



(21)申請案號：111115522

(22)申請日：中華民國 111 (2022) 年 04 月 22 日

(51)Int. Cl. : A61K31/5377(2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2021/04/23 美國

63/178,922

(71)申請人：美商奇奈特生物製藥公司(美國) KINNATE BIOPHARMA INC. (US)  
美國(72)發明人：弗朗諾維奇 亞歷山德拉 FRANOVIC, ALEKSANDRA (US)；馬汀 艾瑞克  
MARTIN, ERIC (US)；米勒 尼科 L G MILLER, NICHOL L. G. (US)；墨菲  
艾瑞克 MURPHY, ERIC (US)；威廉斯 理查 托馬斯 WILLIAMS, RICHARD  
THOMAS (US)；小林 健 KOBAYASHI, KEN (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：69 項 圖式數：9 共 71 頁

(54)名稱

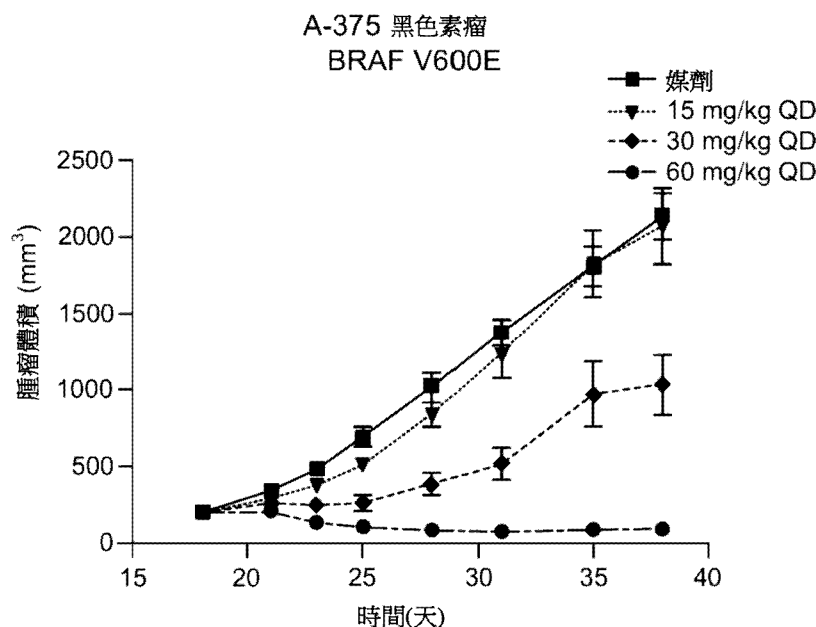
使用 RAF 抑制劑之癌症治療

(57)摘要

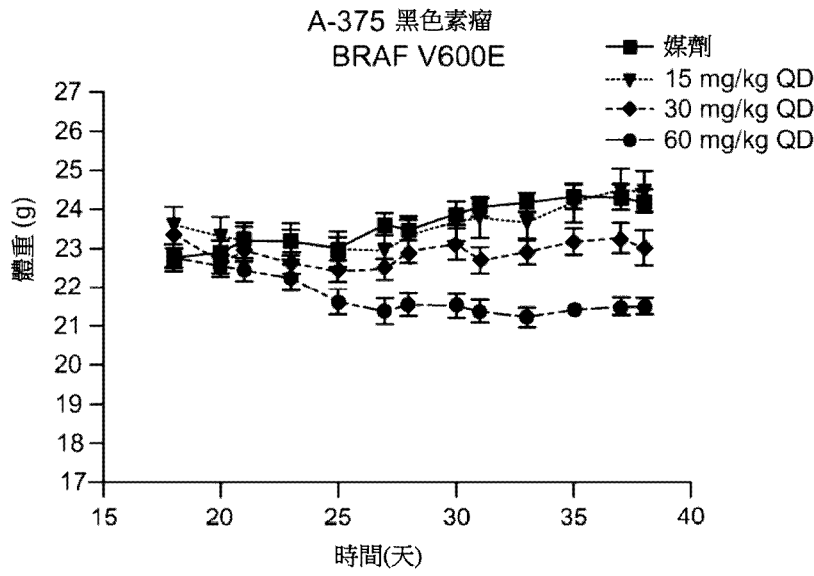
本發明提供用於治療癌症之組合物及方法。該等組合物包含 RAF 抑制劑。一些實施例包含以 RAF 抑制劑與至少一種腫瘤學治療劑為特徵之組合療法。

Provided herein are compositions and methods for the treatment of a cancer. Said compositions comprise a RAF inhibitor. Some embodiments comprise combination therapy featuring the RAF inhibitor with at least one oncology therapeutic agent.

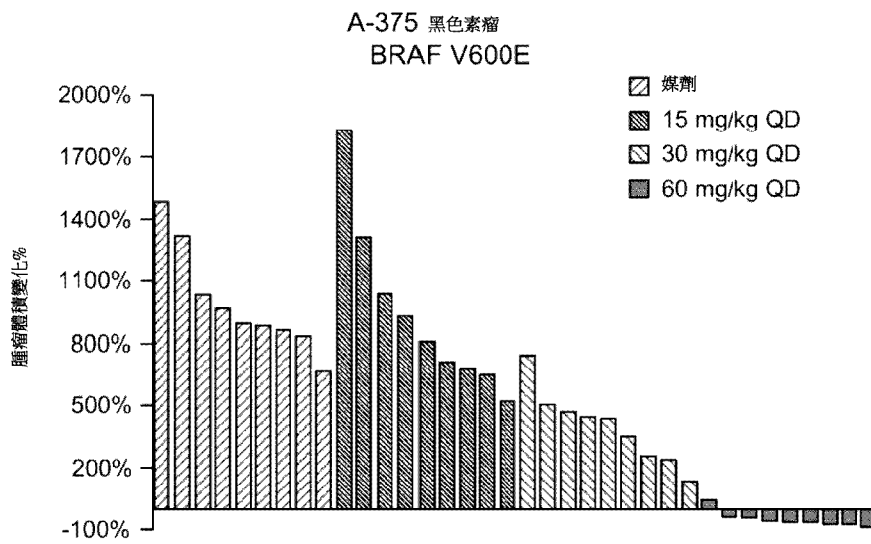
指定代表圖：



【圖1A】

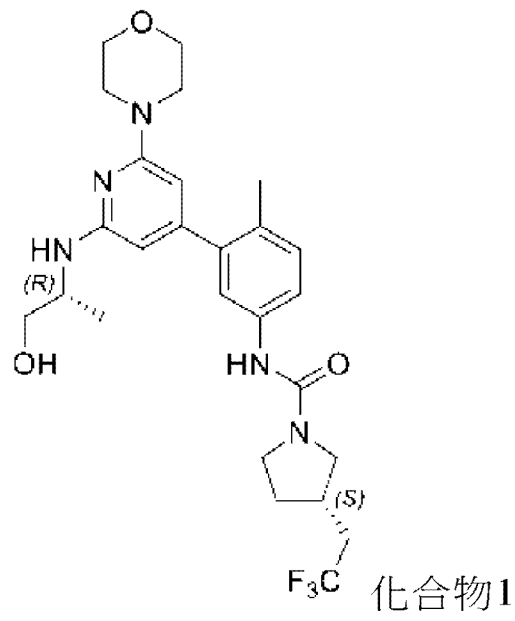


【圖1B】



【圖1C】

特徵化學式：



## 【發明摘要】

### 【中文發明名稱】

使用RAF抑制劑之癌症治療

### 【英文發明名稱】

TREATMENT OF CANCER WITH A RAF INHIBITOR

### 【中文】

本發明提供用於治療癌症之組合物及方法。該等組合物包含RAF抑制劑。一些實施例包含以RAF抑制劑與至少一種腫瘤學治療劑為特徵之組合療法。

### 【英文】

Provided herein are compositions and methods for the treatment of a cancer. Said compositions comprise a RAF inhibitor. Some embodiments comprise combination therapy featuring the RAF inhibitor with at least one oncology therapeutic agent.

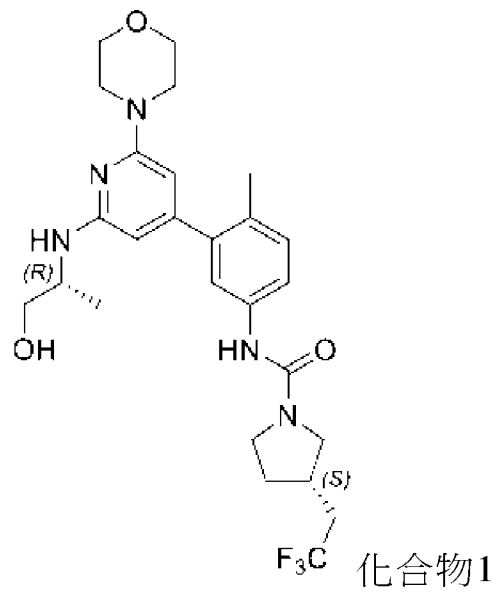
### 【指定代表圖】

圖1A至1C

### 【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】

使用RAF抑制劑之癌症治療

### 【英文發明名稱】

TREATMENT OF CANCER WITH A RAF INHIBITOR

### 【技術領域】

### 【先前技術】

【0001】 RAF 激酶於 Ras-Raf-MEK-ERK 促分裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 路徑 (亦稱作 MAPK/ERK 路徑) 中藉由磷酸化及活化 MEK 起作用及最終轉錄程式之 MAPK 依賴性活化驅動細胞增殖及生存。MAPK 活性之失調於腫瘤中頻繁發生。因此，靶向 RAF 激酶活性之療法係用於治療癌症及特徵為異常 MAPK/ERK 路徑信號之其他病症所需。

### 【發明內容】

【0002】 一個實施例提供一種治療有需要患者之癌症之方法，其包括向該患者投與 (S)-N-(3-(2-(((R)-1-羥基丙-2-基)胺基)-6-嗎啉基吡啶-4-基)-4-甲基苯基)-3-(2,2,2-三氟乙基)吡咯啶-1-甲醯胺或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物。

【0003】 一個實施例提供一種治療有需要患者之癌症之方法，其包括向該患者投與包含 (S)-N-(3-(2-(((R)-1-羥基丙-2-基)胺基)-6-嗎啉基吡啶-4-基)-4-甲基苯基)-3-(2,2,2-三氟乙基)吡咯啶-1-甲醯胺或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物及至少一種醫藥上可接受之賦形劑之醫藥組合物。

【0004】 一個實施例提供一種治療有需要患者之癌症之方法，其包括向該患者投與：

(a)包含(S)-N-(3-(2-(((R)-1-羥基丙-2-基)胺基)-6-嗎啉基吡啶-4-基)-4-甲基苯基)-3-(2,2,2-三氟乙基)吡咯啉-1-甲醯胺或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物之組合物；及

(b)選自以下之至少一種腫瘤學治療劑：MEK抑制劑、免疫檢查點抑制劑、CDK抑制劑、EGFR激酶抑制劑、EGFR抗體、EGFR PROTAC治療劑、FGFR抑制劑、SOS1抑制劑、SHP2抑制劑、KRAS抑制劑、紫杉烷、拓撲異構酶抑制劑、ERK抑制劑、基於鉑之化療、醛葉酸、5-氟尿嘧啶或抗VEGF治療劑。

#### 【圖式簡單說明】

【0005】 圖1A至1C說明於利用化合物1治療後A-375 (I類BRAF突變型黑色素瘤)異種移植腫瘤體積(圖1A)、小鼠體重(圖1B)及在研究結束時異種移植腫瘤體積相對於基線之變化% (圖1C)。

【0006】 圖2A至2D說明在利用化合物1治療期間BxPC-3 (II類BRAF突變型PDAC)及WM3629 (III類BRAF突變型黑色素瘤)異種移植腫瘤體積(圖2A，圖2C)及小鼠體重(圖2B，圖2D)。

【0007】 圖3A及圖3B說明個別BxPC-3腫瘤及WM3629腫瘤異種移植反應之瀑布圖各自於圖3A及圖3B中呈現。

【0008】 圖4A至C說明對利用化合物1及比美替尼之組合療法之WM3629腫瘤異種移植反應，如實例3C中所述。

【0009】 圖5說明化合物1與比美替尼組合於NRAS突變型黑色素瘤中之細胞活性，如實例4中所述。

【0010】 圖6說明當與比美替尼組合時，化合物1於人類SK-MEL-2 (NRAS Q61R突變型)黑色素瘤異種移植模型中之抗腫瘤活性，如實例5

中所述。

**【0011】** 圖7說明當與比美替尼組合時，化合物1於人類SK-MEL-2 (NRAS Q61R突變型)黑色素瘤異種移植模型中之抗腫瘤活性，如實例5中所述。

**【0012】** 圖8A至8C說明當與比美替尼組合時，化合物1於WM3629黑色素瘤異種移植模型中之抗腫瘤活性，如實例6中所述。

**【0013】** 圖9A至9C說明化合物1於NSCLC異種移植模型中之抗腫瘤活性，如實例7中所述。

#### **【實施方式】**

#### **相關申請案之交互參照**

**【0014】** 本申請案主張2021年4月23日申請之美國專利申請案第63/178,922號之權益，其全文係以引用的方式併入本文中。

#### **以引用的方式併入**

**【0015】** 出於本文中識別之特定目的，本說明書中提及之所有出版物、專利及專利申請案係以引用的方式併入本文中。

#### **某些術語**

**【0016】** 如本文中及隨附申請專利範圍中所用，除非上下文另有明確指定，否則單數形式「一(a/an)」及「該」包含複數個提及物。因此，例如，提及「一劑」包含複數個此等劑，及提及「該細胞」包含提及一或多個細胞(或複數個細胞)及熟習此項技術者已知之其等效物等等。當本文中針對物理性質(諸如分子量)或化學性質(諸如化學式)使用範圍時，意欲包含範圍之所有組合及子組合及其中特定實施例。當提及數字或數值範圍時，術語「約」意指所提及之數字或數值範圍為實驗可變性內(或統計實

驗誤差內)之近似值，及因此於一些實例中，該數字或數值範圍將在指定數字或數值範圍之1%與15%之間變化。術語「包括(comprising)」(及相關術語，諸如「包括(comprise/comprises)」或「具有」或「包含」)不意欲排除於其他某些實施例中，例如，本文中所述之任何物質之組合物、組合物、方法或製程或類似者之實施例「由所述特徵組成」或「基本上由所述特徵組成」。

**【0017】** 如本說明書及隨附申請專利範圍中所用，除非相反指定，否則下列術語具有以下指定之含義。

**【0018】** 「醫藥上可接受之鹽」包含酸加成鹽及鹼加成鹽二者。本文中所述之雜環RAF抑制劑之醫藥上可接受之鹽意欲包含任何及所有醫藥上適宜鹽形式。本文中所述化合物之較佳醫藥上可接受之鹽為醫藥上可接受之酸加成鹽及醫藥上可接受之鹼加成鹽。

**【0019】** 「醫藥上可接受之酸加成鹽」係指保留游離鹼之生物有效性及性質，非生物或原本非所需，且與無機酸(諸如鹽酸、氫溴酸、硫酸、硝酸、磷酸、氫碘酸、氫氟酸、磷酸及類似者)形成之彼等鹽。亦包含與有機酸，諸如脂族單羧酸及二羧酸、經苯基取代之烷酸、羥基烷酸、烷二酸、芳族酸、脂族及芳族磺酸等形成之鹽，及包括(例如)乙酸、三氟乙酸、丙酸、乙醇酸、丙酮酸、草酸、馬來酸、丙二酸、琥珀酸、富馬酸、酒石酸、檸檬酸、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、甲磺酸、乙磺酸、對甲苯磺酸、水楊酸及類似者。因此，示例性鹽包括硫酸鹽、焦硫酸鹽、硫酸氫鹽、亞硫酸鹽、亞硫酸氫鹽、硝酸鹽、磷酸鹽、單氫磷酸鹽、二氫磷酸鹽、偏磷酸鹽、焦磷酸鹽、氫氯酸鹽、氫溴酸鹽、氫碘酸鹽、乙酸鹽、三氟乙酸鹽、丙酸鹽、辛酸鹽、異丁酸鹽、草酸鹽、丙二酸鹽、琥珀酸鹽、

辛二酸鹽、癸二酸鹽、富馬酸鹽、馬來酸鹽、扁桃酸鹽、苯甲酸鹽、氯苯甲酸鹽、甲基苯甲酸鹽、二硝基苯甲酸鹽、酞酸鹽、苯磺酸鹽、甲苯磺酸鹽、苯基乙酸鹽、檸檬酸鹽、乳酸鹽、蘋果酸鹽、酒石酸鹽、甲磺酸鹽及類似者。亦涵蓋胺基酸之鹽(諸如精胺酸鹽)、葡糖酸鹽、半乳糖醛酸鹽(參見, 例如, Berge S.M.等人, 「Pharmaceutical Salts,」 *Journal of Pharmaceutical Science*, 66:1-19 (1997))。於一些實施例中, 鹼性化合物之酸加成鹽藉由根據熟習技工熟悉之方法及技術使游離鹼形式與足夠量之所需酸接觸以產生鹽來製備。

**【0020】** 「醫藥上可接受之鹼加成鹽」係指保留游離酸之生物有效性及性質, 非生物或原本非所需之彼等鹽。此等鹽自無機鹼或有機鹼添加至游離酸來製備。於一些實施例中, 醫藥上可接受之鹼加成鹽利用金屬或胺(諸如鹼金屬及鹼土金屬或有機胺)形成。衍生自無機鹼之鹽包括(但不限於)鈉、鉀、鋰、銨、鈣、鎂、鐵、鋅、銅、錳、鋁鹽及類似者。衍生自有機鹼之鹽包括(但不限於)以下之鹽: 一級、二級及三級胺、經取代之胺(包含天然產生之經取代之胺)、環胺及鹼性離子交換樹脂, 例如, 異丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺、乙醇胺、二乙醇胺、2-二甲胺基乙醇、2-二乙胺基乙醇、二環己胺、離胺酸、精胺酸、組胺酸、咖啡因、普魯卡因 (procaine)、*N,N*-二苄基乙二胺、氯普魯卡因、海巴明 (hydrabamine)、膽鹼、甜菜鹼、乙二胺、乙二苯胺、*N*-甲基葡糖胺、葡糖胺、甲基葡糖胺、可可鹼、嘌呤、哌嗪、哌啶、*N*-乙基哌啶、聚胺樹脂及類似者。參見Berge等人, 見上。

