



(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 I798218 B

(45)公告日：中華民國 112 (2023) 年 04 月 11 日

(21)申請案號：107114676

(22)申請日：中華民國 107 (2018) 年 04 月 30 日

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

A61K45/06 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2017/05/02 美國

62/500,108

2018/04/12 美國

62/656,423

(71)申請人：瑞士商諾華公司 (瑞士) NOVARTIS AG (CH)

瑞士

(72)發明人：庫克 凡瑟莉娜 COOKE, VESSELINA (BG)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

WO 2014151616A1

網路文獻 S. R. WHITTAKER ET AL, "Combined Pan-RAF and MEK Inhibition Overcomes Multiple Resistance Mechanisms to Selective RAF Inhibitors", MOLECULAR CANCER THERAPEUTICS, US, (20151201), vol. 14, no. 12, pages 2700 - 2711

審查人員：陳璦如

申請專利範圍項數：18 項 圖式數：21 共 96 頁

(54)名稱

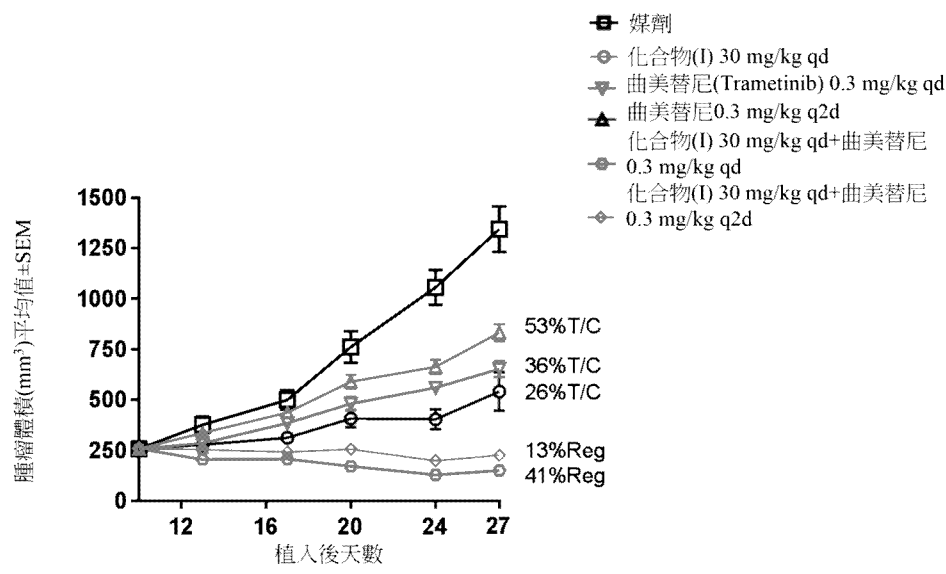
組合療法

(57)摘要

本發明係關於一種醫藥組合，其包含(a)如本文中所定義之 Raf 抑制劑或其醫藥學上可接受之鹽及(b) MEK 抑制劑，尤其曲美替尼，尤其用於治療增生性疾病。本發明亦關於此類組合用於製備用於治療增生性疾病之藥劑之用途；治療有需要個體之增生性疾病之方法，其包含向該個體投與聯合治療有效量之該組合；此類組合用於治療增生性疾病之用途；包含此類組合之醫藥組合物及其市售套裝。

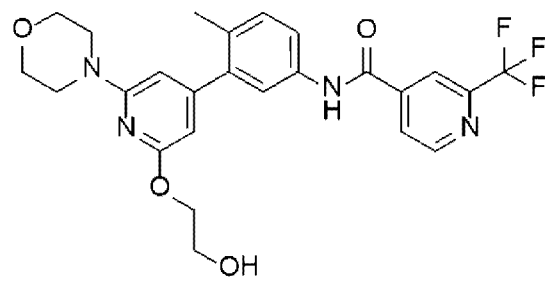
The present invention relates to a pharmaceutical combination comprising (a) a Raf inhibitor as defined herein, or a pharmaceutically acceptable salt thereof and (b) a MEK inhibitor, particularly trametinib, particularly for use in the treatment of a proliferative disease. This invention also relates to uses of such combination for preparation of a medicament for the treatment of a proliferative disease; methods of treating a proliferative disease in a subject in need thereof comprising administering to said subject a jointly therapeutically effective amount of said combination; use of such combination for the treatment of proliferative disease; pharmaceutical compositions comprising such combination and commercial packages thereto.

指定代表圖：



【圖5】

特徵化學式：



(I)



I798218

【發明摘要】

【中文發明名稱】

組合療法

【英文發明名稱】

COMBINATION THERAPY

【中文】

本發明係關於一種醫藥組合，其包含(a) 如本文中所定義之Raf抑制劑或其醫藥學上可接受之鹽及(b) MEK抑制劑，尤其曲美替尼，尤其用於治療增生性疾病。本發明亦關於此類組合用於製備用於治療增生性疾病的藥劑之用途；治療有需要個體之增生性疾病之方法，其包含向該個體投與聯合治療有效量之該組合；此類組合用於治療增生性疾病之用途；包含此類組合之醫藥組合物及其市售套裝。

【英文】

The present invention relates to a pharmaceutical combination comprising (a) a Raf inhibitor as defined herein, or a pharmaceutically acceptable salt thereof and (b) a MEK inhibitor, particularly trametinib, particularly for use in the treatment of a proliferative disease. This invention also relates to uses of such combination for preparation of a medicament for the treatment of a proliferative disease; methods of treating a proliferative disease in a subject in need thereof comprising administering to said subject a jointly therapeutically effective amount of said combination; use of such combination for the treatment of proliferative disease; pharmaceutical compositions comprising such combination and commercial packages thereto.

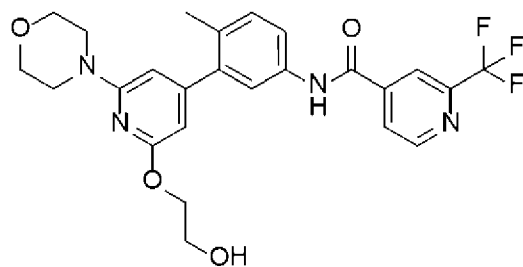
【指定代表圖】

圖5

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】



(I)

【發明說明書】

【中文發明名稱】

組合療法

【英文發明名稱】

COMBINATION THERAPY

【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種醫藥組合，其包含(a) Raf抑制劑，其選自由以下組成之群：如本文中所定義之式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽或如本文中所定義之式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽；及(b) MEK抑制劑，尤其曲美替尼(trametinib)或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物。本發明亦關於一種醫藥組合，其包含(a) Raf抑制劑，其選自由以下組成之群：如本文中所定義之式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽或如本文中所定義之式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物。

【0002】 本發明亦關於此類組合用於治療增生性疾病，尤其癌症之用途、此類組合用於製備用於治療增生性疾病，尤其癌症之藥劑之用途；治療有需要之個體之增生性疾病，尤其癌症之方法，其包含向該個體投與聯合治療有效量之該等組合；此類組合用於治療增生性疾病，尤其癌症之用途；包含此類組合之醫藥組合物及其市售套裝。

【0003】 本發明亦關於如本文中所定義之式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽或如本文中所定義之式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽用於與MEK抑制劑，尤其曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物用於組合療法。本發明亦提供MEK抑制劑，尤其曲美替尼或其醫藥學

上可接受之鹽或溶劑合物與如本文中所定義之式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽用於組合療法，或與如本文中所定義之式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽用於組合療法。

【先前技術】

【0004】 RAS/RAF/MEK/ERK或MAPK路徑係驅動細胞增生、分化及存活之關鍵傳訊級聯。腫瘤形成之許多實例係由於此路徑之調節異常引起。此路徑藉由胞外信號激活，繼而引發小G蛋白RAS將GDP轉換為GTP。活化的RAS小胍三磷酸酶(GTP酶)促進RAF(本文中亦稱為「Raf」)家族蛋白(ARAF、BRAF及CRAF，亦稱為RAF1)之活化。活化的RAF蛋白質引起MEK1/2蛋白之磷酸化及活化，其隨後磷酸化且活化胞外信號調節激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)。ERK1/2蛋白磷酸化各種受質，其包括多個轉錄因子，且調節關鍵細胞活動，包括增生、分化、遷移、存活及血管生成。

【0005】 已在多個腫瘤類型(包括黑素瘤、肺癌及胰臟癌)中顯示出MAPK路徑之異常傳訊或不當激活，且可經由若干不同機制發生，其包括激活RAS及BRAF(V-Raf 鼠類肉瘤病毒致癌基因同源物B1)之突變。屬於GTP酶之超家族的RAS包括KRAS(v-Ki-ras2 Kirsten大鼠肉瘤病毒致癌基因同源物)，其係可藉由各種單點突變(其被稱為功能獲得型突變)開啟的(活化的)經調節的傳訊蛋白。已在所有癌症之9-30%中偵測到RAS突變，尤其功能獲得型(gain-of-function, GOF)突變，其中KRAS突變最普遍(86%)，其次NRAS(11%)，以及不太常見的HRAS(3%)(Cox AD等人, *Nat Rev Drug Discov* 2014;13(11):828-51)。活化KRAS突變亦常見於黑素瘤(Fedorenko IV等人, *Br J Cancer* 2015;112(2):217-26)、胰臟癌(di

Magliano MP & Logsdon CD, *Gastroenterology* 2013;144(6):1220-9)、結腸直腸癌(Knickelbein K & Zhang L, *Genes Dis* 2015;2(1):4-12)及卵巢癌(Nakayama N等人, *Br J Cancer* 2008;99(12):2020-8)中。

【0006】 在RAS驅動腫瘤中，靶向RAS之下游效應子之抑制劑，諸如RAF、MEK及ERK激酶，未顯示出顯著臨床活性。舉例而言，RAF抑制劑(諸如維羅非尼(vemurafenib))在BRAF^{V600}突變黑素瘤中有效，在RAS突變癌症中無效。由此目前不存在KRAS突變腫瘤及NRAS突變腫瘤之有效療法。特定言之，與BRAF突變黑素瘤不同，對於NRAS突變黑素瘤患者不存在審批通過的靶向療法。來自MEK1/2抑制劑之試驗之近期資料顯示出無進展存活率之小幅增加但此等患者中之總存活率無改善(Dummer等人, *Lancet Oncol*, 18, 435-445, 2017)。

【0007】 儘管已證明MAPK抑制劑之一些垂直組合有利，並不總能預測出可能組合之各種排列中之任一者是否將具有臨床效益。舉例而言，最近報告MEK抑制劑考比替尼(cobimetinib)與ERK1/2抑制劑GDC-0994之組合引起重疊及累積毒性，據作者稱，將限制此特定組合之進一步發展。(Weekes等人2017, Abstract CT107: AACR Annual Meeting 2017; 4月1-5, 2017 Combinations)

【0008】 肺癌係影響全球男性及女性之一類常見癌症。NSCLC係肺癌之最常見的類型(大致85%)，約70%之此類患者在診斷時呈現出重病(階段IIIB或階段IV)。約30%之NSCLC腫瘤含有活化KRAS突變，且此等突變與對表皮成長因子受體酪胺酸激酶抑制劑(epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, EGFR TKI)之耐藥性相關(Pao W等人, *PLoS Med* 2005;2(1):e17)。迄今，除V600E以外無審批通過的靶向療

法可供用於患有具有KRAS突變之NSCLC及具有BRAF突變之NSCLC的患者。

【0009】 黑素瘤係影響全球男性及女性之一類常見癌症。50%之轉移性皮膚黑素瘤患者具有BRAF活化突變且20%之此等患者具有NRAS活化突變(Zhang等人, *Pigment Cell Melanoma Res* 2016; 29:266-283)。NRAS突變被鑑別為在階段IV黑素瘤之診斷之後較短存活之獨立預報因子(Jakob JA等人(2012), *Cancer*, 第118卷, 第16期, 第4014-4023頁)。

【0010】 因此KRAS及NRAS之直接抑制仍具有挑戰性且迄今無審批通過的靶向療法可供用於患有KRAS突變癌症(諸如KRAS突變NSCLC)及NRAS突變癌症(諸如NRAS突變黑素瘤)的患者。因此，需要安全具有良好耐受性及/或伴有較少不利副作用的靶向療法(諸如皮疹)。亦需要在臨床環境中引起持久及持續反應的療法。

【發明內容】

【0011】 現已發現MEK抑制劑與選擇性Raf抑制劑，諸如如本文中所述之式(I)之化合物，之組合，其強力抑制CRAF及BRAF之活性，可能在阻斷BRAF突變腫瘤及RAS突變驅動的腫瘤形成方面有效。發現式(I)之化合物與曲美替尼之組合在MAPK突變癌細胞株，諸如NRAS突變細胞株及KRAS突變細胞株中有協同效應。基於本文中所描述之研究結果，Raf抑制劑，尤其諸如式(I)之化合物之CRAF及BRAF抑制劑，與MEK抑制劑，諸如曲美替尼之組合可能對於患有RAS突變腫瘤之患者尤其有效且不容易發生耐藥性。

【0012】 在人類KRAS突變NSCLC、CRC及PDAC異種移植模型及人類NRAS突變黑素瘤異種移植模型中，式(I)之化合物與曲美替尼之組合

相比於任一單一藥劑療法亦顯示增加的抗腫瘤反應。在人類HPAFII胰臟異種移植小鼠模型中，式(II)之化合物與曲美替尼之組合相比於任一單一藥劑療法顯示增加的腫瘤反應之功效。因此，單獨及與MEK抑制劑組合之式(I)之化合物或式(II)之化合物可能適用於治療患有具有MAPK路徑改變之癌症的患者。此類癌症包括KRAS突變NSCLC（非小細胞肺癌）、KRAS突變胰臟癌（例如KRAS突變胰管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)、KRAS突變CRC（結腸直腸癌）及NRAS突變黑素瘤）。

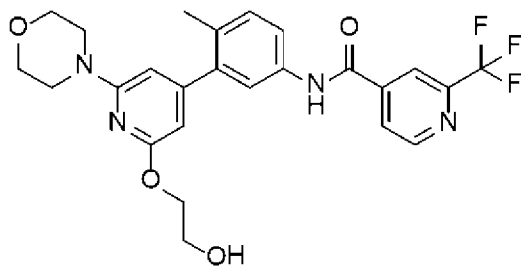
【0013】 因此本發明提供一種醫藥組合物，其包含(a) Raf抑制劑，其選自由以下組成之群：(i)如本文中所定義之式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及(ii)如本文中所定義之式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽；及(b) MEK抑制劑，尤其曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物。本發明亦提供此類組合用於治療增生性疾病。

【0014】 此外，本發明提供：

【0015】 (a) Raf抑制劑，其選自由以下組成之群：(i)如本文中所定義之式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及(ii)如本文中所定義之式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，用於與MEK抑制劑，尤其係曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物用於組合療法；及

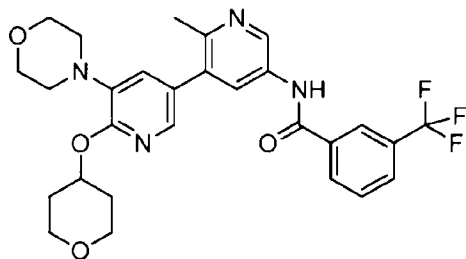
【0016】 (b) MEK抑制劑，尤其曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物，用於與Raf抑制劑用於組合療法，該Raf抑制劑選自由以下組成之群：(i)如本文中所定義之式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及(ii)如本文中所定義之式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽。

【0017】 式(I)之化合物係具有以下結構之化合物：



(I)。

【0018】 式(II)之化合物係具有以下結構之化合物：



(II)。

【0019】 本發明另外提供一種醫藥組合，其包含如本文中所定義之Raf抑制劑化合物或其醫藥學上可接受之鹽，及MEK抑制劑，較佳曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑，尤其用於在增生性疾病之治療中同時、分別或依序使用。

【0020】 在另一較佳實施例中，本發明之醫藥組合包含(a) Raf抑制劑式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，及(b)曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑化合物，尤其其溶劑化合物。

【0021】 在另一較佳實施例中，本發明之醫藥組合包含(a) Raf抑制劑式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，及(b)曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑化合物，尤其其溶劑化合物。

【0022】 本發明尤其關於本發明之組合用於特徵為MAPK路徑之活化突變，且尤其為RAS（例如KRAS或NRAS）及/或BRAF之一或多個突變之癌症之治療。

【0023】 本發明亦提供本發明之組合用於治療增生性疾病，尤其癌

症之用途。特定言之，本發明之組合可能適用於治療非小細胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)、黑素瘤、胰管腺癌(PDAC)、子宮頸癌、卵巢癌或結腸直腸癌(colorectal cancer, CRC)。

【0024】 本發明亦提供本發明之組合用於製備用於治療增生性疾病，尤其癌症之藥劑之用途。

【0025】 本發明亦提供一種治療增生性疾病之方法，其包含以針對該增生性疾病聯合治療有效之量向有需要之個體同時、分別或依序投與本發明之組合。

【0026】 本發明亦提供一種醫藥組合物或組合製劑，其包含一定量之本發明之組合，其針對增生性疾病聯合治療有效，及視情況至少一種醫藥學上可接受之載劑。

【0027】 本發明亦提供一種組合製劑，其包含(a)一或多個劑量單位之Raf抑制劑，其選自由以下組成之群：(i)式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，及(ii)式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽；及(b)一或多個劑量單位之MEK抑制劑，較佳曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物，用於治療增生性疾病。

【0028】 本發明亦提供一種市售套裝，其包含作為活性成分之本發明之組合及用於向有需要之患者同時、分別或依序投與本發明之組合用於治療增生性疾病，較佳非小細胞肺癌(NSCLC)、黑素瘤、胰管腺癌(PDAC)、子宮頸癌、卵巢癌或結腸直腸癌(CRC)的說明書。

【0029】 本發明亦提供一種市售套裝，其包含Raf抑制劑，其選自由以下組成之群：(i)式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，及(ii)式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽；及用於在增生性疾病之治療中與

MEK抑制劑，較佳曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物同時、分別或依序使用的說明書。

【0030】在下文中更詳細地描述本發明之各種態樣。其他定義闡述於整個說明書中。

【圖式簡單說明】

【0031】

圖1至圖4.在圖1)中，式(I)之化合物，Calu-6 (KRAS(Q61K)突變)，圖2) NCI-H358 (KRAS(G12C)突變)，圖3) HLUX1156 (KRAS(G12C)突變)及圖4) NCI-H727 (KRAS(G12V)突變)異種移植肺癌腫瘤小鼠模型。具有皮下異種移植物之動物如所指示地接受式(I)之化合物之處理。如所指示地每天一次(qd或QD)、每天兩次(bid或BID)或每隔一天(q2d或Q2D)經口投與(PO)化合物。藉由評估處理組中之腫瘤體積相對於媒劑處理組中之腫瘤體積之百分比(% T/C)或腫瘤消退(亦即，治療後腫瘤之體積相比於起始體積之百分比(%消退))(在圖1至圖4中表示為「% Reg」或「-% Reg」)來測定抗腫瘤活性。SEM=平均值之標準誤差，PBS=磷酸鹽緩衝鹽水。

圖5及圖6描繪組合使用之式(I)之化合物與MEK抑制劑曲美替尼在小鼠之Calu-6異種移植腫瘤模型中之功效。具有Calu-6皮下異種移植物之動物如所指示地接受式(I)之化合物及/或曲美替尼之處理。顯示反應之深度(圖5)及持久性(圖6)。如所指示地每天一次(qd)或每隔一天(q2d)經口投與化合物。藉由評估處理組中之腫瘤體積相對於媒劑處理組中之腫瘤體積之百分比(% T/C)或相比於起始體積之腫瘤消退之百分比(%消退，在圖2A至圖2B中表示為「% Reg」)來測定抗腫瘤活性。

圖7. 用指示濃度之DMSO、達拉非尼(dabrafenib)或式(II)之化合物處理具有不同BRAF或RAS突變之細胞株2小時。藉由西方墨點分析量測MEK或ERK磷酸化之抑制。式(II)之化合物以最小反常活化抑制具有BRAF、NRAS或KRAS突變之腫瘤細胞中之致癌傳訊及增生。

圖8. 測定在用達拉非尼(上圖)或式(II)之化合物(下圖)處理5天之後之細胞株之生長抑制。

圖9. 在抑制劑治療3天之後藉由式(II)之化合物或達拉非尼之357人類癌細胞株中之生長抑制之IC₅₀值的點圖。虛線代表5 μM之IC₅₀，其用作對抑制劑敏感之細胞株之截止。在BRAF突變、KRAS突變、NRAS突變或野生型(wild-type, WT)細胞中對各抑制劑敏感及具有耐藥性之細胞株之數目如下展示於在圖中。進行費雪精確測試(Fisher's Exact Test)以測定相對於WT細胞株之BRAF或RAS突變細胞株中之抑制劑活性之統計顯著性。

圖10. 在Calu-6腫瘤攜帶動物中在給藥單一劑量之媒劑或增加的劑量之式(II)之化合物之後在所指示時間點收集腫瘤樣品以測定磷酸化MEK(pMEK)含量。pMEK含量表示為在各時間點相比於媒劑對照組處理組中之pMEK/總MEK之比率。

圖11. 在用媒劑或四個劑量含量上之式(II)之化合物處理之後量測Calu-6腫瘤異種移植物生長抑制。腫瘤體積表示為每個處理組6個動物之平均腫瘤體積±平均值之標準誤差(standard error of the mean, SEM)。具有Calu-6皮下異種移植物之動物如所指示地接受式(II)之化合物之處理。每天一次(qd)投與式(II)之化合物。藉由評估處理組中之腫瘤體積相對於媒劑處理組中之腫瘤體積之百分比(% T/C)或相比於起始體積之腫瘤消退

之百分比(%消退，在圖11中表示為「% Reg」)來測定抗腫瘤活性。

圖 12. 在一組 23 NSCLC 患者衍生之異種移植物(patient derived xenograft, PDX)模型中評估式(II)之化合物之活體內抗腫瘤活性，展示為在量測時之腫瘤體積相比於初始腫瘤體積之改變%，正值指示腫瘤生長且負值指示腫瘤消退。每天一次以 60 mg/kg 或 200 mg/kg 經口給藥式(II)之化合物(藉由▼指示)。針對 BRAF 或 RAS 突變狀況標註各腫瘤。將一組 NSCLC PDX 模型對太平洋紫杉醇之腫瘤反應包括在內用於比較。GOF= 功能獲得型，WT=野生型。

圖 13. 評估在 HPAF-II (KRAS(G12D 突變)胰腺衍生細胞中式(II)之化合物與曲美替尼之抗增生組合活性。左上圖：代表在處理 5 天之後，相對於 DMSO，藉由式(II)之化合物、曲美替尼及組合之生長抑制之百分比的劑量矩陣。右上圖：使用洛伊模型(Loewe model)之代表兩個單一藥劑之組合效果與計算得的相加效果之間之偏差的過量抑制值。指示計算得的洛伊協同分值。下圖：劑量矩陣資料之等效線圖分析，深灰色線代表資料點且淺灰色線表示相加性。指示 50% 生長抑制下之計算得的洛伊組合指數(Combination Index, CI)。

圖 14. 在 HPAF-II 異種移植模型中作為單一藥劑或組合之式(II)之化合物與曲美替尼之活體內活性。在單次給藥處理之後藉由 *DUSP6* (雙特異性磷酸酶 6) mRNA 含量量測之傳訊抑制。此外，可藉由監測指示 MAP 激酶路徑抑制之生物標記來確定有效劑量。特定言之，*DUSP6* 係此路徑之已知生物標記，且已顯示回應於式(II)之化合物，*DUSP6* 之活體內含量下降，其與式(II)之化合物之有效血漿含量相關。

