



(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 I812581 B

(45)公告日：中華民國 112 (2023) 年 08 月 21 日

(21)申請案號：105115929

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 05 月 20 日

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

A61K45/06 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2015/05/22 美國

62/165,813

(71)申請人：美商普雷辛肯公司 (美國) PLEXXIKON, INC. (US)

美國

(72)發明人：伊布拉辛 普拉哈 N IBRAHIM, PRABHA N. (US)；張 超 ZHANG, CHAO (US)；史匹維克 韋恩 SPEVAK, WAYNE (US)；張 家仲 ZHANG, JIAZHONG (US)；伍 國賢 WU, GUOXIAN (US)；林 傑克 LIN, JACK (US)；邱 哈納 CHO, HANNA (US)；南斯皮 馬瑞卡 NESPI, MARIKA (US)；施 松遠 SHI, SONGYUAN (US)；艾文 陶德 EWING, TODD (US)；張 穎 ZHANG, YING (US)；布洛 吉迪恩 BOLLAG, GIDEON (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

US 2014357612A1

審查人員：吳祖漢

申請專利範圍項數：32 項 圖式數：3 共 88 頁

(54)名稱

激酶調節及其適應症

(57)摘要

本發明提供治療罹患 BRAF V600 突變或 BRAF 融合突變相關之疾病或病狀或處於其風險中之個體，但不活化含有野生型 BRAF 之細胞中的 MAPK 路徑或不誘導含有野生型 BRAF 之細胞表現 MAPK 路徑基因的方法。

The present disclosure provides methods of treating a subject suffering from or at risk of a BRAF V600 mutation or BRAF fusion mutation related disease or condition, without activating the MAPK pathway or inducing expression of MAPK pathway genes in cells harboring wild-type BRAF.

指定代表圖：

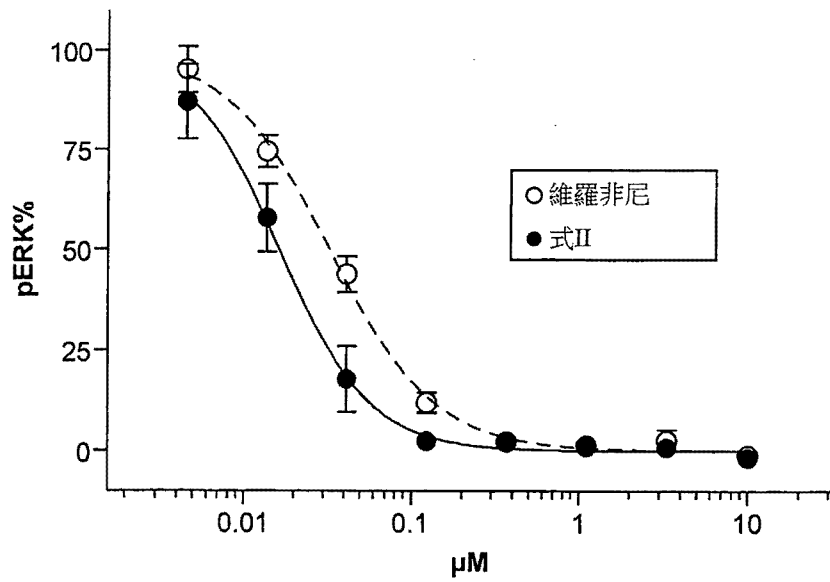
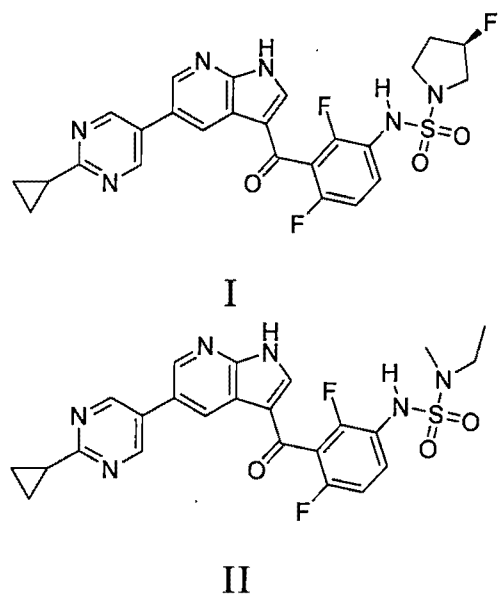


圖1A

特徵化學式：



I812581

發明摘要

※ 申請案號：105115929

※ 申請日：105年5月20日

※IPC 分類：

A61K 31/506 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

【發明名稱】

激酶調節及其適應症

KINASE MODULATION, AND INDICATIONS THEREFOR

【中文】

本發明提供治療罹患BRAF V600突變或BRAF融合突變相關之疾病或病狀或處於其風險中之個體，但不活化含有野生型BRAF之細胞中的MAPK路徑或不誘導含有野生型BRAF之細胞表現MAPK路徑基因的方法。

【英文】

The present disclosure provides methods of treating a subject suffering from or at risk of a BRAF V600 mutation or BRAF fusion mutation related disease or condition, without activating the MAPK pathway or inducing expression of MAPK pathway genes in cells harboring wild-type BRAF.

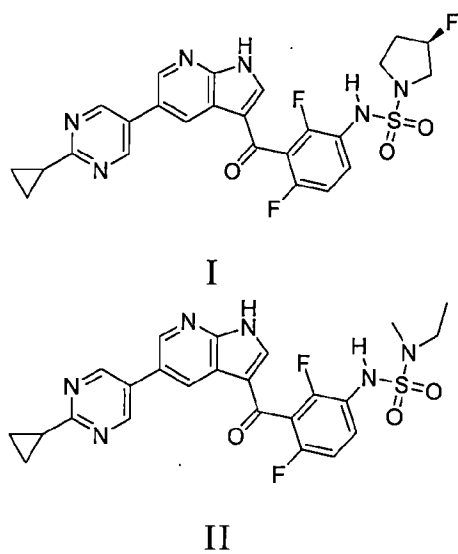
【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（1A）圖。

【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】

激酶調節及其適應症

KINASE MODULATION, AND INDICATIONS THEREFOR

相關申請案之交叉參考

本申請案依據35 U.S.C.§119(e)主張2015年5月22日申請之美國臨時申請案第62/165,813號之權益，該案以全文引用的方式併入本文中。

【技術領域】

本發明大體上係關於治療罹患BRAF V600突變或BRAF融合突變相關之疾病或病狀或處於其風險中之個體經，但不活化含有野生型BRAF之細胞中的MAPK路徑或不誘導含有野生型BRAF之細胞表現MAPK路徑基因的方法。

【先前技術】

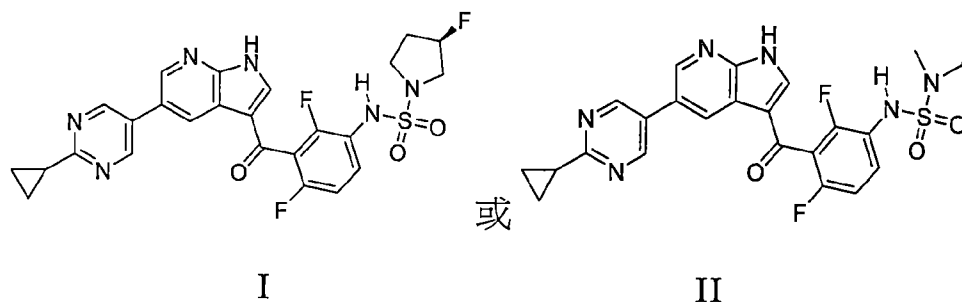
已努力開發阻斷突變型B-Raf激酶(BRAF)之藥劑以使黑色素瘤之個別化治療得到實質性治療改良。當前醫療用途中之特定BRAF抑制劑之實例包括維羅非尼(vemurafenib)及達拉菲尼(dabrafenib)。達拉菲尼已展示具有目標腫瘤反應。此外，已展現且充分記錄維羅非尼對於突變BRAF^{V600}黑色素瘤而言具有整體存活益處。為使得使用BRAF抑制劑之癌症療法具有臨床有效性，需要在具有BRAF V600E突變之腫瘤中達成MAPK路徑輸出之完全消除。然而，此等第一代BRAF抑制劑異常活化具有致癌性RAS或增強之受體信號傳導的MAPK路徑。(BRAF)中之V600E錯義突變造成MAPK路徑之異常調節、不受控之細胞增殖及腫瘤形成之起始。儘管ATP競爭性B-Raf抑制劑阻斷B-Raf突

變細胞中之MAPK路徑，但其誘導野生型B-Raf激酶域發生構形變化，引起與C-Raf雜二聚，造成MAPK路徑之異常過度活化。儘管維羅非尼有利於BRAF之突變V600E形式，但結合於野生型BRAF可誘導BRAF/CRAF雜二聚體，造成ERK1/2活化。ERK1/2之此「異常活化」的負面結果包括細胞增殖，從而引起角化棘皮瘤(KAs)及皮膚鱗狀細胞癌(cuSCC)進展，且已觀測到此進展在用此等BRAF抑制劑療法起始之數週內發生。因此，需要新一代BRAF^{V600}突變體抑制劑，其避免MAPK信號傳導之異常活化，從而抑制ERK1/2路徑而獲得較少及較不嚴重副作用且改良安全性及患者反應之持續時間。

【發明內容】

揭示一類BRAF抑制劑之新穎用途，已發現其以異常及意外水準抑制突變RAF細胞，但不活化含有上游活化事件之細胞中的MAPK路徑。本發明之BRAF抑制劑可抑制BRAF點突變與融合突變。因此，本發明克服了當前使用之第一代BRAF抑制劑中所存在之障礙。

特定言之，本發明係關於一種治療罹患BRAF V600突變或BRAF融合突變相關之疾病或病狀或處於其風險中之個體，但不活化含有野生型BRAF之細胞中的MAPK路徑或不誘導含有野生型BRAF之細胞表現MAPK路徑基因的方法，其包含投與個體治療有效量之式I或式II之化合物：



或其醫藥學上可接受之鹽、異構體、互變異構體或氫化形式。

本發明之另一實施例係關於一種治療罹患BRAF V600突變或

BRAF融合突變相關之疾病或病狀或處於其風險中之個體，但不活化含有野生型BRAF之細胞中的MAPK路徑或不誘導含有野生型BRAF之細胞表現MAPK路徑基因的方法，其包含投與個體包含治療有效量之式I或式II之化合物或其醫藥學上可接受之鹽、異構體、互變異構體或氘化形式及醫藥學上可接受之賦形劑或載劑的醫藥組合物。

本發明之另一實施例係關於一種治療罹患BRAF V600突變或BRAF融合突變相關之疾病或病狀或處於其風險中之個體，但不活化含有野生型BRAF之細胞中的MAPK路徑或不誘導含有野生型BRAF之細胞表現MAPK路徑基因的方法，其包含向個體投與包含治療有效量之式I或式II之化合物或其醫藥學上可接受之鹽、異構體、互變異構體或氘化形式及另一治療劑的醫藥組合物。

其他實施例將由以下圖式及詳細描述且由申請專利範圍而顯而易見。

【圖式簡單說明】

圖1(A)展示式II(實心圓；下方之線)及維羅非尼(空心圓；上方之虛線)在人類BRAF^{V600E}黑色素瘤細胞COLO829中具有類似阻斷pERK信號傳導之效能。

圖1(B)展示在RAS活化之人類黑色素瘤細胞株IPC-298(NRAS^{Q61L})中，維羅非尼(空心圓)異常活化MAPK信號傳導，而式II(實心圓)引起可忽略之pERK增加。

圖2(A)展示相較於維羅非尼(與線一起展示之圓)，式I(方形)不活化B9細胞株中之pERK。維羅非尼平均EC₅₀ = 0.56 μM (n=26)；式I平均EC₅₀ = 10 μM (n=14)。

圖2(B)展示相較於維羅非尼(圓)，式I(方形)不活化B9細胞株中之pMEK。維羅非尼平均EC₅₀ = 0.588 μM (n=26)；式I平均EC₅₀ = 10 μM (n=14)。

圖2(C)展示相較於維羅非尼(圓)，式I (方形)不活化IPC-298細胞株中之pERK。維羅非尼平均 $EC_{50} = 0.84 \mu M$ (n=26)；式I平均 $EC_{50} = 10 \mu M$ (n=14)。

圖2(D)展示相較於維羅非尼(圓)，式I (方形)不活化IPC-298細胞株中之pMEK。維羅非尼平均 $EC_{50} = 1.011 \mu M$ (n=26)；式I平均 $EC_{50} = 10 \mu M$ (n=14)。

圖2(E)展示相較於維羅非尼(圓)，式I (方形)不活化HCT116細胞株中之pERK。維羅非尼平均 $EC_{50} = 0.286 \mu M$ (n=3)；式I平均 $EC_{50} = 10 \mu M$ (n=1)。

圖2(F)展示相較於維羅非尼(圓)，式I (方形)不活化HCT116細胞株中之pMEK。維羅非尼平均 $EC_{50} = 0.769 \mu M$ (n=3)；式I平均 $EC_{50} = 10 \mu M$ (n=1)。

圖3展示式I使所有三種異種移植物(表現四種KIAA1549-BRAF融合物中之三種的NIH/3T3細胞)之生長抑制50%或50%以上。對照：圓；PLX4720：方形；式I：三角形。y軸指示腫瘤體積(立方毫米)；x軸指示注射天數。

【實施方式】

I. 定義

除非另外明確指示，否則如本文所用之以下定義應適用：

如本文所用，術語「治療」、「療法」及類似術語指投與有效預防、緩解或改善疾病或病狀(亦即適應症)之一或多種症狀及/或延長所治療個體之存活期之量的物質，例如任何一或多種如本文所述之化合物。

在本文之情形下，術語「治療有效」或「有效量」指示化合物或式I或式II之化合物之量在投與時足以或有效預防、緩解或改善所治療疾病、病症或醫學病狀之一或多種症狀及/或延長所治療個體之存

活期。治療有效量將視化合物、疾病、病症或病狀及其嚴重性及欲治療哺乳動物之年齡、重量等而變化。一般而言，經指示，個體之滿意結果在約0.1至約10 g/kg個體體重之日劑量下獲得。在一些實施例中，日劑量在約0.10至10.0 mg/kg體重範圍內、約1.0至3.0 mg/kg體重範圍內、約3至10 mg/kg體重範圍內、約3至150 mg/kg體重範圍內、約3至100 mg/kg體重範圍內、約10至100 mg/kg體重範圍內、約10至150 mg/kg體重範圍內或約150至1000 mg/kg體重範圍內。該劑量可便利地投與，例如以一天達四次之分次劑量或以持續釋放形式投與。

如本文所用，如用於式I或式II之化合物對於MAPK (亦即含有野生型BRAF之細胞中之MAPK路徑或MAPK路徑基因表現)之術語「非刺激」、「非活化」及「非誘發」係指相較於用第一代BRAF V600E抑制劑(諸如達拉菲尼及維羅非尼)觀測到之刺激、活化及誘發，較少刺激、較少活化及較少誘發。

如本文所用，術語「固體形式」係指適合於投與所欲動物個體以用於治療目的之醫藥活性化合物的固體製劑(亦即既非氣體亦非液體之製劑)。本文所揭示之式I或式II之化合物意欲分別包括式I及式II之固體形式。固體形式包括任何複合物，諸如鹽、共晶體或非晶型複合物以及化合物之任何多晶型物。固體形式可為實質上結晶、半結晶或實質上非晶型。固體形式可直接投與或用於製備具有改良醫藥特性之適合組合物中。舉例而言，固體形式可用於包含至少一種醫藥學上可接受之載劑或賦形劑之調配物中。

如本文所用，術語「半結晶」物質涵蓋大於10%結晶度但不超過90%結晶度之物質；較佳地，「半結晶」物質涵蓋大於20%結晶度但不超過80%結晶度之物質。本文所揭示之式I及式II之化合物意欲包括式I及式II之化合物的半結晶形式。在本發明之一個實施例中，可製備化合物之固體形式之混合物，例如非晶型與結晶固體形式之混合物，例

如以提供「半結晶」固體形式。此類「半結晶」固體形式可藉由此項技術中已知之方法例如藉由以所要比率混合非晶型固體形式與結晶固體形式製備。在一些情況下，與酸或鹼混合之化合物形成非晶型複合物；半結晶固體可在非晶型複合物中採用超過化合物及酸或鹼之化學計量之量的化合物組分製備，從而得到基於其化學計量之量的非晶型複合物以及過量結晶形式之化合物。用於製備複合物之過量化合物之量可經調節以在固體形式之所得混合物中提供非晶型複合物與結晶化合物之所要比率。舉例而言，若酸或鹼與化合物之非晶型複合物具有1:1化學計量，則以化合物與酸或鹼之2:1莫耳比製備該複合物將產生50%非晶型複合物及50%結晶化合物之固體形式。固體形式之此類混合物可例如藉由提供具有改良生物醫藥特性之非晶型組分以及結晶組分而有益的作為藥品。非晶型組分更容易進行生物利用，而結晶組分具有延遲之生物可用性。此類混合物可提供活性化合物之快速與延長暴露。

如本文所用，術語「複合物」係指式I或式II之化合物與另一分子物質之組合，其形成或產生固體形式之新穎化學物質。在一些情況下，複合物可為鹽，亦即其中另一分子物質向化合物之酸/鹼基提供酸/鹼相對離子而產生形成典型鹽之酸:鹼相互作用。儘管此類鹽形式通常為實質上結晶形式，但其亦可為部分結晶、實質上非晶型或非晶形式。在一些情況下，另一分子物質與醫藥活性化合物之組合形成非鹽共晶體，亦即該化合物與分子物質不借助於典型酸:鹼相互作用而相互作用，但仍形成實質上結晶結構。共晶體亦可由化合物之鹽及另一分子物質形成。在一些情況下，複合物為實質上非晶型複合物，其可含有不形成典型鹽晶體而是形成實質上非晶型固體(亦即X射線粉末繞射圖不展現尖峰(例如展現非晶型鹵基)之固體)的鹽樣酸:鹼相互作用。

如本文所用，術語「個體」係指用如本文所述之化合物治療之活有機體，包括(但不限於)任何哺乳動物，諸如人類、其他靈長類動物、競技動物、商業相關動物(諸如牛)、農畜(諸如馬)或寵物(諸如犬及貓)。

如本文所用，術語「生物醫藥特性」係指本發明之化合物或複合物的藥物動力學作用，包括在投與個體時化合物之溶解、吸收及分佈。因此，本發明化合物之某些固體形式(諸如本發明化合物之非晶型複合物)意欲提供活性化合物之改良之溶解及吸收，其通常以改良之 C_{max} (亦即投與藥物後血漿中之最大達成濃度)及改良之AUC (亦即藥物血漿濃度相對於藥物投與後之時間的曲線下面積)反映。

術語「醫藥學上可接受」指示在考慮欲治療之疾病或病狀及各別投藥途徑的情況下，所指示之物質不具有將使相當謹慎之醫學從業者避免向患者投與該物質之特性。舉例而言，通常需要此類物質基本上無菌，例如用於可注射劑。

術語「投與」係指向個體經口投與、以栓劑形式投與、表面接觸、靜脈內、腹膜內、肌肉內、病灶內、鼻內或皮下投與或移植緩慢釋放裝置(例如微滲透泵)。投與係藉由任何途徑，包括非經腸及經黏膜(例如經頰、舌下、經齶、經牙齦、經鼻、經陰道、經直腸或經皮)。非經腸投與包括例如靜脈內、肌肉內、小動脈內、皮內、皮下、腹膜內、室內及顱內。其他傳遞模式包括(但不限於)使用脂質體調配物、靜脈內輸注、經皮貼片等。

式I及式II之化合物可各以非溶劑化形式以及溶劑化形式(包括水合形式)存在。「水合物」係指藉由組合水分子與溶質之分子或離子形成的複合物。「溶劑合物」係指藉由組合溶劑分子與溶質之分子或離子形成的複合物。溶劑可為有機化合物、無機化合物或兩者之混合物。溶劑合物意欲包括水合物。溶劑之一些實例包括(但不限於)甲

醇、N,N-二甲基甲醯胺、四氫呋喃、二甲亞砷及水。一般而言，溶劑化形式等效於非溶劑化形式且涵蓋於本發明之範疇內。本發明使用之式I及式II之化合物可各以多種結晶或非晶形式存在。一般而言，所有物理形式均等效地用於本發明涵蓋之用途且意欲屬於本發明之範疇。

在本文之情形下，術語「治療有效」或「有效量」指示物質或物質之量有效預防、緩解或改善疾病或醫學病狀之一或多種症狀及/或延長所治療個體之存活期。治療有效量將視化合物、病症或病狀及其嚴重性及欲治療哺乳動物之年齡、重量等而變化。舉例而言，有效量為足以實現有利或所要臨床結果之量。有效量可在單次投與中一次性全部提供或以在數次投與中提供有效量之部分量提供。精確地確定視為有效量的量可基於各個別個體之因素，包括其體型、年齡、損傷及/或所治療疾病或損傷及發生損傷或疾病開始之時間量。熟習此項技術者應能夠基於在此項技術中常規之此等考慮因素確定既定個體之有效量。

在本文之情形下，術語「協同有效」或「協同作用」指示治療上有效的兩種或兩種以上化合物在組合使用時提供大於基於各化合物單獨使用之作用預期的累加作用的改良治療作用。

如本文所用，術語「調節」係指改變生物活性之作用，尤其與特定生物分子(諸如蛋白激酶)相關之生物活性。舉例而言，特定生物分子之抑制劑藉由降低生物分子(諸如酶)之活性調節該生物分子(例如酶)之活性。此類活性通常以化合物對於例如酶之抑制濃度(IC₅₀)(對於抑制劑而言)指示。

如本文所用，術語「蛋白激酶介導之疾病或病狀」係指如下疾病或病狀，其中蛋白激酶(包括其任何突變)之生物功能影響該疾病或病狀之產生、過程及/或症狀，及/或其中調節蛋白激酶改變該疾病或病狀之產生、過程及/或症狀。蛋白激酶介導之疾病或病狀包括抑制

提供治療益處之疾病或病狀，例如其中用蛋白激酶抑制劑(包括如本文所述之式I或式II之化合物中之一或多者)治療向罹患疾病或病狀或具有該疾病或病狀之風險的個體提供治療益處。