**【0021】** 「醫藥上可接受之溶劑合物」係指呈溶劑加成形式之物質之組合物。於一些實施例中, 溶劑合物含有化學計量或非化學計量之溶

劑，及在利用醫藥上可接受之溶劑(諸如水、乙醇及類似者)製備製程期間形成。當溶劑為水時，形成水合物，或當溶劑為醇時，形成醇化物。本文中所述化合物之溶劑合物在本文中所述製程期間方便地製備或形成。本文中提供之化合物視情況以非溶劑化以及溶劑化形式存在。

**【0022】** 術語「個體」或「患者」包含哺乳動物。哺乳動物之實例包括(但不限於)哺乳動物類別之任何成員：人類、非人類靈長類動物，諸如黑猩猩及其他猿及猴物種；農場動物，諸如牛、馬、綿羊、山羊、豬；家養動物，諸如兔、犬及貓；實驗室動物，包括嚙齒動物，諸如大鼠、小鼠及豚鼠，及類似者。於一個態樣中，該哺乳動物為人類。

**【0023】** 如本文中所用，「治療(treatment/treating)」或「減輕」或「改善」可互換使用。此等術語係指獲得有益或所需結果(包括但不限於治療效益及/或預防效益)之方法。「治療效益」意指正在治療之潛在病症之根除或改善。同樣，治療效益係利用與潛在病症相關聯之生理症狀中之一或多者之根除或改善達成使得於患者中觀察到改善，儘管患者仍患有潛在病症。針對預防效益，於一些實施例中，向有發展特定疾病之風險之患者，或向報告疾病之生理症狀中之一或多者之患者投與組合物，即使尚未進行此疾病之診斷。如本文中所用，除非另有指定，否則術語「治療」意指逆轉、緩解此術語適用之病症或病狀或此病症或病狀之一或多種症狀、抑制其進展或預防其。於一些實施例中，術語「治療」包含減慢或延遲該術語適用之疾病或病症之進展。另外，於一些實施例中，術語「治療」適用於自該術語適用之疾病或病症產生之併發症中之一或多者。如本文中所用，除非另有指定，否則術語「治療」係指作為「治療」之治療行為於以上直接定義。

【0024】如本文中所示，及除非另有指定，否則術語「腫瘤」或「癌症」係指贅生性細胞生長，及包括癌前及癌細胞及組織。腫瘤通常呈現為病變或腫塊。如本文中所示，「治療」腫瘤意指疾病之一或多種症狀(諸如腫瘤自身、腫瘤之血管化或表徵該疾病之其他參數)減少、改善、抑制、置於緩解狀態下或維持於緩解狀態下。「治療」腫瘤亦意指腫瘤之一或多個印記可藉由治療消除、減少或預防。此等印記之非限制性實例包括基底膜及近端細胞外基質之不受控制之降解、內皮細胞至新功能毛細血管之遷移、分裂及組織、及此等功能毛細血管之持續存在。

【0025】術語「難治」或「對療法難治」指示患者從未對療法反應。

【0026】術語「復發」或「於療法後復發」指示由於後天性抗性及/或不耐受，患者於對先前療法之初始反應後具有進行性疾病。

【0027】術語「對療法之抗性」或「對療法之後天性抗性」指示由於對療法之臨床或分子抗性，患者於對先前療法之初始反應後具有進行性疾病。後天性抗性可因該療法之分子標靶中或生理功能之發展(諸如流出泵)中之抗性突變的出現而產生。

【0028】如本文中所示，短語「治療上有效量」係指正在由研究者、獸醫、醫生或其他者尋求之引起組織、系統、動物或人類之生物或醫學反應之藥物或醫藥劑的量。

【0029】本發明之其他態樣、優點及特徵將自以下詳細描述變得顯然。

## **RAF家族激酶**

【0030】RAF家族激酶(ARAF、BRAF及RAF1)在受體酪胺酸激酶

(RTK)之下游作用以經由調節MAPK信號傳導路徑調節關鍵細胞功能。於正常細胞中，RTK之外部配位體刺激活化RAS GTP酶，其促進RAF二聚體形成，啟動子反式活化，及最終轉錄程式之MAPK依賴性活化，其驅動細胞增殖及生存(Zaman等人，2019)。RTK-RAS-RAF-MAPK路徑之突變活化於人類癌症中頻繁觀測到及表示治療幹預之良好建立之標靶(Roberts及Der 2007，Imperial等人，2017)。

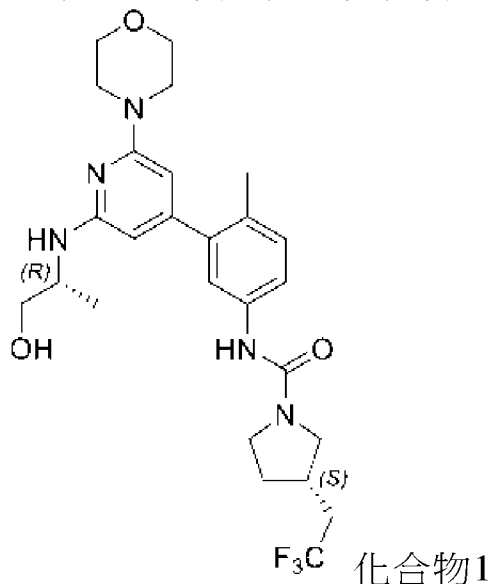
【0031】 致癌BRAF改變於約4至8%之所有人類癌症中出現及可基於其獨特結構及信號傳導性質功能上分為三類(Davies，2002；Owsley，2020)。I類BRAF V600突變導致活性BRAF單體，其獨立於RAS募集及RAF二聚/啟動子反式活化信號傳導(Yaeger及Corcoran，2019)。II類BRAF突變導致RAS獨立性BRAF二聚及啟動子反式活化。III類BRAF突變影響BRAF激酶活性，但是促進其與RAS之締合。於此情況下，經擴增之MAPK信號傳導仍依賴於上游RAS活化及與野生型RAF (ARAF或RAF1)之異二聚化。與構成性活性I及II類BRAF突變(其罕見與其他MAPK路徑改變共同發生)相比，III類BRAF改變通常於與經由RTK失調、RAS突變或NF1功能喪失之異常RAS活化之關聯中觀察到(Yeager及Corcoran, 2019)。

【0032】 第一代BRAF抑制劑(例如，維莫非尼(vemurafenib)、達拉菲尼(dabrafenib))靶向I類突變及作為單藥療法對患有BRAF V600突變驅動之轉移性黑色素瘤之患者賦予顯著臨床效益(約50%客觀反應率；5至6個月中值無進展生存期)，以及作為組合療法方案之部分對患有其他癌症類型之患者賦予顯著臨床效益(Chapman, 2011；Hauschild, 2012；Subbiah, 2020)。然而，目前批准之BRAF抑制劑尚未被證明於具有II及

III類BRAF突變之患者中有效，該等突變佔BRAF突變之顯著比例(例如，65%於NSCLC中及21%於黑色素瘤患者中；Owsley, 2021)。雖然經設計以於所有類別之BRAF突變中有效之RAF抑制劑係所需，但是II及III類BRAF改變之腫瘤對目前FDA批准療法抗性及其代表具有未滿足臨床需求之患者群體。

### 雜環RAF抑制劑

【0033】本文中所述之雜環RAF抑制劑係指具有以下結構及化學名稱(S)-N-(3-(2-(((R)-1-羥基丙-2-基)胺基)-6-嗎啉基吡啶-4-基)-4-甲基苯基)-3-(2,2,2-三氟乙基)吡咯啉-1-甲醯胺之化合物1。



【0034】化合物1為可逆小分子RAF抑制劑。整篇本發明，當提及雜環RAF抑制劑或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物時，提及的是化合物1及其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物。

### 癌症及治療方法

【0035】於一個實施例中，為一種抑制RAF酶之方法，其包括使該酶與如本文中所揭示之化合物1或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物接觸。於某些態樣中，本文中揭示一種治療有需要個體之癌症之方法，其包括向

該個體投與有效量之本文中所述之雜環RAF抑制劑。於某些態樣中，本文中揭示本文中所述之雜環RAF抑制劑，其用於治療癌症。於某些態樣中，本文中揭示本文中所述之雜環RAF抑制劑，其用於製備用於治療癌症之藥劑。

【0036】 一個實施例提供一種治療有需要患者之癌症之方法，其包括向該患者投與(S)-N-(3-(2-(((R)-1-羥基丙-2-基)胺基)-6-嗎啉基吡啶-4-基)-4-甲基苯基)-3-(2,2,2-三氟乙基)吡咯啶-1-甲醯胺或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物。另一實施例提供方法，其中該癌症之特徵為具有致癌BRAF改變。另一實施例提供方法，其中該致癌BRAF改變為I類BRAF突變。另一實施例提供方法，其中該致癌BRAF改變為II類BRAF突變。另一實施例提供方法，其中該致癌BRAF改變為III類BRAF突變。另一實施例提供方法，其中該致癌BRAF改變為BRAF V600突變。另一實施例提供方法，其中該BRAF V600突變為V600E或V600K突變。另一實施例提供方法，其中該癌症之特徵為具有野生型BRAF。另一實施例提供方法，其中該癌症為實體腫瘤。另一實施例提供方法，其中該癌症為NRAS突變腫瘤。另一實施例提供方法，其中該癌症選自黑色素瘤、胰臟癌、胰腺癌、卵巢癌、大腸直腸癌、神經膠質瘤、蘭格罕(Langerhans)細胞組織球增生症、白血病、毛細胞白血病、甲狀腺癌、未分化甲狀腺癌、乳頭狀甲狀腺癌、濾泡性甲狀腺癌或髓樣甲狀腺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症選自小細胞肺癌、非小細胞肺癌、前列腺癌、胃癌及食道癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為黑色素瘤。另一實施例提供方法，其中該癌症為NRAS突變型黑色素瘤。另一實施例提供方法，其中該癌症為胰臟癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為胰腺癌。另一實施例提供方法，其中該

癌症為卵巢癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為大腸直腸癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為神經膠質瘤。另一實施例提供方法，其中該癌症為蘭格罕細胞組織球增生症。另一實施例提供方法，其中該癌症為白血病。另一實施例提供方法，其中該癌症為毛細胞白血病。另一實施例提供方法，其中該癌症為甲狀腺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為未分化甲狀腺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為乳頭狀甲狀腺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為濾泡性甲狀腺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為髓樣甲狀腺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為小細胞肺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為非小細胞肺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為NRAS突變非小細胞肺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為NRAS突變肺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為前列腺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為胃癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為膽管癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為食道癌。另一實施例提供方法，其中該癌症係轉移性。另一實施例提供方法，其中該方法為於手術切除後之輔助療法。另一實施例提供方法，其中該患者於先前療法後復發。另一實施例提供方法，其中該患者具有對先前療法之後天性抗性。另一實施例提供方法，其中該患者對療法難治。另一實施例提供方法，其中該(S)-N-(3-(2-(((R)-1-羥基丙-2-基)胺基)-6-嗎啉基吡啶-4-基)-4-甲基苯基)-3-(2,2,2-三氟乙基)吡咯啶-1-甲醯胺或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物係經口投與。另一實施例提供方法，其中該經口投與每隔一天、每天一次、每天兩次或每天三次發生。

**【0037】** 一個實施例提供一種治療有需要患者之癌症之方法，其包括向該患者投與包含(S)-N-(3-(2-(((R)-1-羥基丙-2-基)胺基)-6-嗎啉基吡

啉-4-基)-4-甲基苯基)-3-(2,2,2-三氟乙基)吡咯啉-1-甲醯胺或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物及至少一種醫藥上可接受之賦形劑之醫藥組合物。另一實施例提供方法，其中該癌症之特徵為具有致癌BRAF改變。另一實施例提供方法，其中該致癌BRAF改變為I類BRAF突變。另一實施例提供方法，其中該致癌BRAF改變為II類BRAF突變。另一實施例提供方法，其中該致癌BRAF改變為III類BRAF突變。另一實施例提供方法，其中該致癌BRAF改變為BRAF V600突變。另一實施例提供方法，其中該BRAF V600突變為V600E或V600K突變。另一實施例提供方法，其中該癌症之特徵為具有野生型BRAF。另一實施例提供方法，其中該癌症為實體腫瘤。另一實施例提供方法，其中該癌症為NRAS突變腫瘤。另一實施例提供方法，其中該癌症選自黑色素瘤、胰臟癌、胰腺癌、卵巢癌、大腸直腸癌、神經膠質瘤、蘭格罕細胞組織球增生症、白血病、毛細胞白血病、甲狀腺癌、未分化甲狀腺癌、乳頭狀甲狀腺癌、濾泡性甲狀腺癌或髓樣甲狀腺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症選自小細胞肺癌、非小細胞肺癌、前列腺癌、胃癌及食道癌。另一實施例提供方法，其中該癌症選自黑色素瘤。另一實施例提供方法，其中該癌症為NRAS突變腫瘤。另一實施例提供方法，其中該癌症為胰臟癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為胰腺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為卵巢癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為大腸直腸癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為神經膠質瘤。另一實施例提供方法，其中該癌症為蘭格罕細胞組織球增生症。另一實施例提供方法，其中該癌症為白血病。另一實施例提供方法，其中該癌症為毛細胞白血病。另一實施例提供方法，其中該癌症為甲狀腺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為未分化甲狀腺癌。另一實施例提供方

法，其中該癌症為乳頭狀甲狀腺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為濾泡性甲狀腺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為髓樣甲狀腺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為小細胞肺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為非小細胞肺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為NRAS突變非小細胞肺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為NRAS突變肺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為前列腺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為胃癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為膽管癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為食道癌。另一實施例提供方法，其中該癌症係轉移性。另一實施例提供方法，其中該方法為於手術切除後之輔助療法。另一實施例提供方法，其中該患者於先前療法後復發。另一實施例提供方法，其中該患者具有對先前療法之後天性抗性。另一實施例提供方法，其中該患者對療法難治。另一實施例提供方法，其中該(S)-N-(3-(2-(((R)-1-羥基丙-2-基)胺基)-6-嗎啉基吡啶-4-基)-4-甲基苯基)-3-(2,2,2-三氟乙基)吡咯啶-1-甲醯胺或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物係經口投與。另一實施例提供方法，其中該經口投與每隔一天、每天一次、每天兩次或每天三次發生。

**【0038】** 一個實施例提供一種治療有需要患者之癌症之方法，其包括向該患者投與：

(a) 包含(S)-N-(3-(2-(((R)-1-羥基丙-2-基)胺基)-6-嗎啉基吡啶-4-基)-4-甲基苯基)-3-(2,2,2-三氟乙基)吡咯啶-1-甲醯胺或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物之組合物；及

(b) 至少一種選自MEK抑制劑、免疫檢查點抑制劑、CDK抑制劑、EGFR激酶抑制劑、EGFR抗體、EGFR PROTAC治療劑、FGFR抑制劑、

SOS1 抑制劑、SHP2 抑制劑、KRAS 抑制劑、紫杉烷、拓撲異構酶抑制劑、ERK 抑制劑、為鉑為主之化療、醛葉酸、5-氟尿嘧啶或抗VEGF治療劑之腫瘤學治療劑。另一實施例提供方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為MEK抑制劑。另一實施例提供方法，其中該MEK抑制劑選自比美替尼(binimetinib)、曲美替尼(trametinib)、考比替尼(cobimetinib)、司美替尼(selumetinib)、匹馬色替(pimasertib)或米達替尼(mirdametinib)。另一實施例提供方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為免疫檢查點抑制劑。另一實施例提供方法，其中該免疫檢查點抑制劑為CTLA-4抑制劑、PD-1抑制劑或PD-L1抑制劑。另一實施例提供方法，其中該CTLA-4抑制劑為伊匹單抗(ipilimumab)。另一實施例提供方法，其中該PD-1抑制劑為斯帕塔利單抗(spartalizumab)、納武單抗(nivolumab)、派立珠單抗(pembrolizumab)或測米匹單抗(cemiplimab)。另一實施例提供方法，其中該PD-L1抑制劑為阿特珠單抗(atezolizumab)、阿伐單抗(avelumab)或度伐單抗(durvalumab)。另一實施例提供方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為CDK抑制劑。另一實施例提供方法，其中該CDK抑制劑為CDK4/6抑制劑。另一實施例提供方法，其中該CDK4/6抑制劑為帕博西尼(palbociclib)、阿貝西利(abemaciclib)或瑞博西尼(ribociclib)。另一實施例提供方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為EGFR激酶抑制劑或抗體。另一實施例提供方法，其中該EGFR激酶抑制劑為那紮替尼(nazartinib)、吉非替尼(gefitinib)、埃羅替尼(erlotinib)、阿法替尼(afatinib)、布加替尼(brigatinib)、埃克替尼(icotinib)、諾拉替尼(neratinib)、奧希替尼(osimertinib)、達克替尼(dacomitinib)或拉帕替尼(lapatinib)。另一實施例提供方法，其中該EGFR抗體為西妥昔單抗(cetuximab)、盤尼圖單抗

(panitumumab)、紫妥木單抗(zalutumumab)、尼妥珠單抗(nimotuzumab)或馬妥珠單抗(matuzumab)。另一實施例提供方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為SHP2抑制劑。另一實施例提供方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為SOS1抑制劑。另一實施例提供方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為FGFR抑制劑。另一實施例提供方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為KRAS抑制劑。另一實施例提供方法，其中該KRAS抑制劑為索托拉西布(storasib)、阿達格拉西布(adagrasib)或BI-1701963。另一實施例提供方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為紫杉烷。另一實施例提供方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為拓撲異構酶抑制劑。另一實施例提供方法，其中該拓撲異構酶抑制劑為伊立替康(irinotecan)、拓撲替康(topotecan)或貝洛替康(belotecan)。另一實施例提供方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為ERK抑制劑。另一實施例提供方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為基於鉑之化療。另一實施例提供方法，其中該基於鉑之化療為奧沙利鉑(oxaliplatin)、順鉑(cisplatin)或卡鉑(carboplatin)。另一實施例提供方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為醛葉酸。另一實施例提供方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為5-氟尿嘧啶。另一實施例提供方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑包括醛葉酸及醛葉酸。另一實施例提供方法，其進一步包括投與拓撲異構酶抑制劑或基於鉑之化療，或其組合。另一實施例提供方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為抗VEGF治療劑。另一實施例提供方法，其中該抗VEGF治療劑為貝伐單抗(bevacizumab)或阿柏西普(aflibercept)。另一實施例提供方法，其中該癌症之特徵為具有致癌BRAF改變。另一實施例提供方法，其中該致癌BRAF改變為I類BRAF突變。另一實施例提供方法，其中該致癌BRAF改變為II類BRAF突變。

