1。

(藉由將1 mg PI溶解於1 mL的蒸餾水中來製備1mg/mL的PI儲備溶液。藉由將140 μ L的儲備溶液加至PBS中並將體積補足至220 mL而製備PI工作溶液 (7 μ g/mL))

結果呈現於下述表1a、1b、2a以及2b中。此外，第1a以及1b圖中的圖表分別提供了在72小時以及96小時結束時，在Panc-1細胞中化合物A以及埃羅替尼的單一與組合劑量的百分比抑制結果。第2a以及2b圖分別提供了在72小時以及96小時結束時，在AsPc-1細胞中化合物A以及埃羅替尼的單一與組合劑量的百分比抑制結果的圖

表。

在下述表1a、1b、2a以及2b中，符號「+」代表同時使用抗癌劑（測試化合物）。

表1a - 在72 h的處理之後，在Panc-1細胞中對於化合物A（以不同的濃度）與埃羅替尼（以不同的濃度）的組合的組合指數（C.I）計算

化合物 A 以及埃羅替尼的組合	組合指數 (C.I) 值
IC ₃₀ 化合物 A+IC ₅₀ 埃羅替尼	0.5
IC ₃₀ 化合物 A+IC ₇₀ 埃羅替尼	0.2
IC ₅₀ 化合物 A+IC ₃₀ 埃羅替尼	0.8
IC ₅₀ 化合物 A+IC ₅₀ 埃羅替尼	0.4
IC ₅₀ 化合物 A+IC ₇₀ 埃羅替尼	0.1
IC ₇₀ 化合物 A+IC ₃₀ 埃羅替尼	0.7
IC ₇₀ 化合物 A+IC ₅₀ 埃羅替尼	0.5
IC ₇₀ 化合物 A+IC ₇₀ 埃羅替尼	0.2

[0011] 表1b-在96 h的處理之後，在Panc-1細胞中對於化合物A（以不同的濃度）與埃羅替尼（以不同的濃度）的組合的組合指數（C.I）計算

化合物 A 以及埃羅替尼的組合	組合指數 (C.I) 值
IC ₃₀ 化合物 A+IC ₅₀ 埃羅替尼	0.5
IC ₃₀ 化合物 A+IC ₇₀ 埃羅替尼	0.1
IC ₅₀ 化合物 A+IC ₃₀ 埃羅替尼	0.8
IC ₅₀ 化合物 A+IC ₅₀ 埃羅替尼	0.4
IC ₅₀ 化合物 A+IC ₇₀ 埃羅替尼	0.1
IC ₇₀ 化合物 A+IC ₃₀ 埃羅替尼	0.7
IC ₇₀ 化合物 A+IC ₅₀ 埃羅替尼	0.4
IC ₇₀ 化合物 A+IC ₇₀ 埃羅替尼	0.1

[0012] 表2a-在72 h的處理之後，在AsPc-1細胞中對於化合物A（以不同的濃度）與埃羅替尼（以不同的濃度）的組合的組合指數（C.I）計算

化合物 A 以及埃羅替尼的組合	組合指數 (C.I) 值
IC ₃₀ 化合物 A+IC ₃₀ 埃羅替尼	0.6
IC ₃₀ 化合物 A+IC ₅₀ 埃羅替尼	0.3
IC ₅₀ 化合物 A+IC ₃₀ 埃羅替尼	0.3
IC ₅₀ 化合物 A+IC ₅₀ 埃羅替尼	0.3
IC ₇₀ 化合物 A+IC ₃₀ 埃羅替尼	0.5
IC ₇₀ 化合物 A+IC ₅₀ 埃羅替尼	0.6

[0013] 表2b-在96 h的處理之後，在AsPc-1細胞中對於化合物A（以不同的濃度）與埃羅替尼（以不同的濃度）的組合的組合指數（C.I）計算

化合物 A 以及埃羅替尼的組合	組合指數 (C.I) 值
IC ₃₀ 化合物 A+IC ₃₀ 埃羅替尼	0.4
IC ₃₀ 化合物 A+IC ₅₀ 埃羅替尼	0.1
IC ₅₀ 化合物 A+IC ₃₀ 埃羅替尼	0.3
IC ₅₀ 化合物 A+IC ₅₀ 埃羅替尼	0.2
IC ₇₀ 化合物 A+IC ₃₀ 埃羅替尼	0.4
IC ₇₀ 化合物 A+IC ₅₀ 埃羅替尼	0.4

[0014] 表3 - 在Panc-1以及AsPc-1細胞株中，化合物A以及埃羅替尼的30、50以及70百分比抑制濃度（IC₃₀、IC₅₀以及IC₇₀）

細胞株	化合物	濃度 (μM)		
		IC ₃₀	IC ₅₀	IC ₇₀
Panc-1	化合物 A	0.4	0.6	0.7
	埃羅替尼	5	12	22
AsPc-1	化合物 A	0.7	1.5	3.0
	埃羅替尼	10	30	-

涉及使用由化合物A、埃羅替尼/拉帕替尼以及吉西他濱組成的三重組合的試管內研究

範例3：

材料：吉西他濱、拉帕替尼以及埃羅替尼是從美國LC 實驗室獲得。CCK-8細胞毒性套組是由日本Dojindo Molecular Technologies製造。培養基以及胎牛血清 (FBS) 分別是從Sigma (St. Louis, MO) 以及Gibco (Paisley, 蘇格蘭) 獲得。Panc-1以及Mia Paca-2細胞是從美國菌種保存中心 (ATCC, Manassas, VA) 獲得。將細胞維持在補充有10%FBS、盤尼西林-鏈黴素溶液穩定的、無菌過濾的、具有5,000單位盤尼西林以及5 mg鏈黴素/mL (P-4458, Sigma-Aldrich, 美國) 的 Dulbecco' s Modified Eagle Medium (DMEM) 中。將該細胞生長於75-cm²培養瓶中，並維持在潮濕的 (37 °C, 5%CO₂) 培養箱中。將細胞傳代而達到80%的聚滿度。

細胞增殖分析法：將對數生長的細胞以3 x 10³細胞/孔的密度分盤，並允許其隔夜恢復。以範圍為10 nM至30 μM的不同濃度的不同抗癌劑 (吉西他濱、化合物A、拉帕替尼以及埃羅替尼) 刺激該細胞，以及控制組細胞接受

具有10%血清、含有0.2%濃度的二甲基亞砷（DMSO）運送工具的Dulbecco's modified Eagle's medium（DMEM）。72小時之後，藉由CCK-8試劑（Dojindo Molecular Technologies，日本）決定細胞毒性；（WST-1 [2-(2-甲氧基-4-硝基苯基)-3-(4-硝基苯基)-5-(2, 4-二磺苯基)]-2H-四氫唑單鈉鹽類分析法）。按照製造商的指示，加入5 μ l/孔的CCK-8試劑，並將培養盤培養2小時。藉由在Tecan Sapphire多重螢光微孔盤讀取儀（Tecan，德國，GmbH）上在450 nm校正至650 nm的波長下測量吸光度而決定毒性，並標準化至控制組。

執行CCK-8（細胞計數套組-8）非放射性比色分析法，以定出Pancl以及Mia Paca2細胞的試管內生長特徵，並測試抗癌劑，吉西他濱、化合物A、拉帕替尼以及埃羅替尼當組合使用時的細胞毒性活性。CCK-8允許方便的分析法，該分析法使用Dojindo's四氫唑鹽類，WST 8-(2-(2-甲氧基-4-硝基苯基)-3-(4-硝基苯基)-5-(2, 4-二磺苯基)-2H-四氫唑單鈉鹽，其在電子載體(1-甲氧基PMS)的存在下在生物還原作用之後產生可溶於水的甲瓚染料。將CCK-8溶液直接加至該細胞中；不需要成分的預混合。CCK-8是用於決定細胞增殖中存活細胞數的敏感非放射性比色分析法以及細胞毒性分析法。WST-8被細胞去氫酶生物還原成橘色的甲瓚產物，該甲瓚產物可溶於組織培養基中。所產生的甲瓚量直接正比於活細胞數。使用WST-8的細胞增殖分析法的偵測敏感度高於使用其他四氫唑鹽類的分析法，例如MTT、XTT、MTS或WST-1（PCT專利公

開案W097/38985)。在450nm的測量波長以及630nm的參考波長下決定光學密度。

Panc-1細胞、Mia Paca-2細胞、HPAC細胞以及Capan1細胞中化合物A、埃羅替尼/拉帕替尼以及吉西他濱的50百分比抑制濃度 (IC_{50}) 的決定

為了決定Panc-1細胞、Mia Paca-2細胞、HPAC細胞以及Capan1細胞中的吉西他濱、化合物A、埃羅替尼以及拉帕替尼的 IC_{50} ，以下述提及濃度的特定抗癌劑（「測試化合物」）處理細胞。對於最終濃度0.03 μ M、0.1 μ M、0.3 μ M、1 μ M、3 μ M、10 μ M、30 μ M以及100 μ M的下述劑量的所有抗癌劑分析它們展現細胞毒性的能力，特別是展現50%細胞毒性的能力。將細胞以3000細胞/孔的密度播種於200 μ L於組織培養等級的96孔盤中，並讓該細胞在潮濕的5% \pm 0.2 CO₂培養箱於37⁰C \pm 0.5⁰C下恢復24小時。24小時之後，將1 μ L溶解於純二甲基亞砷（DMSO）中的200X測試化合物（吉西他濱、化合物A、埃羅替尼以及拉帕替尼（比所需濃度高200倍被指稱為200X）加至細胞中。孔中的最終DMSO濃度為0.5%。將培養盤於潮濕的5% \pm 0.2 CO₂培養箱在37 \pm 0.5⁰C下培養48小時。48小時之後，將該培養盤從CO₂培養箱移出，並在每孔加入5 μ L的細胞計數套組（CCK-8）。將相同的培養盤維持在在37⁰C達3小時，並讓其回到室溫。在Tecan Multimode safire上讀取450nm波長的吸光度。使用下述方程式計算百分比細胞毒性。

$$\text{百分比細胞毒性} = \frac{(\text{DMSO 控制組的 OD} - \text{處理細胞的 OD}) \times 100}{\text{DMSO 控制組的 OD}}$$

[0015] 在panc-1細胞中在72 hr時的劑量反應研究顯示吉西他濱、化合物A、埃羅替尼以及拉帕替尼分別在0.06 μM 、0.51 μM 、7.0 μM 以及4.8 μM 抑制50%生長 (IC_{50})。結果呈現於表4a中，並繪圖於第3a圖中。

在MiaPaca-2細胞中在72 hr時的劑量反應研究顯示吉西他濱、化合物A、埃羅替尼以及拉帕替尼分別在0.22 μM 、0.72 μM 、9.0 μM 以及7.6 μM 抑制50%生長 (IC_{50})。結果呈現於表4b中，並繪圖於第3b圖中。

在HPAC細胞中在72 hr時的劑量反應研究顯示吉西他濱、化合物A以及埃羅替尼分別在1.6 μM 、1.1 μM 以及2.3 μM 抑制50%生長 (IC_{50})。結果呈現於表4c中。

在Capan1細胞中在72 hr時的劑量反應研究顯示吉西他濱、化合物A以及埃羅替尼分別在2.9 μM 、3.6 μM 以及3.9 μM 抑制50%生長 (IC_{50})。結果呈現於表4d中。

