



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I558399 B

(45)公告日：中華民國 105 (2016) 年 11 月 21 日

(21)申請案號：104105148

(22)申請日：中華民國 104 (2015) 年 02 月 13 日

(51)Int. Cl. : A61K31/506 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2014/02/26 美國

61/944,811

(71)申請人：美國禮來大藥廠(美國) ELI LILLY AND COMPANY (US)

美國

(72)發明人：陳 艾德華 麥克 CHAN, EDWARD MICHAEL (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

US 20030108545A1

2009 年 06 月，Ramucirumab, a fully human mAb to the transmembrane signaling tyrosine kinase VEGFR-2 for the potential treatment of cancer, Curr Opin Investig Drugs. 2009 Jun;10(6):597-60

審查人員：林桂滿

申請專利範圍項數：17 項 圖式數：0 共 65 頁

(54)名稱

癌症之組合療法

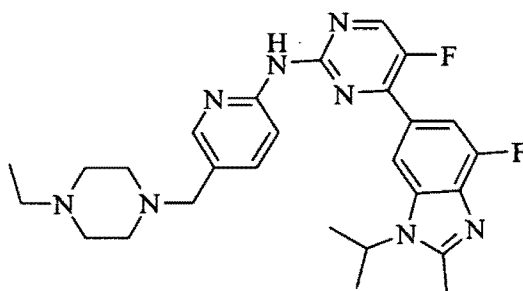
COMBINATION THERAPY FOR CANCER

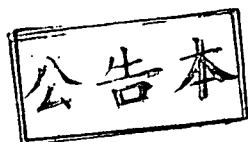
(57)摘要

本發明提供用於治療患者之非小細胞肺癌之藥物的製備及治療患者之非小細胞肺癌之方法，該等藥物包含[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽，與如本文中進一步所述之抗 VEGFR2 抗體，較佳雷莫蘆單抗(ramucirumab)組合。

The present invention provides preparation of medicaments for use in treating and methods of treating non-small cell lung cancer in a patient comprising [5-(4-ethyl-piperazin-1-ylmethyl)-pyridin-2-yl]-[5-fluoro-4-(7-fluoro-3-isopropyl-2-methyl-3H-benzimidazol-5-yl)-pyrimidin-2-yl]-amine, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, in combination, as further described herein, with an anti-VEGFR2 antibody, preferably, ramucirumab.

特徵化學式：





發明摘要

※ 申請案號：104105148

※ 申請日：104.2.13

※IPC 分類：A61K31/506 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

【發明名稱】

癌症之組合療法

COMBINATION THERAPY FOR CANCER

【中文】

● 本發明提供用於治療患者之非小細胞肺癌之藥物的製備及治療患者之非小細胞肺癌之方法，該等藥物包含[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽，與如本文中進一步所述之抗VEGFR2抗體，較佳雷莫蘆單抗(ramucirumab)組合。

【英文】

● The present invention provides preparation of medicaments for use in treating and methods of treating non-small cell lung cancer in a patient comprising [5-(4-ethyl-piperazin-1-ylmethyl)-pyridin-2-yl]-[5-fluoro-4-(7-fluoro-3-isopropyl-2-methyl-3H-benzoimidazol-5-yl)-pyrimidin-2-yl]-amine, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, in combination, as further described herein, with an anti-VEGFR2 antibody, preferably, ramucirumab.

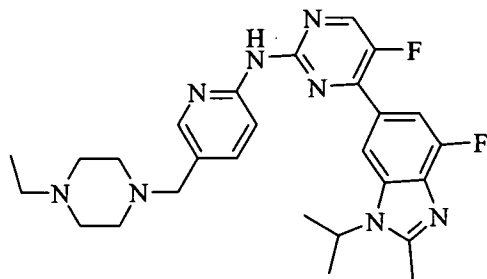
【代表圖】

【本案指定代表圖】：(無)。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：



發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

癌症之組合療法

COMBINATION THERAPY FOR CANCER

本發明係關於[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺與抗人類 VEGFR2 抗體、較佳雷莫蘆單抗(ramucirumab)之組合，及使用該組合治療某些病症(諸如非小細胞肺癌(NSCLC))之方法。

本發明屬於 NSCLC 治療領域。肺癌被列為全世界男性及女性中由癌症所致之死亡之最常見病因之一。肺癌之兩種主要類型為小細胞肺癌及 NSCLC。非小細胞肺癌佔肺癌病例之大約 80% 或 80% 以上。治療可涉及手術、化學療法或輻射療法以及此等治療之組合。

令人遺憾的是，NSCLC 之治癒仍然難以實現且存在對可證明可有效治療 NSCLC 之更多及不同療法之需要。

[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺(阿貝馬奇(abemaciclib))為週期素依賴性激酶 4 及 6(CDK4/6)之抑制劑。阿貝馬奇及此化合物之製造及使用方法(包括用於治療癌症且更特定言之用於治療 NSCLC)揭示於 WO2010/075074 中。此外，已在患有 NSCLC 之患者中觀察到該化合物之臨床活性。

雷莫蘆單抗為針對血管內皮生長因子受體 2 (VEGFR2) 之全人類單株抗體。雷莫蘆單抗及此化合物之製造及使用方法(包括用於治療贅生性疾病，諸如實體及非實體腫瘤)揭示於 WO2003/075840 中。此

S

外，亦已報導雷莫蘆單抗在患有NSCLC之患者中之臨床活性(美通社(PRNewswire)「Ramucirumab Improved Survival in Second-Line Study of Patients with Non-Small Cell Lung Cancer」(INDIANAPOLIS, 2014年2月19日))。於2014年12月16日，雷莫蘆單抗(Cyramza®)經U.S. F.D.A.批准用於治療NSCLC。

本文中提出[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺與雷莫蘆單抗之新穎組合。儘管此項技術中已涵蓋CDK4/6抑制劑及VEGFR2抑制劑之組合，但本發明者在本文中揭示藉由使用[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺及抗VEGFR2 Ab之新穎組合作為特定治療方案之一部分來治療NSCLC之方法，與僅由任一藥劑提供之治療效果相比，該治療方案在一些NSCLC患者中提供來自此等治療劑之組合活性之增強及/或出人意料之有利治療效果。本發明者亦在本文中揭示藉由使用[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺及雷莫蘆單抗之新穎組合作為特定治療方案之一部分來治療NSCLC之方法，與僅由任一藥劑提供之治療效果相比，該治療方案在一些NSCLC患者中提供來自此等治療劑之組合活性之增強及/或出人意料之有利治療效果。

因此，本發明提供一種治療患者之NSCLC之方法，其包含向需要此治療之NSCLC患者投與有效量之[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽以及有效量之抗VEGFR2 Ab。本發明亦提供一種治療患者之NSCLC之方法，其包含向需要此治療之NSCLC患者投與有效量之[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接

受之鹽以及雷莫蘆單抗。此等方法視情況進一步包含投與有效量之一或多種選自由以下組成之群之抗腫瘤劑：培美曲塞(pemetrexed)、吉西他濱(gemcitabine)、多西他賽(docetaxel)、貝伐單抗(bevacizumab)、卡鉑(carboplatin)及順鉑(cisplatin)。此等抗腫瘤劑之有效量通常為該等藥劑標籤上規定之劑量。

本發明進一步提供一種醫藥組合物，其包含[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽及一或多種醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑；以及抗VEGFR2 Ab與一或多種醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑之醫藥組合物。本發明亦提供一種醫藥組合物，其包含[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽及一或多種醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑；以及雷莫蘆單抗與一或多種醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑之醫藥組合物。

此外，本發明提供一種套組，其包含[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽及抗VEGFR2 Ab。本發明亦提供一種套組，其包含[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽及雷莫蘆單抗。本發明進一步提供一種套組，其包含：包含[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽及一或多種醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑之醫藥組合物；及包含抗VEGFR2 Ab及一或多種醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑之醫藥組合物。本發明亦提供一種套組，其包含：包含[5-(4-乙基-哌嗪-1-基

基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽及一或多種醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑之醫藥組合物；及包含雷莫蘆單抗及一或多種醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑之醫藥組合物。

本發明進一步提供一種組合，其包含[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽及抗VEGFR2 Ab以同時、單獨或依序用於治療NSCLC。

本發明進一步提供一種組合，其包含[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽及雷莫蘆單抗以同時、單獨或依序用於治療NSCLC。

本發明進一步提供[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽及抗VEGFR2 Ab之組合在療法中之用途。本發明進一步提供[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽及抗VEGFR2 Ab之組合用於製造治療NSCLC之藥物之用途。

本發明進一步提供[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽及雷莫蘆單抗之組合在療法中之用途。本發明進一步提供[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽及雷莫蘆單抗之組合用於製造治療NSCLC之藥物之用途。

本發明之另一態樣為一種治療患者之非小細胞肺癌之方法，其包含對需要治療之非小細胞肺癌患者進行以下：

a) 在21天週期之第1天以10 mg/kg投與雷莫蘆單抗；及

b) 在21天週期之第1-21天，每12小時以50-200 mg經口投與[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽。

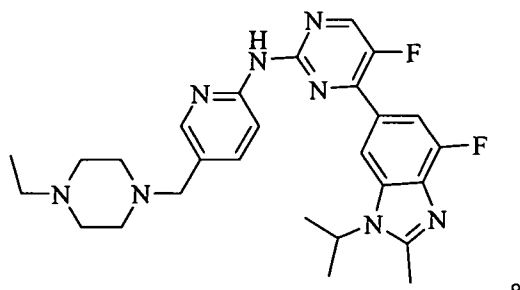
本發明之另一態樣提供：

a) [5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽用於製造治療NSCLC之藥物之用途；

b) 雷莫蘆單抗用於製造治療NSCLC之藥物之用途；

其中雷莫蘆單抗在21天週期之第1天以10 mg/kg靜脈內投與，且[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽在21天週期之第1-21天每12小時以50-200 mg經口投與。

如本文所用，化合物之名稱「[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺」揭示於WO2010/075074中且係指具有以下結構之化合物：



此化合物之CAS登記號為1231929-97-7。該化合物之通用名稱為阿貝馬奇。替代化合物名稱包括N-[5-[(4-乙基-1-哌嗪基)甲基]-2-吡啶基]-5-氟-4[4-氟-2-甲基-1-(1-甲基乙基)-1H-苯并咪唑-6-基]-2-嘧啶胺、1-[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺及N-(5-((4-乙基哌嗪-1-基)甲

基)吡啶-2-基)-5-氟-4-(4-氟-1-異丙基-2-甲基-1H-苯并[d]咪唑-6-基)嘧啶-2-胺。

如本文所用，術語「VEGFR2」係指如SEQ ID NO: 9中所示之胺基酸序列的多肽。VEGFR2亦稱為KDR。

如本文所用，術語「抗VEGFR2 Ab」係指包含以下各者之抗體：如SEQ ID NO: 2中所示之胺基酸序列的輕鏈可變區(LCVR)，及如SEQ ID NO: 4中所示之胺基酸序列的重鏈可變區(HCVR)，其中抗VEGFR2 Ab以足夠親和力及特異性結合至VEGFR2。在一些實施例中，抗VEGFR2 Ab為包含以下各者且以足夠親和力及特異性結合至VEGFR2之抗體：如SEQ ID NO: 6中所示之胺基酸序列的輕鏈，及如SEQ ID NO: 8中所示之胺基酸序列的重鏈。在本發明之其他實施例中，抗VEGFR2 Ab為雷莫蘆單抗。所選抗體對VEGFR2將具有足夠強之結合親和力。舉例而言，該抗體一般將以在約100 nM至約1 pM之間的 K_d 值結合VEGFR2。可例如藉由基於表面電漿子共振之分析(諸如描述於PCT申請公開案第WO2005/012359號中之BIAcore分析法)、酶聯免疫吸附分析(ELISA)及競爭分析(例如放射性標記抗原結合分析(RIA))測定抗體親和力。在一個實施例中，藉由用抗VEGFR2 Ab、較佳雷莫蘆單抗執行之RIA量測 K_d 。

如本文所用，術語「雷莫蘆單抗」亦稱為Cyramza®，IMC-1121b，CAS登記號為947687-13-0，係指包含以下各者之抗VEGFR2 Ab：各如SEQ ID NO: 6中所示之胺基酸序列的兩條輕鏈，及各如SEQ ID NO: 8中所示之胺基酸序列的兩條重鏈。

除非另外指示，否則術語「抗體」係指包含藉由雙硫鍵互連之兩條重鏈(HC)及兩條輕鏈(LC)之免疫球蛋白分子。各鏈之胺基端部分包括主要負責經由其中所含之互補決定區(CDR)來識別抗原的約100個至約110個胺基酸之可變區。各鏈之羧基端部分界定主要負責效應

功能之恆定區。

如本文所用，術語「抗原結合片段」係指保留結合至其抗原之能力之任何抗體片段。該等「抗原結合片段」可選自由Fv、scFv、Fab、F(ab')₂、Fab'、scFv-Fc片段及雙功能抗體組成之群。抗體之抗原結合片段通常將包含至少一個可變區。抗原結合片段較佳包含重鏈可變區(HCVR)及輕鏈可變區(LCVR)。如本文所用之抗原結合片段更佳包含賦予對VEGFR2之抗原結合特異性之HCVR及LCVR（亦即「VEGFR2結合片段」）。