DUSP6 含量表示為在正規化以控制基因 *RPLPO* 之後與媒劑組相比之

改變百分比。

圖15. 在HPAF-II異種移植模型中作為單一藥劑或組合之式(II)之化合物與曲美替尼之活體內活性。所示之在處理十天後之活體內腫瘤生長。每天一次(qd)投與化合物。藉由評估處理組中之腫瘤體積相對於媒劑處理組中之腫瘤體積之百分比(% T/C)或相比於起始體積之腫瘤消退之百分比(%消退，在圖15中表示為「% Reg」)來測定抗腫瘤活性。

圖16. 在HCT116異種移植模型中作為單一藥劑或組合之式(I)之化合物(圖中之化合物I)與曲美替尼之活體內活性。所示之在處理十七天後之活體內腫瘤生長。每天一次(qd)或每隔一天(q2d)投與化合物。藉由評估處理組中之腫瘤體積相對於媒劑處理組中之腫瘤體積之百分比(% T/C)或相比於起始體積之腫瘤消退之百分比(%消退，在圖16中表示為「% Reg」)來測定抗腫瘤活性。

圖17. 在2043異種移植模型中作為單一藥劑或組合之式(I)之化合物(圖中之化合物I)與曲美替尼之活體內活性。所示之在處理21天後之活體內腫瘤生長。每天一次(qd)或每隔一天(q2d)投與化合物。藉由評估處理組中之腫瘤體積相對於媒劑處理組中之腫瘤體積之百分比(% T/C)或相比於起始體積之腫瘤消退之百分比(%消退，在圖17中表示為「% Reg」)來測定抗腫瘤活性。

圖18. 在SKMEL30異種移植模型中作為單一藥劑或組合之式(I)之化合物(圖中之化合物I)與曲美替尼之活體內活性。所示之在處理22天後之活體內腫瘤生長。每天一次(qd)或每天兩次(bid)投與化合物。藉由評估處理組中之腫瘤體積相對於媒劑處理組中之腫瘤體積之百分比(% T/C)或相比於起始體積之腫瘤消退之百分比(%消退，在圖18中表示為「% Reg」)

來測定抗腫瘤活性。

圖19. 在20667異種移植模型中作為單一藥劑或組合之式(I)之化合物(圖中之化合物I)與曲美替尼之活體內活性。所示之在處理(單一藥劑)17天後及組合治療31天後之活體內腫瘤生長。每天一次(qd)或每天兩次(bid)投與化合物。藉由針對單一藥劑評估在第34天處理組中之腫瘤體積相對於媒劑處理組中之腫瘤體積之百分比(% T/C)，或針對組合評估在第48天相比於起始體積之腫瘤消退之百分比(%消退，在圖19中表示為「% Reg」)來測定抗腫瘤活性。

圖20. 在21124異種移植模型中作為單一藥劑或組合之式(I)之化合物(圖中之化合物I)與曲美替尼之活體內活性。所示之在處理21天後之活體內腫瘤生長。每天一次(qd)或每天兩次(bid)投與化合物。藉由評估處理組中之腫瘤體積相對於媒劑處理組中之腫瘤體積之百分比(% T/C)或相比於起始體積之腫瘤消退之百分比(%消退，在圖20中表示為「% Reg」)來測定抗腫瘤活性。

圖21. 在20864異種移植模型中作為單一藥劑或組合之式(I)之化合物(圖中之化合物I)與曲美替尼之活體內活性。所示之在處理(單一藥劑)14天後及組合治療36天後之活體內腫瘤生長。每天一次(qd)或每天兩次(bid)投與化合物。藉由針對單一藥劑評估在第33天處理組中之腫瘤體積相對於媒劑處理組中之腫瘤體積之百分比(% T/C)，或針對組合評估在第55天相比於起始體積之腫瘤消退之百分比(%消退，在圖21中表示為「% Reg」)來測定抗腫瘤活性。

【實施方式】

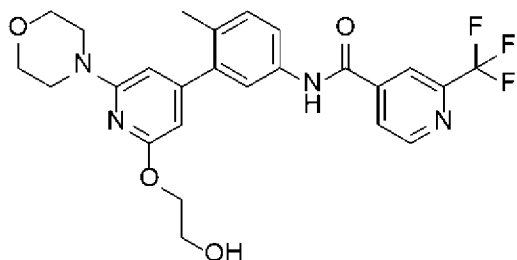
【0032】 本發明係關於一種醫藥組合，其包含(a) Raf抑制劑，其選

自由以下組成之群：(i)如本文中所定義之式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，及(ii)如本文中所定義之式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽；及(b) MEK抑制劑，尤其用於治療增生性疾病。

【0033】如本文中所使用，術語「Raf抑制劑」係指選擇性靶向、降低或抑制絲胺酸/蘇胺酸-蛋白激酶B-Raf或C-Raf之至少一種活性之B-Raf蛋白激酶(在本文中亦稱為b-RAF、BRAF或b-Raf)及C-Raf蛋白激酶(在本文中亦稱為c-RAF、CRAF或c-Raf)之三磷酸腺苷(ATP)競爭性抑制劑。Raf抑制劑優先抑制Raf單體及Raf二聚體。

【0034】如本文中所使用，Raf抑制劑選自由以下組成之群：(i)如本文中所定義之式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，及(ii)如本文中所定義之式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽。

【0035】式(I)之化合物具有以下結構：

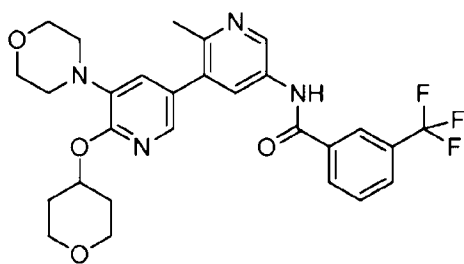


(I)。

【0036】為方便起見，該化合物及其鹽之群統稱為「式(I)之化合物」或「化合物(I)」意指對「式(I)之化合物」或「化合物(I)」之指代將係指替代方案中之化合物或其醫藥學上可接受之鹽中之任一者。

【0037】Raf抑制劑式(I)之化合物及其醫藥學上可接受之鹽描述於WO2014/151616中，其以全文引用之方式併入本文中，且其製備之方法已描述於例如其中之實例1156中。

【0038】式(II)之化合物具有以下結構：



(II)。

【0039】 為方便起見，該化合物及其鹽之群統稱為「式(II)之化合物」或「化合物(II)」意指對「式(II)之化合物」或「化合物(II)」之指代將係指替代方案中之化合物或其醫藥學上可接受之鹽中之任一者。

【0040】 Raf抑制劑式(II)之化合物及其醫藥學上可接受之鹽描述於WO2014/151616中，其以全文引用之方式併入本文中，且其製備之方法已描述於例如其中之實例131中。

【0041】 在基於細胞的分析中，Raf抑制劑式(I)之化合物及式(II)之化合物在含有活化MAPK傳訊之各種突變之細胞株內顯示抗增生活性。在活體內，在若干包括NSCLC衍生之Calu-6 (KRAS Q61K)及NCI-H358 (KRAS G12C)之KRAS突變模型中，用式(I)之化合物或式(II)之化合物處理產生腫瘤消退。總體而言，所觀測到之良好耐受劑量下之式(I)之化合物或式(II)之化合物之活體外及活體內MAPK路徑抑制及抗增生活性表明式(I)之化合物或式(II)之化合物在患有具有MAPK路徑中之活化病變之腫瘤之患者內可能具有抗腫瘤活性。而且，式(I)之化合物及式(II)之化合物係B-Raf及C-Raf之2型ATP競爭性抑制劑，其使激酶袋保持呈非活性構形，由此減少在多種B-Raf抑制劑中可見之反常活化且阻斷突變Ras驅動傳訊及細胞增生。式(I)之化合物及式(II)之化合物在多種MAPK驅動人類癌細胞株及代表具有KRAS、NRAS及BRAF致癌基因中之人類病變之模型腫瘤的異種移植腫瘤中展現功效。

【0042】 本發明之醫藥組合另外包含MEK抑制劑。本文所定義之術語「MEK抑制劑」係指靶向、減少或抑制MAP/ERK激酶1及2 (MEK1/2)之至少一種活性之化合物。

【0043】 用於本發明組合之適合MEK抑制劑包括但不限於

a) 曲美替尼(N-(3-{3-環丙基-5-[(2-氟-4-碘苯基)胺基]-6,8-二甲基-2,4,7-三側氧基-3,4,6,7-四氫吡啶并[4,3-d]嘧啶-1(2H)-基}苯基)乙醯胺)，亦稱為JPT-74057或GSK1120212，或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物。曲美替尼揭示於PCT公開案第WO 2005/121142號中之實例4-1中，其以全文引用之方式併入本文中。由於單一療法曲美替尼已審批通過用於治療具有B-Raf V600E或V600K突變之不可切除性或轉移性惡性黑色素瘤，且該化合物可以商標名Mekinist®購自諾華AG (Novartis AG)。

b) PD0325901 (輝瑞(Pfizer))(揭示於PCT公開案第WO02/06213號中)；PD184352 (輝瑞)；瑞法替尼(Refametinib)(亦稱為RDEA119或Bay 86-9766)；考比替尼亦稱為XL518且可以商標名Cotellic®購自羅氏(Roche)；AS-701255 (默克雪蘭諾(Merck Serono))；AS-701173 (默克雪蘭諾)；皮馬瑟替(Pimasertib)亦稱為AS-703026或MSC1936369B (默克雪蘭諾)；RDEA436 (Ardea Biosciences)；RO4987655，亦稱為RG 7167 (羅氏)及/或RG7420，亦稱為GDC-0623 (羅氏)，或其醫藥學上可接受之鹽。

【0044】 較佳地，MEK抑制劑為曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物。在一些較佳實施例中，曲美替尼呈二甲亞砷溶劑合物之形式。在一些實施例中，曲美替尼呈鈉鹽之形式。適合地，曲美替尼呈選自以下之溶劑合物之形式：水合物、乙酸、乙醇、硝基甲烷、氯苯、1-戊

醇、異丙醇、乙二醇及3-甲基-1-丁醇。此等溶劑合物及鹽形式可由熟習此項技術者根據WO 2005/121142中之描述製備。

【0045】 本發明另外關於一種醫藥組合，其包含(a)Raf抑制劑，其選自由以下組成之群：(i)如本文中所定義之式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，及(ii)如本文中所定義之式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽；及(b) MEK抑制劑，尤其用於在增生性疾病之治療中同時、分別或依序使用。

【0046】 所選擇之術語定義於下文及整個本申請案中。本發明之化合物使用標準命名法描述。除非另外定義，否則本文所用之所有技術及科學術語均具有與本發明所屬領域之熟習此項技術者通常所理解之相同之含義。除非另外規定，否則在本說明書中應應用以下一般定義：

【0047】 如本文所使用之術語「本發明之組合」係指由以下組成之組合投與：(a) Raf抑制劑，其選自由以下組成之群：(i)如本文中所定義之式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及(ii)如本文中所定義之式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽；及(b) MEK抑制劑，尤其曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物。可根據本發明組合使用Raf抑制劑式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及MEK抑制劑，較佳曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物，或Raf抑制劑式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及MEK抑制劑，較佳曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物，藉由以包括兩種化合物之一體式醫藥組合物形式同時投與。替代地，組合可以各自包括Raf抑制劑及MEK抑制劑中之一者之獨立醫藥組合物之形式，以例如首先投與Raf抑制劑或MEK抑制劑且其次投與另一個之依序方式分別投與。此類依序投與可以時間間隔很近(例如同時)或時間間

隔很遠。

【0048】 除非另外規定或與上下文明顯矛盾，否則如本文中所使用，使用術語「一(a/an)」及「該(the)」以及類似指代應理解為涵蓋單數及複數。當複數形式用於化合物、鹽及類似者時，此亦意謂單個化合物、鹽或類似者。

【0049】 除非本文另外清楚指示，否則術語「或」在本文中用以意謂術語「及/或」且可與術語「及/或」互換地使用。

【0050】 「約」及「大致」一般應意謂鑒於量測值之性質或精確度，所量測之量之可接受之誤差程度。例示性誤差程度在指定值或值範圍之20百分(%)內，典型地在10%內，且更典型地在5%內。當將本文中之劑描述為「約」特定量時，實際劑量可在所陳述量之至多10%內變化：「約」之此用法表示由於各種原因給定劑型中之精確量可與預定量略微不同而不會顯著地影響所投與的化合物之活體內效果。

【0051】 當將本文中之劑量描述為特定量，亦即而術語「約」時，實際劑量可在所陳述量之至多10% (較佳至多5%)內變化：此用法表示由於各種原因給定劑型中之精確量可與預定量略微不同而不會顯著地影響所投與的化合物之活體內效果。

【0052】 除非另外指出，否則術語「包含」及「包括」在本文中以其開放性及非限制性意義使用。

【0053】 「組合」或「與……組合」不意欲暗示療法或治療劑必須同時物理上混合或投與及/或經調配以一起傳遞，儘管此等傳遞方法屬於本文中所描述之範疇內。此等組合中之治療劑可與一或多種其他療法或治療劑並行投與、在其之前投與或在其之後投與。治療劑可按任何次序投

與。一般而言，各藥劑將以針對該藥劑所確定之劑量及/或時間表來投與。另外應理解，此組合中所採用之其他治療劑可在單一組合物中一起投與或在不同組合物中分別投與。一般而言，吾人預期組合中所使用之其他治療劑以不超過其單獨使用量之量使用。在一些實施例中，組合中之用量將低於作為單一藥劑治療劑之用量。

【0054】 本發明之組合具有治療或保護功能或二者。舉例而言，此等分子可投與人類個體，來治療及/或防止各種病症，諸如如本文中所描述之癌症。

【0055】 如本文中所使用之術語「組合」、「治療組合」或「醫藥組合」係指呈一個單位劑型之固定組合或非固定組合或用於組合投與之分部分之套組，其中兩種或更多種治療劑可在時間間隔內一起、同時或分別投與，尤其在此等時間間隔允許組合搭配物展示合作(例如，協同)效應之情況下。

【0056】 術語「組合療法」係指投與兩種或更多種治療劑來治療本發明中所描述之治療性病況或病症。此類投與涵蓋以實質上同步之方式，諸如以具有固定活性成分比之單一調配物或以針對各活性成分之獨立調配物(例如，膠囊及/或靜脈內調配物)的方式共同投與此等治療劑。另外，此投與亦涵蓋在大約相同的時間或在不同時間依序或以獨立方式使用各類型之治療劑。無論活性成分是否作為單一調配物或以獨立調配物方式投與，該等藥物作為同一療法過程之部分投與同一患者。在任何情況下，該治療方案將對本文中所描述之病況或病症之治療提供有益作用。

【0057】 同時治療性使用在本發明之含義中意指藉由相同途徑且在同一時間或基本上同一時間投與至少兩種活性成分。

【0058】 獨立使用在本發明之含義中尤其意指藉由不同途徑在同一時間或基本上同一時間投與至少兩種活性成分。

【0059】 依序治療使用意指在不同時間投與至少兩種活性成分，投與途徑可相同或不同。更特定言之，投與方法意指在投與另一或其他開始之前根據其進行活性成分中之一者之全部投與。

【0060】 如本文所使用之術語「固定組合」、「固定劑量」及「單一調配物」係指經調配來向患者傳遞一定量之兩種治療劑的單一載劑或媒劑或劑型，該量對癌症之治療聯合治療有效。單一媒劑經設計以傳遞一定量之每一種藥劑以及醫藥學上可接受之載劑或賦形劑。在一些實施例中，媒劑係錠劑、膠囊、丸劑或貼劑。在其他實施例中，係溶液或懸浮液。

【0061】 術語「非固定組合」或「分部分之套組」意謂本發明之組合之治療劑均作為單獨實體無特定時間限制地同時、並行或依序向患者投與，其中此類投與在有需要之個體之體內提供治療有效量之兩種化合物。後者亦適用於混合物療法，例如，投與三種或更多種活性成分。

【0062】 如本文所使用之術語「醫藥學上可接受之」係指在可靠的醫學判斷之範疇內適合於與個體，例如哺乳動物或人類之組織接觸而無與合理效益/風險比相匹配之過多毒性、刺激、過敏性反應及其他問題或併發症的化合物、材料、組合物及/或劑型。

【0063】 如本文中所使用，術語「醫藥學上可接受之賦形劑」或「醫藥學上可接受之載劑」包括如熟習此項技術者應已知之任何及所有溶劑、分散介質、包衣、界面活性劑、抗氧化劑、防腐劑(例如抗細菌劑、抗真菌劑)、等張劑、吸收延遲劑、鹽、防腐劑、藥物、藥物穩定劑、黏合劑、賦形劑、崩解劑、潤滑劑、甜味劑、調味劑、染料，及類似者以及

其組合。除非任何習知載劑與活性成分不相容，否則考慮將其用於治療或醫藥組合物中。

【0064】 本文所定義之術語「醫藥組合物」係指含有待向個體，例如哺乳動物或人類投與之用於治療影響個體之特定疾病或病況之至少一種治療劑的混合物或溶液。本醫藥組合可被調配成用於經腸或非經腸投與之適合醫藥組合物之形式，諸如糖衣錠劑、錠劑、膠囊或栓劑或安瓿。若無相反指示，則此等以本身已知之方式製備，例如藉助於熟習此項技術者顯而易知之各種習知混合、粉碎、直接壓縮、粒化、糖包衣、溶解、凍乾方法或製造技術。應瞭解，各劑型之個別劑量中所含有之組合搭配物之單位含量本身無需構成有效量，因為藉由投與複數個劑量單位可達到必需有效量。醫藥組合物可含有約0.1%至約99.9%、較佳約1%至約60%之治療劑。一般熟習此項技術者可針對於藉由常規實驗之劑型之特定所需特性選擇一或多種前述載劑而無任何不當負擔。所使用之各載劑之量可在此項技術中所習知之範圍內變化。下文參考揭示用以調配口服劑型之技術及賦形劑：The Handbook of Pharmaceutical Excipients, 第4版, Rowe等人編, American Pharmaceuticals Association (2003)；及 Remington: the Science and Practice of Pharmacy, 第20版, Gennaro 編, Lippincott Williams & Wilkins (2003)。此等視情況選用之其他習知載劑可藉由在粒化之前或期間將一或多種習知載劑併入至初始混合物中，或藉由將一或多種習知載劑與包含呈口服劑型之藥劑之組合或藥劑之組合之個別藥劑的顆粒組合來併入至口服劑型中。在後者實施例中，組合混合物可金魚不摻合，例如經由V-摻合器，且隨後壓縮或模製成錠劑，例如單塊錠劑，由膠囊囊封或經填充至藥囊中。

【0065】醫藥組合物可以每單位劑量含有預定量之活性成分的單位劑型提供。在某些實施例中，單位劑量包括一或多種媒劑使得各媒劑包括有效量之至少一種治療劑以及醫藥學上可接受之載劑及賦形劑。在一些實施例中，單位劑量為在同一時間向患者投與之一或多種錠劑、膠囊、丸劑、注射液、輸注液、貼劑或類似者。如熟習此項技術者所已知，每劑活性成分之量將視所治療之病況、投與途徑及患者之年齡、體重及病況而定。較佳單位劑量組合物為含有每日劑量或子劑量或其適當分數之活性成分的組合物。另外，此類醫藥組合物可藉由藥學技術中所熟知之方法中之任一者製備。

【0066】本發明之醫藥組合物可包括「治療有效量」或「有效量」之本發明之化合物。治療劑之組合之術語「醫藥學上有效量」、「治療有效量」或「臨床上有效量」係在必需劑量及時間段下足以獲得處於經該組合治療之病症之臨床可觀測的跡象及症狀之基線上的可觀測的或臨床顯著改善的量。治療有效量可能因諸如個人之疾病狀態、年齡、性別及體重之因素而不同。治療有效量亦為治療有益作用超過治療劑之任何有毒性或有藥作用的量。「治療有效劑量」較佳以所需方式調節可量測參數，諸如腫瘤生長率或疾病進展。可在能預測人類腫瘤輔助建立適合給藥量及排程之功效的動物模型系統中評估化合物調節可量測參數之能力。替代地，組合物之此特性可藉由使用熟習此項技術者已知之活體外分析檢查化合物調節非所需參數之抑制能力來評估。

【0067】如本文所使用之術語「聯合治療活性」或「聯合治療作用」意謂治療劑可按其所偏好之時間間隔聯合、分別或依序給予，以使得待治療之個體，尤其人類仍顯示(較佳協同)相互作用(聯合治療作用)。不

管此情況是否可尤其藉由根據化合物之血液含量確定，顯示兩種化合物至少在某些時間間隔期間皆存在於待治療之人類之血液中。

【0068】 如本文所使用之術語「藥劑」理解為意指在組織、系統、動物、哺乳動物、人類或其他個體中產生所需效果之物質。亦應理解，「藥劑」可為單一化合物或兩種或更多種化合物之組合或組合物。

【0069】 術語「增生性疾病」較佳為癌症。

【0070】 如本文中所使用，術語「癌症」係指特徵為異常細胞之不當且不受控的生長的疾病。癌細胞可局部擴散或經由血流及淋巴系統擴散至身體其他部分。如本文中所使用，術語「癌症」或「腫瘤」包括惡化前的以及惡性癌症及腫瘤。術語「癌症」在本文中用以意指廣譜腫瘤，包括所有實體及血液惡性病。

【0071】 「口服劑型」包括規定為或意欲用於經口投與之單位劑型。

【0072】 如本文中所使用，術語「治療(treat/treatment/treating)」係指由於投與一或多種療法引起之病症(例如增生性病)之進展、嚴重度及/或持續時間之降低或改善，或病症之一或多種症狀，較佳一或多種可辨別的症狀之改善。在特定實施例中，術語「治療」係指增生性病之至少一個患者未必可辨別的可量測物理參數(諸如腫瘤之生長)之改善。在其他實施例中，術語「治療」係指以物理方式藉由例如穩定可辨別症狀、以生理學方式藉由例如穩定生理參數或其兩者來抑制增生性病之進展。在其他實施例中，術語「治療」係指降低或穩定腫瘤尺寸或癌細胞計數。

【0073】 在本發明之含義內，術語「治療」亦表示遏止、延遲發作(亦即，疾病之臨床表現之前之時期)及/或降低疾病發展或惡化之風險。術

語「保護」在本文中用以意指視需要防止、延遲或治療，或以上全部，個體(例如哺乳動物或人類)之疾病之發展、持續或惡化。

【0074】如本文所使用之術語「個體」或「患者」意欲包括能夠患有或罹患癌症或直接或間接地涉及癌症之任何病症的動物。個體之實例包括哺乳動物，例如人體、猿、猴、狗、牛、馬、豬、綿羊、山羊、貓、小鼠、兔、大鼠及轉殖基因的非人類動物。在一較佳實施例中，個體係人類，例如患有增生性疾病(諸如癌症)、處於患病風險下或可能患病的人類。

【0075】術語「抑制」、「抑制劑」或「拮抗劑」包括降低特定參數，例如給定分子或路徑之活性。舉例而言，此術語包括將目標激酶(Raf或MEK)之活性抑制5%、10%、20%、30%、40%或更多。因此，抑制可達(但無需)100%。

【0076】如本文中所使用，「鹽」(藉由「或其鹽」所意指之)可單獨存在或以與本發明之組合之游離化合物，例如具有式(I)之Raf抑制劑化合物或具有式(II)之Raf抑制劑化合物或MEK抑制劑，較佳曲美替尼，及較佳醫藥學上可接受之鹽之混合物的形式。此類鹽係自具有鹼氮原子之本發明之組合之化合物，例如作為，較佳與有機或無機酸之酸加成鹽，尤其醫藥學上可接受之鹽形成。術語「醫藥學上可接受之鹽」係指保留化合物之生物有效性及特性且通常非生物學上或以其他方式不合需要的鹽。化合物可能能夠藉助於胺基之存在而形成酸加成鹽。

【0077】適合之鹽之列舉可見於例如「Remington's Pharmaceutical Sciences」，第20版，Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985)中；及「Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and