另一實施例提供方法，其中該致癌BRAF改變為III類BRAF突變。另一實施例提供方法，其中該致癌BRAF改變為BRAF V600突變。另一實施例提供方法，其中該BRAF V600突變為V600E或V600K突變。另一實施例提供方法，其中該癌症之特徵為具有野生型BRAF。另一實施例提供方法，其中該癌症為實體腫瘤。另一實施例提供方法，其中該癌症為NRAS突變腫瘤。另一實施例提供方法，其中該癌症選自黑色素瘤、胰臟癌、胰腺癌、卵巢癌、大腸直腸癌、神經膠質瘤、蘭格罕細胞組織球增生症、白血病、毛細胞白血病、甲狀腺癌、未分化甲狀腺癌、乳頭狀甲狀腺癌、濾泡性甲狀腺癌或髓樣甲狀腺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症選自小細胞肺癌、非小細胞肺癌、前列腺癌、胃癌及食道癌。另一實施例提供方法，其中該癌症選自黑色素瘤。另一實施例提供方法，其中該癌症為NRAS突變腫瘤。另一實施例提供方法，其中該癌症為胰臟癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為胰腺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為卵巢癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為大腸直腸癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為神經膠質瘤。另一實施例提供方法，其中該癌症為蘭格罕細胞組織球增生症。另一實施例提供方法，其中該癌症為白血病。另一實施例提供方法，其中該癌症為毛細胞白血病。另一實施例提供方法，其中該癌症為甲狀腺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為未分化甲狀腺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為乳頭狀甲狀腺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為濾泡性甲狀腺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為髓樣甲狀腺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為小細胞肺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為非小細胞肺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為NRAS突變非小細胞肺癌。另一實施例提供方法，其

中該癌症為NRAS突變肺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為前列腺癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為胃癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為膽管癌。另一實施例提供方法，其中該癌症為食道癌。另一實施例提供方法，其中該癌症係轉移性。另一實施例提供方法，其中該方法為於手術切除後之輔助療法。另一實施例提供方法，其中該患者於先前療法後復發。另一實施例提供方法，其中該患者具有對先前療法之後天性抗性。另一實施例提供方法，其中該患者對療法難治。另一實施例提供方法，其中該(S)-N-(3-(2-(((R)-1-羥基丙-2-基)胺基)-6-嗎啉基吡啶-4-基)-4-甲基苯基)-3-(2,2,2-三氟乙基)吡咯啶-1-甲醯胺或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物係經口投與。另一實施例提供方法，其中該經口投與每隔一天、每天一次、每天兩次或每天三次發生。

### 醫藥組合物

**【0039】** 於某些實施例中，本文中所述之雜環RAF抑制劑呈純化學品投與。於其他實施例中，本文中所述之雜環RAF抑制劑與基於所選投與途徑及標準醫藥實務選擇之醫藥上適宜或可接受之載劑(本文中亦稱作醫藥上適宜或可接受之賦形劑、生理上適宜或可接受之賦形劑、或生理上適宜或可接受之載劑)組合。

**【0040】** 本文中提供醫藥組合物，其包含如本文中所述之雜環RAF抑制劑或其立體異構體、醫藥上可接受之鹽、水合物或溶劑合物，連同一或多種醫藥上可接受之載劑。若該(等)載劑(或賦形劑)與組合物之其他成分相容且對組合物之接受者(即，個體或患者)無害，則該載劑係可接受或適宜。

**【0041】** 一個實施例提供一種製備醫藥組合物之方法，其包括將如

本文中所述之雜環RAF抑制劑或其立體異構體、醫藥上可接受之鹽、水合物或溶劑合物及醫藥上可接受之載劑混合。

**【0042】** 本文中提供方法，其中該醫藥組合物係經口投與。適宜口服劑型包括(例如)錠劑、丸劑、藥囊或硬或軟明膠、甲基纖維素或容易溶解於消化道中之另一適宜材料之膠囊。於一些實施例中，使用適宜無毒固體載劑，其包括(例如)醫藥級甘露醇、乳糖、澱粉、硬脂酸鎂、糖精鈉、滑石粉、纖維素、葡萄糖、蔗糖、碳酸鎂及類似者。(參見，例如，*Remington: The Science and Practice of Pharmacy* (Gennaro，第21版，Mack Pub. Co., Easton, PA (2005)))。

**【0043】** 本文中提供方法，其中該醫藥組合物係藉由注射投與。於一些實施例中，如本文中所述之雜環RAF抑制劑或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物經調配用於藉由注射投與。於一些實例中，該注射調配物為水性調配物。於一些實例中，該注射調配物為非水性調配物。於一些實例中，該注射調配物為油基調配物，諸如芝麻油或類似者。

**【0044】** 包含如本文中所述之雜環RAF抑制劑或其立體異構體、醫藥上可接受之鹽、水合物或溶劑合物之組合物之劑量取決於個體或患者(例如，人類)之病狀而不同。於一些實施例中，此等因素包括一般健康狀態、年齡及其他因素。醫藥組合物係以適用於待治療(或預防)之疾病之方式投與。適宜劑量及適宜投與持續時間及頻率將藉由如患者之病狀、患者之疾病之類型及嚴重度、活性成分之特定形式及投與方法之此等因素確定。一般而言，適宜劑量及治療方案提供足以提供治療性及/或預防性效益(例如，改善之臨床結果，諸如更頻繁完全或部分緩解、或更長無疾病及/或總生存期、或症狀嚴重度之減輕)之量之該(等)組合物。最佳劑量一

般使用實驗模型及/或臨床試驗測定。最佳劑量取決於患者之體質、體重或血容量。

### 實例

**【0045】** 此等實例係僅出於說明目的提供且不限制本文中所提供之申請專利範圍之範圍。

#### 實例1：化合物1之RAF抑制活性

##### 方法

**【0046】** BRAF及RAF1 (CRAF)激酶藉由化合物1之抑制各自藉由針對BRAF及CRAF之17及18個獨立實驗中之ADP-Glo分析法量測，如表1中所指示。於該分析法中，在存在受質下藉由測試激酶將ATP轉化成ADP。分析試劑然後將剩餘ADP轉化成ATP及導致螢光素酶反應及與相對激酶活性成正比之發光讀出。將化合物1於DMSO中稀釋，用於針對兩個分析法之10點3倍劑量曲線中。測試1  $\mu\text{M}$ 之高劑量及0.05 nM之低劑量。將6 nM BRAF (CarnaBio，目錄09-122)或3 nM RAF1 (CarnaBio，目錄09-125)及30 nM MEK1受質(Millipore，目錄14-420)之最終濃度在室溫下用3  $\mu\text{M}$  ATP，10 mM  $\text{MgCl}_2$ ，0.003% Brij-35，2 mM DTT，0.05% BSA，1 mM EGTA及50 mM HEPES培育90分鐘，之後添加ADP-Glo試劑(Promega，目錄V9102)持續40分鐘，及添加檢測試劑(Promega，目錄V9102)持續45分鐘。在Envision板閱讀器(PerkinElmer)上讀取發光及剩餘活性百分比係用於利用四參數擬合模型使用Dotmatics知識解決方案研究(Dotmatics Knowledge Solutions Studies)曲線擬合軟體(Dotmatics, Bishops Stortford, UK, CM23)計算 $\text{IC}_{50}$ 。

表1

激酶	IC <sub>50</sub> (nM)	n	SEM (nM)
BRAF	5.98	17	0.51
RAF1 (CRAF)	1.3	18	0.05

【0047】 反應生物學(Malvern, PA)激酶篩選服務使用放射性<sup>33</sup>P-標記之磷酸鹽自ATP至激酶受質之轉移以經由測試化合物之Kinase HotSpot分析法(Anastassiadis T等人, 2011)量測其對激酶活性之效應。各自在針對ARAF、BRAF、BRAF-V600E及RAF1 (CRAF)之Km ATP 15 μM、20 μM、20 μM及10 μM下進行反應。將適宜受質於含有20 mM HEPES (pH 7.5)、10 mM MgCl<sub>2</sub>、1 mM EGTA、0.01% Brij35、0.02 mg/ml BSA、0.1 mM Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>、2 mM DTT、1% DMSO之反應緩衝液中稀釋。於激酶併入溶液中後，在室溫下以3 μM高劑量及0.152 μM之低劑量開始之10點3倍劑量曲線添加化合物1用於20分鐘預培育。將<sup>33</sup>P-ATP添加至反應混合物中以開始反應及在室溫下培育2小時。藉由P81過濾結合方法檢測激酶活性。使用四參數擬合模型使用Dotmatics知識解決方案研究曲線擬合軟體(Dotmatics, Bishops Stortford, UK, CM23)計算IC<sub>50</sub>值及提供於表2中。

表2

激酶	IC <sub>50</sub> (nM)
ARAF	2.41
BRAF	3.46
BRAF V600E	1.53
RAF1 (CRAF)	0.573

【0048】 利用Caliper LabChip3000分析法(Caliper Life Science, Hopkinton, MA)，在1 μM ATP (在可得之情況下)下測試化合物1朝向藉由Carna Biosciences (Kobe, Japan)之299種激酶之Carna Biosciences激酶組中之人類激酶組，該分析法為將毛細管電泳之基本原理於微流體環境中

組合之流動性轉變分析法(Perrin等人，2010)。利用套組緩衝液(20 mM HEPES，0.01% Triton X-100，5 mM DTT，pH7.5)製備4x受質/ATP/金屬溶液，及利用檢定緩衝液(20 mM HEPES，0.01% Triton X-100，1 mM DTT，pH7.5)製備2x激酶溶液。將5  $\mu$ L 4x化合物溶液、5 mL 4x受質/ATP/金屬溶液及10 mL 2x激酶溶液混合及在室溫下於聚丙烯384孔微量滴定板之孔中培育1或5小時\*。(；取決於激酶)。將70 mL終止緩衝液(QuickScout Screening Assist MSA；Carna Biosciences)添加至該孔中。將反應混合物施覆至LabChip™系統(Perkin Elmer)，及將產物及受質肽峰分離及定量。藉由自產物(P)及受質(S)肽之峰高度計算之產物比率(P/(P+S))來評價激酶反應。於表3中列出藉由1  $\mu$ M化合物1抑制>10%之RAF家族外之激酶。

表3

激酶	%抑制1 $\mu$ M
DDR1	85.4
DDR2	39.3
HER4	30.9
LOK	17.9
PKCepsilon	16.9
TYRO3	13.7
PIM1	13.7
HER2	12.6
CHK1	11.6
EGFR	11.6
TNIK	11.3
CSK	10.6
CaMK4	10.3
SLK	10.1

### 結論

【0049】 使用一套生物化學分析法來測定化合物1之生物化學效能及激酶選擇性。於二磷酸腺苷(ADP)-Glo篩選分析法以及放射性測量激酶分析法二者中概述於化合物1對快速加速之纖維肉瘤(RAF)激酶之抑制效

能。證實化合物1為RAF1、BRAF、ARAF激酶之強效抑制劑，具有 $< 5$  nM之 $IC_{50}$ 值。於激酶組中評價非RAF激酶組選擇性，如藉由流動性轉變分析法所量測及揭示在 $1 \mu\text{M}$ 下僅DDR1及DDR2被抑制 $\geq 40\%$ 。一併考慮，化合物1為強效選擇性RAF抑制劑，具有朝向激酶組之其餘之最小活性。

### 實例2：化合物1於細胞培養物中抑制細胞增殖

**【0050】** 化合物1為經設計以靶向除了I類BRAF突變外之II及III類BRAF突變之RAF激酶之選擇性且強效抑制劑。此處，吾人評價化合物1跨代表四類BRAF突變狀態：I類(A-375)、II類(BxPC-3、OV-90、NCI-H2405)、III類(WM3629及CAL12-T)及野生型(MIA PaCa-2、CHL、NCI-H358)之多種細胞模型之活體外藥效動力學生物標誌物活性。

#### 方法

**【0051】** 將A-375、BxPC-3、OV-90、NCI-H2405、CAL-12T、MIA PaCa-2、NCI-H358及CHL-1細胞於 $24 \mu\text{l}$ 生長培養基中於384孔板中以8000個細胞/孔接種及允許在 $37^\circ\text{C}$ 與 $5\% \text{CO}_2$ 下黏附過夜。將WM3629細胞於 $24 \mu\text{l}$ 生長培養基中於384孔板中以1500個細胞/孔接種及允許在 $37^\circ\text{C}$ 與 $5\% \text{CO}_2$ 下黏附過夜。第二天，將化合物於384孔板中連續稀釋至10點3倍稀釋曲線。將化合物1轉移至細胞板中使得最終濃度範圍為含於 $0.1\%$  DMSO中之 $0.508 \text{ nM}$ 至 $10 \mu\text{M}$ ，其中 $0.1\%$  DMSO係用作陰性對照。將細胞在 $37^\circ\text{C}$ 與 $5\% \text{CO}_2$ 下與化合物1培育1小時。藉由添加 $8 \mu\text{l}$ 設置有HTRF套組之4X溶解緩衝液加上1X蛋白酶/磷酸酶抑制劑混合物將細胞溶解。按照製造商之說明，將 $20 \mu\text{l}$ 溶解產物及 $2.5 \mu\text{l}$ 抗ERK1/2-鎊/鉞穴狀化合物及抗磷酸-ERK1/2抗體溶液各者轉移至HTRF板中。將HTRF板在室溫下培育

過夜，之後以HTRF模式利用665 nm/620 nm (供體/受體)讀取。使用利用四參數分析方法擬合之劑量-反應回歸曲線計算EC<sub>50</sub>值。

**【0052】** 化合物1證實跨BRAF突變體及野生型模型之一系列細胞活性，如於治療1小時後藉由pERK生物標誌物藥效動力學調節所測定，如表4A中所示。於具有III類BRAF改變之腫瘤細胞(模型WM3629及CAL-12T)中，化合物1各自具有8.8及18.4 nM之平均EC<sub>50</sub>值。II類BRAF突變模型BxPC-3、OV-90及NCI-H2405，化合物1證實各自50.7、26.0及10.1 nM之平均EC<sub>50</sub>值。具有I類BRAF突變之細胞A-375為最小反應突變體類別及具有67.7 nM之平均EC<sub>50</sub>。於三種野生型模型MIA PaCa-2、CHL-1及NCI-H358中，化合物1各自具有685、580及351 nM之平均EC<sub>50</sub>值。表4B中提供另外細胞活性。

表4A

細胞系	BRAF突變類別	化合物1		
		EC50 (nM)	SEM	N
A-375	I	67.7	4.3	7
BxPC-3	II	50.7	5.6	12
OV-90	II	26.0	1.6	23
NCI-H2405	II	10.1	1.9	5
WM3629	III	8.8	0.7	22
CAL-12T	III	18.4	4.7	5
MIA PaCa-2	WT	685	147	5
CHL-1	WT	580	83	4
NCI-H358	WT	351	19.4	17

表4B

細胞系	腫瘤類型	BRAF突變類別	RAS突變	EC50 (nM)
COLO 800	黑色素瘤	I	WT	99.5
Hs 294T	黑色素瘤	I	WT	76.9
SK-MEL-28	黑色素瘤	I	WT	107.1
HMV-II	黑色素瘤	II	NRAS Q61K	44.6
SK-MEL-30	黑色素瘤	III	NRAS Q61K	95.9
IPC-298	黑色素瘤	WT	NRAS Q61L	267.4
SK-MEL-2	黑色素瘤	WT	NRAS Q61R	139.1
AM-38	膠質母細胞瘤	I	WT	41.4
DBTRG-05MG	膠質母細胞瘤	I	WT	60.5
8505C	ATC	I	WT	77.1
IHH-4	PTC	I	WT	53.1
NCI-H2087	NSCLC	II	NRAS Q61K	95.4
NCI-H1666	NSCLC	III	WT	32.9
Calu-6	NSCLC	WT	KRAS Q61K	199.9
HCC1195	NSCLC	WT	NRAS Q61L	83.3

ATC，未分化甲狀腺癌；PTC，乳頭狀甲狀腺癌；NSCLC，非小細胞肺癌

#### 結論

【0053】總之，化合物1證實跨BRAF突變體及野生型模型之一系列細胞活性，如藉由pERK生物標誌物調節所測定。II類及III類突變體模型證實當利用化合物1治療時之最強效細胞反應，而野生型BRAF模型係最小反應性。

#### 【0054】實例3：異種移植物模型中之抗增殖活性之測定

##### 方法

【0055】當平均腫瘤體積達到200至335 mm<sup>3</sup>時，開始分組及治療，如結果小節中所指示。將小鼠基於其起始腫瘤體積及體重分配至各自組使得平均值針對各治療組相同。研究組及每組之動物數目示於表5至7中。

#### A. 化合物1於I類BRAF突變型人類癌症中之抗腫瘤活性之評價

【0056】 首先於具有I類BRAF V600E突變之人類A-375黑色素瘤異種移植模型中評價化合物1之抗腫瘤活性。當腫瘤體積達到約200 mm<sup>3</sup>時，開始利用化合物1 (15、30或60 mg/kg；游離鹼形式)治療及每日一次(QD)繼續3週。於利用化合物1治療後之平均A-375異種移植腫瘤體積(圖1A)、小鼠體重(圖1B)、在研究結束時異種移植腫瘤體積相對於基線之變化百分比(圖1C)按劑量隊組呈現。當腫瘤體積達到約205 mm<sup>3</sup>之平均值時，開始化合物1治療及在指定劑量下繼續21天(n = 9隻動物/組)。將平均腫瘤體積及體重各自繪圖；誤差條表示平均標準誤差。使用下式計算腫瘤體積之變化%： $(TV_f - TV_0)/TV_0 \times 100\%$ ；其中TV<sub>f</sub> =最終腫瘤體積(在治療結束時)及TV<sub>0</sub> =初始腫瘤體積(在治療開始時)。