如本文所用，術語「輕鏈可變區(LCVR)」係指抗體分子之輕鏈中包括互補決定區(CDR；亦即CDR1、CDR2及CDR3)及構架區(FR)之胺基酸序列的部分。

如本文所用，術語「重鏈可變區(HCVR)」係指抗體分子之重鏈中包括互補決定區(CDR；亦即CDR1、CDR2及CDR3)及構架區(FR)之胺基酸序列的部分。

如本文所用，術語「互補決定區」及「CDR」係指在抗體或其抗原結合片段之LC及HC多肽之可變區內發現的非鄰近抗原組合位點。此等特定區域已由他人描述，包括Kabat等人，*Ann. NY Acad. Sci.* 190:382-93 (1971)；Kabat等人，*J. Biol. Chem.* 252:6609-6616 (1977)；Kabat等人，*Sequences of Proteins of Immunological Interest*，第五版，U.S. Department of Health and Human Services, NIH出版物第91-3242 (1991)號；Chothia等人，*J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)；MacCallum等人，*J. Mol. Biol.*, 262:732-745 (1996)；及North等人，*J. Mol. Biol.*, 406, 228-256 (2011)，其中當相互比較時，定義包括胺基酸殘基之重疊或子集。

CDR穿插在稱為構架區(「FR」)之較保守區中。各LCVR及HCVR由三個CDR及四個FR組成，自胺基端至羧基端按以下順序排

列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。輕鏈之三個CDR稱為「LCDR1、LCDR2及LCDR3」，且重鏈之三個CDR稱為「HCDR1、HCDR2及HCDR3」。CDR含有與抗原形成特異性相互作用之大部分殘基。LCVR區及HCVR區內之CDR胺基酸殘基之編號及定位係根據已知慣例(例如Kabat (1991)、Chothia (1987)及/或North (2011))。在本發明之不同實施例中，抗體之FR可與人類生殖系序列一致或可經天然或人工修飾。

如本文所用，術語「DC101」係指針對小鼠VEGFR2之大鼠單株抗體，其可在實驗中在小鼠中用作抗VEGFR2 Ab、較佳雷莫蘆單抗之替代物。參見例如Witte L.等人 Monoclonal antibodies targeting the receptor-2 (Flk1/KDR) as an anti-angiogenic therapeutic strategy. *Cancer Metastasis Rev.*, 17: 155-161, 1998；及/或Prewett M.等人, Antivascular endothelial growth factor receptor (fetal liver kinase 1) monoclonal antibody inhibits tumor angiogenesis and growth of several mouse and human tumors. *Cancer Res.*, 59: 5209-5218, 1999。

在某些實施例中，改變本文中經提供用於本發明方法之抗VEGFR2 Ab以增加或減少抗體之糖基化程度。向抗體添加糖基化位點或使抗體缺失糖基化位點可藉由改變胺基酸序列以便產生或移除一或多個糖基化位點來便利地實現。

在抗VEGFR2 Ab包含Fc區之情況下，可改變連接於其上之碳水化合物。由哺乳動物細胞產生之天然抗體通常包含分支鏈雙天線寡醣，其一般藉由N鍵連接至Fc區之CH2域的Asn297。參見例如Wright等人 TIBTECH 15:26-32 (1997)。該寡醣可包括各種碳水化合物，例如甘露糖、N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)、半乳糖及唾液酸，以及連接至雙天線寡醣結構之「主幹」中之GlcNAc的海藻糖。在一些實施例中，可對本發明抗體中之寡醣進行修飾以便形成具有某些改良特性之

抗體變異體。

在一個實施例中，提供具有缺乏連接(直接或間接)至Fc區之海藻糖的碳水化合物結構之抗VEGFR2 Ab變異體。舉例而言，此類抗體中海藻糖之量可為1%至80%、1%至65%、5%至65%或20%至40%。海藻糖之量藉由相對於如藉由MALDI-TOF質譜分析量測之附接至Asn 297之所有醣結構(例如複合、雜交及高甘露糖結構)的總和，計算糖鏈內Asn297處之海藻糖之平均量來測定，如例如WO 2008/077546中所描述。Asn297係指位於Fc區中約位置297 (Fc區殘基之Eu編號)處之天冬醯胺殘基；然而，由於抗體之較小序列變化，Asn297亦可位於位置297之上游或下游約 $\pm$ 3個胺基酸處，亦即位置294與300之間。該等海藻糖基化變異體可具有改良之ADCC功能。參見例如美國專利公開案第US 2003/0157108號(Presta, L.)；第US 2004/0093621號(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)。與「去海藻糖基化」或「缺乏海藻糖」抗體變異體相關之公開案之實例包括：US 2003/0157108、WO 2000/61739、WO 2001/29246、US 2003/0115614、US 2002/0164328及Yamane-Ohnuki等人 Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004)。能夠產生去海藻糖基化抗體之細胞株之實例包括缺乏蛋白質海藻糖基化之Lec13 CHO細胞(Ripka等人 Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986)；美國專利申請案第US 2003/0157108 A1號，Presta, L；及WO 2004/056312 A1, Adams等人)，及基因剔除細胞株，諸如 α -1,6-海藻糖基轉移酶基因、FUT8、基因剔除CHO細胞(參見例如Yamane-Ohnuki等人 Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004)；Kanda, Y. 等人，Biotechnol.Bioeng., 94(4):680-688 (2006)；及WO2003/085107)。

如本文所用，術語「套組」係指包含至少兩個單獨容器之封裝，其中第一容器含有[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學S

上可接受之鹽，且第二容器含有抗VEGFR2 Ab。如本文所用，術語「套組」亦指包含至少兩個單獨容器之封裝，其中第一容器含有[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽，且第二容器含有雷莫蘆單抗。「套組」亦可包括向癌症患者、較佳NSCLC患者投與此第一及第二容器之內容物中之所有或一部分的說明。

如本文所用，術語「治療(treating/to treat/treatment)」係指抑制、減緩、阻止、減輕或逆轉現有症狀、病症、病狀或疾病之進展或嚴重程度。

如本文所用，術語「患者」係指哺乳動物，較佳人類。

如本文所用，術語「癌症」及「癌性」係指或描述患者之通常以不受調控之細胞增殖為特徵之生理病狀。在此定義中包括良性及惡性癌症。「早期癌症」或「早期腫瘤」意謂非晚期或轉移性的或經分類為0、I、或II期癌症之癌症。癌症之實例包括(但不限於) NSCLC。

本發明之組合治療之主要優勢為在患者中產生顯著抗癌效果而不引起顯著毒性或不良作用，以使得患者總體上得益於組合治療方法之能力。本發明之組合治療之功效可藉由通常用於評估癌症治療之各種端點量測，該等端點包括(但不限於)腫瘤消退、腫瘤重量或尺寸收縮、進展時間、總體存活、無進展存活、總體反應率、反應持續時間及生命品質。本發明中所使用之治療劑可致使抑制轉移性擴散而不使原發腫瘤收縮，可誘導原發腫瘤收縮或可僅發揮腫瘤穩定效果。因為本發明係關於獨特抗腫瘤劑之組合之用途，所以可視情況使用新穎方法來測定本發明之任何特定組合療法之功效，所述新穎方法包括例如量測血管生成之血漿或泌尿標記及經由放射學成像量測反應。

如本文所用，術語「完全反應」(CR)係指所有目標病變消失。任何病理學淋巴結(無論目標或非目標)之短軸必須減少至<10 mm。

如本文所用，術語「部分反應」(PR)係指以基線直徑總和作為參照，目標病變之直徑總和減少至少30%。

如本文所用，術語「進行性疾病」(PD)係指以研究之最小總和(若基線總和為研究之最小總和，則此包括基線總和)作為參照，目標病變之直徑總和增加至少20%。除20%之相對增加以外，該總和亦必須展現至少5 mm之絕對增加。(註釋：一或多種新穎病變之出現亦視為進展)。

如本文所用，術語「穩定疾病」(SD)係指以同時處於研究之最小總和直徑作為參照，既不充分收縮以使PR合格亦不充分增加以使PD合格。

如本文所用，術語「客觀反應」(OR)係指CR加PR之總和。

對應於根據RECIST v1.1, Eisenhauer等人, *European Journal of Cancer*, 2009, 45, 228-247之定義，熟習此項技術者將瞭解術語CR、PR、PD、SD及OR。

如本文所用，術語「疾病進展時間」或「TTP」係指自初始治療之時間直至癌症進展或惡化之時間，一般以週或月量測。此類進展可由熟練臨床醫師評估。

如本文所用，術語「延長TTP」係指相對於i)未經治療患者或相對於ii)用特定組合療法中之少於全部抗腫瘤劑治療之患者，增加經治療患者之疾病進展時間。

如本文所用，術語「存活」係指患者保持活著，且包括總體存活以及無進展存活。

如本文所用，術語「總體存活」係指自診斷或治療時間起，患者保持活著持續限定時間，諸如1年、5年等。

如本文所用，術語「無進展存活」係指患者在癌症不進展或不變糟之情況下保持活著。

如本文所用，術語「延長存活」意謂相對於i)未經治療患者，ii)用特定組合療法中之少於全部抗腫瘤劑治療之患者，或iii)對照治療方案，增加經治療患者之總體或無進展存活。在治療起始之後或在癌症之初始診斷之後，持續至少約一個月、至少約兩個月、至少約四個月、至少約六個月、至少約九個月或至少約1年、或至少約2年、或至少約3年、或至少約4年、或至少約5年、或至少約10年等監測存活情況。

如本文所用，術語「原發腫瘤」或「原發癌」意謂原始癌症且不意謂位於個體體內另一組織、器官或位置之轉移性病變。

如本文所用，術語「有效量」係指在向患者進行單劑量或多劑量投與之後，在處於診斷或治療之患者中獲得有效反應之[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽之量或劑量，及抗VEGFR2 Ab之量或劑量。如本文所用，術語「有效量」亦指在向患者進行單劑量或多劑量投與之後，在處於診斷或治療之患者中獲得有效反應之[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽之量或劑量，及雷莫蘆單抗之量或劑量。應瞭解，本發明之組合療法藉由以在體內提供有效含量之[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽及抗VEGFR2 Ab的任何方式投與[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽以及抗VEGFR2 Ab來執行。亦應瞭解，本發明之組合療法藉由以在體內提供有效含量之[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽及雷莫蘆

單抗的任何方式投與[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽以及雷莫蘆單抗來執行。

如本文所用，術語患者之「有效反應」或患者對用藥劑組合治療之「反應性」及類似措辭係指在共同投與[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽及抗VEGFR2 Ab之後賦予患者之臨床或治療效益。如本文所用，術語患者之「有效反應」或患者對用藥劑組合治療之「反應性」及類似措辭亦指在共同投與[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽及雷莫蘆單抗之後賦予患者之臨床或治療效益。此類效益包括以下中之任何一或多種：延長存活(包括總體存活及無進展存活)；產生客觀反應(包括完全反應或部分反應)；或改良癌症之病徵或症狀等。

有效量可容易由作為熟習此項技術者之主治診斷醫師藉由使用已知技術且藉由觀察在類似情況下得到之結果來確定。在確定用於患者之有效量中，主治診斷醫師考慮多個因素，包括(但不限於)：患者之物種；其體型、年齡及一般健康狀況；所涉及之特定疾病或病症；涉及程度或該疾病或病症之嚴重程度；個別患者之反應；所投與之特定化合物；投與模式；所投與製劑之生物可用性特徵；所選擇之劑量方案；伴隨藥療之使用；及其他相關情況。

本發明之組合中之[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽一般可在廣泛劑量範圍內有效。舉例而言，每日劑量通常處於約100毫克/天至約400毫克/天，較佳約200毫克/天至約400毫克/天，且最佳約300毫克/天至約400毫克/天之範圍內。此外，本發明⁵

之組合中之抗VEGFR2 Ab、較佳雷莫蘆單抗一般可在廣泛劑量範圍內有效。舉例而言，每三週週期之劑量通常處於約6 mg/kg至10 mg/kg，較佳約8 mg/kg至約10 mg/kg之範圍內，且最佳約10 mg/kg。在一些情況下，在[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽及抗VEGFR2 Ab、較佳雷莫蘆單抗之前述範圍之下限以下的劑量濃度可為超足量的，而在其他情況下，可以可接受之副作用採用較小或仍較大劑量，且因此以上劑量範圍不意欲以任何方式限制本發明之範疇。當例如在21天週期內與抗VEGFR2 Ab組合給予時，[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽每天係以在約100毫克/天至約400毫克/天之範圍內投與，且抗VEGFR2 Ab、較佳雷莫蘆單抗在第一天以在約6 mg/kg至10 mg/kg之範圍內投與。當例如在21天週期內組合給予時，[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽每天以在約200毫克/天至約400毫克/天之範圍內投與，且抗VEGFR2 Ab、較佳雷莫蘆單抗在第一天以在約8 mg/kg至10 mg/kg之範圍內投與。當例如在21天週期內組合給予時，[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽每天以在約300毫克/天至約400毫克/天之範圍內投與，且抗VEGFR2 Ab、較佳雷莫蘆單抗在第一天以約10 mg/kg投與。

游離鹼5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺較佳。然而，熟習讀者應瞭解，5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺能夠形成鹽。5-(4-乙基-哌

噁-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可與多種無機酸及有機酸中之任一者反應形成醫藥學上可接受之酸加成鹽。該等醫藥學上可接受之酸加成鹽及其常見製備方法在此項技術中眾所周知。參見例如 P. Stahl 等人, HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL SALTS: PROPERTIES, SELECTION AND USE, (VCHA/Wiley-VCH, 2002) ; L.D. Bighley, S.M. Berge, D.C. Monkhouse, 「Encyclopedia of Pharmaceutical Technology」. J. Swarbrick及J.C. Boylan編, 第13卷, Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, Hong Kong 1995, 第453-499頁 ; S.M. Berge等人, 「Pharmaceutical Salts」, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 第66卷, 第1期, 1977年1月。鹽酸鹽及甲磺酸鹽為較佳鹽。甲磺酸鹽為尤其較佳鹽。

較佳將[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽及抗VEGFR2 Ab、較佳雷莫蘆單抗調配成藉由使化合物具有生物可用性之任何途徑投與之醫藥組合物。投與途徑可以任何方式變化, 其受藥物之物理特性及患者及照護者之便利性限制。[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽較佳經口投與。較佳地, 抗VEGFR2 Ab、較佳雷莫蘆單抗組合物經調配用於非經腸投與, 諸如靜脈內或皮下投與。此外, [5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽經調配用於經口或非經腸投與, 包括靜脈內或皮下投與。該等醫藥組合物及其製備方法在此項技術中眾所周知。(參見例如, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (D.B. Troy編, 第21版, Lippincott, Williams & Wilkins, 2006)。