如本文所用，術語「BRAF V600突變相關之疾病或病狀」或「BRAF V600突變介導之疾病或病狀」係指如下疾病或病狀，其中具有V600突變之BRAF激酶的生物功能影響該疾病或病狀之產生、過程及/或症狀，及/或其中調節BRAF改變該疾病或病狀之產生、過程及/或症狀。BRAF V600突變相關之疾病或病狀或BRAF V600突變介導之疾病或病狀包括抑制提供治療益處之疾病或病狀，例如其中用蛋白激酶抑制劑(包括如本文所述之式I或式II之化合物中之一或多者)治療向罹患該疾病或病狀或具有該疾病或病狀之風險的個體提供治療益處。

如本文所用，術語「BRAF融合突變相關之疾病或病狀」或「BRAF融合突變介導之疾病或病狀」係指如下疾病或病狀，其中具有融合突變之BRAF激酶的生物功能影響該疾病或病狀之產生、過程及/或症狀，及/或其中調節BRAF改變該疾病或病狀之產生、過程及/或症狀。BRAF融合突變相關之疾病或病狀或BRAF融合突變介導之疾病或病狀包括抑制提供治療益處之疾病或病狀，例如其中用蛋白激酶抑制劑(包括如本文所述之式I或式II之化合物中之一或多者)治療向罹患該疾病或病狀或具有該疾病或病狀之風險的個體提供治療益處。

另外，本文所用之縮寫具有如下各別含義：

BRAF	v-Raf鼠類肉瘤病毒致癌基因同源物B1
Cmax	最大觀測濃度
EC ₅₀	半數最大有效濃度
ERK	胞外信號調節激酶
IC ₅₀	半數最大抑制濃度
KRAS2	v-Ki-ras2 Kirsten大鼠肉瘤病毒致癌基因同源物

II. 第一代BRAF抑制劑之異常活化

鑑別癌症中活化之BRAF V600E突變(纈胺酸-600或BRAFFV600之

主要錯義取代)(Davies 2002年)支持BRAF在此等惡性病之致病機制中的功能上重要作用。包括維羅非尼(Bollag 2010年；Flaherty 2010年)及達拉菲尼(Stellwagen 2011年)之特定BRAF抑制劑已展現客觀腫瘤反應(Sosman 2012年；Hauschild 2012年)，且在維羅非尼之情形下，在突變BRAFV600驅使之黑色素瘤中展現整體存活益處(Chapman 2011年)。基於BRAF抑制劑之療法的臨床有效性取決於在含有BRAF V600E突變之腫瘤中完全消除MAPK路徑輸出(Bollag 2010年)。然而，第一代BRAF抑制劑異常活化帶有致癌性RAS或提高之上游受體信號傳導的細胞中的MAPK路徑(Hatzivassiliou 2010年；Heidorn 2010年；Poulikakos 2010年)。此活化可引起細胞增殖且臨床上已與皮膚鱗狀細胞癌(cuSCC)及角化棘皮瘤(KAs)之出現相關，有時在療法開始數週內(Su 2012年；Anforth 2012年；Hauschild 2012年；Huang 2012年)。此等MAPK路徑活化誘發之腫瘤具有RAS突變之非典型性高發病率(Oberholzer 2012年；Su 2012年)。儘管臨床測試中BRAF抑制劑展示毒性之相對缺乏，但該異常活化機制可促進其他RAS驅使癌症之進展，且當前病例報導在BRAF抑制劑治療期間原發性黑色素瘤之發病率增加(Zimmer 2012年)及RAS突變型白血病進展(Callahan 2012年)，其展現此情形。

BRAF之活化突變藉由在與RAS活化無關的情況下組成性促進MAPK路徑信號傳導而促進癌症生長。開發阻斷突變型BRAF之藥劑的工作已使轉移性黑色素瘤之個人化治療得到顯著治療改良。然而，此等藥劑之開發亦揭示此等靶向療法之意外後果：刺激某些癌症之生長(異常活化)。迄今為止，最常見副作用實例為源自角質細胞之皮膚贅瘤(Robert 2011年)，首先在使用索拉非尼(sorafenib)時觀測到(Lacouture 2006年)，且最近在使用維羅非尼(vemurafenib)(Flaherty 2010年；Huang 2012年)及達拉菲尼(dabrafenib)(Hauschild 2012年)時

觀測到。在致命性轉移性疾病之情形下，非惡性皮膚腫瘤(諸如角化棘皮瘤)及角化棘皮瘤樣cuSCC之出現可為可接受的，尤其因為大多數病變容易鑑別且移除。然而，此等繼發性惡性病之出現突顯了RAF抑制劑之兩種相對作用：其治癒且引起腫瘤。結構上不同之ATP競爭性RAF激酶抑制劑可視RAF/MEK/ERK路徑是否由BRAF V600E突變或由上游事件(諸如RAS突變或受體酪胺酸激酶活化)活化而抑制與異常活化該路徑(Hatzivassiliou 2010年；Heidorn 2010年；Poulikakos 2010年)。

EGFR信號傳導與BRAF抑制劑誘發之皮膚致癌之間亦存在關係。誘導MAPK路徑反應基因之表現誘導EGFR配位體。維羅非尼顯著誘導經轉型角質細胞中EGFR配位體(包括AREG、HB-EGF及TGF α)之表現。外源EGFR配位體再現而EGFR抑制劑拮抗維羅非尼之生長刺激作用。因此，不誘導MAPK路徑反應基因之表現的式I或式II之化合物不表現EGFR配位體。EGFR及其他RTK (包括PDGFR、IGF-1R及MET)之補償性活化已展示引起黑色素瘤中BRAF抑制的獲得性耐受性(Nazarian 2010年；Villanueva 2010年；Straussman 2012年)。BRAFFV600E結腸直腸癌對BRAF抑制劑之無反應性亦歸因於EGFR之反饋活化(Corcoran 2012年；Prahallad 2012年)。因此，除黑色素瘤以外，式I或式II之化合物可有利於治療患有BRAF突變癌瘤(諸如乳頭狀甲狀腺癌、結腸直腸癌及其他癌症)之個體。

如以下實例中所展現，式I及式II之化合物滿足第一代BRAF抑制劑之未滿足需求。該等實例展示式I抑制突變BRAF細胞，但不活化含有RAS突變或受體酪胺酸激酶活化之細胞中的MAPK路徑。在實例中亦展現式I及式II之化合物各以單位數奈莫耳濃度之IC₅₀選擇性抑制突變BRAF激酶(包括最常見之BRAFFV600E)，同時對其他激酶之活性具有最少作用。藉由使MAPK路徑抑制與路徑活化分開，式I化合物具

有各別且改良之活性概況。

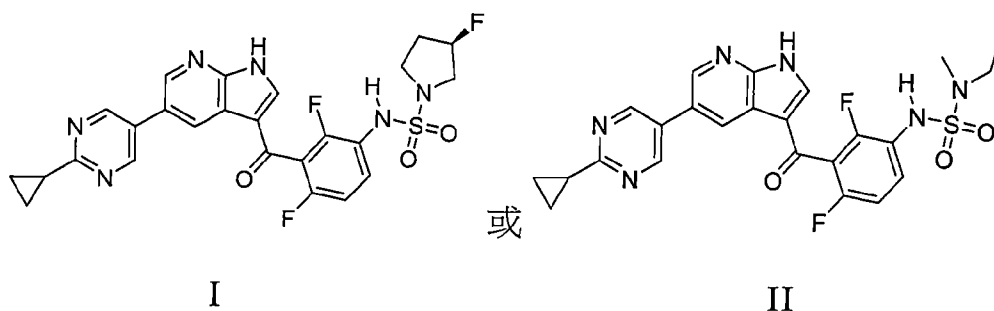
本文所述之式I或式II之化合物之方法及用途為美國專利公開案第2014/0128373號之選擇發明。特定言之，式I及式II之化合物各為極有效BRAF V600E突變體抑制劑且亦為尤其強之異常阻斷劑，其中式I及式II不活化MAPK路徑，活化MAPK路徑為第一代BRAF V600E突變體抑制劑之典型特徵。因此，就此而言，式I化合物高度有利，且其已經測試及證實可適用於各種適應症。

在來自用RAF抑制劑治療之患者的表現鱗狀細胞腫瘤中普遍存在之相同HRAS突變的細胞模型中，第一代RAF抑制劑刺激活體外及活體內細胞生長且誘導MAPK路徑反應基因(包括EGFR配位體)之表現。相比之下，式I及式II之異常阻斷劑無此類作用。另外，式I化合物意外地克服了第一代RAF抑制劑之耐受性的數種已知機制。基於式I或式II之化合物的此等有利特性，可獲得提高之耐受性及隨後增加之藥物劑量。

III. 實施例

揭示一類BRAF抑制劑之新穎用途，已發現在含有上游活化事件之細胞中，該等BRAF抑制劑以非凡且意外之水準抑制突變RAF細胞，但不活化含有野生型BRAF之細胞中的MAPK路徑或不誘導含有野生型BRAF之細胞表現MAPK路徑基因。因此，本發明克服了當前使用之第一代BRAF抑制劑中所存在之障礙。

特定言之，本發明係關於一種治療罹患BRAF V600突變或BRAF融合突變相關之疾病或病狀或處於其風險中之個體，但不活化含有野生型BRAF之細胞中的MAPK路徑或不誘導含有野生型BRAF之細胞表現MAPK路徑基因的方法，其包含投與個體治療有效量之式I或式II之化合物：



或其醫藥學上可接受之鹽、異構體、互變異構體或氘化形式。

式I化合物(或「式I」)亦稱為(3R)-N-[3-[5-(2-環丙基嘧啶-5-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-羰基]-2,4-二氟苯基]-3-氟吡咯啶-1-磺醯胺。

式II化合物(或「式II」)亦稱為5-(2-環丙基嘧啶-5-基)-3-[3-[[乙基(甲基)胺磺醯基]胺基]-2,6-二氟-苯甲醯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶。

在一些實施例中，治療罹患BRAF V600突變相關之疾病或病狀或處於其風險中之個體，但不活化含有野生型BRAF之細胞中的MAPK路徑或不誘導含有野生型BRAF之細胞表現MAPK路徑基因的方法包含投與式I化合物。在一些實施例中，治療罹患BRAF V600突變相關之疾病或病狀或處於其風險中之個體，但不活化含有野生型BRAF之細胞中的MAPK路徑或不誘導含有野生型BRAF之細胞表現MAPK路徑基因的方法包含投與式II化合物。

在另一實施例中，不在含有野生型BRAF之細胞中活化MAPK路徑或不誘導MAPK路徑基因表現包含抑制BRAF野生型細胞中之磷酸化ERK (pERK)。在另一實施例中，不在含有野生型BRAF之細胞中活化MAPK路徑或不誘導MAPK路徑基因表現包含抑制BRAF野生型細胞中之pERK及pMEK。在另一實施例中，不在含有野生型BRAF之細胞中活化MAPK路徑或不誘導MAPK路徑基因表現阻止細胞生長刺激。在另一實施例中，抑制BRAF野生型細胞中之pERK阻止細胞生長刺激。在另一實施例中，抑制BRAF野生型細胞中之pERK及pMEK阻止細胞生長刺激。在另一實施例中，不在含有野生型BRAF之細胞中活

化MAPK路徑或不誘導MAPK路徑基因表現阻止刺激皮膚贅瘤。在另一實施例中，抑制BRAF野生型細胞中之pERK阻止皮膚贅瘤刺激。在另一實施例中，抑制BRAF野生型細胞中之pERK及pMEK阻止皮膚贅瘤刺激。在另一實施例中，不在含有野生型BRAF之細胞中活化MAPK路徑或不誘導MAPK路徑基因表現阻止其他惡性病刺激。非限制性實例包括白血病或結腸直腸癌。

本發明之另一實施例係關於一種治療罹患BRAF V600突變或BRAF融合突變相關之疾病或病狀或處於其風險中之個體，但不活化含有野生型BRAF之細胞中的MAPK路徑或不誘導含有野生型BRAF之細胞表現MAPK路徑基因的方法，其包含投與個體包含治療有效量之式I或式II之化合物或其醫藥學上可接受之鹽、異構體、互變異構體或氙化形式及醫藥學上可接受之賦形劑或載劑的醫藥組合物。在另一實施例中，不活化含有野生型BRAF之細胞中的MAPK路徑或不誘導MAPK路徑基因表現包含抑制BRAF野生型細胞中之pERK。在另一實施例中，不活化含有野生型BRAF之細胞中的MAPK路徑或不誘導MAPK路徑基因表現包含抑制BRAF野生型細胞中之pERK及pMEK。在另一實施例中，不活化含有野生型BRAF之細胞中的MAPK路徑或不誘導MAPK路徑基因表現阻止細胞生長刺激。在另一實施例中，抑制野生型BRAF細胞中之pERK阻止細胞生長刺激。在另一實施例中，抑制野生型BRAF細胞中之pERK及pMEK阻止細胞生長刺激。在另一實施例中，不活化含有野生型BRAF之細胞中的MAPK路徑或不誘導含有野生型BRAF之細胞表現MAPK路徑基因阻止刺激皮膚贅瘤。在另一實施例中，抑制pERK野生型細胞阻止皮膚贅瘤刺激。在另一實施例中，抑制野生型BRAF細胞中之pERK及pMEK阻止皮膚贅瘤刺激。

本發明之另一實施例係關於一種治療罹患BRAF V600突變或

BRAF融合突變相關之疾病或病狀或處於其風險中之個體，但不活化含有野生型BRAF之細胞中的MAPK路徑或不誘導含有野生型BRAF之細胞表現MAPK路徑基因的方法，其包含投與個體包含治療有效量之式I或式II或其醫藥學上可接受之鹽、異構體、互變異構體或氘化形式及另一治療劑的醫藥組合物。在另一實施例中，不在含有野生型BRAF之細胞中活化MAPK路徑或不誘導MAPK路徑基因表現包含抑制野生型BRAF細胞中之pERK。在另一實施例中，不在含有野生型BRAF之細胞中活化MAPK路徑或不誘導MAPK路徑基因表現包含抑制野生型BRAF細胞中之pERK及pMEK。在另一實施例中，不在含有野生型BRAF之細胞中活化MAPK路徑或不誘導MAPK路徑基因表現阻止細胞生長刺激。在另一實施例中，抑制野生型BRAF細胞中之pERK阻止細胞生長刺激。在另一實施例中，抑制野生型BRAF細胞中之pERK及pMEK阻止細胞生長刺激。在另一實施例中，不在含有野生型BRAF之細胞中活化MAPK路徑或不誘導MAPK路徑基因表現阻止刺激皮膚贅瘤。在另一實施例中，抑制BRAF野生型細胞中之pERK阻止皮膚贅瘤刺激。在另一實施例中，抑制野生型BRAF細胞中之pERK及pMEK阻止皮膚贅瘤刺激。

BRAF V600突變之非限制性實例包括V600E、V600K、V600A、V600G、V600M及V600R，其中V600E及V600K為第一及第二最常見。在使用重組酶之生物化學分析中，式I化合物之IC₅₀值在3.5至14.2 nM範圍內。參見實例3及表1。

BRAF融合突變相關之疾病或病狀的非限制性實例包括兒科星形細胞瘤。

BRAF V600E突變存在於所有黑色素瘤之約一半(Rajagopalan 2002年)及多種其他癌症以及其他類型疾病或病狀中。以下BRAF V600E突變相關疾病或病狀預期用於本文所述之式I化合物之方法及

用途。

BRAF V600突變相關之疾病或病狀之非限制性實例包括黑色素瘤(包括轉移性黑色素瘤、3A期黑色素瘤、3B期黑色素瘤、3C期黑色素瘤及皮膚色素沉著黑色素瘤)、結腸直腸癌(包括結腸直腸腺癌)(Cohen 2003年)、乳頭狀甲狀腺癌(Fukushima 2003年；Kimura 2003年；Xu 2003年)、未分化甲狀腺癌(Xu 2003年)、漿液性卵巢癌(Nikiforova 2003年)、非小細胞肺癌(Singer 2003年)、胃癌(Brose 2002年)、膽管癌(Lee 2003年)、巴雷特氏食道癌(Barrett's esophageal cancer)(Tannapfel 2003年)及頭頸癌(Sommerer 2004年；Weber 2003年)。BRAF V600突變相關之癌症的其他非限制性實例包括肝細胞癌(Colombino 2012年)、蘭格漢氏細胞組織細胞增多病(Langerhan's cell histiocytosis；Badalian-Verly 2010年)、胃腸基質細胞腫瘤(Agaram 2008年)、多發性骨髓瘤(Chapman 2011年)、兒童星形細胞瘤(其含有大部分BRAF複製)(Jones 2008年；Pfister 2008年；Sievert 2009年)、多形性黃色星形細胞瘤(Dias-Santagata 2011年；Schindler 2011年)、慢性骨髓性白血病、急性骨髓單核細胞性白血病、雙表型B骨髓單核細胞性白血病、急性骨髓性白血病及毛細胞白血病(Tiacci 2011年)。BRAF V600突變相關之癌症的其他非限制性實例包括外周神經鞘腫瘤，諸如良性及惡性外周神經鞘腫瘤(Serrano 2013年)。BRAF V600突變在痣中亦極頻繁(Pollock 2003年)，其一般為源自黑色素細胞之發育不良病變且為靜止且因此良性的。BRAF V600突變亦存在於埃德海姆-切斯特病(Erdheim-Chester disease)中。

其他BRAF 600V相關之病狀或病症包括發炎及自體免疫疾病(諸如類風濕性關節炎)(*Mol Immunol.* 2013年十月;55(3-4):247-52)、腱鞘巨細胞瘤、色素沉著絨毛結節性滑膜炎、腱鞘巨細胞瘤、骨巨細胞瘤、子宮頸癌(*Gynecol Oncol.* 2007年6月;105(3):662-6.)、子宮內膜癌

(*Fam Cancer*. 2014年3月;13(1):1-12)、生殖細胞腫瘤(*J Clin Oncol*. 2009年5月1日;27(13):2129-36)、前列腺癌(*Genes Chromosomes Cancer*. 2012年11月;51(11):1014-23)、膀胱癌(*Mol Cancer Res*. 2015年3月12日. pii: molcanres.0689.2014)、肌周細胞瘤(*J Natl Cancer Inst*. 2014年7月25日;106(8))、後腎腺瘤(*Am J Surg Pathol*. 2015年4月;39(4):549-57)、胰臟贅瘤(*J Pathol*. 2014年3月;232(4):428-35)、神經內分泌腫瘤(*Am J Clin Pathol*. 2005年2月;123(2):256-60)、內分泌腫瘤(*Endocr Relat Cancer*. 2004年12月;11(4):855-60)、腎上腺腫瘤(*Endocr Relat Cancer*. 2009年6月;16(2):565-72)、腎上腺髓質腫瘤、腮腺囊腺癌(Springerplus. 2013年12月18日;2:679. doi: 10.1186/2193-1801-2-679)、多形性膠質母細胞瘤(*World J Surg Oncol*. 2015年3月11日;13:100)、包括膽管腺瘤之膽管癌(*Hepatology*. 2015年1月;61(1):403-5)、膽管瘤、B細胞慢性淋巴增生病症(*Blood*. 2012年1月5日;119(1):188-91)、樹突狀細胞肉瘤(*Ann Diagn Pathol*. 2015年6月;19(3):113-6)、組織細胞肉瘤及淋巴瘤(例如里赫特氏症候群(Richter's syndrome), 非霍奇金氏淋巴瘤(non-hodgkin's lymphoma))(*Cell*. 2015年4月9日;161(2):319-32)。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之疾病或病狀為黑色素瘤、結腸直腸癌、乳頭狀甲狀腺癌、未分化甲狀腺癌、卵巢癌、非小細胞肺癌、胃癌、膽管癌、巴雷特氏食道癌、頭頸癌、肝細胞癌、蘭格漢氏細胞組織細胞增多病、胃腸基質細胞腫瘤、多發性骨髓瘤、兒科星形細胞瘤、多形性黃色星形細胞瘤、慢性骨髓性白血病、急性骨髓單核細胞性白血病、雙表型B骨髓單核細胞性白血病、急性骨髓性白血病、毛細胞白血病、痣、埃德海姆-切斯特病、發炎及自體免疫疾病(諸如類風濕性關節炎)、腱鞘巨細胞瘤、色素沉著絨毛結節性滑膜炎、腱鞘巨細胞瘤、骨巨細胞瘤、子宮頸癌、子宮內膜癌、生殖細

胞腫瘤、前列腺癌、膀胱癌、肌周細胞瘤、後腎腺瘤、胰臟贅瘤、神經內分泌腫瘤、內分泌腫瘤、腎上腺腫瘤、腎上腺髓質腫瘤、腮腺囊腺癌、多形性膠質母細胞瘤、包括膽管腺瘤之膽管癌、膽管瘤、B細胞慢性淋巴增生病症、樹突狀細胞肉瘤、組織細胞肉瘤或淋巴瘤。

在另一實施例中，BRAF V600突變或BRAF融合突變相關之疾病或病狀為黑色素瘤、結腸直腸癌、乳頭狀甲狀腺癌、未分化甲狀腺癌、卵巢癌、非小細胞肺癌、胃癌、膽管癌、巴雷特氏食道癌、頭頸癌、肝細胞癌、蘭格漢氏細胞組織細胞增多病、胃腸基質細胞腫瘤、多發性骨髓瘤、兒科星形細胞瘤、多形性黃色星形細胞瘤、慢性骨髓性白血病、急性骨髓單核細胞性白血病、雙表型B骨髓單核細胞性白血病、急性骨髓性白血病、毛細胞白血病、痣、埃德海姆-切斯特病、惡性外周神經鞘腫瘤、發炎及自體免疫疾病(諸如類風濕性關節炎)、腱鞘巨細胞瘤、色素沉著絨毛結節性滑膜炎、腱鞘巨細胞瘤、骨巨細胞瘤、子宮頸癌、子宮內膜癌、生殖細胞腫瘤、前列腺癌、膀胱癌、肌周細胞瘤、後腎腺瘤、胰臟贅瘤、神經內分泌腫瘤、內分泌腫瘤、腎上腺腫瘤、腎上腺髓質腫瘤、腮腺囊腺癌、多形性膠質母細胞瘤、包括膽管腺瘤之膽管癌、膽管瘤、B細胞慢性淋巴增生病症、樹突狀細胞肉瘤、組織細胞肉瘤或淋巴瘤。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之疾病或病狀為轉移性黑色素瘤、結腸直腸癌、乳頭狀甲狀腺癌、未分化甲狀腺癌、卵巢癌、非小細胞肺癌、胃癌、膽管癌、巴雷特氏食道癌、埃德海姆-切斯特病或頭頸癌。在另一實施例中，BRAF V600突變相關之疾病或病狀為黑色素瘤、結腸直腸癌、乳頭狀甲狀腺癌、未分化甲狀腺癌、卵巢癌、非小細胞肺癌、胃癌、膽管癌、巴雷特氏食道癌或頭頸癌。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之疾病或病症為肝細胞癌、蘭格漢氏細胞組織細胞增多病、胃腸基質細胞腫瘤、多發性骨髓