表5

組編號	藥物	動物數目	劑量 (mg/kg)	體積 (μL/g)	途徑	方案	持續時間
1	媒劑	9	0	10	PO	QD	21天
3	化合物1	9	15	10	PO	QD	21天
4	化合物1	9	30	10	PO	QD	21天
5	化合物1	9	60	10	PO	QD	21天

【0057】 當歷時24小時時期經口給藥時，於最後劑量後，於具有突變體A-375 BRAF I類黑色素瘤之小鼠中，化合物1治療導致11,900至156,000 h\*ng/mL之全身血漿暴露(AUC<sub>last</sub>)。異種移植腫瘤生長相對於對照(經媒劑處理之)腫瘤之劑量依賴性抑制在利用化合物1治療下觀察到(圖1A)。所有測試劑量係良好耐受，其中於利用60 mg/kg治療之動物中觀察到一些體重損失(5.6%之平均體重損失；圖1B)。60 mg/kg隊組中之一隻動物在治療過程期間具有體重損失> 10%，但是在研究結束時恢復。

【0058】 圖1C中呈現定義為自基線之腫瘤體積變化之個體腫瘤反應的瀑布圖。利用30 mg/kg及60 mg/kg每日劑量達成之平均TGI各自為57%

及106% ( $p \leq 0.0001$ ; 圖1C)，其中後者組中之9隻動物中之8隻(89%)展示腫瘤消退。最低測試劑量15 mg/kg不導致顯著TGI。

### B. 化合物1於II/III類BRAF突變型人類癌症中之抗腫瘤活性之評價

【0059】 接下來於展示II/III類BRAF突變之人類異種移植物模型中評價化合物1之抗腫瘤活性。將各自具有II類BRAF插入-缺失(插入或缺失(indel); V487\_P492delinsA)及III類BRAF D594G突變之BxPC-3胰臟癌及WM3629黑色素瘤細胞系衍生之異種移植物每日用總計3至20 mg/kg之化合物1 (硫酸鹽形式)治療2週。當腫瘤體積為約240至280 mm<sup>3</sup>時，開始治療，其中動物接受每日一次(QD; 3至20 mg/kg)或每日兩次(BID; 1.5至10 mg/kg)投與之等效總劑量之範圍。在利用化合物1治療期間之平均BxPC-3 (II類BRAF突變PDAC)及WM3629 (III類BRAF突變型黑色素瘤)異種移植腫瘤體積(圖2A, 圖2C)及小鼠體重(圖2B, 圖2D)按劑量隊組呈現。當腫瘤體積達到240至283 mm<sup>3</sup>之平均值時，開始化合物1治療及在指定劑量及頻率下繼續14天( $n = 9$ 隻動物/組)。將平均腫瘤體積及體重繪圖；誤差條表示平均標準誤差。

表6

組編號	藥物	動物數目	劑量 (mg/kg)	體積 (μL/g)	途徑	方案	持續時間
1	媒劑	9	0	10	PO	BID	14天
3	化合物1	9	1.5	10	PO	BID	14天
4	化合物1	9	3	10	PO	BID	14天
5	化合物1	9	5	10	PO	BID	14天
6	化合物1	9	10	10	PO	BID	14天
7	化合物1	9	3	10	PO	QD	14天
8	化合物1	9	6	10	PO	QD	14天
9	化合物1	9	10	10	PO	QD	14天
10	化合物1	9	20	10	PO	QD	14天

【0060】 當歷時24小時時期各自BID或QD經口給藥時，於最後劑量後，於具有突變體BRAF II類BxPC-3胰及III類WM3629黑色素瘤異種移植植物之小鼠中，化合物1治療導致4,030至42,100 h\*ng/mL及5,200至53,700 h\*ng/mL之全身血漿暴露(AUC<sub>last</sub>)。BxPC-3及WM3629異種移植腫瘤生長相對於對照(經媒劑處理之)腫瘤之劑量依賴性抑制在利用化合物1治療下觀察到(圖2A，圖2C)。與QD相比，利用BID達成朝向更大TGI之趨勢，於兩個模型中投與化合物1之等效總每日劑量。所有測試劑量及時程表係良好耐受，如藉由處於治療動物體重變化所量測(圖2B，圖2D)。

【0061】 圖3A及圖3B中各自呈現個體BxPC-3腫瘤及WM3629腫瘤異種移植植物反應之瀑布圖。BxPC-3腫瘤生長之統計上顯著減少在至多10 mg/kg總化合物1/天之所有測試劑量下達成(51至88%抑制； $p \leq 0.0001$ ；圖3A)。另外，在20 mg/kg QD及3至10 mg/kg BID治療組之動物中觀察到腫瘤消退(在20 mg/kg QD及10 mg/kg BID下各自109%及118% TGI； $p \leq 0.0001$ )。相似地，於WM3629模型中，在所有測試劑量及時程表下觀察到TGI (47至101%抑制； $p \leq 0.04$ 至0.0001)；其中在最高每日劑量下觀察到一些消退情況(圖3B)。與BxPC-3模型一致，當BID投與時，亦於一隻動物中在較低劑量(5 mg/kg)下達成消退。

### C. 化合物1與MEK抑制組合於III類BRAF突變型人類癌症中之抗腫瘤活性之評價

【0062】 於人類WM3629 (III類BRAF突變體)黑色素瘤異種移植植物模型中評價當與比美替尼(一種經批准與康奈非尼(encorafenib)組合使用來治療具有BRAF V600E/K突變之晚期黑色素瘤之MEK抑制劑)組合時之化合物1的抗腫瘤活性。當腫瘤體積達到約335 mm<sup>3</sup>時，開始利用化合物1

(15或30 mg/kg QD；游離鹼形式)、比美替尼(10 mg/kg QD)及/或兩種療法之組合治療及每日一次繼續2週。

表7

組編號	藥物	動物數 目	劑量 (mg/kg)	體積 ( $\mu$ L/g)	途徑	方案	持續時間
1	媒劑A	9	0	10	PO	QD	14天
2	媒劑B	9	0	10	PO	QD	14天
3	比美替尼	9	10	10	PO	QD	14天
8	化合物1	9	15	10	PO	QD	14天
9	化合物1	9	30	10	PO	QD	14天
14	比美替尼+ 化合物1	9	10/15	5/5	PO/PO	QD/QD	14天
15	比美替尼+ 化合物1	9	10/30	5/5	PO/PO	QD/QD	14天

【0063】 在所測試劑量下，利用化合物1及/或比美替尼治療各自達成範圍自31,100至123,000 hr\*ng/mL及11,000至26,700 hr\*ng/mL之全身血漿暴露(AUC<sub>last</sub>)。觀察到化合物1單藥療法之劑量依賴性反應(圖4A，C)。利用15 mg/kg及30 mg/kg之平均TGI各自為86%及99%。利用比美替尼(10 mg/kg QD)作為單藥劑治療不導致腫瘤生長之顯著抑制。然而，化合物1添加至比美替尼的確導致改善之腫瘤異種移植物生長抑制，具有腫瘤消退之證據(利用10/15 mg/kg及10/30 mg/kg比美替尼/化合物1各自為101%及108% TGI； $p \leq 0.0001$ ；圖4C)。重要的是，利用化合物1加上比美替尼治療係良好耐受，其中在最高組合療法劑量下在單次處於治療時間點僅一隻動物展示10%體重損失(圖4B)。

### 結論

【0064】 化合物1於BRAF突變型人類癌症之無胸腺裸鼠異種移植物

第 28 頁(發明說明書)

模型中在至多60 mg/kg/天之劑量下係良好耐受且有效。在每日化合物1治療下觀察到A-375 (BRAF I類突變)、BxPC-3 (BRAF II類突變)或WM3629 (BRAF III類突變)異種移植腫瘤生長之劑量依賴性抑制。與化合物1之每日一次給藥相比，在每日兩次下觀察到朝向更穩健腫瘤反應之趨勢，然而，兩種給藥方案在等效總每日劑量下導致相似腫瘤生長抑制(TGI)及消退(平均TGI多至101至118%； $p \leq 0.0001$ )。當與MEK抑制劑組合時，化合物1亦良好耐受且有效，導致WM3629異種移植腫瘤消退(平均TGI 101至106%； $p \leq 0.0001$ )。此等數據指示，化合物1作為單藥劑具有強效抗腫瘤活性及亦可與其他靶向療法安全組合用於治療BRAF驅動之癌症。

#### 實例4：化合物1與比美替尼組合於NRAS突變型黑色素瘤中之細胞活性之評價

**【0065】** 目的：為評價化合物1 (一種快速加速之纖維肉瘤(RAF)激酶之選擇性且強效抑制劑)與促分裂原活化蛋白激酶激酶(MEK)抑制劑比美替尼組合之細胞效能及活性。

**【0066】** 方法：於人類神經母細胞瘤大鼠肉瘤病毒致癌基因同源物(NRAS)突變型黑色素瘤細胞中於7天生長分析中評價RAF抑制劑化合物1加上比美替尼之組合活性。SK-MEL-2人類黑色素瘤細胞係獲自美國典型培養物保藏所(American Type Culture Collection)及維持於DMEM+10% FBS+1%盤尼西林(penicillin)/鏈黴素(streptomycin)中。將所有細胞在37°C與5%二氧化碳(CO<sub>2</sub>)下維持於加濕培育器中。將SK-MEL-2細胞於96孔板(Corning 3904)中於96 μL生長培養基中以1,000個細胞/孔接種及允許在37°C與5% CO<sub>2</sub>下黏附過夜。第二天，將化合物1於96孔板中於二甲亞

礆(DMSO)中自1 mM開始連續稀釋至9點3倍稀釋曲線。將比美替尼於96孔板中於DMSO中自500  $\mu$ M開始連續稀釋至5點4倍稀釋曲線。然後將2  $\mu$ L各化合物轉移至196  $\mu$ L培養基以製備10X工作稀釋液。將10  $\mu$ L工作稀釋液分配至96孔板之對應孔以將總體積帶至100  $\mu$ L。採用0.2% DMSO溶液作為陰性對照。將細胞與化合物在37°C與5% CO<sub>2</sub>下培育7天。將板自培育器移除及在室溫下平衡15分鐘。然後，將100  $\mu$ L CellTiter-Glo (CTG) 試劑添加至各孔以待檢測(以相對於培養基1:1)。將板保持在室溫下30分鐘，接著在板閱讀器上讀取。使用利用4參數分析方法擬合之劑量-反應回歸曲線計算EC<sub>50</sub>值。進行數據之協同分析以評估化合物1及比美替尼之潛在協同組合效益(Meyer等人，2019，Ianevski等人，2020)。單藥劑化合物1 (以DMSO對照)導致164 nM之生長抑制性EC<sub>50</sub>。當與增加濃度之比美替尼組合時，化合物1效能增強，針對2、7.8、31.3、125及500 nM之比美替尼濃度之EC<sub>50</sub>值各自偏移至108 nM、106 nM、65 nM、39 nM及12 nM，如表8及圖5中所說明。此細胞研究證實，當於人類NRAS突變型黑色素瘤細胞系中將MEK抑制劑比美替尼添加至化合物1治療中時之組合效益。

表8

細胞系	MAPK改變	比美替尼濃度(nM)	化合物1 7天CTG EC <sub>50</sub> (nM)
SK-MEL-2	BRAF野生型， NRAS_Q61R	0	164
		2	108
		7.8	106
		31.3	65
		125	39
		500	12

**【0067】** 使用多種可得協同模型評估SK-MEL-2細胞中之化合物1與比美替尼之間之潛在協同作用。組合之多維協同作用(MuSyC)模型於其模型中考慮效能( $\alpha$ )及功效( $\beta$ )二者；分數 $> 0$ 指示指定參數之兩種藥物之間之協同。評估及利用最高單藥劑(HSA)、Bliss及Loewe協同模型以發現最協同區域分數，其中分數 $> 10$ 指示兩種藥物之間之相互作用可能係協同。使用多種協同模型分析來自7天生長分析之結果，參見表9。MuSyC模型導致0.44之 $\beta$ 分數及10.61之 $\alpha$ 分數，指示SK-MEL-2研究中之協同組合功效及協同效能二者。HAS、Bliss及Loewe模型計算各自對應於21.6、16.2及11.6之最協同區域分數，指示表9中所示範圍之協同。一併考慮，此細胞研究及隨後協同分析證實SK-MEL-2人類NRAS突變型黑色素瘤細胞系中之化合物1與比美替尼之間之協同組合效益。

表9

協同模型	度量	分數
MuSyC	$\alpha$ 分數(效能)	10.61
	$\beta$ 分數(功效)	0.44
HSA	最協同區域分數(比美替尼：31.2至500 nM；化合物1：111.1至1000 nM)	21.6
Loewe	最協同區域分數(比美替尼：7.8至125 nM；化合物1：37至333.3 nM)	16.2
Bliss	最協同區域分數(比美替尼：7.8至125 nM；化合物1：12.3至111.1 nM)	11.6

**【0068】** 結果之概述：化合物1證實NRAS突變型人類黑色素瘤細胞模型之強效抑制，如藉由7天生長分析中之細胞增殖之抑制所證實。化合物1生長抑制效能藉由與MEK抑制劑比美替尼組合而增強，如藉由利用增加劑量之比美替尼減少半最大有效濃度(EC50)值所證實。

### 實例5：化合物1與MEK抑制劑組合於NRAS突變型人類黑色素瘤中之抗腫瘤活性之評價

【0069】於人類SK-MEL-2 (NRAS Q61R突變)黑色素瘤異種移植模型中評價當與比美替尼組合時之化合物1之抗腫瘤活性。當腫瘤體積達到約307 mm<sup>3</sup>時，開始利用化合物1 (10或30 mg/kg BID)、比美替尼(3 mg/kg BID)或兩種療法之組合治療及每日兩次繼續4週。

表10

組編號	藥物	動物數目	劑量 (mg/kg)	體積 (mL/g)	途徑	方案	持續時間
1	媒劑1+媒劑2	9	0	5+5	PO	BID + BID	28天
2	化合物1	9	10	10	PO	BID	28天
3	化合物1	9	30	10	PO	BID	28天
4	比美替尼	9	3	5	PO	BID	28天
5	化合物1+比美替尼	9	10+3	10+5	PO	BID + BID	28天

【0070】利用測試劑量之化合物1及/或比美替尼治療各自達成範圍自29,900至96,100 hr\*ng/mL及7,500至10,100 hr\*ng/mL之全身血漿暴露(AUC<sub>0-24</sub>)。觀察到單藥療法及組合組之腫瘤生長抑制(圖6)。利用10 mg/kg及30 mg/kg之平均TGI各自為13%及135%。利用比美替尼(3 mg/kg BID)作為單藥劑治療導致23%腫瘤生長抑制。將10 mg/kg化合物1添加至比美替尼導致改善之腫瘤異種移植生長抑制，具有腫瘤消退之證據(相應地，利用10/3 mg/kg比美替尼/化合物1為122%；圖7)。

### 實例6：化合物1與比美替尼組合於NRAS突變型、BRAF突變型黑色素瘤異種移植模型中之抗腫瘤活性之評價

【0071】目的：為評價化合物1 (一種快速加速之纖維肉瘤(RAF)激酶之選擇性且強效抑制劑)加上促分裂原活化蛋白激酶激酶(MEK)抑制劑

比美替尼於神經母細胞瘤大鼠肉瘤病毒致癌基因同源物(NRAS)突變體及快速加速之纖維肉瘤激酶同源物B (BRAF)突變體人類癌細胞系衍生之異種移植模型中之耐受性及抗腫瘤活性。

【0072】 方法：將無胸腺BALB/c裸鼠在右腹部利用 $1 \times 10^7$ 個人類癌細胞皮下接種。當腫瘤體積(TV)達到約 $300 \text{ mm}^3$ 時，開始化合物1及/或比美替尼之每日兩次(BID)口服(PO)投與及繼續2週。監測動物之腫瘤生長、體重變化及一般健康/行為。

【0073】 當平均TV達到約 $300 \text{ mm}^3$ 時，開始分組及治療。將小鼠基於其起始TV及體重分配至各自組使得各治療組之平均值相同。研究組及每組之動物數目示於表11中。

表11

組編號	藥物	動物數目	劑量 (mg/kg)	體積 ( $\mu\text{L/g}$ )	途徑	方案	持續時間
1	媒劑	9	0	5	PO	BID	14天
2	化合物1	9	1.5	5	PO	BID	14天
3	化合物1	9	3	5	PO	BID	14天
4	比美替尼	9	3	5	PO	BID	14天
5	比美替尼/ 化合物1	9	3/1.5	5/5	PO/PO	BID / BID	14天
6	比美替尼/ 化合物1	9	3/3	5/5	PO/PO	BID / BID	14天

【0074】 將小鼠在右腹部利用含於 $0.1 \text{ mL}$  1:1培養基/基質膠中之 $1 \times 10^7$ 個WM3629細胞皮下接種用於腫瘤形成。根據表12中所示之研究設計向荷瘤小鼠投與治療。針對常規監測，不僅監測所有研究動物之腫瘤生長，而且監測任何行為及外觀異常，諸如活動性、食物及水消耗、體重、眼睛外觀及任何其他異常觀察。記錄任何活動性及/或異常臨床徵兆。整

個研究中每隔一天量測並記錄所有動物之體重。在第一週期間每週三次及在第二及第三週期間每週兩次利用卡尺進行腫瘤大小之量測及記錄。使用下式估計TV (mm<sup>3</sup>)： $TV = a \times b^2/2$ ，其中「a」及「b」各自為腫瘤之長徑及短徑。使用下列方程式計算TGI：

$$\%T/C = 100\% \times (TV_f - TV_0)_{\text{經治療}} / (TV_f - TV_0)_{\text{對照}}$$

$$\%TGI = (1 - T/C) \times 100\%$$

其中「TV<sub>f</sub>」及「TV<sub>0</sub>」各自為最終TV (在治療結束時)及初始TV (在治療開始時)。

**【0075】** 若動物顯示嚴重窘迫及/或疼痛之明顯徵兆、損失顯著身體質量(體重損失> 20%)、不能獲得適當食物或水、以其他方式觀察到處於連續惡化狀況或若動物之腫瘤大小超過2,500 mm<sup>3</sup>，則將其安樂死。當組平均TV達到> 2,500 mm<sup>3</sup>時，將給定研究小組之所有動物安樂死。