如本文所用，片語「與……組合」係指[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽與抗VEGFR2 Ab同時投與。如本文所用，片語「與……組合」亦指[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽與抗VEGFR2 Ab以任何順序依序投與。如本文所用，片語「與……組合」亦指[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽與雷莫蘆單抗同時投與。如本文所用，片語「與……組合」亦指[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽與雷莫蘆單抗以任何順序依序投與。如本文所用，片語「與……組合」亦指[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽與雷莫蘆單抗以其任何組合形式投與。[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺及抗VEGFR2 Ab可以同一醫藥組合物之部分之形式或以單獨醫藥組合物之形式投與。[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺及雷莫蘆單抗可以同一醫藥組合物之部分之形式或以單獨醫藥組合物之形式投與。[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在投與抗VEGFR2 Ab之前投與。[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-

異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在投與抗VEGFR2 Ab同時投與。[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在投與抗VEGFR2 Ab之後投與。[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在投與抗VEGFR2 Ab之前、在投與抗VEGFR2 Ab同時或在投與抗VEGFR2 Ab之後或以其某一組合形式投與。[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在投與雷莫蘆單抗之前投與。[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在投與雷莫蘆單抗同時投與。[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在投與雷莫蘆單抗之後投與。[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在投與雷莫蘆單抗之前、在投與雷莫蘆單抗同時或在投與雷莫蘆單抗之後或以其某一組合形式投與。在抗VEGFR2 Ab以重複時間間隔投與之情況下(例如在標準療程期間)，[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在抗VEGFR2 Ab之各投與之前投與。在抗VEGFR2 Ab以重複時間間隔投與之情況下(例如在標準療程期間)，[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在抗VEGFR2 Ab之各投與同時投與。在抗VEGFR2 Ab以重複時間間隔投與之情況下(例如在標準療程期間)，[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在抗VEGFR2 Ab之各投與之後投與。在抗VEGFR2 Ab以重複時間間隔投與之情況下(例如在標準療程期間)，[5-(4-乙基-哌⁵

噻-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在抗VEGFR2 Ab之各投與之前、在抗VEGFR2 Ab之各投與同時或在抗VEGFR2 Ab之各投與之後或以其某一組合形式投與。在抗VEGFR2 Ab以重複時間間隔投與之情況下(例如在標準療程期間)，[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可相對於用抗VEGFR2 Ab之療法，以不同時間間隔投與。在抗VEGFR2 Ab以重複時間間隔投與之情況下(例如在標準療程期間)，[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在用抗VEGFR2 Ab之療程之前、在該療程期間之任何時間或在該療程之後以單一或一系列劑量投與。在抗VEGFR2 Ab以重複時間間隔投與之情況下(例如在標準療程期間)，[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在用抗VEGFR2 Ab之療程之前、在該療程期間之任何時間或在該療程之後以單一劑量投與。在抗VEGFR2 Ab以重複時間間隔投與之情況下(例如在標準療程期間)，[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在用抗VEGFR2 Ab之療程之前以單一劑量投與。在抗VEGFR2 Ab以重複時間間隔投與之情況下(例如在標準療程期間)，[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在用抗VEGFR2 Ab之療程期間的任何時間以單一劑量投與。在抗VEGFR2 Ab以重複時間間隔投與之情況下(例如在標準療程期間)，[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在用抗VEGFR2 Ab之療程之後以單一劑量投與。在抗VEGFR2 Ab以重複時間間隔投與之情況下(例如在標準療程期間)，[5-(4-乙基-哌嗪-1-

基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在用抗VEGFR2 Ab之療程之前以一系列劑量投與。在抗VEGFR2 Ab以重複時間間隔投與之情況下(例如在標準療程期間)，[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在用抗VEGFR2 Ab之療程之後以一系列劑量投與。

在雷莫蘆單抗以重複時間間隔投與之情況下(例如在標準療程期間)，[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在雷莫蘆單抗之各投與之前投與。在雷莫蘆單抗以重複時間間隔投與之情況下(例如在標準療程期間)，[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在雷莫蘆單抗之各投與同時投與。在雷莫蘆單抗以重複時間間隔投與之情況下(例如在標準療程期間)，[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在雷莫蘆單抗之各投與之後投與。在雷莫蘆單抗以重複時間間隔投與之情況下(例如在標準療程期間)，[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在雷莫蘆單抗之各投與之前、在雷莫蘆單抗之各投與同時或在雷莫蘆單抗之各投與之後或以其某一組合形式投與。在雷莫蘆單抗以重複時間間隔投與之情況下(例如在標準療程期間)，[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可相對於用雷莫蘆單抗之療法，以不同時間間隔投與。在雷莫蘆單抗以重複時間間隔投與之情況下(例如在標準療程期間)，[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在用雷莫蘆單抗之療程之前、在該療程期間之任何時間

或在該療程之後以單一或一系列劑量投與。在雷莫蘆單抗以重複時間間隔投與之情況下(例如在標準療程期間)，[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在用雷莫蘆單抗之療程之前、在該療程期間之任何時間或在該療程之後以單一劑量投與。在雷莫蘆單抗以重複時間間隔投與之情況下(例如在標準療程期間)，[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在用雷莫蘆單抗之療程之前以單一劑量投與。在雷莫蘆單抗以重複時間間隔投與之情況下(例如在標準療程期間)，[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在用雷莫蘆單抗之療程期間的任何時間以單一劑量投與。在雷莫蘆單抗以重複時間間隔投與之情況下(例如在標準療程期間)，[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在用雷莫蘆單抗之療程之後以單一劑量投與。在雷莫蘆單抗以重複時間間隔投與之情況下(例如在標準療程期間)，[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在用雷莫蘆單抗之療程之前以一系列劑量投與。在雷莫蘆單抗以重複時間間隔投與之情況下(例如在標準療程期間)，[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可在用雷莫蘆單抗之療程之後以一系列劑量投與。

[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽可藉由此項技術中已知之多種程序製備。

以下製備及實例進一步說明本發明。除非相反地指出，否則本文中所說明之化合物使用ChemDraw® Ultra 5.0命名及編號。

製備 1

1-(6-溴-吡啶-3-基甲基)-4-乙基-哌嗪

向6-溴-吡啶-3-甲醛(8.3 kg)及二氯甲烷(186 kg)之混合物中添加純1-乙基哌嗪(5.6 kg)。隨後，逐份添加三乙醯氧基硼氫化鈉(10.9 kg)且在20-30°C下攪拌12小時。將反應物淬滅於二氯甲烷(36 kg)及氫氧化鈉水溶液2 N (46 kg)之混合物中。分離各層且用二氯甲烷(24 × 2 kg)將水層萃取兩次。合併有機層，用鹽水(50 × 2 kg)洗滌且在真空下移除溶劑，得到11.5 kg標題化合物。MS (ES⁺): m/z= 285 (M+H)⁺。

製備 2

5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基胺

在T ≤ 40°C下向1-(6-溴-吡啶-3-基甲基)-4-乙基-哌嗪(14.2 kg)、氧化亞銅(200 g)及MeOH (57 kg)之脫氣混合物中添加液氨(50.0 kg)。在65-75°C下加熱混合物隔夜。冷卻至20-30°C且經CELITE®填料過濾。濃縮濾液且添加二氯甲烷(113 kg)且用氫氧化鈉2N (23 kg)將pH調整至12-14，分離各相且用二氯甲烷(58 × 2 kg)洗滌有機相且合併有機層。經由CELITE®過濾混合物且濃縮。將殘餘物溶解於甲苯(9.7 kg)中且藉由添加甲基第三丁基醚(8.3 kg)結晶，得到6.0 kg標題化合物。經由甲苯再結晶達到進一步純化。MS (ES⁺): m/z= 221 (M+H)⁺。

製備 3

N-(4-溴-2,6-二氟-苯基)-N'-異丙基-乙脒

向4-溴-2,6-二氟-苯胺(10.0 g)、N-異丙基乙醯胺(9.73 g)、磷醯氯(6.70 mL)於甲苯(150 mL)中之混合物中添加三乙胺(10.05 mL)。將混合物加熱至回流，持續3小時。冷卻混合物且在真空下移除溶劑。將粗產物溶解於二氯甲烷中，用碳酸氫鈉飽和水溶液洗滌若干次以移除所有痕量酸。經硫酸鈉乾燥且在真空下移除溶劑，得到14 g標題化合物。MS (ES⁺): m/z= 292 (M+H)⁺。

S

製備4

6-溴-4-氟-1-異丙基-2-甲基-1H-苯并咪唑

向N-(4-溴-2,6-二氟-苯基)-N'-異丙基-乙脒(16.2 kg)於N-甲基甲醯胺(76 kg)中之溶液中逐份添加第三丁醇鉀(6.9 kg)，同時將溫度維持在 $T < 30^{\circ}\text{C}$ 下。在 $70-75^{\circ}\text{C}$ 下加熱混合物直至根據HPLC反應完成。冷卻至 $20-30^{\circ}\text{C}$ 且藉由添加至水(227 kg)中淬滅，隨後用甲基第三丁基醚(37×4 kg)萃取。用鹽水(49×2 kg)洗滌經合併之有機相且濃縮至25至30 L，添加正己烷(64 kg)且過濾漿料，得到11 kg標題化合物。MS (ES^+): $m/z = 272$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺。

藉由將粗化合物溶解於二氯甲烷中且經由矽膠及CELITE®填料過濾，隨後自甲基第三丁基醚/己烷混合物分離進一步純化。

製備5

4-氟-1-異丙基-2-甲基-6-(4,4,5,5-四甲基-[1,3,2]二氧硼啉-2-基)-1H-苯并咪唑

將氮氣鼓泡至6-溴-4-氟-1-異丙基-2-甲基-1H-苯并咪唑(30.0 g)、雙(頻哪醇根基)二硼(42.15 g)、三環己基膦(5.43 g)、乙酸鉀(32.58 g)及二甲亞碲(200 mL)之混合物中。添加乙酸鈮(2.8 g)且在 90°C 下於預加熱油浴中加熱1小時。用乙酸乙酯(200 mL)稀釋且經CELITE®填料過濾。用鹽水(100 mL)洗滌混合物，經硫酸鈉乾燥且在真空下移除溶劑。用己烷濕磨且過濾固體，得到27 g標題化合物。MS (ES^+): $m/z = 319$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺。

製備6

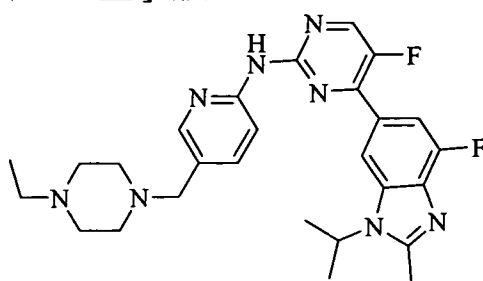
6-(2-氯-5-氟-嘧啶-4-基)-4-氟-1-異丙基-2-甲基-1H-苯并咪唑

將氮氣鼓泡至2,4-二氯-5-氟-嘧啶(12.7 g)、氯化雙(三苯膦)鈮(II)(4.9 g)、碳酸鈉之2 M水溶液(103.7 mL)及1,2-二甲氧乙烷(120 mL)中之混合物中。在 80°C 之預加熱油浴中加熱且逐滴添加4-氟-1-異丙基-

2-甲基-6-(4,4,5,5-四甲基-[1,3,2]二氧硼啉-2-基)-1H-苯并咪唑(22 g)於1,2-二甲氧乙烷(200 mL)中之溶液。將混合物在84℃下攪拌1小時。冷卻至室溫，添加乙酸乙酯(800 mL)且用鹽水(100 mL)洗滌兩次。經硫酸鎂乾燥且在真空下移除溶劑。用乙腈濕磨，得到14.4 g標題化合物。MS (ES⁺): m/z= 323 (M+H)⁺。

參考實例1

[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺



將氮氣鼓泡至6-(2-氯-5-氟-嘧啶-4-基)-4-氟-1-異丙基-2-甲基-1H-苯并咪唑(15.9 g)、5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基胺(10.85 g)、碳酸銨(32.10 g)、參(二亞苳基丙酮)二鈣(1.82 g)、4,5-雙(二苯膦基)-9,9-二甲基二苯并哌喃(2.35 g)於1,4-二噁烷(197.06 mL)中之混合物中。在110℃下於預加熱油浴中加熱混合物2小時。冷卻至室溫，用二氯甲烷稀釋且經CELITE®填料過濾。在真空下移除溶劑且藉由矽膠管柱層析，用二氯甲烷/甲醇(2%)且隨後二氯甲烷/甲醇-NH₃ 2 M 2%溶離來純化，得到22.11 g標題化合物。MS (ES⁺): m/z= 507 (M+H)⁺。

參考實例1A

[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺甲磺酸鹽

向[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺(17.3 g)於二氯甲烷(100 mL)及甲醇(100 mL)之混合物中之溶液中添加甲磺酸(63.59 mL)。攪拌溶⁵

液1小時且在真空下移除溶劑。用甲基第三丁基醚濕磨且過濾固體，得到20.4 g標題化合物。MS 35(ES⁺): $m/z=507$ (M+H)⁺。

參考實例2

[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺

結晶形態I

混合102.1 mg非晶形[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺與2 mL丙酮。藉由真空過濾分離沈澱固體，產生淡黃色濾餅且原地於過濾設備上乾燥30分鐘，得到72.1 mg固體。將固體置放於100℃真空烘箱中3小時。形態I之代表性XRD峰顯示於表1中。