瘤、兒科星形細胞瘤、多形性黃色星形細胞瘤、慢性骨髓性白血病、急性骨髓單核細胞性白血病、雙表型B骨髓單核細胞性白血病、急性骨髓性白血病、毛細胞白血病或痣。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之疾病或病症為發炎及自體免疫疾病(諸如類風濕性關節炎)、腱鞘巨細胞瘤、色素沉著絨毛結節性滑膜炎、腱鞘巨細胞瘤、骨巨細胞瘤、子宮頸癌、子宮內膜癌、生殖細胞腫瘤、前列腺癌、膀胱癌、肌周細胞瘤、後腎腺瘤、胰臟贅瘤、神經內分泌腫瘤、內分泌腫瘤、腎上腺腫瘤、腎上腺髓質腫瘤、腮腺囊腺癌、多形性膠質母細胞瘤、包括膽管腺瘤之膽管癌、膽管瘤、B細胞慢性淋巴增生病症、樹突狀細胞肉瘤、組織細胞肉瘤或淋巴瘤。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之疾病或病症為癌症。在另一實施例中，BRAF V600E突變相關之癌症為轉移性黑色素瘤、結腸直腸癌、乳頭狀甲狀腺癌、未分化甲狀腺癌、卵巢癌、非小細胞肺癌、胃癌、膽管癌、巴雷特氏食道癌或頭頸癌。在另一實施例中，BRAF V600E突變相關之癌症為轉移性黑色素瘤、皮膚色素沈著黑色素瘤、結腸直腸癌、乳頭狀甲狀腺癌、未分化甲狀腺癌、卵巢癌、非小細胞肺癌、胃癌、膽管癌、巴雷特氏食道癌或頭頸癌。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為肝細胞癌、蘭格漢氏細胞組織細胞增多病、胃腸基質細胞腫瘤、多發性骨髓瘤、兒科星形細胞瘤、多形性黃色星形細胞瘤、慢性骨髓性白血病、急性骨髓單核細胞性白血病、雙表型B骨髓單核細胞性白血病、急性骨髓性白血病、毛細胞白血病或痣。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之疾病或病狀為埃德海姆-切斯特病。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為黑色素瘤。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為轉移性黑色素瘤。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為皮膚色素沈著黑色素瘤。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為外周神經鞘腫瘤(包括惡性及良性外周神經鞘腫瘤)。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為惡性外周神經鞘腫瘤(MPNST)。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為結腸直腸癌。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為結腸直腸腺癌。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為乳頭狀甲狀腺癌。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為未分化甲狀腺癌。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為卵巢癌。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為非小細胞肺癌。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為胃癌。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為膽管癌。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為巴雷特氏食道癌。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為頭頸癌。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為肝細胞癌。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為蘭格漢氏細胞組織細胞增多病。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為胃腸基質細胞腫瘤。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為多發性骨髓瘤。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為兒科星形細胞瘤。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為多形性黃色星形細胞瘤。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為慢性骨髓性白血病。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為急性骨髓單核細胞性白血病。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為雙表型B骨髓單核細胞性白血病。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為急性骨髓性白血病。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為毛細胞白血病。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之癌症為痣。

在另一實施例中，BRAF V600突變相關之疾病或病狀選自由以下組成之群：缺血性中風、腦血管缺血、多梗塞性癡呆、頭部損傷、脊髓損傷、阿茲海默氏病 (Alzheimer's disease)、帕金森氏病 (Parkinson's disease)、肌肉萎縮性側索硬化、癡呆、老年舞蹈症、亨廷頓氏病 (Huntington's disease)、贅生性疾病、贅生性疾病之併發症、化學療法誘發性低氧症、胃腸基質腫瘤、前列腺腫瘤、肥大細胞腫瘤、犬肥大細胞腫瘤、急性骨髓性白血病、急性淋巴細胞性白血

病、慢性骨髓性白血病、慢性淋巴細胞性白血病、多發性骨髓瘤、黑色素瘤、肥大細胞增多症、神經膠質瘤、神經膠母細胞瘤、星形細胞瘤、神經母細胞瘤、肉瘤、神經外胚層來源之肉瘤、平滑肌肉瘤、肺癌、乳癌、胰臟癌、結腸癌、肝細胞癌、腎癌、雌性生殖道癌瘤、鱗狀細胞癌、原位癌、淋巴瘤、組織細胞淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、MEN2症候群、神經纖維瘤、許旺細胞贅瘤(Schwann cell neoplasia)、骨髓發育不良症候群、白血病、腫瘤血管生成、甲狀腺癌、肝癌、骨癌、皮膚癌、腦癌(包括兒童腦瘤及BRAF-融合腦瘤)、中樞神經系統癌症、胰臟癌、肺癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、乳癌、結腸癌、膀胱癌、前列腺癌、胃腸道癌症、子宮內膜癌、輸卵管癌、睪丸癌、卵巢癌、神經病引起之疼痛、發炎引起之疼痛、急性疼痛、慢性疼痛、偏頭痛、心血管疾病、心臟衰竭、心臟肥大、血栓、血栓性微血管病變症候群、動脈粥樣硬化、再灌注損傷、局部缺血、腦血管缺血、肝臟缺血、發炎、多囊性腎病、年齡相關性黃斑變性、類風濕性關節炎、過敏性鼻炎、發炎性腸病、潰瘍性結腸炎、克羅恩氏病(Crohn's disease)、全身性紅斑狼瘡、休格連氏症候群(Sjogren's Syndrome)、韋格納氏肉芽腫病(Wegener's granulomatosis)、牛皮癬、硬皮病、慢性甲狀腺炎、格雷氏病(Grave's disease)、重症肌無力、多發性硬化、骨關節炎、子宮內膜異位、皮膚疤痕、組織疤痕、血管再狹窄、纖維化病症、高嗜伊紅細胞增多、CNS發炎、胰臟炎、腎炎、異位性皮膚炎、肝炎、免疫缺乏病、嚴重聯合免疫缺乏、器官移植排斥、移植物抗宿主疾病、腎病、前列腺病、糖尿病性腎病、腎硬化、絲球體腎炎、間質性腎炎、狼瘡性腎炎、前列腺增生、慢性腎衰竭、小管壞死、與糖尿病相關之腎併發症、相關腎肥大、1型糖尿病、2型糖尿病、代謝症候群、肥胖、肝臟脂肪變性、抗胰島素症、高血糖、脂肪分解性肥胖、感染、幽門螺旋桿菌感染、流感病毒感染、發熱、

敗血症、肺病、慢性阻塞性肺病、急性呼吸窘迫症候群、哮喘、過敏、支氣管炎、肺氣腫、肺纖維化、遺傳性發育病、諾南氏症候群(N Noonan's syndrome)、克魯宗症候群(Crouzon syndrome)、尖頭並指I型、菲弗氏症候群(Pfeiffer's syndrome)、傑克遜-外斯症候群(Jackson-Weiss syndrome)、科斯特洛症候群(Costello syndrome)、顏面皮膚骨骼症候群、豹皮症候群、心臟顏面皮膚症候群、造成心血管、骨骼、腸、皮膚、發或內分泌疾病之神經脊症候群異常、骨結構或礦化病症、骨質疏鬆、增加之骨折風險、高鈣血症、骨癌轉移、格雷氏病、赫氏病(Hirschsprung's disease)、淋巴水腫、選擇性T細胞缺陷、X連鎖無 γ 球蛋白血症、糖尿病性視網膜病、禿髮、勃起功能障礙及結節性硬化症。

在一些實施例中，BRAF V600突變可為一或多種BRAF V600突變。在一些實施例中，BRAF V600突變為選自由以下組成之群的一或多種突變：V600E、V600K、V600D、V600A、V600G、V600M及V600R。在一些實施例中，BRAF V600突變包含V600E及V600K突變。在一些實施例中，BRAF V600突變包含V600E突變。在一些實施例中，BRAF V600突變包含V600K突變。在一些實施例中，BRAF V600突變包含V600D突變。在一些實施例中，BRAF V600突變包含V600A突變。在一些實施例中，BRAF V600突變包含V600G突變。在一些實施例中，BRAF V600突變為V600M突變。在一些實施例中，BRAF V600突變包含V600R突變。

IV. 替代化合物形式或衍生物

預期用於本文中之式I或式II之化合物可以多種不同形式或衍生物存在，其均屬於本發明之範疇。替代形式或衍生物包括例如(a)互變異構體、異構體(包括立體異構體及區位異構體)及外消旋混合物，(b)醫藥學上可接受之鹽及(c)固體形式，包括不同晶體形式、多晶型

或非晶型固體，包括其水合物及溶劑合物及其他形式。

A. 互變異構體、立體異構體及區位異構體

應瞭解，一些化合物可展現互變異構現象。在此類情形下，本文提供之式僅明確描繪可能互變異構形式中之一者。因此，應瞭解，本文提供之式意欲表示所描繪化合物之任何互變異構形式且不欲僅限於該等式之圖式所描繪的特定互變異構形式。

同樣，預期根據本發明使用之化合物可以立體異構體之形式存在，亦即共價鍵結原子之原子連接相同但原子之空間取向不同。舉例而言，化合物可為光學立體異構體，其含有一或多個對掌性中心，因此，可以兩種或兩種以上立體異構形式(例如對映異構體或非對映異構體)存在。因此，此類化合物可以單一立體異構體(亦即，基本上不含其他立體異構體)、外消旋體及/或對映異構體及/或非對映異構體之混合物之形式存在。作為另一實例，立體異構體包括幾何異構體，諸如雙鍵之相鄰碳上的取代基為順式或反式取向。所有此類單一立體異構體、外消旋體及其混合物均意欲屬於本發明之範疇。除非相反地說明，否則所有此類立體異構形式包括在本文提供之式內。

在一些實施例中，預期根據本發明使用之對掌性化合物為含有至少80%單一異構體(60%對映異構體過量(「e.e.」)或非對映異構體過量(「d.e.」))或至少85%(70% e.e.或d.e.)、90%(80% e.e.或d.e.)、95%(90% e.e.或d.e.)、97.5%(95% e.e.或d.e.)或99%(98% e.e.或d.e.)單一異構體的形式。如熟習此項技術者一般所瞭解，具有一個對掌性中心之光學純化合物為基本上由兩種可能對映異構體中之一者組成的化合物(亦即為對映異構性純)，且具有一個以上對掌性中心之光學純化合物為非對映異構性純與對映異構純之化合物。在一些實施例中，化合物以光學純形式存在，此類光學純形式藉由此項技術中已知之方法製備及/或分離(例如藉由再結晶技術、對掌性合成技術(包括自光學純起

始物質合成)及使用對掌性管柱層析分離)。

B. 醫藥學上可接受之鹽

除非相反地說明，否則本文之化合物的說明包括此類化合物之醫藥學上可接受之鹽。因此，本文所述化合物可為醫藥學上可接受之鹽的形式，或可調配成醫藥學上可接受之鹽。涵蓋之醫藥學上可接受之鹽形式包括(但不限於)單、雙、參、肆鹽等等。醫藥學上可接受之鹽在其投與量及濃度下為無毒的。此類鹽之製備可藉由在不阻礙化合物發揮其生理學作用的情況下改變其物理特徵而便於藥理學使用。物理特性之適用變化包括降低熔點以便於經黏膜投與及提高溶解性以便於投與較高濃度之藥物。本發明化合物可具有足夠酸性、足夠鹼性或兩種官能基，因此可與多種無機或有機鹼及無機及有機酸中之任一者反應，形成醫藥學上可接受之鹽。

醫藥學上可接受之鹽包括酸加成鹽，諸如含有以下之酸加成鹽：氯化物、溴化物、碘化物、鹽酸鹽、乙酸鹽、苯基乙酸鹽、丙烯酸鹽、抗壞血酸鹽、天冬胺酸鹽、苯甲酸鹽、2-苯氧基苯甲酸鹽、2-乙醯氧基苯甲酸鹽、二硝基苯甲酸鹽、羥基苯甲酸鹽、甲氧基苯甲酸鹽、甲基苯甲酸鹽、碳酸氫鹽、丁炔-1,4二酸鹽、己炔-1,6-二酸鹽、己酸鹽、辛酸鹽、氯苯甲酸鹽、肉桂酸鹽、檸檬酸鹽、癸酸鹽、甲酸鹽、反丁烯二酸鹽、羥乙酸鹽、葡萄糖酸鹽、葡萄糖二酸鹽、葡萄糖醛酸鹽、葡萄糖-6-磷酸鹽、麩胺酸鹽、庚酸鹽、己酸鹽、羥乙磺酸鹽、異丁酸鹽、 γ -羥基丁酸鹽、苯丁酸鹽、乳酸鹽、蘋果酸鹽、順丁烯二酸鹽、羥基順丁烯二酸鹽、甲基順丁烯二酸鹽、丙二酸鹽、杏仁酸鹽、菸鹼酸鹽、硝酸鹽、異菸鹼酸鹽、辛酸鹽、油酸鹽、草酸鹽、雙羥萘酸鹽、磷酸鹽、單氫磷酸鹽、二氫磷酸鹽、正磷酸鹽、偏磷酸鹽、焦磷酸鹽、2-磷酸甘油酸鹽、3-磷酸甘油酸鹽、鄰苯二甲酸鹽、丙酸鹽、苯基丙酸鹽、丙炔酸鹽、丙酮酸鹽、奎尼酸鹽、水楊酸鹽、

4-氨基水楊酸鹽、癸二酸鹽、硬脂酸鹽、辛二酸鹽、丁二酸鹽、硫酸鹽、焦硫酸鹽、硫酸氫鹽、亞硫酸鹽、亞硫酸氫鹽、胺基磺酸鹽、磺酸鹽、苯磺酸鹽(亦即苯磺酸鹽)、乙烷磺酸鹽(亦即乙磺酸鹽)、乙烷-1,2-二磺酸鹽、2-羥基乙烷磺酸鹽(亦即羥乙磺酸鹽)、甲烷磺酸鹽(亦即甲磺酸鹽)、萘-1-磺酸鹽、萘-2-磺酸鹽(亦即萘磺酸鹽)、丙烷磺酸鹽、對甲苯磺酸鹽(亦即甲苯磺酸鹽)、二甲苯磺酸鹽、環己基胺基磺酸鹽、酒石酸鹽及三氟乙酸鹽。此等醫藥學上可接受之酸加成鹽可使用適當相應酸製備。

當酸性官能基(諸如羧酸或酚)存在時，醫藥學上可接受之鹽亦包括鹼加成鹽，諸如含有以下之鹼加成鹽：苧星青黴素、氯普魯卡因、膽鹼、乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、第三丁胺、二環己胺、乙二胺、N,N'-二苯甲基乙二胺、葡甲胺、羥基乙基吡咯啉、哌啉、嗎啉、哌嗪、普魯卡因、鋁、鈣、銅、鐵、鋰、鎂、錳、鉀、鈉、鋅、銨及單、二或三烷基胺(例如二乙胺)或衍生自胺基酸(諸如L-組胺酸、L-甘胺酸、L-離胺酸及L-精胺酸)之鹽。舉例而言，參見*Remington's Pharmaceutical Sciences*, 第19版, Mack Publishing Co., Easton, PA, 第2卷, 第1457頁, 1995。此等醫藥學上可接受之鹼加成鹽可使用適當相應鹼製備。

醫藥學上可接受之鹽可藉由標準技術製備。舉例而言，化合物之游離鹼形式可溶解於適合溶劑(諸如含有適當酸之水溶液或水-醇溶液)中，隨後藉由蒸發溶液分離。在另一實例中，鹽可藉由使游離鹼及酸於有機溶劑中反應製備。若特定化合物為酸，則所要醫藥學上可接受之鹽可藉由任何適合方法製備，例如用適當無機或有機鹼處理游離酸。

C. 其他化合物形式

在為固體之藥劑的情形下，熟習此項技術者應瞭解預期根據本

發明使用之化合物及鹽可以不同晶體或多晶形式存在，或可調配為共晶體，或可為非晶形式，或可為其任何組合(例如部分結晶、部分非晶型或多晶型物之混合物)，其均意欲屬於本發明及規定式之範疇。儘管鹽藉由酸/鹼加成形成，亦即相關化合物之游離鹼或游離酸分別與相應加成鹼或加成酸形成酸/鹼反應物，從而產生離子電荷相互作用，但共晶體為在中性化合物之間形成的新穎化學物質，從而產生化合物及相同晶體結構之另一分子物質。

在一些情況下，預期根據本發明使用之化合物與如下酸或鹼複合，包括鹼加成鹽，諸如鉍、二乙胺、乙醇胺、乙二胺、二乙醇胺、第三丁胺、哌嗪、葡甲胺；酸加成鹽，諸如乙酸鹽、乙醯基水楊酸鹽、苯磺酸鹽、樟腦磺酸鹽、檸檬酸鹽、甲酸鹽、反丁烯二酸鹽、戊二酸鹽、鹽酸鹽、順丁烯二酸鹽、甲磺酸鹽、硝酸鹽、草酸鹽、磷酸鹽、丁二酸鹽、硫酸鹽、酒石酸鹽、硫氰酸鹽及甲苯磺酸鹽；及胺基酸，諸如丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、半胱胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、色胺酸、酪胺酸或纈胺酸。在組合本發明化合物與酸或鹼中，較佳形成非晶型複合物而非結晶物質，諸如典型鹽或共晶體。在一些情況下，藉由另外加工(諸如藉由噴霧乾燥、機械化學方法(諸如滾筒壓實)或微波照射與酸或鹼混合之母化合物)促進複合物之非晶形式。此類方法亦可包括添加離子及/或非離子型聚合物系統，包括(但不限於)乙酸羥基丙基甲基纖維素丁二酸酯(HPMCAS)及甲基丙烯酸共聚物(例如Eudragit® L100-55)，其進一步穩定複合物之非晶性質。此類非晶型複合物提供數種優點。舉例而言，相對於游離鹼降低熔融溫度有助於另外加工(諸如熱熔擠壓)以進一步改良化合物之生物醫藥特性。此外，非晶型複合物容易破碎，從而提供改良之壓縮以將固體裝載於膠囊或錠劑形式中。

另外，該等式意欲涵蓋所鑑別結構之水合或溶劑化以及非水合或非溶劑化形式。舉例而言，指示化合物包括水合與非水合形式。溶劑合物之其他實例包括該結構與適合溶劑(諸如異丙醇、乙醇、甲醇、DMSO、乙酸乙酯、乙酸或乙醇胺)之組合。

V. 組合療法

在一些實施例中，本發明提供治療有需要之動物個體的本文所述之疾病或病狀中之任一者的方法，其中該方法包括投與個體有效量之式I或式II之化合物以及該疾病或病狀之一或多種其他療法。

A. 式I或式II與另一藥劑之組合

在一些實施例中，式I或式II之化合物或包含式I或式II之化合物的醫藥組合物可與另一治療劑一起投與。在一些實施例中，另一治療劑可為烷化劑，包括(但不限於)阿多來新(adozelesin)、六甲蜜胺(altretamine)、苯達莫司汀(bendamustine)、比折來新(bizelesin)、白消安(busulfan)、卡鉑(carboplatin)、卡波醌(carboquone)、卡莫氟(carmofur)、卡莫司汀(carmustine)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、順鉑(cisplatin)、環磷醯胺(cyclophosphamide)、達卡巴嗪(dacarbazine)、雌氮芥(estramustine)、依託格魯(etoglucid)、福莫司汀(fotemustine)、海普法姆(hepsulfam)、異環磷醯胺(ifosfamide)、英丙舒凡(improsulfan)、伊洛福芬(irofulven)、洛莫司汀(lomustine)、甘露舒凡(mannosulfan)、甲氮芥(mechlorethamine)、美法侖(melphalan)、二溴甘露醇(mitobronitol)、奈達鉑(nedaplatin)、尼莫司汀(nimustine)、奧沙利鉑(oxaliplatin)、哌泊舒凡(piposulfan)、潑尼氮芥(prednimustine)、丙卡巴肼(procarbazine)、雷莫司汀(ranimustine)、賽特鉑(satraplatin)、司莫司汀(semustine)、鏈脲菌素(streptozocin)、替莫唑胺(temozolomide)、噻替派(thiotepa)、曲奧舒凡(treosulfan)、三亞胺醌(triaziquone)、三伸乙基三聚氰胺(triethylenemelamine)、四硝

