



(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 202146024 A

(43) 公開日：中華民國 110 (2021) 年 12 月 16 日

(21) 申請案號：110107183

(22) 申請日：中華民國 110 (2021) 年 02 月 26 日

(51) Int. Cl.：

*A61K31/506 (2006.01)**A61K31/4965 (2006.01)**A61K31/5377 (2006.01)**A61P35/00 (2006.01)*

(30) 優先權：2020/02/28

美國

62/983,020

(71) 申請人：瑞士商諾華公司 (瑞士) NOVARTIS AG

(CH)

瑞士

(72) 發明人：庫克 凡瑟莉娜 COOKE, VESSELINA (US)

(74) 代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：19 項 圖式數：3 共 137 頁

(54) 名稱

包含達拉菲尼、ERK 抑制劑和 RAF 抑制劑或 PD-1 抑制劑之三重藥物組合

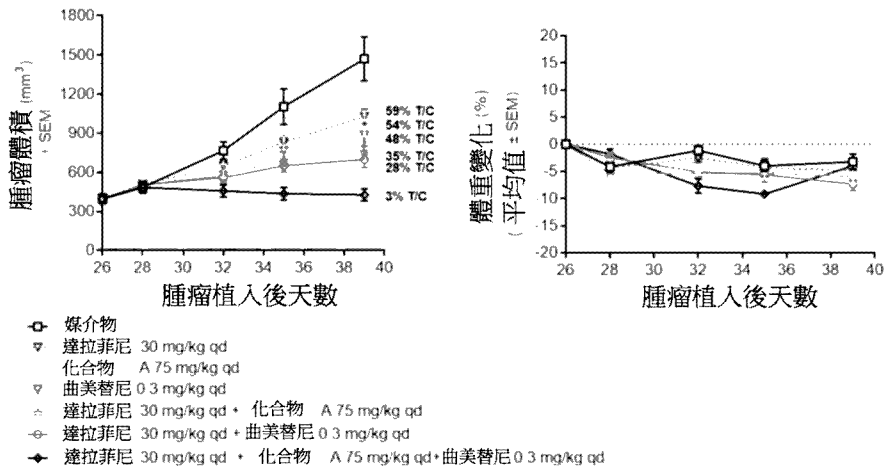
(57) 摘要

本發明關於包含達拉菲尼、Erk-抑制劑和 RAF 抑制劑的藥物組合；包含該藥物組合的藥物組成物；以及在治療或預防其中 MAPK 途徑抑制係有益的病症中、例如在治療癌症中使用此類組合和組成物之方法。

The present invention relates to a pharmaceutical combination comprising dabrafenib, an Erk-inhibitor and a RAF inhibitor; pharmaceutical compositions comprising the same; and methods of using such combinations and compositions in the treatment or prevention of conditions in which MAPK pathway inhibition is beneficial, for example, in the treatment of cancers.

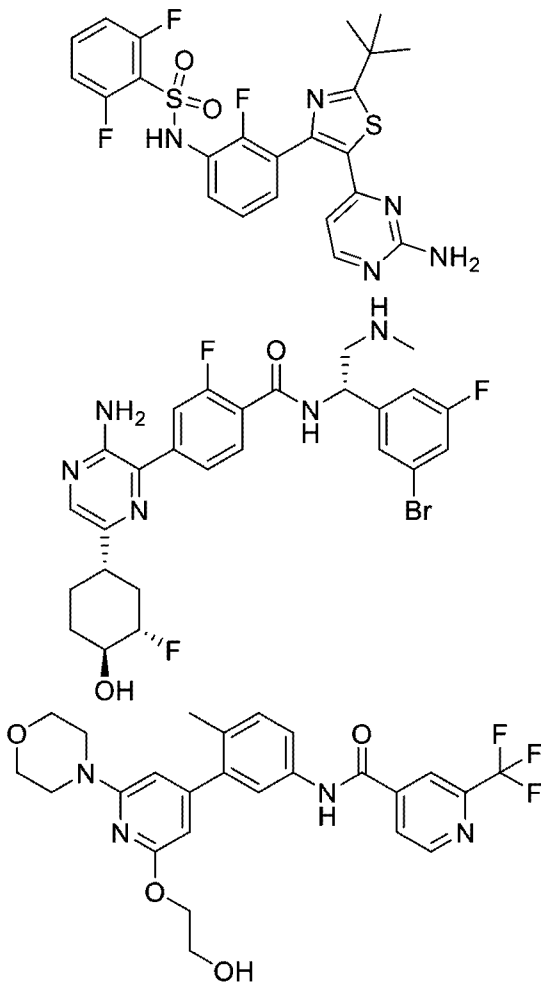
指定代表圖：

在小鼠中，MAPK通路抑制劑在HT29人CRC皮下腫瘤異種移植模型中的
抗腫瘤功效和耐受性



【圖1】

特徵化學式：





202146024

【發明摘要】

【中文發明名稱】 包含達拉菲尼、ERK抑制劑和RAF抑制劑或PD-1抑制劑之三重藥物組合

【英文發明名稱】 A TRIPLE PHARMACEUTICAL COMBINATION COMPRISING DABRAFENIB, AN ERK INHIBITOR AND A RAF INHIBITOR OR A PD-1 INHIBITOR.

【中文】

本發明關於包含達拉菲尼、Erk-抑制劑和RAF抑制劑的藥物組合；包含該藥物組合的藥物組成物；以及在治療或預防其中MAPK途徑抑制係有益的病症中、例如在治療癌症中使用此類組合和組成物之方法。

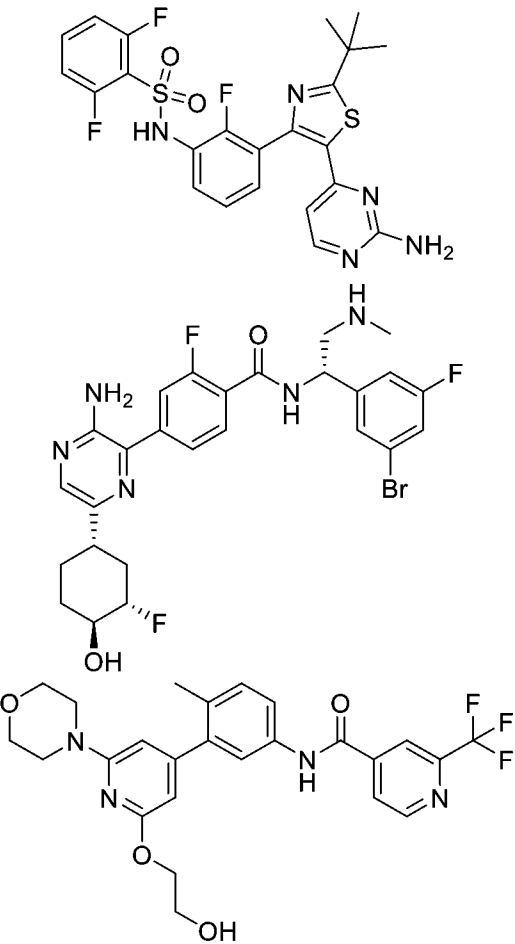
【英文】

The present invention relates to a pharmaceutical combination comprising dabrafenib, an Erk-inhibitor and a RAF inhibitor; pharmaceutical compositions comprising the same; and methods of using such combinations and compositions in the treatment or prevention of conditions in which MAPK pathway inhibition is beneficial, for example, in the treatment of cancers.

【指定代表圖】 圖1

【代表圖之符號簡單說明】 無

【特徵化學式】



【發明說明書】

【中文發明名稱】 包含達拉菲尼、ERK抑制劑和RAF抑制劑或PD-1抑制劑之三重藥物組合

【英文發明名稱】 A TRIPLE PHARMACEUTICAL COMBINATION COMPRISING DABRAFENIB, AN ERK INHIBITOR AND A RAF INHIBITOR OR A PD-1 INHIBITOR.

【技術領域】

【0001】 本發明關於藥物組合，該藥物組合包含：

【0002】 (i). 達拉菲尼（dabrafenib）或其藥學上可接受的鹽、Erk抑制劑（ERKi）例如4-(3-胺基-6-((1S,3S,4S)-3-氟-4-羥基環己基)吡啶-2-基)-N-((S)-1-(3-溴-5-氟苯基)-2-(甲基胺基)乙基)-2-氟苯甲醯胺（「化合物A（Compound A或compound A）」）或其藥學上可接受的鹽、和RAF抑制劑例如N-(3-(2-(2-羥基乙氧基)-6-咪啉代吡啶-4-基)-4-甲基苯基)-2-(三氟甲基)-異菸醯胺（「化合物C」）或其藥學上可接受的鹽；或

【0003】 (ii). 達拉菲尼或其藥學上可接受的鹽、Erk抑制劑（ERKi）例如4-(3-胺基-6-((1S,3S,4S)-3-氟-4-羥基環己基)吡啶-2-基)-N-((S)-1-(3-溴-5-氟苯基)-2-(甲基胺基)乙基)-2-氟苯甲醯胺（「化合物A（Compound A或compound A）」）或其藥學上可接受的鹽、和PD-1抑制劑例如斯巴達珠單抗；以及包含該藥物組合的藥物組成物；包含該藥物組合的商業包裝；以及在治療或預防其中MAPK途徑抑制係有益的病症中、例如在治療癌症中使用此類組合和組成物之方法。本發

明還提供了此類組合，用於在此類病症或癌症（包括大腸直腸癌（CRC），例如 BRAF 功能獲得性大腸直腸癌）的治療中使用。

【先前技術】

【0004】 MAPK 途徑係驅動細胞增殖、分化和存活的關鍵傳訊級聯。此途徑的失調係許多腫瘤發生實例之基礎。MAPK 途徑的異常傳訊或不當活化已顯示於多種腫瘤類型中，並且可以藉由幾種不同的機制發生，包括活化 RAS 和 BRAF 中的突變。MAPK 途徑頻繁在人類癌症中發生突變，其中 KRAS 突變和 BRAF 突變係最常見的（大約 30%）。已在所有癌症的 9%-30% 中檢測到 RAS 突變，特別是功能獲得性突變，其中 KRAS 突變的患病率最高（86%）。

【0005】 胞外信號調節激酶（ERK）係一類涉及傳送細胞外信號到細胞和亞細胞器的傳訊激酶。ERK1 和 ERK2 參與調節大範圍的活動，並且已知 ERK1/2 級聯的失調會導致多種疾病，包括神經變性疾病、發育疾病、糖尿病和癌症。ERK1/2 在癌症中的作用係被特別關注的，因為在 ERK1/2 傳訊級聯中活化其上游的突變被認為係所有癌症半數以上的原因。此外，過度的 ERK1/2 活性也在癌症中被發現，其中上游元件沒有突變，這表明 ERK1/2 信號即使係在沒有突變活化的癌症中也在致癌作用中起作用。ERK 途徑也顯示出控制腫瘤細胞的遷移和侵襲，並且因此與轉移有關。

【0006】 計劃性死亡 1（PD-1）蛋白係 T 細胞調節子的擴展的 CD28/CTLA-4 家族的抑制性成員。已經鑒定出 PD-1 的兩種配位基 PD-L1（B7-H1）和 PD-L2（B7-DC），已經證實兩者在結合 PD-1 時下調 T 細胞活化。PD-L1 在多種人癌症中大量存在。PD-1 被認為係負調節 TCR 信號的免疫抑制性蛋白。PD-1 和 PD-L1 之間的相

互作用可以充當免疫檢查點，該相互作用可以導致例如腫瘤浸潤性淋巴細胞的減少、T細胞受體介導的增殖的減少和/或癌細胞的免疫逃避。藉由抑制PD-1與PD-L1或PD-L2的局部相互作用可以逆轉免疫抑制；當PD-1與PD-L2的相互作用被阻斷時，效果也是累加的。

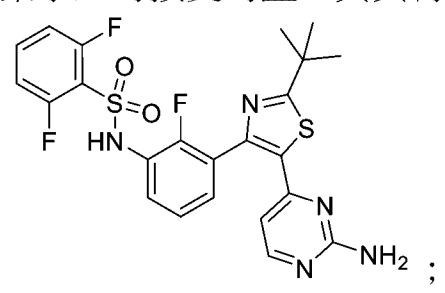
【0007】 鑒於免疫檢查點途徑在調節免疫應答中的重要性，需要開發新的活化免疫系統的組合療法。患有某些癌症的患者的預後仍然差。對治療的抗性經常發生，並且不是所有患者都對可用治療有反應。例如，患有BRAF突變的晚期大腸直腸癌患者的中位生存期少於12個月。因此，重要的是為患有癌症的患者開發新的療法以達到更好的臨床結果。還需要具有更好的耐受性和/或提供持久的抗腫瘤應答的治療選擇。

【發明內容】

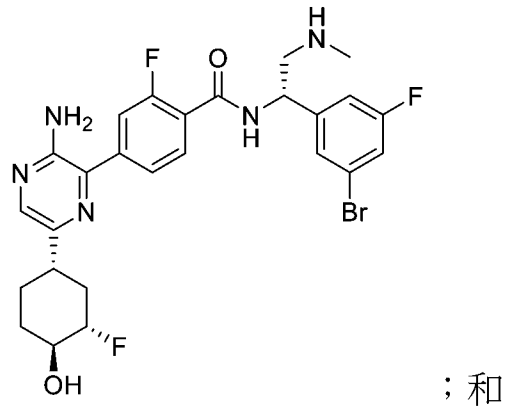
【0008】 本發明 (i) 達拉菲尼；Erk-抑制劑（例如化合物A）、和RAF-抑制劑（例如化合物C）；或 (ii) 達拉菲尼、Erk-抑制劑（例如化合物A）、和PD-1抑制劑（例如斯巴達珠單抗）的三重組合可以用作用於治療由MAPK途徑的異常活性引起的疾病或障礙的療法，該疾病或障礙包括但不限於乳癌、膽管癌、唾液腺癌、大腸直腸癌、黑素瘤、非小細胞肺癌、卵巢癌和甲狀腺癌。達拉菲尼、Erk-抑制劑（例如化合物A）、和RAF-抑制劑（例如化合物C），或者達拉菲尼、Erk-抑制劑（例如化合物A）、和PD-1抑制劑（例如斯巴達珠單抗）的三重組合特別是用於治療BRAF功能獲得性或BRAFFV600E/D/K突變型大腸直腸癌（CRC），包括晚期或轉移性大腸直腸癌。

【0009】 本發明提供包含以下的藥物組合：

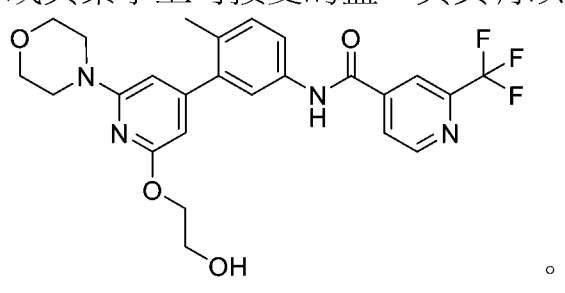
(a) N-(3-(5-(2-胺基嘧啶-4-基)-2-(三級丁基)噻唑-4-基)-2-氟苯基)-2,6-二氟苯磺醯胺（達拉菲尼）或其藥學上可接受的鹽，其具有以下結構：



(b) 4-(3-胺基-6-((1S,3S,4S)-3-氟-4-羥基環己基)吡啶-2-基)-N-((S)-1-(3-溴-5-氟苯基)-2-(甲基胺基)乙基)-2-氟苯甲醯胺（化合物A）或其藥學上可接受的鹽，其具有以下結構：

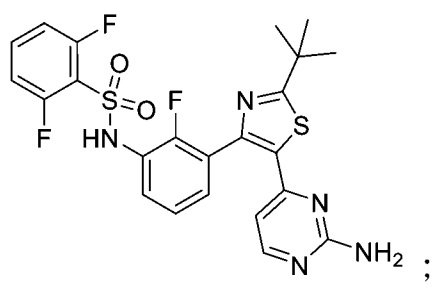


(c) N-(3-(2-(2-羥基乙氧基)-6-咪啉代吡啶-4-基)-4-甲基苯基)-2-(三氟甲基)-異菸醯胺（化合物C）或其藥學上可接受的鹽，其具有以下結構：

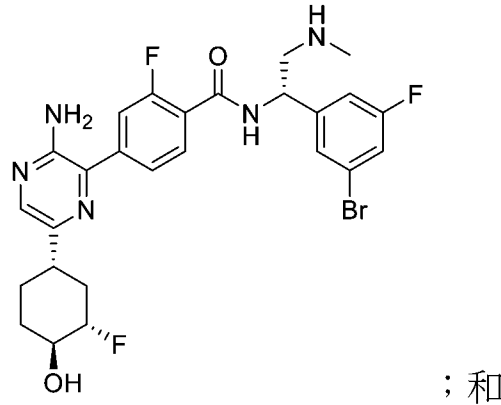


【0010】 本發明提供包含以下的藥物組合：

(a) N-(3-(5-(2-胺基嘧啶-4-基)-2-(三級丁基)噻唑-4-基)-2-氟苯基)-2,6-二氟苯磺醯胺（達拉菲尼）或其藥學上可接受的鹽，其具有以下結構：



(b) 4-(3-胺基-6-((1S,3S,4S)-3-氟-4-羥基環己基)吡咩-2-基)-N-((S)-1-(3-溴-5-氟苯基)-2-(甲基胺基)乙基)-2-氟苯甲醯胺（化合物A）或其藥學上可接受的鹽，其具有以下結構：



(c) PD-1抑制劑。

【0011】 在本發明之另一個方面，PD-1抑制劑選自PDR001（斯巴達珠單抗；諾華公司（Novartis））、納武單抗（百時美施貴寶公司）、派姆單抗（默克公司（Merck & Co））、匹地利珠單抗（CureTech公司）、MEDI0680（醫學免疫公司）、REGN2810（再生元公司（Regeneron））、TSR-042（Tesarco公司）、PF-06801591（輝瑞製藥公司（Pfizer））、BGB-A317（百濟神州公司（Beigene））、BGB-108（百濟神州公司）、INCSHR1210（因賽特公司（Incyte））、或AMP-224（Amplimmune公司）。

【0012】 在本發明之另一個方面，PD-1抑制劑係PDR001（斯巴達珠單抗）。

【0013】 (i) 達拉菲尼或其藥學上可接受的鹽、化合物A或其藥學上可接受的鹽、和化合物C或其藥學上可接受的鹽的藥物組合，或者 (ii) 達拉菲尼或其藥

學上可接受的鹽、化合物A或其藥學上可接受的鹽、和PD-1抑制劑例如斯巴達珠單抗的藥物組合在本文中也稱為「本發明之組合」。

【0014】 提供了本發明之組合，用於在癌症的治療中使用，例如，用於在選自以下的癌症中使用：乳癌、膽管癌、唾液腺癌、大腸直腸癌、黑素瘤、非小細胞肺癌、卵巢癌和甲狀腺癌。

【0015】 提供了 (i) 達拉菲尼或其藥學上可接受的鹽、化合物A或其藥學上可接受的鹽、和化合物C或其藥學上可接受的鹽的藥物組合，或者 (ii) 達拉菲尼或其藥學上可接受的鹽、化合物A或其藥學上可接受的鹽、和PD-1抑制劑例如斯巴達珠單抗的藥物組合，例如，用於在選自以下的癌症中使用：乳癌、膽管癌、唾液腺癌、大腸直腸癌、黑素瘤、非小細胞肺癌、卵巢癌和甲狀腺癌。

【0016】 還提供了 (i) 達拉菲尼或其藥學上可接受的鹽、化合物A或其藥學上可接受的鹽、和化合物C或其藥學上可接受的鹽的組合，或者 (ii) 達拉菲尼或其藥學上可接受的鹽、化合物A或其藥學上可接受的鹽、PD-1抑制劑例如 斯巴達珠單抗的組合，用於在BRAF功能獲得性或BRAFFV600E/D/K突變型大腸直腸癌（其包括晚期或轉移性大腸直腸癌）的治療中使用。