同樣地，從其中特定化合物在細胞毒性分析法中分別顯示30%、70%以及90%活性的劑量而建立出對於所有測試化合物（抗癌化合物）的 IC_{30} 、 IC_{70} 以及 IC_{90} 濃度。

表4a-在Panc-1細胞中吉西他濱、化合物A、埃羅替尼以及拉帕替尼的30%、50%、70%以及90%抑制濃度 (IC_{30} 、 IC_{50} 、 IC_{70} 以及 IC_{90})

[0016]

抗癌劑	Panc-1 細胞 (抑制濃度 μM)			
	IC_{30}	IC_{50}	IC_{70}	IC_{90}
化合物 A	0.1	0.5	3.1	9.4
吉西他濱	0.02	0.06	3	7.3
埃羅替尼	1.6	4.8	12	26
拉帕替尼	2.8	7	10	35

[0017] 表4b-在MiaPaca-2細胞中吉西他濱、化合物A、埃羅替尼以及拉帕替尼的30%、50%、70%以及90%抑制濃度 (IC₃₀、IC₅₀、IC₇₀以及IC₉₀)

[0018]

抗癌劑	MiaPaca-2 細胞 (抑制濃度 μM)			
	IC ₃₀	IC ₅₀	IC ₇₀	IC ₉₀
化合物 A	0.3	0.72	5.3	9.5
吉西他濱	0.05	0.22	3.1	7.1
埃羅替尼	2.6	7.6	15	34
拉帕替尼	3	9	20	45

[0019] 表4c-在HPAC細胞中吉西他濱、化合物A、埃羅替尼以及拉帕替尼的30%、50%、70%以及90%抑制濃度 (IC₃₀、IC₅₀、IC₇₀以及IC₉₀)

[0020]

抗癌劑	HPAC 細胞 (抑制濃度 μM)			
	IC ₃₀	IC ₅₀	IC ₇₀	IC ₉₀
化合物 A	0.4	1.1	4.6	21.4
吉西他濱	0.9	1.6	8.7	28.9
埃羅替尼	1.4	2.3	6.3	10.7

[0021] 表4d-在Capan1細胞中吉西他濱、化合物A、埃羅替尼以及拉帕替尼的30%、50%、70%以及90%抑制濃度 (IC₃₀、IC₅₀、IC₇₀以及IC₉₀)

[0022]

抗癌劑	Capan1 細胞 (抑制濃度 μM)			
	IC ₃₀	IC ₅₀	IC ₇₀	IC ₉₀
化合物 A	1.6	3.6	7.8	22.3
吉西他濱	1.1	2.9	11.7	23.7
埃羅替尼	1.1	3.9	12.6	20.6

在Panc-1細胞中吉西他濱與化合物A以及埃羅替尼或與化合物A以及拉帕替尼的組合研究

對於 $0.02 \mu\text{M}$ (IC_{30}) 或 $0.06 \mu\text{M}$ (IC_{50}) 最終濃度劑量的吉西他濱、 $0.1 \mu\text{M}$ (IC_{30}) 最終濃度劑量的化合物A、 $2.8 \mu\text{M}$ (IC_{30}) 最終濃度劑量的拉帕替尼以及 $1.6 \mu\text{M}$ (IC_{30}) 最終濃度劑量的埃羅替尼分析該三種特定抗癌劑的連續組合。後續的處理順序如下：以 IC_{30} 或 IC_{50} 的吉西他濱處理Panc-1細胞達0至24小時。在24小時結束時，將細胞以不參雜的最小必需培養基 (MEM) 沖洗兩次。加入具有10%血清 ($200 \mu\text{L}/\text{孔}$) 的新鮮最小必需培養基，接著從24小時至96小時以化合物A以及埃羅替尼或化合物A以及拉帕替尼處理。在96小時時，使用CCK-8方法測量細胞毒性。使用Combosyn軟體決定組合指數。組合指數 (C.I) 用以評估2或更多個化合物之間的協同作用。CI < 1代表該組合有協同作用，CI = 1代表該組合是加成的，以及CI > 1代表該組合是拮抗的。發現在 IC_{30} 濃度的吉西他濱與化合物A以及拉帕替尼分別在每個化合物的 IC_{30} 濃度下的組合是有協同作用的。在 IC_{30} 的吉西他濱顯示12%的細胞毒性，以及在 IC_{30} 的化合物A與拉帕替尼 IC_{30} 的組合顯示26%的細胞毒性。然而，注意到當以吉西他濱 IC_{30} 處理24hrs，接著以 IC_{30} 的化合物A與在 IC_{30} 的拉帕替尼的組合處理72小時的組合使用時，顯示了73%程度的細胞毒性增加，其比加成效果多了35%的細胞毒性，暗示著在Panc-1細胞中該三種抗癌劑之間的協同作用。結果呈現於表5a中，並繪圖於第4a

圖中。

發現吉西他濱與化合物A以及埃羅替尼的組合分別在每種抗癌劑的 IC_{30} 濃度下有協同作用。在 IC_{30} 的吉西他濱顯示了12%細胞毒性，以及化合物A的 IC_{30} 與埃羅替尼 IC_{30} 的組合顯示了28%的細胞毒性。然而，當以 IC_{30} 濃度的吉西他濱處理24hrs，接著以 IC_{30} 濃度的化合物A與 IC_{30} 濃度的埃羅替尼的組合處理72小時的組合使用時，顯示了72%程度的細胞毒性增加，其比加成效果多了32%的細胞毒性，暗示著在Panc-1細胞中該三種抗癌劑之間的協同作用。結果呈現於表5a中，並繪圖於第4a圖中。

在下表中，符號「+」代表同時使用抗癌劑（測試化合物）。

表5a-在Panc-1細胞中 IC_{30} 濃度的吉西他濱與化合物A以及埃羅替尼或與化合物A以及拉帕替尼的組合研究

[0024]

序號	抗癌劑	%細胞毒性	組合指數 (C.I) 值
1	吉西他濱 IC_{30}	12	-
2	化合物 A IC_{30}	13	-
3	拉帕替尼 IC_{30}	14	-
4	化合物 A IC_{30} +拉帕替尼 IC_{30}	26	-
5	埃羅替尼 IC_{30}	15	-
6	化合物 A IC_{30} +埃羅替尼 IC_{30}	28	-
7	吉西他濱 IC_{30} + (化合物 A IC_{30} +拉帕替尼 IC_{30})	73	0.44
8	吉西他濱 IC_{30} + (化合物 A IC_{30} +埃羅替尼 IC_{30})	72	0.17

發現 IC_{50} 濃度的吉西他濱與 IC_{30} 濃度的化合物A以及 IC_{30} 濃度的拉帕替尼的組合在Panc-1細胞中有協同作用。

IC_{50} 濃度的吉西他濱顯示了21%的細胞毒性，以及 IC_{30}

濃度的化合物A與 IC_{30} 濃度的拉帕替尼的組合顯示了26%的細胞毒性。然而，當以 IC_{50} 濃度的吉西他濱處理24hrs，接著以 IC_{30} 濃度的化合物A與 IC_{30} 濃度的拉帕替尼的組合處理72小時的組合使用時，顯示了89%程度的細胞毒性增加，其比加成效果多了42%的細胞毒性，暗示著在Panc-1細胞中該三種抗癌劑之間的協同作用。結果呈現於表5b中，並繪圖於第4b圖中。

發現 IC_{50} 濃度的吉西他濱與 IC_{30} 濃度的化合物A以及 IC_{30} 濃度的埃羅替尼的組合在Panc-1細胞中更具有協同作用。 IC_{50} 濃度的吉西他濱顯示了21%的細胞毒性，以及 IC_{30} 濃度的化合物A與 IC_{30} 濃度的埃羅替尼的組合顯示了28%的細胞毒性。然而，當以 IC_{50} 濃度的吉西他濱處理24hrs、接著以 IC_{30} 濃度的化合物A與 IC_{30} 濃度的埃羅替尼的組合處理72小時的組合使用時，顯示了至86%程度的細胞毒性增加，其比加成效果多了37%的細胞毒性，暗示著在Panc-1細胞中該三種抗癌劑之間的協同作用。結果呈現於表5b中，並繪圖於第4b圖中。

表5b-在Panc-1細胞中 IC_{50} 濃度的吉西他濱與化合物A以及埃羅替尼或與化合物A以及拉帕替尼的組合研究

序號	抗癌劑	%細胞毒性	組合指數 (C.I) 值
1	吉西他濱 IC ₅₀	21	-
2	化合物 A IC ₃₀	13	-
3	拉帕替尼 IC ₃₀	14	-
4	化合物 A IC ₃₀ +拉帕替尼 IC ₃₀	26	-
5	埃羅替尼 IC ₃₀	15	-
6	化合物 A IC ₃₀ +埃羅替尼 IC ₃₀	28	-
7	吉西他濱 IC ₅₀ + (化合物 A IC ₃₀ +拉帕替尼 IC ₃₀)	89	0.19
8	吉西他濱 IC ₅₀ + (化合物 A IC ₃₀ +埃羅替尼 IC ₃₀)	86	0.11

[0025] 範例 5 :

在 MiaPaca-2 細胞中吉西他濱與化合物 A 以及埃羅替尼或與化合物 A 以及拉帕替尼的組合研究

對於 0.05 μM (IC₃₀) 以及 0.22 μM (IC₅₀) 最終濃度劑量的吉西他濱、0.3 μM (IC₃₀) 最終濃度劑量的化合物 A、3.0 μM (IC₃₀) 最終濃度劑量的拉帕替尼、2.6 μM (IC₃₀) 最終濃度劑量的埃羅替尼分析上述三種特定抗癌劑的連續組合。後續的處理順序如下：以 IC₃₀ 或 IC₅₀ 的吉西他濱處理 MiaPaca2 細胞達 0 至 24 小時。在 24 小時結束時，將細胞以不參雜的最小必需培養基 (MEM) 沖洗兩次。加入具有 10% 血清 (200 μL /孔) 的新鮮最小必需培養基，接著從 24 小時至 96 小時以化合物 A 以及埃羅替尼或化合物 A 以及拉帕替尼處理。在 96 小時時，使用 CCK-8 方法測量細胞毒性。使用 Combosyn 軟體決定組合指數。組合指數 (C. I) 用以評估 2 或更多個化合物之間的協同作用。CI < 1 代表該組合有協同作用，CI = 1 代表該組合是加成的，以及 CI > 1 代表該組合是拮抗的。

發現在 IC_{30} 濃度的吉西他濱與化合物A以及拉帕替尼分別在每個化合物的 IC_{30} 濃度下的組合是有協同作用的。在 IC_{30} 濃度的吉西他濱顯示16%的細胞毒性，以及在 IC_{30} 濃度的化合物A與在 IC_{30} 濃度的拉帕替尼 IC_{30} 濃度的組合顯示26%的細胞毒性。然而，當以 IC_{30} 的吉西他濱處理24hrs，接著以 IC_{30} 的化合物A與在 IC_{30} 的拉帕替尼的組合處理72小時的組合使用時，顯示了64%程度的細胞毒性增加，其比加成效果多了22%的細胞毒性，暗示著在MiaPaca-2細胞中該三種抗癌劑之間的協同作用。結果呈現於表6a中，並繪圖於第5a圖中。