參考實例3

[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺

結晶形態III

混合208 mg非晶形[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺與4 mL丙酮。在60℃下使懸浮液漿化2小時同時在1000 rpm下攪拌，且隨後藉由真空過濾分離固體，產生淡黃色濾餅。原地於過濾設備上乾燥30分鐘，得到112 mg固體(54%產率)。置放於80℃真空烘箱中3小時。形態III之代表性XRD峰顯示於表2中。使用外標驗證峰位置。

X射線粉末繞射

晶體之XRD圖係用在50 kV及40 mA下操作之裝備有CuK α 源($\lambda = 1.54056$ Å)及Vantec偵測器之Bruker D8 Advance X射線粉末繞射儀獲得。各樣品在4°與40° 2 θ 之間掃描，其中2 θ 之步長為0.02°且掃描速率為9.0秒/步，且發散及接收狹縫為1 mm且偵測器狹縫為0.1 mm。將乾

粉裝填至凹入式頂部裝載樣品固持器中且使用玻璃載片獲得光滑表面。在環境溫度及相對濕度下收集結晶形態繞射圖。在挑選峰之前移除形態III晶體之背景，而不移除形態I之背景。

結晶學技術中熟知對於任何既定結晶形態，由於由諸如晶體形態及習性之因素所產生之較佳定向，繞射峰之相對強度可能變化。在存在較佳定向之影響之情況下，峰強度改變，但多晶型物之特徵峰位置不變。參見例如美國藥典(The United States Pharmacopeia)第23版，國家處方集(National Formulary)第18版，第1843-1844頁，1995。此外，結晶學技術中亦熟知，對於任何既定結晶形態，角度峰位置可略微變化。舉例而言，峰位置可能由於分析樣品時之溫度或濕度變化、樣品移位或內標之存在或不存在而有位移。在本發明之情況下， $2\theta \pm 0.1$ 之峰位置變化率將考慮此等潛在變化而不妨礙明確鑑別指定結晶形態。

結晶形態之確認可基於特徵峰、通常為較顯著之峰(以 $^{\circ}2\theta$ 為單位)之任何獨特組合來進行。因此，[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺結晶形態I之製備樣品藉由XRD圖，使用CuK α 輻射來表徵，其具有如下表1中所描述之繞射峰(2θ 值)，且尤其具有在4.51處之峰以及一或多個選自由13.09、16.31及18.82組成之群的峰；其中繞射角之公差為0.1度。

表1：[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺結晶形態I之X射線粉末繞射峰

角 ($^{\circ}2\theta$)	d值 (埃)	強度 (%)
4.51	19.60	100
5.89	15.00	4
8.98	9.84	1.5
11.20	7.89	2.3
12.57	7.04	1.9

13.09	6.76	7
15.93	5.56	3
16.31	5.43	4.4
17.01	5.21	1.9
18.58	4.77	3.1
18.82	4.71	3.6
20.86	4.26	1.5
21.90	4.06	2.2
23.12	3.84	2.4
23.53	3.78	3.7
26.71	3.33	2.4
26.85	3.32	2

[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺結晶形態III之製備樣品藉由XRD圖，使用CuK α 輻射來表徵，其具有如下表2中所描述之繞射峰(2 θ 值)，且尤其具有在21.29處之峰以及一或多個選自由11.54、10.91及12.13組成之群的峰；其中繞射角之公差為0.1度。

表2：[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺結晶形態III之X射線粉末繞射峰

角 (° 2 θ)	d值 (埃)	強度 (%)
7.44	11.87	8
10.91	8.11	19
11.54	7.66	38
12.13	7.29	18
13.89	6.37	25
14.91	5.94	20
15.63	5.67	27
16.06	5.52	11
18.59	4.77	21
18.94	4.68	26
20.43	4.34	21
21.29	4.17	100
21.91	4.05	37
22.13	4.01	12
22.45	3.96	8
23.12	3.84	6
23.42	3.80	9
25.95	3.43	17
29.42	3.03	9

固態¹³C NMR

用在 ^1H 及 ^{13}C 頻率分別為400.131 MHz及100.623 MHz下操作且使用Bruker 4 mm雙共振探針之Bruker Avance III 400寬孔NMR光譜儀獲得交叉極化/變角度旋轉(CP/MAS) NMR (固態NMR或SSNMR)光譜。使用Bruker MAS-II控制器將MAS速率設定成5 kHz或10 kHz；將旋轉速度維持在設定點之2 Hz內。使用在100 kHz之質子章動頻率下之SPINAL64去耦進行異核去耦。藉由五個脈衝總旁頻帶抑制(TOSS)序列消除旋轉旁頻帶。將磁化自質子轉移至碳之CP接觸時間設定成4 ms且在 ^1H 通道上使用93.5 kHz至46.9 kHz之線性功率斜坡以增強CP效率。擷取時間設定成34 ms且在30 kHz之光譜寬度上以5 s之循環延遲獲取光譜。樣品溫度調整為 297 ± 1 K以使由樣品旋轉所引起之摩擦生熱最小化。經由金剛烷之高場共振($\delta = 29.5$ ppm), ^{13}C 化學位移外部參照(± 0.05 ppm)純(液態)四甲基矽烷之質子去耦 ^{13}C 峰。

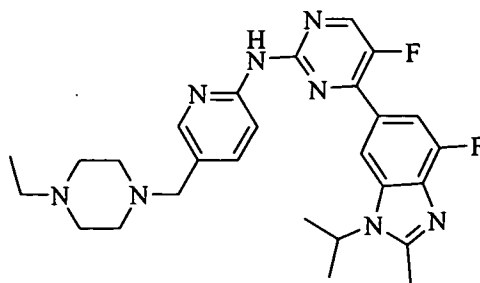
[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺結晶形態III之化學位移之峰清單如下：

^{13}C -NMR: $\nu(\text{F1})$ (ppm) 11.7, 12.9, 20.5, 48.6, 52.5, 59.4, 108.9, 110.0, 112.7, 127.3, 129.4, 135.5, 136.4, 148.8, 150.1, 152.2, 154.5, 156.3。

參考實例4

[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺

結晶形態III-途徑B



a. 1-(6-溴-吡啶-3-基甲基)-4-乙基-哌嗪

向6-溴-吡啶-3-甲醛(8.3 kg)及二氯甲烷(186 kg)之混合物中添加純1-乙基哌嗪(5.6 kg)。隨後，逐份添加三乙醯氧基硼氫化鈉(10.9 kg)且在20-30°C下攪拌12小時。將反應物淬滅於二氯甲烷(36 kg)及氫氧化鈉水溶液2 N (46 kg)之混合物中。分離各層且用二氯甲烷(24 × 2 kg)將水層萃取兩次。合併有機層，用鹽水(50 × 2 kg)洗滌且在真空下移除溶劑，得到11.5 kg標題化合物。MS (ES⁺): m/z= 285 (M+H)⁺。

b. 5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基胺

在T ≤ 40°C下向1-(6-溴-吡啶-3-基甲基)-4-乙基-哌嗪(14.2 kg)、氧化亞銅(200 g)及甲醇(57 kg)之脫氣混合物中添加液氨(50.0 kg)。在65-75°C下加熱混合物隔夜。冷卻至20-30°C且經CELITE®填料過濾。濃縮濾液且添加二氯甲烷(113 kg)且用氫氧化鈉2N (23 kg)將pH調整至12-14，分離各相且用二氯甲烷(58 × 2 kg)洗滌有機相且合併有機層。經由CELITE®過濾混合物且濃縮。將殘餘物溶解於甲苯(9.7 kg)中且藉由添加甲基第三丁基醚(8.3 kg)結晶，得到6.0 kg標題化合物。經由甲苯再結晶達到進一步純化。MS (ES⁺): m/z= 221 (M+H)⁺。

c. N-異丙基-乙醯胺

在< 20°C下向2-丙胺(12 kg)於乙酸乙酯(108 kg)中之溶液中添加碳酸鉀(28 kg)。將混合物冷卻至5°C至0°C且以約2-3千克/小時添加乙醯氯(16.7 kg)。攪拌直至根據氣相層析反應完成。用水(0.8 kg)淬滅反應物且過濾反應混合物且濃縮，得到13.4 kg標題化合物。NMR (CDCl₃) 4.06 (m, 1H), 1.94 (s, 3H), 1.14 (d, 6H)。

d. N-(4-溴-2,6-二氟-苯基)-N'-異丙基-乙脒

在< 20°C下向4-溴-2,6-二氟-苯胺(14.5 kg)、N-異丙基乙醯胺(8.5 kg)、三乙胺(10.6 kg)於甲苯(115 kg)中之混合物中添加磷醯氯(16.0 kg)。在10-20°C下攪拌直至根據高效液相層析反應完成。在真空下移

除溶劑且添加甲基第三丁基醚(64 kg)。用10%碳酸鈉水溶液(250 kg)調整混合物之pH。過濾混合物且用甲基第三丁基醚(11 × 2 kg)沖洗濾餅。分離各相且用甲基第三丁基醚(22 × 2 kg)洗滌水層。合併有機層且濃縮，過濾且用環己烷(0.6 kg)洗滌且乾燥，得到17.2 kg標題化合物。MS (ES⁺): m/z= 292 (M+H)⁺。

e. 6-溴-4-氟-1-異丙基-2-甲基-1H-苯并咪唑

向N-(4-溴-2,6-二氟-苯基)-N'-異丙基-乙脒(16.2 kg)於N-甲基甲醯胺(76 kg)中之溶液中逐份添加第三丁醇鉀(6.9 kg)，同時將溫度維持在T < 30°C下。在70-75°C下加熱混合物直至根據高效液相層析反應完成。冷卻至20-30°C且藉由添加至水(227 kg)中淬滅，隨後用甲基第三丁基醚(37 × 4 kg)萃取。用鹽水(49 × 2 kg)洗滌經合併之有機相且濃縮至25-30 L，添加正己烷(64 kg)且過濾漿料，得到11 kg標題化合物。MS (ES⁺): m/z= 272 (M+H)⁺。

藉由將粗化合物溶解於二氯甲烷中且經由矽膠及CELITE®填料過濾，隨後自甲基第三丁基醚/己烷混合物分離進一步純化。

f. 4-氟-1-異丙基-2-甲基-6-(4,4,5,5-四甲基-[1,3,2]二氧硼啉-2-基)-1H-苯并咪唑

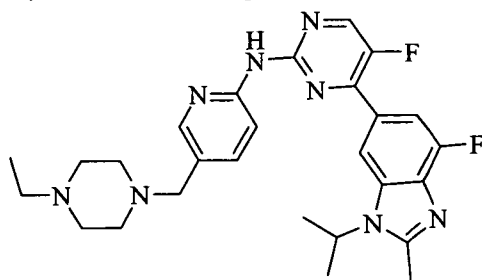
將氮氣鼓泡至6-溴-4-氟-1-異丙基-2-甲基-1H-苯并咪唑(600 g)、雙(頻哪醇根基)二硼(843 g)、三環己基膦(106 g)、乙酸鉀(652 g)及二甲亞碲(3.6 L)之混合物中。添加乙酸鈣(49 g)且在100°C下加熱直至根據高效液相層析反應完成。冷卻反應混合物且用水(18 L)稀釋，隨後過濾以分離固體。將粗物質溶解於1,2-二甲氧乙烷(450 mL)中且經由CELITE®過濾。濾液直接用於部分g。

g. 6-(2-氯-5-氟-嘓啶-4-基)-4-氟-1-異丙基-2-甲基-1H-苯并咪唑

將氮氣鼓泡至2,4-二氯-5-氟-嘓啶(517 g)、碳酸鈉(586 g)於水(1.7 L)及1,2-二甲氧乙烷(3.4 L)中之混合物中。添加氯化雙(三苯膦)鈣(II)^S

(4.9 g)且在 $80 \pm 3^\circ\text{C}$ 下加熱反應物且逐滴添加來自部分f之4-氟-1-異丙基-2-甲基-6-(4,4,5,5-四甲基-[1,3,2]二氧硼啉-2-基)-1H-苯并咪唑於1,2-二甲氧乙烷中之溶液(5.1 L)。在 $80 \pm 3^\circ\text{C}$ 下攪拌混合物直至根據高效液相層析反應完成。冷卻至室溫且用冷水(2.1 L, 5°C)稀釋。攪拌1小時，隨後藉由過濾分離粗固體。藉由用異丙醇濕磨實現固體之進一步純化，得到472 g標題化合物。MS (ES^+): $m/z = 323 (\text{M}+\text{H})^+$ 。

h. [5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺結晶形態III



將氮氣鼓泡至6-(2-氯-5-氟-嘧啶-4-基)-4-氟-1-異丙基-2-甲基-1H-苯并咪唑(465 g)、5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基胺(321 g)、碳酸鉀(403 g)、4,5-雙(二苯膦基)-9,9-二甲基二苯并哌喃(17 g)於第三戊醇(2.3 L)中之混合物中。在 $100 \pm 5^\circ\text{C}$ 下加熱參(二亞苄基丙酮)二鈀(13.2 g)及混合物直至根據高效液相層析反應完成。冷卻至室溫，用二氯甲烷(1.2 L)稀釋且經CELITE®填料過濾。用4M HCl (2.3 L $\times$ 2)萃取濾液。合併水層且與木炭(32 g)一起攪拌。經由CELITE®過濾，添加二氯甲烷(1.7 L)且用NaOH (28%水溶液，1.5 L)調整pH。收集有機層且用二氯甲烷(1.7 L)洗滌水層。合併有機層，用鹽水(1 L)洗滌，且經硫酸鎂乾燥。使用以固體為載體之Si-硫醇處理以移除殘餘鈀且將溶劑換為丙酮。過濾漿料且乾燥，得到605 g呈形態I之粗產物。混合605 g形態I與4.3 L無水丙酮。使懸浮液在 $56\text{--}57^\circ\text{C}$ (回流)下漿化至少18小時且隨後在環境溫度下漿化4小時。藉由真空過濾分離固體，產生淡黃色濾餅。在 35°C 下於真空烘箱中乾燥固體直至獲得570 g之恆