【0017】 本文還提供的是本發明之組合，用於在BRAF功能獲得性或BRAFFV600E/D/K突變型大腸直腸癌（其包括晚期或轉移性大腸直腸癌）的治療中使用。

【0018】 在本發明之組合的另一個實施方式中，達拉菲尼或其藥學上可接受的鹽、化合物A或其藥學上可接受的鹽、以及化合物C或其藥學上可接受的鹽係在同一配製物中。

【0019】 在本發明之組合的另一個實施方式中，達拉菲尼或其藥學上可接受的鹽、化合物A或其藥學上可接受的鹽、以及化合物C或其藥學上可接受的鹽係在分開的配製物中。

【0020】在另一個實施方式中，本發明之組合用於同時或依序（以任何順序）投與。

【0021】在另一個實施方式中，本發明提供了用於治療有需要的受試者中的癌症之方法，該方法包括向該受試者投與治療有效量的本發明之組合。

【0022】在該方法的另一個實施方式中，該癌症選自乳癌、膽管癌、唾液腺癌、大腸直腸癌、黑素瘤、非小細胞肺癌、卵巢癌和甲狀腺癌。

【0023】在另一個實施方式中，本發明提供了本發明之組合，用於在製造治療選自以下的癌症的藥物中使用：乳癌、膽管癌、唾液腺癌、大腸直腸癌、黑素瘤、非小細胞肺癌、卵巢癌和甲狀腺癌。

【0024】在另一個實施方式中，提供了包含本發明之組合的藥物組成物或商業包裝（例如，成套套組（kit））。

【0025】在另一個實施方式中，藥物組成物進一步包含一種或多種藥學上可接受的賦形劑。

【圖式簡單說明】

【0026】[圖1]：在HT29腫瘤細胞植入後第26天，將小鼠隨機化到治療組中。治療在腫瘤細胞植入後第26天開始並持續至第39天。在隨機分組時收集腫瘤尺寸和體重，之後在研究持續時間內每週收集兩次。相對於隨機化後天數，繪製的腫瘤體積（A）或從治療組起始的體重變化百分比（B）。在第39天使用單因素方差分析（ANOVA）Tukey多重比較測驗計算腫瘤體積變化的顯著差異（N = 9隻小鼠/組）（對於達拉菲尼 + 化合物A + 曲美替尼治療組相對於媒介物、單一藥劑和雙重組合， $p < 0.05$ ）。

【0027】 [圖2]：在HT29腫瘤細胞移植後第28天，將小鼠隨機化到治療組中。治療在腫瘤細胞植入後第28天開始並持續至第52天。在隨機分組時收集腫瘤尺寸和體重，之後在研究持續時間內每週收集兩次。相對於隨機化後天數，繪製的腫瘤體積（A）或從治療組起始的體重變化百分比（B）。在第52天使用單因素方差分析（ANOVA）Tukey多重比較測驗計算顯著差異（N = 7隻小鼠/組，除未經治療對照組n = 4）（對於兩種組合治療組相對於非治療對照組， $p < 0.0001$ ）。

【0028】 [圖3]：在HCOX1329腫瘤植入後第12天，將小鼠隨機化到治療組中。治療在腫瘤植入後第12天開始並持續至第38天（媒介物）、第62天（達拉菲尼 + 化合物A + 曲美替尼）、或第67天（達拉菲尼 + 曲美替尼和達拉菲尼 + 曲美替尼 + 西妥昔單抗）。在隨機分組時收集腫瘤尺寸和體重，之後在研究持續時間內每週收集兩次。相對於隨機化後天數，繪製的腫瘤體積（A）或從治療組起始的體重變化百分比（B）。在第38天使用單因素方差分析（ANOVA）Tukey多重比較測驗計算顯著差異（N = 5隻小鼠/組，除達拉菲尼 + 化合物A + 曲美替尼組n = 4）（對於達拉菲尼 + 化合物A + 曲美替尼相對於達拉菲尼 + 曲美替尼， $p = 0.005$ ；以及對於達拉菲尼 + 化合物A + 曲美替尼相對於達拉菲尼 + 曲美替尼 + 西妥昔單抗 $p = 0.04$ ）。

【實施方式】

說明

【0029】 除非另外說明，否則上文和下文中使用的通用術語較佳的是在本揭露之上下文中具有以下含義，其中無論在什麼情況下使用的更通用的術語可以彼此獨立地由更具體的定義代替或保留，從而定義本發明之更詳細實施方式：

【0030】「達拉菲尼」係N-(3-(5-(2-胺基嘧啶-4-基)-2-(三級丁基)噻唑-4-基)-2-氟苯基)-2,6-二氟苯磺醯胺，能夠在V600抑制BRAF（V600E）、BRAF（V600K）和BRAF（V600G）突變的突變的BRAF的選擇性抑制劑（也稱為N-{3-[5-(2-胺基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺醯胺；Tafinlar[®]；和N-{3-[5-(2-胺基-4-嘧啶基)-2-(1,1-二甲基乙基)-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺醯胺，甲磺酸鹽）。

【0031】「西妥昔單抗」係表皮生長因子受體（EGFR）抑制劑用於治療轉移性大腸直腸癌、轉移性非小細胞肺癌和頭頸癌。西妥昔單抗係靶向表皮生長因子受體的IgG1單株抗體，已批准與伊立替康組合使用或作為治療轉移性CRC的單一療法。西妥昔單抗係藉由靜脈內輸注給予的嵌合（小鼠/人）單株抗體。

【0032】化合物A係細胞外信號調節激酶（ERK）1/2的抑制劑。「化合物A」係4-(3-胺基-6-((1S,3S,4S)-3-氟-4-羥基環己基)吡啶-2-基)-N-((S)-1-(3-溴-5-氟苯基)-2-(甲基胺基)乙基)-2-氟苯甲醯胺。化合物A的特別較佳的鹽係其鹽酸鹽。

【0033】「化合物C」（N-(3-(2-(2-羥基乙氧基)-6-咪啉代吡啶-4-基)-4-甲基苯基)-2-(三氟甲基)異菸醯胺）係BRAF和CRAF蛋白激酶的ATP競爭性抑制劑。

【0034】術語PD-1抑制劑包括PDR001。PDR001也稱為斯巴達珠單抗（抗PD-1抗體分子），如題為「Antibody Molecules to PD-1 and Uses Thereof [PD-1的抗體分子及其用途]」的2015年7月30日公佈的US 2015/0210769（將其藉由引用以其全文併入）中所述之。

【0035】另外的抗PD-1抗體分子包括以下：

【0036】納武單抗（百時美施貴寶公司），也稱為MDX-1106、MDX-1106-04、ONO-4538、BMS-936558或OPDIVO[®]。納武單抗（殖株5C4）和其他抗PD-1抗體揭露於US 8,008,449和WO 2006/121168（將其藉由引用以其全文併入）中；

【0037】派姆單抗（默克公司），也稱為帕博利珠單抗（Lambrolizumab）、MK-3475、MK03475、SCH-900475或KEYTRUDA®。派姆單抗和其他抗PD-1抗體揭露於Hamid, O. 等人 (2013) *New England Journal of Medicine* [新英格蘭醫學雜誌] 369 (2): 134-44；US 8,354,509和WO 2009/114335中，將其藉由引用以其全文併入。

【0038】匹地利珠單抗（CureTech公司），也稱為CT-011。匹地利珠單抗和其他抗PD-1抗體揭露於Rosenblatt, J. 等人, (2011) *J Immunotherapy* [免疫療法雜誌] 34 (5): 409-18，US 7,695,715，US 7,332,582和US 8,686,119（將其藉由引用以其全文併入）中；

【0039】MEDI0680（米迪繆尼公司），也稱為AMP-514。MEDI0680和其他抗PD-1抗體揭露於US 9,205,148和WO 2012/145493（將其藉由引用以其全文併入）中；

【0040】AMP-224（B7-DCIg（安普利穆尼公司）），例如，揭露於WO 2010/027827和WO 2011/066342（將其藉由引用以其全文併入）中；

【0041】REGN2810（再生元公司）；PF-06801591（輝瑞公司）；BGB-A317或BGB-108（百濟神州公司）；INCSHR1210（因賽特公司）也稱為INCSHR01210或SHR-1210；TSR-042（泰薩羅公司），也稱為ANB011；以及其他已知的抗PD-1抗體，包括描述於例如以下中的那些：WO 2015/112800、WO 2016/092419、WO 2015/085847、WO 2014/179664、WO 2014/194302、WO 2014/209804、WO 2015/200119、US 8,735,553、US 7,488,802、US 8,927,697、US 8,993,731、和US 9,102,727（將其藉由引用以其全文併入）。

【0042】如本文所用的，術語「受試者」或「患者」旨在包括易於患有癌症或任何障礙（直接或間接涉及癌症）或受其折磨的動物。受試者的實例包括哺乳動物，例如人、猿、猴、狗、乳牛、馬、豬、綿羊、山羊、貓、小鼠、兔、大

鼠和轉基因非人動物。在一個實施方式中，受試者係人，例如患有癌症、具有患癌症的風險或可能易於患有癌症的人。

【0043】如本文所用的術語「治療 (treating)」或「治療 (treatment)」包括解除、減輕或緩解受試者的至少一種症狀或者實現疾病進展延遲的治療。例如，治療可以是減弱障礙的一種或幾種症狀或者完全根除障礙（如癌症）。在本揭露之含義範圍內，術語「治療」還表示阻止、延遲發作（即在疾病的臨床表現之前的時間段）和/或降低疾病發展或疾病惡化的風險。

【0044】除非另外指明，否則術語「包含」和「包括」在本文中以其開放式和非限制性的含義使用。

【0045】除非本文另外指明或明顯與上下文矛盾，否則在描述本發明之上下文中（尤其是在以下請求項的上下文中），術語「一個」、「一種」和「該」以及類似的指示詞應當被解釋為涵蓋單數和複數這兩者。當將複數形式用於化合物、鹽等時，這也意指單一化合物、鹽等。

【0046】「組合」或「與.....組合」或「與.....共同投與」等並不旨在暗示必須物理混合或同時投與療法或治療劑和/或配製該等治療劑用於一起遞送，儘管該等遞送方法在本文所述之範圍內。該等組合中的治療劑可以與一種或多種其他另外的療法或治療劑同時、在其之前或之後投與。該等治療劑或治療方案可以以任何順序投與。通常，每種藥劑將以針對該藥劑確定的劑量和/或日程表投與。還應理解，該組合中使用的另外的治療劑可以按單一組成物一起投與或按不同組成物單獨投與。通常，預期組合中使用的其他治療劑的以不超過它們單獨使用時的水平使用。在一些實施方式中，組合中使用的水平將低於單一藥劑療法中使用的水平。

【0047】當將本文中的劑量 (dosage或dose) 描述為「約」指定量時，實際劑量 (dosage或dose) 可以從該量變化高達10%，例如5%：這種「約」的使用承

認，給定劑量或劑型中的精確量可能由於多種原因而與預期量略有不同，但不會實質上影響所給予化合物的體內作用。技術人員將理解，當本文引用治療化合物的劑量（dosage或dose）時，該量係指游離形式或非溶劑化形式的治療化合物的量。

【0048】如本文所用的短語「治療有效量」係指包含本發明化合物的化合物、材料或組成物的量，其對於在動物（包括人）中的至少一個細胞亞群中以適用於任何醫學治療的合理的受益/風險比產生一些所期望的治療效果係有效的。

【0049】本文使用的短語「藥學上可接受的」係指在合理的醫學判斷的範圍，適合用於與人和動物的組織接觸而不產生過度毒性、刺激、過敏反應、或其他問題或併發症，同時具有相稱的合理受益/風險比的那些化合物、材料、組成物、和/或劑型。

【0050】本發明之組合（達拉菲尼、化合物A和化合物C或斯巴達珠單抗）還旨在表示化合物的未經標記的形式以及化合物的同位素標記形式。同位素標記的化合物的一個或多個原子被具有選定原子質量或質量數的原子取代。可以摻入達拉菲尼、化合物A和化合物C或斯巴達珠單抗的同位素的實例包括氫、碳、氮、氧、磷、氟和氯的同位素，例如，分別是 ^2H 、 ^3H 、 ^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{18}F 、 ^{31}P 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{36}Cl 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 。本發明包括同位素標記的達拉菲尼、化合物A和化合物C或斯巴達珠單抗，例如其中存在放射性同位素（如 ^3H 和 ^{14}C ）或非放射性同位素（如 ^2H 和 ^{13}C ）。同位素標記的達拉菲尼、化合物A和化合物C或斯巴達珠單抗可用於代謝研究（用 ^{14}C ）、反應動力學研究（例如用 ^2H 或 ^3H ）、檢測或成像技術，例如正電子發射斷層掃描（PET）或單光子發射電腦斷層掃描（SPECT），包括藥物或底物組織分佈測定，或用於患者的放射治療。特別地，用 ^{18}F 標記的達拉菲尼、化合物A或化合物C或斯巴達珠單抗對於PET或SPECT研究可能是特別理想的。本發明之同位素標記的化合物通常可藉由熟悉該項技術

者已知的常規技術或與在使用適當的同位素標記的試劑的所附實例中所述之那些類似之方法來製備。

【0051】 此外，用較重的同位素，特別是氘（即， ^2H 或D）取代可以提供來源於更大的代謝穩定性（例如，體內半衰期延長或劑量需求減少或治療指數改善）的某些治療優點。應當理解，在此上下文中，氘被認為係達拉菲尼、化合物A或化合物C或斯巴達珠單抗的取代基。這種較重的同位素（特別是氘）的濃度可以由同位素富集因子來定義。如本文所用的術語「同位素富集因子」係指同位素豐度與指定同位素的天然豐度之間的比率。如果達拉菲尼、化合物A或化合物C或斯巴達珠單抗中的取代基指示氘，這種化合物具有針對每個指定的氘原子的同位素富集因子為至少3500（在每個指定的氘原子上52.5%氘摻入）、至少4000（60%氘摻入）、至少4500（67.5%氘摻入）、至少5000（75%氘摻入）、至少5500（82.5%氘摻入）、至少6000（90%氘摻入）、至少6333.3（95%氘摻入）、至少6466.7（97%氘摻入）、至少6600（99%氘摻入）、或至少6633.3（99.5%氘摻入）。

具體實施方式

【0052】 達拉菲尼係具有RAF抑制活性的口服生物可利用的小分子。化合物A係具有ERK抑制活性的口服生物可利用的小分子。其係細胞外信號調節激酶1和2（ERK 1/2）的抑制劑。化合物C係具有B/C-RAF抑制活性的口服生物可利用的小分子。斯巴達珠單抗係一種高親和力的配位基阻斷人源化抗計劃性死亡1（PD-1）IgG4抗體，可阻斷計劃性死亡配位基1（PD-L1）和計劃性死亡配位基2（PD-L2）與PD-1的結合。

【0053】 在一個實施方式中，關於本發明之藥物組合係包含以下的藥物組合：N-(3-(5-(2-氨基嘧啶-4-基)-2-(三級丁基)噻唑-4-基)-2-氟苯基)-2,6-二氟苯磺醯

胺（達拉菲尼）、或其藥學上可接受的鹽；4-(3-胺基-6-((1S,3S,4S)-3-氟-4-羥基環己基)吡啶-2-基)-N-((S)-1-(3-溴-5-氟苯基)-2-(甲基胺基)乙基)-2-氟苯甲醯胺（化合物A）、或其藥學上可接受的鹽；和N-(3-(2-(2-羥基乙氧基)-6-咪啉代吡啶-4-基)-4-甲基苯基)-2-(三氟甲基)-異菸醯胺（化合物C）、或其藥學上可接受的鹽。

【0054】 在另一個實施方式中，將N-(3-(5-(2-胺基嘧啶-4-基)-2-(三級丁基)噻唑-4-基)-2-氟苯基)-2,6-二氟苯磺醯胺（達拉菲尼）或其藥學上可接受的鹽、4-(3-胺基-6-((1S,3S,4S)-3-氟-4-羥基環己基)吡啶-2-基)-N-((S)-1-(3-溴-5-氟苯基)-2-(甲基胺基)乙基)-2-氟苯甲醯胺（化合物A）或其藥學上可接受的鹽、和N-(3-(2-(2-羥基乙氧基)-6-咪啉代吡啶-4-基)-4-甲基苯基)-2-(三氟甲基)-異菸醯胺（化合物C）或其藥學上可接受的鹽分開地、同時地或以任何順序依序地投與。

【0055】 在另一個實施方式中，藥物組合用於口服投與。

【0056】 在藥物組合的另一個實施方式中，N-(3-(5-(2-胺基嘧啶-4-基)-2-(三級丁基)噻唑-4-基)-2-氟苯基)-2,6-二氟苯磺醯胺（達拉菲尼）呈口服劑型。

【0057】 在藥物組合的另一個實施方式中，4-(3-胺基-6-((1S,3S,4S)-3-氟-4-羥基環己基)吡啶-2-基)-N-((S)-1-(3-溴-5-氟苯基)-2-(甲基胺基)乙基)-2-氟苯甲醯胺（化合物A）呈口服劑型。

【0058】 在藥物組合的另一個實施方式中，N-(3-(2-(2-羥基乙氧基)-6-咪啉代吡啶-4-基)-4-甲基苯基)-2-(三氟甲基)-異菸醯胺（化合物C）呈口服劑型。

【0059】 在另一個實施方式中是一種藥物組成物或商業包裝，該藥物組成物或商業包裝包含（上述實施方式中任一項所述之）藥物組合，和至少一種藥學上可接受的載劑。

【0060】 在另一個實施方式中是藥物組合（如在上述實施方式中任一項所述）或藥物組成物或商業包裝（如在上述實施方式中所述）用於在治療癌症中使用。

【0061】 在另一個實施方式中，該癌症選自乳癌、膽管癌、大腸直腸癌（CRC）、黑素瘤、非小細胞肺癌、卵巢癌和甲狀腺癌。

【0062】 在另一個實施方式中，該癌症係晚期或轉移性大腸直腸癌。

【0063】 在另一個實施方式中，該癌症係BRAF功能獲得性CRC或BRAF V600E、V600D或V600K CRC。

【0064】 在另一個實施方式中是根據上述實施方式中任一項所述之藥物組合或根據上述實施方式所述之藥物組成物或商業包裝用於製造治療癌症的藥物的用途。

【0065】 在另一個實施方式中，該癌症選自乳癌、膽管癌、大腸直腸癌、黑素瘤、非小細胞肺癌、卵巢癌和甲狀腺癌，視需要其中該癌症係晚期或轉移性大腸直腸癌，視需要其中該癌症係BRAF功能獲得性CRC或BRAF V600E、V600D或V600K CRC。

【0066】 在另一個實施方式中是治療選自乳癌、膽管癌、大腸直腸癌、黑素瘤、非小細胞肺癌、卵巢癌和甲狀腺癌的癌症之方法，該方法包括向有需要的患者投與上述實施方式中任一項所述之藥物組合或商業包裝或根據上述實施方式所述之藥物組成物。

【0067】 在另一個實施方式中，該大腸直腸癌係晚期或轉移性大腸直腸癌。

【0068】 在另一個實施方式中，該大腸直腸癌係BRAF功能獲得性CRC或BRAF V600E、V600D或V600K CRC。

【0069】 在另一個實施方式中，以約從約1至約150 mg/天（例如，1、2、5、10、50、100或150 mg/天）的劑量口服投與N-(3-(5-(2-胺基嘧啶-4-基)-2-(三級丁基)噻唑-4-基)-2-氟苯基)-2,6-二氟苯磺醯胺（達拉菲尼）。

【0070】在另一個實施方式中，以75 mg BID的劑量口服投與N-(3-(5-(2-胺基嘧啶-4-基)-2-(三級丁基)噻唑-4-基)-2-氟苯基)-2,6-二氟苯磺醯胺（達拉菲尼）。

【0071】在另一個實施方式中，以從約50至約200 mg/天的劑量（例如，以約50、75、100、125、150、175或200 mg/天的劑量）口服投與4-(3-胺基-6-((1S,3S,4S)-3-氟-4-羥基環己基)吡啶-2-基)-N-((S)-1-(3-溴-5-氟苯基)-2-(甲基胺基)乙基)-2-氟苯甲醯胺（化合物A）。