發現在 IC_{30} 濃度的吉西他濱與化合物A以及埃羅替尼的組合分別在每種化合物的 IC_{30} 濃度下有協同作用。在 IC_{30} 濃度的吉西他濱顯示了16%細胞毒性，以及在 IC_{30} 濃度的化合物A與在 IC_{30} 濃度的埃羅替尼的組合顯示了27%的細胞毒性。然而，當以 IC_{30} 濃度的吉西他濱處理24hrs，接著以 IC_{30} 濃度的化合物A與 IC_{30} 濃度的埃羅替尼的組合處理72小時的組合使用時，顯示了69%程度的細胞毒性增加，其比加成效果多了26%的細胞毒性，暗示著在MiaPaca-2細胞中該三種抗癌劑之間的協同作用。結果呈現於表6a中，並繪圖於第5a圖中。在下表中，符號「+」代表同時使用抗癌劑（測試化合物）。

表6a-在MiaPaca-2細胞中 IC_{30} 濃度的吉西他濱與化合物A以及埃羅替尼或與化合物A以及拉帕替尼的組合研究

[0026]

序號	抗癌劑	%細胞毒性	組合指數 (C.I) 值
1	吉西他濱 IC ₃₀	16	-
2	化合物 A IC ₃₀	14	-
3	拉帕替尼 IC ₃₀	17	-
4	化合物 A IC ₃₀ +拉帕替尼 IC ₃₀	26	-
5	埃羅替尼 IC ₃₀	19	-
6	化合物 A IC ₃₀ +埃羅替尼 IC ₃₀	27	-
7	吉西他濱 IC ₃₀ + (化合物 A IC ₃₀ +拉帕替尼 IC ₃₀)	64	0.29
8	吉西他濱 IC ₃₀ + (化合物 A IC ₃₀ +埃羅替尼 IC ₃₀)	69	0.32

發現 IC₅₀ 濃度的吉西他濱與 IC₃₀ 濃度的化合物 A 以及 IC₃₀ 濃度的拉帕替尼的組合在 MiaPaca2 細胞中更有協同作用。 IC₅₀ 濃度的吉西他濱顯示了 21% 的細胞毒性，以及 IC₃₀ 濃度的化合物 A 與 IC₃₀ 濃度的拉帕替尼的組合顯示了 26% 的細胞毒性。然而，當以 IC₅₀ 濃度的吉西他濱處理 24hrs，接著以 IC₃₀ 濃度的化合物 A 與 IC₃₀ 濃度的拉帕替尼的組合處理 72 小時的組合使用時，顯示了 91% 程度的細胞毒性增加，其比加成效果多了 44% 的細胞毒性，暗示著在 MiaPaca-2 細胞中該三種抗癌劑之間的協同作用。結果呈現於表 6b 中，並繪圖於第 5b 圖中。

發現吉西他濱 (IC₅₀) 與化合物 A (IC₃₀) 以及埃羅替尼 (IC₃₀) 的組合在 MiaPaca2 細胞中更具有協同作用。 IC₅₀ 濃度的吉西他濱顯示了 21% 的細胞毒性，以及 IC₃₀ 濃度的化合物 A 與 IC₃₀ 濃度的埃羅替尼的組合顯示了 27% 的細胞毒性。然而，當以 IC₅₀ 濃度的吉西他濱處理 24hrs，接著以 IC₃₀ 濃度的化合物 A 與 IC₃₀ 濃度的埃羅替尼的組合處理 72 小時的組合使用時，顯示了 88% 程度的細胞毒性增加，其比加成效果多了 40% 的細胞毒性，暗示著在

MiaPaca-2細胞中該三種抗癌劑之間的協同作用。結果呈現於表6b中，並繪圖於第5b圖中。在下表中，符號「+」代表同時使用抗癌劑（測試化合物）。

表6b-在MiaPaca-2細胞中 IC_{50} 濃度的吉西他濱與化合物A以及埃羅替尼或與化合物A以及拉帕替尼的組合研究

序號	抗癌劑	%細胞毒性	組合指數 (C.I) 值
1	吉西他濱 IC_{50}	21	-
2	化合物 A IC_{30}	14	-
3	拉帕替尼 IC_{30}	17	-
4	化合物 A IC_{30} +拉帕替尼 IC_{30}	26	-
5	埃羅替尼 IC_{30}	19	-
6	化合物 A IC_{30} +埃羅替尼 IC_{30}	27	-
7	Gem IC_{50} + (化合物 A IC_{30} +拉帕替尼 IC_{30})	91	0.14
8	Gem IC_{50} + (化合物 A IC_{30} +埃羅替尼 IC_{30})	88	0.15

[0027] 範例6：

在HPAC細胞中吉西他濱與化合物A以及埃羅替尼的組合研究

發現在吉西他濱與化合物A以及埃羅替尼的組合分別在每種抗癌劑的 IC_{30} 濃度下有協同作用。在 IC_{30} 濃度的吉西他濱顯示了17%細胞毒性，以及在 IC_{30} 濃度的化合物A與在 IC_{30} 濃度的埃羅替尼的組合顯示了33%的細胞毒性。然而，當以 IC_{30} 濃度的吉西他濱處理24hrs，接著以 IC_{30} 濃度的化合物A與 IC_{30} 濃度的埃羅替尼的組合處理72小時的組合使用時，顯示了88%程度的細胞毒性增加，其比加成效果多了38%的細胞毒性，暗示著在HPAC細胞中該三種抗癌劑之間具有0.21的組合指數 (C.I) 的協同作用。結果呈現於表7中，並繪圖於第6圖中。

表7-在HPAC細胞中在 IC_{30} 或 IC_{50} 濃度的吉西他濱與化合

物A（在 IC_{30} 或 IC_{50} 濃度）以及埃羅替尼（在 IC_{30} 或 IC_{50} 濃度）的組合研究

序號	抗癌劑		在 96 hr 的細胞毒性%	組合指數 (C.I) 值
	第 1 天	第 2 天		
1	吉西他濱 IC_{30}	-	17.29	-
2	吉西他濱 IC_{50}	-	21.82	-
3	化合物 A IC_{30}	-	16.95	-
4	化合物 A IC_{50}	-	23.48	-
5	埃羅替尼 IC_{30}	-	14.21	-
6	埃羅替尼 IC_{50}	-	24.84	-
7	吉西他濱 IC_{30}	化合物 A IC_{30}	51.83	0.92
8	吉西他濱 IC_{30}	化合物 A IC_{50}	62.37	0.57
9	吉西他濱 IC_{50}	化合物 A IC_{30}	63.47	0.66
10	吉西他濱 IC_{50}	化合物 A IC_{50}	71.47	0.42
11	埃羅替尼 IC_{30}	化合物 A IC_{30}	47.44	0.96
12	埃羅替尼 IC_{30}	化合物 A IC_{50}	54.99	0.65
13	埃羅替尼 IC_{50}	化合物 A IC_{30}	64.10	0.88
14	埃羅替尼 IC_{50}	化合物 A IC_{50}	73.37	0.59
15	無吉西他濱	化合物 A IC_{30} +埃羅替尼 IC_{30}	33.29	-
16	無吉西他濱	化合物 A IC_{30} +埃羅替尼 IC_{50}	39.94	-
17	吉西他濱 IC_{30}	化合物 A IC_{30} +埃羅替尼 IC_{30}	88.42	0.21
18	吉西他濱 IC_{30}	化合物 A IC_{30} +埃羅替尼 IC_{50}	89.53	0.27
19	吉西他濱 IC_{50}	化合物 A IC_{30} +埃羅替尼 IC_{30}	87.34	0.57
20	吉西他濱 IC_{50}	化合物 A IC_{30} +埃羅替尼 IC_{50}	96.51	0.63

[0028] 範例 7

在Capan1細胞中吉西他濱與化合物A以及埃羅替尼的組合研究

發現在吉西他濱與化合物A以及埃羅替尼的組合分別在每種抗癌劑的 IC_{30} 濃度下有協同作用。在 IC_{30} 濃度的吉西他濱顯示了11%細胞毒性，以及在 IC_{30} 濃度的化合物A與在 IC_{30} 濃度的埃羅替尼的組合顯示了28%的細胞毒性。然而，注意到當以 IC_{30} 濃度的吉西他濱處理24hrs，接著以 IC_{30} 濃度的化合物A與 IC_{30} 濃度的埃羅替尼的組合處理

72小時的組合使用時，顯示了78%程度的細胞毒性增加，其比加成效果多了40%的細胞毒性，暗示著在Capan1細胞中該三種抗癌劑之間具有0.34的組合指數（C.I）的協同作用。結果呈現於表8中，並繪圖於第7圖中。

表8-在Capan1細胞中在IC₃₀或IC₅₀濃度的吉西他濱與化合物A（在IC₃₀或IC₅₀濃度）以及埃羅替尼（在IC₃₀或IC₅₀濃度）的組合研究

序號	抗癌劑		在 96 hr 的細胞毒性%	組合指數 (C.I) 值
	第1天	第2天		
1	吉西他濱 IC ₃₀	-	11.78	-
2	吉西他濱 IC ₅₀	-	19.67	-
3	化合物 A IC ₃₀	-	17.94	-
4	化合物 A IC ₅₀	-	28.50	-
5	埃羅替尼 IC ₃₀	-	17.00	-
6	埃羅替尼 IC ₅₀	-	27.42	-
7	吉西他濱 IC ₃₀	化合物 A IC ₃₀	48.00	0.81
8	吉西他濱 IC ₃₀	化合物 A IC ₅₀	63.81	0.9
9	吉西他濱 IC ₅₀	化合物 A IC ₃₀	66.01	0.47
10	吉西他濱 IC ₅₀	化合物 A IC ₅₀	74.07	0.71
11	埃羅替尼 IC ₃₀	化合物 A IC ₃₀	41.20	0.95
12	埃羅替尼 IC ₃₀	化合物 A IC ₅₀	47.79	1.75
13	埃羅替尼 IC ₅₀	化合物 A IC ₃₀	53.68	0.96
14	埃羅替尼 IC ₅₀	化合物 A IC ₅₀	67.31	1.02
15	無吉西他濱	化合物 A IC ₃₀ +埃羅替尼 IC ₃₀	28.14	-
16	無吉西他濱	化合物 A IC ₃₀ +埃羅替尼 IC ₅₀	36.12	-
17	吉西他濱 IC ₃₀	化合物 A IC ₃₀ +埃羅替尼 IC ₃₀	78.01	0.34
18	吉西他濱 IC ₃₀	化合物 A IC ₃₀ +埃羅替尼 IC ₅₀	84.81	0.39
19	吉西他濱 IC ₅₀	化合物 A IC ₃₀ +埃羅替尼 IC ₃₀	81.66	0.45
20	吉西他濱 IC ₅₀	化合物 A IC ₃₀ +埃羅替尼 IC ₅₀	91.06	0.46