重。藉由XRPD確認物質為標題化合物之形態III。MS (ES+): $m/z = 507 (M+H)^+$ 。

以下實例說明抗VEGFR2 Ab (包括(但不限於)雷莫蘆單抗) (藉助於針對小鼠VEGFR2之大鼠單株抗體DC101, 其可在實驗中在小鼠中用作雷莫蘆單抗之替代物)與[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺之組合之出人意料的改良。[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺之甲磺酸鹽形式用於某些以下分析中且表示為化合物A。

實例1

化合物A以及DC101於小鼠異種移植模型(H441及NCI-H2122)中關於非小細胞肺癌之抗腫瘤作用

總體資訊：

腫瘤植入及處理：

使人類NSCLC細胞株NCI-H441或NCI-H2122生長於RPMI 1640培養基+ 10%胎牛血清中。收集具有胰蛋白酶之亞匯合細胞且用無血清之生長培養基沖洗兩次。對於皮下腫瘤，藉由在各個體動物之背側皮下注射含 5×10^6 個細胞之漢克氏平衡鹽溶液(Hank's balanced salt solution, HBSS)與基質膠(BD Bioscience, Franklin Lakes, NJ)之1:1混合物起始生長。當平均腫瘤體積在尺寸上達至大約150-200 mm³時，藉由此項技術中熟知之隨機化分組技術按腫瘤尺寸及體重將動物隨機化分組且使用每組所指定之動物數目將所述動物置放至其各別處理組中。

資料擷取：

使用Web Director擷取腫瘤尺寸及體重。藉由使用下式估計腫瘤體積(V)： $V = 0.536L \times W^2$ ，其中L =所量測之直徑中之較大者且W =S

垂直直徑中之較小者。將腫瘤體積資料轉化成對數標度以使時間及處理組之間之變異數等化。藉由隨時間及處理之雙向重複量測之變異數分析，使用SAS軟體(版本9.3)之MIXED程序分析對數體積資料。用於重複量測之相關模型為Spatial Power。比較各時間點之處理組與對照組。MIXED程序亦單獨用於各處理組以計算在各時間點之經調整之平均值及標準誤差。兩個分析均解釋各動物內之自相關及在早期自研究移除具有較大腫瘤之動物時出現之資料丟失。繪製各處理組之經調整之平均值及標準誤差對比時間之圖。使用最接近用化合物A給藥之最後一天獲取的腫瘤體積量測值來計算腫瘤體積之相對變化(T/C%)，而基線腫瘤體積為在給藥第一天或在給藥第一天之前不久記錄之體積。使用式 $T/C\% = 100 \times \Delta T / \Delta C$ 計算T/C%值，其中T = 化合物處理組之平均腫瘤體積， ΔT = 化合物處理組之平均腫瘤體積減基線日之平均腫瘤體積，C = 對照(媒劑)組之平均腫瘤體積，且 ΔC = 對照組之平均腫瘤體積減基線日之平均腫瘤體積。在彼等情況下觀察腫瘤生長抑制：T/C%之計算值小於100%，其中較大抑制產生較小T/C%值。若 $\Delta T < 0$ ，則計算腫瘤消退值而非T/C%，其中消退% = $100 \times \Delta T / T_{\text{初始}}$ 以使得 $T_{\text{初始}}$ = 所有處理組之腫瘤體積之總平均值。所列出之T/C%之任何負值為消退%值。

藉由在研究過程期間一週兩次進行之三維測徑規量測法量測腫瘤體積來評估DC101與化合物A之組合之抗腫瘤功效。在研究過程期間每週兩次量測體重作為耐受性之一般指示。

化合物A及DC101之調配：每週於1%羥乙基纖維素(HEC)中於pH 2之25 mM磷酸鹽緩衝液(PB)中調配化合物A且將其儲存在4°C下。將DC101溶解於磷酸鹽緩衝鹽水中且儲存在4°C下。

對照組：向對照組之動物投與根據各化合物之相同時程分別用於化合物A及DC101之兩種媒劑。

對於單一療法組，用如所指示之所需化合物及不遵循非給藥化合物之時程來給藥之化合物之媒劑處理動物。

NCI-H441異種移植腫瘤

研究1：

單一療法化合物A

使用0.2毫升/劑量以50 mg/kg或100 mg/kg之劑量每日一次持續28天藉由經口管飼用化合物A處理帶有NCI-H441異種移植腫瘤之雌性Hsd無胸腺裸小鼠($n = 8$)。在平均腫瘤體積在尺寸上達至大約150-200 mm³之後(腫瘤植入之後的第15天)開始投與化合物A且28天後(第42天)結束處理。在處理期期間，一週兩次量測腫瘤體積及體重。

結果：用50 mg/kg或100 mg/kg化合物A處理引起腫瘤生長之顯著抑制。在研究第42天觀察之50 mg/kg劑量之平均消退百分比為-8.1%且100 mg/kg劑量之平均消退百分比為-22.8%。與對照相比，此等值經測定為統計顯著的($p < 0.001$)。在處理期結束時之相對腫瘤體積指示，用50 mg/kg化合物A單一療法處理引起8隻動物中6隻動物之部分反應及8隻動物中2隻動物之穩定疾病。在用100 mg/kg化合物A單一療法處理之所有(8/8)小鼠中觀察到部分反應。用單一試劑化合物A處理未顯示顯著耐受性問題：對於100 mg/kg劑量最大相對體重損失為4.7%且對於50 mg/kg劑量為2.7%。體重損失經量測為於基線(第14天)上記錄之平均體重相較於處理之最後一天(第42天)之變化百分比。

單一療法DC101

以10 mg/kg、20 mg/kg或40 mg/kg之劑量每週兩次持續四週藉由腹膜內注射用DC101處理帶有NCI-H441異種移植腫瘤之雌性Hsd無胸腺裸小鼠($n = 8$)。在平均腫瘤體積在尺寸上達至大約150-200 mm³之後(腫瘤植入之後的第15天)開始投與DC101且在第39天結束處理。在處理期期間，一週兩次量測腫瘤體積及體重。

結果：用10 mg/kg、20 mg/kg或40 mg/kg DC101處理引起腫瘤生長之顯著抑制。在給藥期結束時(第42天)觀察到的腫瘤體積之變化(T/C%)就10 mg/kg劑量、20 mg/kg劑量及40 mg/kg劑量而言分別為25.6%、10.4%及9.0%。關於用DC101處理之所有組，觀察到與媒劑對照組($p < 0.001\%$)相比，NCI-H441異種移植腫瘤之統計顯著($p < 0.001$)生長抑制。用DC101之單一試劑處理產生關於穩定疾病及部分反應之頻率之劑量依賴性趨勢，使得在用10 mg/kg、20 mg/kg及40 mg/kg處理之組中穩定疾病及部分反應之組合頻率分別為2/8、5/8及6/8。用DC101之單一試劑處理中之任一者不存在顯著耐受性問題：對於10 mg/kg劑量最大相對體重損失為1.3%，對於20 mg/kg劑量為1.5%且對於40 mg/kg劑量為0.5%。體重損失經量測為於基線(第14天)上記錄之平均體重相較於處理之最後一天(第42天)之變化百分比。

化合物A及DC101之組合

使用0.2毫升/劑量以50 mg/kg之劑量每日一次持續28天藉由經口管飼化合物A且以20 mg/kg之劑量每週兩次腹膜內注射DC101來處理帶有NCI-H441異種移植腫瘤之雌性Hsd無胸腺裸小鼠($n = 8$)。投與均開始於腫瘤植入之後的第15天，在第42天結束化合物A處理且在第39天結束DC101處理。在處理期期間，一週兩次量測腫瘤體積且量測體重。

結果：與單一療法組中之每一者相比，用50 mg/kg化合物A及20 mg/kg DC101組合處理引起抗腫瘤功效改良。與僅用50 mg/kg化合物A處理之組中之8.1%消退及僅用20 mg/kg DC101處理之組中之觀察到的10.4%的T/C%相比，組合組在給藥期結束時(第42天)之腫瘤體積顯示42.9%消退(亦即 $T/C\% = -42.9\%$)。各單一療法組相比於組合組之間的抗腫瘤功效差異為統計顯著的($p < 0.001$)。組合處理引起8/8處理動物之部分反應。相比之下，8隻動物中僅2隻顯示對DC101單一療法之

部分反應，三隻動物顯示穩定疾病(3/8)且三隻動物顯示進行性疾病(3/8)。8隻動物中6隻顯示對化合物A單一療法之部分反應且2隻動物顯示穩定疾病(2/8)。就組合療法而言，部分反應者之頻率(8/8)增加，以及消退之量值統計顯著增加($p < 0.001$) (接收組合療法之8隻動物中的5隻具有優於在單一試劑化合物A (50 mg/kg)組中觀察到的最佳反應之消退率)。未觀察到組合處理相對於單一療法或對照之耐受性統計顯著變化。特定言之，與單一療法化合物A處理之2.7%及單一療法DC101處理之1.5%相比，組合組之最大相對體重損失為3.0%。體重損失經量測為於基線(第14天)上記錄之平均體重相較於處理之最後一天(第42天)之變化百分比。

研究2：

單一療法化合物A

使用0.2毫升/劑量以50 mg/kg或75 mg/kg之劑量每日一次持續28天藉由經口管飼(經口(PO))用化合物A處理帶有NCI-H441異種移植腫瘤之雌性Hsd無胸腺裸小鼠($n = 7$)。在平均腫瘤體積在尺寸上達至大約150-200 mm³之後(腫瘤植入之後的第36天)開始投與化合物A且28天後(第63天)結束處理。在處理期期間，一週兩次量測腫瘤體積及體重。

結果：在給藥期結束時(第67天)，用50 mg/kg或75 mg/kg化合物A處理NCI-H441異種移植物引起腫瘤生長之顯著抑制。當與媒劑對照相比時，50 mg/kg處理顯示7.0%之T/C%，而75 mg/kg處理產生-4.8%之消退。與對照相比，此等值經測定為統計顯著的($p < 0.001$)。在處理期結束時之相對腫瘤體積指示，用50 mg/kg或75 mg/kg化合物A之單一療法產生關於穩定疾病及部分反應之頻率的劑量依賴性趨勢，使得穩定疾病及部分反應之組合頻率分別為4/7及6/7。關於50 mg/kg及75 mg/kg化合物A單一療法，7隻小鼠中的2隻及7隻小鼠中的3隻實現^S

完全消退。關於50 mg/kg及75 mg/kg化合物A單一療法，最大相對體重損失為5.5%及5.1%，其與對照動物無統計不同。

單一療法DC101

以20 mg/kg之劑量每週兩次持續四週藉由腹膜內注射用DC101處理帶有NCI-H441異種移植腫瘤之雌性Hsd無胸腺裸小鼠($n = 7$)。在平均腫瘤體積在尺寸上達至大約150-200 mm³之後(腫瘤植入之後的第36天)開始投與DC101。在處理期期間，一週兩次量測腫瘤體積及體重。

結果：當與媒劑對照相比時，用20 mg/kg DC101處理亦引起腫瘤生長之顯著抑制，其中T/C%為5.6%。與對照相比，此等值經測定為統計顯著的($p < 0.001$)。在處理期結束時之相對腫瘤體積指示，用DC101之單一療法使得6隻小鼠中的2隻具有進行性疾病，6隻小鼠中的2隻具有穩定疾病且6隻小鼠中的2隻實現部分反應。對於DC101單一療法，最大相對體重損失為3.9%，其與對照動物無統計不同。

化合物A與DC101之組合

使用0.2毫升/劑量以50 mg/kg或75 mg/kg之劑量每日一次持續28天藉由經口管飼化合物A且以20 mg/kg之劑量每週兩次腹膜內注射DC101來處理帶有NCI-H441異種移植腫瘤之雌性Hsd無胸腺裸小鼠($n = 7$)。投與均開始於平均腫瘤體積在尺寸上達至大約150-200 mm³之後(腫瘤植入之後的第36天)且在第63天結束處理。在處理期期間，一週兩次量測腫瘤體積及體重。

用20 mg/kg DC101及化合物A之組合處理顯示出顯著優於單一療法組中之任一者之抗腫瘤功效，其中包括50 mg/kg或75 mg/kg化合物A之組合處理分別產生-48.6%及-38.9%之腫瘤消退。當與媒劑對照組($p < 0.001$)以及其各別單一療法組相比時，對腫瘤生長之此等影響為統計顯著的。特定言之，當與DC101單一療法相比時，50 mg/kg或75

mg/kg之組合均為統計顯著的，其中分別地， $p < 0.001$ 及 $p = 0.033$ ；當與其各別化合物A單一療法組相比時，50 mg/kg及75 mg/kg之組合處理亦為統計顯著的，其中分別地， $p < 0.001$ 及 $p = 0.006$ 。

在處理期結束時之相對腫瘤體積量測值指示，DC101與50 mg/kg或75 mg/kg 化合物A之組合療法產生100%之疾病控制率，其中各組中之7/7小鼠有穩定疾病或實現部分反應。此顯示與用DC101或化合物A之單一療法相比，反應顯著改良，其中對於用50 mg/kg化合物A、75 mg/kg化合物A及20 mg/kg DC101之單一療法，所觀察到之疾病控制率(穩定疾病+部分反應)分別為4/7、6/7及4/6。

組合組之相對體重變化與對照或單一療法組無統計不同。

NCI-H2122異種移植腫瘤

單一療法化合物A

使用0.2毫升/劑量以50 mg/kg或75 mg/kg之劑量每日一次持續28天藉由經口管飼(經口)用化合物A處理帶有NCI-H2122異種移植腫瘤之雌性Hsd無胸腺裸小鼠($n = 8$)。在平均腫瘤體積在尺寸上達至大約150-200 mm³之後(腫瘤植入之後的第16天)投與化合物A且在第43天結束處理。在處理期期間，一週兩次量測腫瘤體積及體重。