【0072】在另一個實施方式中，以100 mg QD的劑量口服投與4-(3-胺基-6-((1S,3S,4S)-3-氟-4-羥基環己基)吡啶-2-基)-N-((S)-1-(3-溴-5-氟苯基)-2-(甲基胺基)乙基)-2-氟苯甲醯胺（化合物A）。

【0073】在另一個實施方式中，以200 mg QD的劑量口服投與4-(3-胺基-6-((1S,3S,4S)-3-氟-4-羥基環己基)吡啶-2-基)-N-((S)-1-(3-溴-5-氟苯基)-2-(甲基胺基)乙基)-2-氟苯甲醯胺（化合物A）。

【0074】在另一個實施方式中，以從約100 mg/天、或200 mg/天、或300 mg/天至約400 mg/天的劑量口服施用N-(3-(2-(2-羥基乙氧基)-6-咪啉代吡啶-4-基)-4-甲基苯基)-2-(三氟甲基)-異菸醯胺（化合物C）。

【0075】在另一個實施方式中，以200 mg BID的劑量口服施用N-(3-(2-(2-羥基乙氧基)-6-咪啉代吡啶-4-基)-4-甲基苯基)-2-(三氟甲基)-異菸醯胺（化合物C）。

【0076】在一個實施方式中，關於本發明之藥物組合係包含以下的藥物組合：N-(3-(5-(2-胺基嘧啶-4-基)-2-(三級丁基)噻唑-4-基)-2-氟苯基)-2,6-二氟苯磺醯胺（達拉菲尼）、或其藥學上可接受的鹽；4-(3-胺基-6-((1S,3S,4S)-3-氟-4-羥基環己基)吡啶-2-基)-N-((S)-1-(3-溴-5-氟苯基)-2-(甲基胺基)乙基)-2-氟苯甲醯胺（化合物A）、或其藥學上可接受的鹽；和PD-1抑制劑、或其藥學上可接受的鹽。

【0077】在另一個實施方式中，將N-(3-(5-(2-胺基嘧啶-4-基)-2-(三級丁基)噻唑-4-基)-2-氟苯基)-2,6-二氟苯磺醯胺（達拉菲尼）或其藥學上可接受的鹽、4-(3-胺基-6-((1S,3S,4S)-3-氟-4-羥基環己基)吡啶-2-基)-N-((S)-1-(3-溴-5-氟苯基)-2-(甲基胺基)乙基)-2-氟苯甲醯胺（化合物A）或其藥學上可接受的鹽、和PD-1抑制劑或其藥學上可接受的鹽分開地、同時地或以任何順序依序地投與。

【0078】在另一個實施方式中，PD-1抑制劑係抗PD-1抗體分子。

【0079】在另一個實施方式中，PD-1抑制劑係抗PD-1抗體分子，如題為「Antibody Molecules to PD-1 and Uses Thereof [PD-1的抗體分子及其用途]」的2015年7月30日公佈的US 2015/0210769(將其藉由引用以其全文併入)中所述之。在一些實施方式中，抗PD-1抗體分子係BAP049-殖株E或BAP049-殖株B。

【0080】在另一個實施方式中，抗PD-1抗體分子係斯巴達珠單抗（PDR001）。

【0081】在一個實施方式中，抗PD-1抗體分子包含來自重鏈和輕鏈可變區的至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個互補決定區（CDR）（或總體上全部CDR），該重鏈和輕鏈可變區包含表1（例如，來自表1中揭露的BAP049-殖株-E或BAP049-殖株-B的重鏈和輕鏈可變區序列）中所示的胺基酸序列，或由表1中所示的核苷酸序列編碼的胺基酸序列。在一些實施方式中，CDR根據卡巴特（Kabat）定義（例如，如表1中所列出的）。在一些實施方式中，CDR根據喬西亞（Chothia）定義（例如，如表1中所列出的）。在一些實施方式中，CDR根據卡巴特和喬西亞兩者的組合CDR定義（例如，如表1中所列出的）。在一個實施方式中，VH CDR1的卡巴特和喬西亞CDR的組合包含胺基酸序列GYTFTTYWMH（SEQ ID NO: 541）。在一個實施方式中，相對於表1中所示的胺基酸序列，或由表1中所示的核苷酸序列編碼的胺基酸序列，CDR中的一種或

多種（或總體上全部CDR）具有一個、兩個、三個、四個、五個、六個或更多個變化，例如胺基酸取代（例如，保守胺基酸取代）或缺失。

【0082】 在一個實施方式中，抗PD-1抗體分子包含：含有SEQ ID NO: 501的VHCDR1胺基酸序列、SEQ ID NO: 502的VHCDR2胺基酸序列、和SEQ ID NO: 503的VHCDR3胺基酸序列的重鏈可變區（VH）；以及含有SEQ ID NO: 510的VLCDR1胺基酸序列、SEQ ID NO: 511的VLCDR2胺基酸序列、和SEQ ID NO: 512的VLCDR3胺基酸序列的輕鏈可變區（VL），各自揭露於表1中。

【0083】 在一個實施方式中，抗體分子包含：含有由SEQ ID NO: 524的核苷酸序列編碼的VHCDR1、由SEQ ID NO: 525的核苷酸序列編碼的VHCDR2、和由SEQ ID NO: 526的核苷酸序列編碼的VHCDR3的VH；以及含有由SEQ ID NO: 529的核苷酸序列編碼的VLCDR1、由SEQ ID NO: 530的核苷酸序列編碼的VLCDR2、和由SEQ ID NO: 531的核苷酸序列編碼的VLCDR3的VL，各自揭露於表1中。

【0084】 在一個實施方式中，抗PD-1抗體分子包含：含有SEQ ID NO: 506的胺基酸序列、或與SEQ ID NO: 506具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的胺基酸序列的VH。在一個實施方式中，抗PD-1抗體分子包含：含有SEQ ID NO: 520的胺基酸序列、或與SEQ ID NO: 520具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的胺基酸序列的VL。在一個實施方式中，抗PD-1抗體分子包含：含有SEQ ID NO: 516的胺基酸序列、或與SEQ ID NO: 516具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的胺基酸序列的VL。在一個實施方式中，抗PD-1抗體分子包含：含有SEQ ID NO: 506的胺基酸序列的VH和含有SEQ ID NO: 520的胺基酸序列的VL。在一個實施方式中，抗PD-1抗體分子包含：含有SEQ ID NO: 506的胺基酸序列的VH和含有SEQ ID NO: 516的胺基酸序列的VL。

【0085】 在一個實施方式中，抗體分子包含：由SEQ ID NO: 507的核苷酸序列、或與SEQ ID NO: 507具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的核苷酸序列編碼的VH。在一個實施方式中，抗體分子包含：由SEQ ID NO: 521或517的核苷酸序列，或與SEQ ID NO: 521或517具有至少85%、90%、95%、或99%或更高同一性的核苷酸序列編碼的VL。在一個實施方式中，抗體分子包含由SEQ ID NO: 507的核苷酸序列編碼的VH和由SEQ ID NO: 521或517的核苷酸序列編碼的VL。

【0086】 在一個實施方式中，抗PD-1抗體分子包含：含有SEQ ID NO: 508的胺基酸序列、或與SEQ ID NO: 508具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的胺基酸序列的重鏈。在一個實施方式中，抗PD-1抗體分子包含：含有SEQ ID NO: 522的胺基酸序列、或與SEQ ID NO: 522具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的胺基酸序列的輕鏈。在一個實施方式中，抗PD-1抗體分子包含：含有SEQ ID NO: 518的胺基酸序列、或與SEQ ID NO: 518具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的胺基酸序列的輕鏈。在一個實施方式中，抗PD-1抗體分子包含：含有SEQ ID NO: 508的胺基酸序列的重鏈和含有SEQ ID NO: 522的胺基酸序列的輕鏈。在一個實施方式中，該抗PD-1抗體分子包含：含有SEQ ID NO: 508的胺基酸序列的重鏈和含有SEQ ID NO: 518的胺基酸序列的輕鏈。

【0087】 在一個實施方式中，抗體分子包含：由SEQ ID NO: 509的核苷酸序列、或與SEQ ID NO: 509具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的核苷酸序列編碼的重鏈。在一個實施方式中，抗體分子包含：由SEQ ID NO: 523或519的核苷酸序列，或與SEQ ID NO: 523或519具有至少85%、90%、95%、或99%或更高同一性的核苷酸序列編碼的輕鏈。在一個實施方式中，抗體分子包

含由SEQ ID NO: 509的核苷酸序列編碼的重鏈和由SEQ ID NO: 523或519的核苷酸序列編碼的輕鏈。

【0088】 本文所述之抗體分子可以藉由載體、宿主細胞、和在 US 2015/0210769（將其藉由引用以其全文併入）中所述之方法製得。

[表 1]. 示例性抗 PD-1 抗體分子的胺基酸和核苷酸序列

BAP049-殖株-B HC

SEQ ID NO: 501 (卡巴特)	HCDR1	TYWMH
SEQ ID NO: 502 (卡巴特)	HCDR2	NIYPGTGGSNFDEKFKN
SEQ ID NO: 503 (卡巴特)	HCDR3	WTTGTGAY
SEQ ID NO: 504 (喬西亞)	HCDR1	GYTFTTY
SEQ ID NO: 505 (喬西亞)	HCDR2	YPGTGG
SEQ ID NO: 503 (喬西亞)	HCDR3	WTTGTGAY
SEQ ID NO: 506	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTTYWMHWVRQ ATGQGLEWMGNIYPGTGGSNFDEKFKNRVTITADKSTSTA YMESSLRSEDTAVYYCTRWTTGTGAYWGQGTFTVTVSS
SEQ ID NO: 507	DNA VH	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAA GCCCCGCGAGTCACTGAGAATTAGCTGTAAAGGTTTCAG GCTACACCTTCACTACCTACTGGATGCACTGGGTCCGCC AGGCTACCGGTCAAGGCCTCGAGTGGATGGGTAATATC TACCCCGGCACCGCGGGCTCTAACTTCGACGAGAAGTTT AAGAATAGAGTGACTATCACCGCCGATAAGTCTACTAG CACCGCCTATATGGAAGTGTCTAGCCTGAGATCAGAGG ACACCGCCGTCTACTACTGCACTAGGTGGACTACCGGCA CAGGCGCCTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTG TCTAGC
SEQ ID NO: 508	重鏈	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTTYWMHWVRQ ATGQGLEWMGNIYPGTGGSNFDEKFKNRVTITADKSTSTA YMESSLRSEDTAVYYCTRWTTGTGAYWGQGTFTVTVSSA STKGPSVFPPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTC NVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLS LG
SEQ ID NO: 509	DNA 重鏈	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAA GCCCCGCGAGTCACTGAGAATTAGCTGTAAAGGTTTCAG GCTACACCTTCACTACCTACTGGATGCACTGGGTCCGCC AGGCTACCGGTCAAGGCCTCGAGTGGATGGGTAATATC TACCCCGGCACCGCGGGCTCTAACTTCGACGAGAAGTTT AAGAATAGAGTGACTATCACCGCCGATAAGTCTACTAG CACCGCCTATATGGAAGTGTCTAGCCTGAGATCAGAGG ACACCGCCGTCTACTACTGCACTAGGTGGACTACCGGCA CAGGCGCCTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTG

TCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCCGTCCGTGTTCCCCCTG
GCACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAATCCACCGCTGCC
CTCGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCCGGAGCCCGTG
ACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGT
GCACACCTTCCCCGCTGTGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTA
CTCGCTGTCGTCGGTGGTCACGGTGCCTTCATCTAGCCT
GGGTACCAAGACCTACACTTGCAACGTGGACCACAAGC
CTTCCAACACTAAGGTGGACAAGCGCGTCGAATCGAAG
TACGGCCCACCGTGCCCGCCTTGTCCCGCGCCGGAGTTC
CTCGGCGGTCCCTCGGTCTTTCTGTTCCCACCGAAGCCC
AAGGACACTTTGATGATTTCCCGCACCCCTGAAGTGACA
TGCGTGGTCGTGGACGTGTACAGGAAGATCCGGAGGT
GCAGTTCAATTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCACA
ACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAACTCC
ACTTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGGTGTGTCATCAG
GACTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTC
CAACAAGGGACTTCCTAGCTCAATCGAAAAGACCATCT
CGAAAGCCAAGGGACAGCCCCGGGAACCCCAAGTGTAT
ACCCTGCCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCA
AGTCTCATTGACTTGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATC
GGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCGG
AAAACAACACTACAAGACCACCCCTCCGGTGCTGGACTCA
GACGGATCCTTCTTCTCTACTCGCGGCTGACCGTGGAT
AAGAGCAGATGGCAGGAGGGAAATGTGTTACAGCTGTTC
TGTGATGCATGAAGCCCTGCACAACCACTACACTCAGA
AGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA

BAP049-殖株-B LC

SEQ ID NO: 510 (卡巴特)	LCDR1	KSSQSLDSDGNQKNFLT
SEQ ID NO: 511 (卡巴特)	LCDR2	WASTRES
SEQ ID NO: 512 (卡巴特)	LCDR3	QNDYSYPYT
SEQ ID NO: 513 (喬西亞)	LCDR1	SQSLDSDGNQKNF
SEQ ID NO: 514 (喬西亞)	LCDR2	WAS
SEQ ID NO: 515 (喬西亞)	LCDR3	DYSYPY
SEQ ID NO: 516	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLDSDGNQKNFTWYQQKPGKAPKLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 517	DNA VL	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAGCCTGAGCCCTGGCGAGCGGGCTACACTGAGCTGTAAATCTAGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAATCAGAAGAAGCTTCCTGACCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTAAAGCCCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCCTCTACTAGAGAATCAGGCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTCACCTTCACTATCTCTAGCCTGCAGCCCGAGGATATCGCTACCTACTGTGAGAACGACTATAGCTACCCCTACACCTTCGGTCAAGGCACTAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 518	輕鏈	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLDSDGNQKNFTWYQQKPGKAPKLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 519	DNA 輕鏈	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAGCCTGAGCCCTGGCGAGCGGGCTACACTGAGCTGTAAATCTAGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAATCAGAAGAAGCTTCCT

			GACCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTAAAGCCCCTAAGC TGCTGATCTACTGGGCCTCTACTAGAGAATCAGGCGTG CCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCAGCTTCA CCTTCACTATCTCTAGCCTGCAGCCCAGGATATCGCTA CCTACTACTGTCAGAACGACTATAGCTACCCCTACACCT TCGGTCAAGGCACTAAGGTCGAGATTAAGCGTACGGTG GCCGCTCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAG CAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCT GAACAACCTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGA AGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAG AGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAG CCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACG AGAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAG GGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGG CGAGTGC
BAP049-殖株-E HC			
SEQ ID NO: 501 (卡巴特)	HCDR1	TYWMH	
SEQ ID NO: 502 (卡巴特)	HCDR2	NIYPGTGGSNFDEKFN	
SEQ ID NO: 503 (卡巴特)	HCDR3	WTTGTGAY	
SEQ ID NO: 504 (喬西亞)	HCDR1	GYTFTTY	
SEQ ID NO: 505 (喬西亞)	HCDR2	YPGTGG	
SEQ ID NO: 503 (喬西亞)	HCDR3	WTTGTGAY	
SEQ ID NO: 506	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTTYWMHWVRQ ATGQGLEWMGNIYPGTGGSNFDEKFNKRVITADKSTSTA YMESSLRSEDTAVYYCTRWTTGTGAYWGQGTITVTVSS	
SEQ ID NO: 507	DNA VH	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAA GCCCCGCGAGTCACTGAGAATTAGCTGTAAAGGTTTCAG GCTACACCTTCACTACCTACTGGATGCACTGGGTCCGCC AGGCTACCGGTCAAGGCCTCGAGTGGATGGGTAAATATC TACCCCGGCACCGGCGGCTCTAACTTCGACGAGAAGTTT AAGAATAGAGTGACTATCACCGCCGATAAGTCTACTAG CACCGCCTATATGGAAGTGTCTAGCCTGAGATCAGAGG ACACCGCCGTCTACTACTGCACTAGGTGGACTACCGGCA CAGGCGCCTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTG TCTAGC	
SEQ ID NO: 508	重鏈	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTTYWMHWVRQ ATGQGLEWMGNIYPGTGGSNFDEKFNKRVITADKSTSTA YMESSLRSEDTAVYYCTRWTTGTGAYWGQGTITVTVSSA STKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKYTC NVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS LG	
SEQ ID NO: 509	DNA 重鏈	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAA GCCCCGCGAGTCACTGAGAATTAGCTGTAAAGGTTTCAG GCTACACCTTCACTACCTACTGGATGCACTGGGTCCGCC AGGCTACCGGTCAAGGCCTCGAGTGGATGGGTAAATATC TACCCCGGCACCGGCGGCTCTAACTTCGACGAGAAGTTT AAGAATAGAGTGACTATCACCGCCGATAAGTCTACTAG CACCGCCTATATGGAAGTGTCTAGCCTGAGATCAGAGG	

ACACCGCCGTCTACTACTGCACTAGGTGGACTACCGGCA
CAGGCGCCTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTG
TCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGTCCGTGTTCCCCCTG
GCACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAATCCACCGCTGCC
CTCGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCCGGAGCCCGTG
ACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGT
GCACACCTTCCCCGCTGTGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTA
CTCGCTGTCGTCGGTGGTCACGGTGCCTTCATCTAGCCT
GGGTACCAAGACCTACACTTGCAACGTGGACCACAAGC
CTTCCAACACTAAGGTGGACAAGCGCGTCAATCGAAG
TACGGCCCCACCGTGCCCGCCTTGTCCCGCGCGGAGTTC
CTCGGCGGTCCCTCGGTCTTTCTGTTCCACCGAAGCCC
AAGGACACTTTGATGATTTCCCGCACCCCTGAAGTGACA
TGCGTGGTCGTGGACGTGTCACAGGAAGATCCGGAGGT
GCAGTTCAATTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCACA
ACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAACTCC
ACTTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGGTGCTGCATCAG
GACTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTC
CAACAAGGGACTTCCTAGCTCAATCGAAAAGACCATCT
CGAAAGCCAAGGGACAGCCCCGGGAACCCCAAGTGTAT
ACCCTGCCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCA
AGTCTCATTGACTTGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATC
GGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCGG
AAAACAACACTACAAGACCACCCCTCCGGTGCTGGACTCA
GACGGATCCTTCTTCTCTACTCGCGGCTGACCGTGGAT
AAGAGCAGATGGCAGGAGGGAAATGTGTTTACGCTGTTC
TGTGATGCATGAAGCCCTGCACAACCACTACACTCAGA
AGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA

BAP049-殖株-E LC

SEQ ID NO: 510 (卡巴特)	LCDR1	KSSQSLDSGNQKNFLT
SEQ ID NO: 511 (卡巴特)	LCDR2	WASTRES
SEQ ID NO: 512 (卡巴特)	LCDR3	QNDYSYPYT
SEQ ID NO: 513 (喬西亞)	LCDR1	SQSLDSGNQKNF
SEQ ID NO: 514 (喬西亞)	LCDR2	WAS
SEQ ID NO: 515 (喬西亞)	LCDR3	DYSYPY
SEQ ID NO: 520	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLDSGNQKNFTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 521	DNA VL	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAGCCTGAGCCCTGGCGAGCGGGCTACACTGAGCTGTAAATCTAGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAATCAGAAGAAGTTCCTGACCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTCAAGCCCCTAGACTGCTGATCTACTGGGCCTCTACTAGAGAATCAGGCGTGCCCTTAGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTCACTTCACTATCTCTAGCCTGGAAGCCGAGGACGCCGCTACCTACTACTGTCAGAACGACTATAGCTACCCCTACACCTTCGGTCAAGGCACTAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 522	輕鏈	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLDSGNQKNFTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 523	DNA 輕鏈	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAGCCTG AGCCCTGGCGAGCGGGCTACACTGAGCTGTAAATCTAG TCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAATCAGAAGAAGTTCTCT GACCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTCAAGCCCCTAGAC TGCTGATCTACTGGGCCTCTACTAGAGAATCAGGCGTG CCTCTAGGTTTATAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCAGCTTCA CCTTCACTATCTCTAGCCTGGAAGCCGAGGACGCCGCTA CCTACTACTGTCAGAACGACTATAGCTACCCCTACACCT TCGGTCAAGGCACTAAGGTCGAGATTAAGCGTACGGTG GCCGCTCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCAGCGACGAG CAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCT GAACAACCTTCTACCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGA AGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAG AGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAG CCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACG AGAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAG GGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGG CGAGTGC
----------------	--------	---