[0029] 範例8

蛋白質表現的決定

A) 高含量篩選（藉由Cellomics VTI陣列掃描的試管內蛋白質估計）

將細胞以 7.5×10^3 個細胞/孔的密度播種於96孔盤中。播種後24 h，以具有10%血清的新鮮最小必需培養基 (MEM) 取代最小必需培養基。以某個特定濃度處理抗癌劑，並將細胞分別培養4小時以及12小時。在每個時間點結束時，為了決定蛋白質表現，將該細胞以在PBS中的3.7% 甲醛 (Sigma St. Louis, MO) 在室溫下固定10分鐘，接著以0.15% TritonX-100 (Sigma St. Louis, MO) 透化(permeabilization)10分鐘。在透化之後，以5%牛血清白蛋白阻斷細胞達2小時。在阻斷步驟之後，加入特異性的一級抗體達1h。在一級抗體溫育之後，以Hoechst 3342 (藍色) 將核染色，並藉由標記有 Dylight548 (紅色) 的二級抗體而將不同蛋白質 (pEGFRY1171 pEGFRY875 pAKT、pRB以及週期蛋白D) 的一級抗體定位。藉由在Cellomics陣列掃描®VTI HCS 讀取儀 (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, MA) 上掃描該培養盤而決定pEGFRY1171 pEGFRY875 pAKT、pRB以及週期蛋白D的免疫螢光。使用Cellomics的目標啟動以及分子易位生物演算法來分析所有的資料點，且定量資料被表示為相較於DMSO控制組細胞的百分比 (%) 活化。對於每個二重複的孔計數1000個細胞或二十個視野，並將結果呈現為平均 \pm SE。

B) 使用陣列掃描在Panc-1細胞中的不同蛋白質表現的分析

對於 $0.02 \mu\text{M}$ (IC_{30}) 或 $0.06 \mu\text{M}$ (IC_{50}) 最終濃度劑量的吉西他濱、 $0.1 \mu\text{M}$ (IC_{30}) 最終濃度劑量的化合物A、 $2.8 \mu\text{M}$ (IC_{30}) 最終濃度劑量的拉帕替尼、 $1.6 \mu\text{M}$ (

IC₃₀) 最終濃度劑量的埃羅替尼分析上述三種特定抗癌劑的連續組合。因為在抗癌劑的三重組合中，使用了埃羅替尼或拉帕替尼，故已稱為三種抗癌劑。處理順序如下；以IC₃₀或IC₅₀的吉西他濱處理Panc-1細胞達0至24小時。在24小時結束時，將細胞以不參雜的最小必需培養基沖洗兩次。加入具有10%血清(200 μL/孔)的新鮮最小必需培養基，接著以化合物A以及埃羅替尼或化合物A以及拉帕替尼分別處理4小時以及12小時。在4小時以及12小時之後，使用如上所述的相同方法而將每個培養盤固定並對特定的蛋白質進行染色。

C) 對於pEGFR-Y1173在Panc-1細胞中的蛋白質表現分析

發現在Panc-1細胞中，吉西他濱與化合物A以及拉帕替尼或化合物A與埃羅替尼的組合在每個化合物(抗癌劑)的IC₃₀濃度下具有協同作用。在IC₃₀或IC₅₀濃度下的吉西他濱以及在IC₃₀濃度的化合物A沒有顯示pEGFR-Y1173的抑制。在IC₃₀濃度下的單一抗癌劑，埃羅替尼以及拉帕替尼，只分別顯示了40%以及47%的抑制；而吉西他濱IC₃₀與(化合物A以及埃羅替尼)或(化合物A以及拉帕替尼)任一者的組合在Panc-1細胞中在8小時時分別顯示了59.2 & 72.5%pEGFR-Y1173量的抑制。結果繪圖於第8a圖中。

D) 對於pEGFR-Y845在Panc-1細胞中的蛋白質表現分析
發現在Panc-1細胞中，吉西他濱與化合物A以及拉帕替尼或化合物A與埃羅替尼的組合在每個抗癌劑的IC₃₀濃度下

具有協同作用。在 IC_{30} 或 IC_{50} 濃度下的吉西他濱以及在 IC_{30} 濃度的化合物A沒有顯示pEGFR-Y845的抑制。在 IC_{30} 濃度下的單一藥物埃羅替尼以及拉帕替尼只顯示了33%以及31%的抑制，而吉西他濱 IC_{30} 與（化合物A以及埃羅替尼）或（化合物A以及拉帕替尼）任一者的組合在Panc-1細胞中在8小時時分別顯示了65.2 & 78.2% pEGFR-Y1845量的抑制。結果繪圖於第8b圖中。

E) 對於pAKT-S473在Panc-1細胞中的蛋白質表現分析發現在Panc-1細胞中，吉西他濱與化合物A以及拉帕替尼或化合物A與埃羅替尼的組合在每個抗癌劑的 IC_{30} 濃度下具有協同作用。在 IC_{30} 濃度下的化合物A、埃羅替尼以及拉帕替尼在12小時時沒有顯示顯著的抑制，而在 IC_{30} 以及 IC_{50} 濃度下的吉西他濱顯示了19.5%以及25.7% pAKT-S473的抑制。化合物A與埃羅替尼以及化合物A與拉帕替尼在 IC_{30} 濃度的組合只顯示了32.9%以及29.1%的抑制，而吉西他濱 IC_{50} 與（化合物A或埃羅替尼）或〔化合物A以及拉帕替尼〕任一者的組合在Panc-1細胞中在12小時時分別顯示了62.5 & 72.2% pAKT-S473量的抑制。結果繪圖於第8b圖中。

F) 對於pRB-S780在Panc-1細胞中的蛋白質表現分析發現在Panc-1細胞中，吉西他濱與化合物A以及拉帕替尼或化合物A與埃羅替尼的組合在每個抗癌劑的 IC_{30} 濃度下具有協同作用。在 IC_{30} 以及 IC_{50} 濃度下的吉西他濱、埃羅替尼以及拉帕替尼在12小時時沒有顯示顯著的抑制，而在 IC_{30} 濃度下的化合物A顯示了25% pRB-S780的抑制

。化合物A與埃羅替尼以及化合物A與拉帕替尼在 IC_{30} 濃度的組合只顯示了17%以及23.5%的抑制，而吉西他濱 IC_{50} 與（化合物A或埃羅替尼）或（化合物A以及拉帕替尼）任一者的組合在Panc-1細胞中在12小時時分別顯示了pRB-S480量的53.4 & 72.1 %抑制。結果繪圖於第8d圖中。

G) 對於週期蛋白D在Panc-1細胞中的蛋白質表現分析發現在Panc-1細胞中，吉西他濱與化合物A以及拉帕替尼或埃羅替尼的組合在每個抗癌劑的 IC_{30} 濃度下具有協同作用。當相比於控制組時，在 IC_{30} 或 IC_{50} 濃度下的吉西他濱以及在 IC_{30} 濃度下的化合物A分別顯示了27.7%、20.3以及27.8%的臨界抑制。抗癌劑，埃羅替尼以及拉帕替尼單獨或與化合物A組合在12小時時沒有顯示任何顯著的抑制，而吉西他濱 IC_{50} 與（化合物A或埃羅替尼）或（化合物A以及拉帕替尼）任一者的組合在Panc-1細胞中在12小時時分別顯示了69.8 & 63.6%週期蛋白D量的抑制。結果繪圖於第8e圖中。

範例9

切割過的硫胱氨酸蛋白酶-3表現量的分析

執行此研究以評估由吉西他濱、（埃羅替尼或拉帕替尼）與化合物A組成的三重組合阻斷增殖的機制以及其是否可誘導胰臟癌細胞中的細胞凋亡。

將細胞以 7.5×10^3 個細胞/孔的密度播種於96孔盤中。播種之後24 h，以具有10%血清的新鮮最小必需培養基取代最小必需培養基。如下述提及的特定濃度在Panc-1以及Miapaca-2細胞中處理抗癌劑（吉西他濱、埃羅替

尼或拉帕替尼以及化合物A)，並培養48小時。在48小時結束時，為了決定蛋白質表現，將在96孔盤中的細胞以800g離心5分鐘。移除培養上清液，並加入200 μ L的硫脲氨酸蛋白酶-3分析緩衝液，並將培養盤再次以800g離心5分鐘。移除上清液，並以100 μ L硫脲氨酸蛋白酶-3裂解緩衝液裂解細胞，並在室溫下在迴轉式振盪器中以300 rpm振盪30 min。進一步將培養盤於800g離心10分鐘，並將90 μ L的上清液轉置入新的黑色孔盤中。在90 μ L的裂解溶液中加入100 μ L的硫脲氨酸蛋白酶-3受質，並於37°C溫育30分鐘。在溫育結束時，將培養盤於Tecan Safire多重模式讀取儀中以485 nm的激發光波長以及535 nm的發散光波長讀取。

A) 在Panc-1細胞中用於評估硫脲氨酸蛋白酶-3活性的處理模式

對於0.02 μ M (IC_{30}) 以及0.06 μ M (IC_{50}) 最終濃度劑量的吉西他濱、0.1 μ M (IC_{30}) 最終濃度劑量的化合物A、2.8 μ M (IC_{30}) 最終濃度劑量的拉帕替尼、1.6 μ M (IC_{30}) 最終濃度劑量的埃羅替尼分析上述三種抗癌劑的連續組合。處理順序如下；以 IC_{30} 或 IC_{50} 以吉西他濱處理Panc-1細胞0至24小時。在24小時結束時，將細胞以不參雜的MEM培養基沖洗兩次。加入具有10%血清(200 μ L/孔)的新鮮MEM，接著以化合物A以及埃羅替尼或化合物A以及拉帕替尼處理48小時。48小時之後，如上所描述的以硫脲氨酸蛋白酶-3活性分析法處理該培養盤。

B) 在MiaPaca-2細胞中用於評估硫脲氨酸蛋白酶-3活性的處理模式

對於 $0.05 \mu\text{M}$ (IC_{30}) 以及 $0.22 \mu\text{M}$ (IC_{50}) 最終濃度劑量的吉西他濱、 $0.3 \mu\text{M}$ (IC_{30}) 最終濃度劑量的化合物A、 $3.0 \mu\text{M}$ (IC_{30}) 最終濃度劑量的拉帕替尼、 $2.6 \mu\text{M}$ (IC_{30}) 最終濃度劑量的埃羅替尼分析上述三種抗癌劑的連續組合。處理順序如下；以 IC_{30} 或 IC_{50} 以吉西他濱處理MiaPaca2細胞0至24小時。在24小時結束時，將細胞以不參雜的MEM培養基沖洗兩次。加入具有10%血清（ $200 \mu\text{L}/\text{孔}$ ）的新鮮MEM，接著以化合物A以及埃羅替尼或化合物A以及拉帕替尼處理48小時。48小時之後，如上所描述的以硫胱氨酸蛋白酶-3活性分析法處理該培養盤。

C) 在Panc-1以及MiaPaca-2細胞中對於硫胱氨酸蛋白酶-3活性的蛋白質表現分析

經由顯著的細胞凋亡誘導，吉西他濱與化合物A並與拉帕替尼的組合，或化合物A與埃羅替尼的組合在胰臟癌細胞中增強了吉西他濱的細胞凋亡化學抗性。

在 IC_{30} 或 IC_{50} 濃度以吉西他濱、埃羅替尼、拉帕替尼以及化合物A的單次處理未顯示顯著的硫胱氨酸蛋白酶-3活性誘導。當相較於Panc-1以及MiaPaca-2細胞中的控制組時，化合物A與埃羅替尼以及與拉帕替尼在 IC_{30} 濃度的組合只顯示了30%至35%的硫胱氨酸蛋白酶3活化。而吉西他濱以及化合物A與埃羅替尼或拉帕替尼在48小時時，在兩種細胞中都顯示了高達75%至80%硫胱氨酸蛋白酶3量的顯著誘導。結果繪圖於第9圖中。