Use」, Stahl及Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2002)中。

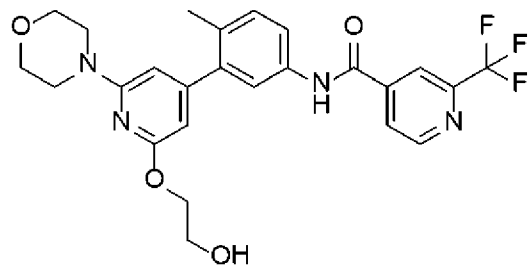
【0078】 出於分離或純化目的，亦有可能使用醫藥學上不可接受之鹽，例如苦味酸鹽或過氯酸鹽。就治療用途而言，僅使用醫藥學上可接受之鹽或游離化合物(適當時呈醫藥製劑形式)，且因此醫藥學上可接受之鹽或游離化合物較佳。鑒於呈游離形式之新穎化合物與呈其鹽形式之新穎化合物，包括可例如在新穎化合物之純化或鑑別中用作中間體之該等鹽之間之緊密聯繫，對游離化合物之任何指代視需要且有利地應理解為亦對對應的鹽之指代。用於本發明之組合之化合物之鹽較佳為醫藥學上可接受之鹽；形成醫藥學上可接受之鹽之適合相對離子為該領域所已知。除非另外規定或藉由文字清楚地指示，否則對適用於本文中所提供之醫藥組合中之治療劑之指代包括化合物之游離鹼及化合物之所有醫藥學上可接受之鹽。

【0079】 如本文中所使用，術語「溶劑合物」係指藉由溶質(在本發明中為曲美替尼)或其鹽及溶劑形成之可變化學計量之複合物。出於本發明之目的此類溶劑可能不干擾溶質之生物活性。適合溶劑之實例包括但不限於水、甲醇、二甲亞砷、乙醇及乙酸。適合醫藥學上可接受之溶劑之實例包括但不限於水、乙醇及乙酸。

【0080】 如本文中所使用之術語「協同效應」係指兩種藥劑，諸如，具有式(I)之Raf抑制劑化合物或其醫藥學上可接受之鹽與MEK抑制劑，較佳曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽，或具有式(II)之Raf抑制劑化合物或其醫藥學上可接受之鹽與MEK抑制劑，較佳曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽之作用產生例如減緩癌症或其症狀之症狀進展的效果，該效果大於各個藥物單獨投與之效果之簡單添加。

【0081】 在一個實施例中，本發明之組合包含(a) Raf抑制劑化合

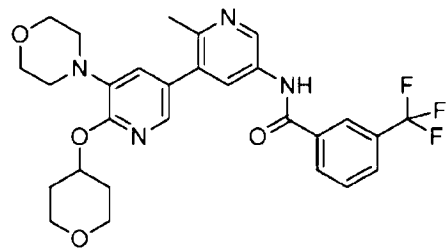
物，其選自由以下組成之群：(i)式(I)之化合物



(I) ,

或其醫藥學上可接受之鹽，及

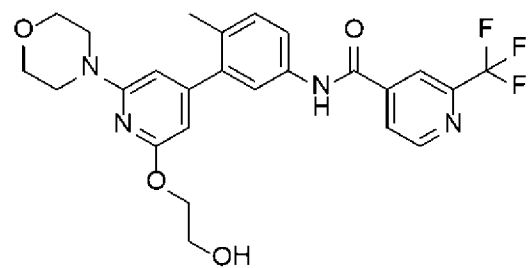
(ii)式(II)之化合物



(II) ,

或其醫藥學上可接受之鹽及(b) MEK抑制劑。

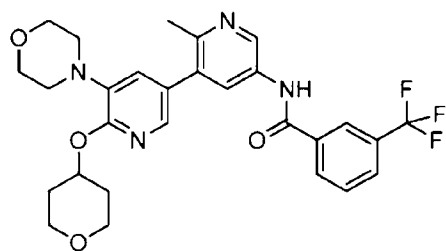
【0082】 在一個實施例中，本發明之組合包含(a) Raf抑制劑式(I)之化合物



(I) ,

或其醫藥學上可接受之鹽，及(b) MEK抑制劑。

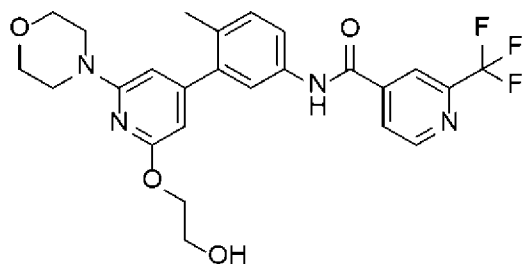
【0083】 在一個實施例中，本發明之組合包含(a) Raf抑制劑式(II)之化合物



(II) ,

或其醫藥學上可接受之鹽，及(b) MEK抑制劑。

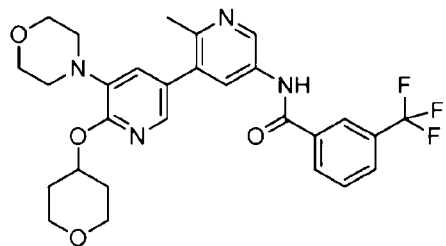
【0084】 在一個實施例中，本發明之組合包含(a) Raf抑制劑式(I)之化合物



(I) ,

或其醫藥學上可接受之鹽，及(b) MEK抑制劑，其選自包含以下之群：曲美替尼、PD0325901、PD184352、瑞法替尼、考比替尼、AS-701255、AS-701173、皮馬瑟替、RDEA436、RO4987655、RG 7167及RG7420或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物。

【0085】 在一個實施例中，本發明之組合包含(a) Raf抑制劑式(II)之化合物



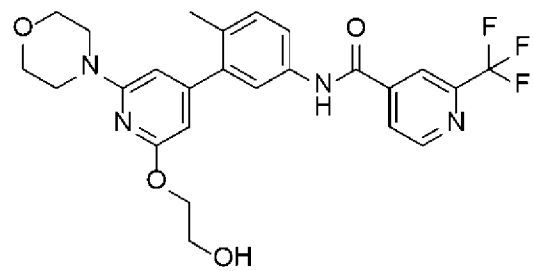
(II) ,

或其醫藥學上可接受之鹽，及(b) MEK抑制劑，其選自包含以下之群：曲美替尼、PD0325901、PD184352、瑞法替尼、考比替尼、AS-

701255、AS-701173、皮馬瑟替、RDEA436、RO4987655、RG 7167及RG7420或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物。

【0086】 在一較佳實施例中，本發明之組合包含(a) Raf抑制劑化合物，其選自由以下組成之群：

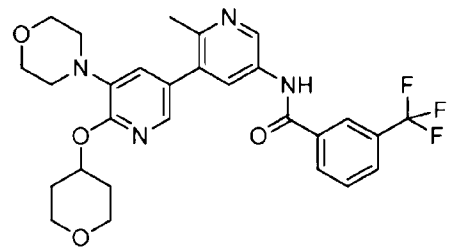
(i)式(I)之化合物



(I) ,

或其醫藥學上可接受之鹽，及

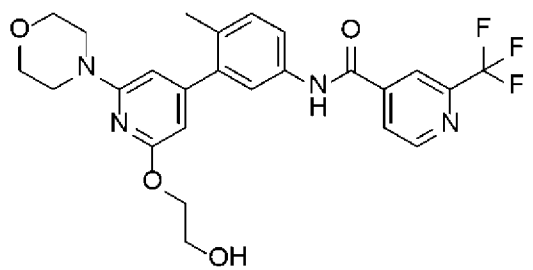
(ii)式(II)之化合物



(II) ,

或其醫藥學上可接受之鹽，及(b)MEK抑制劑曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物。

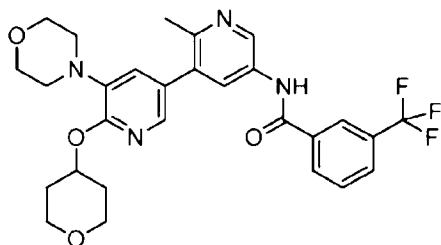
【0087】 在一極佳實施例中，本發明之組合包含(a) Raf抑制劑式(I)之化合物



(I) ,

或其醫藥學上可接受之鹽，及(b) MEK抑制劑曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物(例如二甲亞砜溶劑合物)。

【0088】 在另一較佳實施例中，本發明之組合包含(a) Raf抑制劑式(II)之化合物



(II) ,

或其醫藥學上可接受之鹽，及(b) MEK抑制劑曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物。

【0089】 在細胞株及人類異種移植模型Calu-6 (參見實例)中相比於單一藥劑療法，本發明之組合顯示增加的腫瘤反應之深度及持久性，且可因此有效治療增生性疾病，尤其癌症。相應地，本發明提供組合物及方法，其使用Raf抑制劑，其選自由以下組成之群：式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，組合MEK抑制劑且尤其曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物，用於治療實體腫瘤，尤其具有一或多種MAPK路徑改變的腫瘤，例如BRAF突變、KRAS突變及NRAS突變癌症。

【0090】 較佳地，此等治療劑以治療有效劑量投與，其當組合時提供有利效果。本發明尤其關於適用於向有需要治療增生性疾病之個體分別、同時或依序投與之本發明之組合。替代地陳述，本發明尤其關於用於治療增生性疾病之本發明之組合。

【0091】 增生性疾病之性質係多因素的。在某些環境下，可組合具

有不同作用機制之治療劑。然而，僅考慮具有不同作用模式之治療劑之任何組合未必帶來具有有利效果之組合。

【0092】 在本發明中，預期本發明之組合之投與，相比於任一單一療法引起更多有利效果，例如協同或提高的抗增生效果，例如關於延遲增生性疾病或其症狀之進展或抑制增生性疾病或其症狀，且可能亦引起其他有利效果，例如較少副作用，例如改善的生活品質或例如降低的發病率。

【0093】 可向有需要之個體分別、同時或依序投與本發明之組合之治療劑。較佳地，此等治療劑以治療有效劑量投與，其當組合時提供有利效果。因此，在本發明之一個實施例中，本發明之組合用於治療增生性疾病，尤其癌症。

【0094】 在一個實施例中，增生性疾病為癌症。術語「癌症」在本文中用以意指廣譜腫瘤，包括所有實體及血液惡性病。癌症可處於早期、中期或晚期。癌症可為局部晚期或轉移性的。

【0095】 待藉由本文中所描述之組合療法治療之癌症可能在護理標準之後或對於對其不存在有效標準療法之患者具有進展。

【0096】 待藉由本文中所描述之組合治療之癌症可能不再對諸如維羅非尼、達拉非尼之BRAF抑制劑及/或諸如考比替尼及曲美替尼之MEK抑制劑之治療起反應。舉例而言，癌症可為黑素瘤，例如BRAFFV600突變(包括BRAFFV600E突變)黑素瘤，其難以用達拉非尼與曲美替尼之組合治療或難以用考比替尼與維羅非尼之組合治療。待藉由本文中所描述之組合治療之NSCLC，例如BRAFFV600突變(包括BRAFFV600E突變) NSCLC可能難以用諸如達拉非尼之BRAF抑制劑與諸如曲美替尼之MEK抑制劑之組合治療。

【0097】 在一個實施例中，癌症選自包含以下之群：黑素瘤、非小細胞肺癌(non-small-cell lung cancer, NSCLC)、包括*MUTYH*相關息肉病(*MUTYH*-associated polyposis, MAP)之結腸直腸癌(CRC)、胰管腺癌(PADC)、子宮頸癌及卵巢癌。

【0098】 在一個實施例中，增生性疾病係非小細胞肺癌(NSCLC)。

【0099】 在一個實施例中，增生性疾病為黑素瘤。

【0100】 在一個實施例中，增生性疾病係結腸直腸癌(CRC)，其包括*MUTYH*相關息肉病(MAP)。

【0101】 在一個實施例中，增生性疾病係胰管腺癌(PADC)。

【0102】 在一個實施例中，增生性疾病係子宮頸癌。

【0103】 在一個實施例中，增生性疾病係卵巢癌。

【0104】 本發明之組合尤其適用於治療增生性疾病，諸如具有一或多種有絲分裂原活化蛋白激酶(Mitogen-activated protein kinase, MAPK)路徑改變的癌症，諸如KRAS突變腫瘤及NRAS突變腫瘤，以及尤其表現如本文中所描述之Ras之至少一種功能獲得型突變及/或如本文中所描述之Raf之至少一種功能獲得型突變的腫瘤。

【0105】 包括具有BRAF突變，包括V600D的癌症或腫瘤。V600E、V600K及其他，例如具有至少一種V600E或其他BRAF突變之NSCLC，無論係典型或非典型，亦即BRAFFV600E突變NSCLC或BRAF非V600E突變NSCLC。大多數BRAF突變聚集成兩個區域：N瓣之富含甘胺酸的P迴路及活化片段及側接區域。已在各種癌症中偵測到V600E突變，且其係由於在核苷酸1799處胸腺嘧啶經腺嘌呤取代。此產生在密碼子600處之經麩胺酸(E)取代之纈胺酸(V)(現稱為V600E)。BRAF突變黑素瘤包

括BRAFV600E突變及BRAFV600D突變黑素瘤。

【0106】 包括KRAS突變癌症或腫瘤。術語「KRAS突變」腫瘤或癌症包括展現突變KRAS蛋白的任何腫瘤，尤其功能獲得型KRAS突變；尤其任何G12X、G13X、Q61X或A146X KRAS突變，其中X係除在該位置天然存在之胺基酸以外的任何胺基酸。例如G12V突變意謂在密碼子12處甘胺酸經纈胺酸取代。腫瘤中之KRAS突變之實例包括Q61H、Q61K、G12V、G12C、G12D、G12R、G12S、G13D及A146T。因此KRAS突變NSCLC包括具有對應於G12X、G13X、Q61X或A146X之至少一種KRAS突變的腫瘤，尤其選自Q61K、G12V、G12C及A146T NSCLC之至少一種KRAS突變。癌症可處於早期、中期或晚期。

【0107】 KRAS突變癌症包括：KRAS G12D突變卵巢癌；KRAS G12V突變或G13D突變結腸直腸癌；KRAS Q61H突變、KRAS Q61K突變、KRAS G12C突變、KRAS G12S突變或KRAS G12V突變NSCLC；KRAS G12D突變、G12V突變或KRAS G12R突變胰臟癌。

【0108】 包括NRAS突變癌症或腫瘤。術語「NRAS突變」腫瘤或癌症包括展現突變NRAS蛋白的任何腫瘤，尤其功能獲得型NRAS突變；尤其任何G13R、Q61K、Q61L、Q61R NRAS突變腫瘤。因此NRAS突變黑素瘤包括具有對應於Q61K、Q61L或Q61R之至少一種NRAS突變的黑素瘤。癌症可為NRAS QG13R突變黑素瘤。癌症可處於早期、中期或晚期。癌症可為局部晚期或轉移性的。

【0109】 在本發明之一個實施例中，癌症之特徵在於B-Raf中之一或多種突變。

【0110】 在另一實施例中，癌症對護理標準具耐藥性或難以用其治

療。

【0111】 在另一實施例中，癌症對**B-Raf**抑制劑，例如達拉非尼具有耐藥性或難以用其治療。

【0112】 在另一實施例中，癌症對**MEK**抑制劑，例如曲美替尼具有耐藥性或難以用其治療。

【0113】 在另一實施例中，癌症對**B-Raf**抑制劑，例如達拉非尼及**MEK**抑制劑，例如曲美替尼具有耐藥性或難以用其治療。

【0114】 在一個實施例中，癌症之特徵在於選自包含**BRAF**及**KRAS**蛋白之群之至少一種突變。

【0115】 在一個實施例中，癌症之特徵在於選自由以下組成之群之突變：**BRAF**、**NRAS**、**KRAS**突變及其組合。

【0116】 在一個實施例中，本發明之組合關於用於治療增生性疾病，尤其癌症之方法。

【0117】 本發明之組合可尤其適用於治療**KRAS**突變**NSCLC**、**KRAS**突變胰臟癌、**KRAS**突變結腸直腸癌或**NRAS**突變黑素瘤。在一較佳實施例中，待治療之增生性疾病或癌症係**KRAS**突變**NSCLC**。在另一較佳實施例中，待治療之增生性疾病或癌症係**NRAS**突變黑素瘤。

【0118】 在一個實施例中，本發明提供用於治療有需要之個體之癌症之方法，其包含投與治療有效量之本發明之醫藥組合，其包含(a) **Raf**抑制劑，其選自由以下組成之群：(i)如本文中所定義之式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，及(ii)如本文中所定義之式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽；及(b) **MEK**抑制劑。在一較佳實施例中，**MEK**抑制劑為曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物。

【0119】 在一實施例中，本發明提供用於治療有需要之個體之癌症之方法，其以對該增生性疾病聯合治療有效之量向有需要之個體同時、分別或依序投與本發明之組合，其包含(a) **Raf**抑制劑，其選自由以下組成之群：(i)如本文中所定義之式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，及(ii)如本文中所定義之式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽；及(b) **MEK**抑制劑。在一較佳實施例中，**MEK**抑制劑為曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物。

【0120】 在另一實施例中，本發明尤其關於治療具有一或多種有絲分裂原活化蛋白激酶(MAPK)路徑改變之癌症之方法。在一個實施例中，本發明係關於治療其特徵在於選自包含**BRAS**、**NRAS**及**KRAS**蛋白之群之至少一種突變的癌症的方法。在一個實施例中，本發明係關於本發明之組合用於製備用於治療增生性疾病，尤其癌症之藥劑之用途。在一個實施例中，本發明之組合用於製備治療癌症之藥物。

【0121】 在另一實施例中，本發明係關於本發明之組合用於製備用於治療特徵為**MAPK**路徑中之功能獲得型突變之癌症的藥劑的用途。

【0122】 在一實施例中，本文中所提供之組合或組合物或二者顯示協同效應。

【0123】 相應地，一方面，本發明可提供藉由將其與另一抗癌化合物組合使用來增強抗癌化合物之功效的方法，尤其將**Raf**抑制劑，其選自由以下組成之群：(i)如本文中所定義之式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及(ii)如本文中所定義之式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，與**MEK**抑制劑，適合地曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物一起使用，以獲得無法藉由作為單一藥劑(單一療法)投與類似劑量之式(I)之

化合物或其醫藥學上可接受之鹽或化合物(II)或其醫藥學上可接受之鹽或 MEK 抑制劑來安全實現之增強的功效的方法。

【0124】 其他效益可為可使用較低劑量之本發明之組合之治療劑，例如劑量不僅可通常較小且亦可施加頻率較小或可用於減小在單獨使用組合搭配物中之一者之情況中觀測到之副作用之發生率。此符合待治療之患者之需求及要求。

【0125】 在一些實施例中，Raf 抑制劑化合物，其選自由以下組成之群：(i)如本文中所定義之式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，及(ii)如本文中所定義之式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽；及/或 MEK 抑制劑，較佳曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物，可按相對於單一藥劑劑量含量之治療性劑量或低於治療性劑量投與。在某些實施例中，為達成抑制，例如生長抑制或腫瘤縮減所需之一種治療劑之濃度或劑量在使用另一治療劑或將另一治療劑與第一種治療劑組合投與時低於在各個治療劑單獨投與時的。在某些實施例中，在組合療法中，為達成抑制，例如生長抑制所需之一種治療劑之濃度或劑量低於作為單一療法之治療性劑量，例如低 10-20%、20-30%、30-40%、40-50%、50-60%、60-70%、70-80% 或 80-90%。

【0126】 在測定一或多種組分之間之協同相互作用中，該效果之最佳範圍及用於該效果之各組分之絕對劑量範圍可藉由按不同 w/w 比率範圍及劑量向需要治療之患者投與組分來確定地量測。對於人類，對患者實施臨床研究之複雜度及成本可能使得使用此形式之測試作為協同性之初始模型變得不切實際。然而，在某些實驗(參見例如實例2及實例6)中觀測到之協同性可以預測在其他物種中之效果，且存在之動物模型可用於進一步定

量協同效應。在一個物種中觀測到之協同性可以預測在其他物種中之效果，且如本文中所描述，可使用動物模型量測協同效應，且藉由應用藥物動力學/藥力學(PK/PD)方法此類研究之結果亦可用於預測在其他物種中所需之有效劑量比率範圍及絕對劑量及血漿濃度。腫瘤模型與在男性中之效果之間的已確立相關性表明動物中之協同性可能例如藉由異種移植模型或在適當細胞株中顯示。可由已確立測試模型顯示，本發明之組合引起本文中所描述之有利效果。熟習此項技術者完全能夠選擇相關測試模型來證明該等有利效果。本發明之組合之藥理學活性可能，例如，顯示在基本上如本文中所描述之臨床研究中或活體內或活體外測試程序中。

【0127】 該組合之投與包括藉由任何適合途徑投與呈單一調配物或單位劑型之該組合，並行但分別投與該組合之個別藥劑，或依序投與該組合之個別藥劑。本發明之組合之個別組合搭配物可在療法過程期間之不同時間分別投與，或以任何順序依序投與，或以分次的或單一組合形式並行投與，例如同時或以聯合治療有效量，較佳以協同有效量，例如以對應於本文中所描述之量之每天一次或間歇(亦即，非每天一次)的劑量。

【0128】 用於本文所揭示之方法、治療、組合及組合物之式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽為強力BRAF抑制劑及CRAF抑制劑。在一些實施例中，經口投與式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，或式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽。在一個實施例中，式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，或式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽以約50至1200 mg (例如每天)之劑量投與。式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，或式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽可以以下之單位劑量投與：約50 mg、約100 mg、約

150 mg、約200 mg、約250 mg、約300 mg、約350 mg、約400 mg、約450 mg、約500 mg about 550 mg、約600 mg、約650 mg、約700 mg、約750 mg、約800 mg、約850 mg、約900 mg、約950 mg、約1000 mg、約1050 mg、約1100 mg、約1150 mg或約1200 mg。單位劑量之式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，或式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽可每天一次、或每天兩次、或每天三次、或每天四次投與，其中投與之實際劑量及時機由諸如患者之年齡、體重及性別之指標；待治療之癌症之程度及嚴重度；及治療醫師之判斷來確定。較佳地，每天一次投與之單位劑量之式(I)之化合物或式(II)之化合物。在另一較佳實施例中，每天兩次投與單位劑量之式(I)之化合物或式(II)之化合物。

【0129】 作為根據本發明之組合之部分之MEK抑制劑將以治療有效量投與有需要之個體。

【0130】 在一較佳實施例中，作為根據本發明之組合之部分投與有需要個體之MEK抑制劑曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物將為選自約0.125 mg至約10 mg每天之量；適合地，將為選自約0.25 mg至約9 mg每天之量；適合地，將為選自約0.25 mg至約8 mg之量；適合地，將為選自約0.5 mg至約8 mg每天之量；適合地，將為選自約0.5 mg至約7 mg每天之量；適合地，將為選自約1 mg至約5 mg每天之量；適合地，將為約1 mg或2 mg每天之量。在一較佳實施例中，曲美替尼、曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物按0.5 mg、1 mg或2 mg每天之每日劑量投與。

【0131】 在本文中所提及之劑量(doses/dosages)中，所指代之量係指治療劑之量。舉例而言，當投與2 mg劑量之曲美替尼且曲美替尼係以

含有曲美替尼二甲亞砒之錠劑形式投與時，該錠劑將含有等效於2 mg曲美替尼之曲美替尼二甲亞砒。

【0132】 在一些實施例中，曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物經口投與。在一個實施例中，曲美替尼製備為用於經由口腔傳遞投與且可以二甲亞砒中之溶合形式使用。在一些實施例中，化合物製備為用於經口投與之錠劑形式。錠劑可製備為用於靈活投與之各種劑量。

【0133】 單位劑量之曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物可每天一次、或每天兩次、或每天三次、或每天四次投與。總每日劑量之曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物，例如二甲亞砒溶劑合物，可一天一次或兩次投與。