酸三鉑(triplatin tetranitrate)、曲磷胺(trofosphamide)及烏拉莫司汀(uramustine)；抗生素，包括(但不限於)阿柔比星(aclarubicin)、胺柔比星(amrubicin)、博萊黴素(bleomycin)、放線菌素(dactinomycin)、道諾黴素(daunorubicin)、小紅莓(doxorubicin)、依沙蘆星(elsamitrucin)、表柔比星(epirubicin)、艾達黴素(idarubicin)、美諾立爾(menogaril)、絲裂黴素(mitomycin)、新抑癌蛋白(neocarzinostatin)、噴司他汀(pentostatin)、吡柔比星(pirarubicin)、普卡黴素(plicamycin)、伐柔比星(valrubicin)及左柔比星(zorubicin)；抗代謝物，包括(但不限於)胺基喋呤(aminopterin)、阿紫胞苷(azacitidine)、硫唑嘌呤(azathioprine)、卡培他濱(capecitabine)、克拉屈濱(cladribine)、氯法拉濱(clofarabine)、阿糖胞苷(cytarabine)、地西他濱(decitabine)、氟尿苷(floxuridine)、氟達拉濱(fludarabine)、5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)、吉西他濱(gemcitabine)、羥基脲(hydroxyurea)、巰基嘌呤(mercaptopurine)、甲胺喋呤(methotrexate)、奈拉濱(nelarabine)、培美曲塞(pemetrexed)、硫唑嘌呤(azathioprine)、雷替曲塞(raltitrexed)、替加氟-尿嘧啶(tegafururacil)、硫鳥嘌呤(thioguanine)、甲氧苄啶(trimethoprim)、曲美沙特(trimetrexate)及阿糖腺苷(vidarabine)；免疫療法，包括(但不限於)阿侖單抗(alemtuzumab)、派立珠單抗(pembrolizumab)、尼沃單抗(nivolumab)、貝伐單抗(bevacizumab)、西妥昔單抗(cetuximab)、加利昔單抗(galiximab)、吉妥單抗(gemtuzumab)、帕尼單抗(panitumumab)、帕妥珠單抗(pertuzumab)、利妥昔單抗(rituximab)、托西莫單抗(tositumomab)、曲妥珠單抗(trastuzumab)、90Y-替坦異貝莫單抗(90Y-ibritumomab tiuxetan)、伊派利單抗(ipilimumab)及西木單抗(tremelimumab)；激素或激素拮抗劑，包括(但不限於)阿那曲唑(anastrozole)、雄激素(androgens)、布舍瑞林(buserelin)、二乙基己烯

雌酚(diethylstilbestrol)、依西美坦(exemestane)、氟他胺(flutamide)、
 氟維司群(fulvestrant)、戈舍瑞林(goserelin)、艾多昔芬(idoxifene)、
 來曲唑(letrozole)、亮丙立德(leuprolide)、甲地孕酮(magestrol)、雷洛
 昔芬(raloxifene)、他莫昔芬(tamoxifen)及托瑞米芬(toremifene)；紫杉
 烷，包括(但不限於)DJ-927、多西他賽(docetaxel)、TPI 287、拉洛他
 賽(larotaxel)、奧他賽(ortataxel)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、DHA-太
 平洋紫杉醇及替司他賽(tesetaxel)；類視黃素，包括(但不限於)阿利維
 甲酸(alitretinoin)、貝瑟羅汀(bexarotene)、非瑞替尼(fenretinide)、異
 維甲酸(isotretinoin)及維甲酸(tretinoin)；生物鹼，包括(但不限於)秋
 水仙胺(demecolcine)、高三尖杉酯鹼(homoharringtonine)、長春花鹼
 (vinblastine)、長春新鹼(vincristine)、長春地辛(vindesine)、長春氟寧
 (vinflunine)及長春瑞賓(vinorelbine)；抗血管生成劑，包括(但不限於)
 AE-941 (GW786034、新伐司他(Neovastat))、ABT-510、2-甲氧雌二
 醇、來那度胺(lenalidomide)及沙力度胺(thalidomide)；拓撲異構酶抑
 制劑，包括(但不限於)安吡啶(amsacrine)、伯克替肯(bclotecan)、艾
 特卡林(edotecarin)、依託泊苷(etoposide)、磷酸依託泊苷(etoposide
 phosphate)、依喜替康(exatecan)、伊立替康(irinotecan) (亦包含活性
 代謝物SN-38 (7-乙基-10-羥基-喜樹鹼))、硫蒽酮(lucanthone)、米托蒽
 醌(mitoxantrone)、匹蒽醌(pixantrone)、盧比替康(rubitecan)、替尼泊
 苷(teniposide)、拓朴替康(topotecan)及9-胺基喜樹鹼；激酶抑制劑，
 包括(但不限於)阿西替尼(axitinib)(AG 013736)、達沙替尼(dasatinib)
 (BMS 354825)、埃羅替尼(erlotinib)、吉非替尼(gefitinib)、夫拉平度
 (flavopiridol)、甲磺酸伊馬替尼(imatinib mesylate)、拉帕替尼
 (lapatinib)、二磷酸莫替沙尼(motesanib diphosphate)(AMG 706)、尼羅
 替尼(nilotinib) (AMN 107)、塞利希布(seliciclib)、索拉非尼
 (sorafenib)、蘋果酸舒尼替尼(sunitinib malate)、AEE-788、BMS-

599626、UCN-01 (7-羥基星形孢菌素)及凡塔藍尼(vatalanib)；靶向信號轉導抑制劑，包括(但不限於)硼替佐米(bortezomib)、格爾德黴素(geldanamycin)及雷帕黴素(rapamycin)；生物反應調節劑，包括(但不限於)咪喹莫特(imiquimod)、干擾素- α 及介白素-2；及其他化學治療劑，包括(但不限於) 3-AP (3-胺基-2-羧基醛硫半卡脲)、阿曲生坦(atrasentan)、胺格魯米特(aminoglutethimide)、阿那格雷(anagrelide)、天冬醯胺酶(asparaginase)、苔蘚蟲素-1 (bryostatin-1)、西侖吉肽(cilengitide)、伊利司莫(elesclomol)、甲磺酸艾日布林(eribulin mesylate) (E7389)、伊沙匹隆(ixabepilone)、氯尼達明(lonidamine)、馬索羅酚(masoprocol)、米托瓜宗(mitoguanazone)、奧利默森(oblimersen)、舒林酸(sulindac)、睪丸內脂(testolactone)、噻唑呋林(tiazofurin)、mTOR抑制劑(例如坦羅莫司(temsirolimus)、依維莫司(everolimus)、德佛利姆(deforolimus))、PI3K抑制劑(例如BKM120、BEZ235、GDC-0941、XL17、XL765)、Cdk4抑制劑(例如PD-332991)、Akt抑制劑、Hsp90抑制劑(例如坦螺旋黴素(tanespimycin))及法尼基轉移酶抑制劑(例如替吡法尼(tipifarnib))；EK抑制劑(例如AS703026、AZD6244 (司美替尼(selumetinib))、AZD8330、BIX02188、CI 1040 (PD184352)、D-87503、GS 1120212 (JTP-74057)、PD0325901、PD318088、PD98059、PDEA119 (BAY 869766)、(TAK-733)。在另一實施例中，治療癌症之方法包括投與個體有效量之組合物，其包括如本文所述之任一或多種化合物以及選自以下之化學治療劑：卡培他濱、5-氟尿嘧啶、卡鉑、達卡巴嗪、吉非替尼、奧沙利鉑、太平洋紫杉醇、SN-38、替莫唑胺、長春花鹼、貝伐單抗、西妥昔單抗、干擾素- α 、介白素-2或埃羅替尼。

在一些實施例中，另一治療劑可為以下藥劑中之一或多者：阿多來新、六甲蜜胺、苯達莫司汀、比折來新、白消安、卡鉑、卡波

醌、卡莫氟、卡莫司汀、苯丁酸氮芥、順鉑、環磷醯胺、達卡巴嗪、雌氮芥、依託格魯、福莫司汀、海普法姆、異環磷醯胺、英丙舒凡、伊洛福芬、洛莫司汀、甘露舒凡、甲氮芥、美法侖、二溴甘露醇、奈達鉑、尼莫司汀、奧沙利鉑、哌泊舒凡、潑尼氮芥、丙卡巴肼、雷莫司汀、賽特鉑、司莫司汀、鏈脲菌素、替莫唑胺、噻替派、曲奧舒凡、三亞胺醌、三伸乙基三聚氰胺、四硝酸三鉑、曲磷胺、烏拉莫司汀、阿柔比星、胺柔比星、博萊黴素、放線菌素、道諾黴素、小紅莓、依沙蘆星、表柔比星、艾達黴素、美諾立爾、絲裂黴素、新抑癌蛋白、噴司他汀、吡柔比星、普卡黴素、伐柔比星、左柔比星、胺基喋呤、阿紮胞苷、硫唑嘌呤、卡培他濱、克拉屈濱、氟法拉濱、阿糖胞苷、地西他濱、氟尿苷、氟達拉濱、5-氟尿嘧啶、吉西他濱、羥基脲、巯基嘌呤、甲胺喋呤、奈拉濱、培美曲塞、硫唑嘌呤、雷替曲塞、替加氟-尿嘧啶、硫鳥嘌呤、甲氧苄啶、曲美沙特、阿糖腺苷、阿倫單抗、派立珠單抗、尼沃單抗、貝伐單抗、西妥昔單抗、加利昔單抗、吉妥單抗、帕尼單抗、帕妥珠單抗、利妥昔單抗、托西莫單抗、曲妥珠單抗、90Y-替坦異貝莫單抗、伊派利單抗、西木單抗、阿那曲唑、雄激素、布舍瑞林、二乙基己烯雌酚、依西美坦、氟他胺、氟維司群、戈舍瑞林、艾多昔芬、來曲唑、亮丙立德、甲地孕酮、雷洛昔芬、他莫昔芬、托瑞米芬、DJ-927、多西他賽、TPI 287、拉洛他賽、奧他賽、太平洋紫杉醇、DHA-太平洋紫杉醇、替司他賽、阿利維甲酸、貝瑟羅汀、非瑞替尼、異維甲酸、維甲酸、秋水仙胺、高三尖杉酯鹼、長春花鹼、長春新鹼、長春地辛、長春氟寧、長春瑞賓、抗血管生成劑(包括(但不限於)新伐司他、ABT-510、2-甲氧雌二醇、來那度胺、沙力度胺)、安吖啶、艾特卡林、依託泊苷、磷酸依託泊苷、依喜替康、伊立替康、硫蒽酮、米托蒽醌、匹蒽醌、盧比替康、替尼泊苷、拓朴替康、9-胺基喜樹鹼、阿西替尼、埃羅替尼、吉

非替尼、夫拉平度、甲磺酸伊馬替尼、卡博替尼、拉帕替尼、二磷酸莫替沙尼、尼羅替尼、塞利希布、索拉非尼、蘋果酸舒尼替尼、AEE-788、BMS-599626、7-羥基星形孢菌素、凡塔藍尼、硼替佐米、格爾德黴素、雷帕黴素、咪喹莫特、干擾素- α 、介白素-2、3-胺基-2-羧基醛硫半卡脞、阿曲生坦、胺格魯米特、阿那格雷、天冬醯胺酶、苔蘚蟲素-1、西侖吉肽、伊利司莫、甲磺酸艾日布林、伊沙匹隆、氯尼達明、馬索羅酚、米托瓜宗、奧利默森、舒林酸、睪丸內脂、噻唑呋林、坦羅莫司、依維莫司、德佛利姆、PI3K抑制劑、Cdk4抑制劑、Akt抑制劑、Hsp90抑制劑、EGFR抑制劑、IDO抑制劑、法尼基轉移酶抑制劑、MEK抑制劑、BET抑制劑、AS703026、司美替尼、AZD8330、BIX02188、PD184352、D-87503、GS 1120212、PD0325901、PD318088、PD98059、PDEA119或TAK-733。

在另一態樣中，本發明提供一種治療有需要之個體之癌症的方法，其藉由投與個體有效量之式I或式II之化合物以及一或多種適合化學治療劑達成。在一個實施例中，一或多種適合化學治療劑係選自烷化劑，包括(但不限於)阿多來新、六甲蜜胺、苯達莫司汀、比折來新、白消安、卡鉑、卡波醌、卡莫氟、卡莫司汀、苯丁酸氮芥、順鉑、環磷醯胺、達卡巴嗪、雌氮芥、依託格魯、福莫司汀、海普法姆、異環磷醯胺、英丙舒凡、伊洛福芬、洛莫司汀、甘露舒凡、甲氮芥、美法侖、二溴甘露醇、奈達鉑、尼莫司汀、奧沙利鉑、哌泊舒凡、潑尼氮芥、丙卡巴肼、雷莫司汀、賽特鉑、司莫司汀、鏈脲菌素、替莫唑胺、噻替派、曲奧舒凡、三亞胺醌、三伸乙基三聚氰胺、四硝酸三鉑、曲磷胺及烏拉莫司汀；抗生素，包括(但不限於)阿柔比星、胺柔比星、博萊黴素、放線菌素、道諾黴素、小紅莓、依沙蘆星、表柔比星、艾達黴素、美諾立爾、絲裂黴素、新抑癌蛋白、噴司他汀、吡柔比星、普卡黴素、伐柔比星及左柔比星；抗代謝物，包括

(但不限於)胺基喋呤、阿紮胞苷、硫唑嘌呤、卡培他濱、克拉屈濱、氟法拉濱、阿糖胞苷、地西他濱、氟尿苷、氟達拉濱、5-氟尿嘧啶、吉西他濱、羥基脲、巯基嘌呤、甲胺喋呤、奈拉濱、培美曲塞、雷替曲塞、替加氟-尿嘧啶、硫鳥嘌呤、甲氧苄啶、曲美沙特及阿糖腺苷；免疫療法，包括吲哚胺2,3-二加氧酶(IDO)抑制劑；抗體療法，包括(但不限於)免疫檢查點抑制劑，諸如PD-1抑制劑(諸如派立珠單抗、尼沃單抗、皮立珠單抗)或PD-L1抑制劑(諸如BMS-936559、MEDI4736、MPDL3280A或MSB0010718C)、阿侖單抗、貝伐單抗、西妥昔單抗、加利昔單抗、吉妥單抗、帕尼單抗、帕妥珠單抗、利妥昔單抗、貝倫妥單抗、托西莫單抗、曲妥珠單抗、90 Y替坦異貝莫單抗、伊派利單抗、曲美單抗及抗CTLA-4抗體；激素或激素拮抗劑，包括(但不限於)阿那曲唑、雄激素、布舍瑞林、二乙基己烯雌酚、依西美坦、氟他胺、氟維司群、戈舍瑞林、艾多昔芬、來曲唑、亮丙立德、甲地孕酮、雷洛昔芬、他莫昔芬及托瑞米芬；紫杉烷，包括(但不限於)DJ-927、多西他賽、TPI 287、拉洛他賽、奧他賽、太平洋紫杉醇、DHA-太平洋紫杉醇及替司他賽；類視黃素，包括(但不限於)阿利維甲酸、貝瑟羅汀、非瑞替尼、異維甲酸及維甲酸；生物鹼，包括(但不限於)秋水仙胺高三尖杉酯鹼、長春花鹼、長春新鹼、長春地辛、長春氟寧及長春瑞賓；抗血管生成劑，包括(但不限於)AE-941 (GW786034，鯊癌靈)、ABT-510、2-甲氧雌二醇、來那度胺及沙力度胺；拓撲異構酶抑制劑，包括(但不限於)安吡啶、貝洛替康、艾特卡林、依託泊苷、磷酸依託泊苷、依喜替康、伊立替康(亦含有活性代謝物SN-38 (7-乙基-10-羥基-喜樹鹼))、硫蒽酮、米托蒽醌、匹蒽醌、盧比替康、替尼泊苷、拓朴替康及9-胺基喜樹鹼；激酶抑制劑，包括(但不限於)阿西替尼(AG 013736)、達沙替尼(BMS 354825)、埃羅替尼、吉非替尼、夫拉平度、甲磺酸伊馬替尼、卡博

替尼、拉帕替尼、二磷酸莫替沙尼(AMG 706)、尼羅替尼(AMN107)、塞利希布、索拉非尼、蘋果酸舒尼替尼、AEE-788、BMS-599626、UCN-01 (7-羥基星形孢菌素)、維羅非尼、達拉菲尼、司美替尼及凡塔藍尼；靶向信號轉導抑制劑，包括(但不限於)硼替佐米、格爾德黴素及雷帕黴素；生物反應調節劑，包括(但不限於)咪喹莫特、干擾素- γ 及介白素-2；及其他化學治療劑，包括(但不限於)3-AP (3-胺基-2-羧基醛硫半卡脲)、阿曲生坦、胺格魯米特、阿那格雷、天冬醯胺酶、苔蘚蟲素-1、西侖吉肽、艾利莫耳、甲磺酸艾日布林(E7389)、伊沙匹隆、氫尼達明、馬索羅酚、米托瓜宗、奧利默森、舒林酸、羥內酯、噻唑呋林、mTOR抑制劑(例如INK28、AZD8055、西羅莫司、坦羅莫司、依維莫司、德佛利姆)、PI3K抑制劑(例如BEZ235、GDC-0941、XL147、XL765)、Cdk4抑制劑(例如PD-332991)、Akt抑制劑、Hsp90抑制劑(例如格爾德黴素(geldanamycin)、根赤殼菌素(radicicol)、坦螺旋黴素)、法呢基轉移酶抑制劑(例如替吡法尼)及芳香酶抑制劑(阿那曲唑、來曲唑、依西美坦)。在本文所述之方法及用途之另一實施例中，將式I或式II之化合物與選自以下之化學治療劑組合投與：卡培他濱、5-氟尿嘧啶、卡鉑、達卡巴嗪、吉非替尼、奧沙利鉑、太平洋紫杉醇、SN-38、替莫唑胺、長春花鹼、貝伐單抗、西妥昔單抗、干擾素- α 、介白素-2或埃羅替尼。在另一實施例中，化學治療劑為Mek抑制劑。例示性Mek抑制劑包括(但不限於)曲美替尼、考比替尼、AS703026、AZD6244(司美替尼(Selumetinib))、AZD8330、BIX 02188、CI-1040 (PD184352)、GSK1120212 (JTP-74057)、PD0325901、PD318088、PD98059、RDEA119 (BAY 869766)、TAK-733及U0126-EtOH。在另一實施例中，化學治療劑為酪胺酸激酶抑制劑。例示性酪胺酸激酶抑制劑包括(但不限於)AEE788、AG-1478 (酪胺酸磷酸化抑制劑(Tyrphostin) AG-

1478)、AG-490、阿帕替尼(Apatinib)(YN968D1)、AV-412、AV-951(替沃紫尼(Tivozanib))、阿西替尼(Axitinib)、AZD8931、BIBF1120(瓦格特氟(Vargatef))、BIBW2992 (阿法替尼(Afatinib))、BMS794833、BMS-599626、布立尼布(Brivanib)(BMS-540215)、丙胺酸布立尼布(Brivanib alaninate)(BMS-582664)、西地尼布(Cediranib)(AZD2171)、大黃根酸(大黃酚)、克諾拉尼(Crenolanib)(CP-868569)、CUDC-101、CYC116、二乳酸多韋替尼(Dovitinib Dilactic acid)(二乳酸TKI258)、E7080、鹽酸埃羅替尼(Erlotinib Hydrochloride)(特羅凱(Tarceva)、CP-358774、OSI-774、NSC-718781)、弗雷替尼(Foretinib)(GSK1363089、XL880)、吉非替尼(Gefitinib)(ZD-1839或易瑞沙(Iressa))、伊馬替尼(Imatinib)(格列維克(Gleevec))、甲磺酸伊馬替尼(Imatinib Mesylate)、Ki8751、KRN 633、拉帕替尼(Lapatinib)(泰克泊(Tykerb))、立尼法尼(Linifanib)(ABT-869)、馬賽替尼(Masitinib)(馬賽韋特(Masivet)、AB1010)、MGCD-265、莫替沙尼(Motesanib)(AMG-706)、MP-470、木利替尼(Mubritinib)(TAK 165)、來那替尼(Neratinib)(HKI-272)、NVP-BHG712、OSI-420 (去甲基埃羅替尼(Desmethyl Erlotinib)、CP-473420)、OSI-930、帕唑帕尼HCl (Pazopanib HCl)、PD-153035 HCl、PD173074、培利替尼(Pelitinib)(EKB-569)、PF299804、普納替尼(Ponatinib)(AP24534)、PP121、RAF265 (CHIR-265)、Raf265 衍生物、瑞戈非尼(Regorafenib)(BAY 73-4506)、甲苯磺酸索拉非尼(Sorafenib Tosylate)(雷沙瓦(Nexavar))、蘋果酸舒尼替尼(Sunitinib Malate)(舒癌特(Sutent))、特拉替尼(Telatinib)(BAY 57-9352)、TSU-68 (SU6668)、凡德他尼(Vandetanib)(紮克替馬(Zactima))、二鹽酸凡塔藍尼(Vatalanib dihydrochloride)(PTK787)、WZ3146、WZ4002、WZ8040、卡博替尼(Cabozantinib)、XL647、EGFR siRNA、FLT4 siRNA、KDR siRNA、抗糖尿病劑(諸如二甲雙胍(metformin))、PPAR

促效劑(羅格列酮(rosiglitazone)、吡格列酮(pioglitazone)、苯紮貝特(bezafibrate)、環丙貝特(ciprofibrate)、氯貝特(clofibrate)、吉非羅齊(gemfibrozil)、非諾貝特(fenofibrate)、英迪列紮(indeglitazar))及DPP4抑制劑(西他列汀(sitagliptin)、維格列汀(vildagliptin)、沙格列汀(saxagliptin)、多格列汀(dutogliptin)、吉格列汀(gemigliptin)、阿格列汀(alogliptin))。在另一實施例中，藥劑為BET抑制劑(諸如BRD2、BRD3、BRD4及/或BRDT)。在另一實施例中，藥劑為EGFR抑制劑。例示性EGFR抑制劑包括(但不限於)AEE-788、AP-26113、BIBW-2992(特沃克(Tovok))、CI-1033、GW-572016、易瑞沙、LY2874455、RO-5323441、特羅凱(埃羅替尼、OSI-774)、CUDC-101、西妥昔單抗及WZ4002。在另一實施例中，本發明提供一種治療有需要之個體之癌症的方法，其藉由投與該個體有效量之式I或式II之化合物以及拓撲異構酶抑制劑(諸如伊立替康)及EGFR抑制劑(諸如西妥昔單抗)達成。