【圖式簡單說明】

[0030] 第1a圖提供了在72小時結束時在Panc-1細胞中化合物A

與埃羅替尼的單一以及組合劑量的百分比抑制結果的圖表。

第1b圖提供了在96小時結束時在Panc-1細胞中化合物A與埃羅替尼的單一以及組合劑量的百分比抑制結果的圖表。

第2a圖提供了在72小時結束時在AsPc-1細胞中化合物A與埃羅替尼的單一以及組合劑量的百分比抑制結果的圖表。

第2b圖提供了在96小時結束時在AsPc-1細胞中化合物A與埃羅替尼的單一以及組合劑量的百分比抑制結果的圖表。

第3a圖提供了在Panc-1細胞中決定化合物A、埃羅替尼、拉帕替尼以及吉西他濱的 IC_{50} 的圖表。

第3b圖提供了在MiaPaca-2細胞中決定化合物A、埃羅替尼、拉帕替尼以及吉西他濱的 IC_{50} 的圖表。

第4a圖提供了Panc-1細胞中吉西他濱 (IC_{30})、化合物A (IC_{30}) 以及埃羅替尼 (IC_{30}) / 拉帕替尼 (IC_{30}) 的單一以及組合劑量的百分比細胞毒性結果的圖表。

第4b圖提供了Panc-1細胞中吉西他濱 (IC_{50})、化合物A (IC_{30}) 以及埃羅替尼 (IC_{30}) / 拉帕替尼 (IC_{30}) 的單一以及組合劑量的百分比細胞毒性結果的圖表。

第5a圖提供了MiaPaca-2細胞中吉西他濱 (IC_{30})、化合物A (IC_{30}) 以及埃羅替尼 (IC_{30}) / 拉帕替尼 (IC_{30}) 的單一以及組合劑量的百分比細胞毒性結果的圖表。

第5b圖提供了MiaPaca-2細胞中吉西他濱 (IC_{50})、化合物A (IC_{30}) 以及埃羅替尼 (IC_{30}) / 拉帕替尼 (IC_{30})

) 的單一以及組合劑量的百分比細胞毒性結果的圖表。

第6圖提供了HPAC細胞中吉西他濱 (IC_{30} 或 IC_{50})、化合物A (IC_{30} 或 IC_{50}) 以及埃羅替尼 (IC_{30} 或 IC_{50}) 的單一以及組合劑量的百分比細胞毒性結果的圖表。

第7圖提供了CAPAN細胞中吉西他濱 (IC_{30} 或 IC_{50})、化合物A (IC_{30} 或 IC_{50}) 以及埃羅替尼 (IC_{30} 或 IC_{50}) 的單一以及組合劑量的百分比細胞毒性結果的圖表。

第8a圖提供了Panc-1細胞中以吉西他濱 (IC_{30}) 與化合物A+埃羅替尼或與化合物A+拉帕替尼的組合在8小時時抑制pEGFR - Y1173的圖表。

第8b圖提供了Panc-1細胞中以吉西他濱 (IC_{30} 或 IC_{50}) 與化合物A+埃羅替尼或與化合物A+拉帕替尼的組合在8小時時抑制pEGFR - Y845的圖表。

第8c圖提供了Panc-1細胞中以吉西他濱 (IC_{30} 或 IC_{50}) 與化合物A+埃羅替尼或與化合物A+拉帕替尼的組合在12小時時抑制pAKT - S473的圖表。

第8d圖提供了Panc-1細胞中以吉西他濱 (IC_{30} 或 IC_{50}) 與化合物A+埃羅替尼或與化合物A+拉帕替尼的組合在12小時時抑制pRB - S780的圖表。

第8e圖提供了Panc-1細胞中以吉西他濱 (IC_{30} 或 IC_{50}) 與化合物A+埃羅替尼或與化合物A+拉帕替尼的組合在12小時時抑制週期蛋白D的圖表。

第9圖提供了Panc-1細胞以及MiaPaca-2細胞中以吉西他濱 (IC_{30} 或 IC_{50}) 與化合物A+埃羅替尼或與化合物A+拉帕替尼的組合在48小時時活化硫脒氨酸蛋白酶3的圖表。

。

201242597

【主要元件符號說明】

[0031] 無



發明專利說明書

※記號部分請勿填寫

※申請案號：101108478

※申請日：101.3.13

A61K 31/4025 (2006.01)

C07D 405/10 (2006.01)

※IPC 分類：A61K 31/517 (2006.01)

A61K 31/7068 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

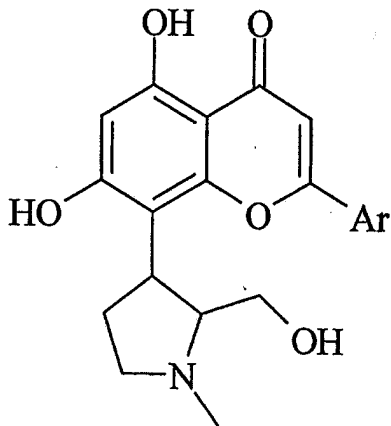
一、發明名稱：

治療胰臟癌有協同作用的醫藥組合

A Synergistic Pharmaceutical Combination For The Treatment Of
Pancreatic Cancer

二、中文發明摘要：

按照本發明，有提供了一種有用於治療胰臟癌的醫藥組合，其包含選自分子式I化合物的CDK抑制劑；



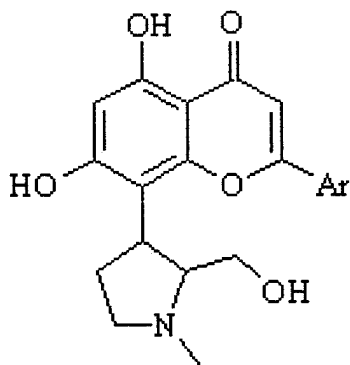
分子式 I

以及能夠抑制表皮細胞生長因子受體 (EGFR) 激酶活性的化合物。本發明也提供了一種組合，其中有用於治療胰臟癌的所述醫藥組合更包含吉西他濱。本發明也提供了一種用於在個體中治療胰臟癌的方法，包含將所述醫藥組合投藥至所述個體。

三、英文發明摘要：

In accordance with the present invention there is provided a

pharmaceutical combination useful for the treatment of pancreatic cancer comprising a CDK inhibitor selected from the compounds of formula I;

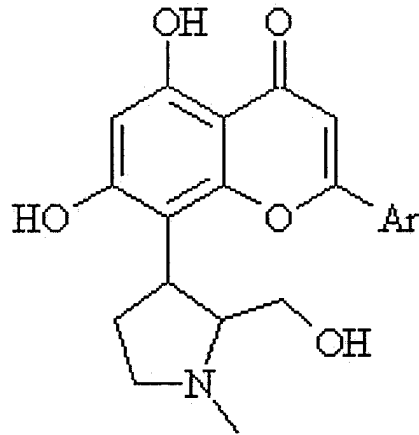


Formula I

and a compound capable of inhibiting epidermal growth factor receptor (EGFR) kinase activity. The present invention also provides a combination wherein said pharmaceutical combination useful for the treatment of pancreatic cancer further comprises gemcitabine. The present invention also provides a method for the treatment of pancreatic cancer in a subject comprising administering said pharmaceutical combination(s) to said subject.

七、申請專利範圍：

1. 一種醫藥組合，包含選自分子式I化合物的一CDK抑制劑；



分子式I

其中Ar是一苯基，其為未取代的或被1、2或3個相同或不同的取代基取代，該取代基選自：鹵素；硝基、氰基、 C_1-C_4 -烷基、三氟甲基、羥基或 C_1-C_4 -烷氧基；或其藥學可接受的鹽類或溶劑化物；以及能夠抑制表皮細胞生長因子受體（EGFR）激酶活性的一化合物。

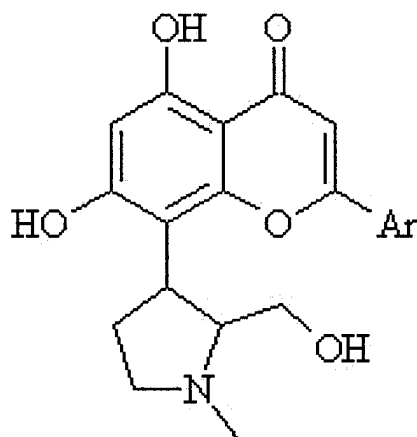
2. 如申請專利範圍第1項所述的醫藥組合，其中在該分子式I化合物中，該苯基由1、2或3個相同或不同的取代基取代，該取代基選自：氯、溴、氟或碘、 C_1-C_4 -烷基或三氟甲基；或其藥學可接受的鹽類或溶劑化物。
3. 如申請專利範圍第2項所述的醫藥組合；其中在該分子式I化合物中，該苯基被氯取代。
4. 如申請專利範圍第3項所述的醫藥組合；其中該分子式I化合物是(+)-反式-2-(2-氯-苯基)-5,7-二羥基-8-(2-羥基-甲基-1-甲基-吡咯啉-3-基)-苯並哌喃-4-酮鹽酸鹽（化合物A）。
5. 如申請專利範圍第2項所述的醫藥組合；其中在該分子式I

化合物中，該苯基是被2個不同的取代基取代的一取代基，該2個不同的取代基選自氯以及三氟甲基。

- 6 . 如申請專利範圍第5項所述的醫藥組合；其中該分子式I化合物是(+)-反式-3-[2[(2-氯-4-三氟甲基-苯基)-5,7-二羥基-8-(2-羥基甲基-1-甲基-吡咯啉-3-基)-苯並哌喃-4-酮鹽酸鹽(化合物B)]。
- 7 . 如申請專利範圍第1項所述的醫藥組合，其中能夠抑制表皮細胞生長因子受體(EGFR)激酶活性的該化合物選自埃羅替尼或拉帕替尼。
- 8 . 如申請專利範圍第7項所述的醫藥組合，其中能夠抑制表皮細胞生長因子受體(EGFR)激酶活性的該化合物是埃羅替尼。
- 9 . 如申請專利範圍第7項所述的醫藥組合，其中能夠抑制表皮細胞生長因子受體(EGFR)激酶活性的該化合物是拉帕替尼。
- 10 . 如申請專利範圍第1項所述的醫藥組合；其中所述組合更包含吉西他濱。
- 11 . 根據申請專利範圍第2項所述的醫藥組合；其中所述組合更包含吉西他濱。
- 12 . 根據申請專利範圍第4項所述的醫藥組合；其中所述組合更包含吉西他濱。
- 13 . 如申請專利範圍第6項所述的醫藥組合；其中所述組合更包含吉西他濱。
- 14 . 如申請專利範圍第7項所述的醫藥組合；其中所述組合更包含吉西他濱。
- 15 . 如申請專利範圍第1項所述的醫藥組合；其中所述組合適