BAP049-殖株-B HC

SEQ ID NO: 524 (卡巴特)	HCDR1	ACCTACTGGATGCAC
SEQ ID NO: 525 (卡巴特)	HCDR2	AATATCTACCCCGGCACCGGCGGCTCTAACTTCGACGAG AAGTTTAAGAAT
SEQ ID NO: 526 (卡巴特)	HCDR3	TGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC
SEQ ID NO: 527 (喬西亞)	HCDR1	GGCTACACCTTCACTACCTAC
SEQ ID NO: 528 (喬西亞)	HCDR2	TACCCCGGCACCGGCGGC
SEQ ID NO: 526 (喬西亞)	HCDR3	TGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC

BAP049-殖株-B LC

SEQ ID NO: 529 (卡巴特)	LCDR1	AAATCTAGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAATCAGAA GAACTTCCTGACC
SEQ ID NO: 530 (卡巴特)	LCDR2	TGGGCCTCTACTAGAGAATCA
SEQ ID NO: 531 (卡巴特)	LCDR3	CAGAACGACTATAGCTACCCCTACACC
SEQ ID NO: 532 (喬西亞)	LCDR1	AGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAATCAGAAGAAGTT C
SEQ ID NO: 533 (喬西亞)	LCDR2	TGGGCCTCT
SEQ ID NO: 534 (喬西亞)	LCDR3	GACTATAGCTACCCCTAC

BAP049-殖株-E HC

SEQ ID NO: 524 (卡巴特)	HCDR1	ACCTACTGGATGCAC
SEQ ID NO: 525 (卡巴特)	HCDR2	AATATCTACCCCGGCACCGGCGGCTCTAACTTCGACGAG AAGTTTAAGAAT
SEQ ID NO: 526 (卡巴特)	HCDR3	TGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC
SEQ ID NO: 527 (喬西亞)	HCDR1	GGCTACACCTTCACTACCTAC
SEQ ID NO: 528 (喬西亞)	HCDR2	TACCCCGGCACCGGCGGC

SEQ ID NO: 526 (喬西亞) HCDR3 TGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC

BAP049-殖株-E LC

SEQ ID NO: 529 (卡巴特) LCDR1 AAATCTAGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAATCAGAA
GAACTTCCTGACC

SEQ ID NO: 530 (卡巴特) LCDR2 TGGGCCTCTACTAGAGAATCA

SEQ ID NO: 531 (卡巴特) LCDR3 CAGAACGACTATAGCTACCCCTACACC

SEQ ID NO: 532 (喬西亞) LCDR1 AGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAATCAGAAGAACTT
C

SEQ ID NO: 533 (喬西亞) LCDR2 TGGGCCTCT

SEQ ID NO: 534 (喬西亞) LCDR3 GACTATAGCTACCCCTAC

【0089】 在藥物組合的另一個實施方式中，N-(3-(5-(2-胺基嘧啶-4-基)-2-(三級丁基)噻唑-4-基)-2-氟苯基)-2,6-二氟苯磺醯胺（達拉菲尼）呈口服劑型。

【0090】 在藥物組合的另一個實施方式中，4-(3-胺基-6-((1S,3S,4S)-3-氟-4-羥基環己基)吡啶-2-基)-N-((S)-1-(3-溴-5-氟苯基)-2-(甲基胺基)乙基)-2-氟苯甲醯胺（化合物A）呈口服劑型。

【0091】 在另一個實施方式中是一種藥物組成物或商業包裝，該藥物組成物或商業包裝包含（上述實施方式中任一項所述之）藥物組合，和至少一種藥學上可接受的載劑。

【0092】 在另一個實施方式中是藥物組合（如在上述實施方式中任一項所述）或藥物組成物或商業包裝（如在上述實施方式中所述）用於在治療癌症中使用。

【0093】 在另一個實施方式中，該癌症選自乳癌、膽管癌、大腸直腸癌（CRC）、黑素瘤、非小細胞肺癌、卵巢癌和甲狀腺癌。

【0094】 在另一個實施方式中，該癌症係晚期或轉移性大腸直腸癌。

【0095】 在另一個實施方式中，該癌症係BRAF功能獲得性CRC或BRAF V600E、V600D或V600K CRC。

【0096】 在另一個實施方式中是根據上述實施方式中任一項所述之藥物組合或根據上述實施方式所述之藥物組成物或商業包裝用於製造治療癌症的藥物的用途。

【0097】 在另一個實施方式中，該癌症選自乳癌、膽管癌、大腸直腸癌、黑素瘤、非小細胞肺癌、卵巢癌和甲狀腺癌，視需要其中該癌症係晚期或轉移性大腸直腸癌，視需要其中該癌症係BRAF功能獲得性CRC或BRAF V600E、V600D或V600K CRC。

【0098】 在另一個實施方式中是治療選自乳癌、膽管癌、大腸直腸癌、黑素瘤、非小細胞肺癌、卵巢癌和甲狀腺癌的癌症之方法，該方法包括向有需要的患者投與上述實施方式中任一項所述之藥物組合或商業包裝或根據上述實施方式所述之藥物組成物。

【0099】 在另一個實施方式中，該大腸直腸癌係晚期或轉移性大腸直腸癌。

【0100】 在另一個實施方式中，該大腸直腸癌係BRAF功能獲得性CRC或BRAF V600E、V600D或V600K CRC。

【0101】 在另一個實施方式中，以約從約1至約150 mg/天（例如，1、2、5、10、50、100或150 mg/天）的劑量口服投與N-(3-(5-(2-胺基嘧啶-4-基)-2-(三級丁基)噻唑-4-基)-2-氟苯基)-2,6-二氟苯磺醯胺（達拉菲尼）。

【0102】 在另一個實施方式中，以從約50至約200 mg/天的劑量（例如，以約50、75、100、125、150、175或200 mg/天的劑量）口服投與4-(3-胺基-6-((1S,3S,4S)-3-氟-4-羥基環己基)吡啶-2-基)-N-((S)-1-(3-溴-5-氟苯基)-2-(甲基胺基)乙基)-2-氟苯甲醯胺（化合物A）。

【0103】 在另一個實施方式中，以約300-400 mg的劑量投與PD-1抑制劑。

【0104】 在另一個實施方式中，每3週一次或每4週一次投與PD-1抑制劑。

【0105】 在另一個實施方式中，每3週一次以約300 mg的劑量投與PD-1抑制劑。

【0106】 在另一個實施方式中，每4週一次以約400 mg的劑量投與PD-1抑制劑。

藥理學及效用

【0107】 RAS/RAF/MEK/ERK或有絲分裂原活化的蛋白激酶（MAPK）途徑係關鍵的傳訊級聯，其整合上游細胞信號（例如來自生長因子受體酪胺酸激酶的信號）以協調細胞增殖、分化和存活。MAPK傳訊通路在人類癌症中常常失調，最常見的是藉由RAS基因家族成員的突變。該等突變促進GTP結合狀態，導致RAS活性，進而導致RAF、MEK和ERK蛋白活化。在多種癌症類型（包括大腸直腸癌、肺癌和胰臟癌）中發現了RAS突變。

【0108】 RAF（快速加速纖維肉瘤）係一種作為逆轉錄病毒致癌基因發現的絲胺酸-蘇胺酸蛋白激酶。RAF蛋白家族（ARAF、BRAF、CRAF）在活化的RAS下游發出信號。活化的與GTP結合的RAS將胞漿失活的RAF單體募集到質膜，在那裡RAF與GTP-RAS結合，從而促進RAF的同源二聚作用和異源二聚作用。RAF的二聚化有助於構象變化，從而導致催化活化的RAF。活化的RAF二聚體磷酸化並活化MEK1/2（也稱為有絲分裂原活化的蛋白激酶）蛋白質，其隨後磷酸化並活化細胞外信號調節激酶（ERK1/2）。ERK使多種底物（包括多個轉錄因子）磷酸化，從而調節數種關鍵的細胞活性（包括增殖、代謝、遷移、和存活）。ERK1/2在癌症中的作用係被特別關注的，因為在ERK1/2傳訊級聯中活化其上游的突變被認為係所有癌症半數以上的原因。

【0109】 MAPK途徑中任何步驟的活化失調都有促成腫瘤發生。在大約7%的癌症中可以發現活化的BRAF突變，其中V600E占BRAF中觀察到的突變的90%

以上。V600E突變編碼纈胺酸到麩胺酸的取代，從而暴露出BRAF的活性位點，從而使其能夠獨立於RAS地作為單體或二聚體進行組成型活化。活性的RAF抑制劑（例如維莫非尼、達拉菲尼和康奈非尼）已在BRAF V600E轉移性黑色素瘤中顯示出顯著活性，總體應答率（ORR）為50%-70%。在V600E黑色素瘤中，該等抑制劑的成功源自結合並抑制RAF的突變單體形式的能力，RAF係癌細胞的致癌驅動因子。然而，在表現野生型BRAF的癌細胞中，或在V600E驅動的癌症患者的正常細胞中，抑制劑（例如維莫非尼）反常活化RAF傳訊。在BRAF V600E依賴性黑色素瘤細胞死亡而含有野生型BRAF的正常表皮細胞過度增殖的患者中，單體RAF抑制劑存在時MAPK途徑傳訊的複雜性凸顯出來。RAF在野生型細胞中的這種反常活化係由於抑制劑與RAF二聚體的一個原聚體結合而引起的。這導致構象變化，其阻止抑制劑結合至第二原聚體，並且隨後發生二聚體的第二RAF原聚體的反式活化。用RAF和MEK指導的組合療法抑制MAPK途徑的順序節點可減弱正常細胞中的RAF二聚體傳訊，從而改善轉移性BRAF V600E黑色素瘤的安全性和臨床活性。

【0110】在BRAF V600E大腸直腸癌（CRC）中，單一藥劑RAF抑制劑或組合RAF/MEK抑制顯示出最小的活性；與黑色素瘤中觀察到的活性相比，臨床受益有限。對RAF抑制劑和MEK抑制劑的內源性和獲得性抗性在MAPK途徑的多個水平上發展。繞過BRAF抑制的傳訊回饋和替代途徑的複雜性係在CRC中靶向活化BRAF的挑戰的核心。在生理條件下，藉由突變BRAF活化的MAPK傳訊導致藉由活化的RAS產生的信號的ERK依賴性負反饋。之所以表現出對RAF抑制的內源性抗性，係因為例如維莫非尼或達拉菲尼的藥物有效抑制了藉由MEK向ERK的BRAF V600E傳訊；然而，這導致了將依賴ERK的負反饋釋放到RAS傳訊中。因此，上游信號能夠活化RAS，從而導致BRAF V600E和野生型同二聚體和異二聚體的誘導。因為例如達拉菲尼和維莫非尼之類的藥物會抑制BRAF依賴性CRC

細胞中V600E活化的單體，而不影響RAS刺激的RAF二聚體傳訊，導致ERK的再活化程度高於BRAF V600E黑色素瘤中見到的，從而限制了在CRC中療法的有效性。

【0111】 在BRAF V600E CRC中受到BRAF和MEK抑制的壓力下，獲得性抗性迅速發展。例如，在對來自8位在MAPK抑制後經歷疾病進展的患者的9份腫瘤樣本進行的分析中，未發現導致MAPK再活化的基因改變。該等包括在KRAS或NRAS中的活化激活、野生型（WT）NRAS或KRAS或突變體BRAF V600E的擴增、和在BRAF V600E基因內缺失。還報導了獲得性遺傳改變，導致面對MAPK抑制劑的ERK傳訊再活化。獲得性抗性也可能藉由腫瘤微環境中的互補傳訊產生。

【0112】 儘管先前針對BRAF突變CRC的治療方法集中於化學療法和/或靶向療法，但是免疫療法也起作用。在腫瘤發生期間，癌細胞利用免疫檢查點途徑來避免被適應性免疫系統檢測到。計劃性細胞死亡蛋白1（PD-1）和計劃性死亡配位基1（PD-L1）免疫檢查點的單株抗體（mAb）抑制劑已在患有各種實性瘤的患者中顯示出顯著的抗腫瘤活性。PD-1係一個特別重要的免疫學靶標，其抑制劑如派姆單抗和納武單抗在黑色素瘤、非小細胞肺癌（NSCLC）和其他實性瘤中表現出單一藥劑活性。

【0113】 然而，除了具有微衛星不穩定性的腫瘤外，CRC通常對PD-1阻斷無應答。然而，有理由使用小分子抑制劑來調節免疫反應。抑制癌細胞中MAPK途徑的遺傳依賴性的相同療法會抑制免疫細胞中的傳訊級聯反應。例如，臨床前研究表明，MAPK通路抑制劑（例如BRAF和MEK抑制劑）可以藉由增加腫瘤中的腫瘤浸潤淋巴細胞來改善淋巴細胞歸巢和功能。

【0114】 因此，RAF和MEK抑制劑可以調節對腫瘤的免疫應答，並且將該等藥物與檢查點阻斷組合使用甚至可以提高「免疫冷（immune cold）」腫瘤（如

CRC) 對PD-1抑制的敏感性。此外，約20%的*BRAF*突變CRC具有遺傳微衛星不穩定性 (MSI-H: 微衛星不穩定性高) 的特徵。在MSI-H CRC中，無論*BRAF*的遺傳狀況如何，單一藥劑抗PD-1療法與30%-50%的應答率相關。此外，腫瘤免疫細胞中的靶向MAPK抑制作用可能會補充微衛星穩定和錯配修復缺陷的CRC中抗PD-1抗體的作用機制，從而潛在地增加抗癌免疫調節。

【0115】 肺癌係影響全球男性和女性的常見癌症。NSCLC係最常見的肺癌類型 (大致85%)，其中近似70%的患者在診斷時呈現出疾病晚期 (IIIB期或IV期)。約30%的NSCLC腫瘤含有活化的*KRAS*突變，並且該等突變與對EGFR酪胺酸激酶抑制劑 (TKI) 的抗性相關。在黑色素瘤、胰臟癌和卵巢癌中也經常發現活化的*KRAS*突變。在高達3%的NSCLC中觀察到*BRAF*突變，並且還被描述為EGFR突變陽性NSCLC中的抗性機制。

【0116】 CRC係一種常見疾病，2018年全球估計有180萬新病例，死亡人數 > 800,000 (世界衛生組織，Globocan 2018)。編碼MAPK途徑成分的基因中的突變很常見，*RAS*突變發生在大約50%的CRC中。大約10%-15%的CRC患者中存在編碼*BRAF* V600E的基因中的活化突變，並且突變的*BRAF*導致不良預後。V600E突變發生在大約90%的*BRAF*突變CRC中，儘管也可以看到其他突變，例如V600D或V600K突變。

【0117】 對於*BRAF*突變CRC的有效治療選擇係有限的。與黑色素瘤 (其中單一藥劑*BRAF*抑制劑在轉移環境中的應答率約為70%) 不同，用維莫非尼的單一藥劑抑制轉移性*BRAF*突變CRC與約5%的ORR相關。儘管結果仍然很差，但是與靶向MAPK途徑的藥物的組合療法已改善了*BRAF*抑制的有效性。與MEK抑制劑曲美替尼組合的達拉菲尼與12%的ORR以及3.5個月的無進展生存期 (PFS) 相關。

【0118】 在CRC中，藉由生長因子介導的受體酪胺酸激酶活化來刺激RAS支持致癌環境。在抑制BRAF的有效性後，EGFR抑制劑會適度改善；與EGFR抑制劑組合的BRAF抑制劑與4%-22%的ORR以及3.2-4.2個月的PFS相關。用達拉菲尼 + 曲美替尼 + 帕尼單抗治療的患者經歷21%的ORR以及4.2個月的PFS。在III期BEACON試驗中，將患者隨機化到第二線治療或更高級別的治療的三組中的一組：康奈非尼/比美替尼/西妥昔單抗、康奈非尼/西妥昔單抗、相對於伊立替康/西妥昔單抗或FOLFIRI/西妥昔單抗（對照）。接受三重療法的患者達到26%的ORR、4.3個月的PFS以及9個月的總生存期（OS）。康奈非尼加西妥昔單抗與20%的ORR、4.2個月的PFS以及8.4個月的OS相關。與伊立替康或FOLFIRI/西妥昔單抗相比，兩種方案均達到了統計學上的顯著改善，與2%的ORR、1.5個月的PFS以及5.4個月的OS相關。藉由組合抑制RAF、MEK和EGFR傳訊顯示出改善的結果，支持以下觀點：BRAF V600E CRC的治療需要抑制MAPK途徑內的多個節點。

【0119】 達拉菲尼（Tafinlar®）係口服生物可利用的、有效的和有選擇性的RAF激酶抑制劑，其作用機制與用結合三磷酸腺苷（ATP）競爭性抑制相一致。達拉菲尼抑制BRAF激酶的某些突變形式的能力係濃度依賴性的，BRAF V600E、BRAF V600K和BRAF V600D酶的體外IC50值分別為0.65、0.5和1.84 nM。抑制野生型BRAF和CRAF激酶需要更高的濃度，IC50值分別為3.2和5.0 nM。其他激酶（例如SIK1、NEK1和LIMK1）也可以在較高濃度下被抑制。在體外和體內，達拉菲尼抑制各種BRAF V600突變陽性腫瘤的細胞生長。

【0120】 達拉菲尼於2013年首次獲得FDA批准，作為對於治療患有BRAF V600突變的成年患者中不可切除或轉移性黑色素瘤的單一藥劑口服治療，並在其他多個國家對於相同適應症獲得了批准。達拉菲尼與曲美替尼的組合還被多個國家批准用於以下適應症（批准的適應症因國家而異）：患有BRAFFV600突變的不可切除或轉移性黑色素瘤患者的治療；患有BRAFFV600突變的III期黑色素瘤

（完全切除後）患者的輔助治療；患有BRAFV600突變的晚期非小細胞肺癌（NSCLC）患者的治療；和患有BRAFV600E突變局部晚期或轉移性間變性甲狀腺癌（ATC）患者的治療。

【0121】 達拉菲尼的推薦劑量為150 mg BID（相當於每日總劑量300 mg）。

【0122】 化合物A係一種有效的、選擇性的、口服生物可利用的ATP競爭性ERK1/2激酶抑制劑，其表現出能夠與RAF和MEK抑制劑或其他靶向治療劑組合使用的物理化學性質。化合物A有效抑制pERK傳訊，並在多個MAPK活化的癌細胞和異種移植模型中顯示出腫瘤生長抑制。重要的是，化合物A表現出了靶向多種已知的對BRAF和MEK抑制劑抗性的機制的廣泛療效，包括RAS突變、BRAF剪接變體和MEK1/2突變，如工程細胞系模型所示。化合物A的患者給藥劑量為45 mg至450 mg QD。

【0123】 在BRAF V600E CRC中進行的臨床研究表明，單獨的BRAF抑制劑或與MEK ± EGFR抑制劑組合的活性會受到MAPK途徑抑制不足的限制，並且在患者中，即使在最初臨床受益的情況下，抗性機制也會迅速出現。導致患者腫瘤中MAPK通路再活化的獲得性抗性機制主要涉及激活RAS、BRAF或MEK中的基因改變。這突顯了BRAF V600E CRC對MAPK信號的依賴，並表明對ERK（傳訊途徑的最下游點）的抑制可能會規避上游節點發生的抗性。