在一些實施例中，另一治療劑可為以下藥劑中之一或多者：阿多來新、六甲蜜胺、苯達莫司汀、比折來新、白消安、卡鉑、卡波醌、卡莫氟、卡莫司汀、苯丁酸氮芥、順鉑、環磷醯胺、達卡巴嗪、雌氮芥、依託格魯、福莫司汀、海普法姆、異環磷醯胺、英丙舒凡、伊洛福芬、洛莫司汀、甘露舒凡、甲氮芥、美法侖、二溴甘露醇、奈達鉑、尼莫司汀、奧沙利鉑、哌泊舒凡、潑尼氮芥、丙卡巴肼、雷莫司汀、賽特鉑、司莫司汀、鏈脲菌素、替莫唑胺、噻替派、曲奧舒凡、三亞胺醌、三伸乙基三聚氰胺、四硝酸三鉑、曲磷胺、烏拉莫司汀、阿柔比星、胺柔比星、博萊黴素、放線菌素、道諾黴素、小紅莓、依沙蘆星、表柔比星、艾達黴素、美諾立爾、絲裂黴素、新抑癌蛋白、噴司他汀、吡柔比星、普卡黴素、伐柔比星、左柔比星、胺基喋呤、阿紮胞苷、硫唑嘌呤、卡培他濱、克拉屈濱、氯法拉濱、阿糖胞苷、地西他濱、氟尿苷、氟達拉濱、5-氟尿嘧啶、吉西他濱、羥基

脲、巯基嘌呤、甲胺嘌呤、奈拉濱、培美曲塞、雷替曲塞、替加氟-
 尿嘧啶、硫鳥嘌呤、甲氧苄啶、曲美沙特、阿糖腺苷、(IDO)抑制
 劑、PD-1抑制劑、PD-L1抑制劑、阿侖單抗、貝伐單抗、西妥昔單
 抗、加利昔單抗、吉妥單抗、帕尼單抗、帕妥珠單抗、利妥昔單抗、
 貝倫妥單抗、托西莫單抗、曲妥珠單抗、90 Y替坦異貝莫單抗、伊派
 利單抗、曲美單抗、抗CTLA-4抗體、阿那曲唑、雄激素、布舍瑞
 林、二乙基己烯雌酚、依西美坦、氟他胺、氟維司群、戈舍瑞林、艾
 多昔芬、來曲唑、亮丙立德、甲地孕酮、雷洛昔芬、他莫昔芬、托瑞
 米芬、紫杉烷、類視黃素、生物鹼、抗血管生成劑、拓撲異構酶抑制
 劑、阿西替尼、達沙替尼、埃羅替尼、吉非替尼、夫拉平度、甲磺酸
 伊馬替尼、拉帕替尼、二磷酸莫替沙尼、尼羅替尼、塞利希布、索拉
 非尼、蘋果酸舒尼替尼、AEE-788、BMS-599626、7-羥基星形孢菌
 素、維羅非尼、達拉菲尼、司美替尼、凡塔藍尼、硼替佐米、格爾德
 黴素、雷帕黴素、咪喹莫特、干擾素- γ 、介白素-2、3-胺基-2-羧基醛
 硫半卡脲、阿曲生坦、胺格魯米特、阿那格雷、天冬醯胺酶、苔蘚蟲
 素-1、西侖吉肽、艾利莫耳、甲磺酸艾日布林、伊沙匹隆、氯尼達
 明、馬索羅酚、米托瓜宗、奧利默森、舒林酸、鞏內酯、噻唑呋林、
 INK28、AZD8055、西羅莫司、坦羅莫司、依維莫司、德佛利姆、
 BEZ235、GDC-0941、XL147、XL765、PD-332991、Akt抑制劑、格
 爾德黴素、根赤殼菌素、坦螺旋黴素、替吡法尼、阿那曲唑、來曲
 唑、依西美坦、曲美替尼、考比替尼、AS703026、司美替尼、
 AZD8330、BIX 02188、PD184352、GSK1120212、PD0325901、
 PD318088、PD98059、BAY 869766、TAK-733、U0126-EtOH、
 AEE788、酪胺酸磷酸化抑制劑、AG-490、阿帕替尼、AV-412、替沃
 紫尼、阿西替尼、AZD8931、瓦格特氟、阿法替尼、BMS794833、
 BMS-599626、布立尼布、丙胺酸布立尼布、西地尼布、大黃根酸、

克諾拉尼、CUDC-101、CYC116、二乳酸多韋替尼、E7080、鹽酸埃羅替尼、弗雷替尼、吉非替尼、伊馬替尼、甲磺酸伊馬替尼、Ki8751、KRN 633、拉帕替尼、立尼法尼、馬賽替尼、MGCD-265、莫替沙尼、MP-470、木利替尼、來那替尼、NVP-BHG712、去甲基埃羅替尼、OSI-930、帕唑帕尼HCl、PD-153035 HCl、PD173074、培利替尼、PF299804、普納替尼、PP121、RAF265、瑞戈非尼、甲苯磺酸索拉非尼、蘋果酸舒尼替尼、特拉替尼、TSU-68、凡德他尼、凡塔藍尼二鹽酸鹽、WZ3146、WZ4002、WZ8040、卡博替尼、XL647、EGFR siRNA、FLT4 siRNA、KDR siRNA、抗糖尿病劑、PPAR促效劑、DPP4抑制劑、BET抑制劑或EGFR抑制劑。

在一些實施例中，另一治療劑可為溴域抑制劑。溴域抑制劑(例如BET蛋白，諸如BRD2、BRD3、BRD4及/或BRDT)可適用於治療與溴域異常表現有關之疾病，包括尤其細胞增殖病症、癌症、慢性自體免疫、發炎性病狀。BET抑制劑之非限制性實例包括GSK1210151A及GSK525762。

在一些實施例中，另一治療劑可為組蛋白去乙醯基酶抑制劑。組蛋白去乙醯基酶抑制劑(HDAC抑制劑)為藉由誘導細胞週期停滯、分化及/或細胞凋亡抑制培養物中及活體內腫瘤細胞增殖的細胞生長抑制劑。HDAC抑制劑經由誘導致癌基因或腫瘤抑制因子表現變化，經由調節組蛋白及/或非組蛋白之蛋白質(諸如轉錄因子)乙醯化/去乙醯化而發揮其抗腫瘤作用。組蛋白乙醯化及去乙醯化在調節染色質拓撲結構及調節基因轉錄中發揮重要作用。HDAC抑制劑之非限制性實例包括伏立諾他(vorinostat)、羅米地辛(romidepsin)、西達本胺(chidamide)、帕比司他(panobinostat)、貝林諾他(belinostat)、丙戊酸、莫塞諾他(mocetinostat)、阿貝司他(abexinostat)、恩替諾特(entinostat)、雷米諾他(resminostat)、吉韋諾他(givinostat)及奎西諾他

(quisinostat)。HDAC抑制劑已充分用於精神病學及神經學作為情緒穩定劑及抗癲癇藥。其一個實例為丙戊酸，作為商標名為德巴金(Depakene)、德巴科(Depakote)及雙丙戊酸鈉(Divalproex)之藥物出售。HDAC抑制劑亦用作神經退化性疾病(諸如阿茲海默氏病及亨廷頓氏病)之緩解劑。

B. 式I或式II與另一療法之組合

在一些實施例中，本發明提供一種治療有需要之個體之癌症的方法，其藉由投與個體有效量之式I或式II之化合物或其組合物以及一或多種其他療法或有效治療癌症之醫學程序達成。其他療法或醫學程序包括適合抗癌療法(例如藥物療法、疫苗療法、基因療法、光動力療法)或醫學程序(例如手術、輻射治療、高溫加熱、骨髓或幹細胞移植)。在一個實施例中，一或多種適合抗癌療法或醫學程序係選自以下治療：化學治療劑(例如化學治療藥物)、輻射治療(例如x射線、 γ 射線或電子、質子、中子或 α 粒子束)、高溫加熱(例如微波、超音波、射頻切除)、疫苗療法(例如AFP基因肝細胞癌疫苗、AFP腺病毒載體疫苗、AG-858、同種異體GM-CSF分泌乳癌疫苗、樹突狀細胞肽疫苗)、基因療法(例如Ad5CMV-p53載體、編碼MDA7之腺病毒載體、腺病毒5-腫瘤壞死因子 α)、光動力療法(例如胺基乙醯丙酸、莫特沙芬鎧)、溶瘤病毒或細菌療法、手術或骨髓及幹細胞移植。在某些實施例中，本發明提供一種治療有需要之個體之癌症的方法，其藉由投與個體有效量之本文所述之式I或式II之化合物及分別或同時施用如本文所述之輻射治療達成。在一個實施例中，本發明提供一種治療有需要之個體之癌症的方法，其藉由投與個體有效量之本文所述之式I或式II之化合物，繼而輻射治療(例如x射線、 γ 射線或電子、質子、中子或 α 粒子束)達成。在另一實施例中，本發明提供一種治療有需要之個體之癌症的方法，其藉由向個體施用輻射治療(例如x射線、 γ 射線或電

子、質子、中子或 α 粒子束)，繼而投與個體有效量之本文所述之式I或式II達成。在另一實施例中，本發明提供一種治療有需要之個體之癌症的方法，其藉由同時投與個體本文所述之式I或式II之化合物以及輻射療法(例如x射線、 γ 射線或電子、質子、中子或 α 粒子束)達成。

VI. 套組

在另一態樣中，本發明提供包括如本文所述之式I或式II之化合物或其組合物的套組。在一些實施例中，將化合物或組合物包裝於例如小瓶、瓶、燒瓶中，該小瓶、瓶、燒瓶可進一步包裝於例如盒、包封或袋內；該化合物或組合物經美國食品藥物管理局(U.S. Food and Drug Administration)或類似監管機構批准用於投與哺乳動物(例如人類)；該化合物或組合物批准用於投與哺乳動物(例如人類)以用於BRAF蛋白激酶介導之疾病或病狀；本發明之套組包括書面使用說明及/或化合物或組合物適合於或批准用於投與哺乳動物(例如人類)以用於BRAF蛋白激酶介導之疾病或病狀的其他指示；且化合物或組合物以單位劑型或單次劑型包裝，例如單次劑量丸劑、膠囊或其類似物。

VII. 調配物及投藥

本文所述之方法及用途通常用於人類個體之療法。然而，其亦可用於治療其他動物個體之類似或相同適應症。本文所述之式I或式II之化合物可藉由不同途徑投與，包括注射(亦即非經腸，包括靜脈內、腹膜內、皮下及肌肉內)、經口、經皮、經黏膜、經直腸或吸入。此類劑型應使得化合物到達標靶細胞。其他因素為此項技術中熟知，且包括考慮因素，諸如毒性及阻礙化合物或組合物發揮其作用的劑型。技術及調配物一般可見於Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 第21版, Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, PA, 2005 (特此以引用之方式併入本文中)中。

在一些實施例中，本發明方法中所用之組合物包含醫藥學上可

接受之載劑或賦形劑，諸如填充劑、黏合劑、崩解劑、滑動劑、潤滑劑、錯合劑、增溶劑及界面活性劑，其可經選擇以便於藉由特定途徑投與化合物。載劑之實例包括碳酸鈣、磷酸鈣、各種糖(諸如乳糖、葡萄糖或蔗糖)、各種類型之澱粉、纖維素衍生物、明膠、脂質、脂質體、奈米粒子及其類似物。載劑亦包括作為溶劑之生理學相容液體，或對於懸浮液，包括例如注射用水(WFI)之無菌溶液、生理食鹽水溶液、右旋糖溶液、漢克氏溶液(Hank's solution)、林格氏溶液(Ringer's solution)、植物油、礦物油、動物油、聚乙二醇、液體石蠟及其類似物。賦形劑亦可包括例如膠態二氧化矽、矽膠、滑石、矽酸鎂、矽酸鈣、鋁矽酸鈉、三矽酸鎂、粉末纖維素、粗晶質纖維素、羧基甲基纖維素、交聯羧基甲基纖維素鈉、苯甲酸鈉、碳酸鈣、碳酸鎂、硬脂酸、硬脂酸鋁、硬脂酸鈣、硬脂酸鎂、硬脂酸鋅、硬脂醯反丁烯二酸鈉、賽羅德(syloid)、斯蒂文C (stearowet C)、氧化鎂、澱粉、羥基乙酸澱粉鈉、單硬脂酸甘油酯、二山梨酸甘油酯、棕櫚基硬脂酸甘油酯、氫化植物油、氫化棉花籽油、蓖麻籽油、礦物油、聚乙二醇(例如PEG 400或PEG 4000-8000)、聚氧伸乙基二醇、泊洛沙姆(poloxamers)、普維酮(povidone)、交聯普維酮、交聯羧基纖維素鈉、褐藻酸、酪蛋白、甲基丙烯酸二乙烯苯共聚物、多庫鈉、環糊精(例如2-羥基丙基- δ -環糊精)、聚山梨醇酯(例如聚山梨醇酯80)、西曲溴胺(cetrimide)、TPGS (d- α -生育酚聚乙二醇1000丁二酸酯)、月桂硫酸鎂、月桂基硫酸鈉、聚乙二醇醚、聚乙二醇之二脂肪酸酯或聚氧伸烷基脫水山梨糖醇脂肪酸酯(例如聚氧伸乙基脫水山梨糖醇酯Tween[®])、聚氧伸乙基脫水山梨糖醇脂肪酸酯、脫水山梨糖醇脂肪酸酯(例如來自諸如油酸、硬脂酸或棕櫚酸之脂肪酸之脫水山梨糖醇脂肪酸酯)、甘露糖醇、木糖醇、山梨糖醇、麥芽糖、乳糖、單水合乳糖或經噴霧乾燥之乳糖、蔗糖、果糖、磷酸鈣、磷酸氫二鈣、磷酸三鈣、硫酸

鈣、葡萄糖結合劑、聚葡萄糖、糊精、右旋糖、乙酸纖維素、麥芽糊精、聚二甲矽氧烷、聚右旋糖、聚葡萄糖胺糖、明膠、HPMC (羥基丙基甲基纖維素)、HPC (羥基丙基纖維素)、羥基乙基纖維素及其類似物。

在一些實施例中，可使用經口投與。用於經口用途之醫藥製劑可調配為習知經口劑型，諸如膠囊、錠劑及液體製劑(諸如糖漿、酏劑及濃滴劑)。本文所述之式I或式II之化合物可與固體賦形劑組合，必要時在添加適合助劑後視情況碾磨所得混合物且處理顆粒之混合物，得到例如錠劑、包衣錠劑、硬膠囊、軟膠囊、溶液(例如水、醇或油溶液)及其類似物。適合賦形劑尤其為填充劑，諸如糖，包括乳糖、葡萄糖、蔗糖、甘露糖醇或山梨糖醇；纖維素製劑，例如玉米澱粉、小麥澱粉、稻穀澱粉、馬鈴薯澱粉、明膠、黃耆膠、甲基纖維素、羥基丙基甲基纖維素、羧基甲基纖維素鈉(CMC)及/或聚乙烯吡咯啉酮(PVP：普維酮)；油賦形劑，包括植物及動物油，諸如葵花油、橄欖油或魚肝油。經口劑型亦可含有崩解劑，諸如交聯聚乙烯吡咯啉酮、瓊脂或褐藻酸或其鹽(諸如褐藻酸鈉)；潤滑劑，諸如滑石或硬脂酸鎂；塑化劑，諸如甘油或山梨糖醇；甜味劑，諸如蔗糖、果糖、乳糖或阿斯巴甜糖；天然或人工調味劑，諸如胡椒薄荷、冬青油或櫻桃調味劑；或染料或顏料，其可用於鑑別或表徵不同劑量或組合。亦提供具有適合塗層之糖衣藥丸核心。出於此目的，可使用濃糖溶液，其可視情況含有例如阿拉伯膠、滑石、聚乙炔基吡咯啉酮、卡波莫凝膠、聚乙二醇及/或二氧化鈦、塗漆溶液及適合有機溶劑或溶劑混合物。

可經口使用之醫藥製劑包括由明膠製成之配合插入膠囊(「膠囊錠」)以及由明膠及塑化劑(諸如甘油或山梨糖醇)製成之密封軟膠囊。配合插入膠囊可含有活性成分與諸如乳糖之填充劑、諸如澱粉之黏合

劑及/或諸如滑石或硬脂酸鎂之潤滑劑及視情況選用之穩定劑混合。軟膠囊中，活性組分(諸如式I或式II之化合物)可溶解或懸浮於適合液體(諸如脂肪油、液體石蠟或液體聚乙二醇)中。

在一些實施例中，可使用注射(非經腸投與)，例如肌肉內、靜脈內、腹膜內及/或皮下注射。本文所述之注射用式I或式II之化合物可調配於無菌液體溶液中，較佳生理學相容緩衝液或溶液(諸如生理食鹽水溶液、漢克氏溶液或林格氏溶液)中。分散液亦可於非水性溶液(諸如甘油、丙二醇、乙醇、液體聚乙二醇、三醋精及植物油)中製備。溶液亦可含有防腐劑，諸如對羥基苯甲酸甲酯、對羥基苯甲酸丙酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸、硫柳汞及其類似物。另外，本文所述之式I或式II之化合物可以固體形式調配，包括例如凍乾形式，且在使用之前再溶解或懸浮。

在一些實施例中，可使用經黏膜、表面或經皮投與。在本文所述之式I或式II之化合物之此類調配物中，使用適於滲透障壁之滲透劑。此類滲透劑一般為此項技術中已知，且對於經黏膜投與，包括例如膽汁鹽及梭鏈孢酸衍生物。另外，清潔劑可用於促進滲透。經黏膜投與例如可經由經鼻噴霧劑或栓劑(經直腸或陰道)進行。用於表面投與之本文所述之式I或式II之化合物之組合物可藉由選擇此項技術中已知之適當載劑調配為油、乳膏、洗劑、軟膏及其類似物。適合載劑包括植物或礦物油、白石蠟脂(白軟石蠟)、分支鏈脂肪或油、動物脂肪及高分子量醇(大於C₁₂)。在一些實施例中，載劑經選擇以使得活性成分可溶。必要時，亦可包括乳化劑、穩定劑、保濕劑及抗氧化劑以及賦予色彩或香味之試劑。用於表面施用之乳膏較佳由礦物油、自乳化蜂蠟及水之混合物調配，在該混合物中混合有溶解於少量溶劑(例如油)中之活性成分。另外，藉由經皮方式投與可包含經皮貼片或敷料，諸如浸漬有活性成分及視情況選用之一或多種此項技術中已知之

載劑或稀釋劑之繃帶。為以經皮遞送系統形式投與，劑量投與在整個給藥方案中為連續的而非間歇的。

在一些實施例中，式I或式II之化合物或其組合物以吸入劑形式投與。本文所述之式I或式II之化合物可調配成乾燥粉末或適合溶液、懸浮液或氣霧劑。粉末及溶液可用此項技術中已知之適合添加劑調配。舉例而言，粉末可包括適合粉末基質，諸如乳糖或澱粉，且溶液可包含丙二醇、無菌水、乙醇、氯化鈉及其他添加劑，諸如酸、鹼及緩衝鹽。此類溶液或懸浮液可藉由吸入經由噴霧器、泵、霧化器或噴灑器及其類似物投與。本文所述之式I或式II之化合物亦可與其他吸入療法組合使用，例如皮質類固醇，諸如丙酸氟替卡松(fluticasone propionate)、二丙酸倍氯米松(beclomethasone dipropionate)、曲安奈德(triamcinolone acetonide)、布地奈德(budesonide)及糠酸莫米松(mometasone furoate)； β 促效劑，諸如沙丁胺醇(albuterol)、沙美特羅(salmeterol)及福莫特羅(formoterol)；抗膽鹼激導性藥劑，諸如異丙托溴銨(ipratropium bromide)或噻托銨(tiotropium)；血管擴張劑，諸如曲前列環素(treprostinil)及伊洛前列素(iloprost)；酶，諸如DNAase；治療蛋白免疫球蛋白抗體；寡核苷酸，諸如單或雙股DNA或RNA、siRNA；抗生素，諸如托普黴素(tobramycin)；蕈毒鹼受體拮抗劑；白三烯拮抗劑；細胞激素拮抗劑；蛋白酶抑制劑；色甘酸鈉；尼德瑞鈉(nedocril sodium)；及色苷酸鈉。

欲投與之式I或式II之量可藉由標準程序考慮如下因素確定，諸如：化合物活性(活體外，例如化合物 IC_{50} 相對於動物功效模型中之目標或活體內活性)、動物模型中之藥物動力學結果(例如生物半衰期或生物可用性)、個體之年齡、體型及重量及與個體相關之病症。此等及其他因素之重要性為一般技術者所熟知。一般而言，劑量在約0.01至50 mg/kg範圍內，亦在每公斤所治療個體約0.1至20 mg範圍內。可

使用多種劑量。

本文所述之式I或式II之化合物亦可與治療相同疾病之其他療法組合使用。此類組合使用包括在不同時間投與式I或式II之化合物及一或多種其他治療劑，或共投與式I或式II之化合物及一或多種其他療法。在一些實施例中，劑量可針對本發明化合物中之一或多者或組合使用之其他治療劑藉由一般技術者熟知之方法進行改良，例如給與量相對於單獨使用之化合物或療法減少。

式I或式II之化合物或其醫藥學上可接受之鹽、異構體、互變異構體或氘化形式可與如本文所述之用於治療相同疾病之另一化學治療劑或藥物或激酶抑制劑組合使用。此類組合可為固定劑量組合物或在不同時間投與，或共投與式I或式II之化合物與另一藥劑、藥物或激酶抑制劑可同時或分別進行。在一些實施例中，劑量可針對本文所揭示之式I或式II之化合物或組合使用之另一藥劑、藥物或激酶抑制劑藉由一般技術者熟知之方法進行改良，例如給與量相對於單獨使用之化合物減少或增加以改良安全性及/或功效。

應瞭解，組合使用包括與其他療法、藥物、醫學程序等一起使用，其中其他療法或程序可與本文所述之式I或式II之化合物在不同時間投與(例如在短時間內，諸如在數小時(例如1、2、3、4-24小時)內，或在較長時間(例如1-2天、2-4天、4-7天、1-4週)內)或與本文所述之式I或式II之化合物同時投與。組合使用亦包括將投與一次或不頻繁投與之療法或醫學程序(諸如手術)以及其他療法或程序之前或之後短時間或較長時間內投與之本文所述之式I或式II之化合物一起使用。在一些實施例中，本發明用於傳遞本文所述之式I或式II之化合物及藉由不同投藥途徑或藉由相同投藥途徑傳遞的一或多種其他藥物治療劑。用於任何投藥途徑之組合使用包括在任何調配物中一起傳遞本文所述之式I或式II之化合物及藉由相同投藥途徑傳遞的一或多種其他

藥物治療劑，包括如下調配物，其中兩種化合物以一定方式連接以使得其在投與時維持其治療活性。在一個態樣中，其他藥物療法可與本文所述之式I或式II之化合物共投與。藉由共投與組合使用包括投與化學接合化合物之共調配物或調配物，或在彼此之短時間內(例如在1小時、2小時、3小時、高達24小時內)投與各別調配物中之兩種或兩種以上化合物，該等化合物藉由相同或不同途徑投與。

共投與各別調配物包括藉由經由一個裝置傳遞(例如相同吸入裝置、相同注射器等)來共投與或在彼此之短時間內自各別裝置投與。本文所述之式I或式II之化合物與藉由相同途徑傳遞之一或多種其他藥物療法的共調配物包括將該等物質在一起製備，使得其可藉由一個裝置投與，包括在一種調配物中組合之各別化合物，或如下化合物，其經改良以使其化學接合，但仍維持其生物活性。此類化學接合化合物可具有活體內實質上維持之鍵聯，或該鍵聯可活體內分解而使兩種活性組分分離。

VIII. 參考文獻

Agaram, N. P. *et al.* Novel V600E *BRAF* mutations in imatinib-naive and imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumors. *Genes Chromosomes Cancer* **47**, 853-859 (2008).