用於治療胰臟癌。

- 16 . 如申請專利範圍第10項所述的醫藥組合；其中所述組合適用於治療胰臟癌。
- 17 . 一種用於在一個體中治療胰臟癌的方法，包含將一醫療有效量的一CDK抑制劑與一醫療有效量的能夠抑制EGFR激酶活性的一化合物結合投藥至所述個體，該CDK抑制劑選自分子式I化合物；



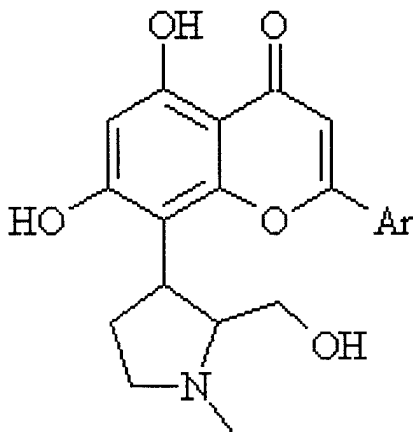
分子式I

其中Ar是一苯基，其為未取代的或被1、2或3個相同或不同的取代基取代，該取代基選自：鹵素；硝基、氰基、 C_1-C_4 -烷基、三氟甲基、羥基或 C_1-C_4 -烷氧基；或其藥學可接受的鹽類或溶劑化物。

- 18 . 如申請專利範圍第17項所述的方法；其中在該分子式I化合物中，該苯基被氯取代。
- 19 . 如申請專利範圍第18項所述的方法；其中該分子式I化合物是(+)-反式-2-(2-氯-苯基)-5,7-二羥基-8-(2-羥基-1-甲基-吡咯啉-3-基)-苯並咪唑-4-酮鹽酸鹽(化合物A)。
- 20 . 如申請專利範圍第17項所述的方法；其中在該分子式I化

合物中，該苯基是被2個不同取代基取代的一取代基，該2個不同取代基選自氯以及三氟甲基。

- 21 . 如申請專利範圍第20項所述的方法；其中該分子式I化合物是(+)-反式-3-[2[(2-氯-4-三氟甲基-苯基)-5,7-二羥基-8-(2-羥基甲基-1-甲基-吡咯啉-3-基)-苯並呋喃-4-酮鹽酸鹽(化合物B)]。
- 22 . 如申請專利範圍第17項所述的方法，其中能夠抑制表皮細胞生長因子受體(EGFR)激酶活性的該化合物選自埃羅替尼或拉帕替尼。
- 23 . 如申請專利範圍第22項所述的方法其中能夠抑制表皮細胞生長因子受體(EGFR)激酶活性的該化合物是埃羅替尼。
- 24 . 如申請專利範圍第22項所述的方法其中能夠抑制表皮細胞生長因子受體(EGFR)激酶活性的該化合物是拉帕替尼。
- 25 . 一種用於在一個體中治療胰臟癌的方法，包含將一醫療有效量的一CDK抑制劑與一醫療有效量的能夠抑制EGFR激酶活性的一化合物結合投藥至所述個體，該CDK抑制劑選自分子式I化合物；

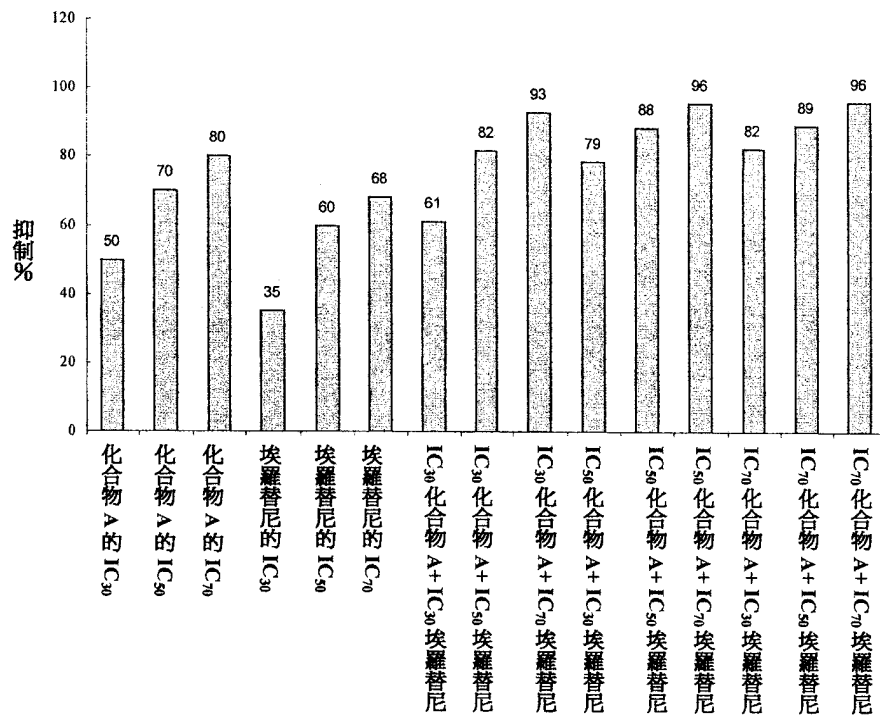


分子式I

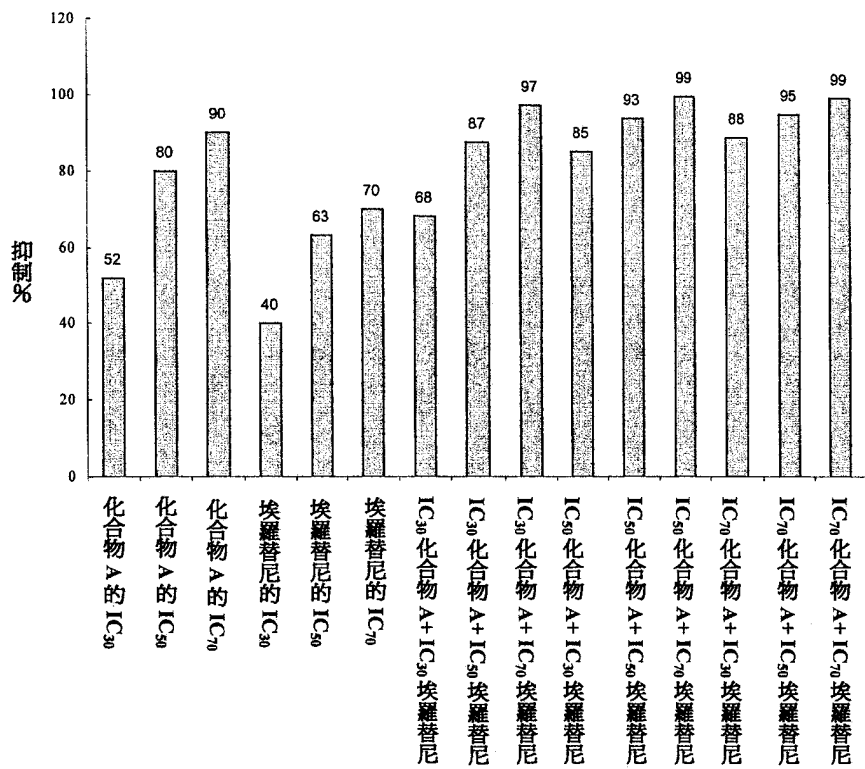
其中Ar是一苯基，其為未取代的或被1、2或3個相同或不同的取代基取代，該取代基選自：鹵素；硝基、氰基、 C_1-C_4 -烷基、三氟甲基、羥基或 C_1-C_4 -烷氧基；或其藥學可接受的鹽類或溶劑化物。

- 26 . 如申請專利範圍第25項所述的方法；其中在該分子式I化合物中，該苯基被氯取代。
- 27 . 如申請專利範圍第26項所述的方法；其中該分子式I化合物是(+)-反式-2-(2-氯-苯基)-5,7-二羥基-8-(2-羥基-甲基-1-甲基-吡咯啉-3-基)-苯並哌喃-4-酮鹽酸鹽（化合物A）。
- 28 . 如申請專利範圍第25項所述的方法；其中在該分子式I化合物中，該苯基是被2個不同取代基取代的一取代基，該2個不同取代基選自氯以及三氟甲基。
- 29 . 如申請專利範圍第28項所述的方法；其中該分子式I化合物是(+)-反式-3-[2[(2-氯-4-三氟甲基-苯基)-5,7-二羥基-8-(2-羥基甲基-1-甲基-吡咯啉-3-基)-苯並哌喃-4-酮鹽酸鹽（化合物B）。
- 30 . 如申請專利範圍第25項所述的方法，其中能夠抑制表皮細胞生長因子受體（EGFR）激酶活性的該化合物選自埃羅替尼或拉帕替尼。
- 31 . 如申請專利範圍第30項所述的方法，其中能夠抑制表皮細胞生長因子受體（EGFR）激酶活性的該化合物是埃羅替尼。
- 32 . 如申請專利範圍第30項所述的方法，其中能夠抑制表皮細胞生長因子受體（EGFR）激酶活性的該化合物是拉帕替尼。