【0124】 工程化為BRAF V600E細胞系的RAS、RAF或MEK抗性突變的臨床前模型支持這一概念。儘管親代BRAF V600E細胞系對BRAF、MEK、EGFR和/或ERK抑制劑的組合敏感，但引入KRAS、NRAS、MEK1或MEK2抗性突變導致工程化BRAF V600E細胞對所有抑制劑組合的敏感性降低，但含有ERK抑制劑的除外。此外，與BRAF和MEK抑制劑相比，藉由使用含有BRAF和ERK抑制劑的藥物組合治療，可以更有效地抑制小鼠異種移植物中先前存在的低頻合併抗性植株的生長。

【0125】 在BRAF突變人細胞系異種移植HT29中體內測試了達拉菲尼 + 化合物A的組合。在臨床相關劑量下，與達拉菲尼 + 曲美替尼相比，用達拉菲尼 + 化合物A治療的小鼠獲得了相似的抗腫瘤應答（分別為36% T/C相對於28% T/C）。單一藥劑治療導致疾病進展，化合物A達到54% T/C，達拉菲尼達到59% T/C，曲美替尼達到48% T/C。如藉由缺少顯著的體重減輕所判斷的，所有方案具有良好的耐受性。該等數據表明，在患有BRAF突變的大腸直腸癌患者中，達拉菲尼+化合物A的組合可達到與達拉菲尼+曲美替尼相似的抗腫瘤活性，並為其在臨床中的使用提供了依據。

【0126】 藉由組合抑制BRAF、MEK和EGFR傳訊顯示出改善的結果，支持以下觀點：BRAF V600 CRC的治療需要抑制MAPK途徑內的多個節點。

【0127】 然而，對治療的內源性和獲得性抗性仍然是重要的挑戰，並且臨床結果仍然很差。組合療法的作用係提供對MAPK傳訊的更強大抑制，並解決MAPK途徑內外的抗性機制的複雜性。鑒於表徵BRAF突變CRC的訊息傳遞的適應性複雜性，需要抑制除RAF和ERK的蛋白質。舉例來說，一項針對218種BRAF-V600E突變CRC腫瘤的研究鑒定了以高KRAS/mTOR/AKT/4EBP1/EMT活化為特徵的腫瘤的不同子集，而細胞週期失調則以其他子集為特徵。

【0128】 儘管有靶向療法組合已取得了進展，例如BEACON試驗中的研究（Kopetz等人，2019），但在癌細胞中關閉BRAF V600致癌驅動的能力受限於1.) 無法完全抑制BRAF活性（由於RAF激酶具有藉由無效抑制的二聚體發出信號的適應能力）和2.) 不僅藉由MAPK途徑內的適應機制，而且還藉由平行傳訊途徑刺激正在進行的ERK活化。達拉菲尼、威羅菲尼和康奈非尼有效地抑制BRAF在BRAF突變癌細胞中的活性，其中單體V600E係致癌驅動因子。然而，該等藥物也可以藉由幾種機制導致ERK的反常活化。

【0129】 BRAF和MEK的組合抑制作用可藉由抑制途徑來改善；然而，ERK傳訊的持久性係這種治療方法的限制。阻斷ERK係MAPK途徑的最終信號，可以繞開自我調整上游信號，並提供改善的療效和對獲得性抗性的恢復力。

【0130】 BRAF選擇性抑制劑對組成型活化的單體BRAF V600有效；然而，對RAF抑制劑的內源性和獲得性抗性會在MAPK途徑的多個水平上發展。在穩態條件下，藉由BRAF V600E活化的MAPK傳訊導致藉由活化的RAS產生的信號的ERK依賴性負反饋。在BRAF V600 CRC中，之所以表現出對RAF抑制的內源性抗性，係因為例如達拉菲尼的藥物有效抑制了藉由MEK向ERK的單體BRAF V600E傳訊；然而，這導致了將依賴ERK的負反饋釋放到RAS傳訊中。因此，上游信號，例如藉由表皮生長因子受體（EGFR），能夠活化RAS。反過來，這導致了BRAF V600E和野生型同二聚體和異二聚體的誘導，包括向MEK提供信號的WT的同二聚體和異二聚體和BRAF-V600E、CRAF和BRAF-V600E和ARAF和BRAF-V600E。此外，RAF抑制劑（例如達拉菲尼）會變構地促進RAF家族成員的同源二聚作用和異源二聚作用，從而使抑制劑僅與一個RAF伴侶結合，而另一個未結合的二聚體伴侶在刺激下游傳訊方面具有催化活性。

【0131】 因此，例如達拉菲尼的藥物靶向BRAF依賴性CRC細胞中的V600E單體，而不影響RAS刺激的二聚體傳訊。這導致ERK再活化程度超過BRAF V600E黑色素瘤中所見的，從而限制了CRC中療法的有效性。此外，CRAF在BRAF抑制劑治療後介導反常活化中起重要作用。因此，有效抑制CRAF和BRAF活性的RAF抑制劑（例如化合物C）可以有效地阻斷BRAF突變的腫瘤和RAS驅動的自我調整MAPK活化。CRAF在抗性中的作用係在三重組合中同時包含抑制B-和CRAF的藥物的基本原理。

【0132】 達拉菲尼 + 化合物 A + 化合物C的三重組合可藉由利用獨特靶向BRAF V600驅動的癌細胞內源性和獲得性抗性機制的潛力來抑制BRAF V600E/K/D大腸直腸癌中的MAPK途徑。

【0133】 儘管單一藥劑檢查點阻斷在微衛星穩定CRC的治療中無效，但用抗PD-1抗體的MSI-H CRC治療與31%-50%的應答率相關。儘管大約有21%的BRAF V600E CRC可能顯示MSI-H狀態，但微衛星不穩定性似乎並未改變該疾病中對MAPK靶向療法的反應性。因此，患有MSI-H BRAF V600E CRC的受試者可能對RAF/MEK/ERK靶向療法或檢查點阻斷有應答。藉由解決MSI-H BRAF突變型CRC中致癌性BRAF和免疫療法應答性的共同特徵，將MAPK途徑抑制與檢查點阻斷組合可以改善僅使用任一類療法所達到的結果。

【0134】 此外，靶向的小分子抑制劑可以調節免疫微環境。例如，臨床前研究表明，MAPK途徑抑制劑可藉由增加腫瘤中的腫瘤浸潤淋巴細胞、減少上調的免疫抑制細胞介素來改善淋巴細胞的歸巢和功能，並通常抵消癌症的免疫耐受性。此外，BRAF-MAPK傳訊通路對於人黑素瘤細胞中的癌症免疫逃避至關重要。因此，RAF和MEK抑制劑可以調節對腫瘤的免疫應答，並且將該等藥物與檢查點阻斷組合使用甚至可以提高「免疫冷」腫瘤（如微衛星穩定CRC）對PD-1抑制的敏感性。

【0135】 達拉菲尼 + 化合物 A + 斯巴達珠單抗的三重組合可藉由利用獨特靶向BRAF V600驅動的癌細胞內源性和獲得性抗性機制的潛力來抑制BRAF V600E/K/D大腸直腸癌中的MAPK途徑。

藥物組成物

【0136】 在另一個方面，本發明提供了藥學上可接受的組成物，該藥學上可接受的組成物包含治療有效量的達拉菲尼、化合物A或化合物C，其與一種或

多種藥學上可接受的載劑（添加劑）和/或稀釋劑配製在一起。如下面詳細描述的，本發明之藥物組成物可特別配製用於固體或液體形式投與（包括適合口服投與的那些，例如浸液（水性或非水性溶液或懸浮液）、片劑（例如，針對口腔、舌下和全身吸收的那些）、大丸劑、粉劑、顆粒劑、糊劑（應用於舌））。

【0137】如本文所用的短語「藥學上可接受的載劑」係指藥學上可接受的材料、組成物或媒介物，如液體或固體填充劑、稀釋劑、賦形劑、製造助劑（例如潤滑劑、滑石鎂、硬脂酸鈣或硬脂酸鋅或硬脂酸）或溶劑包封材料，參與將主題化合物從一個器官或身體的一部分運送或運輸到另一個器官或身體的一部分。在與配製物的其他成分相容並且對患者無害的意義上，每種載劑必須是「可接受的」。可用作藥學上可接受的載劑的材料的一些實例包括：(1) 糖類，如乳糖、葡萄糖和蔗糖；(2) 澱粉，如玉米澱粉和馬鈴薯澱粉；(3) 纖維素及其衍生物，如羧甲基纖維素鈉、乙基纖維素和乙酸纖維素；(4) 粉狀黃芪膠；(5) 麥芽；(6) 明膠；(7) 滑石；(8) 賦形劑，如可可脂和栓劑蠟；(9) 油類，如花生油、棉籽油、紅花油、芝麻油、橄欖油、玉米油、大豆油等；(10) 二醇類，如丙二醇；(11) 多元醇類，如甘油、山梨醇、甘露醇和聚乙二醇；(12) 酯類，如油酸乙酯和月桂酸乙酯；(13) 瓊脂；(14) 緩衝劑，如氫氧化鎂和氫氧化鋁；(15) 海藻酸；(16) 無熱原水；(17) 等滲鹽水；(18) 林格氏溶液；(19) 乙醇；(20) pH緩衝溶液；(21) 聚酯，聚碳酸酯和/或聚酸酐；以及 (22) 藥物配製物中使用的其他無毒相容物質。

【0138】如上文所述，本發明化合物的某些實施方式可含有鹼性官能基，例如胺基或烷基胺基，並且由此能夠與藥學上可接受的酸形成藥學上可接受的鹽。在這方面，術語「藥學上可接受的鹽」係指本發明之化合物的相對無毒的無機和有機酸加成鹽。該等鹽可以在投與媒介物或劑型製造過程中原位製備，或者藉由使純化的游離鹼形式的本發明化合物與合適的有機或無機酸分別反應，並在隨後的純化期間分離由此形成的鹽來製備。代表性鹽包括氫溴酸鹽、鹽酸鹽、

硫酸鹽、硫酸氫鹽、磷酸鹽、硝酸鹽、乙酸鹽、戊酸鹽、油酸鹽、棕櫚酸鹽、硬脂酸鹽、月桂酸鹽、苯甲酸鹽、乳酸鹽、磷酸鹽、甲苯磺酸鹽、檸檬酸鹽、馬來酸鹽、富馬酸鹽、琥珀酸鹽、酒石酸鹽、萘酸鹽 (naphylate)、甲磺酸鹽、葡庚糖酸鹽、乳糖醛酸鹽和月桂基磺酸鹽等。

【0139】 主題化合物的藥學上可接受的鹽包括化合物的常規的無毒鹽或季銨鹽，例如來自無毒的有機酸或無機酸。例如，此類常規無毒鹽包括衍生自無機酸的那些，該無機酸例如為鹽酸、氫溴酸、硫酸、胺磺酸、磷酸、硝酸等；以及從有機酸製備的鹽，該有機酸例如為乙酸、丙酸、琥珀酸、乙醇酸、硬脂酸、乳酸、蘋果酸、酒石酸、檸檬酸、抗壞血酸、棕櫚酸、馬來酸、羥基馬來酸、苯乙酸、麩胺酸、苯甲酸、水楊酸、磺胺酸、2-乙醯氧基苯甲酸、富馬酸、甲苯磺酸、甲磺酸、乙二磺酸、草酸、異硫磺酸等。

【0140】 在其他情況下，本發明之化合物可以含有一個或多個酸性官能基，並且因此能夠與藥學上可接受的鹼形成藥學上可接受的鹽。在該等例子中，術語「藥學上可接受的鹽」係指本發明化合物的相對無毒的無機和有機鹼加成鹽。該等鹽也可以在投與媒介物或劑型製造過程中原位製備，或者藉由使純化的游離酸形式的化合物與合適的鹼（例如，藥學上可接受的金屬陽離子的氫氧化物、碳酸鹽或碳酸氫鹽）與氨、或與藥學上可接受的有機一級、二級或三級胺分別反應來製備。代表性的鹼或鹼土金屬鹽包括鋰鹽、鈉鹽、鉀鹽、鈣鹽、鎂鹽和鋁鹽等。可用於形成鹼加成鹽的代表性有機胺包括乙胺、二乙胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌啶等。

【0141】 達拉菲尼的特別較佳的鹽係其甲磺酸鹽。化合物A的特別較佳的溶劑化物係其鹽酸鹽。化合物C的特別較佳的形式係游離鹼晶體形式。

【0142】在組成物中還可以存在潤濕劑、乳化劑和潤滑劑，如十二烷基硫酸鈉和硬脂酸鎂，以及著色劑、釋放劑、包衣劑、甜味劑、調味劑和芳香劑、防腐劑和抗氧化劑。

【0143】藥學上可接受的抗氧化劑的實例包括：(1) 水溶性抗氧化劑，如抗壞血酸、鹽酸半胱胺酸、硫酸氫鈉、焦亞硫酸鈉、亞硫酸鈉等；(2) 油溶性抗氧化劑，如抗壞血酸棕櫚酸酯、丁羥茴醚（BHA）、丁羥甲苯（BHT）、卵磷脂、沒食子酸丙酯、 α -生育酚等；和 (3) 金屬螯合劑，如檸檬酸、乙二胺四乙酸（EDTA）、山梨醇、酒石酸、磷酸等。

【0144】本發明之配製物包括適合於口服、鼻、局部（包括口腔和舌下）、直腸、陰道和/或腸胃外投與的那些。配製物可以方便地以單位劑型存在並且可以藉由藥學領域熟知的任何方法製備。可以與載劑材料組合以產生單一劑型的活性成分的量將取決於所治療的宿主和特定的投與方式而變化。可以與載劑材料組合以產生單一劑型的活性成分的量通常為產生治療效果的化合物的量。通常，在百分之百的範圍內，量的範圍為從約0.1%至約99%的活性成分，較佳的是從約5%至約70%，最較佳的是從約10%至約30%。

【0145】在某些實施方式中，本發明之配製物包含選自由以下組成之群組的賦形劑：環糊精、纖維素、脂質體、膠束形成劑（例如膽汁酸）和聚合物載劑（例如聚酯和聚酸酐）；和本發明之化合物。在某些實施方式中，前述配製物使得本發明化合物在口服方面係生物可利用的。

【0146】製備該等配製物或組成物之方法包括將本發明之化合物與載劑和視需要的一種或多種輔助成分結合的步驟。通常，藉由將本發明之化合物與液體載劑或細碎固體載劑或兩者均勻且緊密地結合，並且然後如果需要，使產物成形來製備配製物。

【0147】 適用於口服投與的本發明之配製物可以呈膠囊、扁囊劑、丸劑、片劑、錠劑（使用調味基質，通常為蔗糖和阿拉伯膠或黃芪膠）、粉劑、顆粒劑的形式，或作為在水性或非水性液體中的溶液、懸浮液或固體分散體，或作為水包油或油包水液體乳劑，或作為酏劑或糖漿，或作為軟錠劑（使用惰性基質，例如明膠和甘油，或蔗糖和阿拉伯膠），和/或作為漱口水等等，每一形式含有預定量的本發明之化合物作為活性成分。本發明之化合物還能以大丸劑、藥糖劑或糊劑形式投與。

【0148】 在本發明用於口服投與的固體劑型（膠囊、片劑、丸劑、糖衣丸、粉劑、顆粒劑、含片（trouches）等）中，將活性成分與以下混合：一種或多種藥學上可接受的載劑，如檸檬酸鈉或磷酸二鈣，和/或以下任何一種：(1) 填充劑或增量劑，如澱粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇和/或矽酸；(2) 黏合劑，例如像羧甲基纖維素、藻酸鹽、明膠、聚乙烯吡咯啶酮、蔗糖和/或阿拉伯膠；(3) 保濕劑，如甘油；(4) 崩解劑，如瓊脂-瓊脂、碳酸鈣、馬鈴薯或木薯澱粉、海藻酸、某些矽酸鹽和碳酸鈉；(5) 溶液阻滯劑，如石蠟；(6) 吸收促進劑，如季銨化合物和表面活性劑，如泊洛沙姆和十二烷基硫酸鈉；(7) 潤濕劑，例如像鯨蠟醇、單硬脂酸甘油酯和非離子表面活性劑；(8) 吸收劑，如高嶺土和膨潤土；(9) 潤滑劑，如滑石、硬脂酸鈣、硬脂酸鎂、固體聚乙二醇、十二烷基硫酸鈉、硬脂酸鋅、硬脂酸鈉、硬脂酸及其混合物；(10) 著色劑；和 (11) 控釋劑，如交聚維酮或乙基纖維素。在膠囊、片劑和丸劑的情況下，藥物組成物還可以包含緩衝劑。還可以使用此類賦形劑，如乳糖（lactose或milk sugar）以及高分子量聚乙二醇等，將相似類型的固體組成物用作軟殼和硬殼明膠膠囊中的填料。

【0149】 片劑可以藉由壓縮或模製（視需要與一種或多種輔助成分一起）來製備。可以使用黏合劑（例如，明膠或羥丙基甲基纖維素）、潤滑劑、惰性稀釋劑、防腐劑、崩解劑（例如，羥基乙酸澱粉鈉或交聯羧甲基纖維素鈉）、表面

活性劑或分散劑來製備壓縮片劑。模製片劑可以藉由在合適的機器中模製用惰性液體稀釋劑潤濕的粉狀化合物的混合物來製備。

【0150】 片劑和本發明之藥物組成物的其他固體劑型（如糖衣丸、膠囊、丸劑和顆粒劑）可視需要進行刻痕或製備有包衣和外殼，例如腸溶包衣和藥物配製領域熟知的其他包衣。也可以使用例如不同比例的羥丙基甲基纖維素將它們配製成使其中的活性成分緩慢或受控釋放以提供所需的釋放曲線、其他聚合物基質、脂質體和/或微球。可以將它們配製用於快速釋放，例如冷凍乾燥。它們可以例如藉由細菌截留過濾器濾過，或藉由併入呈無菌固體組成物形式的滅菌劑來滅菌，該等無菌固體組成物可以在使用前立即溶解於無菌水或一些其他無菌可注射介質中。該等組成物也可以視需要包含遮光劑並且可以是如下組成物，該組成物在胃腸道的某一部分中，視需要以一種延遲的方式僅或者優先釋放一種或多種活性成分。可利用的嵌入式組成物的實例包括聚合物質以及蠟。活性成分還可以是微囊化形式，如果適當的話，可包含一種或多種上述賦形劑。

【0151】 用於口服投與本發明之化合物的液體劑型包括藥學上可接受的乳劑、微乳劑、溶液、懸浮液、糖漿和酏劑。除了活性成分之外，液體劑型可以含有本領域常用的惰性稀釋劑（例如像水或其他溶劑）、增溶劑和乳化劑，例如乙醇、異丙醇、碳酸乙酯、醋酸乙酯、苯甲醇、苯甲酸苄酯、丙二醇、1,3-丁二醇、油類（特別是棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄欖油、蓖麻油和芝麻油）、甘油、四氫呋喃甲醇、聚乙二醇和脫水山梨醇脂肪酸酯，及其混合物。

【0152】 除了惰性稀釋劑之外，口服組成物還可包括輔助劑，例如潤濕劑、乳化劑和懸浮劑、甜味劑、調味劑、著色劑、芳香劑以及防腐劑。

【0153】 除了含有活性化合物外，懸浮液還可以含有懸浮劑如，例如乙氧化異硬脂醇、聚氧乙烯山梨醇和山梨醇酯、微晶纖維素、偏氫氧化鋁（aluminum metahydroxide）、膨潤土、瓊脂-瓊脂和黃芪膠，及其混合物。

【0154】可以在本發明之藥物組成物中使用的合適的水性和非水性載劑的實例包括水、乙醇、多元醇（如，甘油、丙二醇、聚乙二醇等）及其合適的混合物、植物油（如橄欖油）和可注射的有機酯（如油酸乙酯）。適當流動性可以例如藉由以下方式來維持：藉由使用包衣材料（如卵磷脂），在分散體的情況下藉由維持所需粒度，以及藉由使用表面活性劑。

【0155】該等組成物也可以含有輔助劑如防腐劑、潤濕劑、乳化劑和分散劑。可以藉由包括各種抗細菌劑和抗真菌劑（例如，對羥苯甲酸酯、三氯三級丁醇、山梨酸苯酚等）確保阻止微生物對主題化合物起作用。還令人希望的是在組成物中包括等滲劑，如糖、氯化鈉等。