Anforth RM, Blumetti TCMP, Kefford RF, Sharma R, Scolyer R a, Kossard S, et al. Cutaneous manifestations of dabrafenib (GSK2118436): a selective inhibitor of mutant *BRAF* in patients with metastatic melanoma. *Br. J. Dermatol.* 2012 Nov;167(5):1153-1160.

Badalian-Very, G. *et al.* Recurrent *BRAF* mutations in Langerhans cell histiocytosis. *Blood* **116**, 1919-1923 (2010).

Bollag G, Hirth P, Tsai J, Zhang J, Ibrahim PN, Cho H, et al. Clinical efficacy of a *RAF* inhibitor needs broad target blockade in

BRAF-mutant melanoma. *Nature*, 2010 Sep 30;467(7315):596-599.

Brose, M. S. *et al.* *BRAF* and *RAS* mutations in human lung cancer and melanoma. *Cancer Res.* **62**, 6997-7000 (2002).

Callahan MK, Rampal R, Harding JJ, Klimek VM, Chung YR, Merghoub T, et al. Progression of RAS-mutant leukemia during RAF inhibitor treatment. *N. Engl. J. Med.* 2012 Dec 13;367(24):2316-2321.

Chapman, M. A. *et al.* Initial genome sequencing and analysis of multiple myeloma. *Nature* **471**, 467-472 (2011).

Chapman PB, Hauschild A, Robert C, Haanen JB, Ascierto P, Larkin J, et al. for BRIM-3 Study Group. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. *N Engl J Med.* 2011 Jun 30;364(26):2507-2516.

Cohen, Y. *et al.* *BRAF* mutation in papillary thyroid carcinoma. *J. Natl Cancer Inst.* **95**, 625-627 (2003).

Colombino, M. *et al.* *BRAF* and *PIK3CA* genes are somatically mutated in hepatocellular carcinoma among patients from South Italy. *Cell Death Dis.* **3**, e259 (2012).

Corcoran RB, Ebi H, Turke AB, Coffee EM, Nishino M, Cogdill AP, et al. EGFR-mediated re-activation of MAPK signaling contributes to insensitivity of BRAF mutant colorectal cancers to RAF inhibition with vemurafenib. *Cancer Discov.* 2012 Mar;2(3):227-235.

Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature.* 2002 Jun 27;417(6892):949-954.

Dias-Santagata, D. *et al.* *BRAF* V600E mutations are common in pleomorphic xanthoastrocytoma: diagnostic and therapeutic

implications. *PLoS ONE* 6, e17948 (2011).

Flaherty KT, Puzanov I, Kim KB, Ribas A, McArthur GA, Sosman JA, et al. Inhibition of mutated, activated BRAF in metastatic melanoma. *N. Engl. J. Med.* 2010 Aug 26;363(9):809-819.

Fukushima, T. *et al.* *BRAF* mutations in papillary carcinomas of the thyroid. *Oncogene* 22, 6455-6457 (2003).

Hatzivassiliou G, Song K, Yen I, Brandhuber BJ, Anderson DJ, Alvarado R, et al. RAF inhibitors prime wild-type RAF to activate the MAPK pathway and enhance growth. *Nature*. Nature Publishing Group; 2010 Mar 18;464(7287):431-435.

Hauschild A, Grob J-J, Demidov L V, Jouary T, Gutzmer R, Millward M, et al. Dabrafenib in BRAF-mutated metastatic melanoma: a multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet*. Elsevier Ltd; 2012 Jul 28;380(9839):358-365.

Heidorn SJ, Milagre C, Whittaker S, Nourry A, Niculescu-Duvas I, Dhomen N, et al. Kinase-dead BRAF and oncogenic RAS cooperate to drive tumor progression through CRAF. *Cell*. Elsevier Ltd; 2010 Jan 22;140(2):209-221.

Huang V, Hepper D, Anadkat M, Cornelius L. Cutaneous toxic effects associated with vemurafenib and inhibition of the BRAF pathway. *Arch. Dermatol.* 2012 May;148(5):628-633.

Jones, D. T. *et al.* Tandem duplication producing a novel oncogenic *BRAF* fusion gene defines the majority of pilocytic astrocytomas. *Cancer Res.* 68, 8673-8677 (2008).

Kimura, E. T. *et al.* High prevalence of *BRAF* mutations in thyroid cancer: genetic evidence for constitutive activation of the RET/PTC-

RAS-BRAF signaling pathway in papillary thyroid carcinoma. *Cancer Res.* **63**, 1454-1457 (2003).

Lacouture ME, Desai a, Soltani K, Petronic-Rosic V, Laumann a E, Ratain MJ, et al. Inflammation of actinic keratoses subsequent to therapy with sorafenib, a multitargeted tyrosine-kinase inhibitor. *Clin. Exp. Dermatol.* 2006 Nov;31(6):783-785.

Lee, S. H. *et al.* *BRAF* and *KRAS* mutations in stomach cancer. *Oncogene* **22**, 6942-6945 (2003).

Nazarian R, Shi H, Wang Q, Kong X, Koya RC, Lee H, et al. Melanomas acquire resistance to B-RAF(V600E) inhibition by RTK or N-RAS upregulation. *Nature*, 2010 Dec 16;468(7326):973-977.

Nikiforova, M. N. *et al.* *BRAF* mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic or poorly differentiated carcinomas arising from papillary carcinomas. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **88**, 5399-5404 (2003).

Oberholzer P a, Kee D, Dziunycz P, Sucker A, Kamsukom N, Jones R, et al. RAS mutations are associated with the development of cutaneous squamous cell tumors in patients treated with RAF inhibitors. *J. Clin. Oncol.* 2012 Jan 20;30(3):316-321.

Pfister, S. *et al.* *BRAF* gene duplication constitutes a mechanism of MAPK pathway activation in low-grade astrocytomas. *J. Clin. Invest.* **118**, 1739-1749 (2008).

Pollock, P. M. *et al.* High frequency of *BRAF* mutations in nevi. *Nature Genet.* **33**, 19-20 (2003).

Poulikakos PI, Persaud Y, Janakiraman M, Kong X, Ng C, Moriceau G, et al. RAF inhibitor resistance is mediated by dimerization of

aberrantly spliced BRAF(V600E). *Nature*. Nature Publishing Group; 2011 Dec 15;480(7377):387-390.

Poulikakos PI, Zhang C, Bollag G, Shokat KM, Rosen N. RAF inhibitors transactivate RAF dimers and ERK signalling in cells with wild-type BRAF. *Nature*. Nature Publishing Group; 2010 Mar 18;464(7287):427-430.

Prahallad A, Sun C, Huang S, Di Nicolantonio F, Salazar R, Zecchin D, et al. Unresponsiveness of colon cancer to BRAF(V600E) inhibition through feedback activation of EGFR. *Nature*. 2012 Mar 1;483(7387):100-103.

Rajagopalan, H. *et al.* Tumorigenesis: RAF/RAS oncogenes and mismatch-repair status. *Nature* **418**, 934 (2002).

Robert C, Arnault J-P, Mateus C. RAF inhibition and induction of cutaneous squamous cell carcinoma. *Curr. Opin. Oncol.* 2011 Mar;23(2):177-182.

Schindler, G. *et al.* Analysis of *BRAF* V600E mutation in 1,320 nervous system tumors reveals high mutation frequencies in pleomorphic xanthoastrocytoma, ganglioglioma and extra-cerebellar pilocytic astrocytoma. *Acta Neuropathol.* **121**, 397-405 (2011).

Serrano C, *et al.* BRAF V600E and KRAS G12S mutations in peripheral nerve sheath tumours. *Histopathology*, 2013 Feb; 62(3):499-504.

Sievert, A. J. *et al.* Duplication of 7q34 in pediatric low-grade astrocytomas detected by high-density single-nucleotide polymorphism-based genotype arrays results in a novel *BRAF* fusion gene. *Brain Pathol.* **19**, 449-458 (2009).

Singer, G. *et al.* Mutations in *BRAF* and *KRAS* characterize the development of low-grade ovarian serous carcinoma. *J. Natl Cancer Inst.* **95**, 484-486 (2003).

Sommerer, F. *et al.* Mutations of *BRAF* and *KRAS2* in the development of Barrett's adenocarcinoma. *Oncogene* **23**, 554-558 (2004).

Sosman JA, Kim KB, Schuchter L, Gonzalez R, Pavlick AC, Weber JS, *et al.* Survival in BRAF V600-mutant advanced melanoma treated with vemurafenib. *N. Engl. J. Med.* 2012 Feb 23;366(8):707-714.

Stellwagen JC, Adjabeng GM, Arnone MR, Dickerson SH, Han C, Hornberger KR, *et al.* Development of potent B-RafV600E inhibitors containing an arylsulfonamide headgroup. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* Elsevier Ltd; 2011 Aug 1;21(15):4436-4440.

Straussman R, Morikawa T, Shee K, Barzily-Rokni M, Qian ZR, Du J, *et al.* Tumour micro-environment elicits innate resistance to RAF inhibitors through HGF secretion. *Nature.* 2012 487:500-504.

Su, F., Viros, A., Milagre, C., Trunzer, K., Bollag, G., Spleiss, O., Reis-Filho, J. S., *et al.* (2012). RAS mutations in cutaneous squamous-cell carcinomas in patients treated with BRAF inhibitors. *The New England journal of medicine*, 366(3), 207-15.

Tannapfel, A. *et al.* Mutations of the *BRAF* gene in cholangiocarcinoma but not in hepatocellular carcinoma. *Gut* **52**, 706-712 (2003).

Tiacci, E. *et al.* *BRAF* mutations in hairy-cell leukemia. *N. Engl. J. Med.* **364**, 2305-2315 (2011).

Tsai, J., Lee, J. T., Wang, W., Zhang, J., Cho, H., Mamo, S., Bremer, R., *et al.* (2008). Discovery of a selective inhibitor of oncogenic

B-Raf kinase with potent antimelanoma activity. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 105(8), 3041-6.

Villanueva J, Vultur A, Lee JT, Somasundaram R, Fukunaga-Kalabis M, Cipolla AK, et al. Acquired resistance to BRAF inhibitors mediated by a RAF kinase switch in melanoma can be overcome by cotargeting MEK and IGF-1R/PI3K. Cancer Cell. Elsevier Inc.; 2010 Dec 14;18(6):683-695.

Weber, A. *et al.* Mutations of the *BRAF* gene in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Oncogene* **22**, 4757-4759 (2003).

Xu, X., Quiros, R. M., Gattuso, P., Ain, K. B. & Prinz, R. A. High prevalence of *BRAF* gene mutation in papillary thyroid carcinomas and thyroid tumor cell lines. *Cancer Res.* **63**, 4561-4567 (2003).

Zimmer L, Hillen U, Livingstone E, Lacouture ME, Busam K, Carvajal RD, et al. Atypical melanocytic proliferations and new primary melanomas in patients with advanced melanoma undergoing selective BRAF inhibition. J Clin Oncol. 2012 30:2375-2383.

實例

下文描述本發明相關之實例。在大多數情況下，可使用替代性技術。該等實例意欲為說明性的且並非限制或限定本發明之範疇。

實例1：相較於維羅非尼及達拉菲尼，式I及式II之化合物不活化RAS突變細胞株中之pERK

針對一組細胞株關於化合物誘導之磷酸化ERK1/2 (T202/Y204, pERK)之變化篩選化合物(包括維羅非尼、式I化合物及式II化合物)。對於各化合物，pERK抑制與活化之不相關性(稱為「ERK路徑抑制指數」或「EPII」)表示為三種RAS突變細胞株(鼠類cuSCC細胞株B9、

人類黑色素瘤細胞株IPC-298及人類結腸直腸癌細胞株HCT116，表1)中化合物之平均pERK活化EC₅₀與兩種BRAF^{V600E}黑色素瘤細胞株(A375及COLO829，表1)中化合物之平均pERK抑制IC₅₀之間的比率。

維羅非尼及達拉菲尼之EPII分別為11及4。式I及式II之化合物在測試濃度下有力地抑制BRAF^{V600E}細胞中之pERK，但展示RAS突變細胞株中基本上無pERK活化(表1及圖1(B))。亦在人類SCC細胞株A431及人類乳腺癌細胞株SKBR3中評估式II化合物，因為此等細胞藉由將上游信號饋送至RAS (分別經由過度表現EGFR及HER2)達成MAPK路徑活化。不同於維羅非尼，式II化合物未增加此等細胞中之pERK含量。

1. 活體外及活體內研究

A. 生物化學分析及激酶組選擇性特徵分析

活體外RAF激酶活性藉由如Tsai等人，2008年中所述量測經生物素標記之受質肽的磷酸化來測定。針對一組287種激酶雙重複測試1 μM濃度之式II。抑制超過50%之激酶繼而進行IC₅₀測定。287種激酶代表激酶組系統樹之所有重要分枝。287種激酶之抑制篩選係在Invitrogen (Life Technologies, WI, USA) SelectScreen™特徵分析服務、DiscoverX (CA, USA) KINOMEScan™服務及Reaction Biology Corporation (PA, USA) Kinase HotSpotSM服務之補充組形式的合約下進行。

B. 細胞培養、pERK分析、生長抑制及EGFR信號傳導分析

B9細胞株自(University of California, San Francisco, CA, USA)獲得。SK-MEL-239及SK-MEL-239-C3細胞株自David Solit及Neal Rosen (Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New York, NY, USA)獲得。IPC-298細胞株自DSMZ (Braunschweig, Germany)獲得。所有其他細胞株自ATCC獲得。用100%二甲亞砜(「DMSO」)進行化合物稀釋，且

此等滴定液在添加至細胞中時用培養基稀釋500倍，從而得到最終0.2% DMSO濃度。

磷酸化 ERK AlphaScreen® 分析：ERK 磷酸化之程度使用 AlphaScreen®分析測定，其中ERK1/2在Thr202/Tyr204處發生的磷酸化增加使供體及受體 AlphaScreen®珠粒緊密接近，從而產生定量信號。為確定化合物處理對ERK1/2磷酸化之作用，將細胞塗佈於96孔盤中且在37°C下用8點化合物滴定處理一小時，隨後溶解。為偵測 pERK，將細胞溶解物與塗有抗生蛋白鏈菌素之 AlphaScreen®供體珠粒、抗小鼠IgG AlphaScreen®受體珠粒、經生物素標記之抗ERK1/2兔抗體及僅在Thr202及Tyr204上磷酸化時識別ERK1/2之小鼠抗體一起培育。經生物素標記之 ERK1/2 抗體結合於塗有抗生蛋白鏈菌素之 AlphaScreen®供體珠粒與ERK1/2（與其磷酸化狀態無關），且磷酸化 ERK1/2 抗體結合於受體珠粒與 Thr202/Tyr204處磷酸化之 ERK1/2。ERK1/2 在 Thr202/Tyr204 處發生的磷酸化增加使供體及受體 AlphaScreen®珠粒緊密接近，從而產生可於EnVision讀取器(Perkin Elmer)上定量之信號。相較於DMSO對照，抑制ERK磷酸化導致信號損失。

磷酸化 ERK 免疫墨點分析：西方墨點藉由標準技術執行且於 Odyssey紅外線掃描儀(Li-COR Biosciences)上分析。使用以下抗體：pERK1/2 (T202/Y204)及ERK1/2 (Cell Signaling)。

生長抑制分析：將細胞以每孔3000個細胞之密度塗佈於96孔盤中且使其黏著隔夜。將化合物溶解於DMSO中，3倍稀釋以產生8點滴定，且添加至細胞中。72小時培育後，使用CellTiter-Glo® (Promega) 檢驗細胞存活率。

式II分別以IC₅₀ 0.17 μM、0.53 μM及0.16 μM抑制兩種上述黑色素瘤細胞株(A375及COLO829)及表現BRAF^{V600E}之另一人類結腸直腸

癌細胞株COLO205的活體外生長，與相同分析中之維羅非尼 IC_{50} 相同
(分別為0.33 μM 、0.69 μM 及0.25 μM)。

表1.比較第一代BRAF抑制劑與異常阻斷劑之活體外概況^a。

化合物	生物化學IC ₅₀ (μM)			pERK抑制IC ₅₀ (μM)		pERK活化EC ₅₀ (μM) ^b			EPII ^c
	BRAF ^{V600E}	BRAF	CRAF	A375	COLO829	B9	IPC298	HCT116	
維羅非尼	0.031 (±0.004)	0.1 (±0.02)	0.048 (±0.004)	0.032 (±0.007)	0.041 (±0.008)	0.36 (±0.08)	0.54 (±0.12)	0.34 (±0.07)	11
式I	0.0042 (±0.0006)	0.14 (±0.02)	0.091 (±0.014)	0.016 (±0.005)	0.018 (±0.005)	>200	>200	>200	>10,000
式II	0.0038 (±0.0016)	0.014 (±0.004)	0.023 (±0.04)	0.0035 (±0.0012)	0.0021 (±0.0012)	>200	>200	>200	>50,000
索拉非尼	0.35 (±0.04)	0.072 (±0.008)	0.011 (±0.002)	4.4 (±1.3)	2 (±1.2)	0.025 (±0.005)	0.019 (±0.01)	0.086 (±0.04)	0.01
達拉菲尼	0.0054 (±0.0015)	0.0027 (±0.001)	0.0015 (±0.001)	0.001 (±0.001)	0.005 (±0.003)	0.01 ^d (±0.005)	0.01 ^d (±0.005)	0.003 (±0.002)	~4

^a細胞株之突變狀態：A375，BRAF^{V600E}，同種接合子；COLO829，BRAF^{V600E}，異種接合子；B9，HRAS^{Q61L}；IPC-298，NRAS^{Q61L}；HCT116，KRAS^{G13D}。各值為超過4次實驗之平均值。括弧中之值指示標準偏差。

^b EC₅₀，相較於陽性對照使pERK增加至50%之濃度，10 μM PLX4720 (CAS編號918505-84-7)。

^c ERK路徑抑制指數(EPII)，平均pERK活化EC₅₀與平均pERK抑制IC₅₀之間的比率。

^d使用濃度-反應曲線之上升部分

如圖1(A)中所示，式II(實心圓；下方之線)及維羅非尼(空心圓；上方之虛線)在人類BRAF^{V600E}黑色素瘤細胞COLO829中具有類似阻斷pERK信號傳導之效能。

圖 1(B) 展示在 RAS 活化之人類黑色素瘤細胞株 IPC-298 (NRAS^{Q61L}) 中，維羅非尼(空心圓)異常活化 MAPK 信號傳導，而式 II(實心圓)引起可忽略之 pERK 增加。

基於此等結果，治療濃度下之式 I 及式 II 之化合物預期不影響(異常活化或抑制)正常組織中之 MAPK 路徑。pERK 曲線使用 AlphaScreen® 分析產生。平均值 ± s.d.，n=5 個獨立實驗。

實例 2：式 I 化合物抑制 BRAFV600 突變細胞中之 MEK 及 ERK 磷酸化且展現 NRAS 突變細胞中無異常 MAPK 路徑活化

MEK 及 ERK 激酶在生長細胞中 RAS/RAF 之下游起作用。其催化活性與特定殘基處之磷酸化緊密相關。MEK 藉由 RAF 激酶在絲胺酸 217 及 221 處磷酸化，從而增加 MEK 酶活性。隨後 MEK 使 ERK 在蘇胺酸 202 及酪胺酸 204 處磷酸化，從而誘導 ERK 催化活性。表現 V600 處突變之 BRAF 的細胞株展現高水準之 MEK 與 ERK 磷酸化。第一代 RAF 抑制劑(例如達拉菲尼、維羅非尼)展現顯著抑制 BRAF-V600 突變細胞中之 MEK 及 ERK 磷酸化及活性(Tsai 2008 年，Bollag 2010 年)。然而，此等抑制劑亦展現異常活化表現突變 RAS 或高水準之組成活性生長因子受體之細胞中的 MEK 及 ERK (Poulikakos 2010 年，Hatzivassiliou 2010 年)。其尤其與用維羅非尼治療之患者的鱗狀細胞癌產生有關(Su 2012 年)。發現式 I 化合物作為「異常阻斷劑」化合物具有驚人活性，其保留抑制 BRAF-V600 突變細胞中 MEK 及 ERK 磷酸化之能力，同時避免異常活化 RAS 突變細胞中之路徑。此實例展現式 I 化合物之此等特定特徵。

為確定式 I 化合物對細胞中 ERK 及 MEK 磷酸化之作用，確立了使用 AlphaScreen® 技術之分析。在表現突變 BRAF-V600 之細胞(例如 A375、COLO829、SK-MEL-3、HT-29)中，BRAF 之組成性催化活性使得下游效應子 ERK 及 MEK 之磷酸化水準提高。抑制 BRAF-V600 使

得抑制此等細胞中之ERK及MEK磷酸化。在表現突變RAS之細胞(例如B9及IPC-298)中，用第一代RAF抑制劑(例如維羅非尼)處理使得ERK及MEK之磷酸化增加，而式I未展現此異常活化。