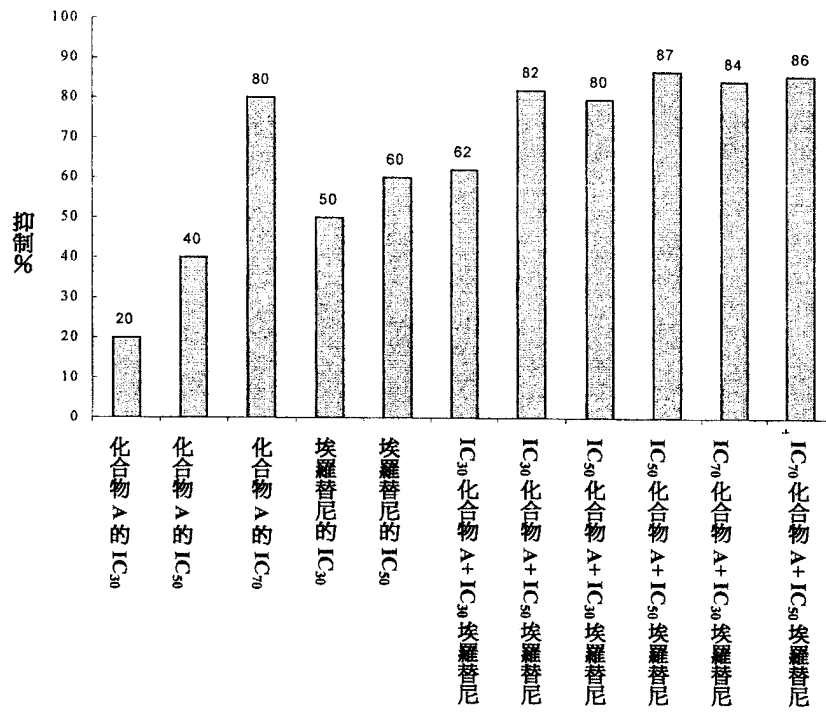
八、圖式：



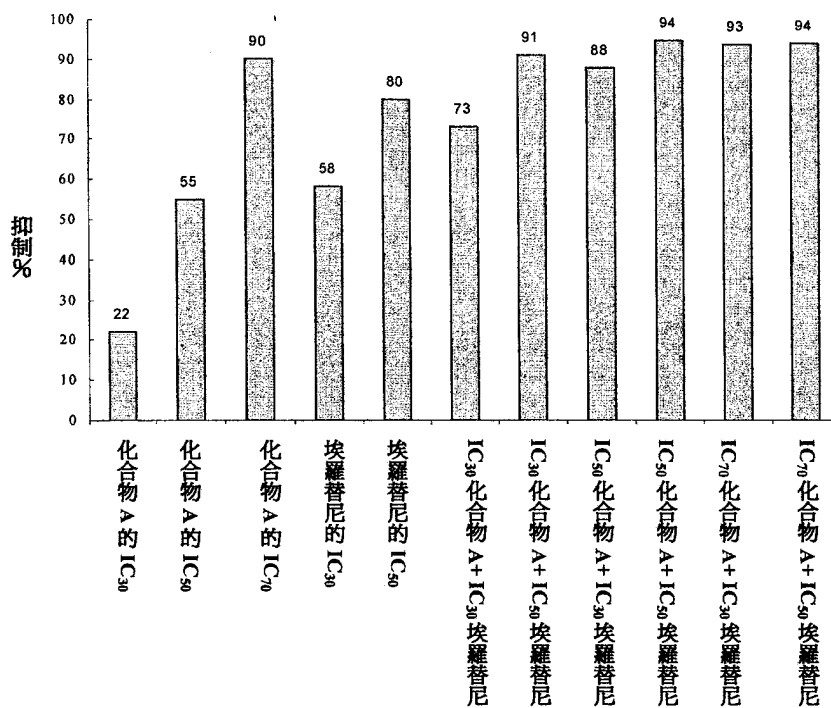
第 1a 圖



第 1b 圖

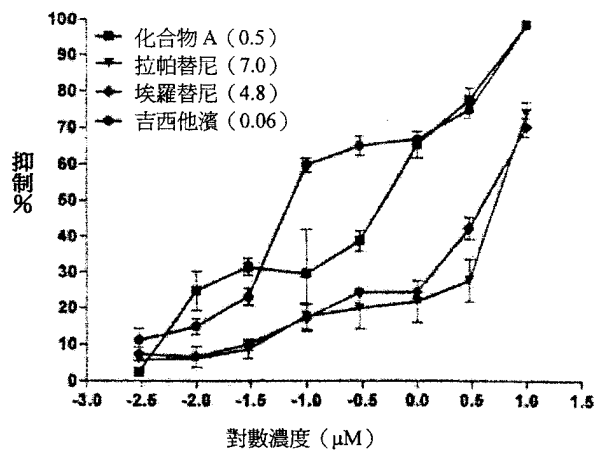


第 2a 圖



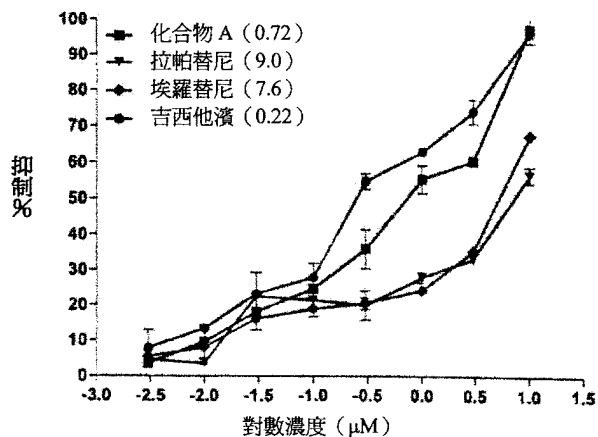
第 2b 圖

在 Panc-1 細胞中 IC₅₀ 的決定

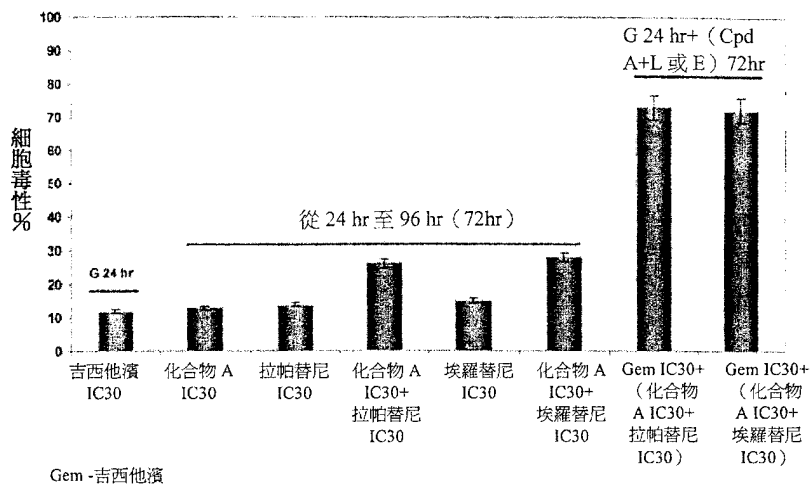


第 3a 圖

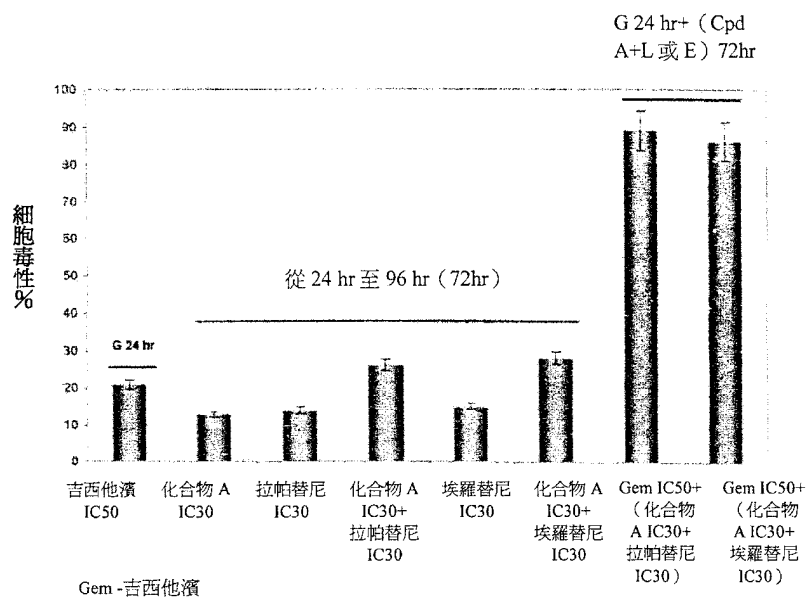
在 Mia Panc-2 細胞中 IC₅₀ 的決定



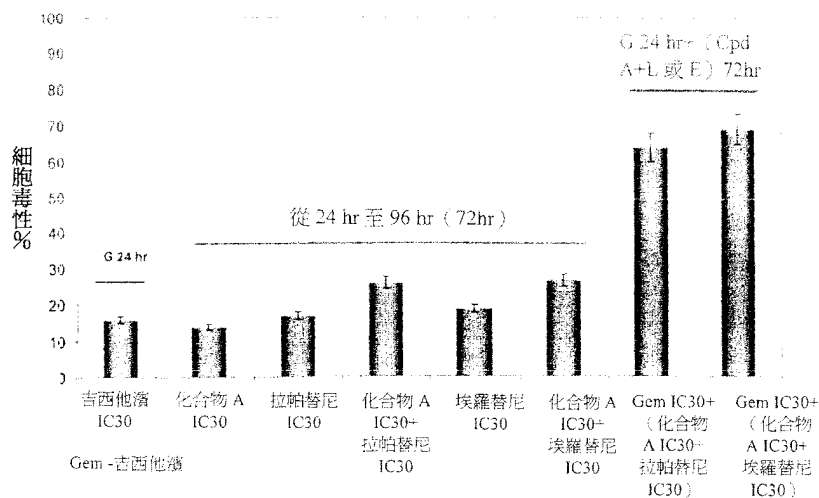
第 3b 圖



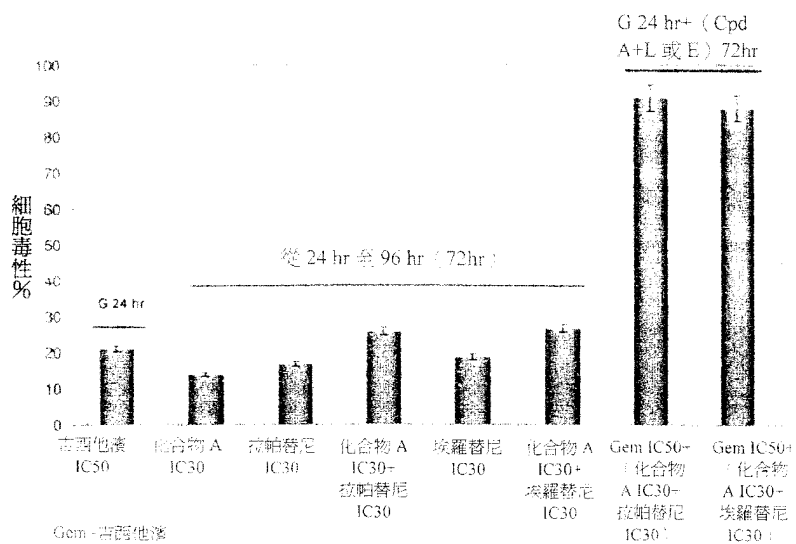
第 4a 圖



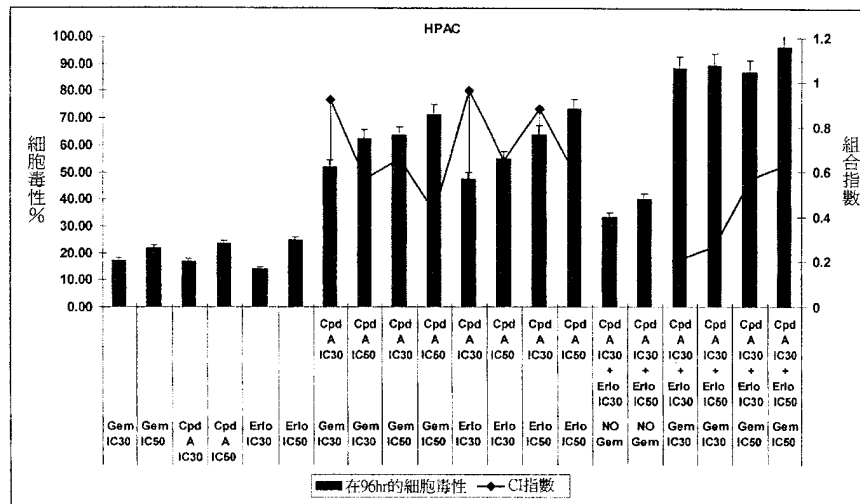
第 4b 圖



第 5a 圖

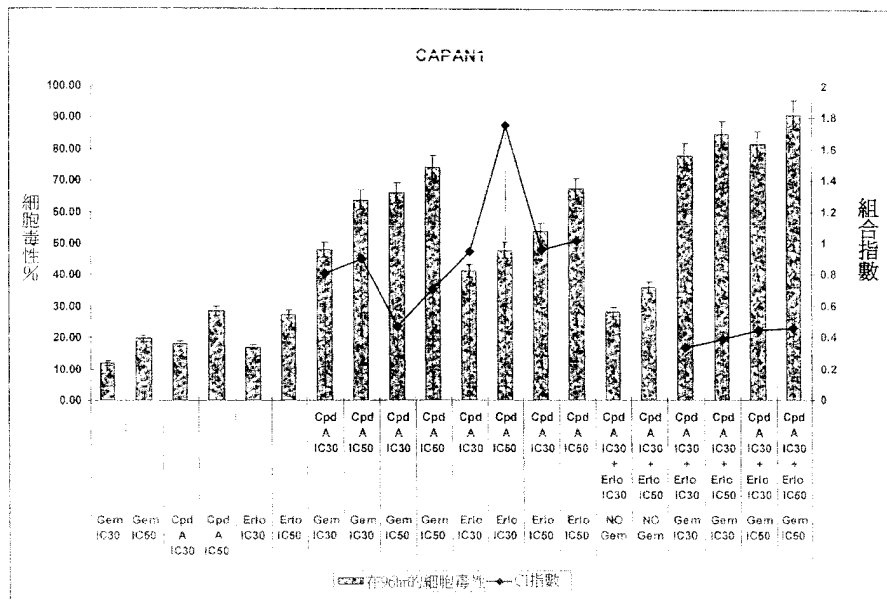


第 5b 圖



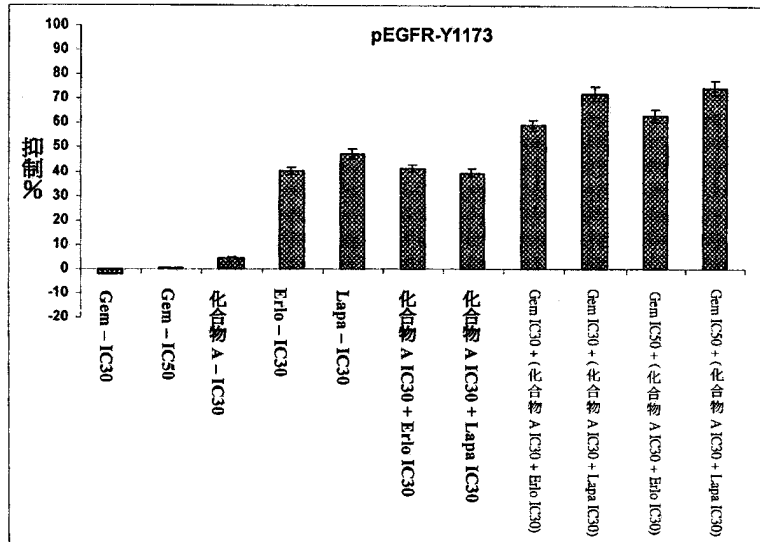
Gem - 吉西他濱
 Cpd A - 化合物 A