【0156】當將本發明之化合物作為藥物向人和動物投與時，它們可以本身或作為藥物組成物給予，該藥物組成物含有例如與藥學上可接受的載劑組合的0.1%至99%（更較佳的是10%至30%）的活性成分。

【0157】藉由熟悉該項技術者已知的常規方法將本發明之化合物和/或本發明之藥物組成物配製成藥學上可接受的劑型。

【0158】可以改變本發明藥物組成物中活性成分的實際劑量水平，以便獲得一定量的活性成分，該活性成分的量有效地實現對於特定的患者、組成物和投與方式的所期望的治療應答，而對患者沒有毒性。

【0159】選擇的劑量水平將取決於各種因素，包括所使用的本發明之具體化合物或其酯、鹽或醯胺的活性，投與途徑，投與時間，所採用的具體化合物的排泄率或代謝率，吸收的速度和程度，治療的持續時間，與所採用的具體化合物組合使用的其他藥物、化合物和/或材料，正被治療的患者的年齡、性別、體重、病症、一般健康狀況和先前病史，以及在醫學領域中熟知的類似因素。

【0160】具有本領域普通技術的醫師或獸醫可以容易地確定並開出所需的藥物組成物的有效量。例如，醫生或獸醫能以低於實現所期望的治療效果所需

的水平開始給藥於藥物組成物中使用的本發明之化合物，並逐漸增加劑量直至達到所期望的效果。

【0161】 通常，本發明之組合的合適日劑量將是每種化合物有效產生治療效果的最低劑量的量。這樣的有效劑量通常將取決於上述因素。

【0162】 在另一個方面，本發明提供了藥學上可接受的組成物，該藥學上可接受的組成物包含治療有效量的一種或多種上述主題化合物，其與一種或多種藥學上可接受的載劑（添加劑）和/或稀釋劑配製在一起。

實例

實例 1

達拉菲尼、化合物 A 和化合物 C

【0163】 根據 WO 2009/137391 的實例 58a 合成達拉菲尼。根據 WO 2015/066188 的實例 184 合成化合物 A。根據 WO 2014/151616 的實例 1156 合成化合物 C。WO 2009/137391、WO 2015/066188 和 WO 2014/151616 藉由引用以其全文併入本文。本文所述之達拉菲尼、化合物 A 或化合物 C 的組合的效用可以藉由以下實例中的測試來證明。

實例 2

MAPK 途徑抑制劑在裸鼠中人 BRAF 突變 CRC 異種移植模型 HT29 中的組合功效

【0164】 達拉菲尼（DRB436）：在 V600 的突變的 BRAF 的選擇性抑制劑，能夠抑制 BRAF（V600E）、BRAF（V600K）和 BRAF（V600G）突變。化合物 A：選擇性 ATP 競爭性 ERK1 和 ERK2 激酶抑制劑。化合物 C：BRAF 和 CRAF 的 ATP 競爭性抑制劑。將達拉菲尼在媒介物（在 pH 8 DI 水中 0.5% HPMC + 0.2% Tween 80）中口服給藥。將化合物 A 在媒介物（在 pH 7.4 磷酸鹽緩衝液中 0.5% HPC/0.5%

普朗尼克 (Pluronic) F127 (用酸調節至pH 4.0)) 中口服給藥。將化合物C (游離鹼結晶形式，呈粉末形式) 在MEPC4媒介物 (45% Cremophor RH40 + 27% PEG400 + 18% Capmul MCM C8 + 10%乙醇) 中口服給藥。

【0165】 HT29人大腸直腸癌 (CRC) 腫瘤細胞系購自ATCC，並已包括在諾華公司細胞系百科全書 (Cell Line Encyclopedia (CLE)) 細胞系保藏中。在IMPACT-VIII PCR測定組中，該品系不含支原體和鼠類病毒 (密蘇里州哥倫比亞密蘇裡大學 (University of Missouri, Columbia, MO)，動物研究診斷實驗室 (Research Animal Diagnostic Laboratory (RADIL))) 中進行。將細胞在含有5%二氧化碳的濕潤氣氛中於37°C保持在EMEM (龍沙基團 (Lonza) #12-611F) 加10% FBS (Gibco #26140-079) (56°C持續30分鐘，滅活的) 中。將細胞在80%-95%匯合 (用0.25%胰蛋白酶-EDTA (Gibco #25200-056)) 時收穫，在1200 rpm離心5分鐘後，用生長培養基中和，隨後將細胞沈澱重懸於冷HBSS (Gibco #14175-095) 中並且然後用等體積的Matrigel™基質 (康寧公司 (Corning) #354234) 混合以製備 10×10^6 個細胞/mL的終濃度。然後將200 μ l (2×10^6 個細胞) 腫瘤漿液皮下植入雌性裸小鼠的右側。藉由用卡尺測量並使用公式計算腫瘤體積，其中腫瘤體積 (TV) (mm^3) = $(l \times w^2)/2$ ，其中l係腫瘤的最長軸並且w垂直於l。每週兩次監測小鼠的腫瘤生長和體重。每週兩次監測動物健康和行為，包括梳毛和移動。每天監測小鼠的總體健康狀況。

【0166】 HCOX1329 CRC患者源性腫瘤異種移植物 (PDX) 藉由腫瘤漿液的連續傳代在裸鼠中繁殖。簡而言之，使用溫和的MACS分離器 (MACS美天旎生物技術公司 (MACS Miltenyi Biotec)、#120-005-331) 將先前傳代的新鮮腫瘤片段勻漿，藉由組織研磨機 (Chemglass生命科學公司 (Chemglass lifeSciences) #CLS-5020-085)，在PBS中稀釋。然後將100 μ l腫瘤漿液中的 4×10^6 個細胞皮下植入雌性裸小鼠的右側作為傳代7代。藉由用卡尺測量並使用公式計算腫瘤體

積，其中腫瘤體積（TV）（mm³）= (l x w²)/2，其中l係腫瘤的最長軸並且w垂直於l。每週兩次監測小鼠的腫瘤生長和體重。每週兩次監測動物健康和行為，包括梳毛和移動。每天監測小鼠的總體健康狀況。

【0167】 表1、表2和表3描述了每個模型的功效研究設計。以根據體重調整的10 mL/kg的劑量體積給予測試劑。在隨機分組時收集腫瘤尺寸和體重，之後在研究持續時間內每週收集兩次。

[表 1]

組	小鼠的數量	化合物	劑量 (mg/kg)	途徑	方案
1	9	媒介物	-	p.o.	-
2	9	達拉菲尼	30	p.o.	qd
3	9	曲美替尼	0.3	p.o.	qd
4	9	化合物A	75	p.o.	qd
5	9	達拉菲尼 + 曲美替尼	30 + 0.3	p.o + p.o.	qd + qd
6	9	達拉菲尼 + 化合物A	30 + 75	p.o + p.o.	qd + qd
7	9	達拉菲尼 + 曲美替尼 + 化合物A	30 + 0.3 + 75	p.o. + p.o. + p.o	qd + qd + qd

[表 2]

組	小鼠的數量	化合物	劑量 (mg/kg)	途徑	方案
1	7	媒介物	-	p.o.	-
2	7	達拉菲尼 + 曲美替尼 + 化合物A	30 + 0.15 + 75	p.o. + p.o. + p.o	qd + qd + qd
3	7	達拉菲尼 + 化合物A + 化合物C	30 + 75 + 25	p.o. + p.o. + p.o	qd + qd + bid

[表 3]

組	小鼠的數量	化合物	劑量 (mg/kg)	途徑	方案
1	5	媒介物	-	p.o.	-
2	5	達拉菲尼 + 曲美替尼	30 + 0.3	p.o. + p.o.	qd + qd

3	5	達拉菲尼 + 曲美替尼 + 西妥昔單抗	30 + 0.3 + 20	p.o. + p.o. + i.p.	qd + qd + biw
4	5	達拉菲尼 + 曲美替尼 + 化合物A	30 + 0.15 + 75	p.o. + p.o. + p.o	qd + qd + qd

p.o.：口服（口服灌胃）；i.p.：腹膜內；qd：每天一次；bid：一天兩次；
biw：每週兩次。

體重變化百分比計算為 $(BW_{\text{當前}} - BW_{\text{初始}})/(BW_{\text{初始}}) \times 100\%$ 。數據表示為相比處理開始日的體重變化平均百分比 $\pm$ SEM。

腫瘤體積：使用以下公式計算治療/對照（% T/C）值百分比：如果 $\Delta T \geq 0$ ，則 $\%T/C = 100 \times \Delta T/\Delta C$ ；如果 $\Delta T < 0$ ，則回歸 $\% = 100 \times \Delta T/T_{\text{初始}}$ ；其中：

T = 研究最後一天的藥物治療組的平均腫瘤體積；

ΔT = 研究最後一天的藥物治療組的平均腫瘤體積 - 初始給藥日的藥物治療組的平均腫瘤體積；

$T_{\text{初始}}$ = 初始給藥日的藥物治療組的平均腫瘤體積；

C = 研究最後一天的對照組的平均腫瘤體積；和

ΔC = 研究最後一天的對照組的平均腫瘤體積 - 初始給藥日的對照組的平均腫瘤體積。

所有數據均表示為平均值 $\pm$ 平均值標準誤差（SEM）。腫瘤體積和體重的百分比變化用於統計分析。使用單因素ANOVA和隨後的Tukey多重比較測驗進行組間比較。對於所有統計評估，顯著性水平設定為 $p < 0.05$ 。

【0168】在兩項研究中，使用在無胸腺裸鼠中BRAF突變HT29人CRC異種移植模型檢查了MAPK途徑抑制劑的抗腫瘤功效。在第一項研究（表1）中，用單一藥劑或按表1所述MAPK途徑抑制劑組合治療小鼠直到媒介物治療的腫瘤在治療開始後13天達到體積 $> 1000 \text{ mm}^3$ 。藉由評估移植後第39天（治療開始後第13天）的% T/C或%消退來確定抗腫瘤活性。在表3中報導了在治療開始後13天的

抗腫瘤活性、平均腫瘤體積變化、平均體重變化和存活率。治療後的腫瘤體積和體重變化繪製於圖1中。與媒介物治療組相比，每天用化合物A、達拉菲尼或曲美替尼單一藥劑治療分別達到54% T/C、59% T/C、或48% T/C。化合物A + 達拉菲尼的組合的抗腫瘤活性（35% T/C）與曲美替尼+達拉菲尼組合達到的抗腫瘤活性（28% T/C）相似，且當與達拉菲尼治療相比，兩種組合的抗腫瘤活性顯著不同（對於達拉菲尼 + 曲美替尼相對於達拉菲尼， $p = 0.0037$ ；對於達拉菲尼+化合物A相對於達拉菲尼， $p = 0.03$ ），但與曲美替尼或化合物A治療相比兩種組合的抗腫瘤活性無顯著差異。相比之下，當與媒介物、所有單一藥劑、和每個雙重組合組相比，化合物A + 達拉菲尼 + 曲美替尼的三重組合達到了顯著的($p < 0.05$)康腫瘤活性（3% T/C）（表1和圖1）。在兩週研究結束時，所有治療組的耐受性良好，體重減輕最小（少於10%）；沒有觀察到毒性或死亡的跡象（圖1）。

【0169】在第二項研究中，將達拉菲尼 + 曲美替尼 + 化合物A的三重組合的活性與達拉菲尼 + 化合物A + 化合物C的三重組合的活性進行了比較。用表2中所述之劑量和方案治療小鼠，直到在開始治療後24天用媒介物治療的腫瘤達到體積 $> 1000 \text{ mm}^3$ 。藉由評估移植後第52天（治療開始後第24天）的%T/C或%消退來確定抗腫瘤活性。在表4中報導了在治疗開始後24天的抗腫瘤活性、平均腫瘤體積變化、平均體重變化和存活率。

[表 4]

研究編號/模型	藥物	劑量 (mg/kg)	植入後天數	治療天數	腫瘤體積變化 (mm ³) 平均值 +/SEM	%體重變化平均值 +/SEM	存活率
7724/HT29	媒介物		39	13	1073.95 ± 146.00	-3.21 ± 1.38	9/9
	化合物 A	75 qd	39	13	577.31 ± 75.78	-5.61 ± 1.58	9/9

	曲美替尼	0.3 qd	39	13	511.85 ± 68.46	-3.92 ± 0.87	9/9
	達拉菲尼	30 qd	39	13	631.76 ± 39.70	-4.88 ± 1.25	9/9
	化合物 A + 達拉菲尼	75 qd + 30 qd	39	13	371.61 ± 44.29	-5.95 ± 0.91	9/9
	曲美替尼 + 達拉菲尼	0.3 qd + 30 qd	39	13	302.45 ± 39.97	-7.34 ± 1.26	9/9
	化合物 A + 曲美替尼 + 達拉菲尼	75 qd + 0.3 qd + 30 qd	39	13	29.47 ± 17.55	-3.98 ± 1.23	9/9
8031/ HT29	未治療對照		52	24	1157.33 ± 205.79	5.57 ± 2.91	4/7*
	化合物 A + 曲美替尼 + 達拉菲尼	75 qd + 0.15 qd + 30 qd	52	24	166.09 ± 33.35	0.45 ± 0.93	7/7
	化合物 C + 化合物 A + 達拉菲尼	25 bid + 75 qd + 30 qd	52	24	56.52 ± 17.67	-1.09 ± 0.87	7/7
8243/ HCOX 1329	媒介物		38	26	1685.22 ± 238.87	7.65 ± 1.10	5/5
	曲美替尼 + 達拉菲尼	0.3 qd + 30 qd	38	26	288.00 ± 55.77	1.74 ± 0.90	5/5
	曲美替尼 + 達拉菲尼 + 西妥昔單抗	0.3 qd + 30 qd + 20 biw	38	26	222.98 ± 96.84	2.83 ± 1.07	5/5
	曲美替尼 + 達拉菲尼 + 化合物 A	0.15 qd + 30 qd + 75 qd	38	26	-153.71 ± 20.61	5.58 ± 2.46	4/4

*由於腫瘤體積 > 1500 mm³，在第49天處死2隻小鼠，第45天處死1隻小鼠

【0170】治療後的腫瘤體積和體重變化繪製於圖2中。當與化合物A + 化合物C + 達拉菲尼達到的抗腫瘤活性（5% T/C）相比，化合物A + 曲美替尼 + 達拉菲尼的組合抗腫瘤活性（14% T/C）相似且無顯著差異（ $p = 0.38$ ）。與未治療對照組相比，兩種組合的抗腫瘤活性均得到顯著改善（兩組相對於未治療對照組， $p < 0.0001$ ）（表4和圖2）。在研究結束時，所有治療組的耐受性良好，體重減輕最小（少於10%）；沒有觀察到毒性或死亡的跡象（圖2）。

【0171】接下來，使用在無胸腺裸鼠中BRAF突變患者源性CRC異種移植模型HCOX1329檢查了MAPK途徑抑制劑的抗腫瘤功效。用媒介物或按表3所述MAPK途徑抑制劑組合治療小鼠直到媒介物治療的腫瘤達到體積 $> 1000 \text{ mm}^3$ 、或MAPK途徑抑制劑治療開始後62-67天。藉由評估植入後38天（治療開始後26天）的%T/C或%消退來確定抗腫瘤活性，在此時處死用媒介物治療的小鼠並且用MAPK途徑抑制劑治療的小鼠再治療24-29天並在植入後第62天（達拉菲尼 + 化合物A + 曲美替尼）或第67天（達拉菲尼 + 曲美替尼和達拉菲尼 + 曲美替尼 + 西妥昔單抗）處死。在表4中報導了在治療開始後26天的抗腫瘤活性、平均腫瘤體積變化、平均體重變化和存活率。治療後26-55天的腫瘤體積和體重變化繪製於圖3中。當與藉由曲美替尼 + 達拉菲尼 + 西妥昔單抗達到的抗腫瘤活性（13% T/C）相比，達拉菲尼 + 曲美替尼的組合抗腫瘤活性（17% T/C）相似且無統計學意義（ $p = 0.68$ ）。相比之下，化合物A + 達拉菲尼 + 曲美替尼的三重組合達到了腫瘤消退（70%消退），這與達拉菲尼 + 曲美替尼（ $p = 0.005$ ）或達拉菲尼 + 曲美替尼 + 西妥昔單抗組合（ $p = 0.04$ ）相比顯著不同（表4和圖3）。在兩週研究結束時，所有治療組的耐受性良好，體重減輕最小（少於10%）；沒有觀察到毒性或死亡的跡象（圖3）。

【0172】在BRAF突變CRC腫瘤異種移植植物中分析了MAPK途徑抑制劑組合的體內活性。在人BRAF突變細胞系來源的異種移植植物HT29中，達拉菲尼+曲

美替尼的組合活性類似於達拉菲尼 + 化合物A的組合活性，並且與每種單一藥劑相比，該活性適當地更好。相比之下，達拉菲尼 + 化合物A + 曲美替尼的三重組合或達拉菲尼 + 化合物A + 化合物C的三重組合在該異種移植模型中達到顯著的抗腫瘤活性。在人類患者源性BRAF突變CRC異種移植物HCOX1329中，達拉菲尼 + 化合物A + 曲美替尼的組合也比達拉菲尼 + 曲美替尼的組合和達拉菲尼 + 曲美替尼 + 西妥昔單抗的組合顯著地活性更高。總的來說，該等數據表明，在BRAF突變CRC患者中，達拉菲尼 + 化合物A + 曲美替尼的三重組合或達拉菲尼 + 化合物A + 化合物C的三重組合可達到更大和更持久的應答。

【0173】 應理解，本文所述之實例和實施方式僅用於舉例說明目的，其各種修飾或改變對於熟悉該項技術者將是明瞭的，並包括在本申請的精神和範圍內和所附申請專利範圍的範圍內。

【符號說明】 無

【生物材料寄存】 無

【序列表】

- <110> 瑞士商諾華公司（NOVARTIS AG）
- <120> 包含達拉菲尼、ERK抑制劑和RAF抑制劑或PD-1抑制劑之三重藥物組合
- <130> PAT058765
- <140> 110107183
- <141> 2021-02-26
- <150> US 62/983,020
- <151> 2020-02-28
- <160> 541
- <170> PatentIn 3.5版
- <210> 1
- <400> 1
000
- <210> 2
- <400> 2
000
- <210> 3
- <400> 3
000
- <210> 4
- <400> 4
000
- <210> 5
- <400> 5
000