【0134】 舉例而言，作為組合療法之部分，式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽可按約50 mg、約100 mg、約200 mg、約300 mg、約400 mg、約500 mg、約600 mg、或約800 mg之總每日劑量投與，且曲美替尼，例如呈二甲亞砒溶劑合物形式的，可按約1.0或2.0 mg之總每日劑量投與。式(I)之化合物之每日劑量可每天一次或兩次投與。因此，約200 mg之式(I)之化合物之劑量可每天兩次投與(且約400 mg之總每日劑量)，且約1.0 mg或約2.0 mg之曲美替尼之劑量可每天一次投與。替代地，約200 mg之式(I)之化合物之劑量(且約400 mg之總每日劑量)可每天兩次投與，且約1.0 mg或約2.0 mg之曲美替尼之劑量可每天兩次投與。

【0135】 式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及MEK抑制劑，較佳曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物；或式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及MEK抑制劑，較佳曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物，可根據本文所揭示之方法一起使用。視預定劑量及投

與頻率而定，兩種化合物可以一起投與或分別投與，因為預期本發明之治療可持續2天、3天、4天、5天、6天、1週、2週、3週、4週或多於4週，如治療醫師所認為適當的，且另外如使用本文中所描述之方法所指導來確定適合劑量及投與頻率。劑量頻率可視所使用之化合物及待治療之特定病況而變化。一般而言，較佳使用足以提供有效療法之最小劑量，且其可由諸如患者之年齡、體重及性別之指標；待治療之癌症之程度及嚴重度；及治療醫師之判斷來確定。通常可能使用適合於所治療之病況之分析針對治療性效力監測患者，該等分析將為一般熟習此項技術者所熟悉。

【0136】 本發明之組合(亦即，式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及MEK抑制劑，適合地曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物；或式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及MEK抑制劑，適合地曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物)之最佳比率、個別及組合劑量及組合搭配物之濃度，其產生功效而無毒性，係基於治療劑對靶向位點可用性之動力學及各種因素，其包括但不限於疾病之進展程度；個人之年齡、體重、一般健康情況、性別及飲食；投藥之時間及途徑；及個人所服用之其他藥物。最佳劑量可使用在此項技術中已熟知之常規測試及程序確立。舉例而言，可投與單一藥團，可隨時間投與若干分次劑量，或可依治療情況之緊急性所指示地按比例減少或增加劑量。

【0137】 本發明之組合之治療劑可藉由任何適當途徑投與。應瞭解，較佳途徑可能隨，例如組合之受體之病況及待治療之癌症而變化。亦應瞭解，治療劑中之每一者可藉由相同或不同途徑投與，且治療劑，例如式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及MEK抑制劑，適合地曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物；或式(II)之化合物或其醫藥學上可

接受之鹽及MEK抑制劑，適合地曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物，可以醫藥組合物形式混配在一起。

【0138】 式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及MEK抑制劑，適合地曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物；或式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及MEK抑制劑，適合地曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物，可如本文中所揭示之一起使用。本發明之組合之兩種治療劑可以一起(同時)、依序或分別投與。

【0139】 另外，化合物是否以相同劑型投與並不重要，例如一種化合物可局部投與而另一化合物可經口投與。適合地，兩種治療劑均經口投與。

【0140】 因此在一個實施例中，一或多個劑量之式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，或一或多個劑量之式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽與一或多個劑量之MEK抑制劑，適合地曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物同時、依序或分別投與。

【0141】 在一個實施例中，多劑量之式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，或多劑量之式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽與多劑量之MEK抑制劑，適合地曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物同時、依序或分別投與。

【0142】 在一個實施例中，多劑量之式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，或多劑量之式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽與一個劑量之MEK抑制劑，適合地曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物同時、依序或分別投與。

【0143】 在一個實施例中，一個劑量之式(I)之化合物或其醫藥學上

可接受之鹽，或一個劑量之式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽與多劑量之MEK抑制劑，適合地曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物同時、依序或分別投與。

【0144】 在一個實施例中，一個劑量之式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，或一個劑量之式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽與一個劑量之MEK抑制劑，適合地曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物同時、依序或分別投與。

【0145】 在所有上述實施例中，可首先投與式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，或式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，或可首先投與MEK抑制劑，適合地曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物。

【0146】 然而可能用於療法時，Raf抑制劑，其選自包含以下之群：(i)式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，及(ii)式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，及/或MEK抑制劑，適合地曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物，可作為化學原料投與，可以使活性成分作為醫藥組合物存在。相應地，在一個實施例中，本發明提供一種醫藥組合物，其包含(a) Raf抑制劑化合物，其選自由以下組成之群：式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，及式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽；及(b) MEK抑制劑，適合地曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物。在一實施例中，醫藥組合物另外包含一或多個醫藥學上可接受之稀釋劑、賦形劑或載劑。載劑、稀釋劑或賦形劑就與調配物之另一成分兼容而言必須為可接受的，能夠醫藥配製且對其受體無害。所利用之醫藥組合物之此類元件可存在在獨立醫藥組合中或在一個醫藥組合物中調配在一起。本文

所揭示之組合可在單個組合物中一起投與或在兩種或更多種不同組合物中分別投與，例如如所描述之組合物或劑型及組分可作為同一調配物投與或作為獨立調配物單獨投與，例如如上文所指示，或藉由任何適合途徑與一或多種醫藥學上可接受之載劑組合。

【0147】 如本文所使用之單位劑型係指適合作為用於待治療之個體之單位劑量之物理離散單位；各單位含有預定量之活性化合物(例如式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽；式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽；或MEK抑制劑，適合地曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物)，其經計算在與所需醫藥載劑結合時產生所需治療效果。單位劑型亦可為固定組合。

【0148】 組合搭配物中之每一者之有效劑量，可能需要組合中之一種治療劑比另一治療劑投與得更頻繁。因此，為允許適當給藥，封裝的醫藥產品可含有含有化合物之組合的一或多個劑型，及含有本發明之組合中之一種治療劑但不含本發明之組合之另一治療劑的一或多個劑型。

【0149】 當本發明之組合中所使用之組合搭配物以如作為單一藥物出售之形式施加時，若未另外提及，則其劑量及投藥模式可以根據對應的出售藥物之藥品說明書上所提供之資訊。

【0150】 因此，為允許適當給藥，封裝的醫藥產品可含有含有藥劑之組合的一或多個劑型，及含有組合中之一種治療劑但不含組合之另一治療劑的一或多個劑型。

【0151】 在本發明之範疇內亦有一種組合套組，其包含：作為治療劑之本發明之組合，其用於如本文中所描述地與一或多種其他元件一起同時、分別或依序投與；使用說明書；供與本發明之組合一起使用之其他試

劑；用於製備用於投與之化合物之裝置或其他材料，諸如混合容器；醫藥學上可接受之載劑；及向個體投與之裝置或其他材料，諸如注射器。

【0152】如本文所使用之術語「組合套組」或「分部分之套組」意指根據本發明使用之醫藥組合物或組合物。當同時投與兩種化合物時，組合套組可含有式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及MEK抑制劑，適合地曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物，或式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及MEK抑制劑，適合地曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物，其呈單一醫藥組合物形式，諸如錠劑，或呈獨立醫藥組合物形式。當式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及MEK抑制劑，適合地曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物，或式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及MEK抑制劑，適合地曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物不同時投與時，組合套組將含有式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽、式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及MEK抑制劑，適合地曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物，其呈單一套裝中之獨立醫藥組合物形式或呈獨立套裝中之獨立醫藥組合物形式。

【0153】在本發明之一個實施例中，分部分之套組包含以下組分：
(a) Raf抑制劑化合物，其選自由以下組成之群：(i)式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其與醫藥學上可接受之賦形劑、稀釋劑及/或載劑結合，及(ii)式(II)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其與醫藥學上可接受之賦形劑、稀釋劑及/或載劑結合；及(b) MEK抑制劑，較佳曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物，其與醫藥學上可接受之賦形劑、稀釋劑或載劑結合，其中組分以適合於依序、分別及/或同時投與之形式提

供。組合套組亦可提供有說明書，諸如劑量及投與說明書。此類劑量及投與說明書可為被提供給醫生之彼類說明書，例如藉由藥品標籤，或其可為由醫生提供之彼類說明書，諸如給患者之說明書。

【0154】 本發明之其他特徵、目標及優勢將自實施方式及圖式及自申請專利範圍顯而易知。

【0155】 以下實例說明上文所描述之本發明；然而其不意欲以任何方式限制本發明之範疇。本發明之醫藥組合之有利效果亦可藉由熟習相關技術者所已知之其他測試模型來確定。

【0156】

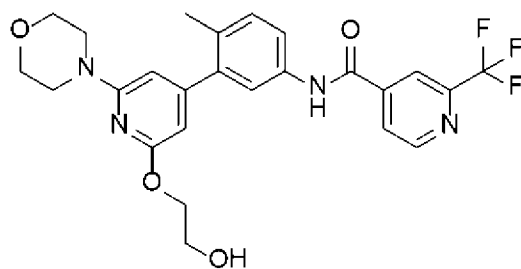
實例

闡述以下實例以幫助理解本發明，但不意欲且不應理解為以任何方式限制其範疇。

【0157】

實例1： N-(3-(2-(2-羥基乙氧基)-6-(N-嗎啉基)吡啶-4-基)-4-甲基苯基)-2-(三氟甲基)異菸鹼醯胺

式(I)之化合物係具有以下結構之嗎啉取代聯芳基化合物



化合物(I)

式(I)之化合物係已發表PCT申請案WO2014/151616中之實例1156，其內容以引用之方式併入。

【0158】

實例1A

式(I)之化合物係b-Raf及c-Raf之II型抑制劑。

表1.式(I)之化合物對b-Raf及c-Raf之半最大抑制濃度(IC-50)

化合物	b-Raf IC-50 (μM)	c-Raf FL IC-50 (μM)
式(I)之化合物	0.00073	0.00020

【0159】

實例1B

式(I)之化合物展現對多種表現MAPK路徑中之突變之人類癌細胞株之活性，如下表中所示。對具有BRAF或RAS中之至少一種突變之細胞株之活性尤其強。

表2.式(I)之化合物對一組人類癌細胞株中之增生之作用。

細胞株	IC ₅₀ [μM]	腫瘤類型	BRAF	RAS
A375	0.24	黑素瘤	V600E	WT
WM2664	0.45	黑素瘤	V600D	WT
IPC298	0.25	黑素瘤	WT	NRAS Q61L
HeyA8	0.21	卵巢	G464E	KRAS G12D
HCT116	0.47	結腸直腸	WT	KRAS G13D
Calu-6	1.5	NSCLC	WT	KRAS Q61K
HuP-T4	0.65	胰臟	WT	KRAS G12V
PSN1	0.68	胰臟	WT	KRAS G12R
TCC-PAN2	0.42	胰臟	WT	KRAS G12R
NCI-H2073	18.2	NSCLC	WT	WT
HCC827	>20	NSCLC	WT	WT
PC3	>20	前列腺	WT	WT
不同腫瘤細胞株藉由劑量滴定式(I)之化合物72小時來處理，且使用CellTiter-Glo™發光細胞活力分析測定細胞增生。				

【0160】

實例1C

為研究式(I)之化合物在難以用B-Raf 及/或MEK抑制劑治療之B-Raf V600突變黑素瘤細胞中之活性，評估式(I)之化合物在衍生自B-Raf V600黑素瘤細胞株A375之表現MEK1/2、NRAS之突變或BRAF之拼接變異體的

機制模型中之抗增生活性。在臨床前研究及臨床樣品已表明此等突變賦予B-Raf及/或MEK抑制劑耐藥性。下文概述，相比於B-Raf抑制劑維羅非尼及MEK抑制劑司美替尼(Selumetinib)之功效，式(I)之化合物在親本A375細胞株及其表現各種突變對偶基因之衍生物中之生長抑制作用。突變賦予對B-Raf及MEK抑制劑之耐藥性，導致IC₅₀值增加大於50倍。相比之下，耐藥性模型仍對式(I)之化合物敏感，IC₅₀僅增加2至3倍。此等資料支持式(I)之化合物在已難以用B-Raf及/或MEK抑制劑治療之B-Raf V600黑素瘤患者中之用途。

表3. 式(I)之化合物對對BRAF及MEK抑制劑具有耐藥性之機制A375模型之抗增生作用

細胞株	式(I)之化合物 IC ₅₀ [μM]	維羅非尼IC ₅₀ [μM]	司美替尼IC ₅₀ [μM]
A375	0.42	0.066	0.036
A375/BRAFp61-V600E	0.72	8.51	>10
A375/MEK1 Q56P	1.15	9.62	5.35
A375/MEK1 C121S	1.14	8.7	2.33
A375/MEK1 E203K	1.05	5.58	1.81
A375/MEK2 Q60P	1.12	5.28	4.84
A375/NRAS Q61K	0.95	9.38	5.5

在經多西環素(doxycycline)處理後A375細胞株經工程化以誘導性表現耐藥性模型。隨後將細胞用式(I)之化合物、維羅非尼或司美替尼之連續稀釋液處理72小時以評估抗增生活性。使用CellTiter-Glo™發光細胞活力分析測定細胞增生且計算為DMSO對照組之百分比。

【0161】

實例1D

根據此項技術中所熟知之原理將式(I)之化合物調配為用於經口給藥之含有約50 mg之式(I)之化合物的錠劑。向禁食個體每天一次投與足以提供所需劑量之多個錠劑。將個體以100 mg之劑量每天一次，或200 mg之劑量每天一次處理。在第一次給藥式(I)之化合物之後至多48小時(第1週期

第1天)及在多次給藥之後至多24小時(第1週期第15天)收集用於藥物動力學(PK)評估之連續血液樣品。初步可獲得的資料如下。在分別投與單個100 mg劑量及單個200 mg劑量之後在4小時內達成最大血漿濃度(C_{max}) 447 ng/ml及889 ng/ml。分別在100 mg劑量之式(I)之化合物及200 mg劑量之式(I)之化合物之後，在給藥之第1天歷時24小時之給藥間隔(AUC_{tau})之平均血漿暴露為5679小時.奈克/毫升及10019小時.奈克/毫升。半衰期計算為在患者內大約23至24小時。每天一次給藥100 mg引起式(I)之化合物在血漿中略微積累，積累比率為1.8。基於此等資料，已確立每天一次之給藥排程。

【0162】

實例2：式(I)之化合物在KRAS突變NSCLC模型中之抗腫瘤活性

在基於細胞的分析中，式(I)之化合物已表現出在含有各種活化MAPK傳訊之突變之細胞株中之抗增生活性。例如，式(I)之化合物抑制非小細胞肺癌細胞株Calu-6 (KRAS Q61K)及結腸直腸細胞株HCT116 (KRAS G13D)之增生，IC₅₀值在0.2-1.2 μM範圍內。

【0163】 在若干異種移植模型中活體內測試式(I)之化合物之活性。如圖1至圖4中所示，式(I)之化合物在KRAS突變肺癌模型中顯示單一藥劑活性。

【0164】

Calu6模型 (KRAS(Q61K)突變NSCLC)：

當平均腫瘤體積為324 mm³時，將雌性裸腫瘤攜帶Calu6小鼠，n=8每組隨機化成處理組。在異種移植物植入後第15天開始用式(I)之化合物處理。在處理過程期間按10毫升給藥體積/公斤動物體重，以15 mg/kg一

天兩次(bid)、30 mg/kg一天一次(qd)、50 mg/kg bid、100 mg/kg bid、200 mg/kg qd或300 mg/kg每隔一天(q2d)向動物投與口服劑量之媒劑或式(I)之化合物連續13日。使用數位卡尺在隨機化時及其後每週兩次收集腫瘤體積用於研究持續時間(圖1)。在200 mg/kg qd (4%體重損失)及300 mg/kg q2d (9%體重損失)處理組中觀測到輕微體重損失。

【0165】

H358模型(KRAS(G12C)突變NSCLC)：

在腫瘤細胞接種後第14天將SCID米色雌性腫瘤攜帶NCI-H358小鼠，n=8每組隨機化成3組，平均腫瘤體積範圍為261 mm³。

【0166】 在處理過程期間按10毫升給藥體積/公斤動物體重，以30 mg/kg或以200 mg/kg每天向動物投與口服劑量之媒劑或式(I)之化合物連續14日。一週3次藉由數位卡尺量測腫瘤體積且在整個處理過程中記錄所有動物之體重(圖2)。在30 mg/kg (4%體重損失)及200 mg/kg (6%體重損失)處理組中觀測到輕微體重損失。

【0167】

PTX模型HLUX1156-KRAS(G12C)突變NSCLC：

將攜帶患者衍生之原生肺癌異種移植物HLUX1156腫瘤的雌性裸小鼠，n=6每組隨機化成2組，平均腫瘤體積範圍為262 mm³。在異種移植物植入後第38天開始處理。在處理過程期間按10毫升給藥體積/公斤動物體重，以100 mg/kg每天向動物投與口服劑量之媒劑或式(I)之化合物連續14日。一週2次藉由數位卡尺量測腫瘤體積且在整個處理過程中記錄所有動物之體重(圖3)。處理具有良好耐受性，如藉由無顯著體重損失所判斷。

【0168】

H727模型-KRAS(G12V)突變NSCLC：

將Foxn1雌性裸腫瘤攜帶NCI-H727小鼠，n=8每組隨機化成2組，平均腫瘤體積範圍為275 mm³。在異種移植物植入後第21天開始處理。在處理過程期間按10毫升給藥體積/公斤動物體重，以100 mg/kg每天向動物投與口服劑量之媒劑或式(I)之化合物連續14日。一週3次藉由數位卡尺量測腫瘤體積且在整個處理過程中記錄所有動物之體重(圖4)。在100 mg/kg (4.5%體重損失)處理組中觀測到輕微體重損失。

【0169】藉由評估處理組中之腫瘤體積相對於媒劑處理組中之腫瘤體積之百分比(% T/C)或相比於起始體積之腫瘤消退之百分比(%消退)來測定抗腫瘤活性。在若干人類KRAS突變模型中，其包括NSCLC衍生之Calu-6 (KRAS Q61K)及NCI-H358 (KRAS G12C)異種移植物，用式(I)之化合物活體內處理引起腫瘤消退。在所有情況中，抗腫瘤作用均為劑量依賴型的。Calu-6模型對式(I)之化合物敏感，在50 mg/kg及100 mg/kg每天兩次(BID)及100及200 mg/kg每天一次(QD)及300 mg/kg每隔一天一次(Q2D)之劑量下在小鼠中觀測到腫瘤消退。在第二人類NSCLC模型NCI-H358中在200 mg/kg QD劑量下亦達成消退。另外，來自Calu-6異種移植物之劑量劃分功效研究之資料表明在不同給藥含量下，QD給藥與劃分為一天兩次(BID)給藥之式(I)之化合物顯示相似水準之抗腫瘤活性。此等結果支持在臨床中探索QD或BID給藥方案。

【0170】總體而言，所觀測到之良好耐受劑量下之式(I)之化合物之活體外及活體內MAPK路徑抑制及抗增生活性表明，式(I)之化合物在患有具有MAPK路徑中之活化病變之腫瘤之患者內可能具有抗腫瘤活性，且尤其因此可能適用作單一藥劑或與第二藥劑，諸如影響MAPK路徑之不同步

驟之抑制劑組合，用於治療具有KRAS突變之NSCLC患者。已顯示式(I)之化合物作為單一藥劑具有針對表現MAPK路徑中，例如RAS或RAF中之功能獲得型突變之各種其他癌症，包括卵巢癌、胰臟癌及黑素瘤的活性。

【0171】

實例2：式(I)之化合物與曲美替尼之組合對細胞生長之協同效應

如下測試組合式(I)之化合物與MEK1/2抑制劑曲美替尼在NRAS突變黑素瘤、KRAS突變NSCLC、KRAS突變PDAC及KRAS突變CRC中之增生及傳訊方面之作用。

【0172】 CellTiter-Glo® (CTG)發光細胞活力分析套組(Promega，Madison，WI，USA)量測在細胞裂解之後存在於孔中之ATP之量。在裂解時釋放之ATP在包括螢光素酶及其受質螢光素之酶反應中量測。發出之光之量與ATP之量成正比，其繼而與孔中之活細胞之數目成正比。此分析用於測定藥物處理之後之活細胞之比例。

【0173】 將NRAS突變黑素瘤細胞株及KRAS突變NSCLC細胞株在適當培養基中保持。

細胞株	突變	培養基*	癌症類型
Calu-6	KRAS ^{Q61K}	EMEM+10%FBS	NSCLC
A549	KRAS ^{G12S}	F12+10%FBS	NSCLC
HCC-2108	KRAS ^{Q61H}	RPMI+10%FBS	NSCLC
NCI-H2122	KRAS ^{G12C}	RPMI+10%FBS	NSCLC
NCI-H23	KRAS ^{G12C}	RPMI+10%FBS	NSCLC
NCI-H358	KRAS ^{G12C}	RPMI+10%FBS	NSCLC
NCI-H2030	KRAS ^{G12C}	RPMI+10%FBS	NSCLC
Hs 944.T	NRAS ^{Q61K}	RPMI+10%FBS	黑素瘤
IPC-298	NRAS ^{Q61L}	RPMI+10%FBS	黑素瘤
MEL-JUSO	NRAS ^{Q61L}	RPMI+10%FBS	黑素瘤
MM127	NRAS ^{G13R}	RPMI+10%FBS	黑素瘤
MM415	NRAS ^{Q61L}	RPMI+10%FBS	黑素瘤
MM485	NRAS ^{Q61R}	RPMI+10%FBS	黑素瘤
SK-MEL-2	NRAS ^{Q61R}	EMEM+10%FBS	黑素瘤

* RPMI：Roswell Park Memorial Institute培養基。

FBS：胚胎牛鹽水

EMEM：伊格爾(Eagle's)最低必需培養基

【0174】 針對NRAS突變黑素瘤株，使用0.002至10 μM 範圍內之式(I)之化合物濃度及1.52E-4至1 μM 範圍內之曲美替尼濃度在全格矩陣中評估組合。針對KRAS突變NSCLC株，使用0.014至10 μM 範圍內之式(I)之化合物濃度及0.004至2.7 μM 範圍內之曲美替尼濃度在全格矩陣或棋盤格式化矩陣中評估組合。使用在50抑制百分比(CI₅₀)作用尺寸下之協同分值(synergy score，SS)及組合指數(CI)確定在特定細胞株中組合是否協同(Lehar等人，2009)。各細胞株之此等值之概述在下表中顯示。

表：式(I)之化合物×曲美替尼協同得分及CI50值之概述

細胞株	癌症類型	KRAS 突變	洛伊協同 分值	洛伊協同 分值誤差	CI ₅₀	CI ₅₀ 誤差	協同性確定
Hs 944.T	黑素瘤	NRAS ^{Q61K}	3.48	0.13	0.34	0.06	協同
IPC-298	黑素瘤	NRAS ^{Q61L}	4.22	0.20	0.40	0.16	協同
MEL-JUSO	黑素瘤	NRAS ^{Q61L}	5.44	0.18	0.31	0.05	協同
MM127	黑素瘤	NRAS ^{G13R}	6.28	0.33	0.30	0.04	協同
MM415	黑素瘤	NRAS ^{Q61L}	2.69	0.11	0.29	0.04	協同
MM485	黑素瘤	NRAS ^{Q61R}	3.85	0.12	0.38	0.17	協同
SK-MEL-2	黑素瘤	NRAS ^{Q61R}	6.58	0.11	0.11	0.03	協同
SK-MEL-30	黑素瘤	NRAS ^{Q61K}	4.18	0.12	0.00	0.00	協同
A549	NSCLC	KRAS ^{G12S}	5.65	0.26	0.42	0.06	協同
Calu-6	NSCLC	KRAS ^{Q61K}	6.12	0.15	0.16	0.02	協同
HCC-2108	NSCLC	KRAS ^{Q61H}	4.16	0.12	0.64	0.05	協同
NCI-H2122	NSCLC	KRAS ^{G12C}	6.67	0.18	0.34	0.02	協同
NCI-H23	NSCLC	KRAS ^{G12C}	2.59	0.12	0.41	0.11	協同
NCI-H358	NSCLC	KRAS ^{G12C}	2.17	0.06	0.28	0.04	協同
NCI-	NSCLC	KRAS ^{G12C}	0.83	0.06	0.62	0.03	無協同性/相加性