 Erlo - 埃羅替尼

第 6 圖



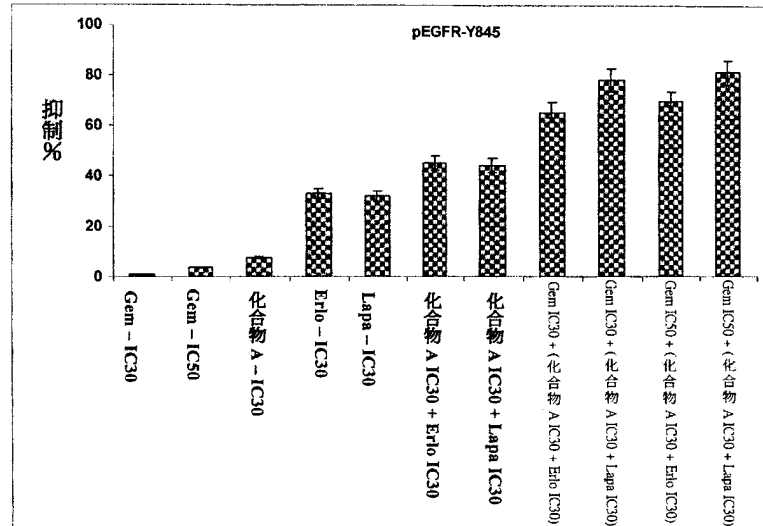
Gem-吉西他濱
 Cpd A-化合物 A
 Erlo-埃羅替尼

第 7 圖



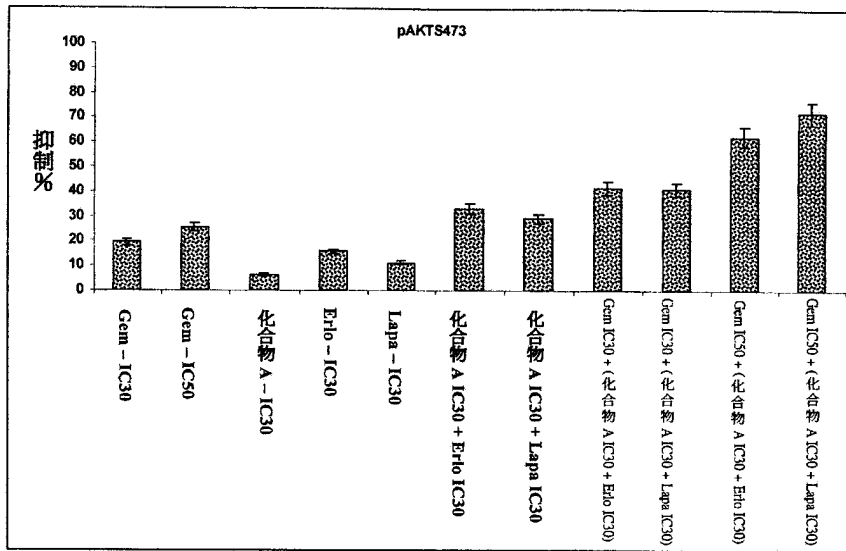
Gem - 吉西他濱
 Erlotinib - 埃羅替尼
 Lapatinib - 拉帕替尼

第 8a 圖



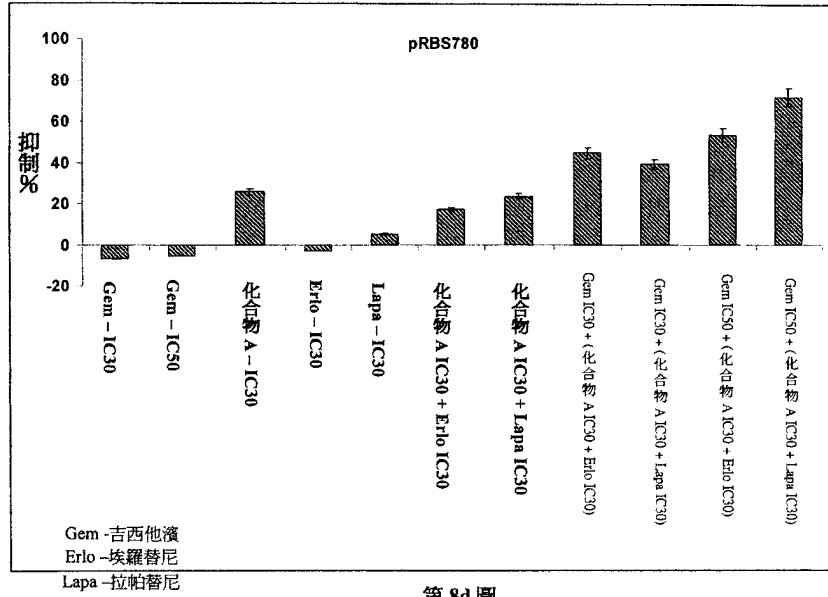
Gem - 吉西他濱
 Erlo - 埃羅替尼
 Lapa - 拉帕替尼

第 8b 圖

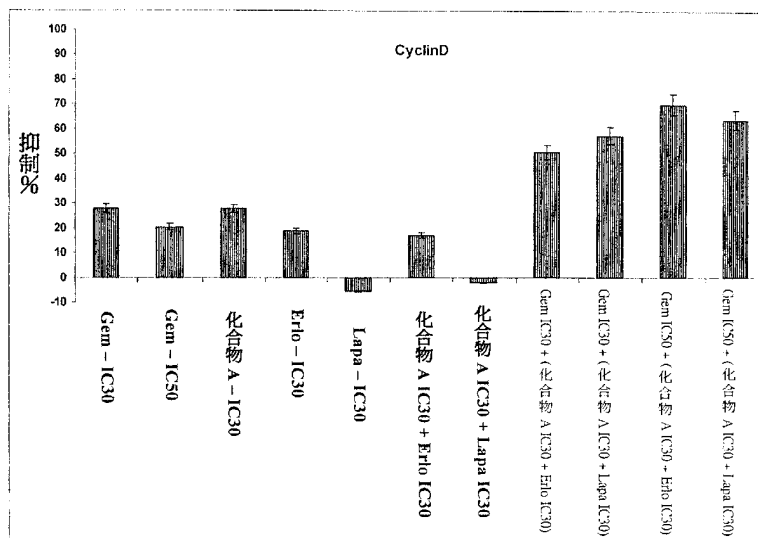


Gem - 吉西他濱
 Erlotinib - 埃羅替尼
 Lapatinib - 拉帕替尼

第 8c 圖

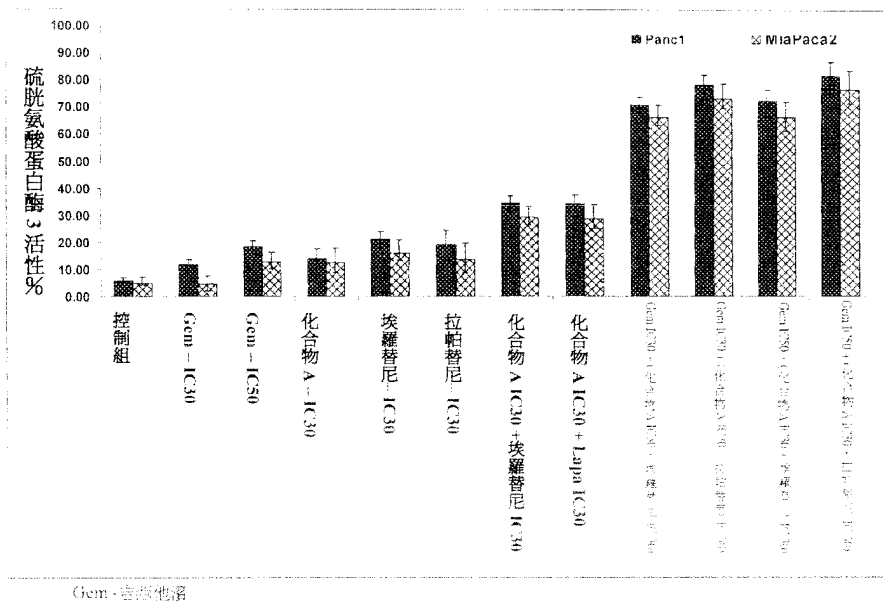


第 8d 圖



Gem-吉西他濱
 Erlo-埃羅替尼
 Lapa-拉帕替尼

第 8e 圖

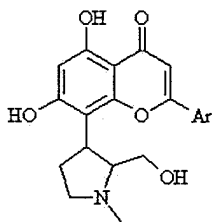


第 9 圖

四、指定代表圖：

- (一)本案指定代表圖為：第1a圖
- (二)本代表圖之元件符號簡單說明：
無

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：



分子式 I