**【0076】** 結果：於人類WM3629 (NRAS突變體，III類BRAF突變體)黑色素瘤異種移植物模型中評價當與比美替尼組合時之化合物1之抗腫瘤活性。當TV達到約300 mm<sup>3</sup> (所有組之實際平均TV為283 mm<sup>3</sup>)時，開始利用化合物1 (1.5或3 mg/kg每日兩次[BID])、比美替尼(3 mg/kg BID)及/或兩種療法之組合治療及BID繼續2週。利用測試劑量之化合物1及/或比美替尼治療各自達成範圍自2,530至6,750 hr\*ng/mL及5,400至5,730 hr\*ng/mL之AUC<sub>0-last</sub>值。當作為單藥療法投與時，相對於組合，化合物1或比美替尼暴露實質上不同。

**【0077】** 觀察到對化合物1單藥療法之劑量依賴性反應(圖8A及8C)。利用1.5 mg/kg BID及3 mg/kg BID化合物1之平均TGI各自為66%及79% (表13)。利用比美替尼(3 mg/kg BID)作為單藥劑治療導致37%之平

均TGI (圖8A及8C；表13)。將化合物1添加至比美替尼導致改善之異種移植植物生長抑制：利用3 mg/kg比美替尼/ 1.5 mg/kg化合物1 BID；及3 mg/kg比美替尼/ 3 mg/kg化合物1 BID各自為90%及96% TGI；圖8A及8C；表13。

【0078】於所有治療後之TGI統計上顯著高於經媒劑處理之動物(針對比美替尼單藥療法 $p=0.0041$ ，針對所有其他治療 $p<0.0001$ ；表12)，及於利用化合物1及比美替尼組合治療後之TGI顯著高於利用比美替尼單藥療法所見者(針對組合療法之兩種劑量水平 $p<0.0001$ )。重要的是，利用化合物1加上比美替尼治療係良好耐受，在3 mg/kg比美替尼/ 1.5 mg/kg化合物1 BID劑量水平下僅兩隻動物及在3 mg/kg比美替尼/ 3 mg/kg化合物1 BID劑量水平下無動物展示 $\geq 10\%$ 體重損失，參見圖8B。

表12

治療	基線腫瘤體積 (mm <sup>3</sup> ) <sup>a</sup>	最終腫瘤體積 (mm <sup>3</sup> ) <sup>a</sup>	$\Delta T/\Delta C$ (%) <sup>b</sup>	TGI (%) <sup>c</sup>	P-值 <sup>d</sup>
媒劑A+B	283±15	1281±80	-	-	-
1.5 mg/kg BID化合物1	283±14	618±55	34	66	<0.0001*
3 mg/kg BID化合物1	283±17	494±35	21	79	<0.0001*
3 mg/kg BID比美替尼	283±17	910±69	63	37	0.0041*
3 mg/kg比美替尼/ 1.5 mg/kg化合物1 BID組合	283±16	387±45	10	90	<0.0001*
3 mg/kg比美替尼/ 3 mg/kg化合物1 BID組合	283±15	320±22	4	96	<0.0001*

ANOVA = 方差分析；BID = 每日兩次；BRAF = 快速加速之纖維肉瘤同源物B；C = 對照；MEK = 促分裂原活化蛋白激酶激酶；RM = 重複量測；SEM = 平均標準誤差；T = 經治療；TGI = 腫瘤生長抑制；TV = 腫瘤體積

<sup>a</sup> 平均值± SEM。

<sup>b</sup>  $\Delta T/\Delta C = 100\% \times (TV_f - TV_0)_{\text{經治療}} / (TV_f - TV_0)_{\text{對照}}$ ，其中 $TV_f$  = 最終

第 35 頁(發明說明書)

TV (在治療結束時)及 $TV_0$  = 初始TV (在治療開始時)。

$$^c \text{TGI} = (1 - T/C) \times 100\%。$$

<sup>d</sup> 比較各自治療組之TGI相對於經媒劑處理之動物之TGI的P-值，如藉由平均值之二因子RM ANOVA，接著塔基氏(Tukey's)事後比較所測定。

\* P-值指示統計上顯著差異。

**【0079】** 結果之概述：作為單藥療法或當與MEK抑制劑比美替尼(3 mg/kg BID)組合時，當於NRAS突變型及BRAF突變型黑色素瘤異種移植植物模型WM3629中BID經口給藥14天時，低劑量化合物1 (1.5或3 mg/kg BID)係良好耐受且有效。低劑量化合物1單藥療法導致中等腫瘤生長抑制(TGI；平均值66至79%)，而當與比美替尼單獨(平均TGI 37%)相比時，化合物1與比美替尼之組合導致顯著增強之TGI (平均值90至96%； $p < 0.0001$ )。此等數據指示，化合物1可與MEK抑制劑療法安全且有效組合用於NRAS突變型黑色素瘤之組合抗腫瘤效益。

**【0080】** 結論：利用化合物1及比美替尼(MEK抑制劑)組合治療係良好耐受且導致NRAS突變體III類BRAF突變型黑色素瘤WM3629之異種移植植物模型之顯著腫瘤抑制(利用3/1.5 mg/kg BID及3 / 3 mg/kg BID比美替尼/化合物1之平均TGI各自為90%及96%)。利用化合物1 /比美替尼組合治療之腫瘤抑制顯著大於利用比美替尼單藥療法( $p < 0.0001$ )。此研究證實，於具有NRAS突變之人類黑色素瘤模型中將MEK抑制劑添加至化合物1療法中之抗腫瘤組合效益。

**【0081】** 實例7：化合物1於BRAF突變型NSCLC異種移植植物模型中之抗腫瘤活性之評價

【0082】 目的：為評價化合物1 (快速加速之纖維肉瘤(RAF)激酶之選擇性且強效抑制劑)於RAF激酶同源物B (BRAF)突變體人類非小細胞肺癌(NSCLC)細胞系衍生之異種移植模型中之耐受性及抗腫瘤活性。

【0083】 方法：將無胸腺小鼠在右腹部用 $1 \times 10^7$ 個人類癌細胞皮下接種。當腫瘤體積(TV)達到約 $300 \text{ mm}^3$ 時，開始化合物1之每日兩次(BID)口服(PO)投與及繼續3週。監測動物之腫瘤生長、體重變化及一般健康/行為。

【0084】 當平均TV達到約 $300 \text{ mm}^3$ 時，開始分組及治療。將小鼠基於其起始TV及體重分配至各自組使得各治療組之平均值相同。研究組及每組之動物數目示於表13中。

表13

組編號	藥物	動物數目	劑量 (mg/kg)	體積 ( $\mu\text{L/g}$ )	途徑	方案	持續時間
1	媒劑	9	0	10	PO	BID	21天
2	化合物1	9	1.5	5	PO	BID	21天
3	化合物1	9	3	5	PO	BID	21天
4	化合物1	9	10	5	PO	BID	21天
5	化合物1	9	15	5	PO	BID	21天

【0085】 將小鼠在右腹部利用含於 $0.1 \text{ mL}$  1:1培養基/基質膠中之 $1 \times 10^7$ 個NCI-H2405細胞皮下接種用於腫瘤形成。根據表13中所示之研究設計向荷瘤小鼠投與治療。針對常規監測，不僅監測所有研究動物之腫瘤生長，而且監測任何行為及外觀異常，諸如活動性、食物及水消耗、體重、眼睛外觀及任何其他異常觀察。記錄任何活動性及/或異常臨床徵兆。整個研究中每隔一天量測並記錄所有動物之體重。在第一週期間每週三次及在第二及第三週期間每週兩次利用卡尺進行腫瘤大小之量測及記

錄。使用下式估計TV (mm<sup>3</sup>)：TV = a × b<sup>2</sup>/2，其中「a」及「b」各自為腫瘤之長徑及短徑。使用下列方程式計算TGI：

$$\%T/C = 100\% \times (TV_f - TV_0)_{\text{經治療}} / (TV_f - TV_0)_{\text{對照}}$$

$$\%TGI = (1 - T/C) \times 100\%$$

其中「TV<sub>f</sub>」及「TV<sub>0</sub>」各自為最終TV (在治療結束時)及初始TV (在治療開始時)。

**【0086】** 若動物顯示嚴重窘迫及/或疼痛之明顯徵兆、損失顯著身體質量(體重損失> 20%)、不能獲得適當食物或水、以其他方式觀察到處於連續惡化狀況或若動物之腫瘤大小超過2,500 mm<sup>3</sup>，則將其安樂死。當組平均TV達到> 2,500 mm<sup>3</sup>時，將給定研究小組之所有動物安樂死。收集血漿及腫瘤組織樣品用於藥物動力學及藥效動力學分析。

**【0087】** 結果：於人類NCI-H2405 (II類BRAF突變體) NSCLC異種移植模型中評價化合物1之抗腫瘤活性。當TV達到約300 mm<sup>3</sup> (所有組之實際平均TV為304 mm<sup>3</sup>)時，開始利用化合物1 (1.5、3、10或15 mg/kg 每日兩次[BID])治療及BID繼續3週。

**【0088】** 觀察到對化合物1治療之劑量依賴性暴露及抗腫瘤反應。在測試劑量下達成範圍自2878至50799 hr\*ng/mL之AUC<sub>0-24</sub>值，及觀察到相對於對照(經媒劑處理之動物)之腫瘤生長抑制(TGI) (圖9A，圖9C)。利用1.5、3、10或15 mg/kg BID之增加劑量之平均TGI各自為42%、58%、85%及107% (表14)。在化合物1之1.5、3、10及15 mg/kg BID劑量下達成腫瘤生長之統計上顯著減少(針對所有比較p<0.0001；表14)。重要的是，利用化合物1治療在所有測試劑量下係良好耐受，在該研究期間無組展示≥10%體重損失(圖9B)。

表14

治療	基線腫瘤體積(mm <sup>3</sup> ) <sup>a</sup>	最終腫瘤體積(mm <sup>3</sup> ) <sup>a</sup>	$\Delta T/\Delta C$ (%) <sup>b</sup>	TGI (%) <sup>c</sup>	P-值 <sup>d</sup>
媒劑	304 ±31	1333 ±199	-	-	-
1.5 mg/kg BID化合物1	304 ±35	902 ±105	58	42	<0.0001*
3 mg/kg BID化合物1	304 ±32	741 ±98	42	58	<0.0001*
10 mg/kg BID化合物1	304 ±34	463 ±53	15	85	<0.0001*
15 mg/kg BID化合物1	304 ±33	230 ±20	-7	107	<0.0001*

ANOVA = 方差分析；C = 對照；RM = 重複量測；SEM = 平均標準誤差；T = 經治療；TGI = 腫瘤生長抑制；TV = 腫瘤體積

<sup>a</sup> 平均值 ± SEM。

<sup>b</sup>  $\Delta T/\Delta C = 100\% \times (TV_f - TV_0)_{\text{經治療}} / (TV_f - TV_0)_{\text{對照}}$ ，其中TV<sub>f</sub> = 最終TV (在治療結束時)及TV<sub>0</sub> = 初始TV (在治療開始時)。

<sup>c</sup>  $TGI = (1 - T/C) \times 100\%$ 。

<sup>d</sup> 比較各自治療組之TGI相對於經媒劑處理之動物之TGI的P-值，如藉由平均值之二因子RM ANOVA，接著塔基氏事後比較所測定。

\* P-值指示統計上顯著差異。

**【0089】** 結果概述：當於BRAF突變型NSCLC異種移植物模型NCI-H2405中經口給藥21天時化合物1 (1.5至15 mg/kg BID)係良好耐受且有效。利用每日兩次(BID)化合物1治療觀察到劑量依賴性腫瘤生長抑制(TGI)，其中低劑量化合物1 (1.5至3.0 mg/kg BID)導致中等TGI (平均值42至58%)及較高化合物1劑量(10至15 mg/kg BID)導致強TGI (平均值85至107%)。所有經化合物1治療組之TGI與經媒劑處理之動物統計上顯著不同(p<0.0001)。此等數據指示，化合物1可安全且有效用於BRAF突變型NSCLC之強效抗腫瘤效益。

### 實例8：化合物1於人類臨床試驗中之用途

【0090】 標題：用以研究化合物1於具有BRAF及/或NRAS突變陽性實體腫瘤之參與者中之安全性、耐受性、藥物動力學及抗腫瘤活性的1/1b期開放標籤多中心研究

【0091】 研究階段：1/1b期

【0092】 適應症：BRAF突變陽性實體腫瘤及/或NRAS突變陽性實體腫瘤

【0093】 引言：此為於具有快速加速之纖維肉瘤同源物B (BRAF)突變陽性及/或神經母細胞瘤RAS (NRAS)突變陽性腫瘤之參與者中之2部分，開放標籤，多中心，劑量遞增及劑量擴展研究，其經設計以評價化合物1 (一種泛快速加速之纖維肉瘤(RAF)小分子激酶抑制劑)之安全性、耐受性及藥物動力學(PK)；測定化合物1之推薦2期劑量(RP2D)用於進一步臨床開發；及評估化合物1療法單獨及與比美替尼(一種促分裂原活化蛋白激酶(MEK)抑制劑)組合之客觀反應。

【0094】 研究目標

【0095】 A部分：該研究之A部分劑量遞增化合物1單藥療法組分(下文中稱作A1部分)之主要目標為測定化合物1之經口投與於具有BRAF突變陽性晚期或轉移性實體腫瘤或具有NRAS突變之黑色素瘤之參與者中之安全性及耐受性，包含劑量限制毒性(DLT)，及識別最大耐受劑量(MTD)及/或用於B部分劑量擴展之進一步臨床研究之適宜劑量。次要目標包括表徵PK性質及食物對化合物1之PK之效應。該研究之A部分劑量遞增：化合物1 +比美替尼組合組分(下文中稱作A2部分)之主要目標為測定化合物1 +比美替尼之經口投與於具有BRAF II或III類突變陽性晚期或轉移性實體腫瘤或具有NRAS突變之黑色素瘤之參與者中的安全性及耐受性，包含DLT，

及識別MTD及/或用於進一步臨床研究之適宜劑量。次要目標包括表徵化合物1及比美替尼組合之PK性質。

**【0096】 B部分：**該研究之B部分劑量擴展部分之主要目標為評估化合物1於患有II類或III類BRAF基因組改變之晚期或轉移性實體癌症之參與者中之抗癌活性的初步證據。次要目標包括進一步評價化合物1在RP2D下之安全性、耐受性及PK。

**【0097】 研究設計**

分2部分進行該研究。A部分包含2個分量：1)劑量遞增：化合物1單藥療法(A1部分)；及2)劑量遞增：化合物1 +比美替尼組合(A2部分)。B部分劑量擴展將評估化合物1於患有晚期或轉移性實體癌症之參與者中之抗癌活性的初步證據。

**【0098】 A部分(劑量遞增)**

**【0099】** 於A部分中，將包含具有任何BRAF I類、II類或III類突變之實體腫瘤及/或NRAS突變陽性黑色素瘤之參與者，其經受滿足所有協定限定之資格要求。將連續監測於此研究之A部分中招募之具有BRAF I類突變之腫瘤之參與者數目。

**【0100】** A1部分將評價化合物1於具有BRAF突變陽性晚期或轉移性實體腫瘤及/或具有NRAS突變之黑色素瘤之參與者中的安全性、耐受性、PK及藥效動力學(PD)。此分量將組合加速之滴定設計(單一參與者劑量水平)，接著傳統3 + 3劑量遞增方案以識別化合物1之MTD及/或RP2D。MTD經定義為最大每日口服劑量，在該劑量下< 33%之參與者在28天DLT評價期期間經歷DLT。於28天治療週期中，化合物1將作為口服劑量每日兩次(BID)每天投與持續28天。

【0101】 起始劑量，劑量水平1 (DL1)將為50 mg/天(以25 mg BID 投與)，及劑量遞增增量將按照改良之斐波那契(Fibonacci)數列。計劃之化合物1劑量水平於協定中指示。

【0102】 將採用加速之滴定劑量遞增設計原則，其中評價1名參與者/隊組直至觀察到生物活性之證據，此時將該隊組擴展為2名參與者。此及所有後續劑量水平隊組將使用3 + 3劑量遞增設計繼續進行。出於以上討論之目的，「生物活性之證據」經定義為(1) DLT或(2)至少1個級別≥ 2不良事件(AE)不明確歸因於潛在疾病或外來原因(排除由研究者認為非臨床顯著之2級實驗室研究AE)。

【0103】 以DL3開始，化合物1劑量將使用傳統3 + 3研究設計遞增及將繼續直至滿足停止規則，或直至MTD或達成期望最大藥理學活性之劑量(由PK及PD生物標誌物告知)。利用此3 + 3設計，將招募至少3名參與者進入自DL3向前之各劑量水平。若於DLT期(針對所有劑量水平，自化合物1之第一劑量28天)內劑量水平中之3名參與者中無一者經歷DLT，則將另外3名參與者在下個更高劑量水平下加以治療。若該劑量水平中之參與者中之2者或更多者於第1週期中發展DLT，則在給定劑量水平下不治療另外參與者。

【0104】 針對接受指定劑量水平之化合物1之前2名參與者，於第一及第二名參與者之化合物1之第一劑量之間至少有24小時。劑量遞增將繼續，直至最高計劃劑量水平以最少6名DLT可評價參與者在該劑量水平(即，認為為RP2D的劑量水平)下測定係安全且耐受，或直至達到MTD。將需要至多約26名參與者以評估MTD及/或RP2D。

【0105】 在啟動下個劑量水平之招募之前，由研究者及試驗委託者

代表組成之劑量審查委員會(Dose Review Committee/DRC)將評論所有可得安全性、PK及PD數據。該DRC將於該特定劑量水平之參與者完成至少1個完整週期後評論化合物1單藥療法之各劑量水平之安全性及耐受性。將繼續A部分，直至滿足停止規則或直至MTD或達成期望之最大藥理學活性之劑量(例如，RP2D)。該DRC亦將評價所有可得安全性數據及PK/PD數據，以確定B部分之RP2D。

**【0106】** 正在接受化合物1單藥療法之參與者應經歷疾病進展同時處於治療，基於該參與者對組合治療之資格性、化合物1療法之經歷、反應之特徵或其他相關考量，該參與者可被提供接受化合物1 +比美替尼之組合之選項。此決定係在研究者之裁量下，但是應與試驗委託者協商作出。