®細胞株可能不係MAPK依賴型，因為單一藥劑處理亦無效果。

【0175】 使用KRAS突變PDAC及CRC模型重複研究且獲得以下結果。

表：在KRAS^{mut} PDAC及CRC中式(I)之化合物×曲美替尼協同得分及CI₅₀值之概述

細胞株	癌症類型	KRAS 突變	洛伊協同 分值	洛伊協同 分值誤差	CI ₅₀	CI ₅₀ 誤差	協同性確定
HCC-56	CRC	KRAS ^{G12V}	3.12	0.16	0.88	0.07	協同
HCT 116	CRC	KRAS ^{G13D}	5.57	0.15	0.39	0.03	協同
HCT-15	CRC	KRAS ^{G13D}	6.27	0.34	0.16	0.05	協同
SK-CO-1	CRC	KRAS ^{G12V}	2.34	0.13	0.36	0.04	協同
CFPAC-1	PDAC	KRAS ^{G12V}	3.65	0.23	0.09	0.02	協同
HPAF-II	PDAC	KRAS ^{G12D}	4.94	0.18	0.44	0.05	協同
HUP-T4	PDAC	KRAS ^{G12V}	4.21	0.15	0.00	0.00	協同
MIA PaCa-2	PDAC	KRAS ^{G12C}	3.65	0.06	0.46	0.02	協同
PSN1	PDAC	KRAS ^{G12R}	7.51	0.07	0.27	0.01	協同
QGP1	PDAC	KRAS ^{G12V}	1.55	0.07	0.42	0.03	相加/協同
SU.86.86	PDAC	KRAS ^{G12D}	3.44	0.21	0.55	0.05	協同
TCC-PAN2	PDAC	KRAS ^{G12R}	3.34	0.12	0.00	0.00	協同

【0176】 用於解釋分數/值之一般規則提供於下表中。

組合參數	效果描述
SS > 3.0且最佳C.I. > 0.5	協同
SS > 2.0且最佳C.I. < 0.5	協同
SS > 2.0且最佳C.I. > 0.5	相加/協同
SS > 1.0但< 2.0且最佳C.I. < 0.5	相加/協同
SS < 1.0且最佳C.I. < 0.5	相加

【0177】 如上表所表明，式(I)之化合物與曲美替尼在KRAS及NRAS突變細胞株中對細胞生長具有協同效應。式(I)之化合物與曲美替尼之組合在所測試之所有細胞株中除了一種以外為中等至強協同。在一種NSCLC細胞株NCI-H2030中，其中觀測到無協同性/相加性，對於式(I)之化合物或曲美替尼均無單一藥劑反應極可能係因為此模型不係MAPK依賴型的。

【0178】 式(I)之化合物與曲美替尼之組合在所有NRAS突變黑素瘤細胞中為中等至強協同。測試KRAS突變PDAC株、KRAS突變CRC株。式(I)之化合物與曲美替尼之組合在所測試之15個KRAS突變NSCLC細胞株中之14個中為中等至強協同。

【0179】 在顯示所測試之KRAS突變NSCLC株之最強協同性的NCI-H2122之實例中，洛伊過量網格展示洛伊劑量相加模型與在低劑量之式(I)之化合物及曲美替尼(0.041至0.37 μM 式(I)之化合物及0.11 μM 曲美替尼)下所觀測到之值之間的>40%的差值。實際上，單一藥劑式(I)之化合物在此等低劑量下幾乎不具有活性至無活性，低於1 μM 劑量時最大抑制值<30%，但在相同式(I)之化合物劑量下與曲美替尼之組合具有顯著協同性(洛伊過量>40%)。

【0180】 在具有所測試之所有NRAS黑素瘤細胞株中之最強協同性的SK-MEL-2中，在低劑量之曲美替尼及式(I)之化合物(0.002至0.371 μM 式(I)之化合物及0.000152至0.001 μM 曲美替尼)下存在顯著協同性。在曲美替尼之兩種最低劑量(0.000152至0.000457 μM 曲美替尼)下，與0.014至0.124 μM 範圍內之式(I)之化合物存在強協同性，在觀測到幾乎無單一藥劑活性至無單一藥劑活性之濃度下引起抗增生作用。

【0181】

式(I)之化合物及曲美替尼在KRAS及NRAS突變細胞株中抑制藥力學生物標記

為探究式(I)之化合物與曲美替尼之組合之協同抗增生作用所基於之機制，經由西方墨點分析研究此組合對MAPK傳訊之作用。用單一藥劑及組合劑量之式(I)之化合物(300nM)及曲美替尼(3nM)處理細胞4或24小時。作為與組合劑量之進一步比較，亦將細胞分別用10倍高的單一藥劑劑量3000nM及30nM之式(I)之化合物及曲美替尼處理。

【0182】 在所檢測之NRAS突變黑素瘤(IPC-298及MM415)及KRAS突變NSCLC (NCI-H23及NCI-H358)細胞株中，在抑制該路徑方面用式(I)

之化合物與曲美替尼之組合處理細胞優於任一單一藥劑單獨處理，如由相比於任一單一藥劑處理之組合中之pMEK1/2及pERK1/2之更強抑制水準所判斷。而且，由低劑量組合產生之抑制優於10倍高含量之式(I)之化合物所能達成之程度，及相似的，儘管略微不如在較高曲美替尼含量下所觀測到的穩定。因此，式(I)之化合物與曲美替尼之組合處理引起MAPK傳訊之高度協同抑制。

【0183】

實例3：式(I)之化合物與曲美替尼之組合之活體內抗腫瘤活性。

如下文所描述，在人類KRAS突變NSCLC、CRC、PDAC及NRAS突變黑素瘤異種移植模型中，發現式(I)之化合物與曲美替尼之組合處理，相比於任一單一藥劑，引起增加的腫瘤反應之深度及持久性。因此，式(I)之化合物與曲美替尼之組合活性將可能在其癌症具有活化MAPK路徑之患者內達成更大且更持久的反應。

【0184】

在KRAS突變NSCLC癌症模型中式(I)之化合物與MEK抑制劑之組合之抗腫瘤活性

已在雌性裸小鼠中確立式(I)之化合物與MEK抑制劑之組合在KRAS突變NSCLC模型Calu-6 NSCLC腫瘤中之抗腫瘤活性。當腫瘤達到約250 mm³時，根據腫瘤體積將小鼠隨機化成各處理組(n=7)。在異種移植物植入後第10天開始處理。在腫瘤細胞植入後第27天；開始處理後第17天測定抗腫瘤活性。

【0185】 在處理過程期間按10毫升給藥體積/公斤動物體重，以圖5及圖6中所指示之劑量含量每天一次(qd)或每隔一天一次(q2d)經口投與測

試藥劑。投與單一藥劑28天，且投與式(I)之化合物與曲美替尼之組合56天。一週2次藉由數位卡尺量測腫瘤體積且在整個處理過程中記錄所有動物之體重。

【0186】 在下表中報告開始處理後第17天(植入後第27天)時抗腫瘤活性、腫瘤體積之平均改變、體重之平均變化百分比及存活率。

表：在小鼠中之Calu-6人類NSCLC皮下腫瘤異種移植模型中在植入後第27天式(I)之化合物與曲美替尼之抗腫瘤功效及耐受性

藥物	劑量 (mg/kg) 及 排程	% T/C	% 腫瘤消退	腫瘤體積之改變 (mm3) 平均值 +/- SEM	體 重 之 變 化 (%) 平均值 +/- SEM	存活率(存活者 /小鼠總數)
媒劑	-			1086.91 ± 112.22	6.19 ± 0.93	7/7
式(I)之化合物	30 qd	26*		282.92 ± 91.55	-2.26 ± 0.89	7/7
曲美替尼	0.3 qd	36		395.32 ± 36.43	-1.55 ± 1.04	7/7
曲美替尼	0.3 q2d	53		574.17 ± 30.67	1.71± 1.01	7/7
式(I)之化合物+ 曲美替尼	30qd+ 0.3qd		41**	-107.68 ± 21.01	-2.49 ± 1.60	7/7
式(I)之化合物+ 曲美替尼	30qd+ 0.3q2d		13**	-33.86 ± 10.09	-3.43 ± 0.93	7/7

媒劑：未處理

qd：一天一次

q2d：每隔一天

在研究第27天對實驗進行評估。* $p=0.0039$ (式(I)之化合物30 mg/kg qd，相對於媒劑處理組)， $p<0.0001$ (式(I)之化合物30 mg/kg qd+曲美替尼0.3 mg/kg qd，及式(I)之化合物30 mg/kg qd+曲美替尼0.3 mg/kg q2d，相對於媒劑處理組)(單因素變異數分析(One-Way ANOVA)鄧恩(Dunn's)多比較測試)。

【0187】 給藥後第17天，以30 mg/kg qd給藥之式(I)之化合物達成26% T/C，而以0.3 mg/kg qd或0.3 mg/kg q2d給藥之曲美替尼分別達成

36% T/C 及 53% T/C。將以 30 mg/kg qd 給藥之式(I)之化合物與以 0.3 mg/kg qd 或 0.3 mg/kg q2d 給藥之曲美替尼組合，在給藥後第 17 天，分別達成 41% 及 13 消退(圖 5)。

【0188】 為定量評估各組中達至腫瘤進展之時間，注意腫瘤體積超越 700 mm³ 之任意截斷的天。同樣，相比於單一藥劑，式(I)之化合物與任一劑量之曲美替尼之組合達成增加的統計顯著的抗腫瘤活性。雖然在經給藥作為單一藥劑之式(I)之化合物及曲美替尼的小鼠中之腫瘤在處理下進展，但式(I)之化合物與曲美替尼一起之組合保持腫瘤消退時間長於單一療法，相比於單一藥劑，在給藥後第 28 天(腫瘤植入後第 38 天)具有顯著抗腫瘤活性。

【0189】 所有處理組亦具有良好耐受性，在研究持續時間內具有最小體重損失。除增加的反應深度之外，式(I)之化合物與曲美替尼之組合亦引起增加的反應持久性(下表及圖 6)。

表：在小鼠中之 Calu-6 人類 NSCLC 皮下腫瘤異種移植模型中在植入後第 38 天式(I)之化合物與曲美替尼之抗腫瘤功效及耐受性

藥物	劑量 (mg/kg) 及 排程	% T/C	% 腫瘤 消退	腫瘤體積 之變化 (mm ³) 平 均值+/- SEM	體重之變 化 (%) 平均值+/- SEM	存活率(存 活者 /小鼠總數)	至中值腫瘤 體積約 700 mm ³ 之天數
媒劑	-		-	-	-		
式(I)之化合物	30 qd	76	-	1040.54 ± 194.73	2.72 ± 0.66	7/7	31
曲美替尼	0.3 q2d	100	-	1364.31 ± 107.51	2.75 ± 1.93	7/7	24
曲美替尼	0.3 qd	70	-	961.52 ± 39.00	2.51 ± 1.48	7/7	27
式(I)之化合物+ 曲美替尼	30 qd+ 0.3 q2d	14*	-	195.78 ± 28.15	2.57 ± 2.88	7/7	45
式(I)之化合物+ 曲美替尼	30 qd+ 0.3 qd		17**	-44.63 ± 17.46	2.59 ± 1.50	7/7	59

媒劑：未處理

qd：一天一次

q2d：每隔一天

%T/C使用曲美替尼0.3 mg/kg q2d組計算作為對照組

在研究第38天對實驗進行評估。 $* p=0.0041$ (式(I)之化合物30 mg/kg qd+曲美替尼0.3 mg/kg q2d，相對於曲美替尼0.3 mg/kg q2d處理組)， $**p<0.0001$ (式(I)之化合物30 mg/kg qd+曲美替尼0.3 mg/kg qd，相對於曲美替尼0.3 mg/kg q2d處理組)(單因素變異數分析多比較測試)。

【0190】

在KRAS突變結腸直腸癌模型中式(I)之化合物與MEK抑制劑之組合之抗腫瘤活性

已在雌性裸小鼠中確立HCT116 (KRAS G13D)結腸直腸癌(CRC)腫瘤。當腫瘤達到約230 mm³時，根據腫瘤體積將小鼠隨機化成各處理組(n=6)。在異種移植物植入後第14天開始處理。在腫瘤細胞植入後第31天(媒劑處理小鼠之最後一天)測定抗腫瘤活性。

【0191】 在處理過程期間按10毫升給藥體積/公斤動物體重，以圖16 (A)中所指示之劑量含量每天一次(qd)或每隔一天一次(q2d)經口投與測試藥劑。一週2次藉由數位卡尺量測腫瘤體積且在整個處理過程中記錄所有動物之體重。給藥後第17天，以100 mg/kg qd給藥之式(I)之化合物達成30% T/C，而以0.3 mg/kg qd給藥之曲美替尼達成44% T/C。將以100 mg/kg qd給藥之式(I)之化合物與以0.3 mg/kg q2d給藥之曲美替尼組合，在給藥後第17天，達成26%消退(圖16)。在腫瘤植入後第24天，由於增加的體重損失殺死一隻鼠。在第31天，媒劑處理之最後一天，經式(I)之化

合物處理之小鼠之體重損失合併起來為4%；經曲美替尼處理之小鼠展現3.5%體重損失，且經式(I)之化合物與曲美替尼之組合處理之小鼠顯示9%體重損失。

【0192】

在PDAC癌症模型中式(I)之化合物與MEK抑制劑之組合之抗腫瘤活性

已在雌性裸小鼠中確立患者衍生之2043 PDAC (KRAS^{G12D})腫瘤。當腫瘤達到約230 mm³時，根據腫瘤體積將小鼠隨機化成各處理組(n=6)。在異種移植物植入後第52天開始處理。在腫瘤細胞植入後第73天測定抗腫瘤活性。

【0193】 在處理過程期間按10毫升給藥體積/公斤動物體重，以圖17 A中所指示之劑量含量每天一次(qd)或每隔一天一次(q2d)經口投與測試藥劑。一週2次藉由數位卡尺量測腫瘤體積且在整個處理過程中記錄所有動物之體重。給藥後第21天，以100 mg/kg qd給藥之式(I)之化合物達成55% T/C，而以0.3 mg/kg qd給藥之曲美替尼達成32% T/C。將以100 mg/kg qd給藥之式(I)之化合物與以0.3 mg/kg q2d給藥之曲美替尼組合，在給藥後第21天，達成35%消退(圖17)。在腫瘤植入後第66天，由於增加的體重損失殺死一隻鼠。在第73天，組合處理之最後一天，經式(I)之化合物處理之小鼠之體重損失合併起來為0.6%；經曲美替尼處理之小鼠展現0.3%體重增加，且經式(I)之化合物與曲美替尼之組合處理之小鼠顯示9.6%體重損失。

【0194】

在黑素瘤癌症模型中式(I)之化合物與MEK抑制劑之組合之抗腫瘤活性

在若干人類NRAS突變黑素瘤異種移植物中式(I)之化合物與MEK抑

制劑之組合之抗腫瘤活性研究如下。

【0195】

(i) SKMEL30黑素瘤模型

已在雌性裸小鼠中確立SKMEL30 (NRAS^{Q61K})黑素瘤腫瘤。以10 mL/kg之劑量體積投與處理。在腫瘤植入之後第12天將小鼠隨機化成處理組(n=9)，平均腫瘤體積為190 mm³。在腫瘤細胞植入後第34天；開始處理後第22天測定抗腫瘤活性。

【0196】 在處理過程期間按10毫升給藥體積/公斤動物體重，以圖18中所指示之劑量含量每天一次(qd)或每天兩次(bid)經口投與測試藥劑。一週2次藉由數位卡尺量測腫瘤體積且在整個處理過程中記錄所有動物之體重。在第34天，研究媒劑處理組之最後一天，式(I)之化合物處理引起5%腫瘤消退，而以0.3 mg/kg qd給藥之曲美替尼引起8% T/C。相比於媒劑處理組，0.15 mg/kg qd之式(I)之化合物與曲美替尼之組合引起48%腫瘤消退之進一步增加的抗腫瘤活性(圖18)。所有處理組具有良好耐受性，在研究持續時間內具有最小體重損失。在研究之持續時間內單一藥劑組持續給藥；在式(I)之化合物與曲美替尼組合組中，提供僅曲美替尼之短時給藥假期(第28天至第31天)，之後恢復完整組合直至研究之終點。

【0197】

(ii) NRAS突變黑素瘤模型20667

已在雌性裸小鼠中確立患者衍生之「20667」(NRAS^{Q61R})黑素瘤腫瘤。當腫瘤達到約300 mm³時，根據腫瘤體積將小鼠隨機化成各處理組(n=7)。在異種移植物植入後第17天開始處理。單一藥劑之抗腫瘤活性在腫瘤植入後第34天測定，而式(I)之化合物與曲美替尼之間之組合之抗腫

瘤活性在腫瘤細胞植入後第48天測定。

【0198】 在處理過程期間按10毫升給藥體積/公斤動物體重，以圖19中所指示之劑量含量每天一次(qd)或每天兩次(bid)經口投與測試藥劑。一週2次藉由數位卡尺量測腫瘤體積且在整個處理過程中記錄所有動物之體重。給藥後第17天，以100 mg/kg qd給藥之式(I)之化合物達成87% T/C，而以0.3 mg/kg qd給藥之曲美替尼達成82% T/C。將以50 mg/kg bid給藥之式(I)之化合物與以0.3 mg/kg qd給藥之曲美替尼組合，在給藥後第31天，達成68%消退(圖19)。所有處理組具有良好耐受性，在研究持續時間內具有最小體重損失。

【0199】

(iii) NRAS突變黑素瘤模型21124

已在雌性裸小鼠中確立患者衍生之「21124」(NRAS^{Q61H})黑素瘤腫瘤。當腫瘤達到約300 mm³時，根據腫瘤體積將小鼠隨機化成各處理組(n=5)。在異種移植物植入後第45天開始處理。在腫瘤細胞植入後第66天測定抗腫瘤活性。

【0200】 在處理過程期間按10毫升給藥體積/公斤動物體重，以圖20中所指示之劑量含量每天一次(qd)或每天兩次(bid)經口投與測試藥劑。一週2次藉由數位卡尺量測腫瘤體積且在整個處理過程中記錄所有動物之體重。給藥後第17天，以100 mg/kg qd給藥之式(I)之化合物達成10% T/C，而以0.3 mg/kg qd給藥之曲美替尼達成54% T/C。將以50 mg/kg bid給藥之式(I)之化合物與以0.0375 mg/kg qd給藥之曲美替尼組合，在給藥後第21天，達成40%消退(圖20)。所有處理組具有良好耐受性，在研究持續時間內無體重損失。

【0201】**(iv) NRAS突變黑素瘤模型「20864」**

已在雌性裸小鼠中確立患者衍生之「21124」(NRAS^{Q61H})黑素瘤腫瘤。當腫瘤達到約300 mm³時，根據腫瘤體積將小鼠隨機化成各處理組(n=5)。在異種移植物植入後第19天開始處理。單一藥劑之抗腫瘤活性在腫瘤植入後第33天測定，而式(I)之化合物與曲美替尼之間之組合之抗腫瘤活性在腫瘤細胞植入後第55天測定。

【0202】 在處理過程期間按10毫升給藥體積/公斤動物體重，以圖21中所指示之劑量含量每天一次(qd)或每天兩次(bid)經口投與測試藥劑。一週2次藉由數位卡尺量測腫瘤體積且在整個處理過程中記錄所有動物之體重。給藥後第14天，以50 mg/kg bid給藥之式(I)之化合物達成30% T/C，而以0.3 mg/kg qd給藥之曲美替尼達成84% T/C。將以50 mg/kg bid給藥之式(I)之化合物與以0.0375 mg/kg qd給藥之曲美替尼組合，在給藥後第36天，達成12%消退(圖21)。在第33天，在組合組中處死2隻小鼠用於藥力學研究，且在研究之其餘部分功效由n=3攜帶。所有處理組具有良好耐受性，在研究持續時間內具有最小體重損失。

【0203】 總體而言，資料表明用式(I)之化合物與曲美替尼之組合處理可在由於MAPK路徑中之功能獲得型突變而具有活化MAPK路徑之患者中達成更大且更持久反應。所測試之一些組合劑量顯示輕微體重損失(至多10%)，然而所測試之大部分之組合劑量具有良好耐受性，如藉由最小體重損失所判斷。

【0204】

實例3：在患有具有MAPK路徑改變之晚期實體腫瘤之成年患者中的式(I)

之化合物單獨及與曲美替尼組合之階段I研究

根據臨床前安全性、耐受性資料、臨床前研究中之藥物動力學(PK)及/或藥力學(PD)資料以及探索性人類有效劑量範圍投影，在此研究中式(I)之化合物作為單一藥劑之建議起始劑量及方案為100 mg經口一天一次(QD)，以最小化在可能毒性藥物含量中之暴露同時限制可能接受非活性劑量之患者之數目。

【0205】 設想100 mg、200 mg、250 mg、300 mg或400 mg之起始劑量；初步資料表明250 mg每天一次(QD)之起始劑量可對實體腫瘤有效。為了給藥之最大靈活性，式(I)之化合物可製備為用於經口投與之50 mg及/或100 mg錠劑。在臨床前研究中已表明QD方案有效且耐受。在Calu6異種移植物中，使用QD或經劃分的一天兩次(BID)方案達成相似水準之功效，表明功效與總暴露相關。預測的人類PK及預測的半衰期(約9h)亦表明QD給藥可以達成有效暴露。

【0206】 與MEK抑制劑(例如曲美替尼)組合之式(I)之化合物之劑量遞增將以針對式(I)之化合物作為單一藥劑時確認之給藥方案開始：式(I)之化合物之起始劑量可低於單一藥劑劑量。因此此劑量之選擇應最小化在可能毒性藥物含量中之暴露同時限制可能接受過低劑量而無法獲得良好功效之患者之數目。MEK抑制劑，例如曲美替尼以2 mg之均一劑量投與，其為單一藥劑建議劑量。

【0207】 在劑量擴展部分中，根據劑量遞增資料按用於藥物組合之建議劑量及方案處理組合組中之患者資料。

【0208】 在組合研究中，設想每日劑量400 mg QD之式(I)之化合物及每日劑量1 mg之曲美替尼或每日劑量400 mg之式(I)之化合物及每日劑

量2 mg之曲美替尼。式(I)之化合物之每日劑量可優先每天兩次投與，而曲美替尼之每日劑量每天一次投與。亦可投與諸如下表中之其他劑量。

表：式(I)之化合物與曲美替尼之組合之劑量含量

式(I)之化合物之每日劑量*	曲美替尼之每日劑量*
100 mg	0.5 mg、1.0 mg、1.5 mg或2.0 mg
200 mg	0.5 mg、1.0 mg、1.5 mg或2.0 mg
400 mg	0.5 mg、1.0 mg、1.5 mg或2.0 mg
800 mg	0.5 mg、1.0 mg、1.5 mg或2.0 mg
1200 mg	0.5 mg、1.0 mg、1.5 mg或2.0 mg

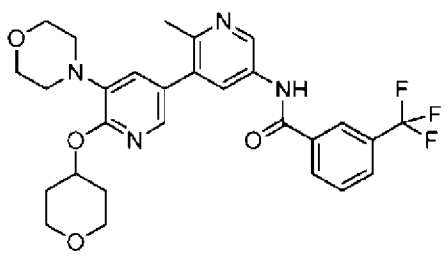
*式(I)之化合物或曲美替尼或二者之每日劑量可每天一次或每天兩次投與。

【0209】 此外，可藉由監測指示MAP激酶路徑抑制之生物標記來確定有效劑量。特定言之，DUSP6 (雙特異性磷酸酶6)係此路徑之已知生物標記，且已顯示在接受式(I)之化合物之劑量之個體中DUSP6之活體內含量下降，其與式(I)之化合物之有效血漿含量相關。因此，DUSP6可用作經式(I)之化合物處理之個體中之藥力學生物標記，無論式(I)之化合物作為單一藥劑或與MEK抑制劑組合。