結果：在給藥期結束時(第45天)，當與媒劑對照相比時，用50 mg/kg或75 mg/kg化合物A處理之NCI-H2122異種移植物引起腫瘤生長之顯著抑制，其中T/C%分別為64.3%及37.3%。與對照相比，此等值經測定為統計顯著的($p < 0.001$)。接受化合物A之組之相對體重變化與對照組無統計不同。

單一療法DC101

以20 mg/kg之劑量藉由腹膜內注射用DC101處理帶有NCI-H2122異種移植腫瘤之雌性Hsd無胸腺裸小鼠($n = 8$)。在平均腫瘤體積在尺寸上達至大約150-200 mm³之後(腫瘤植入之後第16天)開始投與^S

DC101，且每週兩次繼續四週。在處理期期間，一週兩次量測腫瘤體積及體重。

結果：當與媒劑對照相比時，用20 mg/kg DC101處理亦引起腫瘤生長之顯著抑制，其中T/C%為45.7%。與對照相比，此值經測定為統計顯著的($p < 0.001$)。接受DC101之組之相對體重變化與對照組無統計不同。

化合物A及DC101之組合

使用0.2毫升/劑量以50 mg/kg或75 mg/kg之劑量每日一次持續28天藉由經口管飼(經口)化合物A且以20 mg/kg之劑量每週兩次腹膜內注射DC101來處理帶有NCI-H2122異種移植腫瘤之雌性Hsd無胸腺裸小鼠($n = 8$)。投與均開始於平均腫瘤體積在尺寸上達至大約150-200 mm³之後(腫瘤植入之後的第16天)且在第43天結束處理。在處理期期間，一週兩次量測腫瘤體積及體重。

結果：用20 mg/kg DC101及化合物A之組合處理顯示顯著優於單一療法組中之任一者之抗腫瘤功效，其中包括50 mg/kg或75 mg/kg化合物A之組合處理分別產生20.7%及9.3%之T/C%。當與媒劑對照組($p < 0.001$)相比時以及當與其各別化合物A單一療法組($p < 0.001$)相比時，對腫瘤生長之此等影響為統計顯著的。當與DC101單一療法相比時，用50 mg/kg或75 mg/kg之組合均為統計顯著的，其中分別地， $p = 0.002$ 及 $p < 0.001$ 。在處理期結束時之相對腫瘤體積指示，用DC101及50 mg/kg或75 mg/kg化合物A之組合療法產生關於穩定疾病及部分反應之頻率的劑量依賴性趨勢，使得穩定疾病及部分反應之組合頻率分別為4/8及7/8。組合組之相對體重變化與對照或單一療法組無統計不同。

總體而言在3個不同研究中，在用DC101及化合物A之單一療法之後觀察到顯著抗腫瘤功效，其中組合療法產生功效之統計顯著改

良。在3個研究之整個過程中獲取之體重量測值指示，該等處理(包括組合處理)對耐受性皆無顯著負面影響。

實例2

雷莫蘆單抗與抗CDK4/6處理之組合減少內皮細胞芽生

藉由活體外基於細胞之分析量測內皮細胞芽生之活體外減少。使用該分析量測化合物A及雷莫蘆單抗對內皮細胞芽生之影響。

在補充有SINGLEQUOTS™ (Lonza CC-4176)及2%胎牛血清(FBS)之Lonza EBM2 (Lonza CC-3156)培養基中培養HUVEC細胞(Lonza C2519A)。在補充有SINGLEQUOTS™ (Lonza CC-4126)及10% FBS (Hyclone SH30611.02)之Lonza纖維母細胞基礎培養基(FBM) (Lonza CC-3131)中培養肺癌相關之纖維母細胞(CAF)。

在室溫下在50 mL PBS (HyClone SH30264.02)中將1公克聚葡萄糖塗佈之Cytodex 3微珠(Sigma C3275)水合至少3小時且置放於震盪器上15分鐘。丟棄上清液，用PBS洗滌珠粒3次且再懸浮於50 mL PBS中。置放於矽化玻璃瓶及在120℃下高壓釜處理15分鐘且儲存在4℃下。

在分析當天，輕輕地混合珠粒且將1.2 mL珠粒轉移至50 mL管(Falcon, 352098)中且使其自然沈降。抽吸PBS，且用20 mL預升溫完全內皮細胞基礎培養基-2 (EBM2)洗滌珠粒。使珠粒沈降，輕輕抽吸培養基且添加15 mL完全EBM2。

自培養燒瓶收集HUVEC細胞，用PBS沖洗，且細胞一集攏即添加TrypLE (Gibco 126051-010)且抽吸。將HUVEC細胞輕輕地再懸浮於20 mL完全培養基中，測定活細胞數且將 2.5×10^7 細胞懸浮液添加至珠粒中至24 mL之最終體積。將平放之管置放於37℃下5% CO₂中4小時，且每20分鐘輕輕地顛倒若干次。以2毫升/燒瓶將珠粒及細胞懸浮液轉移至12個T75燒瓶(Nunc 156499)中。用20 mL培養基沖洗管且12^S

個燒瓶等分。使培養基達至10 mL且在37°C下於5% CO₂中培育燒瓶隔夜。

自2個T75燒瓶來回若干次吸取含有HUVEC/珠粒之培養基以自燒瓶釋放HUVEC/珠粒。將溶液轉移至50 mL管中且用5 mL培養基洗滌燒瓶且轉移至同一管中。使珠粒沈降且使用1 mL吸液管與新鮮EBM2進一步混合2次以視需要分離珠粒。將珠粒再懸浮於2 × 15 mL血纖維蛋白原溶液中，其由補充有1875 µL 4U/mL抑肽酶(0.15單位/毫升最終濃度) (Sigma A3428)的50 mL 2 mg/mL血纖維蛋白原(Sigma F4883)組成。用0.22微米過濾器無菌過濾。

自T150燒瓶收集CAF細胞，用PBS沖洗，且細胞一集攏即添加TrypLE (Gibco 126051-010)且抽吸。添加2 mL完全培養基(補充有SINGLEQUOTS™及2% FBS之EBM2)且測定活細胞數且以4 × 10⁴個細胞/毫升將細胞添加至血纖維蛋白原溶液中。

將12 µL凝血酶(Sigma T4393-100單位)添加至24孔玻璃底培養板(In Vitro Scientific P24-1.5H-N)中至0.6單位/0.5毫升凝結溶液之最終濃度。將0.5 mL血纖維蛋白原-珠粒/CAF懸浮液快速添加至各孔以允許混合且防止形成氣泡。將培養板置放於罩中20分鐘以在無干擾之情況下凝結，且隨後將培養板移至培育箱(37°C，5% CO₂)持續20分鐘。將0.5 mL完全培養基逐滴添加至各孔以避免妨礙凝結。以10 µg/mL之濃度將雷莫蘆單抗添加至各孔。以3 nM、10 nM、30 nM、100 nM及500 nM之濃度將化合物A添加至含有雷莫蘆單抗之孔。在二甲亞砜中連續稀釋化合物且隨後轉移至分析培養板以使得分析中二甲亞砜之最終濃度為0.05%。在37°C下於2% CO₂中培育培養板。在處理之後的第4天，用新鮮培養基及處理替換培養基。

在處理之後的第7天，在4°C下於4%多聚甲醛(PFA) (Electron Microscopy Sciences 15710)中固定孔隔夜。用0.5 mL杜爾貝科氏磷酸

鹽緩衝鹽水(Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline, DPBS) (HyClone SH30264.01, 批號AVJ79791)洗滌培養板且在4℃下用0.5% TRITON™ X-100/PBS (Sigma T9284)滲透10分鐘。各用1 mL甘胺酸/DPBS (Bio-Rad 161-0718)沖洗培養板3次歷時10-15分鐘且用每孔0.5 mL之IF緩衝液阻斷隔夜, 該緩衝液由含0.1% BSA、0.2% TRITON™ X-100、0.05% Tween-20之DPBS + 10%山羊血清(Invitrogen 16210)組成。移除緩衝液且在4℃下用初級抗體, 綿羊抗人類CD31 (1:100) (R&D Systems BAF806)及Cy3標記之抗 α 平滑肌肌動蛋白(1:200) (Sigma C6198)於以上緩衝液中培育培養板隔夜。在室溫下伴隨輕輕震盪各用IF緩衝液沖洗孔3次歷時20分鐘。添加含Alexa Fluor 488驢抗綿羊IgG (H+L) (1:200) (Molecular Probes A-11015)之培育緩衝液且在室溫下培育1小時。如上所述沖洗孔, 且在室溫下於含4',6-二甲脒基-2-苯基吡啶(DAPI) (1:10000) (Invitrogen D1306)之DPBS中培育1至2小時。用DPBS沖洗孔5分鐘。添加0.5 mL之DPBS且使用2X物鏡於CELLINSIGHT™ (Thermal Science)上掃描培養板。使用CELLINSIGHT™神經突偵測分析進行內皮細胞芽生之成像及定量。使用JMP 9 (SAS, 9.0.3)統計分析資料。

各實驗表示三次重複實驗之平均值, 其表示為幾何平均值且可計算95%信賴區間。用式 $((\text{雷莫蘆單抗對照}-\text{處理})/(\text{雷莫蘆單抗對照})) \times 100$ 計算減少百分比。

結果表明將化合物A添加至雷莫蘆單抗以劑量依賴性方式增加了雷莫蘆單抗之抗血管效果。當與僅雷莫蘆單抗處理相比時, 在300 nM及500 nM下化合物A與雷莫蘆單抗組合使內皮細胞芽生長度分別減少了42.5% ($p < 0.0034$)及50% ($p < 0.0007$)。

實例3

[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-^S

甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺與雷莫蘆單抗組合用於IV期NSCLC患者之研究

研究設計

此研究為在21天週期之第1至21天每12 (± 3)小時以100 mg、150 mg或200 mg經口給予[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺以及以10 mg/kg經60分鐘靜脈內輸注投與雷莫蘆單抗，隨後在21天週期之第1天觀察患有IV期NSCLC之患者1小時的多中心、非隨機化、開放標籤、劑量遞增階段1b研究。

研究目標

此研究之主要目標為使用不良事件之常用術語準則(Common Terminology Criteria for Adverse Events, CTCAE 4.0版, NCI 2009)評估[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺當與雷莫蘆單抗組合經口投與患有IV期NSCLC之患者時之安全性及耐受性。

該研究之次要目標為記錄[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺當與雷莫蘆單抗組合給予時之抗腫瘤活性；測定[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺當與雷莫蘆單抗組合給予時之藥物動力學(PK)；及藉助於MD安德森症狀評估量表-肺癌(MD Anderson Symptom Inventory-Lung Cancer, MDASI-LC)判別所收集之患者所提出疼痛及疾病相關症狀的變化特徵。

試驗藥物

提供100 mg、150 mg或200 mg之膠囊用於經口投與[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑

-5-基)-嘧啶-2-基]-胺。

[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺可視情況在21天週期之第1天至第21天期間遞減至每12小時經口投與100 mg。

雷莫蘆單抗可調配成濃度為10 mg/kg之水溶液(500 mg/50 mL瓶)，呈無菌、無防腐劑溶液形式提供用於輸注之雷莫蘆單抗。緩衝液含有10 mM組胺酸、75 mM氯化鈉、133 mM甘胺酸及0.01%聚山梨醇酯80，pH 6.0。雷莫蘆單抗係提供於一次性之50 mL標稱體積玻璃瓶中。

雷莫蘆單抗之第一劑量視患者之以千克為單位之基線體重而定。若自上次劑量計算，體重變化(增加或減少) ≥ 10%，則必須重新計算雷莫蘆單抗之隨後劑量；若自上次劑量計算，體重變化(增加或減少) < 10%，則可重新計算隨後劑量。

來自進行中之臨床試驗的可評估患者之初步資料呈現於表3中。

表3						
阿貝馬奇(mg)	患者	反應評估之研究天	目標反應	總體反應	EGFR狀態	KRAS突變狀態
150	1	172	PR	PR	陰性	陽性
	2	36	NDR	PD	NDR	NDR
	3	37	SD	SD	陰性	NDR
200	4	42	SD	SD	陰性	陽性
	5	41	SD	SD	陽性	NDR
	6	86	PD	PD	陰性	陰性
	7	44	PR	PR	NDR	NDR
	8	84	NDR	SD	NDR	NDR

- PR為部分反應；
- SD為穩定疾病；
- PD為進行性疾病；
- NDR為無資料報導。

儘管可評估患者之以上初步資料揭露患有進行性疾病之兩名患

者，但其進一步揭露患有穩定疾病之四名患者及有部分反應之兩名患者。

序列表

<SEQ ID NO: 1 ; DNA ; 人類>

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTATAGGAGA
CAGAGTCACCATCACTTGTCTGGGCGAGTCAGGGTATTGACAACTGGTTAG
GCTGGTATCAGCAGAAACCTGGGAAAGCCCCCTAACTCCTGATCTACGAT
GCATCCAATTTGGACACAGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGAAGTGGATC
TGGGACATATTTTACTCTCACCATCAGTAGCCTGCAAGCTGAAGATTTTG
CAGTTTATTTCTGTCAACAGGCTAAAGCTTTTCTCCCACTTTCGGCGGA
GGGACCAAGGTGGACATCAAA

<SEQ ID NO: 2 ; PRT1 ; 人類>

DIQMTQSPSSVSASIGDRVITITCRASQIDNWLGWYQQKPGKAPKLLIYD
ASNLDTGVPSPRFSGSGSGTYFTLTISLQAEDFAVYFCQQAFAFPPTFGG
GTKVDIK

<SEQ ID NO: 3 ; DNA ; 人類>

GAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGGGGTC
CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGCTATAGCA
TGAAGTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCATCC
ATTAGTAGTAGTAGTAGTTACATATACTACGCAGACTCAGTGAAGGGCCG
ATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGA
ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGTCACA
GATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCAAGC

<SEQ ID NO: 4 ; PRT1 ; 人類>

EVQLVQSGGGLVKGPGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKLEWVSS
ISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVT
DAFDIWGQGTMTVTVSS

<SEQ ID NO: 5 ; DNA ; 人類>

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTATAGGAGA
CAGAGTCACCATCACTTGTCTGGGCGAGTCAGGGTATTGACAACTGGTTAG
GCTGGTATCAGCAGAAACCTGGGAAAGCCCCCTAACTCCTGATCTACGAT
GCATCCAATTTGGACACAGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGAAGTGGATC
TGGGACATATTTTACTCTCACCATCAGTAGCCTGCAAGCTGAAGATTTTG
CAGTTTATTTCTGTCAACAGGCTAAAGCTTTTCTCCCACTTTCGGCGGA
GGGACCAAGGTGGACATCAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCAT
CTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGT
GCCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGAAGGTG
GATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGA
CAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAG
CAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC
CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT

<SEQ ID NO: 6 ; PRT1 ; 人類>

DIQMTQSPSSVSASIGDRVITITCRASQIDNWLGWYQQKPGKAPKLLIYD
ASNLDTGVPSPRFSGSGSGTYFTLTISLQAEDFAVYFCQQAFAFPPTFGG
GTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV
DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG
LSSPVTKSFNRGEC

<SEQ ID NO: 7 ; DNA ; 人類>

GAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGGGGTC
CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGCTATAGCA
TGAAGTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCATCC
ATTAGTAGTAGTAGTAGTTACATATACTACGCAGACTCAGTGAAGGGCCG
ATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGA
ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGTCACA
GATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCAAGCGC
TAGCACCAGGGGCCATCGGTCTCTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCA
CCTCTGGGGGACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC
GAACCGGTGACGGTGTCTGTGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCA
CACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCG
TGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC
GTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAA
ATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCC
TGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCCTTCCCCCCTTCCCCCCTT
ATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA
CGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGC
ATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGT
GTGGTCAGCGTCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA
GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAA
CCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTG
CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCT
GGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATG
GGCAGCCGGAGAACAACATAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGAC
GGCTCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCA
GCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACC
ACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAA

<SEQ ID NO: 8 ; PRT1 ; 人類>

EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSS
ISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVT
DAFDIWQGQTMVTVSSASTKGPSVLPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL
MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

<SEQ ID NO: 9 ; PRT1 ; 人類>

	A	SVGLPSVSLD	LPRLSIQKDI	LTIKANTTLQ	ITCRGQRDL
WLWPNQSGS	EQRVEVTECS	DGLFCKTLTI	PKVIGNDTGA	YKCFYRETDL	ASVIYVYVQD
YRSPFIASVS	DQHGVVYITE	NKNKTVVIPC	LGSISNLNVS	LCARYPEKRF	VPDGNRISWD
SKKGFTIPSY	MISYAGMVFC	EAKINDESYQ	SIMYIVVVVG	YRIYDVVLSP	SHGIELSVGE
KLVLNCTART	ELNVGIDFNW	EYPSSKHQHK	KLVNRDLKTQ	SGSEMKKFLS	TLTIDGVTRS
DQGLYTCAAS	SGLMTKKNST	FVRVHEKPFV	AFGSGMESLV	EATVGERVRI	PAKYLGYPPP
EIKWYKNGIP	LESNHTIKAG	HVLTIMEVSE	RDGTGNYTVIL	TNPISKEKQS	HVVSLLVYVP
PQIGEKSLIS	PVDSYQYGTT	QTLTCTVYAI	PPPHHWHYW	QLEEECANEP	SQAVSVTNPY
PCEEWRSVED	FQGGNKIEVN	KNQFALIEGK	NKTVSTLVIQ	AANVSALYKC	EAVNKVGRGE
RVISFHVTRG	PEITLQPDMQ	PTEQESVSLW	CTADRSTFEN	LTWYKLGPPQ	LPIHVGELPT
PVCKNLDTLW	KLNATMFSNS	TNDILIMELK	NASLQDQGDY	VCLAQDRKTK	KRHCVVRQLT
VLERVAPTIT	GNLENQTTSI	GESIEVSCTA	SGNPPPPQIMW	FKDNETLVED	SGIVLKDGNR
NLTIRRVKRE	DEGLYTCQAC	SVLGCAKVEA	FFIIEGAQEK	TNLEIIILVG	TAVIAMFFWL
LLVILRTVK	RANGGELKTG	YLSIVMDPDE	LPLDEHCERL	PYDASKWEFP	RDRLKLGKPL
GRGAFQGVIE	ADAFGIDKTA	TCRTVAVKML	KEGATHSEHR	ALMSELKILI	HIGHHLNVVN
LLGACTKPGG	PLMVIVEFCK	FGNLSTYLRS	KRNEFVPYKT	KGARFRQGKD	YVGAIPVDLK
RRLDSITSSQ	SSASSGFVEE	KSLSDVEEEE	APEDLYKDFL	TLEHLICYSF	QVAKGMEFLA
SRKCIHRDLA	ARNILLSEKN	VVKICDFGLA	RDIYKDPDYV	RKGDARLPLK	WMAPETIFDR
VYTIQSDVWS	FGVLLWEIFS	LGASPYPGVK	IDEEFCRRLK	EGTRMRAPDY	TPPEMYQTML
DCWHGEPSQR	PTFSELVEHL	GNLLQANAQQ	DGKDYIVLPI	SETLSMEEDS	GLSLPTSPVS
CMEEEEVCDP	KFHYDNTAGI	SQYLQNSKRK	SRPVSVKTFE	DIPLEEPEVK	VIPDDNQDTS
GMVLASEELK	TLEDRTKLSP	SFGGMVPSKS	RESVASEGSN	QTSGYQSGYH	SDDTDTTVYS
SEEAECLKLI	EIGVQTGSTA	QILQPDSGTT	LSSPPV		

【圖式簡單說明】

無

【符號說明】

無



【序列表】

<110> 美國禮來大藥廠

<120> 癌症之組合療法

<130> X20246

<150> 61/944811

<151> 2014-02-26

<160> 9

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 321

<212> DNA

<213> 智人

<400> 1

gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctataggaga cagagtcacc	60
atcacttggtc gggcgagtca gggtattgac aactggtag gctggtatca gcagaaacct	120
gggaaagccc ctaaactcct gatctacgat gcatccaatt tggacacagg ggtcccatca	180
aggttcagtg gaagtggatc tgggacatat ttactctca ccatcagtag cctgcaagct	240
gaagattttg cagttttatt ctgtcaacag gctaaagctt ttctccac tttcggcgga	300
gggaccaagg tggacatcaa a	321

<210> 2

<211> 107

<212> PRT

<213> 智人

<400> 2

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Ile Gly	
1 5 10 15	
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asp Asn Trp	
20 25 30	
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	
35 40 45	
Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Asp Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
50 55 60	

Ser Gly Ser Gly Thr Tyr Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Ala Lys Ala Phe Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 3
<211> 348
<212> DNA
<213> 智人

<400> 3
gaggtccagc tgggtgcagtc tgggggaggc ctgggtcaagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatagca tgaactgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcatcc attagtagta gtagtagtta catatactac 180
gcagactcag tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagtcaca 300
gatgcttttg atatctgggg ccaagggaca atggtcaccg tctcaagc 348

<210> 4
<211> 116
<212> PRT
<213> 智人

<400> 4

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Val Thr Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 5
<211> 642
<212> DNA
<213> 智人

<400> 5
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctataggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca gggatattgac aactgggttag gctgggtatca gcagaaacct 120
gggaaagccc ctaaactcct gatctacgat gcatccaatt tggacacagg ggtcccatca 180
aggttcagtg gaagtggatc tgggacatat ttactctca ccatcagtag cctgcaagct 240
gaagattttg cagtttattt ctgtcaacag gctaaagctt ttcttcccac ttctggcgga 300
gggaccaagg tggacatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360
tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgtttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 6
<211> 214
<212> PRT
<213> 智人

<400> 6
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Ile Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asp Asn Trp
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Asp Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Tyr Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Ala Lys Ala Phe Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 7

<211> 1338
<212> DNA
<213> 智人

<400> 7

gaggtccagc tgggtgcagtc tgggggaggc ctgggtcaagc ctgggggggtc cctgagactc	60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatagca tgaactgggt ccgccaggct	120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcatcc attagtagta gtagtagtta catatactac	180
gcagactcag tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcaactgtat	240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagtcaca	300
gatgcttttg atatctgggg ccaagggaca atgggtaccg tctcaagcgc tagcaccaag	360
ggcccatcgg tcctccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc	420
ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccgggtga cgggtgtcgtg gaactcaggc	480
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc	540
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagacctc catctgcaac	600
gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac	660
aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaactcc tgggggggacc gtcagtcttc	720
ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc	780
gtgggtggagg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc	840
gtggagggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt	900
gtgggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc	960
aagggtctcca acaaagccct cccagcccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg	1020
cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac	1080
cagggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg	1140
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac	1200
ggctccttct tcctctatag caagctcacc gtggacaaga gcagggtggca gcaggggaac	1260
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc	1320
tcctgtccc cgggtaaa	1338

<210> 8
<211> 446
<212> PRT

<213> 智人

<400> 8

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Val Thr Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Leu Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 9
 <211> 1337
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 9

Ala Ser Val Gly Leu Pro Ser Val Ser Leu Asp Leu Pro Arg Leu Ser
 1 5 10 15

Ile Gln Lys Asp Ile Leu Thr Ile Lys Ala Asn Thr Thr Leu Gln Ile
 20 25 30

Thr Cys Arg Gly Gln Arg Asp Leu Asp Trp Leu Trp Pro Asn Asn Gln
 35 40 45

Ser Gly Ser Glu Gln Arg Val Glu Val Thr Glu Cys Ser Asp Gly Leu
 50 55 60

Phe Cys Lys Thr Leu Thr Ile Pro Lys Val Ile Gly Asn Asp Thr Gly
 65 70 75 80

Ala Tyr Lys Cys Phe Tyr Arg Glu Thr Asp Leu Ala Ser Val Ile Tyr
 85 90 95

Val Tyr Val Gln Asp Tyr Arg Ser Pro Phe Ile Ala Ser Val Ser Asp
 100 105 110

Gln His Gly Val Val Tyr Ile Thr Glu Asn Lys Asn Lys Thr Val Val
 115 120 125

Ile Pro Cys Leu Gly Ser Ile Ser Asn Leu Asn Val Ser Leu Cys Ala
 130 135 140

Arg Tyr Pro Glu Lys Arg Phe Val Pro Asp Gly Asn Arg Ile Ser Trp
 145 150 155 160

Asp Ser Lys Lys Gly Phe Thr Ile Pro Ser Tyr Met Ile Ser Tyr Ala
 165 170 175

Gly Met Val Phe Cys Glu Ala Lys Ile Asn Asp Glu Ser Tyr Gln Ser
180 185 190

Ile Met Tyr Ile Val Val Val Val Gly Tyr Arg Ile Tyr Asp Val Val
195 200 205

Leu Ser Pro Ser His Gly Ile Glu Leu Ser Val Gly Glu Lys Leu Val
210 215 220

Leu Asn Cys Thr Ala Arg Thr Glu Leu Asn Val Gly Ile Asp Phe Asn
225 230 235 240

Trp Glu Tyr Pro Ser Ser Lys His Gln His Lys Lys Leu Val Asn Arg
245 250 255

Asp Leu Lys Thr Gln Ser Gly Ser Glu Met Lys Lys Phe Leu Ser Thr
260 265 270

Leu Thr Ile Asp Gly Val Thr Arg Ser Asp Gln Gly Leu Tyr Thr Cys
275 280 285

Ala Ala Ser Ser Gly Leu Met Thr Lys Lys Asn Ser Thr Phe Val Arg
290 295 300

Val His Glu Lys Pro Phe Val Ala Phe Gly Ser Gly Met Glu Ser Leu
305 310 315 320

Val Glu Ala Thr Val Gly Glu Arg Val Arg Ile Pro Ala Lys Tyr Leu
325 330 335

Gly Tyr Pro Pro Pro Glu Ile Lys Trp Tyr Lys Asn Gly Ile Pro Leu
340 345 350

Glu Ser Asn His Thr Ile Lys Ala Gly His Val Leu Thr Ile Met Glu
355 360 365

Val Ser Glu Arg Asp Thr Gly Asn Tyr Thr Val Ile Leu Thr Asn Pro
370 375 380

Ile Ser Lys Glu Lys Gln Ser His Val Val Ser Leu Val Val Tyr Val

385		390		395		400									
Pro	Pro	Gln	Ile	Gly	Glu	Lys	Ser	Leu	Ile	Ser	Pro	Val	Asp	Ser	Tyr
				405					410					415	
Gln	Tyr	Gly	Thr	Thr	Gln	Thr	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Tyr	Ala	Ile	Pro
			420					425					430		
Pro	Pro	His	His	Ile	His	Trp	Tyr	Trp	Gln	Leu	Glu	Glu	Glu	Cys	Ala
		435					440					445			
Asn	Glu	Pro	Ser	Gln	Ala	Val	Ser	Val	Thr	Asn	Pro	Tyr	Pro	Cys	Glu
	450					455					460				
Glu	Trp	Arg	Ser	Val	Glu	Asp	Phe	Gln	Gly	Gly	Asn	Lys	Ile	Glu	Val
465					470					475					480
Asn	Lys	Asn	Gln	Phe	Ala	Leu	Ile	Glu	Gly	Lys	Asn	Lys	Thr	Val	Ser
				485					490					495	
Thr	Leu	Val	Ile	Gln	Ala	Ala	Asn	Val	Ser	Ala	Leu	Tyr	Lys	Cys	Glu
			500					505					510		
Ala	Val	Asn	Lys	Val	Gly	Arg	Gly	Glu	Arg	Val	Ile	Ser	Phe	His	Val
		515					520					525			
Thr	Arg	Gly	Pro	Glu	Ile	Thr	Leu	Gln	Pro	Asp	Met	Gln	Pro	Thr	Glu
		530				535					540				
Gln	Glu	Ser	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Thr	Ala	Asp	Arg	Ser	Thr	Phe	Glu
545					550					555					560
Asn	Leu	Thr	Trp	Tyr	Lys	Leu	Gly	Pro	Gln	Pro	Leu	Pro	Ile	His	Val
				565					570					575	
Gly	Glu	Leu	Pro	Thr	Pro	Val	Cys	Lys	Asn	Leu	Asp	Thr	Leu	Trp	Lys
			580					585					590		
Leu	Asn	Ala	Thr	Met	Phe	Ser	Asn	Ser	Thr	Asn	Asp	Ile	Leu	Ile	Met
		595					600					605			