使用AlphaScreen®技術，定量量測式I影響細胞中ERK及MEK之磷酸化的能力。用化合物處理後，溶解細胞且將溶解物之樣品轉移至分析盤。將溶解物與針對所有ERK/MEK之抗體、識別ERK/MEK上特定磷酸化位點的抗體、AlphaScreen®抗小鼠IgG受體珠粒及抗生蛋白鏈菌素供體珠粒混合。用雷射光在680 nm下激發供體珠粒後，產生單態氧。除非AlphaScreen®受體珠粒緊密接近，否則此單態氧快速淬滅，在緊密接近之情況下，接近信號可在580 nm下量測。在磷酸化ERK/MEK存在下，存在極強接近信號。BRAF-V600抑制劑經由降低BRAF效應子ERK及MEK之磷酸化影響表現BRAF-V600E之細胞(例如A375)中此接近信號而使其降低。另外，與維羅非尼相比，式I未展現表現突變RAS之細胞(例如B9及IPC-298)中接近信號之提高。

1. 材料及方法

A. 試劑

1. 細胞株

A375黑色素瘤，表現同種接合子BRAF-V600E ATCC®-1619™

COLO829黑色素瘤，表現異種接合子BRAF-V600E ATCC® CRL-1974™

HT-29結腸直腸腺癌，表現異種接合子BRAF-V600E ATCC® HTB-38™

SK-MEL-3黑色素瘤，表現異種接合子BRAF-V600E ATCC® HTB-69™

B9鱗狀細胞癌，表現HRAS-Q61L，自Allan Balmain, Ph.D. (University of California, San Francisco)獲得

IPC-298黑色素瘤，表現NRAS-Q61L DSMZ #ACC 251

A431鱗狀細胞癌，表現高水準之EGFR、野生型BRAF & RAS
ATCC® CRL-1555™

HCT116結腸直腸癌，表現高水準之EGFR、KRAS-G13D、野生型BRAF ATCC® CCL-247™

2. 細胞培養基

A375 & A431杜爾貝科氏經改良伊格爾氏培養基(Dulbecco's Modified Eagle's Medium, DMEM)，ATCC #30-2002 10%胎牛血清，Invitrogen # 10438-026 1%青黴素-鏈黴素，Invitrogen # 15140-122

B9杜爾貝科氏經改良伊格爾氏培養基(DMEM)，Invitrogen # 10313-039 10%胎牛血清，Invitrogen # 10438-026 1% L-麩醯胺酸，Invitrogen # 25030-081 1%青黴素-鏈黴素，Invitrogen # 15140-122

COLO829 & IPC-298 RPMI培養基1640，Invitrogen # 11875-119 10%胎牛血清，Invitrogen # 10438-026 1%青黴素-鏈黴素，Invitrogen # 15140-122

SK-MEL-3梅寇氏5A (經改良)培養基(SK-MEL-3 McCoy's 5A (Modified) Medium)，Invitrogen # 16600-108 15%胎牛血清，Invitrogen # 10438-026 1%青黴素-鏈黴素，Invitrogen # 15140-122

HCT116 & HT-29梅寇氏5A (經改良)培養基，Invitrogen # 16600-108 10%胎牛血清，Invitrogen # 10438-026 1%青黴素-鏈黴素，Invitrogen # 15140-122

3. 緩衝劑

細胞溶解緩衝液(10×)，Cell Signaling Technology #9803，在使用之前用H₂O稀釋至1×

AlphaLISA免疫分析緩衝液(10×)，Perkin Elmer #AL000F，在使用之前用H₂O稀釋至1×

4. 抗體

p44/42 MAPK (Erk1/2) (137F5)兔(經生物素標記)供體抗體，Cell Signaling Technology #5013，最終濃度=1.25 nM

磷酸化p44/42 MAPK (Erk1/2) (Thr202/Tyr204) (E10)小鼠受體抗體，Cell Signaling Technology #9106，最終濃度=0.17 nM

磷酸化MEK1/2 (Ser217/221) (41G9)兔(經生物素標記)供體抗體，Cell Signaling Technology #3958，最終濃度=0.625 nM

MEK1/2 (L38C12)小鼠受體抗體，Cell Signaling Technology #4694，最終濃度=0.05 nM

5. 偵測試劑

AlphaScreen®小鼠IgG偵測套組，10,000個分析點，Perkin Elmer #6760606M，最終濃度=20 µg/mL

B. 方法

1.在分析前一天，將50,000個細胞以50 µL體積塗佈於96孔組織培養物處理之盤(Corning #3610)之各孔中。將細胞在37°C下培育隔夜。

2.將化合物用DMSO稀釋至500×最終濃度。各化合物以8點滴定形式使用於DMSO中之1:3稀釋液塗佈。最大濃度為約5 mM。

3.將1 µl化合物添加至96孔聚丙烯盤(Corning #3363)之各孔中。對於A375、COLO829、SK-MEL-3、HCT116及HT-29，高對照為DMSO，且低對照為10 µM PLX4720 (CAS編號918505-84-7)。對於B9及IPC-298，高對照為3.33 µM PLX4720，且低對照為DMSO。

4.將249 µL生長培養基添加至化合物中，將其250倍稀釋。

5.將50 µL經稀釋化合物轉移至50 µL細胞中，最終化合物稀釋度為500倍(最大濃度通常為10 µM)。將化合物與細胞一起在37°C下培育一小時。

6.抽吸培養基，且將細胞溶解於50 µL冰冷1×細胞溶解緩衝液

中。於冰上培育培養盤5分鐘以使細胞完全溶解。

7.於1×AlphaLISA免疫分析緩衝液中製備經生物素標記之供體抗體、受體抗體及抗小鼠IgG AlphaScreen®受體珠粒之混合物。

8.將5 µL溶解物轉移至384孔分析盤(Perkin Elmer # 6005359)中。添加5 µL抗體及受體珠粒混合物。旋轉培養盤。

ERK/MEK磷酸化及生長分析產生足夠資料來確定在SK-MEL-239母細胞株與維羅非尼耐受性C3細胞株中，式I為BRAF-V600E的有效抑制劑。特定言之，圖2(A)-2(F)展示與維羅非尼相比，式I不提高RAS突變細胞株中之pERK及pMEK水準。

實例3：藉由式I抑制各種BRAF V600突變蛋白

在Plexxikon Inc.於昆蟲細胞中產生包含激酶域之N端經His標記之片段形式的BRAF蛋白。使用編碼含有V600A、V600G或V600M突變之BRAF (S432-R726)的構築體及含有V600E、V600K或V600R突變之構築體BRAF (D448-K723)。

BRAF

BRAF，殘基L416至H766在N端與GST標記物融合，於昆蟲細胞中產生，且BRAF購自Millipore (目錄號14-530)。

CRAF

CRAF，殘基Q307至F648含有Y340D及Y341D活化取代以模擬Y340/341之雙重磷酸化，在N端與GST標記物融合且於昆蟲細胞中產生，且CRAF購自Millipore (目錄號14-352)。

經生物素標記之MEK1

MEK1，殘基M1至V393含有激酶失能突變K97A，在N端與GST標記物融合且在C端與16胺基酸生物素化標記物融合，在Plexxikon Inc於大腸桿菌中產生。

激酶緩衝液：

50 mM HEPES , pH 7.5 50 mM NaCl 2 mM MgCl₂ 1 mM MnCl₂ 1 mM DTT 0.01% NP-40

終止/偵測緩衝液：

50 mM HEPES , pH 7.5 100 mM EDTA 0.02% BSA 抗磷酸化 MEK1 (Cell Signal Technologies #9121) AlphaScreen™供體及受體珠粒 (Perkin-Elmer #6760617)

1. 方法

- 1)將測試化合物於DMSO中連續稀釋且以1微升/孔塗佈於384孔分析盤中。
- 2)添加15微升/孔含有RAF酶及經生物素標記之MEK1受質的激酶緩衝液。
- 3)添加4 μL含有ATP (500 μM)之激酶緩衝液。
- 4)最終DMSO為約5%；RAF酶及MEK1之濃度列於下表2中以進行各分析。在此等條件下，酶用受質飽和；ATP為100 μM。

表2

分析	激酶(nM)	受質(nM)
BRAF V600E	0.015	15
BRAF V600A	0.56	28
BRAF V600G	0.40	20
BRAF V600K	0.21	21
BRAF V600M	0.56	28
BRAF V600R	0.4	20
BRAF	0.26	26
CRAF	0.15	15

- 5)短暫離心後，將培養盤在約室溫下培育40-50分鐘。
 - 6)添加5 μL終止緩衝液，最終EDTA 20 mM；抗磷酸化MEK1 1:2,500；供體/受體珠粒3 μg/mL。
 - 7)短暫離心後，在室溫下培育培養盤約3小時。
 - 8)於Envision多標記盤讀取器(Perkin Elmer)上讀取培養盤。
- IC₅₀值展示於表3中。

2. 結果

式I對V600E及所有其他測試之非V600E突變BRAF蛋白(表3)發揮有效抑制。其亦抑制野生型BRAF及活化CRAF之激酶活性(表3)。

表3：針對不同形式RAF激酶之生物化學IC₅₀

激酶	式I IC ₅₀ (μM)
BRAF	0.0143
CRAF	0.0226
BRAF V600E	0.0044
BRAF V600A	0.0142
BRAF V600G	0.0063
BRAF V600K	0.0039
BRAF V600M	0.0098
BRAF V600R	0.0035

實例4：式I化合物在表現野生型BRAF之細胞株、BRAFFV600E及BRAFFV600K細胞(IC₅₀，μM)之細胞株中的效能

在BRAF野生型對偶基因存在或不存在下具有突變BRAF基因之一組細胞中量測式I化合物對BRAFFV600E驅使之腫瘤細胞增殖的選擇性抑制。亦包括BRAFFV600E突變細胞株，其對維羅非尼抑制相對具有耐受性。為經由抑制活化BRAF蛋白展示式I化合物之選擇性作用機制，包括缺乏BRAF突變且藉由KRAS突變或替代性致癌基因轉型的腫瘤細胞。概言之，式I化合物為具有突變活化BRAF蛋白(V600E)之細胞株生長的有效及選擇性抑制劑。式I化合物亦抑制對維羅非尼抑制具有耐受性之細胞(HT-29)。式I之選擇性在具有突變KRAS對偶基因之細胞增殖或其他非BRAF V600E突變路徑不受影響時得到證實。

為確定式I對增殖之作用，使用各表現BRAFFV600E突變之黑素瘤細胞(A375及COLO829)及結腸直腸癌細胞(COLO205、HT-29)確立生長分析。為展示對野生型BRAF之選擇性，亦在生長分析中檢驗數種BRAF野生型細胞株(K562、NOMO-1、MV-4-11及ML-2)。生長分析實施Promega CellTiter-Glo發光細胞存活率分析，其得到與細胞樣品

中存在之ATP之量成比例之發光讀數。因為ATP水準與活細胞之數目直接相關，故發光信號可用於確定式I對阻斷相關細胞株之增殖的效能。

1. 材料及方法

A. 試劑

1. 細胞株

A375黑色素瘤，表現同種接合子BRAFV600E；ATCC® CRL-1619™

COLO829黑色素瘤，表現異種接合子BRAFV600E；ATCC® CRL-1974™

COLO205結腸直腸腺癌，表現異種接合子BRAFV600E；ATCC® CCL-222™

HT-29結腸直腸腺癌，表現異種接合子BRAFV600E；ATCC® HTB-38™

K562慢性骨髓性白血病(CML)，表現費城染色體(Philadelphia chromosome)，產生BCR-ABL之9;22染色體易位。其亦表現野生型BRAF及KRAS；ATCC® CCL-243™

ML-2急性骨髓單核細胞性白血病，表現經活化KRAS-A146T及野生型BRAF；DSMZ # ACC 15

MV-4-11雙表型B骨髓單核細胞性白血病，表現FLT-3 ITD、野生型BRAF及野生型KRAS；ATCC® CRL-9591™

NOMO-1急性骨髓性白血病，表現經活化KRAS-G13D及野生型BRAF；DSMZ # ACC 542

SK-MEL-3黑色素瘤，表現異種接合子BRAF-V600E；ATCC® HTB-69™

2. 細胞培養基

A375 & COLO829杜爾貝科氏經改良伊格爾氏培養基(DMEM)，
ATCC #30-2002 10%胎牛血清，Invitrogen # 10438-026 1%青黴素-鏈黴素，Invitrogen # 15140-122

COLO205 & NOMO-1& ML-2 RPMI培養基1640，Invitrogen # 11875-119 10%胎牛血清，Invitrogen # 10438-026 1%青黴素-鏈黴素，Invitrogen # 15140-122

HT-29梅寇氏5A (經改良)培養基，Invitrogen # 16600-108 10%胎牛血清，Invitrogen # 10438-026 1%青黴素-鏈黴素，Invitrogen # 15140-122

K562 & MV-4-11伊斯科夫氏經改良杜爾貝科氏培養基(Iscove's Modified Dulbecco's Medium，IMDM)，Invitrogen# 16600-108 10%胎牛血清，Invitrogen # 10438-026 1%青黴素-鏈黴素，Invitrogen # 15140-122

SK-MEL-3梅寇氏5A (經改良)培養基，Invitrogen # 16600-108 15%胎牛血清，Invitrogen # 10438-026 1%青黴素-鏈黴素，Invitrogen # 15140-122

3. 培養盤

Corning®96孔透明V形底聚丙烯未處理微量盤，每袋25個，無蓋，未滅菌(產品號3363)

Corning®96孔透明平底白色聚苯乙烯TC處理微量培養盤，個別包裹，含蓋，無菌(產品號3610)

4. 偵測試劑

CellTiter-Glo®發光細胞存活率分析，Promega #G7573

B. 方法

1.將3,000個細胞株A375、COLO205、COLO829、HT-29及SK-MEL-3之細胞塗佈於各孔中。將25,000個細胞株K562、ML-2、MV-4-

11及NOMO-1之細胞以50 μL體積塗佈於96孔組織培養物處理之培養盤(Corning #3610)之各孔中。在37°C下培育細胞隔夜。

2.將各測試化合物以8點滴定形式使用於DMSO中之1:3稀釋液塗佈。最大濃度為約5 mM。用生長培養基1:250稀釋DMSO及式I之測試化合物。

3.將50微升經稀釋化合物轉移至50 μL細胞中，最終化合物稀釋度為500倍(最大濃度通常為10 μM，且DMSO濃度為0.2%)。將細胞在37°C下於5% CO₂中與DMSO/化合物一起培育3天。

4.使Cell Titer-Glo發光分析試劑達室溫且如產品手冊中所指導復原。亦使細胞培養物達到室溫後維持約20-30分鐘。將25 μL體積之經復原Cell Titer-Glo試劑添加至細胞中，且在室溫下培育混合物約10分鐘以確保細胞溶解。

5.於Tecan Safire盤讀取器上量測發光。

2. 結果

結果概述於下表4中。

表4

細胞株	源自之腫瘤	BRAF (基因型)	RAS (基因型)	式I (IC ₅₀ , μM)
K562	慢性骨髓性白血病	WT	WT	> 10
ML-2	急性骨髓單核細胞性白血病	WT	KRAS-A146T	> 10
MV-4-11	雙表型B骨髓單核細胞性白血病	WT	WT	>10
NOMO-1	急性骨髓性白血病	WT	KRAS-G13D	>10
A375	黑色素瘤	V600E	WT	0.05
Colo205	結腸直腸腺癌	V600E/WT	WT	0.01
Colo829	黑色素瘤	V600E/WT	WT	0.1
HT-29	結腸直腸腺癌	V600E/WT	WT	0.84

式I化合物為異種接合子(COLO205、COLO829、HT-29)及同種接合子BRAFFV600E (A375)表現細胞株中之有效抑制劑。特定言之，以上結果展示式I抑制兩種黑色素瘤細胞株(A375及COLO829)及表現

BRAFV600E之其他結腸直腸癌細胞株COLO205及HT29之活體外生長。式I之選擇性藉由在BRAF野生型細胞株K562、ML-2、NOMO-1及MV-4-11中缺乏抑制明確展現。

實例5：穩定表現KIAA1549-BRAF融合物之NIH/3T3細胞在PLX4720存在下呈現加速之腫瘤生長，而式I抑制BRAF融合異種移植物之生長

將穩定表現KIAA1549-BRAF融合物(融合物-1、融合物-2、融合物-3及融合物-4)之市售NIH/3T3細胞注入balb/c nu/nu小鼠之側腹中。用測徑規量測腫瘤生長。使用下式計算橢球腫瘤體積：體積= $1/2 \cdot \text{長度} \cdot \text{寬度}^2$ 。

表現四種KIAA1549-BRAF融合物中之三種的NIH/3T3細胞在注入給與PLX4720 (CAS編號918505-84-7；PLX4720可如Tsai等人，2008年中所述合成)食物之免疫功能不全balb/c nu/nu小鼠之側腹中時活體內展現耐受性及增加之腫瘤生長。式I化合物使所有三種異種移植物(表現四種KIAA1549-BRAF融合物中之三種的NIH/3T3細胞)之生長抑制50%或50%以上(圖3；y軸指示腫瘤體積(立方毫米)；x軸，注射天數)。此等資料表明式I化合物可成功地靶向作為兒科星形細胞瘤之特徵的KIAA1549-BRAF融合物且支持將此化合物用於BRAF融合介導之癌症。

實例6：式I及式II之化合物的合成實例

所有溶劑及試劑以自商業來源獲得之形式使用。起始物質購自商業來源或根據文獻中所報導之方法製備。在氮氣氛圍下進行涉及空氣或濕氣敏感性試劑之反應。於氘化溶劑中用配備有Oxford AS400磁體之Agilent 400 MHz MR DD2光譜儀系統記錄NMR譜。化學位移以 δ 單位表示且參考殘餘 ^1H 溶劑信號。所有耦合常數(J)以赫茲(Hertz)報導(s=單峰，d=二重峰，t=三重峰，q=四重峰，m=多重峰，br=寬峰，dd=二重峰之二重峰，ddd=二重峰之二重峰之二重峰，dm=多重峰之

二重峰)。質譜分析純度用以逆向模式操作的耦接於Shimadzu 20A HPLC系統之Shimadzu LCMS-2020光譜儀量測。最終化合物之分析純度大於95%且使用以下高效液相層析(「HPLC」)方法測定：緩衝液A：5%乙腈、95%水、0.01%甲酸，緩衝液B：95%乙腈、5%水、0.01%甲酸，SiliaChrom XDB C18，5 μ m，2.1 $\times$ 50 mm，6分鐘內5-95% B，1.0毫升/分鐘，220 nm及254 nm，ESI正性，300-800 amu。

2,6-二氟-3-硝基苯甲醯基氯之合成。將2,6-二氟-3-硝基苯甲酸(200 g，0.985 mol)添加至亞硫醯氯(737 mL，10.2 mol)中且在80°C下攪拌反應物16小時，隨後使其冷卻至室溫。在減壓下移除揮發物且將所得油狀物溶解於甲苯中。在減壓下移除甲苯。重複甲苯之添加及移除數次，得到呈油狀之標題化合物，將其直接用於下一步驟(218 g)。

(2,6-二氟-3-硝基苯基)(5-碘-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)甲酮之合成。在室溫下攪拌5-碘-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(160 g，0.656 mol)及氯化鋁(525 g，3.94 mol)於硝基甲烷(1640 mL)中之溶液1小時。隨後添加2,6-二氟-3-硝基苯甲醯基氯(218 g，0.985 mmol)於硝基甲烷(1640 mL)中之溶液且在50°C下加熱混合物4天。冷卻至0°C後，藉由逐滴添加甲醇(1.5 L)淬滅反應物，得到沈澱物。用水(2 L)稀釋混合物且過濾。用甲基第三丁基醚濕磨粗產物且過濾，得到呈褐色固體狀之標題化合物，將其直接用於下一步驟(281 g)。

(3-胺基-2,6-二氟苯基)(5-碘-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)甲酮之合成。在60°C下加熱下，向(2,6-二氟-3-硝基苯基)(5-碘-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)甲酮(281 g，656 mmol)於乙酸乙酯(10.9 L)及四氫呋喃(10.9 L)中之溶液中逐份添加氯化錫(II)二水合物(517 g，2.72 mol)。在此溫度下保持反應混合物隔夜。冷卻至室溫後，用50%飽和碳酸氫鈉水溶液(1:1水與飽和碳酸氫鈉水溶液)淬滅反應混合物且經由矽藻土過濾，且用乙酸乙酯洗滌濾餅。分離各層且用鹽水洗滌有機

層，隨後在減壓下濃縮，得到粗產物，用甲基第三丁基醚濕磨且過濾，得到呈褐色固體狀之標題化合物(216 g, 541 mmol, 83%產率，約85%純度)。

3-胺基-2,6-二氟苯基)(5-(2-環丙基嘧啶-5-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)甲酮之合成。在100°C下加熱(3-胺基-2,6-二氟苯基)(5-碘-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)甲酮(93 g, 233 mmol)、2-環丙基-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼-2-基)嘧啶(229 g, 466 mmol, 約50%純度)、碳酸鉀(97 g, 700 mmol)及[1,1'-雙(二苯基膦基)二茂鐵]二氯鈣(II) (19.0 g, 23.3 mmol)於二噁烷(930 mL)及水(465 mL)中之混合物數小時。冷卻後，用水稀釋反應混合物且用四氫呋喃與乙酸乙酯之混合物萃取。分離有機層且在減壓下濃縮，得到粗產物，用二氯甲烷/甲基第三丁基醚濕磨且過濾，用甲基第三丁基醚洗滌，得到呈褐色固體狀之標題化合物(71 g, 78%產率)。

5-(2-環丙基嘧啶-5-基)-3-[3-[[乙基(甲基)胺磺醯基]胺基]-2,6-二氟-苯甲醯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(式II)之合成。向(3-胺基-2,6-二氟苯基)(5-(2-環丙基嘧啶-5-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)甲酮(53.8 g, 138 mmol)於吡啶(1375 mL)中之溶液中添加乙基(甲基)胺磺醯基氯(65.0 g, 412 mmol)且在65°C下加熱反應物隔夜。在減壓下移除揮發物且使殘餘物分配於水與乙酸乙酯/四氫呋喃之間。在減壓下濃縮有機層，得到粗產物，乾裝載於矽膠上且藉由矽膠管柱層析用(2×) 0-10%甲醇/二氯甲烷溶離隨後用(1×)乙酸乙酯溶離純化。彙集含有所要產物之溶離份且在減壓下濃縮。用甲基第三丁基醚濕磨所得固體且過濾，得到呈白色固體狀之標題化合物(21 g)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) 13.07 (br s, 1H), 9.71 (br s, 1H), 9.03 (s, 2H), 8.76 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.59 (ddd, *J* = 5.9 Hz, 9.0 Hz, 9.0 Hz, 1H), 7.27 (dd, *J* = 9.0 Hz, 9.0 Hz, 1H), 3.12 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 2.74 (s, 3H),