【0210】

實例4：N-(2-甲基-5'-N-嗎啉基-6'-((四氫-2H-哌喃-4-基)氧基)-[3,3'-二吡啶]-5-基)-3-(三氟甲基)苯甲醯胺

式(II)之化合物為具有以下結構之嗎啉取代聯芳基化合物



化合物(II)

式(II)之化合物係B-Raf及C-Raf之抑制劑。在已發表PCT專利申請案

WO2014/151616中之實例131中揭示了該化合物且描述了其製備。

【0211】

實例4A

式(II)之化合物係突變及野生型B-Raf及C-Raf之II型抑制劑。

表5. 式(II)之化合物對B-Raf、B-Raf V600E及C-Raf之半最大抑制濃度 (IC₅₀)

目標	激酶活性抑制IC ₅₀ [mM]	1 mM下之靶向結合%
BRAF	0.0015	99.7
BRAF ^{V600E}	0.001	99.9
CRAF	0.0004	99.8

【0212】

實例4B

式(II)之化合物展現對多種表現MAPK路徑中之突變之人類癌細胞株之活性，如下表中所示。對具有BRAF或RAS中之至少一種突變之細胞株之活性尤其強。

表6. 在一組人類癌細胞株中式(II)之化合物對增生之效果。

細胞株	達拉非尼 IC ₅₀ [mM]	式(II)之化合物 IC ₅₀ [mM]	B-Raf/Ras改變
A375	0.003	0.13	BRaf突變
IPC-298	0.27	0.07	NRas突變
Calu-6	23	1.4	KRas突變
HCT116	17	0.98	KRas突變
不同腫瘤細胞株藉由劑量滴定式(II)之化合物5天來處理，且使用CellTiter-Glo™發光細胞活力分析測定細胞增生。			

【0213】

實例4C

比較在具有BRAFV600、NRAS或KRAS突變之細胞株內之式(II)之化合物與達拉非尼之活性(圖7)。在A375細胞中，分別在0.05及0.5 μM下之達拉非尼及式(II)之化合物對MEK及ERK磷酸化之抑制接近完全。相比之下，在具有NRAS或KRAS突變之三種細胞株中，0.05及0.5 μM下之達拉非尼處理引起MEK及ERK磷酸化之增加，且僅在5 μM下顯示適中抑制。相比之下，在全部三個RAS突變模型中，式(II)之化合物顯示對MEK及ERK磷酸化之劑量依賴型抑制而無明顯路徑活化(IPC-298及HCT116中之pMEK之最小活化)(圖7)。式(II)之化合物在具有不同RAS突變之細胞中與在具有BRAF V600突變之細胞中抑制路徑傳訊之能力相當，在0.5 μM下達到對pMEK及pERK之接近完全抑制。

【0214】 亦研究式(II)之化合物及達拉非尼在此等細胞株中之抗增生活性(圖8)。與傳訊資料一致，達拉非尼在BRAF^{V600E} A375細胞中顯示最強效抗增生活性(IC₅₀=0.003 μM)，在NRAS^{mut} IPC-298細胞中效力弱約100倍(IC₅₀=0.27 μM)，且在兩種KRAS^{mut}細胞株中顯示極小活性(Calu-6 IC₅₀=23 μM，HCT116 IC₅₀=17 μM)。相比之下，相比於在BRAF^{mut}模型中，式(II)之化合物在RAS^{mut}模型中顯示較小IC₅₀劑量偏移，且在所檢測之所有細胞株中展現劑量依賴型生長抑制，在A375、IPC-298、Calu-6及HCT116中IC₅₀值分別為0.13 μM、0.07 μM、1.4 μM及0.98 μM。

【0215】 使用式(I)之化合物之相似實驗亦表明式(I)之化合物產生相似結果(參見下表)。

	BRAFV600E單體 pERK IC50 [μM]	野生型(WT) RAF 二聚體 第2位點 單體 pERK IC50 [μM]	二聚體/單體抑 制比率
達拉非尼	0.005	3	600
式(I)之化合物	0.059	0.078	1.3

【0216】 此等資料表明式(I)之化合物及式(II)之化合物展現不同於RAF單體抑制劑之類別之抑制模式。其抑制RAF單體及二聚體之活性表明其在治療具有BRAF或RAS突變之腫瘤中應有效，與在RAS突變腫瘤中不大可能有效之達拉非尼相反。

【0217】

實例4D

在一組廣泛的基因特徵化人類癌細胞株模型中分析式(II)之化合物之抗增生活性。在具有BRAF、KRAS或NRAS中之突變之357細胞株中或BRAF及RAS均使用野生型357細胞株，比較式(II)之化合物之活性與達拉非尼之活性(圖9)。各資料點代表在處理3天之後細胞株中之抑制劑IC₅₀值。使用5 μM之抑制劑IC₅₀作為截斷，在各基因組中指示針對式(II)之化合物及達拉非尼之敏感(IC₅₀<5 μM)及不敏感(IC₅₀>5 μM)株之數目。舉例而言，式(II)之化合物在具有非V600突變具有或不具有同現KRAS突變之癌細胞株中顯示抗增生活性，該等癌細胞株包括卵巢癌細胞株Hey-A8 (KRAS^{G12D}/BRAF^{G464E}，IC₅₀=0.63 μM)、乳癌細胞株MDA-MB-231 (KRAS^{G13D}/BRAF^{G464V}，IC₅₀=3.4 μM)及肺癌細胞株NCI-H1666 (BRAF^{G466V}，IC₅₀=3.97 μM)。相比之下，BRAF單體抑制劑達拉非尼在全部三種細胞株模型中具有IC₅₀>30 μM。藉由費雪精確測試分析資料以評估相比於野生型細胞株，在突變組中細胞株對抑制劑處理之敏感度是否顯著增加。針對式(II)之化合物，相比於野生型之細胞株，具有B-Raf、KRAS或N-Ras突變之細胞株展現顯著增加的敏感度，p值分別為3.09×10⁻¹⁷、1.19×10⁻⁴及1.26×10⁻⁶。優勢比分別為28.9、4.6及10.6。相比之下，僅在具有B-Raf突變但不具有KRAS或N-Ras突變之細胞株內顯著存

在對達拉非尼之較高敏感度，p值分別為 1.9×10^{-15} ，0.11及0.25。

【0218】

實例5：在KRAS突變NSCLC模型中式(II)之化合物之抗腫瘤活性

在活體內KRAS突變Calu-6模型中研究式(II)之化合物之傳訊抑制及抗腫瘤功效。藉由以50% Matrigel™皮下植入細胞至雌性裸鼠(6至8週齡)之右側腹來產生Calu-6腫瘤異種移植物。將腫瘤攜帶小鼠隨機化成處理組且用跨廣泛劑量範圍(10至200 mg/kg)之單個經口劑量之式(II)之化合物處理。隨後在給藥後之多個時間點收集腫瘤組織，使用中尺度發現(MesoScale Discovery，MSD)平台或藉由定量PCR (qPCR)之DUSP6 mRNA來得到磷酸化及總MEK1/2之含量。如圖10中所示，經式(II)之化合物處理在程度及持續時間方面皆以劑量依賴型方式引起MEK磷酸化之抑制。100及200 mg/kg下之式(II)之化合物能夠超過16小時抑制磷酸化MEK (pMEK)至高於50%。隨後，在相同腫瘤異種移植模型中評估式(II)之化合物之抗腫瘤功效(圖11)。以每天經口投與(qd)媒劑、10 mg/kg、30 mg/kg、100 mg/kg或200 mg/kg之式(II)之化合物來對腫瘤攜帶動物給藥19天。藉由評估處理組中之腫瘤體積相對於媒劑處理組中之腫瘤體積之百分比(% T/C)或相比於起始體積之腫瘤消退之百分比(%消退)來測定抗腫瘤活性。在隨機化時收集腫瘤體積及體重且在研究期間每週收集兩次。藉由使用卡尺量測且使用經修改的橢球公式來計算確定腫瘤體積：腫瘤體積(TV)(mm³)=[((l×w²) ×3.14159)) / 6]，其中l係腫瘤之最長軸且w垂直於l。與pMEK抑制一致，由30 mg/kg開始用式(II)之化合物處理引起劑量依賴型抗腫瘤活性(圖11)。用30 mg/kg之式(II)之化合物處理引起52% T/C，而以100 mg/kg及200 mg/kg處理分別引起47%及88%之腫瘤消退，

與兩種較高劑量含量下之更持久路徑抑制一致。

【0219】 為進一步評估式(II)之化合物之抗腫瘤活性，在衍生自患有非小細胞肺癌(NSCLC)之患者之23個患者衍生異種移植(PDX)模型中進行式(II)之化合物功效之大規模活體內篩檢(圖12)。腫瘤反應呈現為經式(II)之化合物處理之腫瘤體積之最佳平均百分比改變之瀑布曲線，且將腫瘤標註其RAS或BRAF之突變狀況。在NSCLC PDX腫瘤之子組中，其中具有B-Raf、N-Ras或KRAS之突變之腫瘤在較好反應者中增濃，以60 mg/kg或200 mg/kg每天給藥之式(II)之化合物(▼)引起腫瘤生長抑制。B-Raf突變腫瘤中之一者HLUX1323具有已顯示活化經由Raf二聚介導之傳訊之D594N突變，且式(II)之化合物在此模型中引起26%之腫瘤縮減。此等資料進一步支持式(II)之化合物在Ras及B-Raf突變癌細胞中之抗癌功效，此係由於其在抑制Raf單體或二聚體及致癌MEK/ERK傳訊方面之選擇性活性。

【0220】

實例6：式(II)之化合物與MEK抑制劑之協同效應。

在寬劑量範圍上用作為單一藥劑之式(II)之化合物或曲美替尼或用呈組合形式之二者處理之後，量測HPAF-II細胞(KRAS突變)之生長抑制。產生等效線圖及協同得分來評估組合活性。如圖13中所示，式(II)之化合物與曲美替尼組合在抑制HPAF-II細胞生長方面具有協同效應，洛伊協同分值为11.1。

【0221】 為評估，相對於任一藥劑單獨，組合治療對傳訊抑制之效果，將攜帶HPAF-II異種移植腫瘤之裸鼠單次給藥100 mg/kg之式(II)之化合物、0.3 mg/kg之曲美替尼處理或兩種抑制劑組合處理。作為路徑活性

之量度之DUSP6 mRNA含量在給藥後之多個時間點收集之腫瘤樣品中測定。如圖14中所示，相比於媒劑對照組，式(II)之化合物處理在給藥後4小時(hrs)時引起DUSP6之83%抑制，然而此抑制並不持久，如由在給藥後16小時及24小時時增加的DUSP6之含量所表明。類似地，曲美替尼處理引起DUSP6之部分且暫時抑制。相比之下，式(II)之化合物與曲美替尼之組合引起更持續的DUSP6抑制，甚至在給藥後16小時時亦顯示出高於80%之抑制。評估在相同腫瘤異種移植模型中不同處理之抗腫瘤功效：向腫瘤攜帶動物給藥媒劑、100 mg/kg qd之式(II)之化合物、0.3 mg/kg qd之曲美替尼或兩者之組合10天(圖15)。與DUSP6抑制一致，相比於任一單一藥劑單獨，式(II)之化合物與曲美替尼之組合處理引起更大抗腫瘤活性，相比於分別藉由式(II)之化合物或曲美替尼之40% T/C或54% T/C，產生33%消退(圖15)。總體而言，資料表明用式(II)之化合物與曲美替尼之組合處理在由於MAPK路徑中之功能獲得型突變而具有活化MAPK路徑之患者中達成更大且更持久反應。亦預期，相比於任一處理單獨，式(I)之化合物與曲美替尼組合在由於MAPK路徑中之功能獲得型突變而具有活化MAPK路徑之患者中達成更大且更持久反應，產生增強的抗腫瘤活性。

【0222】

參考併入

本文中提及之所有公開案、專利及寄存編號以全文引用的方式併入本文中，如同各個別公開案或專利專門且單獨地指定為以引用之方式併入。

【0223】

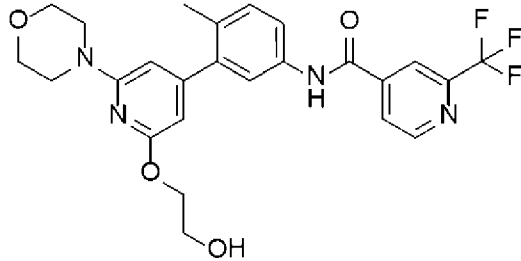
等效物

儘管已論述本發明之特定實施例，但以上說明為說明性而非限制性。當回顧本說明書及下文申請專利範圍時，本發明之許多變化形式將對於熟習此項技術者變得顯而易見。本發明之完整範疇以及其等效物之完整範疇，及說明書，以及此類變化形式，應參照申請專利範圍確定。

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種醫藥組合，其包含式(I)之化合物



(I) ,

或其醫藥學上可接受之鹽，

及(b) 曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物。

【第2項】

如請求項1之醫藥組合，其中該式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽以及曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物係於同時、依序或分別投與。

【第3項】

如請求項1或2之醫藥組合，其中該曲美替尼呈二甲亞砜溶劑合物之形式。

【第4項】

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至3中任一項之醫藥組合及至少一種醫藥學上可接受之載劑。

【第5項】

一種如請求項1至3中任一項之醫藥組合或如請求項4之醫藥組合物於製備用於治療癌症之藥劑的用途。

【第6項】

如請求項5之用途，其中該癌症為黑素瘤、非小細胞肺癌(NSCLC)、結腸直腸癌(CRC)、卵巢癌、子宮頸癌或胰管腺癌(PADC)，或其中該癌症表現MAPK突變，或其中該癌症為NRAS突變或K-RAS突變。

【第7項】

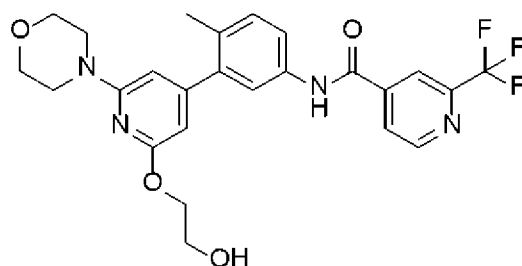
如請求項5或6之用途，其中該癌症之特徵為選自由以下組成之群之突變：BRAF、NRAS、KRAS突變及其組合。

【第8項】

如請求項5或6之用途，其中該癌症選自由以下組成之群：KRAS突變NSCLC (非小細胞肺癌)、NRAS突變黑素瘤、KRAS突變卵巢癌及KRAS突變胰臟癌。

【第9項】

一種式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽於製備用於治療癌症之藥劑的用途，其中該藥劑進一步包含曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物，或該藥劑係用於與曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物組合投與：



(I)。

【第10項】

如請求項9之用途，其中該癌症為黑素瘤、非小細胞肺癌(NSCLC)、結腸直腸癌(CRC)、卵巢癌、子宮頸癌或胰管腺癌(PADC)。

【第11項】

如請求項9或10之用途，其中該癌症之特徵為選自由以下組成之群之突變：BRAF、NRAS、KRAS突變及其組合。

【第12項】

如請求項9或10之用途，其中該癌症為N-RAS突變黑素瘤、或NSCLC，其中該NSCLC為

- (a) KRAS突變NSCLC、BRAF突變NSCLC或KRAS突變及BRAF突變NSCLC二者；或
- (b) 特徵為BRAF V600E突變或BRAF非V600E突變。

【第13項】

如請求項5、6、9或10之用途，其中該癌症為晚期或轉移性癌症。

【第14項】

如請求項5、6、9或10之用途，其中該癌症為BRAF V600突變黑素瘤或BRAF V600突變NSCLC。

【第15項】

如請求項14之用途，其中該黑素瘤不再對使用BRAF抑制劑及/或MEK抑制劑之治療作出反應，其中該BRAF抑制劑係選自達拉非尼(dabrafenib)或維羅非尼(vemurafenib)，該MEK抑制劑係選自曲美替尼或考比替尼。

【第16項】

如請求項5、6、9或10之用途，其中該癌症為BRAF V600突變黑素瘤，其對使用達拉非尼與曲美替尼之組合之治療或維羅非尼與考比替尼之組合之治療具有耐藥性；或其中該癌症為BRAF V600突變NSCLC，其對使用達拉非尼與曲美替尼之組合之治療具有耐藥性。

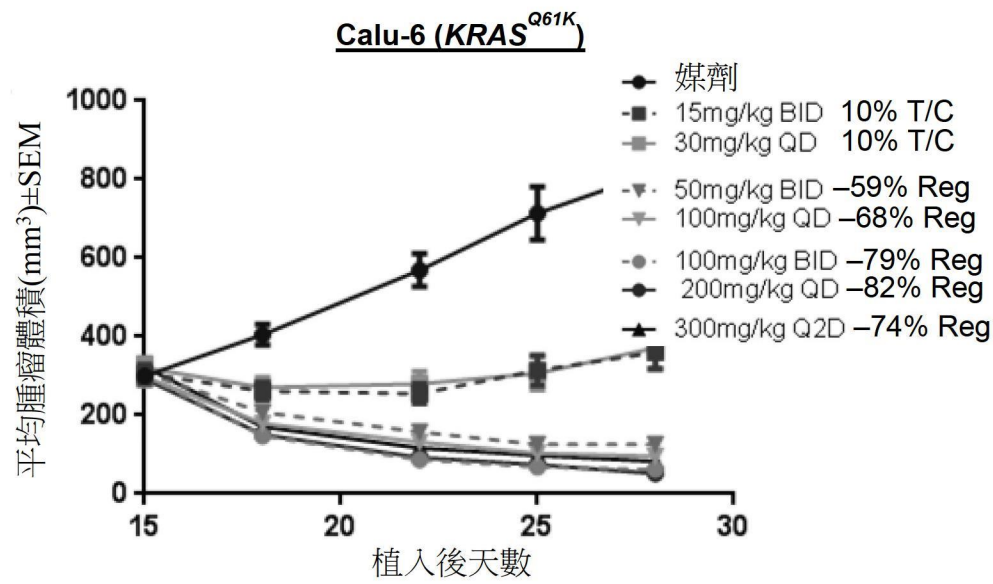
【第17項】

如請求項9或10之用途，其中該式(I)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽以及曲美替尼或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物係於同時、依序或分別投與。