**【0107】** 將不啟動A2部分，直至於單藥療法劑量遞增隊組中滿足機制初步證明(PPOM)臨床標準。資格性將限於具有II/III類BRAF及/或NRAS突變腫瘤之參與者。將利用化合物1及比美替尼(比美替尼以45 mg 經口[PO] BID之劑量)開始平行遞增。組合中之化合物1之起始劑量(經設計為組合劑量水平1)將在DRC之裁量下為低於滿足PPOM標準1個劑量水平或低於視為安全之最高劑量水平1個劑量水平。劑量遞增將按照3 + 3設計，如協定中所述。將於具有II/III類BRAF及NRAS突變腫瘤之參與者中於28天治療週期內每天BID作為口服劑量一起投與化合物1及比美替尼。

**【0108】** 在各給藥隊組結束時，該DRC將負責確定是否滿足PPOM之標準，及建議是否應啟動組合劑量遞增。一旦啟動組合劑量遞增，特定化合物1劑量將根據改良之斐波那契設計增加及可於實務中選擇中間劑量。

【0109】 於A1部分中在研究者之裁量下及於與試驗委託者協商後允許參與者內劑量遞增及回填。若參與者滿足所有協定指定之標準，則可僅考慮參與者內劑量遞增。

【0110】 在A1部分期間於DL3、DL4及DL5下之參與者中使用隨機跨越設計於至少6名參與者中評價食物對化合物1之PK之效應。

【0111】 **B部分(劑量擴展)**

【0112】 一旦已於A部分中自化合物1單藥療法組確定MTD及/或生物活性劑量(即，RP2D)，就可開始該研究之劑量擴展部分(B部分)。B部分將評價化合物在自A部分確定之RP2D下於下列隊組中抗腫瘤活性：

- 隊組1：具有任何BRAF II類或III類突變之不可切除且局部晚期(美國癌症聯合委員會(American Joint Committee on Cancer) [AJCC] III期)或轉移性(AJCC IV期)非小細胞肺癌(NSCLC)之參與者

- 隊組2：具有任何BRAF II類或III類突變之不可切除且局部晚期(AJCC III期)或轉移性(AJCC IV期)黑色素瘤之參與者

- 隊組3：具有任何BRAF II類或III類突變之任何不可切除且局部晚期(AJCC III期，或利用其他分期系統之可相比較階段)或轉移性(AJCC IV期)實體腫瘤(除了NSCLC或黑色素瘤)之參與者

劑量擴展隊組中之參與者之招募將同時發生。

於隊組3中，在此研究之過程期間將監測具有BRAF II類或III類突變之各種腫瘤類型之參與者之招募；可限制特定腫瘤類型之招募以確保此隊組中之各種實體腫瘤之廣泛代表。

【0113】 研究終點

【0114】 主要

【0115】 安全性終點包含下列：

- DLT之發生率，
- AE (包含治療突現之不良事件及治療相關之AE)之發生率
- 生命體徵、身體檢查、心電圖及臨床實驗室測試之臨床顯著變化

【0116】 功效(如由研究者所評估)將藉由下列量測：

• 客觀反應率，經定義為根據實體腫瘤之反應評價標準(Response Evaluation Criteria in Solid Tumors /RECIST) v1.1之部分反應加上完全反應之率，如由研究者所評估。

- 疾病控制率
- 總體反應之持續時間
- 穩定疾病之持續時間

【0117】 次要

• 化合物1及化合物1 +比美替尼之藥物動力學參數，包括(但不限於)最大觀察之血漿濃度(Cmax)、達成Cmax之時間(tmax)及血漿濃度-時間曲線下面積(AUC)，包含進食及禁食狀態。

【0118】 探索性

- 化合物1及化合物1 +比美替尼暴露/安全性及暴露/功效關係
- 化合物1於血漿及尿液中之潛在代謝物之表徵
- 無進展生存期，及總生存期
- 藉由血液及/或腫瘤樣本之生物化學及/或遺傳分析之生物標誌物定量，包括(但不限於)對磷酸細胞外信號調節激酶(ERK)、DUSP6核糖核酸(RNA)及增殖標誌物Ki-67之藥效動力學效應。
- 循環腫瘤衍生之(血液)核酸(ctDNA)濃度及突變譜之變化

- 藉由血液及/或腫瘤樣本之生物化學及/或遺傳分析之潛在生物標誌物

- 群體PK分析

【0119】 樣本大小

計劃於此研究中招募約155名參與者。

【0120】 A部分(劑量遞增)：

【0121】 於A1部分中，於單藥療法劑量遞增階段將招募至多41名參與者。可招募約26名參與者以評估MTD及/或RP2D，自其中將評價6名參與者之食物對化合物1之PK之效應。

【0122】 針對A2部分，於組合劑量遞增階段將招募至多36名參與者。可需要約24名參與者以評估化合物1 +比美替尼組合之MTD。

【0123】 可招募約30名另外參與者用於跨A1及A2部分回填。

【0124】 B部分(劑量擴展)：

【0125】 於B部分中將招募約75名參與者，其將包含3個具有BRAF II或III類突變之參與者之隊組，包含具有NSCLC、黑色素瘤及其他實體腫瘤之參與者。針對隊組1及2，計劃西蒙氏(Simon's) 2階段最佳設計。於第一階段將招募12名參與者。若 $\geq 3$ 名參與者反應，則其將繼續至第2階段，招募另外13名參與者用於該隊組中25名總樣本大小。在第2階段結束時，若25名參與者中 $\geq 8$ 名反應，則將認為化合物1為有前景用於進一步評價。於各隊組中，該設計具有80%功率及0.1之最大1型誤差率以檢驗反應率 $\leq 20\%$ 的虛無假設與 $\geq 40\%$ 的備擇假設。針對第1階段之徒勞評估，反應可不要求確認。在DRC及試驗委託者之裁量下亦可包含超過反應率之另外考量。

【0126】 關鍵納入及排除標準

【0127】 關鍵納入標準包含下列：

【0128】 具有組織學或細胞學證實之轉移性或晚期惡性腫瘤之診斷的成年參與者(≥ 18歲)針對此研究有資格。A部分劑量遞增將招募具有任何類型之晚期或轉移性實體腫瘤之參與者。B部分劑量擴展將招募具有不可切除且局部晚期(AJCC III期)或轉移性(AJCC IV期) NSCLC、不可切除且局部晚期(AJCC III期)或轉移性(AJCC IV期)黑色素瘤、或任何不可切除且局部晚期(AJCC III期，或利用其他分期系統之可相比較之階段)或轉移性(AJCC IV期)實體腫瘤(除了NSCLC或黑色素瘤)之參與者。另外，要求BRAF及/或NRAS之遺傳異常，如納入標準中所指定。參與者必須已接收適用於其腫瘤類型及疾病階段之先前標準療法，或根據研究者之見解，不可能耐受或自適宜標準護理療法獲得臨床有意義效益。於A1部分中，患有藉由BRAF I類突變驅動之特定癌症(NSCLC、黑色素瘤、大腸直腸癌[CRC]及分化性甲狀腺癌)之參與者應先前已接收經批准之BRAF抑制劑(若經授權及可得，則利用或不利用經批准之MEK抑制劑)。

【0129】 參與者之腫瘤必須具有BRAF突變或為藉由臨床實驗室改善修正(Clinical Laboratory Improvement Amendments /CLIA)認證之實驗室中進行之腫瘤組織或ctDNA之先前基因組分析(於美國[US])或根據當地監管要求(於其他國家)識別之具有NRAS突變之黑色素瘤。參與者將提供於過去5年內獲得之存檔腫瘤組織樣本(福馬林固定之石蠟包埋[FFPE]之樣本)(若可得)及若醫學上可行，則將經歷強制治療前腫瘤活組織檢查。納入/排除標準之完整列表包含於協定中。

關鍵排除標準包含下列：

**【0130】** 具有自非腦腫瘤之已知活性腦轉移之參與者係無資格。具有藉由BRAF I類突變驅動之其他實體腫瘤(除了NSCLC、黑色素瘤、CRC及未分化甲狀腺癌)之A部分之參與者可不具有利用任何經批准或開發中小分子BRAF-、MEK-或促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)-定向之抑制劑療法之先前治療。將不實施此標準直至由DRC作出如此做之裁量及溝通。於B部分中，排除利用任何經批准或開發中小分子BRAF-、MEK-或MAPK-定向之抑制劑療法之先前治療。參與者可不具有來自先前抗腫瘤療法之任何未解決的毒性。排他性合併用藥、避孕要求及將自該研究排除參與者之疾病及其他狀況於協定中詳細描述。

**【0131】** 治療持續時間：參與者將於28天週期內接受化合物1或化合物1 +比美替尼直至疾病進展之證據、不可接受之毒性、對研究藥物不耐受、開始癌症之新的系統性療法、撤回同意、研究者裁量、試驗委託者裁量或死亡。

**【0132】** 統計考量：將酌情針對按劑量、劑量時程表及時間之選定人口統計學、安全性、PK、功效及生物標誌物數據提供描述統計學。對連續數據之描述統計學將包含平均值、中值、標準偏差及範圍，同時將使用頻率計數及百分比概述分類數據。客觀反應率將利用95%精確信賴區間呈現。亦可呈現數據之圖形概述。

## 【發明申請專利範圍】

### 【請求項1】

一種治療有需要患者之癌症之方法，其包括向該患者投與(S)-N-(3-(2-(((R)-1-羥基丙-2-基)胺基)-6-嗎啉基吡啶-4-基)-4-甲基苯基)-3-(2,2,2-三氟乙基)吡咯啶-1-甲醯胺或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物。

### 【請求項2】

一種治療有需要患者之癌症之方法，其包括向該患者投與包含(S)-N-(3-(2-(((R)-1-羥基丙-2-基)胺基)-6-嗎啉基吡啶-4-基)-4-甲基苯基)-3-(2,2,2-三氟乙基)吡咯啶-1-甲醯胺或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物及至少一種醫藥上可接受之賦形劑之醫藥組合物。

### 【請求項3】

如請求項1或2之方法，其中該癌症之特徵為具有致癌BRAF改變。

### 【請求項4】

如請求項3之方法，其中該致癌BRAF改變為I類BRAF突變。

### 【請求項5】

如請求項3之方法，其中該致癌BRAF改變為II類BRAF突變。

### 【請求項6】

如請求項3之方法，其中該致癌BRAF改變為III類BRAF突變。

### 【請求項7】

如請求項3之方法，其中該致癌BRAF改變為BRAF V600突變。

### 【請求項8】

如請求項7之方法，其中該BRAF V600突變為V600E或V600K突變。

**【請求項9】**

如請求項1或2之方法，其中該癌症之特徵為具有野生型BRAF。

**【請求項10】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該癌症為實體腫瘤。

**【請求項11】**

如請求項1至10中任一項之方法，其中該癌症係選自黑色素瘤、胰臟癌、胰腺癌、卵巢癌、大腸直腸癌、神經膠質瘤、蘭格罕(Langerhans)細胞組織球增生症、白血病、毛細胞白血病、甲狀腺癌、未分化甲狀腺癌、乳頭狀甲狀腺癌、濾泡性甲狀腺癌或髓樣甲狀腺癌。

**【請求項12】**

如請求項1至10中任一項之方法，其中該癌症係選自小細胞肺癌、非小細胞肺癌、前列腺癌、胃癌及食道癌。

**【請求項13】**

如請求項1至10中任一項之方法，其中該癌症為NRAS突變型黑色素瘤。

**【請求項14】**

如請求項1至10中任一項之方法，其中該癌症為膽管癌。

**【請求項15】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該癌症為轉移性。

**【請求項16】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該方法為於手術切除後之輔助療法。

**【請求項17】**

如請求項1至16中任一項之方法，其中該患者於先前療法後已復發。

**【請求項18】**

如請求項1至16中任一項之方法，其中該患者具有對先前療法之後天性抗性。

**【請求項19】**

如請求項1至16中任一項之方法，其中該患者對療法難治。

**【請求項20】**

一種治療有需要患者之癌症之方法，其包括向該患者投與：

(a)包含(S)-N-(3-(2-(((R)-1-羥基丙-2-基)胺基)-6-嗎啉基吡啶-4-基)-4-甲基苯基)-3-(2,2,2-三氟乙基)吡咯啶-1-甲醯胺或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物之組合物；及

(b)選自以下之至少一種腫瘤學治療劑：MEK抑制劑、免疫檢查點抑制劑、CDK抑制劑、EGFR激酶抑制劑、EGFR抗體、EGFR PROTAC治療劑、FGFR抑制劑、SOS1抑制劑、SHP2抑制劑、KRAS抑制劑、紫杉烷、拓撲異構酶抑制劑、ERK抑制劑、基於鉑之化療、醛葉酸、5-氟尿嘧啶或抗VEGF治療劑。

**【請求項21】**

如請求項20之方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為MEK抑制劑。

**【請求項22】**

如請求項20或21之方法，其中該MEK抑制劑係選自比美替尼(binimetinib)、曲美替尼(trametinib)、考比替尼(cobimetinib)、司美替尼(selumetinib)、匹馬色替(pimasertib)或米達替尼(mirdametinib)。

**【請求項23】**

如請求項20之方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為免疫檢查點抑制劑。

**【請求項24】**

如請求項20或23之方法，其中該免疫檢查點抑制劑為CTLA-4抑制劑、PD-1抑制劑或PD-L1抑制劑。

**【請求項25】**

如請求項24之方法，其中該CTLA-4抑制劑為伊匹單抗(ipilimumab)。

**【請求項26】**

如請求項24之方法，其中該PD-1抑制劑為斯帕塔利單抗(spartalizumab)、納武單抗(nivolumab)、派立珠單抗(pembrolizumab)或測米匹單抗(cemiplimab)。

**【請求項27】**

如請求項24之方法，其中該PD-L1抑制劑為阿特珠單抗(atezolizumab)、阿伐單抗(avelumab)或度伐單抗(durvalumab)。

**【請求項28】**

如請求項20之方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為CDK抑制劑。

**【請求項29】**

如請求項28之方法，其中該CDK抑制劑為CDK4/6抑制劑。

**【請求項30】**

如請求項29之方法，其中該CDK4/6抑制劑為帕博西尼(palbociclib)、阿貝西利(abemaciclib)或瑞博西尼(ribociclib)。

**【請求項31】**

如請求項20之方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為EGFR激酶抑制劑或抗體。

**【請求項32】**

如請求項31之方法，其中該EGFR激酶抑制劑為那紮替尼(nazartinib)、吉非替尼(gefitinib)、埃羅替尼(erlotinib)、阿法替尼(afatinib)、布加替尼(brigatinib)、埃克替尼(icotinib)、諾拉替尼(neratinib)、奧希替尼(osimertinib)、達克替尼(dacomitinib)或拉帕替尼(lapatinib)。

**【請求項33】**

如請求項31之方法，其中該EGFR抗體為西妥昔單抗(cetuximab)、盤尼圖單抗(panitumumab)、紮妥木單抗(zalutumumab)、尼妥珠單抗(nimotuzumab)或馬妥珠單抗(matuzumab)。

**【請求項34】**

如請求項20之方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為SHP2抑制劑。

**【請求項35】**

如請求項20之方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為SOS1抑制劑。

**【請求項36】**

如請求項20之方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為FGFR抑制劑。

**【請求項37】**

如請求項20之方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為KRAS抑制劑。

**【請求項38】**

如請求項35之方法，其中該KRAS抑制劑為索托拉西布(storasisib)、阿達格拉西布(adagrasib)或BI-1701963。

**【請求項39】**

如請求項20之方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為紫杉烷。

**【請求項40】**

如請求項20之方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為拓撲異構酶抑制劑。

**【請求項41】**

如請求項40之方法，其中該拓撲異構酶抑制劑為伊立替康(irinotecan)、拓撲替康(topotecan)或貝洛替康(belotecan)。

**【請求項42】**

如請求項20之方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為ERK抑制劑。

**【請求項43】**

如請求項20之方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為基於鉑之化療。

**【請求項44】**

如請求項43之方法，其中該基於鉑之化療為奧沙利鉑(oxaliplatin)、順鉑(cisplatin)或卡鉑(carboplatin)。

**【請求項45】**

如請求項20之方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為醛葉酸。

**【請求項46】**

如請求項20之方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為5-氟尿嘧啶。

**【請求項47】**

如請求項45之方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑包括醛葉酸及醛葉酸。

**【請求項48】**

如請求項45之方法，其進一步包括投與拓撲異構酶抑制劑或基於鉑之化療，或其組合。

**【請求項49】**

如請求項20之方法，其中該至少一種腫瘤學治療劑為抗VEGF治療劑。

**【請求項50】**

如請求項49之方法，其中該抗VEGF治療劑為貝伐單抗(bevacizumab)或阿柏西普(aflibercept)。

**【請求項51】**

如請求項20至50中任一項之方法，其中該癌症之特徵為具有致癌BRAF改變。

**【請求項52】**

如請求項51之方法，其中該致癌BRAF改變為I類BRAF突變。

**【請求項53】**

如請求項51之方法，其中該致癌BRAF改變為II類BRAF突變。

**【請求項54】**

如請求項51之方法，其中該致癌BRAF改變為III類BRAF突變。

**【請求項55】**

如請求項51之方法，其中該致癌BRAF改變為BRAF V600突變。

**【請求項56】**

如請求項55之方法，其中該BRAF V600突變為V600E或V600K突變。

**【請求項57】**

如請求項20至50中任一項之方法，其中該癌症之特徵為具有野生型 BRAF。

**【請求項58】**

如請求項20至57中任一項之方法，其中該癌症為實體腫瘤。

**【請求項59】**

如請求項20至58中任一項之方法，其中該癌症係選自黑色素瘤、胰臟癌、胰腺癌、卵巢癌、大腸直腸癌、神經膠質瘤、蘭格罕細胞組織球增生症、白血病、毛細胞白血病、甲狀腺癌、未分化甲狀腺癌、乳頭狀甲狀腺癌、濾泡性甲狀腺癌或髓樣甲狀腺癌。