<210> 6

<400> 6
000

<210> 7

<400> 7
000

<210> 8

<400> 8
000

<210> 9

<400> 9
000

<210> 10

<400> 10
000

<210> 11

<400> 11
000

<210> 12

<400> 12
000

<210> 13

<400> 13
000

<210> 14

<400> 14
000

<210> 15

<400> 15
000

<210> 16

<400> 16
000

<210> 17

<400> 17
000

<210> 18

<400> 18
000

<210> 19

<400> 19
000

<210> 20

<400> 20
000

<210> 21

<400> 21
000

<210> 22

<400> 22
000

<210> 23

<400> 23
000

<210> 24

<400> 24
000

<210> 25

<400> 25
000

<210> 26

<400> 26
000

<210> 27

<400> 27
000

<210> 28

<400> 28
000

<210> 29

<400> 29
000

<210> 30

<400> 30
000

<210> 31

<400> 31
000

<210> 32

<400> 32
000

<210> 33

<400> 33
000

<210> 34

<400> 34
000

<210> 35

<400> 35
000

<210> 36

<400> 36
000

<210> 37

<400> 37
000

<210> 38

<400> 38
000

<210> 39

<400> 39
000

<210> 40

<400> 40
000

<210> 41

<400> 41
000

<210> 42

<400> 42
000

<210> 43

<400> 43
000

<210> 44

<400> 44
000

<210> 45

<400> 45
000

<210> 46

<400> 46
000

<210> 47

<400> 47
000

<210> 48

<400> 48
000

<210> 49

<400> 49
000

<210> 50

<400> 50
000

<210> 51

<400> 51
000

<210> 52

<400> 52
000

<210> 53

<400> 53
000

<210> 54

<400> 54
000

<210> 55

<400> 55
000

<210> 56

<400> 56
000

<210> 57

<400> 57
000

<210> 58

<400> 58
000

<210> 59

<400> 59
000

<210> 60

<400> 60
000

<210> 61

<400> 61
000

<210> 62

<400> 62
000

<210> 63

<400> 63
000

<210> 64

<400> 64
000

<210> 65

<400> 65
000

<210> 66

<400> 66
000

<210> 67

<400> 67
000

<210> 68

<400> 68
000

<210> 69

<400> 69
000

<210> 70

<400> 70
000

<210> 71

<400> 71
000

<210> 72

<400> 72
000

<210> 73

<400> 73
000

<210> 74

<400> 74
000

<210> 75

<400> 75
000

<210> 76

<400> 76
000

<210> 77

<400> 77
000

<210> 78

<400> 78
000

<210> 79

<400> 79
000

<210> 80

<400> 80
000

<210> 81

<400> 81
000

<210> 82

<400> 82
000

<210> 83

<400> 83
000

<210> 84

<400> 84
000

<210> 85

<400> 85
000

<210> 86

<400> 86
000

<210> 87

<400> 87
000

<210> 88

<400> 88
000

<210> 89

<400> 89
000

<210> 90

<400> 90
000

<210> 91

<400> 91
000

<210> 92

<400> 92
000

<210> 93

<400> 93
000

<210> 94

<400> 94
000

<210> 95

<400> 95
000

<210> 96

<400> 96
000

<210> 97

<400> 97
000

<210> 98

<400> 98
000

<210> 99

<400> 99
000

<210> 100

<400> 100
000

<210> 101

<400> 101
000

<210> 102

<400> 102
000

<210> 103

<400> 103
000

<210> 104

<400> 104
000

<210> 105

<400> 105
000

<210> 106

<400> 106
000

<210> 107

<400> 107
000

<210> 108

<400> 108
000

<210> 109

<400> 109
000

<210> 110

<400> 110
000

<210> 111

<400> 111
000

<210> 112

<400> 112
000

<210> 113

<400> 113
000

<210> 114

<400> 114
000

<210> 115

<400> 115
000

<210> 116

<400> 116
000

<210> 117

<400> 117
000

<210> 118

<400> 118
000

<210> 119

<400> 119
000

<210> 120

<400> 120
000

<210> 121

<400> 121
000

<210> 122

<400> 122
000

<210> 123

<400> 123
000

<210> 124

<400> 124
000

<210> 125

<400> 125
000

<210> 126

<400> 126
000

<210> 127

<400> 127
000

<210> 128

<400> 128
000

<210> 129

<400> 129
000

<210> 130

<400> 130
000

<210> 131

<400> 131
000

<210> 132

<400> 132
000

<210> 133

<400> 133
000

<210> 134

<400> 134
000

<210> 135

<400> 135
000

<210> 136

<400> 136
000

<210> 137

<400> 137
000

<210> 138

<400> 138
000

<210> 139

<400> 139
000

<210> 140

<400> 140
000

<210> 141

<400> 141
000

<210> 142

<400> 142
000

<210> 143

<400> 143
000

<210> 144

<400> 144
000

<210> 145

<400> 145
000

<210> 146

<400> 146
000

<210> 147

<400> 147
000

<210> 148

<400> 148
000

<210> 149

<400> 149
000

<210> 150

<400> 150
000

<210> 151

<400> 151
000

<210> 152

<400> 152
000

<210> 153

<400> 153
000

<210> 154

<400> 154
000

<210> 155

<400> 155
000

<210> 156

<400> 156
000

<210> 157

<400> 157
000

<210> 158

<400> 158
000

<210> 159

<400> 159
000

<210> 160

<400> 160
000

<210> 161

<400> 161
000

<210> 162

<400> 162
000

<210> 163

<400> 163
000

<210> 164

<400> 164
000

<210> 165

<400> 165
000

<210> 166

<400> 166
000

<210> 167

<400> 167
000

<210> 168

<400> 168
000

<210> 169

<400> 169
000

<210> 170

<400> 170
000

<210> 171

<400> 171
000

<210> 172

<400> 172
000

<210> 173

<400> 173
000

<210> 174

<400> 174
000

<210> 175

<400> 175
000

<210> 176

<400> 176
000

<210> 177

<400> 177
000

<210> 178

<400> 178
000

<210> 179

<400> 179
000

<210> 180

<400> 180
000

<210> 181

<400> 181
000

<210> 182

<400> 182
000

<210> 183

<400> 183
000

<210> 184

<400> 184
000

<210> 185

<400> 185
000

<210> 186

<400> 186
000

<210> 187

<400> 187
000

<210> 188

<400> 188
000

<210> 189

<400> 189
000

<210> 190

<400> 190
000

<210> 191

<400> 191
000

<210> 192

<400> 192
000

<210> 193

<400> 193
000

<210> 194

<400> 194
000

<210> 195

<400> 195
000

<210> 196

<400> 196
000

<210> 197

<400> 197
000

<210> 198

<400> 198
000

<210> 199

<400> 199
000

<210> 200

<400> 200
000

<210> 201

<400> 201
000

<210> 202

<400> 202
000

<210> 203

<400> 203
000

<210> 204

<400> 204
000

<210> 205

<400> 205
000

<210> 206

<400> 206
000

<210> 207

<400> 207
000

<210> 208

<400> 208
000

<210> 209

<400> 209
000

<210> 210

<400> 210
000

<210> 211

<400> 211
000

<210> 212

<400> 212
000

<210> 213

<400> 213
000

<210> 214

<400> 214
000

<210> 215

<400> 215
000

<210> 216

<400> 216
000

<210> 217

<400> 217
000

<210> 218

<400> 218
000

<210> 219

<400> 219
000

<210> 220

<400> 220
000

<210> 221

<400> 221
000

<210> 222

<400> 222
000

<210> 223

<400> 223
000

<210> 224

<400> 224
000

<210> 225

<400> 225
000

<210> 226

<400> 226
000

<210> 227

<400> 227
000

<210> 228

<400> 228
000

<210> 229

<400> 229
000

<210> 230

<400> 230
000

<210> 231

<400> 231
000

<210> 232

<400> 232
000

<210> 233

<400> 233
000

<210> 234

<400> 234
000

<210> 235

<400> 235
000

<210> 236

<400> 236
000

<210> 237

<400> 237
000

<210> 238

<400> 238
000

<210> 239

<400> 239
000

<210> 240

<400> 240
000

<210> 241

<400> 241
000

<210> 242

<400> 242
000

<210> 243

<400> 243
000

<210> 244

<400> 244
000

<210> 245

<400> 245
000

<210> 246

<400> 246
000

<210> 247

<400> 247
000

<210> 248

<400> 248
000

<210> 249

<400> 249
000

<210> 250

<400> 250
000

<210> 251

<400> 251
000

<210> 252

<400> 252
000

<210> 253

<400> 253
000

<210> 254

<400> 254
000

<210> 255

<400> 255
000

<210> 256

<400> 256
000

<210> 257

<400> 257
000

<210> 258

<400> 258
000

<210> 259

<400> 259
000

<210> 260

<400> 260
000

<210> 261

<400> 261
000

<210> 262

<400> 262
000

<210> 263

<400> 263
000

<210> 264

<400> 264
000

<210> 265

<400> 265
000

<210> 266

<400> 266
000

<210> 267

<400> 267
000

<210> 268

<400> 268
000

<210> 269

<400> 269
000

<210> 270

<400> 270
000

<210> 271

<400> 271
000

<210> 272

<400> 272
000

<210> 273

<400> 273
000

<210> 274

<400> 274
000

<210> 275

<400> 275
000

<210> 276

<400> 276
000

<210> 277

<400> 277
000

<210> 278

<400> 278
000

<210> 279

<400> 279
000

<210> 280

<400> 280
000

<210> 281

<400> 281
000

<210> 282

<400> 282
000

<210> 283

<400> 283
000

<210> 284

<400> 284
000

<210> 285

<400> 285
000

<210> 286

<400> 286
000

<210> 287

<400> 287
000

<210> 288

<400> 288
000

<210> 289

<400> 289
000

<210> 290

<400> 290
000

<210> 291

<400> 291
000

<210> 292

<400> 292
000

<210> 293

<400> 293
000

<210> 294

<400> 294
000

<210> 295

<400> 295
000

<210> 296

<400> 296
000

<210> 297

<400> 297
000

<210> 298

<400> 298
000

<210> 299

<400> 299
000

<210> 300

<400> 300
000

<210> 301

<400> 301
000

<210> 302

<400> 302
000

<210> 303

<400> 303
000

<210> 304

<400> 304
000

<210> 305

<400> 305
000

<210> 306

<400> 306
000

<210> 307

<400> 307
000

<210> 308

<400> 308
000

<210> 309

<400> 309
000

<210> 310

<400> 310
000

<210> 311

<400> 311
000

<210> 312

<400> 312
000

<210> 313

<400> 313
000

<210> 314

<400> 314
000

<210> 315

<400> 315
000

<210> 316

<400> 316
000

<210> 317

<400> 317
000

<210> 318

<400> 318
000

<210> 319

<400> 319
000

<210> 320

<400> 320
000

<210> 321

<400> 321
000

<210> 322

<400> 322
000

<210> 323

<400> 323
000

<210> 324

<400> 324
000

<210> 325

<400> 325
000

<210> 326

<400> 326
000

<210> 327

<400> 327
000

<210> 328

<400> 328
000

<210> 329

<400> 329
000

<210> 330

<400> 330
000

<210> 331

<400> 331
000

<210> 332

<400> 332
000

<210> 333

<400> 333
000

<210> 334

<400> 334
000

<210> 335

<400> 335
000

<210> 336

<400> 336
000

<210> 337

<400> 337
000

<210> 338

<400> 338
000

<210> 339

<400> 339
000

<210> 340

<400> 340
000

<210> 341

<400> 341
000

<210> 342

<400> 342
000

<210> 343

<400> 343
000

<210> 344

<400> 344
000

<210> 345

<400> 345
000

<210> 346

<400> 346
000

<210> 347

<400> 347
000

<210> 348

<400> 348
000

<210> 349

<400> 349
000

<210> 350

<400> 350
000

<210> 351

<400> 351
000

<210> 352

<400> 352
000

<210> 353

<400> 353
000

<210> 354

<400> 354
000

<210> 355

<400> 355
000

<210> 356

<400> 356
000

<210> 357

<400> 357
000

<210> 358

<400> 358
000

<210> 359

<400> 359
000

<210> 360

<400> 360
000

<210> 361

<400> 361
000

<210> 362

<400> 362
000

<210> 363

<400> 363
000

<210> 364

<400> 364
000

<210> 365

<400> 365
000

<210> 366

<400> 366
000

<210> 367

<400> 367
000

<210> 368

<400> 368
000

<210> 369

<400> 369
000

<210> 370

<400> 370
000

<210> 371

<400> 371
000

<210> 372

<400> 372
000

<210> 373

<400> 373
000

<210> 374

<400> 374
000

<210> 375

<400> 375
000

<210> 376

<400> 376
000

<210> 377

<400> 377
000

<210> 378

<400> 378
000

<210> 379

<400> 379
000

<210> 380

<400> 380
000

<210> 381

<400> 381
000

<210> 382

<400> 382
000

<210> 383

<400> 383
000

<210> 384

<400> 384
000

<210> 385

<400> 385
000

<210> 386

<400> 386
000

<210> 387

<400> 387
000

<210> 388

<400> 388
000

<210> 389

<400> 389
000

<210> 390

<400> 390
000

<210> 391

<400> 391
000

<210> 392

<400> 392
000

<210> 393

<400> 393
000

<210> 394

<400> 394
000

<210> 395

<400> 395
000

<210> 396

<400> 396
000

<210> 397

<400> 397
000

<210> 398

<400> 398
000

<210> 399

<400> 399
000

<210> 400

<400> 400
000

<210> 401

<400> 401
000

<210> 402

<400> 402
000

<210> 403

<400> 403
000

<210> 404

<400> 404
000

<210> 405

<400> 405
000

<210> 406

<400> 406
000

<210> 407

<400> 407
000

<210> 408

<400> 408
000

<210> 409

<400> 409
000

<210> 410

<400> 410
000

<210> 411

<400> 411
000

<210> 412

<400> 412
000

<210> 413

<400> 413
000

<210> 414

<400> 414
000

<210> 415

<400> 415
000

<210> 416

<400> 416
000

<210> 417

<400> 417
000

<210> 418

<400> 418
000

<210> 419

<400> 419
000

<210> 420

<400> 420
000

<210> 421

<400> 421
000

<210> 422

<400> 422
000

<210> 423

<400> 423
000

<210> 424

<400> 424
000

<210> 425

<400> 425
000

<210> 426

<400> 426
000

<210> 427

<400> 427
000

<210> 428

<400> 428
000

<210> 429

<400> 429
000

<210> 430

<400> 430
000

<210> 431

<400> 431
000

<210> 432

<400> 432
000

<210> 433

<400> 433
000

<210> 434

<400> 434
000

<210> 435

<400> 435
000

<210> 436

<400> 436
000

<210> 437

<400> 437
000

<210> 438

<400> 438
000

<210> 439

<400> 439
000

<210> 440

<400> 440
000

<210> 441

<400> 441
000

<210> 442

<400> 442
000

<210> 443

<400> 443
000

<210> 444

<400> 444
000

<210> 445

<400> 445
000

<210> 446

<400> 446
000

<210> 447

<400> 447
000

<210> 448

<400> 448
000

<210> 449

<400> 449
000

<210> 450

<400> 450
000

<210> 451

<400> 451
000

<210> 452

<400> 452
000

<210> 453

<400> 453
000

<210> 454

<400> 454
000

<210> 455

<400> 455
000

<210> 456

<400> 456
000

<210> 457

<400> 457
000

<210> 458

<400> 458
000

<210> 459

<400> 459
000

<210> 460

<400> 460
000

<210> 461

<400> 461
000

<210> 462

<400> 462
000

<210> 463

<400> 463
000

<210> 464

<400> 464
000

<210> 465

<400> 465
000

<210> 466

<400> 466
000

<210> 467

<400> 467
000

<210> 468

<400> 468
000

<210> 469

<400> 469
000

<210> 470

<400> 470
000

<210> 471

<400> 471
000

<210> 472

<400> 472
000

<210> 473

<400> 473
000

<210> 474

<400> 474
000

<210> 475

<400> 475
000

<210> 476

<400> 476
000

<210> 477

<400> 477
000

<210> 478

<400> 478
000

<210> 479

<400> 479
000

<210> 480

<400> 480
000

<210> 481

<400> 481
000

<210> 482

<400> 482
000

<210> 483

<400> 483
000

<210> 484

<400> 484
000

<210> 485

<400> 485
000

<210> 486

<400> 486
000

<210> 487

<400> 487
000

<210> 488

<400> 488
000

<210> 489

<400> 489
000

<210> 490

<400> 490
000

<210> 491

<400> 491
000

<210> 492

<400> 492
000

<210> 493

<400> 493
000

<210> 494

<400> 494
000

<210> 495

<400> 495
000

<210> 496

<400> 496
000

<210> 497

<400> 497
000

<210> 498

<400> 498
000

<210> 499

<400> 499
000

<210> 500

<400> 500
000

<210> 501
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /注="人工序列的描述：合成
肽"

<400> 501
Thr Tyr Trp Met His
1 5

<210> 502
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /注="人工序列的描述：合成
肽"

<400> 502
Asn Ile Tyr Pro Gly Thr Gly Gly Ser Asn Phe Asp Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Asn

<210> 503

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /注="人工序列的描述：合成肽"

<400> 503

Trp Thr Thr Gly Thr Gly Ala Tyr
1 5

<210> 504

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /注="人工序列的描述：合成肽"

<400> 504

Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
1 5

<210> 505

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /注="人工序列的描述：合成肽"

<400> 505

Tyr Pro Gly Thr Gly Gly
1 5

<210> 506

<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /注="人工序列的描述：合成
多肽"

<400> 506
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
 20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Asn Ile Tyr Pro Gly Thr Gly Gly Ser Asn Phe Asp Glu Lys Phe
 50 55 60

Lys Asn Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Thr Arg Trp Thr Thr Gly Thr Gly Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 507
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /注="人工序列的描述：合成

多核苷酸"

<400> 507
gagggtgcagc tgggtgcagtc aggcgccgaa gtgaagaagc ccggcgagtc actgagaatt 60

agctgtaaag gttcaggcta caccttcaact acctactgga tgcactgggt ccgccaggct 120

accggtcaag gcctcgagtg gatgggtaat atctaccccg gcaccggcgg ctctaacttc 180

gacgagaagt ttaagaatag agtgactatc accgccgata agtctactag caccgcctat 240

atggaactgt ctagcctgag atcagaggac accgccgtct actactgcac taggtggact 300

accggcacag gcgcctactg ggggtcaaggc actaccgtga ccgtgtctag c 351

<210> 508

<211> 443

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /注="人工序列的描述：合成
多肽"

<400> 508
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Asn Ile Tyr Pro Gly Thr Gly Gly Ser Asn Phe Asp Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asn Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr	Arg	Trp	Thr	Thr	Gly	Thr	Gly	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	
			100					105					110			
Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	
		115						120				125				
Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	
		130					135				140					
Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	
145					150					155					160	
Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	
				165					170					175		
Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	
			180					185					190			
Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	
		195					200					205				
Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	
		210					215				220					
Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	
225					230					235					240	
Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	
				245					250					255		
Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	
			260					265					270			
Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	
		275					280					285				
Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	

290

295

300

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val

305310315320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala

325330335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln

340345350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly

355360365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro

370375380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser

385390395400

Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu

405410415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His

420425430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly

435440

<210> 509

<211> 1329

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /注="人工序列的描述：合成多核苷酸"

<400> 509

gagggtgcagc tgggtgcagtc aggcgccgaa gtgaagaagc ccggcgagtc actgagaatt	60
agctgtaaag gttcaggcta caccttcaact acctactgga tgcactgggt ccgccaggct	120
accggtcaag gcctcgagtg gatgggtaat atctaccccg gcaccggcgg ctctaacttc	180
gacgagaagt ttaagaatag agtgactatc accgccgata agtctactag caccgcctat	240
atggaactgt ctagcctgag atcagaggac accgccgtct actactgcac taggtggact	300
accggcacag gcgcctactg ggggtcaaggc actaccgtga ccgtgtctag cgctagcact	360
aaggggcccg cegtgttccc cctggcacct tgtagccgga gcactagcga atccaccgt	420
gccctcggct gcctgggtcaa ggattacttc ccggagcccc tgaccgtgtc ctggaacagc	480
ggagccctga cctccggagt gcacaccttc cccgctgtgc tgcagagctc cgggctgtac	540
tcgctgtcgt cgggtggtcac ggtgcccttca tctagcctgg gtaccaagac ctacacttgc	600
aacgtggacc acaagccttc caacactaag gtggacaagc gcgtcgaatc gaagtacggc	660
ccaccgtgcc cgcttgttcc cgcgccggag ttccctcggc gtccctcggc ctttctgttc	720
ccaccgaagc ccaaggacac tttgatgatt tcccgaccc ctgaagtgc atgcgtggtc	780
gtggacgtgt cacaggaaga tccggaggtg cagttcaatt ggtacgtgga tggcgtcgag	840
gtgcacaacg ccaaaaacaa gccgagggag gagcagttca actccactta ccgcgtcgtg	900
tccgtgctga cgggtgctgca tcaggactgg ctgaacggga aggagtacaa gtgcaaagtg	960
tccaacaagg gacttcctag ctcaatcgaa aagaccatct cgaaagccaa gggacagccc	1020
cgggaacccc aagtgtatac cctgccaccg agccagggaag aaatgactaa gaaccaagtc	1080
tcattgactt gccttgtgaa gggcttctac ccatcggata tcgccgtgga atgggagtcc	1140
aacggccagc cggaaaacaa ctacaagacc acccctccgg tgctggactc agacggatcc	1200
ttcttctct actcgcggct gaccgtggat aagagcagat ggcaggaggg aaatgtgttc	1260
agctgtttctg tgatgcatga agccctgcac aaccactaca ctcagaagtc cctgtccctc	1320
tccctggga	1329