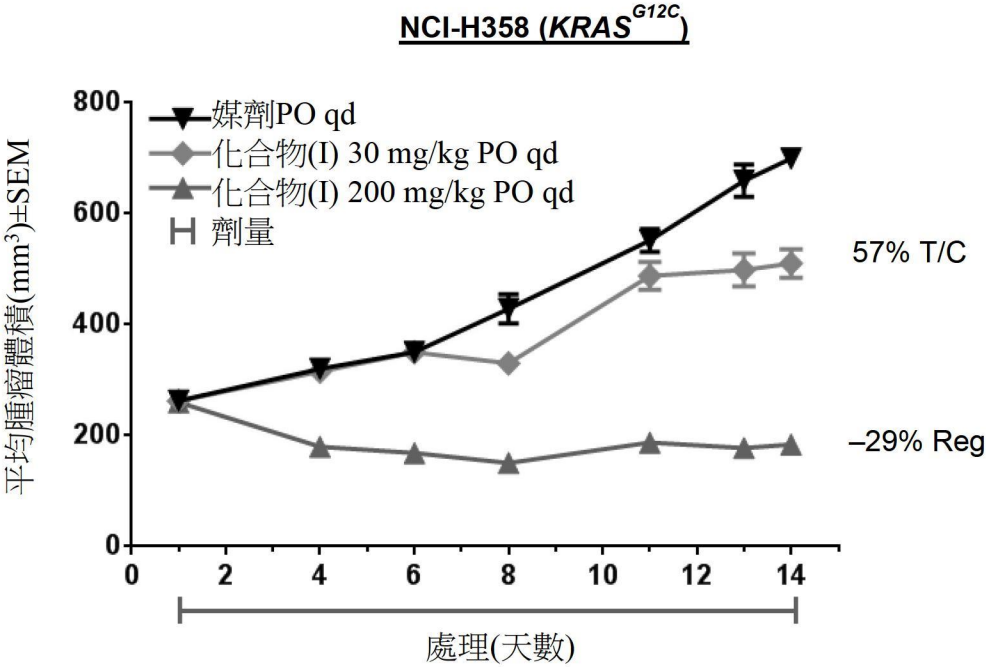
【第18項】

如請求項9或10之用途，其中該曲美替尼呈二甲亞砷溶劑合物之形式。

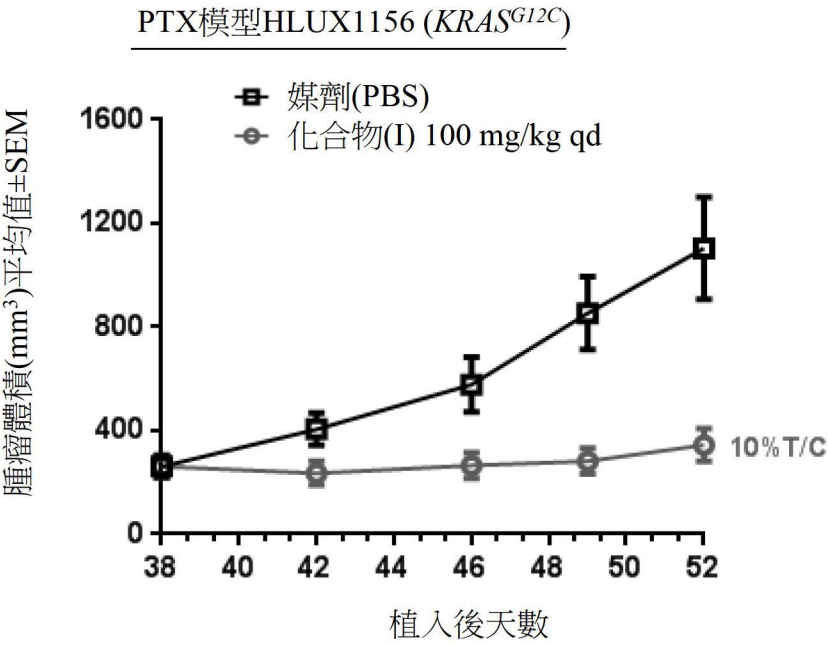
【發明圖式】



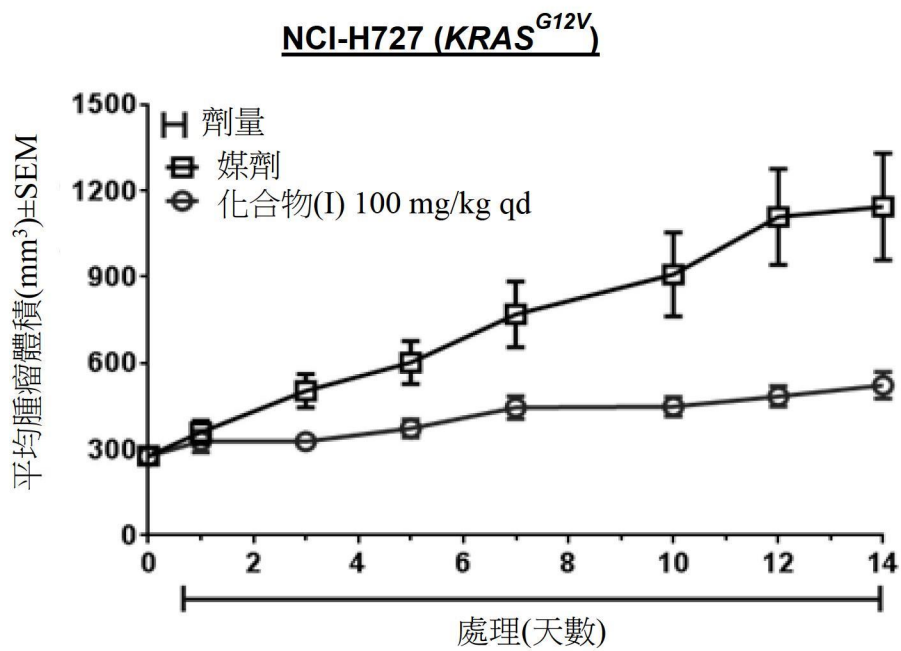
【圖1】



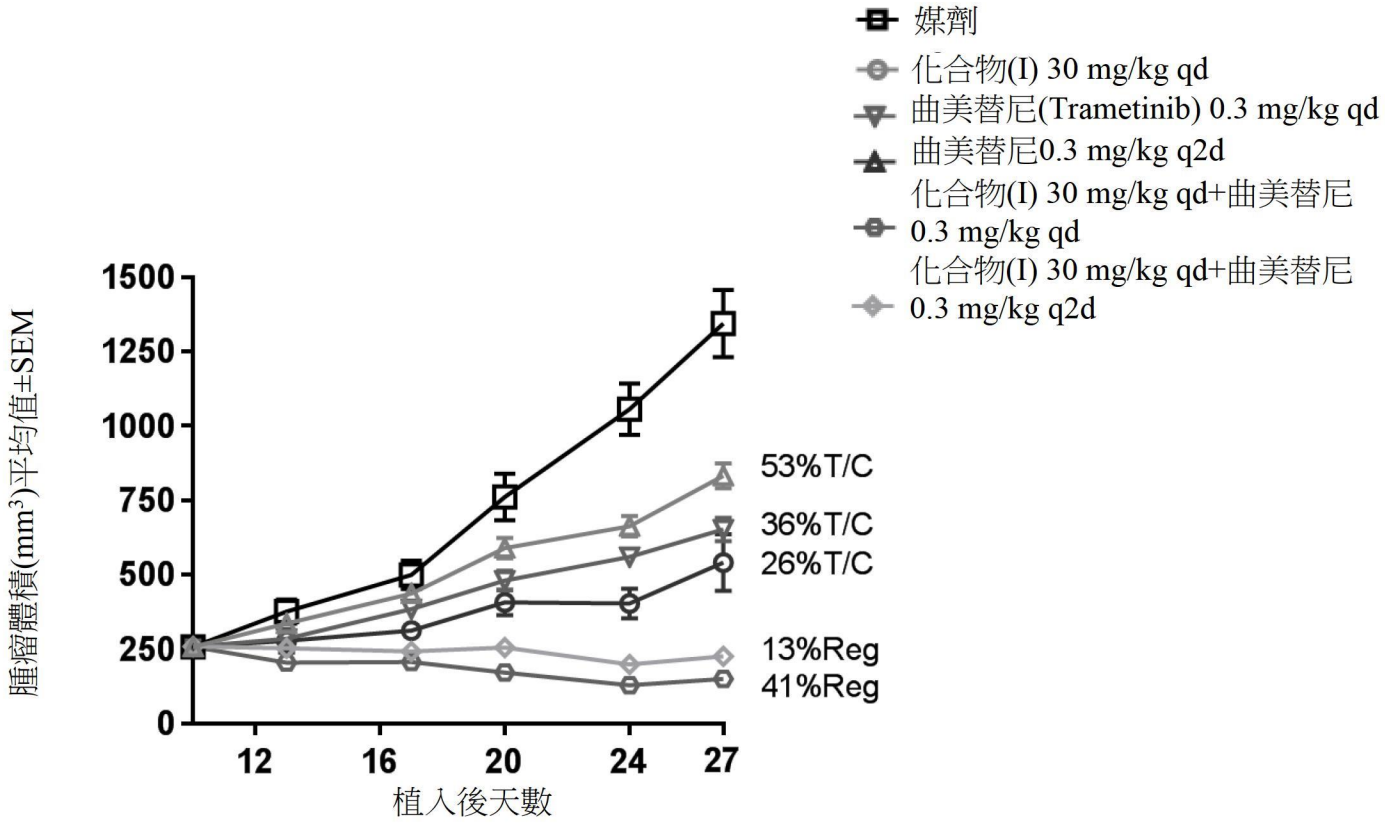
【圖2】



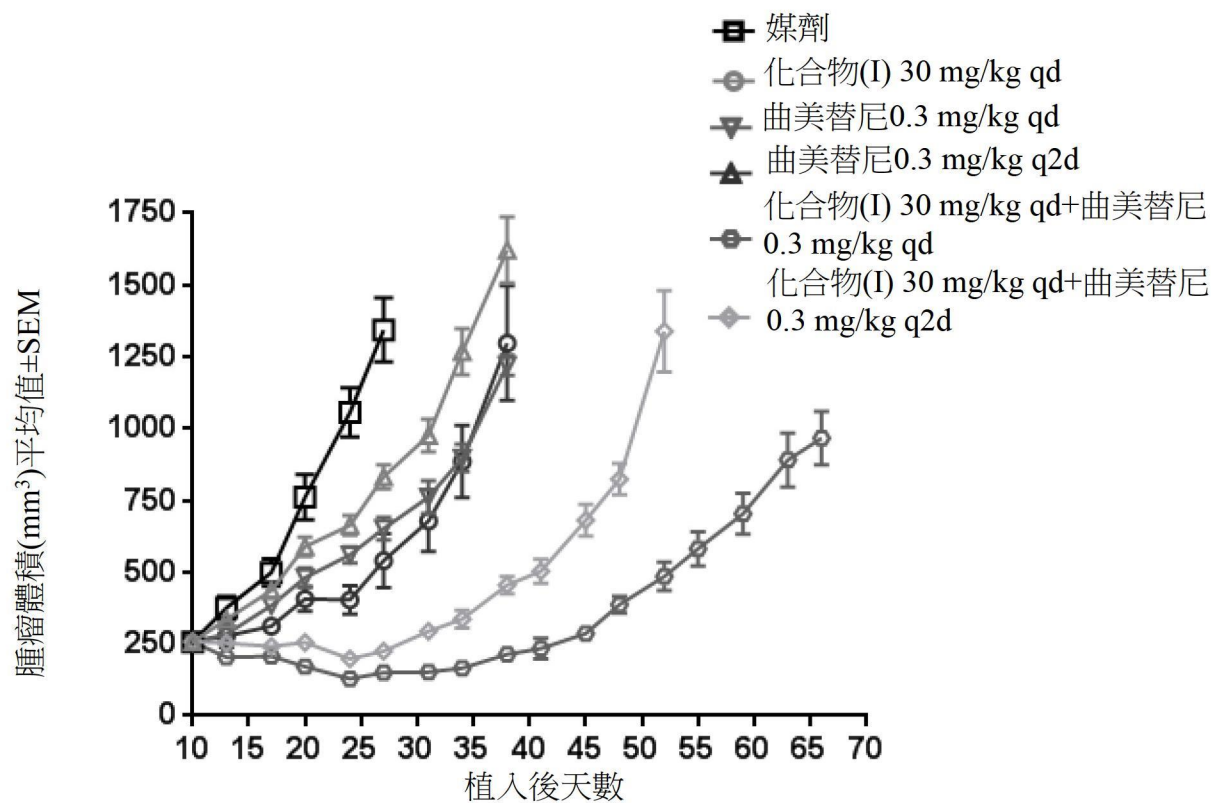
【圖3】



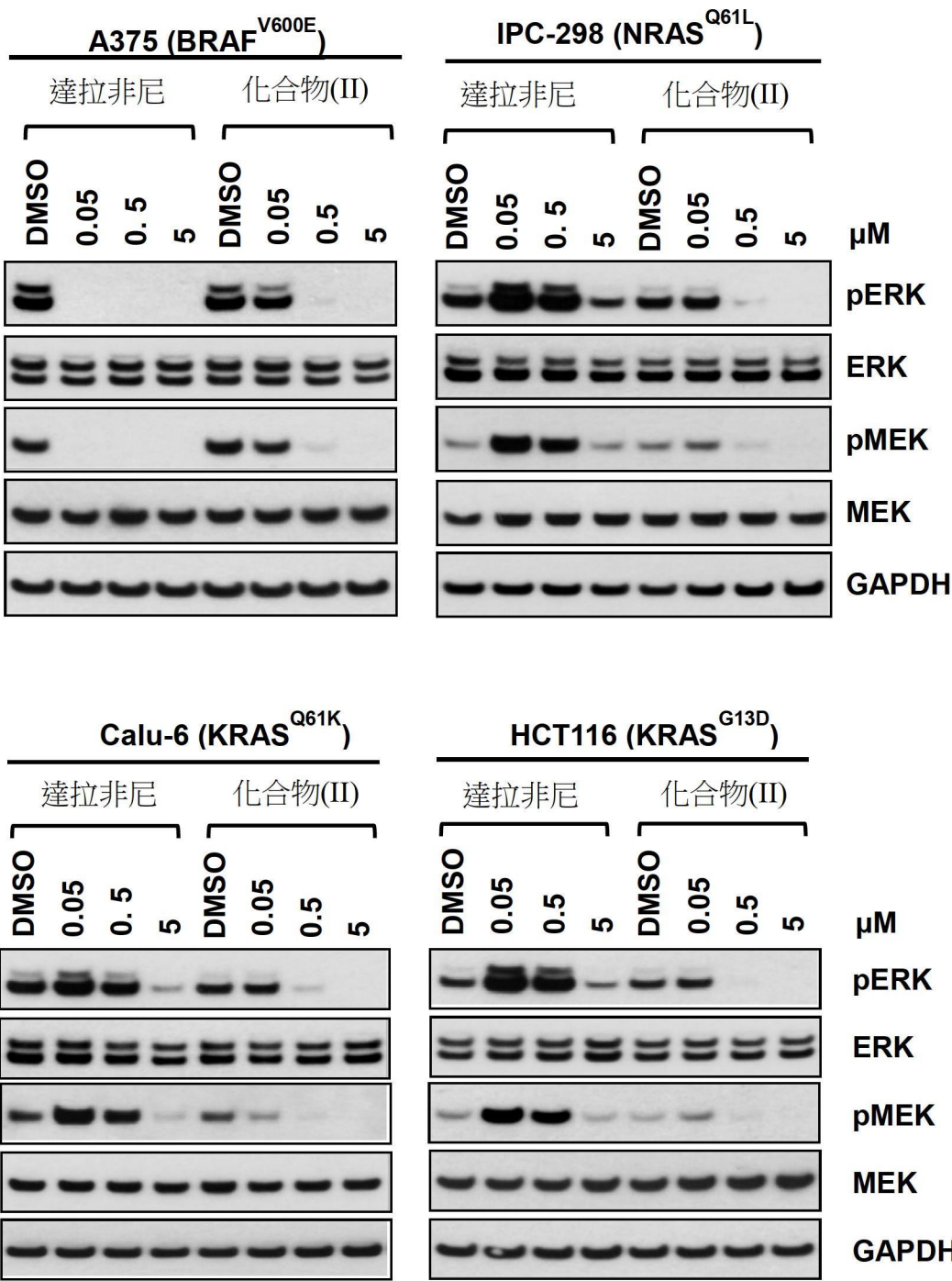
【圖4】



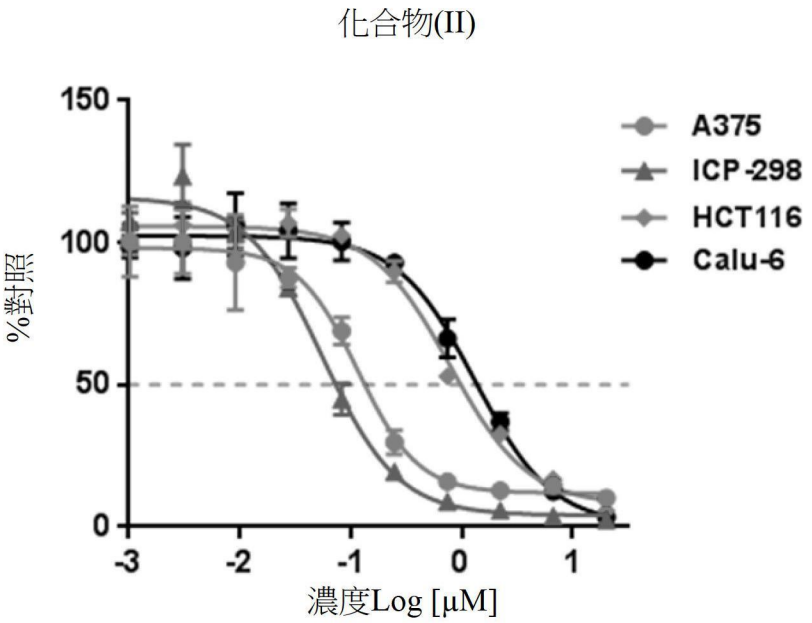
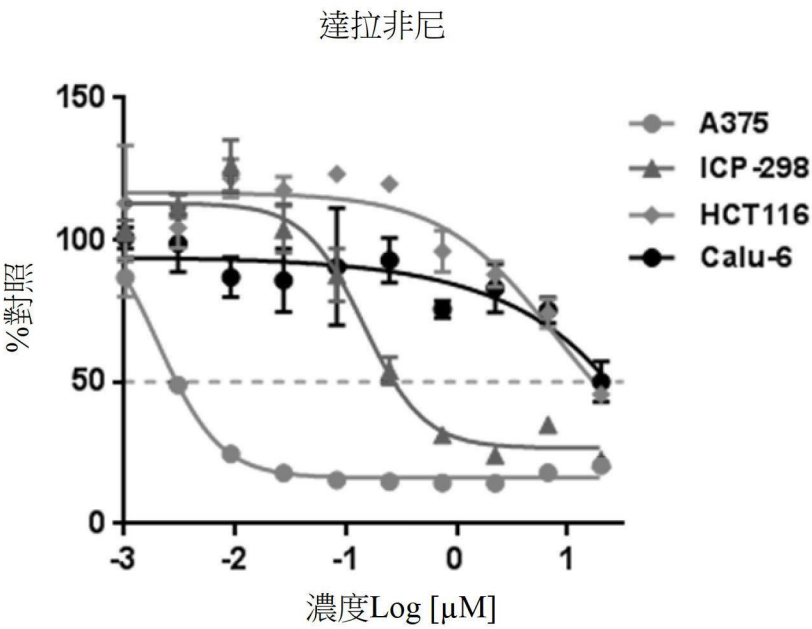
【圖5】



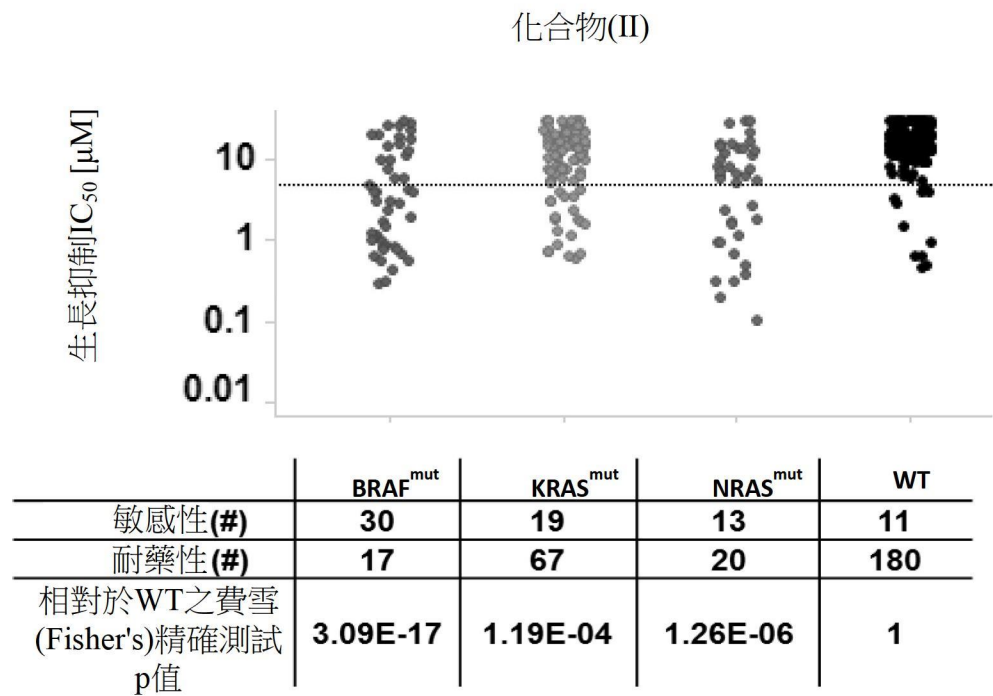
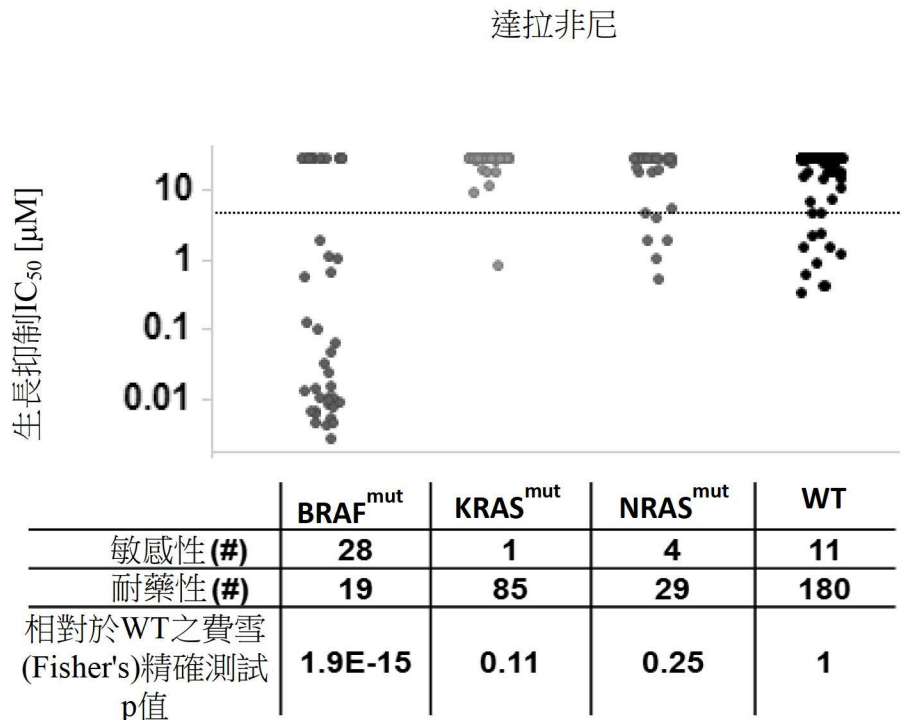
【圖6】