**【請求項60】**

如請求項20至58中任一項之方法，其中該癌症係選自小細胞肺癌、非小細胞肺癌、前列腺癌、胃癌及食道癌。

**【請求項61】**

如請求項20至58中任一項之方法，其中該癌症為膽管癌。

**【請求項62】**

如請求項20至58中任一項之方法，其中該癌症為NRAS突變型黑色素瘤。

**【請求項63】**

如請求項20至62中任一項之方法，其中該癌症為轉移性。

**【請求項64】**

如請求項20至62中任一項之方法，其中該方法為於手術切除後之輔助療法。

**【請求項65】**

如請求項20至64中任一項之方法，其中該患者於先前療法後已復發。

**【請求項66】**

如請求項20至64中任一項之方法，其中該患者具有對先前療法之後天性抗性。

**【請求項67】**

如請求項20至64中任一項之方法，其中該患者對療法難治。

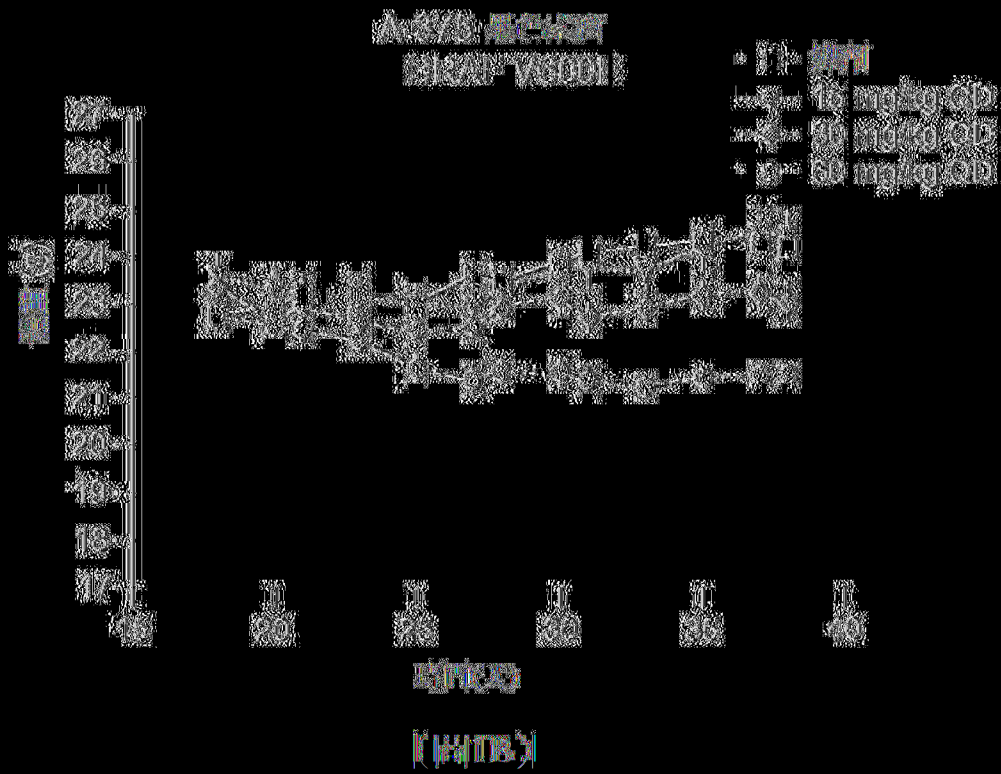
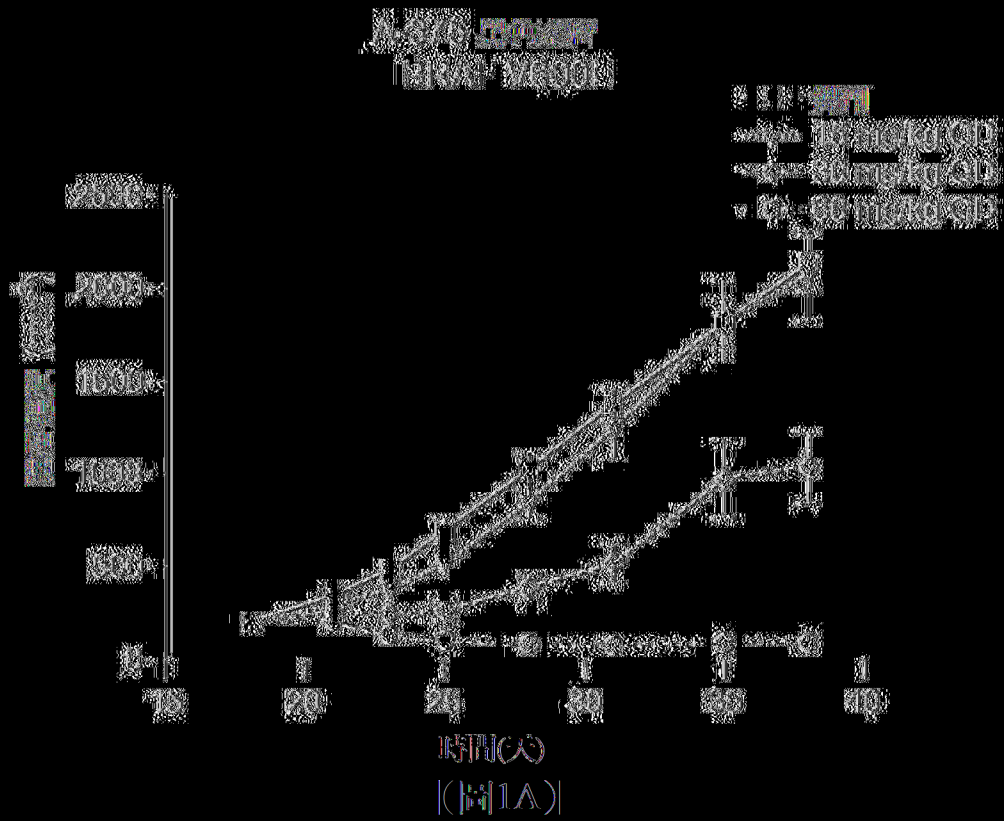
**【請求項68】**

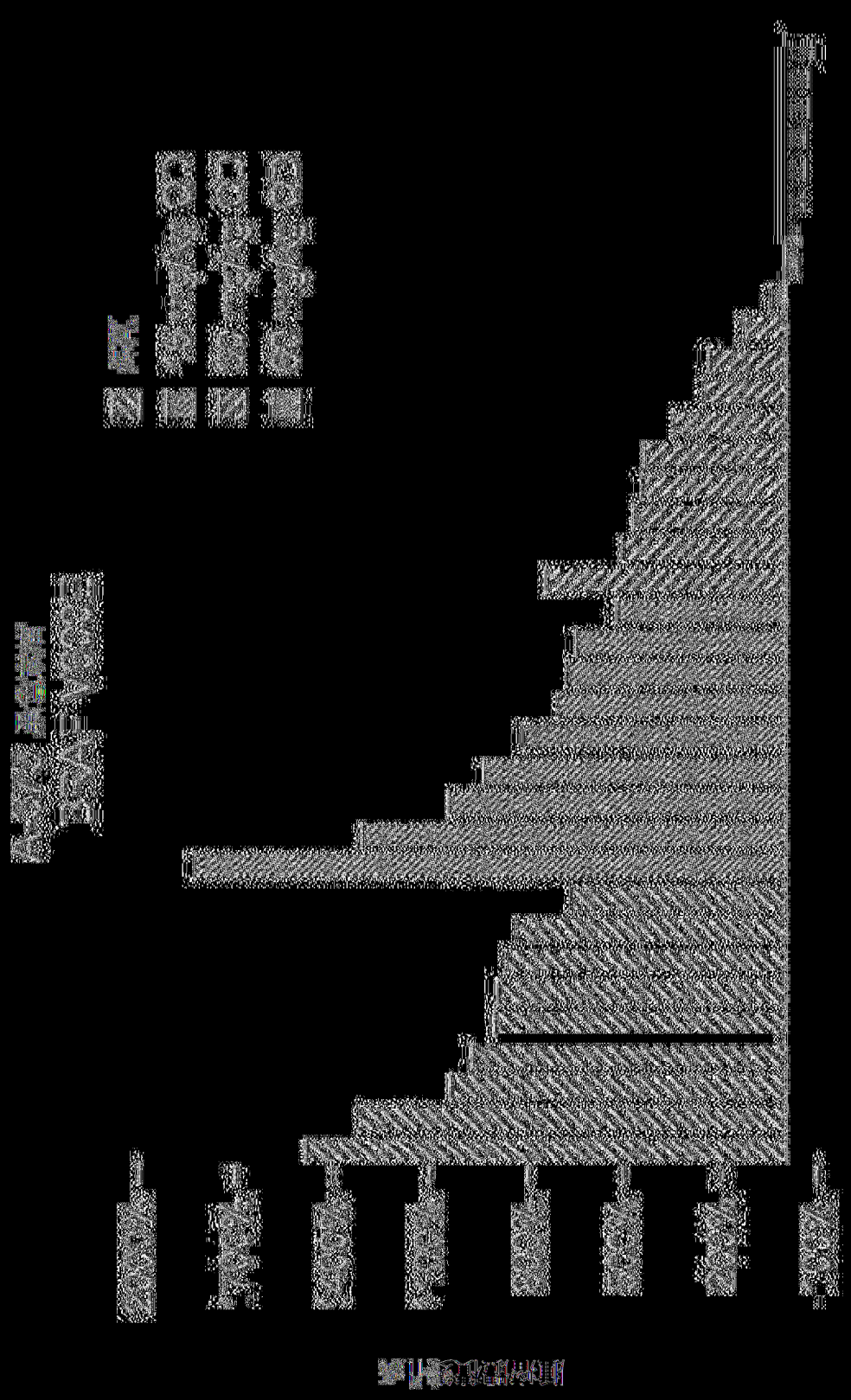
如前述請求項中任一項之方法，其中該(S)-N-(3-(2-(((R)-1-羥基丙-2-基)胺基)-6-嗎啉基吡啶-4-基)-4-甲基苯基)-3-(2,2,2-三氟乙基)吡咯啶-1-甲醯胺或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物係經口投與。

**【請求項69】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該經口投與係每隔一天、每天一次、每天兩次或每天三次發生。

(發明圖式)