Glu Leu Lys Asn Ala Ser Leu Gln Asp Gln Gly Asp Tyr Val Cys Leu
610 615 620

- Ala Gln Asp Arg Lys Thr Lys Lys Arg His Cys Val Val Arg Gln Leu
625 630 635 640

Thr Val Leu Glu Arg Val Ala Pro Thr Ile Thr Gly Asn Leu Glu Asn
645 650 655

Gln Thr Thr Ser Ile Gly Glu Ser Ile Glu Val Ser Cys Thr Ala Ser
660 665 670

- Gly Asn Pro Pro Pro Gln Ile Met Trp Phe Lys Asp Asn Glu Thr Leu
675 680 685

● Val Glu Asp Ser Gly Ile Val Leu Lys Asp Gly Asn Arg Asn Leu Thr
690 695 700

Ile Arg Arg Val Arg Lys Glu Asp Glu Gly Leu Tyr Thr Cys Gln Ala
705 710 715 720

Cys Ser Val Leu Gly Cys Ala Lys Val Glu Ala Phe Phe Ile Ile Glu
725 730 735

Gly Ala Gln Glu Lys Thr Asn Leu Glu Ile Ile Ile Leu Val Gly Thr
740 745 750

Ala Val Ile Ala Met Phe Phe Trp Leu Leu Leu Val Ile Ile Leu Arg
755 760 765

● Thr Val Lys Arg Ala Asn Gly Gly Glu Leu Lys Thr Gly Tyr Leu Ser
770 775 780

Ile Val Met Asp Pro Asp Glu Leu Pro Leu Asp Glu His Cys Glu Arg
785 790 795 800

Leu Pro Tyr Asp Ala Ser Lys Trp Glu Phe Pro Arg Asp Arg Leu Lys
805 810 815

Leu Gly Lys Pro Leu Gly Arg Gly Ala Phe Gly Gln Val Ile Glu Ala
820 825 830

Asp Ala Phe Gly Ile Asp Lys Thr Ala Thr Cys Arg Thr Val Ala Val
835 840 845

Lys Met Leu Lys Glu Gly Ala Thr His Ser Glu His Arg Ala Leu Met
850 855 860

Ser Glu Leu Lys Ile Leu Ile His Ile Gly His His Leu Asn Val Val
865 870 875 880

Asn Leu Leu Gly Ala Cys Thr Lys Pro Gly Gly Pro Leu Met Val Ile
885 890 895

Val Glu Phe Cys Lys Phe Gly Asn Leu Ser Thr Tyr Leu Arg Ser Lys
900 905 910

Arg Asn Glu Phe Val Pro Tyr Lys Thr Lys Gly Ala Arg Phe Arg Gln
915 920 925

Gly Lys Asp Tyr Val Gly Ala Ile Pro Val Asp Leu Lys Arg Arg Leu
930 935 940

Asp Ser Ile Thr Ser Ser Gln Ser Ser Ala Ser Ser Gly Phe Val Glu
945 950 955 960

Glu Lys Ser Leu Ser Asp Val Glu Glu Glu Glu Ala Pro Glu Asp Leu
965 970 975

Tyr Lys Asp Phe Leu Thr Leu Glu His Leu Ile Cys Tyr Ser Phe Gln
980 985 990

Val Ala Lys Gly Met Glu Phe Leu Ala Ser Arg Lys Cys Ile His Arg
995 1000 1005

Asp Leu Ala Ala Arg Asn Ile Leu Leu Ser Glu Lys Asn Val Val
1010 1015 1020

Lys Ile Cys Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile Tyr Lys Asp Pro
1025 1030 1035

Asp Tyr Val Arg Lys Gly Asp Ala Arg Leu Pro Leu Lys Trp Met
1040 1045 1050

Ala	Pro	Glu	Thr	Ile	Phe	Asp	Arg	Val	Tyr	Thr	Ile	Gln	Ser	Asp
	1055					1060					1065			
Val	Trp	Ser	Phe	Gly	Val	Leu	Leu	Trp	Glu	Ile	Phe	Ser	Leu	Gly
	1070					1075					1080			
Ala	Ser	Pro	Tyr	Pro	Gly	Val	Lys	Ile	Asp	Glu	Glu	Phe	Cys	Arg
	1085					1090					1095			
Arg	Leu	Lys	Glu	Gly	Thr	Arg	Met	Arg	Ala	Pro	Asp	Tyr	Thr	Thr
	1100					1105					1110			
Pro	Glu	Met	Tyr	Gln	Thr	Met	Leu	Asp	Cys	Trp	His	Gly	Glu	Pro
	1115					1120					1125			
Ser	Gln	Arg	Pro	Thr	Phe	Ser	Glu	Leu	Val	Glu	His	Leu	Gly	Asn
	1130					1135					1140			
Leu	Leu	Gln	Ala	Asn	Ala	Gln	Gln	Asp	Gly	Lys	Asp	Tyr	Ile	Val
	1145					1150					1155			
Leu	Pro	Ile	Ser	Glu	Thr	Leu	Ser	Met	Glu	Glu	Asp	Ser	Gly	Leu
	1160					1165					1170			
Ser	Leu	Pro	Thr	Ser	Pro	Val	Ser	Cys	Met	Glu	Glu	Glu	Glu	Val
	1175					1180					1185			
Cys	Asp	Pro	Lys	Phe	His	Tyr	Asp	Asn	Thr	Ala	Gly	Ile	Ser	Gln
	1190					1195					1200			
Tyr	Leu	Gln	Asn	Ser	Lys	Arg	Lys	Ser	Arg	Pro	Val	Ser	Val	Lys
	1205					1210					1215			
Thr	Phe	Glu	Asp	Ile	Pro	Leu	Glu	Glu	Pro	Glu	Val	Lys	Val	Ile
	1220					1225					1230			
Pro	Asp	Asp	Asn	Gln	Thr	Asp	Ser	Gly	Met	Val	Leu	Ala	Ser	Glu
	1235					1240					1245			
Glu	Leu	Lys	Thr	Leu	Glu	Asp	Arg	Thr	Lys	Leu	Ser	Pro	Ser	Phe

1250

1255

1260

Gly Gly Met Val Pro Ser Lys Ser Arg Glu Ser Val Ala Ser Glu
1265 1270 1275

Gly Ser Asn Gln Thr Ser Gly Tyr Gln Ser Gly Tyr His Ser Asp
1280 1285 1290

Asp Thr Asp Thr Thr Val Tyr Ser Ser Glu Glu Ala Glu Leu Leu
1295 1300 1305

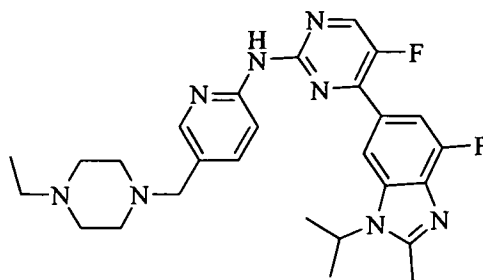
Lys Leu Ile Glu Ile Gly Val Gln Thr Gly Ser Thr Ala Gln Ile
1310 1315 1320

Leu Gln Pro Asp Ser Gly Thr Thr Leu Ser Ser Pro Pro Val
1325 1330 1335

申請專利範圍

105年08月24日修正本

1. 一種醫藥組合物，其包含有效量之化合物，與有效量之抗體，該抗體包含如SEQ ID NO: 2中所示胺基酸序列的輕鏈可變區(LCVR)及如SEQ ID NO: 4中所示胺基酸序列的重鏈可變區

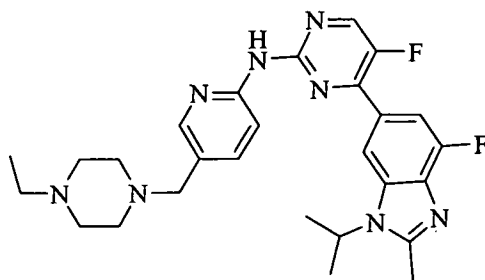


(HCVR)，其中該化合物係

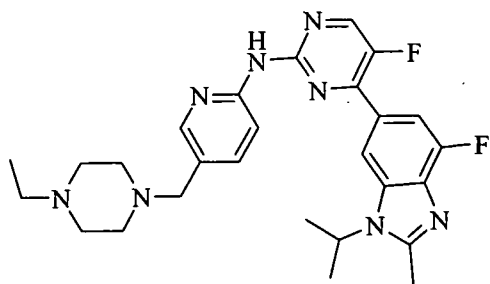
或其醫藥學

上可接受之鹽，且其中該抗體結合至VEGFR2。

2. 如請求項1之醫藥組合物，其中該化合物為



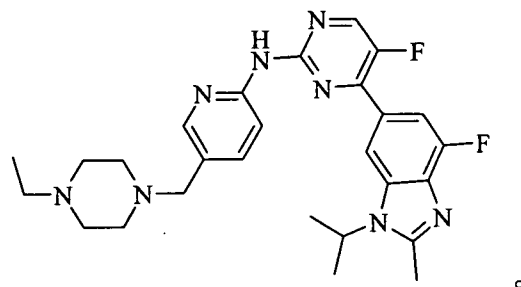
3. 如請求項2之醫藥組合物，其中該抗體包含如SEQ ID NO: 6中所示胺基酸序列的輕鏈及如SEQ ID NO: 8中所示胺基酸序列的重鏈，且該抗體結合至VEGFR2。
4. 如請求項3之醫藥組合物，其中該抗體為雷莫蘆單抗(ramucirumab)。
5. 一種套組，其包含化合物及抗體，該抗體包含如SEQ ID NO: 2所示胺基酸序列的輕鏈可變區(LCVR)及如SEQ ID NO: 4所示胺基酸序列的重鏈可變區(HCVR)，其中該化合物係



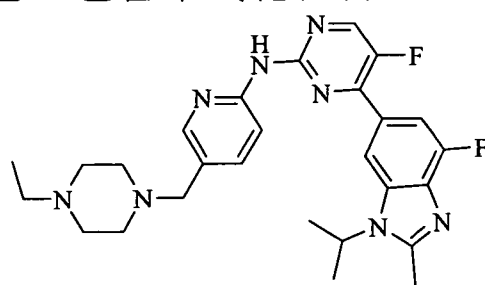
或其醫藥學上可接受之鹽，且其中該

抗體結合至VEGFR2。

6. 如請求項5之套組，其中該抗體包含如SEQ ID NO: 6中所示之胺基酸序列的輕鏈及如SEQ ID NO: 8中所示之胺基酸序列的重鏈，且該抗體結合至VEGFR2。
7. 如請求項6之套組，其中該抗體為雷莫蘆單抗(ramucirumab)。
8. 如請求項7之套組，其中該化合物為



9. 一種套組，其包含：包含下式化合物：



或其醫藥學上可接受之鹽及一或多種醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑之醫藥組合物；及包含雷莫蘆單抗(ramucirumab)及一或多種醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑之醫藥組合物。

10. 如請求項5至9中任一項之套組，其中該化合物或其鹽之投藥劑量為約100毫克/天至約400毫克/天之間，且雷莫蘆單抗之投藥劑

量為每三週投與一次約6 mg/kg至約10 mg/kg之間的劑量。

11. 如請求項10之套組，其中該化合物或其鹽用於經口投與且雷莫蘆單抗用於靜脈內投與。
12. 一種組合，其包含[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽及抗VEGFR2 Ab，供同時、單獨或依序用於治療NSCLC，其中該抗VEGFR2 Ab包含如SEQ ID NO: 2中所示胺基酸序列的輕鏈可變區(LCVR)及如SEQ ID NO: 4中所示胺基酸序列的重鏈可變區(HCVR)。
13. 如請求項12之組合，其中該抗VEGFR2 Ab為雷莫蘆單抗(ramucirumab)。
14. 一種如請求項1至4中任一項之醫藥組合物之用途，其係用於製造治療非小細胞肺癌之藥物。
15. 一種[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽之用途，其係用於製造與抗VEGFR2 Ab併用以治療非小細胞肺癌之藥物，其中該抗VEGFR2 Ab包含如SEQ ID NO: 2中所示胺基酸序列的輕鏈可變區(LCVR)及如SEQ ID NO: 4中所示胺基酸序列的重鏈可變區(HCVR)。
16. 一種抗VEGFR2 Ab之用途，其係用於製造與[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-2-基]-[5-氟-4-(7-氟-3-異丙基-2-甲基-3H-苯并咪唑-5-基)-嘧啶-2-基]-胺或其醫藥學上可接受之鹽併用以治療非小細胞肺癌之藥物，其中該抗VEGFR2 Ab包含如SEQ ID NO: 2中所示胺基酸序列的輕鏈可變區(LCVR)及如SEQ ID NO: 4中所示胺基酸序列的重鏈可變區(HCVR)。
17. 如請求項15或16之用途，其中該抗VEGFR2 Ab為雷莫蘆單抗(ramucirumab)。