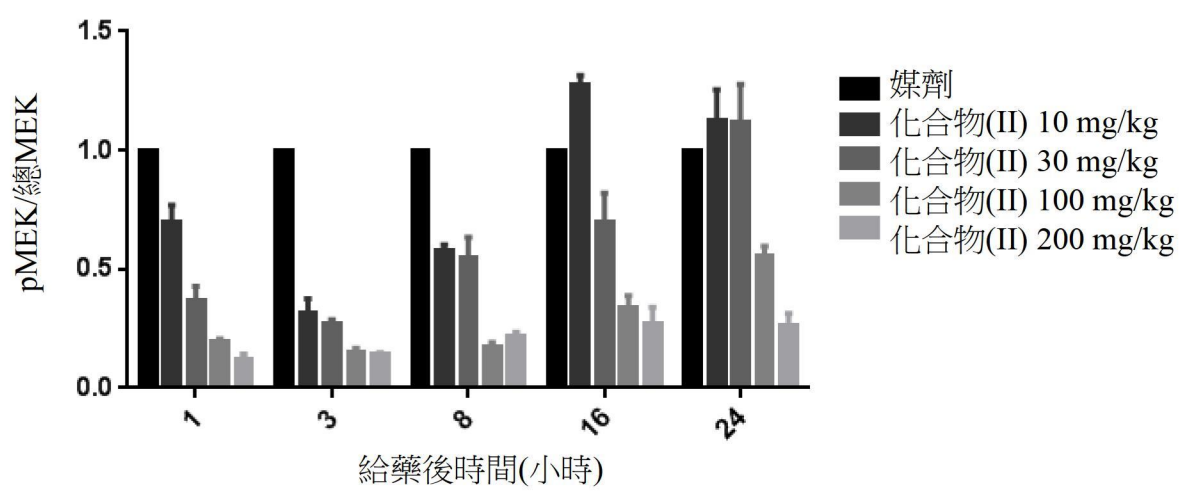
【圖7】



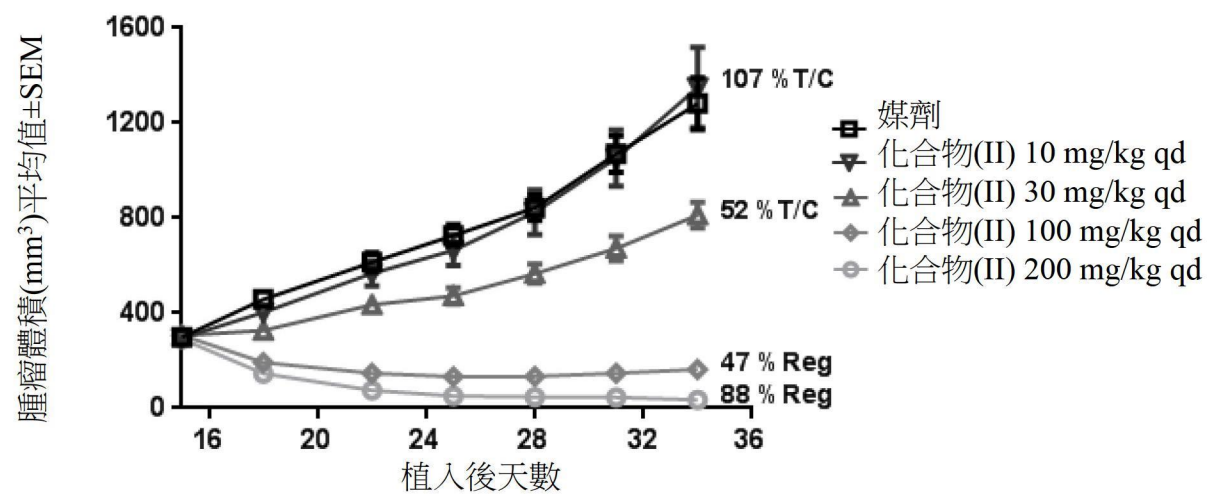
【圖8】



【圖9】

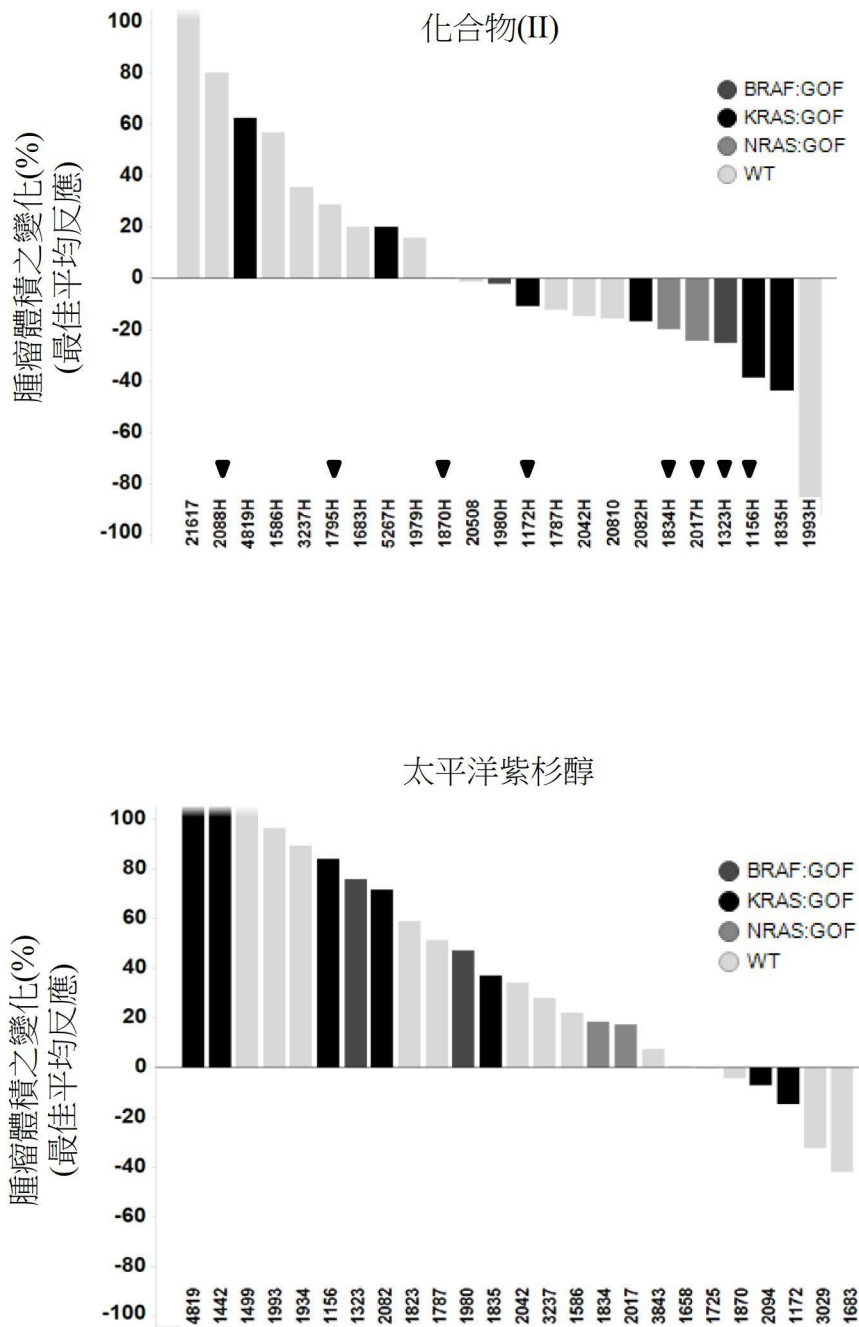


【圖10】

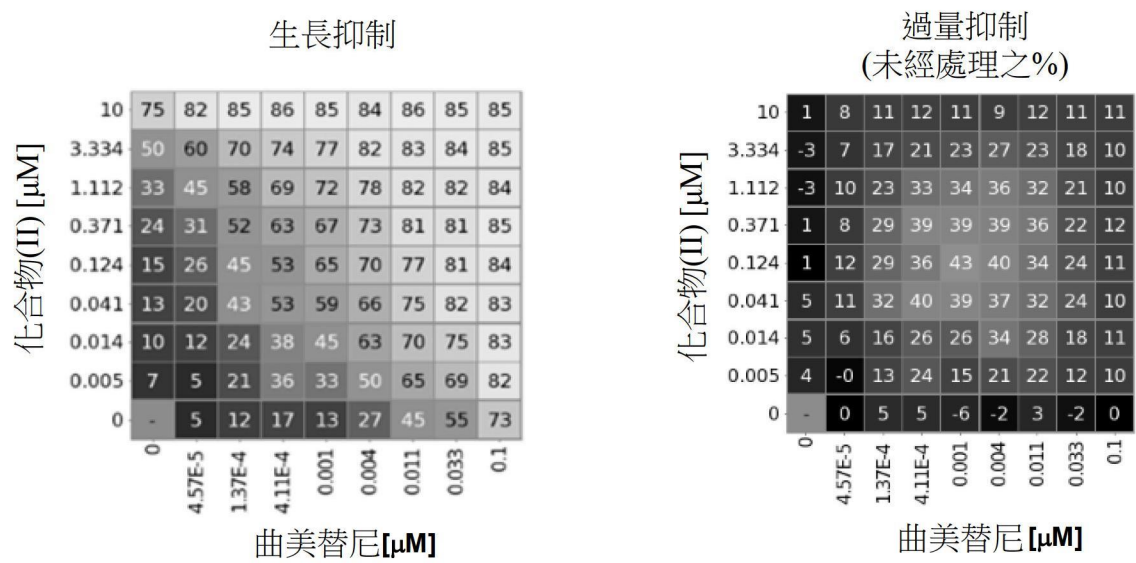


【圖11】

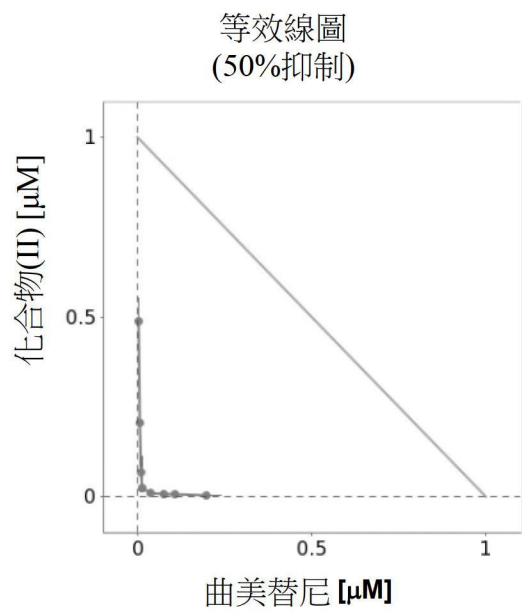
NSCLC原生腫瘤異種移植(PTX)模型



【圖12】

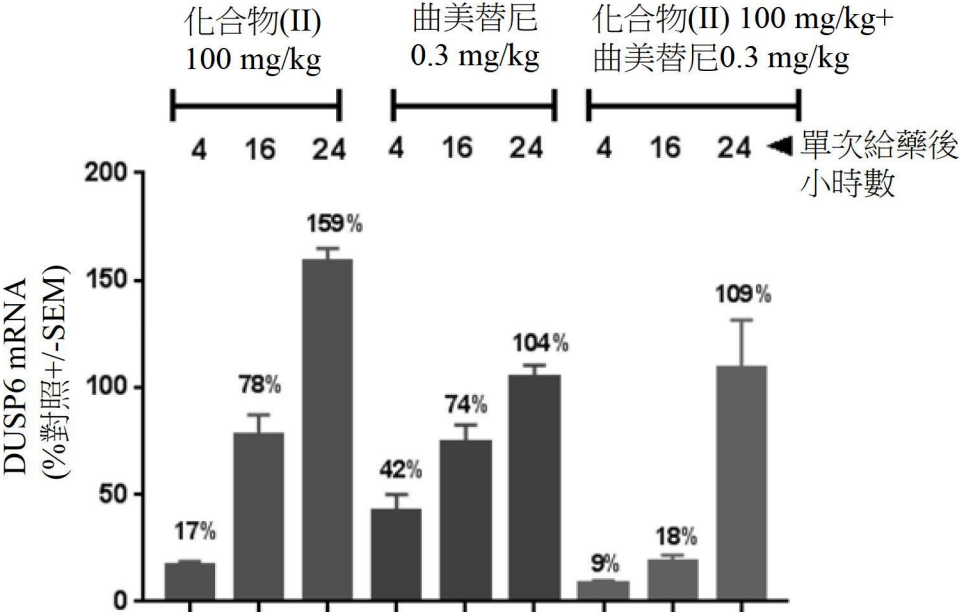


洛伊(Loewe)協同分值=11.1

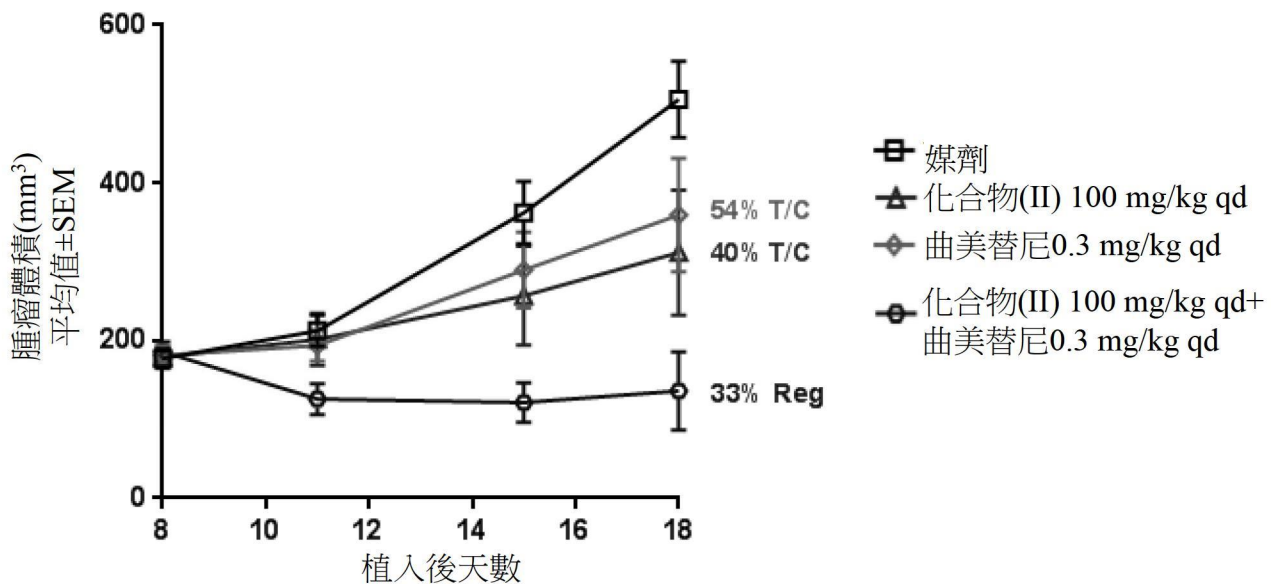


50%抑制下之洛伊CI =0.032

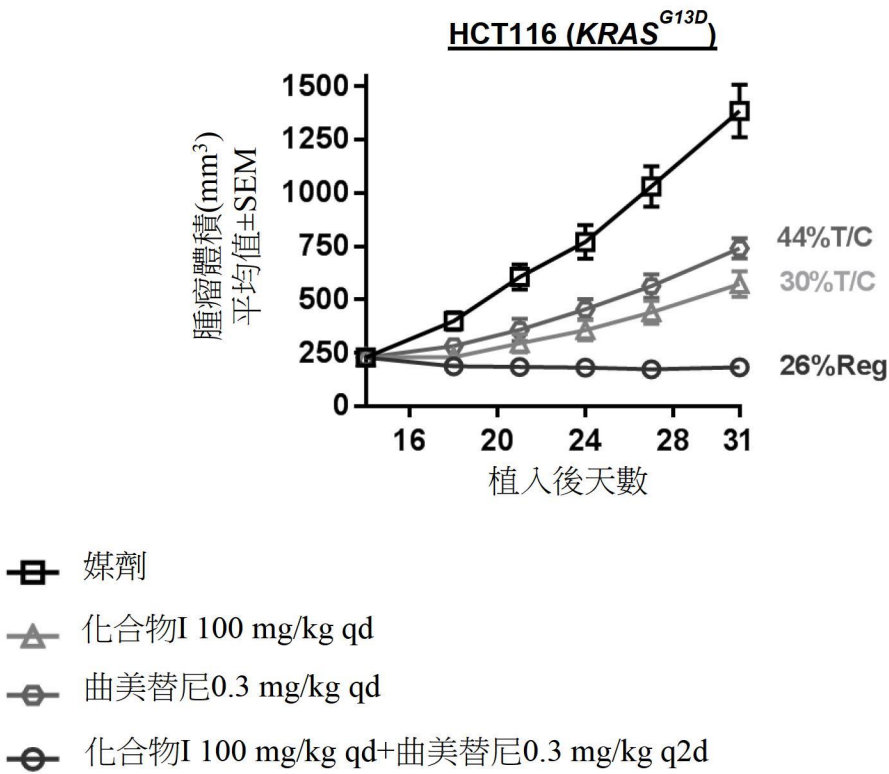
【圖13】



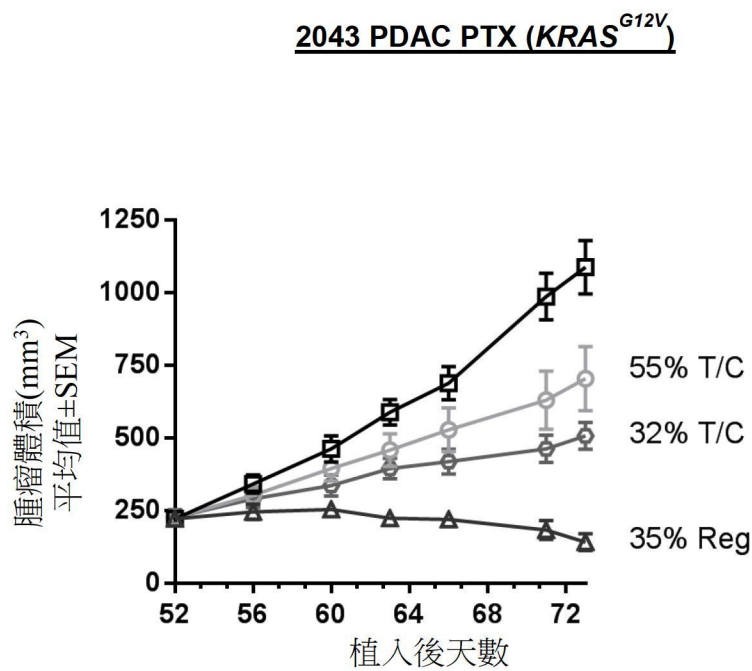
【圖14】



【圖15】

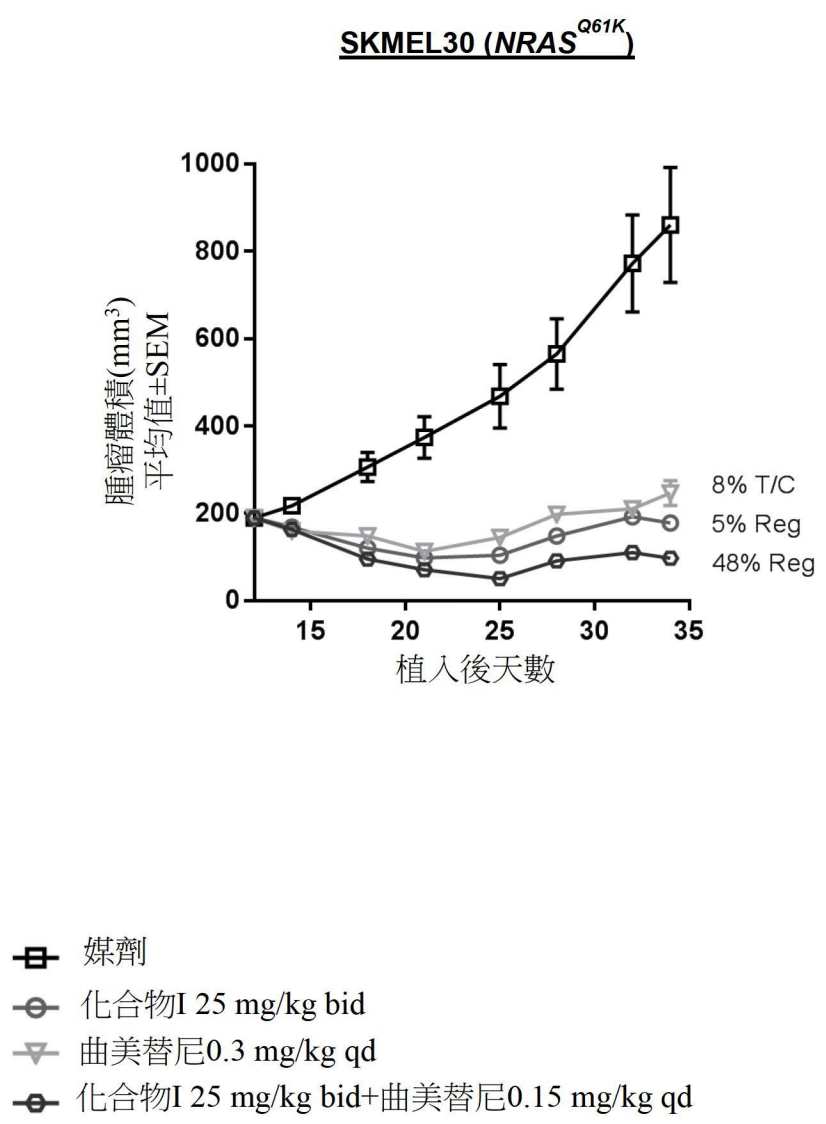


【圖16】



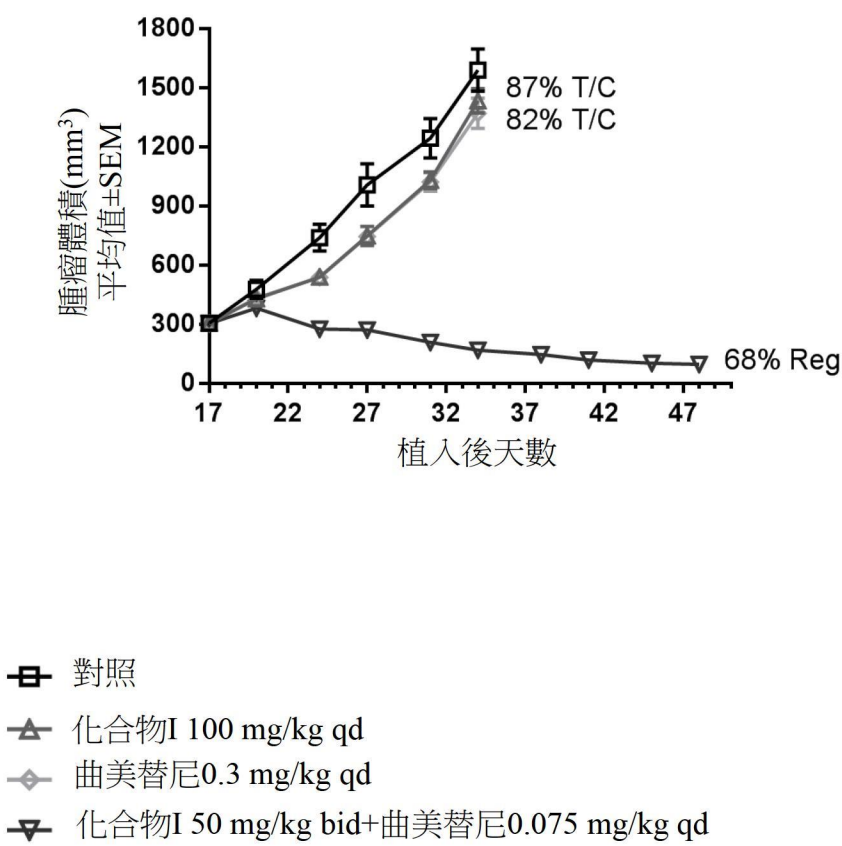
- 媒劑
- 化合物I 100 mg/kg qd
- 曲美替尼0.3 mg/kg qd
- ▲ 化合物I 100 mg/kg qd+CFF272 0.3mpk q2d

【圖17】

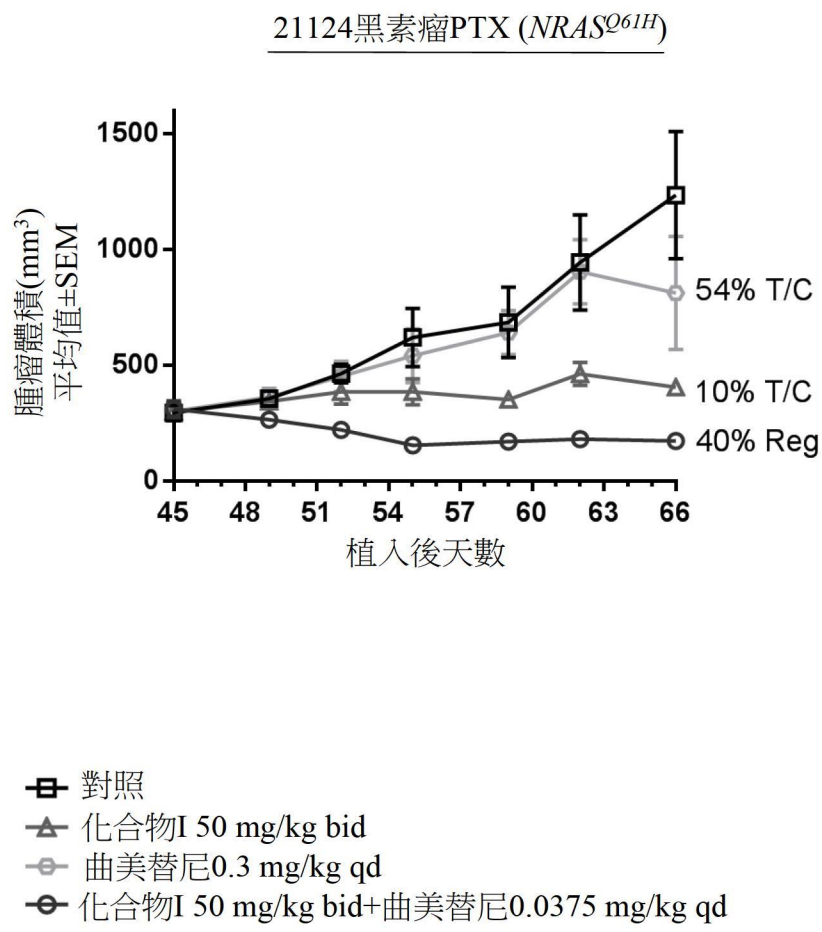


【圖18】

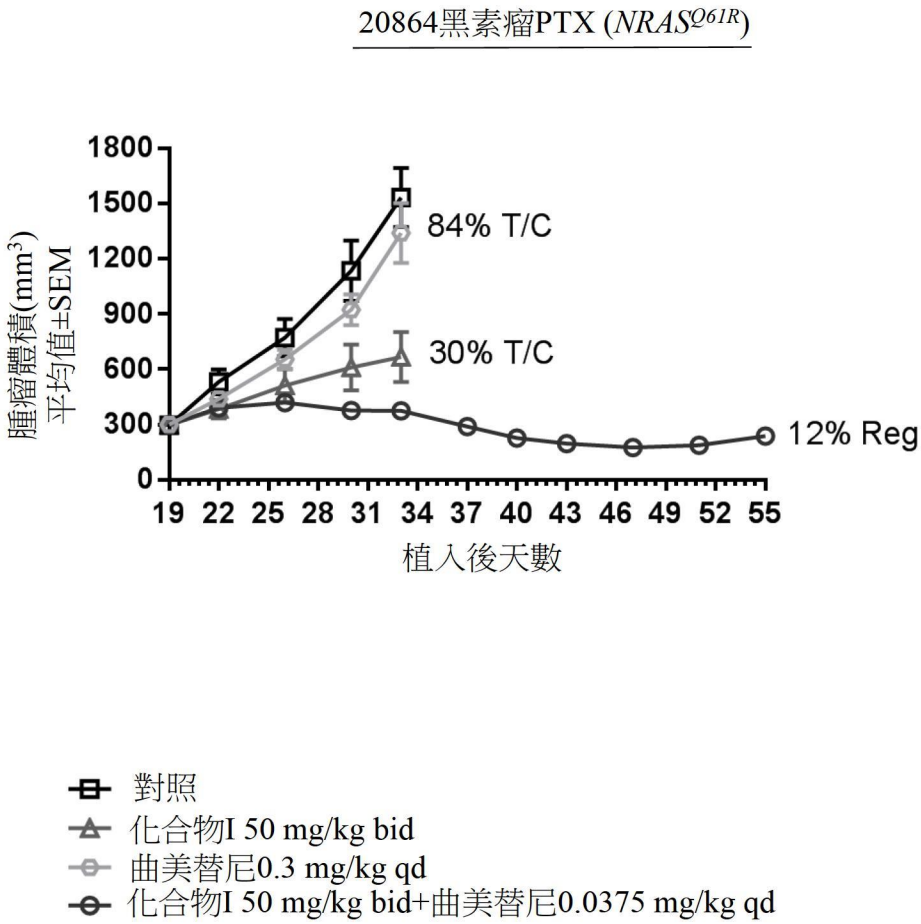
20667黑素瘤PTX (NRAS^{Q61R})



【圖19】



【圖20】



【圖21】