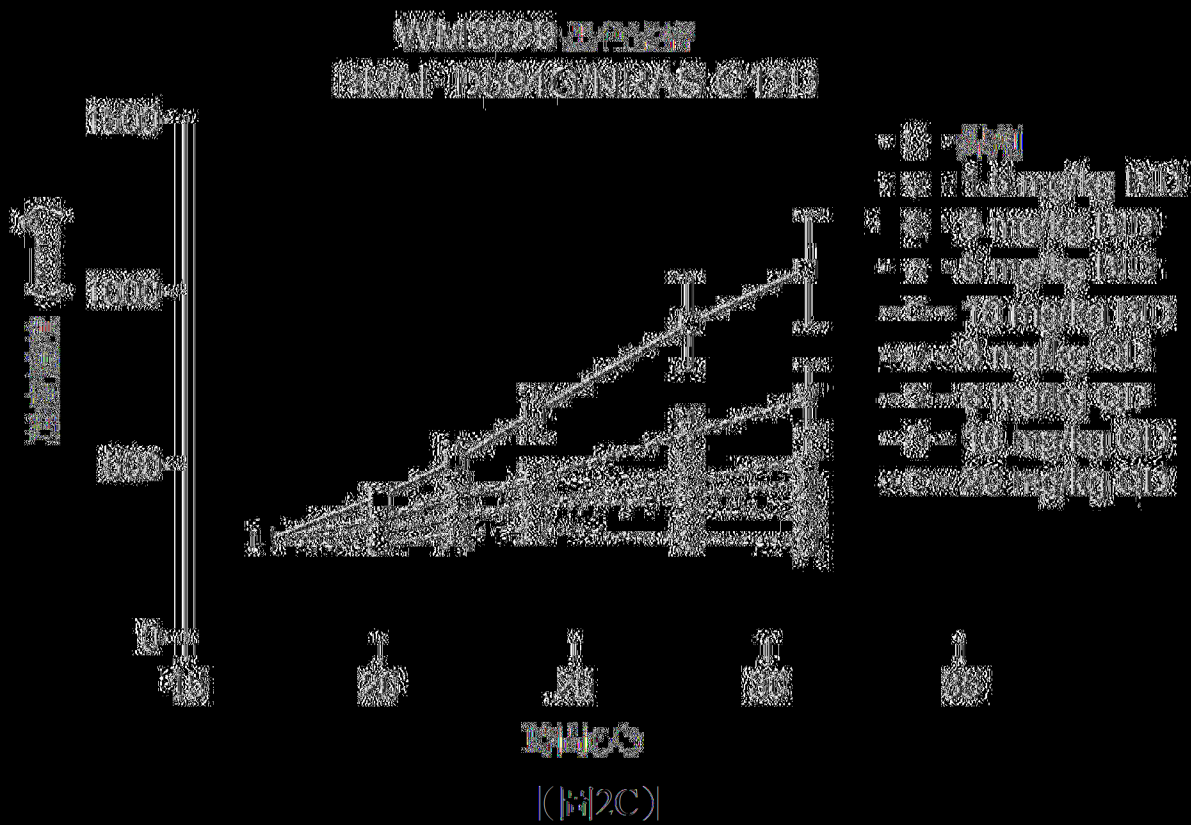




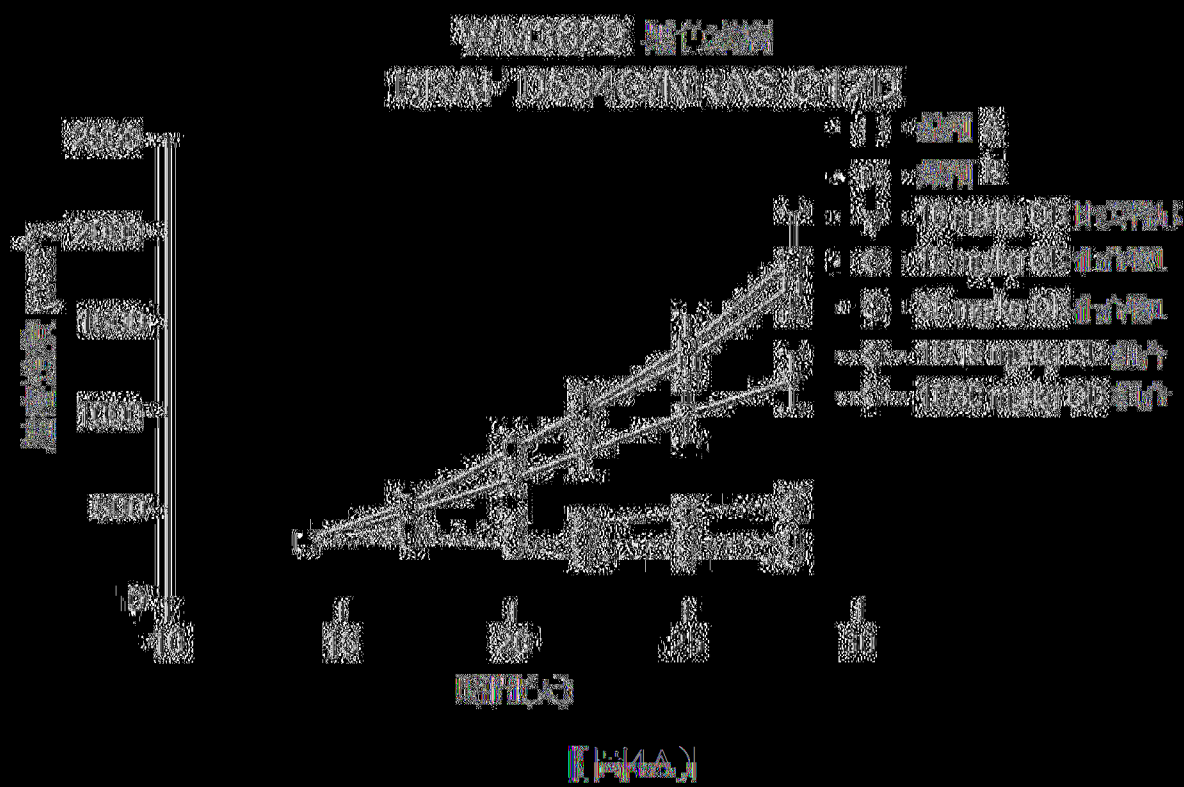
10111

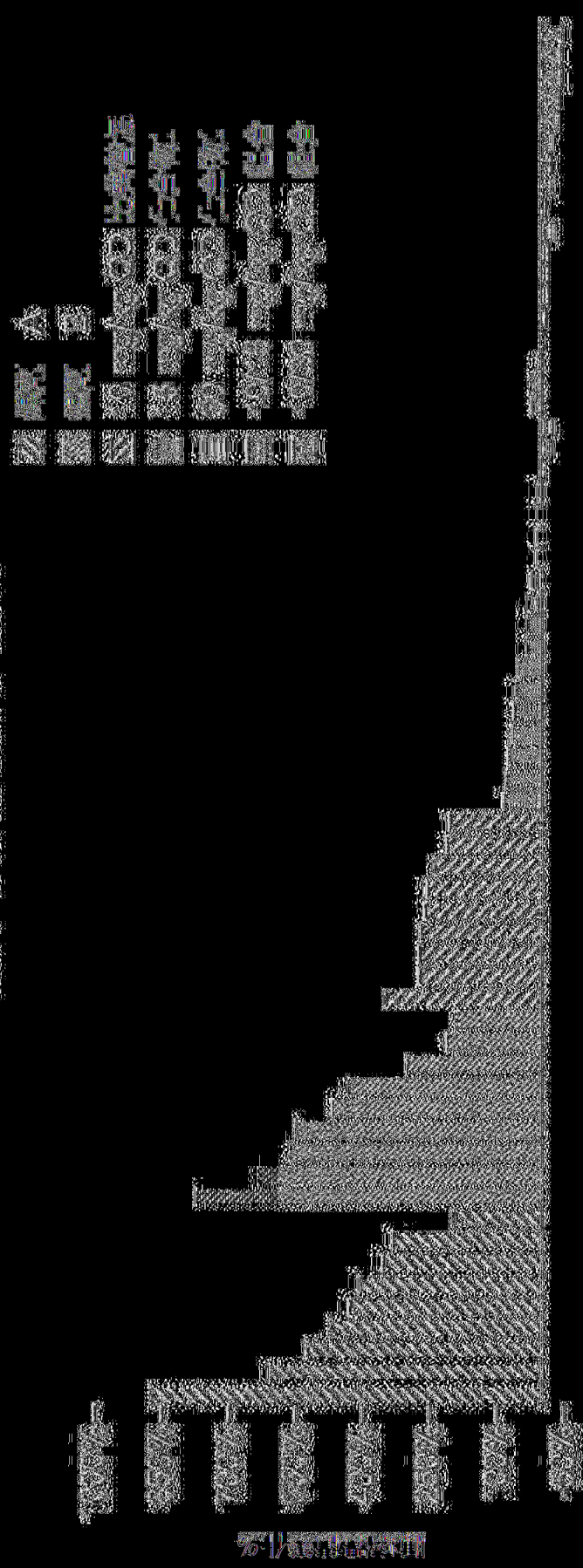
10111





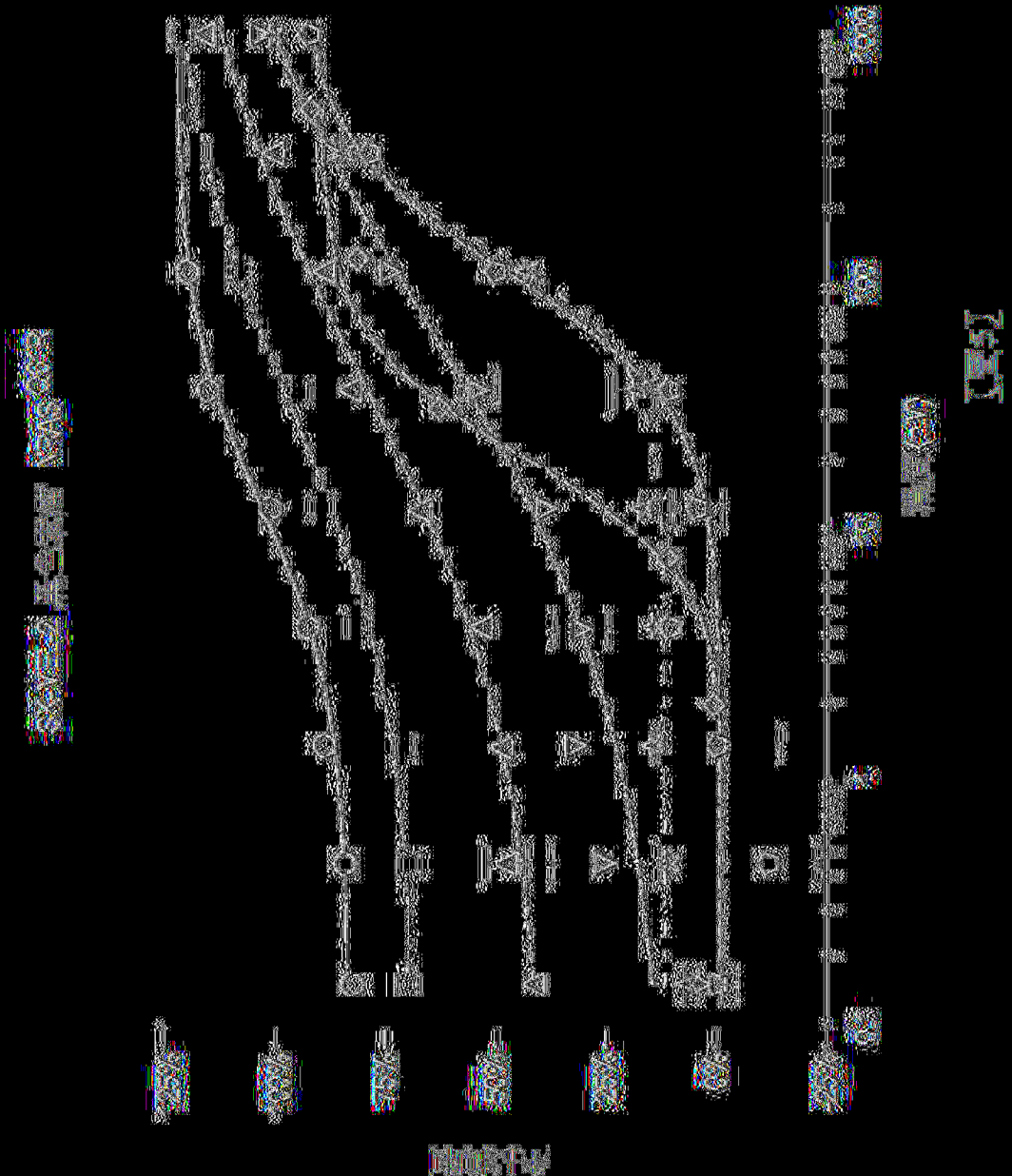
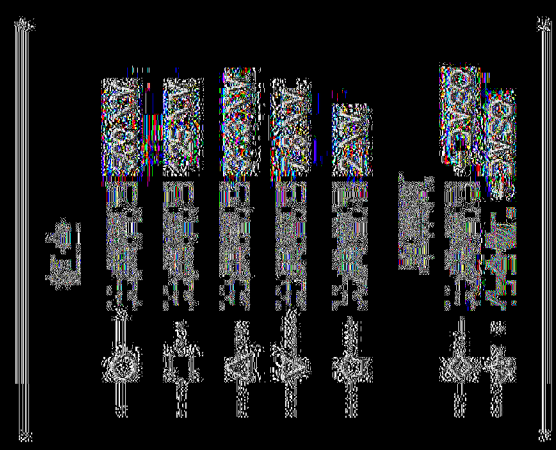


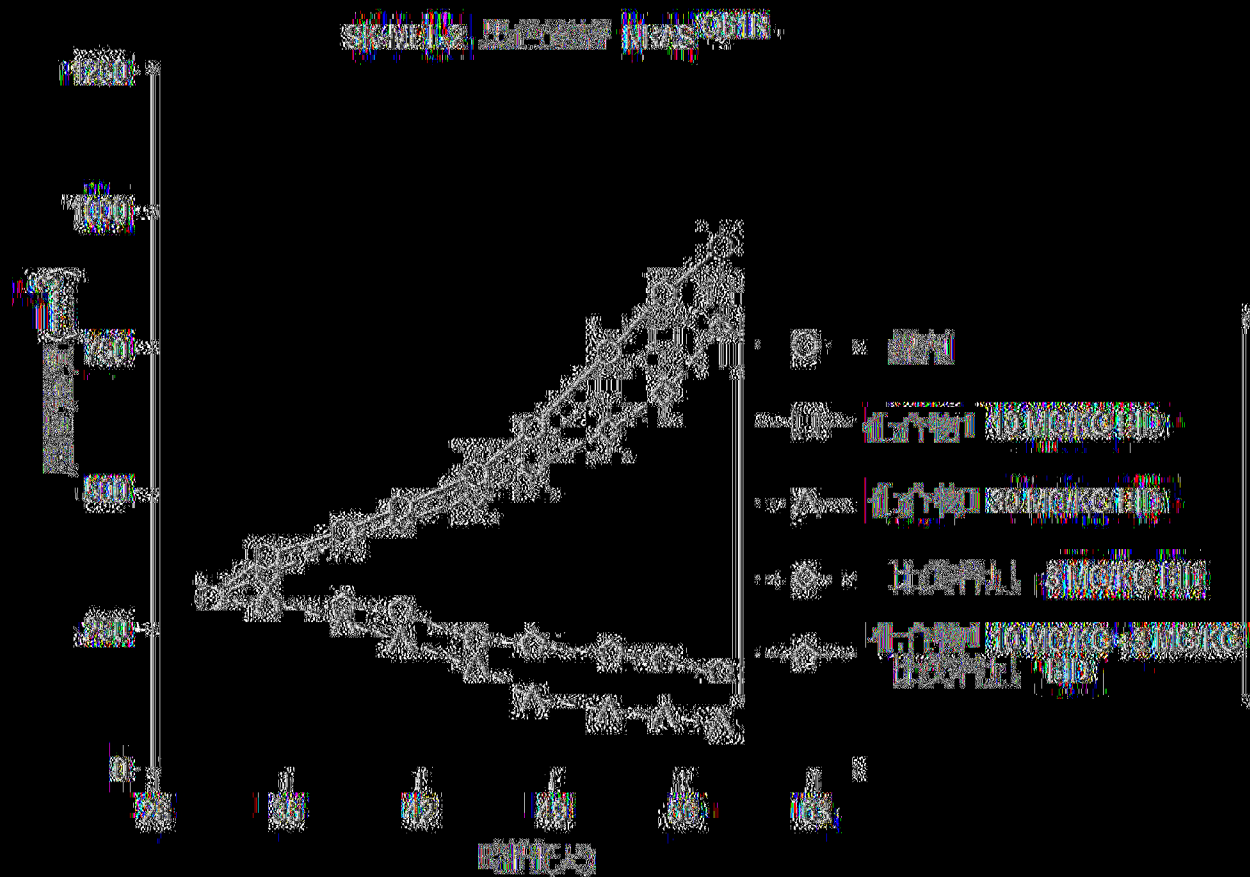




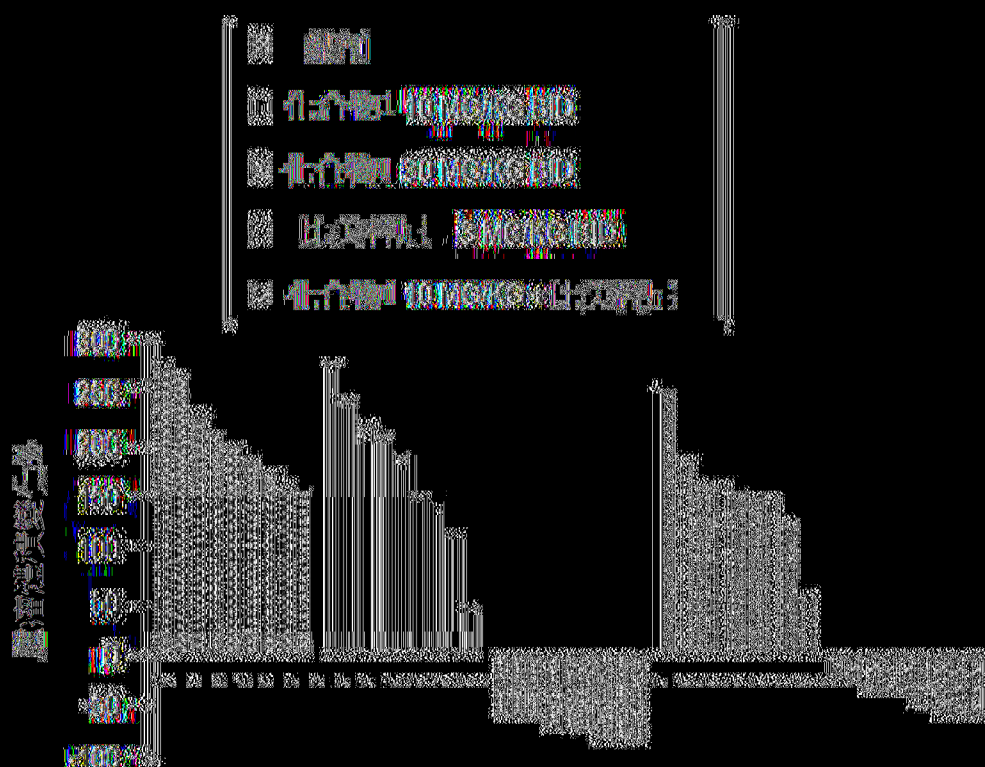
10511

70-1/2 齒輪組零件



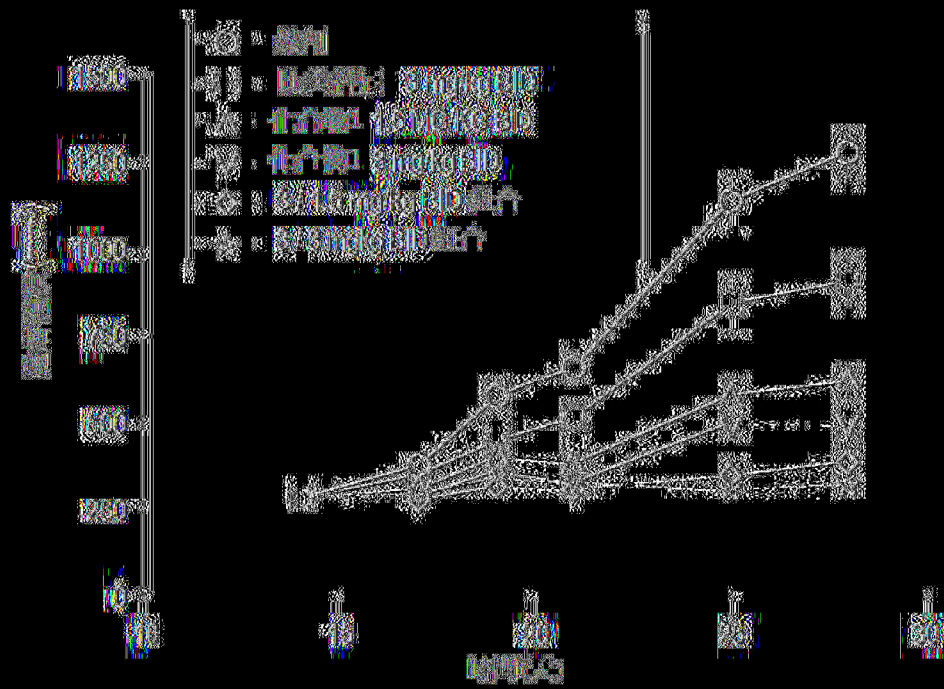


(圖6)



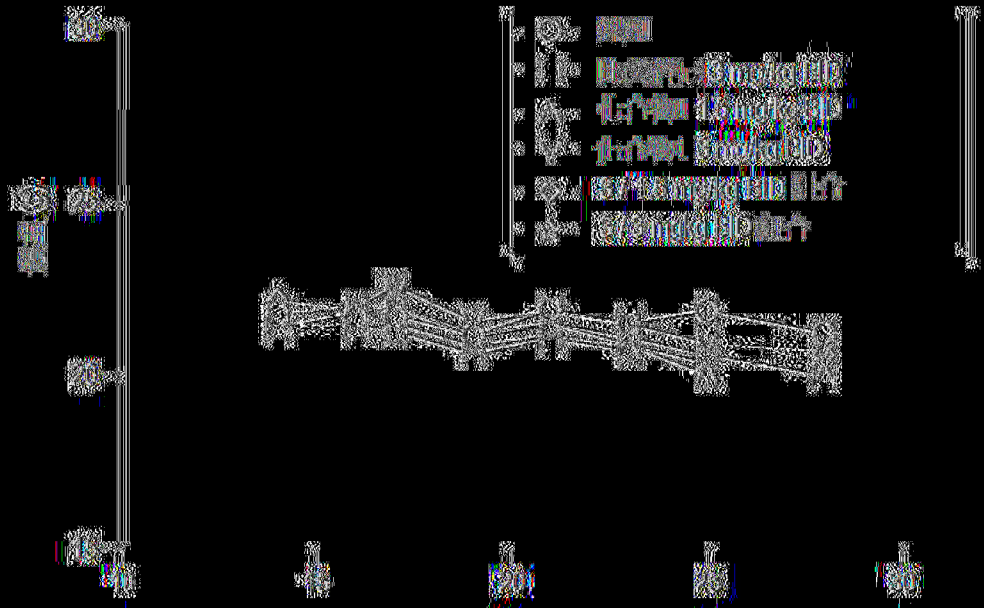
(圖7)

圖 8A  
[圖 8A]



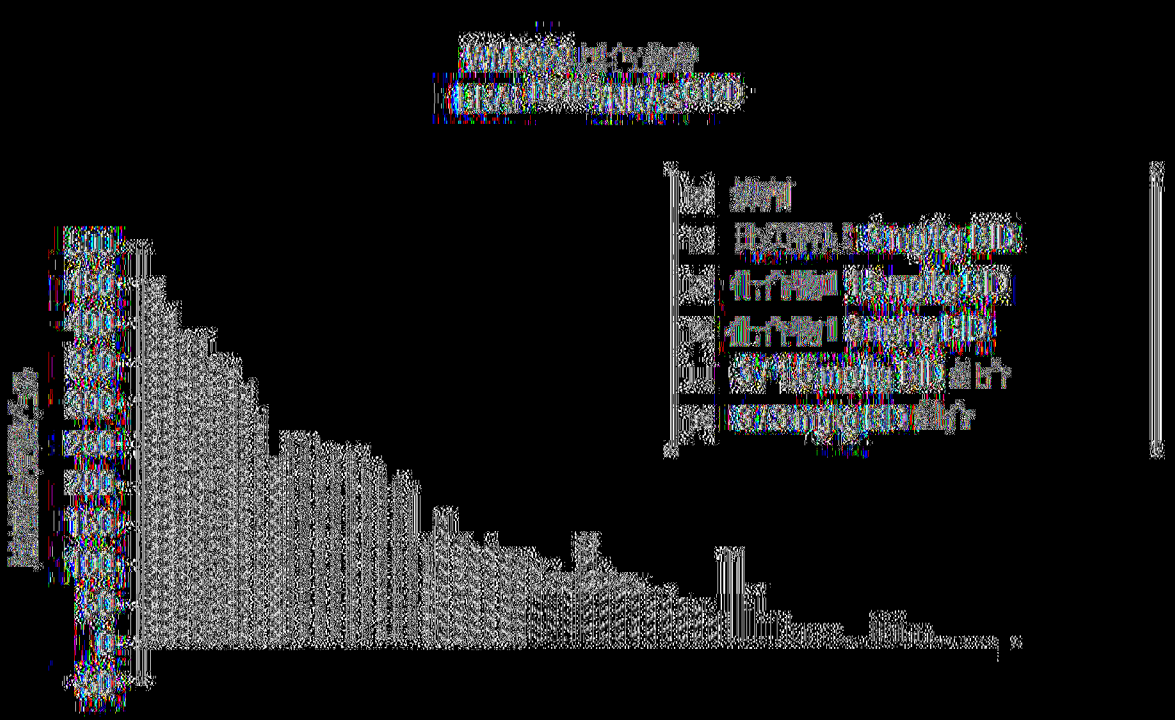
[圖 8A]

圖 8B  
[圖 8B]



時間 (s)

[圖 8B]



(C)