<210> 510
<211> 17
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /注="人工序列的描述：合成肽"

<400> 510

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Gly Asn Gln Lys Asn Phe Leu
1 5 10 15

Thr

<210> 511

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /注="人工序列的描述：合成肽"

<400> 511

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 512

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /注="人工序列的描述：合成肽"

<400> 512

Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 513

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /注="人工序列的描述：合成
肽"

<400> 513
Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Gly Asn Gln Lys Asn Phe
1 5 10

<210> 514
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /注="人工序列的描述：合成
肽"

<400> 514
Trp Ala Ser
1

<210> 515
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /注="人工序列的描述：合成
肽"

<400> 515
Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr
1 5

<210> 516
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /注="人工序列的描述：合成
多肽"

<400> 516
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Phe Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
35 40 45

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 517
<211> 339
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /注="人工序列的描述：合成
多核苷酸"

<400> 517
gagatcgtcc tgactcagtc acccgtacc ctgagcctga gccctggcga gcgggctaca 60

ctgagctgta aatctagtea gtcactgctg gatagcggta atcagaagaa cttcctgacc 120

tggtatcagc agaagcccgg taaagcccct aagctgctga tctactgggc ctctactaga 180

gaatcaggcg tgcctctctag gtttagcggg agcggtagtg gcaccgactt cacccttact240

atctctagcc tgcagcccga ggatatcgct acctactact gtcagaacga ctatagctac300

ccctacacct tcggicaagg cactaaggtc gagattaag339

<210> 518
<211> 220
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /注="人工序列的描述：合成多肽"

<400> 518
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Phe Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 35 40 45

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95

Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
 100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
180 185 190

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
195 200 205

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 519
<211> 660
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /注="人工序列的描述：合成
多核苷酸"

<400> 519
gagatcgtcc tgactcagtc acccgctacc ctgagcctga gccctggcga gcgggctaca 60

ctgagctgta aatctagtca gtcactgctg gatagcggta atcagaagaa cttcctgacc 120

tggtatcagc agaagcccgg taaagcccct aagctgctga tctactgggc ctctactaga 180

gaatcaggcg tgccctctag gtttagcggg agcggtagtg gcaccgactt caccctcact 240

atctctagcc tgcagcccga ggatatcgct acctactact gtcagaacga ctatagctac 300

ccctacacct tcggtcaagg cactaaggtc gagattaagc gtacggtggc cgctcccagc 360

gtgttcatct tcccccccag cgacgagcag ctgaagagcg gcaccgccag cgtggtgtgc 420

ctgctgaaca acttctaccc ccgggaggcc aaggtgcagt ggaaggtgga caacgccctg480

cagagcggca acagccagga gagcgtcacc gagcaggaca gcaaggactc cacctacagc540

ctgagcagca ccctgaccct gagcaaggcc gactacgaga agcataaggt gtacgcctgc600

gaggtgaccc accagggcct gtccagcccc gtgaccaaga gcttcaacag gggcgagtgc660

<210> 520

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /注="人工序列的描述：合成多肽"

<400> 520

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser202530

Gly Asn Gln Lys Asn Phe Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln354045

Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val505560

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr65707580

Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn859095

Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile100105110

Lys

<210> 521
<211> 339
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /注="人工序列的描述：合成
多核苷酸"

<400> 521
gagatcgtcc tgactcagtc acccgctacc ctgagcctga gccctggcga gcgggctaca 60

ctgagctgta aatctagtc gtcactgctg gatagcggta atcagaagaa cttcctgacc 120

tgglatcagc agaagcccgg tcaagcccct agactgctga tctactgggc ctctactaga 180

gaatcaggcg tgccctctag gtttagcggg agcggtagtg gcaccgactt caccctcact 240

atctctagcc tggaagccga ggacgccgct acctactact gtcagaacga ctatagctac 300

ccctacacct tcggticaagg cactaaggtc gagattaag 339

<210> 522
<211> 220
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /注="人工序列的描述：合成
多肽"

<400> 522
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Phe Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50					55					60					
Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Phe	Thr
65					70					75					80
Ile	Ser	Ser	Leu	Glu	Ala	Glu	Asp	Ala	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Asn
				85					90					95	
Asp	Tyr	Ser	Tyr	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile
			100					105					110		
Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp
			115					120				125			
Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn
		130				135					140				
Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu
145					150					155					160
Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp
				165					170					175	
Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr
				180				185					190		
Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser
			195					200				205			
Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys				
		210					215				220				

<210> 523

<211> 660

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223>	/注="人工序列的描述：合成多核苷酸"	
<400>	523	
gagatcgtcc tgactcagtc acccgctacc ctgagcctga gccctggcga gcgggctaca		60
ctgagctgta aatctagtca gtcactgctg gatagcggta atcagaagaa cttcctgacc		120
tggtatcagc agaagcccgg tcaagcccct agactgctga tctactgggc ctctactaga		180
gaatcaggcg tgccctctag gtttagcggg agcggtagtg gcaccgactt caccttact		240
atctctagcc tggaagccga ggacgccgt acctactact gtcagaacga ctatagctac		300
ccctacacct tcggtcaagg cactaaggtc gagattaagc gtacggtggc cgctcccagc		360
gtgttcatct tccccccag cgacgagcag ctgaagagcg gcaccgccag cgtggtgtgc		420
ctgctgaaca acttctaccc ccgggaggcc aagggtgcagt ggaagggtga caacgccctg		480
cagagcggca acagccagga gagcgtcacc gagcaggaca gcaaggactc cacctacagc		540
ctgagcagca ccctgaccct gagcaaggcc gactacgaga agcataaggt gtacgcctgc		600
gaggtgacct accagggcct gtccagcccc gtgaccaaga gcttcaacag gggcgagtgc		660
<210>	524	
<211>	15	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	來源	
<223>	/注="人工序列的描述：合成寡核苷酸"	
<400>	524	
acctactgga tgcac		15
<210>	525	
<211>	51	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	來源	
<223>	/注="人工序列的描述：合成寡核苷酸"	

<400> 525
aatatctacc ccggcaccgg cggctctaac ttcgacgaga agtttaagaa t 51

<210> 526
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /注="人工序列的描述：合成寡核苷酸"

<400> 526
tggactaccg gcacaggcgc ctac 24

<210> 527
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /注="人工序列的描述：合成寡核苷酸"

<400> 527
ggctacacct tcactaccta c 21

<210> 528
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /注="人工序列的描述：合成寡核苷酸"

<400> 528
taccccgga ccggcggc 18

<210> 529
<211> 51
<212> DNA

<213> 人工序列	
<220>	
<221> 來源	
<223> /注="人工序列的描述：合成寡核苷酸"	
<400> 529	
aaatctagtc agtcactgct ggatagcggc aatcagaaga acttcctgac c	51
<210> 530	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 來源	
<223> /注="人工序列的描述：合成寡核苷酸"	
<400> 530	
tgggcctcta ctagagaatc a	21
<210> 531	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 來源	
<223> /注="人工序列的描述：合成寡核苷酸"	
<400> 531	
cagaacgact atagctaccc ctacacc	27
<210> 532	
<211> 39	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 來源	
<223> /注="人工序列的描述：合成寡核苷酸"	
<400> 532	

agtcagtcac tgctggatag cggtaatcag aagaacttc 39

<210> 533
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /注="人工序列的描述：合成寡核苷酸"

<400> 533
tgggcctct 9

<210> 534
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /注="人工序列的描述：合成寡核苷酸"

<400> 534
gactatagct acccctac 18

<210> 535

<400> 535
000

<210> 536

<400> 536
000

<210> 537

<400> 537
000

<210> 538

<400> 538
000

<210> 539

<400> 539
000

<210> 540

<400> 540
000

<210> 541
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /注="人工序列的描述：合成
肽"

<400> 541
Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr Trp Met His
1 5 10

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種藥物組合，該藥物組合包含：N-(3-(5-(2-氨基嘧啶-4-基)-2-(三級丁基)噻唑-4-基)-2-氟苯基)-2,6-二氟苯磺醯胺（達拉菲尼）、或其藥學上可接受的鹽；4-(3-胺基-6-((1S,3S,4S)-3-氟-4-羥基環己基)吡咩-2-基)-N-((S)-1-(3-溴-5-氟苯基)-2-(甲基胺基)乙基)-2-氟苯甲醯胺（化合物A）、或其藥學上可接受的鹽；和N-(3-(2-(2-羥基乙氧基)-6-咪啉代吡啶-4-基)-4-甲基苯基)-2-(三氟甲基)-異菸醯胺（化合物C）、或其藥學上可接受的鹽。

【請求項 2】 如請求項 1 所述之組合，其中將 N-(3-(5-(2-氨基嘧啶-4-基)-2-(三級丁基)噻唑-4-基)-2-氟苯基)-2,6-二氟苯磺醯胺（達拉菲尼）或其藥學上可接受的鹽、4-(3-胺基-6-((1S,3S,4S)-3-氟-4-羥基環己基)吡咩-2-基)-N-((S)-1-(3-溴-5-氟苯基)-2-(甲基胺基)乙基)-2-氟苯甲醯胺（化合物 A）或其藥學上可接受的鹽、和 N-(3-(2-(2-羥基乙氧基)-6-咪啉代吡啶-4-基)-4-甲基苯基)-2-(三氟甲基)-異菸醯胺（化合物 C）或其藥學上可接受的鹽分開地、同時地或以任何順序依序地投與。

【請求項 3】 如請求項 1 或 2 所述之藥物組合，將該藥物組合用於口服投與。

【請求項 4】 如請求項 1 所述之藥物組合，其中 N-(3-(5-(2-氨基嘧啶-4-基)-2-(三級丁基)噻唑-4-基)-2-氟苯基)-2,6-二氟苯磺醯胺（達拉菲尼）呈口服劑型。

【請求項 5】 如請求項 1 所述之藥物組合，其中 4-(3-胺基-6-((1S,3S,4S)-3-氟-4-羥基環己基)吡咩-2-基)-N-((S)-1-(3-溴-5-氟苯基)-2-(甲基胺基)乙基)-2-氟苯甲醯胺（化合物 A）呈口服劑型。

【請求項 6】 如請求項 1 所述之藥物組合，其中 N-(3-(2-(2-羥基乙氧基)-6-咪啉代吡啶-4-基)-4-甲基苯基)-2-(三氟甲基)-異菸醯胺（化合物 C）呈口服劑型。

【請求項 7】 一種藥物組成物或商業包裝，該藥物組成物或商業包裝包含如請求項 1 所述之藥物組合，和至少一種藥學上可接受的載劑。

【請求項 8】 如請求項 1 所述之藥物組合或如請求項 7 所述之藥物組成物或商業包裝，用於在癌症的治療中使用。

【請求項 9】用於如請求項 8 所述使用的藥物組合或藥物組成物或商業包裝，其中該癌症選自乳癌、膽管癌、大腸直腸癌（CRC）、黑素瘤、非小細胞肺癌、卵巢癌和甲狀腺癌。

【請求項 10】 用於如請求項 8 所述使用的藥物組合或藥物組成物或商業包裝，其中該癌症係晚期或轉移性大腸直腸癌。

【請求項 11】 如請求項 10 所述之藥物組合，其中該癌症係 BRAF 功能獲得性 CRC 或 BRAF V600E、V600D 或 V600K CRC。

【請求項 12】 如請求項 1 至 6 中任一項所述之藥物組合或如請求項 7 所述之藥物組成物或商業包裝用於製造治療癌症的藥物的用途。

【請求項 13】 如請求項 12 所述之藥物組合或藥物組成物的用途，其中該癌症選自乳癌、膽管癌、大腸直腸癌、黑素瘤、非小細胞肺癌、卵巢癌和甲狀腺癌，視需要其中該癌症係晚期或轉移性大腸直腸癌，視需要其中該癌症係 BRAF 功能獲得性 CRC 或 BRAF V600E、V600D 或 V600K CRC。

【請求項 14】 如請求項 1 至 6 中任一項所述之藥物組合或商業包裝或如請求項 7 所述之藥物組成物用於製造治療癌症的藥物之用途，該癌症選自乳癌、膽管癌、大腸直腸癌、黑素瘤、非小細胞肺癌、卵巢癌和甲狀腺癌。

【請求項 15】 如請求項 14 所述之用途，其中該大腸直腸癌係晚期或轉移性大腸直腸癌。

【請求項 16】 如請求項 15 所述之用途，其中該大腸直腸癌係 BRAF 功能獲得性 CRC 或 BRAF V600E、V600D 或 V600K CRC。

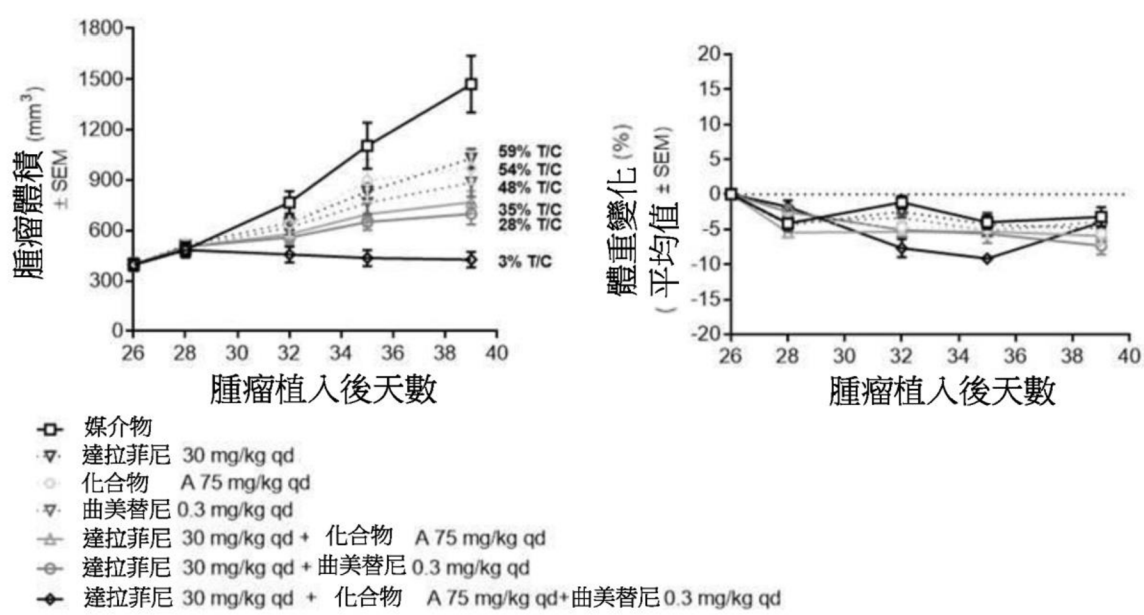
【請求項 17】 如請求項 14 所述之用途，其中以約從約 1 至約 150 mg/天的劑量口服投與 N-(3-(5-(2-胺基嘧啶-4-基)-2-(三級丁基)噻唑-4-基)-2-氟苯基)-2,6-二氟苯磺醯胺（達拉菲尼）。

【請求項 18】 如請求項 14 所述之用途，其中以從約 50 至約 200 mg/天的劑量口服投與 4-(3-胺基-6-((1S,3S,4S)-3-氟-4-羥基環己基)吡咩-2-基)-N-((S)-1-(3-溴-5-氟苯基)-2-(甲基胺基)乙基)-2-氟苯甲醯胺（化合物 A）。

【請求項 19】 如請求項 14 所述之用途，其中以從約 100 mg/天、或 200 mg/天、或 300 mg/天至約 70 mg/天的劑量口服施用 N-(3-(2-(2-羥基乙氧基)-6-咪啉代吡啶-4-基)-4-甲基苯基)-2-(三氟甲基)-異菸醯胺（化合物 C）。

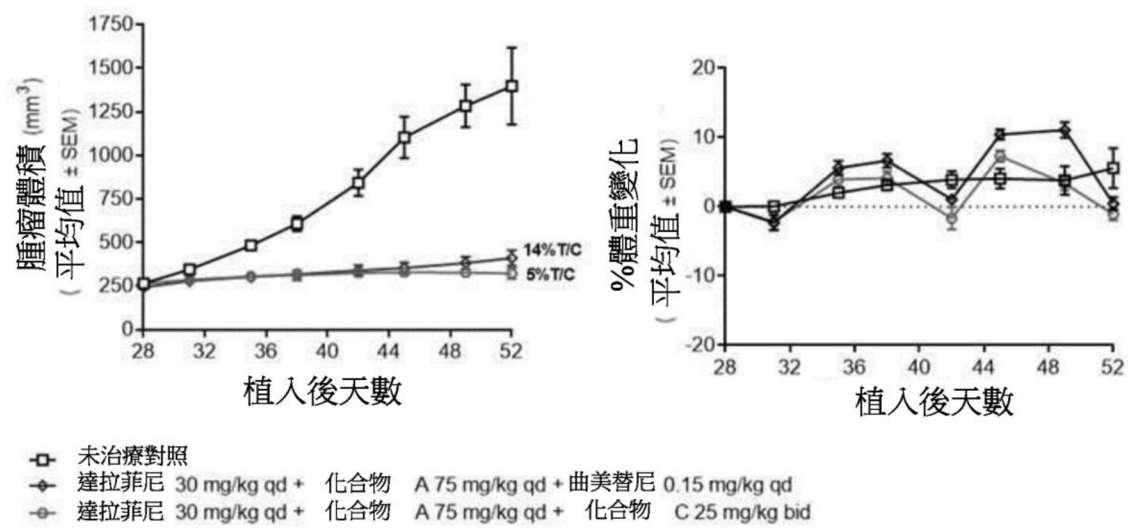
【發明圖式】

在小鼠中，MAPK通路抑制劑在HT29人CRC皮下腫瘤異種移植模型中的
抗腫瘤功效和耐受性



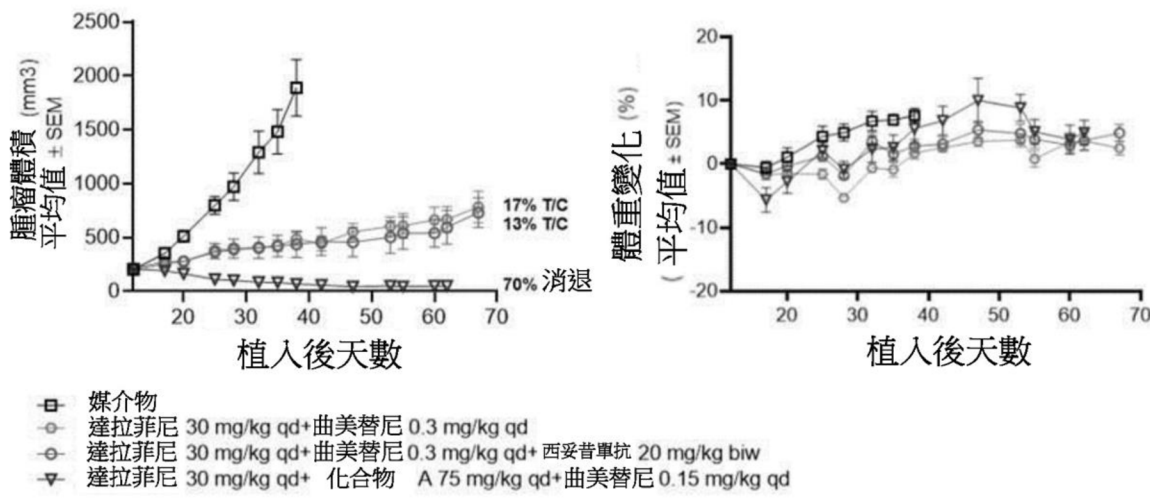
【圖1】

在小鼠中，MAPK途徑抑制劑在HT29人CRC皮下腫瘤異種移植模型中的抗腫瘤功效和耐受性。



【圖2】

在小鼠中，MAPK通路抑制劑在患者源性CRC皮下腫瘤
異種移植模型HCOX1329中的抗腫瘤功效和耐受性



【圖3】