2.29 (m, 1H), 1.09 (m, 4 H), 0.95 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H) 。 LC/MS (ESI+) m/z : 513.3 ($M+H^+$) 。

(3R)-N-[3-[5-(2-環丙基嘧啶-5-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-羰基]-2,4-二氟-苯基]-3-氟-吡咯啶-1-磺醯胺(式I)之合成。此物質以類似於式II之方式使用(3R)-3-氟吡咯啶-1-磺醯基氯替代乙基(甲基)胺磺醯基氯製備。藉由逆相HPLC純化產物，在凍乾後得到呈白色固體狀之標題化合物。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) 13.05 (br s, 1H), 9.84 (br s, 1H), 9.01 (s, 2H), 8.73 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.62 (ddd, $J = 5.9$ Hz, 9.0 Hz, 9.0 Hz, 1H), 7.26 (dd, $J = 9.0$ Hz, 9.0 Hz, 1H), 5.29 (dm, $J = 51.6$ Hz (H-F), 1H), 3.43 (dm, 2H), 3.33 (m, 2H), 2.27 (m, 1H), 2.04 (m, 2H), 1.06 (m, 4H) 。 LC/MS (ESI+) m/z : 542.9 ($M+H^+$) 。

本說明書中引用之所有專利及其他參考文獻指示熟習本發明所涉及之技術者的技能水準，且以全文引用的方式以相同程度併入，包括任何表及圖，如同各參考文獻個別地以全文引用的方式併入本文中一般。

熟習此項技術者應易於瞭解，本發明完全適合於獲得所提及之目的及優點以及其中固有之目的及優點。本文中作為較佳實施例之本發明代表所述之方法、變化及組合物為例示性的且不欲限制本發明之範疇。熟習此項技術者將想到涵蓋在本發明之精神內且由申請專利範圍之範疇界定之其中之變化及其他用途。

本文中說明性描述的揭示內容可在不存在本文中未特定揭示之任何元件、限制之情況下合適地實踐。因此，例如，在本文中之各情況下，術語「包含」、「基本上由……組成」及「由……組成」中之任一者可由另外兩個術語中之任一者替換。因此，對於使用該等術語中之一者的本發明之一實施例，本發明亦包括此等術語中之一者經此等術語中之另一者替換的另一實施例。在各實施例中，該等術語具有其

確立之含義。因此，例如，一個實施例可涵蓋「包含」一系列步驟之方法，另一實施例將涵蓋「基本上由相同步驟組成」的方法，且第三實施例涵蓋「由相同步驟組成」的方法。已採用之術語及表述係用作描述而非限制之術語；且在使用此類術語及表述中不欲排除所展示及描述之特徵的任何等效物或其部分，但應認識到在本發明主張範疇內，可進行各種修改。因此，應瞭解，儘管本發明已由較佳實施例及視情況選用之特徵特定揭示，但熟習此項技術者可採取本文所揭示之概念的修改及變化形式，且此類修改及變化形式應視為屬於隨附申請專利範圍所界定之本發明之範疇。

另外，若本發明之特徵或態樣關於馬庫西群組(Markush group)或替代方案之其他群組描述，則熟習此項技術者應認識到從而本發明亦關於馬庫西群組或其他群組之任何個別成員或成員之亞群描述。

此外，除非相反地指示，否則若提供各種數值以用於實施例，則其他實施例藉由採用任何2個不同值作為範圍之端點描述。此類範圍亦屬於所述本發明之範疇。

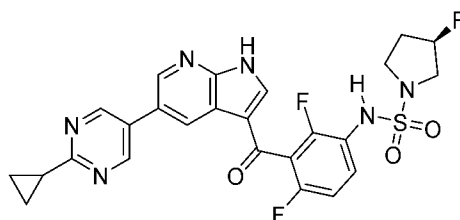
因此，其他實施例屬於本發明之範疇及以下申請專利範圍內。

【符號說明】

無

申請專利範圍

1. 一種式I化合物或其醫藥學上可接受之鹽、異構體、互變異構體或氘化形式之用途，



I

其係用以製備於罹患BRAF V600突變或BRAF融合突變相關之疾病或病狀或處於其風險之人類個體治療或抑制該疾病或病狀，但不活化含有野生型BRAF之細胞中的MAPK路徑或不誘導含有野生型BRAF之細胞表現MAPK路徑基因的藥物，其中該疾病或病狀為黑色素瘤、結腸直腸癌、乳頭狀甲狀腺癌、未分化甲狀腺癌、卵巢癌、非小細胞肺癌、胃癌、膽管癌、巴雷特氏食道癌(Barrett's esophageal cancer)、頭頸癌、肝細胞癌、蘭格漢氏細胞組織細胞增多病(Langerhan's cell histiocytosis)、胃腸基質細胞腫瘤、多發性骨髓瘤、兒科星形細胞瘤、多形性黃色星形細胞瘤、慢性骨髓性白血病、急性骨髓單核細胞性白血病、雙表型B骨髓單核細胞性白血病、急性骨髓性白血病、毛細胞白血病、痣、埃德海姆-切斯特病(Erdheim-Chester disease)、惡性外周神經鞘腫瘤、發炎及自體免疫疾病、色素沉著絨毛結節性滑膜炎、腱鞘巨細胞瘤、骨巨細胞瘤、子宮頸癌、子宮內膜癌、生殖細胞腫瘤、前列腺癌、膀胱癌、肌周細胞瘤、後腎腺瘤、胰臟贅瘤、神經內分泌腫瘤、內分泌腫瘤、腎上腺腫瘤、腎上腺髓質腫瘤、腮腺囊腺癌、多形性膠質母細胞瘤、膽管腺瘤、B細胞慢性淋巴增生病症、樹突狀細胞肉瘤、組織細胞肉瘤或淋巴

瘤。

2. 如請求項1之用途，其中該不活化含有野生型BRAF之細胞中的該MAPK路徑或不誘導含有野生型BRAF之細胞表現MAPK路徑基因包含抑制BRAF野生型細胞中之磷酸化ERK (pERK)。
3. 如請求項1之用途，其中該不活化該MAPK路徑或不誘導該MAPK路徑表現包含抑制BRAF野生型細胞中之pERK及pMEK。
4. 如請求項1之用途，其中該不活化含有野生型BRAF之細胞中的該MAPK路徑或不誘導含有野生型BRAF之細胞表現MAPK路徑基因可抑制刺激細胞生長。
5. 如請求項1之用途，其中該不活化含有野生型BRAF之細胞中的該MAPK路徑或不誘導含有野生型BRAF之細胞表現MAPK路徑基因可抑制刺激皮膚贅瘤。
6. 如請求項1之用途，其中該治療有效量之式I係於進一步包含醫藥學上可接受之賦形劑或載劑的醫藥組合物中投與。
7. 如請求項1之用途，其中該治療有效量之式I係於進一步包含另一治療劑之醫藥組合物中投與。
8. 如請求項1之用途，其中該BRAF V600突變或BRAF融合突變相關之疾病或病狀為肝細胞癌、蘭格漢氏細胞組織細胞增多病、胃腸基質細胞腫瘤、多發性骨髓瘤、兒科星形細胞瘤、多形性黃色星形細胞瘤、慢性骨髓性白血病、急性骨髓單核細胞性白血病、雙表型B骨髓單核細胞性白血病、急性骨髓性白血病、毛細胞白血病或痣。
9. 如請求項1之用途，其中該BRAF V600突變或BRAF融合突變相關之疾病或病狀為黑色素瘤、結腸直腸癌、乳頭狀甲狀腺癌、未分化甲狀腺癌、卵巢癌、非小細胞肺癌、胃癌、膽管癌、巴雷特氏食道癌或頭頸癌。

10. 如請求項1之用途，其中該BRAF V600突變相關之疾病或病狀為埃德海姆-切斯特病。
11. 如請求項1之用途，其中該BRAF V600突變相關之疾病或病狀為黑色素瘤。
12. 如請求項1之用途，其中該BRAF V600突變相關之疾病或病狀為轉移性黑色素瘤。
13. 如請求項1之用途，其中該BRAF V600突變相關之疾病或病狀為結腸直腸癌。
14. 如請求項1之用途，其中該BRAF V600突變相關之疾病或病狀為乳頭狀甲狀腺癌。
15. 如請求項1之用途，其中該BRAF V600突變相關之疾病或病狀為未分化甲狀腺癌。
16. 如請求項1之用途，其中該BRAF V600突變相關之疾病或病狀為卵巢癌。
17. 如請求項1之用途，其中該BRAF V600突變相關之疾病或病狀為非小細胞肺癌。
18. 如請求項1之用途，其中該BRAF V600突變相關之疾病或病狀為胃癌。
19. 如請求項1之用途，其中該BRAF V600突變相關之疾病或病狀為蘭格漢氏細胞組織細胞增多病。
20. 如請求項1之用途，其中該BRAF V600突變相關之疾病或病狀為急性骨髓性白血病。
21. 如請求項1之用途，其中該BRAF V600突變相關之疾病或病狀為多發性骨髓瘤。
22. 如請求項1之用途，其中該BRAF V600突變相關之疾病或病狀為惡性外周神經鞘腫瘤。

23. 如請求項1之用途，其中該BRAF融合突變相關之疾病或病狀為兒科星形細胞瘤。
24. 如請求項1之用途，其中該BRAF V600突變為一或多種選自由以下組成之群的突變：V600E、V600K、V600D、V600A、V600G、V600M及V600R。
25. 如請求項1之用途，其中該BRAF V600突變包含V600E突變及V600K突變。
26. 如請求項1之用途，其中該BRAF V600突變包含V600E突變。
27. 如請求項1之用途，其中該藥物係與以下藥劑中之一或多者併用：阿多來新(adozelesin)、六甲蜜胺(altretamine)、苯達莫司汀(bendamustine)、比折來新(bizelesin)、白消安(busulfan)、卡鉑(carboplatin)、卡波醌(carboquone)、卡莫氟(carmofur)、卡莫司汀(carmustine)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、順鉑(cisplatin)、環磷醯胺(cyclophosphamide)、達卡巴嗪(dacarbazine)、雌氮芥(estramustine)、依託格魯(etoglucid)、福莫司汀(fotemustine)、海普法姆(hepsulfam)、異環磷醯胺(ifosfamide)、英丙舒凡(improsulfam)、伊洛福芬(irofulven)、洛莫司汀(lomustine)、甘露舒凡(mannosulfam)、甲氮芥(mechlorethamine)、美法侖(melphalan)、二溴甘露醇(mitobronitol)、奈達鉑(nedaplatin)、尼莫司汀(nimustine)、奧沙利鉑(oxaliplatin)、哌泊舒凡(piposulfam)、潑尼氮芥(prednimustine)、丙卡巴肼(procarbazine)、雷莫司汀(ranimustine)、賽特鉑(satraplatin)、司莫司汀(semustine)、鏈脲菌素(streptozocin)、替莫唑胺(temozolomide)、噻替派(thiotepa)、曲奧舒凡(treosulfam)、三亞胺醌(triaziquone)、三伸乙基三聚氰胺(triethylenemelamine)、四硝酸三鉑(triplatin tetranitrate)、曲磷胺(trofosphamide)、烏拉莫

司汀(uramustine)、阿柔比星(aclarubicin)、胺柔比星(amrubicin)、博萊黴素(bleomycin)、放線菌素(dactinomycin)、道諾黴素(daunorubicin)、小紅莓(doxorubicin)、依沙蘆星(elsamitrucin)、表柔比星(epirubicin)、艾達黴素(idarubicin)、美諾立爾(menogaril)、絲裂黴素(mitomycin)、新抑癌蛋白(neocarzinostatin)、噴司他汀(pentostatin)、吡柔比星(pirarubicin)、普卡黴素(plicamycin)、伐柔比星(valrubicin)、左柔比星(zorubicin)、胺基喋呤(aminopterin)、阿紫胞苷(azacitidine)、硫唑嘌呤(azathioprine)、卡培他濱(capecitabine)、克拉屈濱(cladribine)、氯法拉濱(clofarabine)、阿糖胞苷(cytarabine)、地西他濱(decitabine)、氟尿苷(floxuridine)、氟達拉濱(fludarabine)、5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)、吉西他濱(gemcitabine)、羥基脲(hydroxyurea)、巯基嘌呤(mercaptopurine)、甲胺喋呤(methotrexate)、奈拉濱(nelarabine)、培美曲塞(pemetrexed)、硫唑嘌呤(azathioprine)、雷替曲塞(raltitrexed)、替加氟-尿嘧啶(tegafur-uracil)、硫鳥嘌呤(thioguanine)、甲氧苄啶(trimethoprim)、曲美沙特(trimetrexate)、阿糖腺苷(vidarabine)、阿倫單抗(alemtuzumab)、派立珠單抗(pembrolizumab)、尼沃單抗(nivolumab)、貝伐單抗(bevacizumab)、西妥昔單抗(cetuximab)、加利昔單抗(galiximab)、吉妥單抗(gemtuzumab)、帕尼單抗(panitumumab)、帕妥珠單抗(pertuzumab)、利妥昔單抗(rituximab)、托西莫單抗(tositumomab)、曲妥珠單抗(trastuzumab)、90Y-替坦異貝莫單抗(90Y-ibritumomab tiuxetan)、伊派利單抗(ipilimumab)、西木單抗(tremelimumab)、阿那曲唑(anastrozole)、雄激素(androgens)、布舍瑞林(buserelin)、二乙基己烯雌酚(diethylstilbestrol)、依西美

坦(exemestane)、氟他胺(flutamide)、氟維司群(fulvestrant)、戈舍瑞林(goserelin)、艾多昔芬(idoxifene)、來曲唑(letrozole)、亮丙立德(leuprolide)、甲地孕酮(magestrol)、雷洛昔芬(raloxifene)、他莫昔芬(tamoxifen)、托瑞米芬(toremifene)、DJ-927、多西他賽(docetaxel)、TPI 287、拉洛他賽(larotaxel)、奧他賽(ortataxel)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、DHA-太平洋紫杉醇、替司他賽(tesetaxel)、阿利維甲酸(alitretinoin)、貝瑟羅汀(bexarotene)、非瑞替尼(fenretinide)、異維甲酸(isotretinoin)、維甲酸(tretinoin)、秋水仙胺(demecolcine)、高三尖杉酯鹼(homoharringtonine)、長春花鹼(vinblastine)、長春新鹼(vincristine)、長春地辛(vindesine)、長春氟寧(vinflunine)、長春瑞賓(vinorelbine)、抗血管生成劑、ABT-510、2-甲氧雌二醇、來那度胺(lenalidomide)、沙力度胺(thalidomide)、安吡啶(amsacrine)、艾特卡林(edotecarin)、依託泊苷(etoposide)、磷酸依託泊苷(etoposide phosphate)、依喜替康(exatecan)、伊立替康(irinotecan)、硫蒽酮(lucanthone)、米托蒽醌(mitoxantrone)、匹蒽醌(pixantrone)、盧比替康(rubitecan)、替尼泊苷(teniposide)、拓朴替康(topotecan)、9-胺基喜樹鹼、阿西替尼(axitinib)、埃羅替尼(erlotinib)、吉非替尼(gefitinib)、夫拉平度(flavopiridol)、甲磺酸伊馬替尼(imatinib mesylate)、卡博替尼(cabozantinib)、拉帕替尼(lapatinib)、二磷酸莫替沙尼(motesanib diphosphate)、尼羅替尼(nilotinib)、塞利希布(seliciclib)、索拉非尼(sorafenib)、蘋果酸舒尼替尼(sunitinib malate)、AEE-788、BMS-599626、7-羥基星形孢菌素、凡塔藍尼(vatalanib)、硼替佐米(bortezomib)、格爾德黴素(geldanamycin)、雷帕黴素(rapamycin)、咪喹莫特(imiquimod)、干擾素- α 、介白素-2、3-胺基-2-羧基醛硫半卡脞、

阿曲生坦(atrasentan)、胺格魯米特(aminoglutethimide)、阿那格雷(anagrelide)、天冬醯胺酶(asparaginase)、苔蘚蟲素-1(bryostatin-1)、西侖吉肽(cilengitide)、伊利司莫(elesclomol)、甲磺酸艾日布林(eribulin mesylate)、伊沙匹隆(ixabepilone)、氯尼達明(lonidamine)、馬索羅酚(masoprocol)、米托瓜宗(mitoguanazone)、奧利默森(oblimersen)、舒林酸(sulindac)、睪丸內脂(testolactone)、噻唑呋林(tiazofurin)、坦羅莫司(temsirolimus)、依維莫司(everolimus)、德佛利姆(deforolimus)、PI3K抑制劑、Cdk4抑制劑、Akt抑制劑、Hsp90抑制劑、EGFR抑制劑、IDO抑制劑、法尼基轉移酶抑制劑、MEK抑制劑、BET抑制劑、AS703026、司美替尼(selumetinib)、AZD8330、BIX02188、PD184352、D-87503、GS 1120212、PD0325901、PD318088、PD98059、PDEA19或TAK-733。

28. 如請求項27之用途，其中該抗血管生成劑為新伐司他(Neovastat)。
29. 如請求項7之用途，其中該另一治療劑為阿多來新、六甲蜜胺、苯達莫司汀、比折來新、白消安、卡鉑、卡波醌、卡莫氟、卡莫司汀、苯丁酸氮芥、順鉑、環磷醯胺、達卡巴嗪、雌氮芥、依託格魯、福莫司汀、海普法姆、異環磷醯胺、英丙舒凡、伊洛福芬、洛莫司汀、甘露舒凡、甲氮芥、美法倫、二溴甘露醇、奈達鉑、尼莫司汀、奧沙利鉑、哌泊舒凡、潑尼氮芥、丙卡巴肼、雷莫司汀、賽特鉑、司莫司汀、鏈脲菌素、替莫唑胺、噻替派、曲奧舒凡、三亞胺醌、三伸乙基三聚氰胺、四硝酸三鉑、曲磷胺、烏拉莫司汀、阿柔比星、胺柔比星、博萊黴素、放線菌素、道諾黴素、小紅莓、依沙蘆星、表柔比星、艾達黴素、美諾立爾、絲裂黴素、新抑癌蛋白、噴司他汀、吡柔

比星、普卡黴素、伐柔比星、左柔比星、胺基喋呤、阿紮胞苷、硫唑嘌呤、卡培他濱、克拉屈濱、氯法拉濱、阿糖胞苷、地西他濱、氟尿苷、氟達拉濱、5-氟尿嘧啶、吉西他濱、羥基脲、巯基嘌呤、甲胺喋呤、奈拉濱、培美曲塞、硫唑嘌呤、雷替曲塞、替加氟-尿嘧啶、硫烏嘌呤、甲氧苄啶、曲美沙特、阿糖腺苷、阿侖單抗、派立珠單抗、尼沃單抗、貝伐單抗、西妥昔單抗、加利昔單抗、吉妥單抗、帕尼單抗、帕妥珠單抗、利妥昔單抗、托西莫單抗、曲妥珠單抗、90Y-替坦異貝莫單抗、伊派利單抗、西木單抗、阿那曲唑、雄激素、布舍瑞林、二乙基己烯雌酚、依西美坦、氟他胺、氟維司群、戈舍瑞林、艾多昔芬、來曲唑、亮丙立德、甲地孕酮、雷洛昔芬、他莫昔芬、托瑞米芬、DJ-927、多西他賽、TPI 287、拉洛他賽、奧他賽、太平洋紫杉醇、DHA-太平洋紫杉醇、替司他賽、阿利維甲酸、貝瑟羅汀、非瑞替尼、異維甲酸、維甲酸、秋水仙胺、高三尖杉酯鹼、長春花鹼、長春新鹼、長春地辛、長春氟寧、長春瑞賓、抗血管生成劑、ABT-510、2-甲氧雌二醇、來那度胺、沙力度胺、安吖啶、艾特卡林、依託泊苷、磷酸依託泊苷、依喜替康、伊立替康、硫蒽酮、米托蒽醌、匹蒽醌、盧比替康、替尼泊苷、拓朴替康、9-胺基喜樹鹼、阿西替尼、埃羅替尼、吉非替尼、夫拉平度、甲磺酸伊馬替尼、卡博替尼、拉帕替尼、二磷酸莫替沙尼、尼羅替尼、塞利希布、索拉非尼、蘋果酸舒尼替尼、AEE-788、BMS-599626、7-羥基星形孢菌素、凡塔藍尼、硼替佐米、格爾德黴素、雷帕黴素、咪喹莫特、干擾素- α 、介白素-2、3-胺基-2-羧基醛硫半卡脲、阿曲生坦、胺格魯米特、阿那格雷、天冬醯胺酶、苔蘚蟲素-1、西侖吉肽、伊利司莫、甲磺酸艾日布林、伊沙匹隆、氯尼達明、馬索羅酚、米托瓜宗、奧利默

森、舒林酸、睪丸內脂、噻唑呋林、坦羅莫司、依維莫司、德佛利姆、PI3K抑制劑、Cdk4抑制劑、Akt抑制劑、Hsp90抑制劑、EGFR抑制劑、IDO抑制劑、法尼基轉移酶抑制劑、MEK抑制劑、BET抑制劑、AS703026、司美替尼、AZD8330、BIX02188、PD184352、D-87503、GS 1120212、PD0325901、PD318088、PD98059、PDEA119或TAK-733。

30. 如請求項29之用途，其中該抗血管生成劑為新伐司他(Neovastat)。
31. 如請求項1之用途，其中該BRAF V600突變相關之疾病或病狀為膽管癌。
32. 如請求項1之用途，其中該BRAF V600突變相關之疾病或病狀為多形性膠質母細胞瘤。

圖式

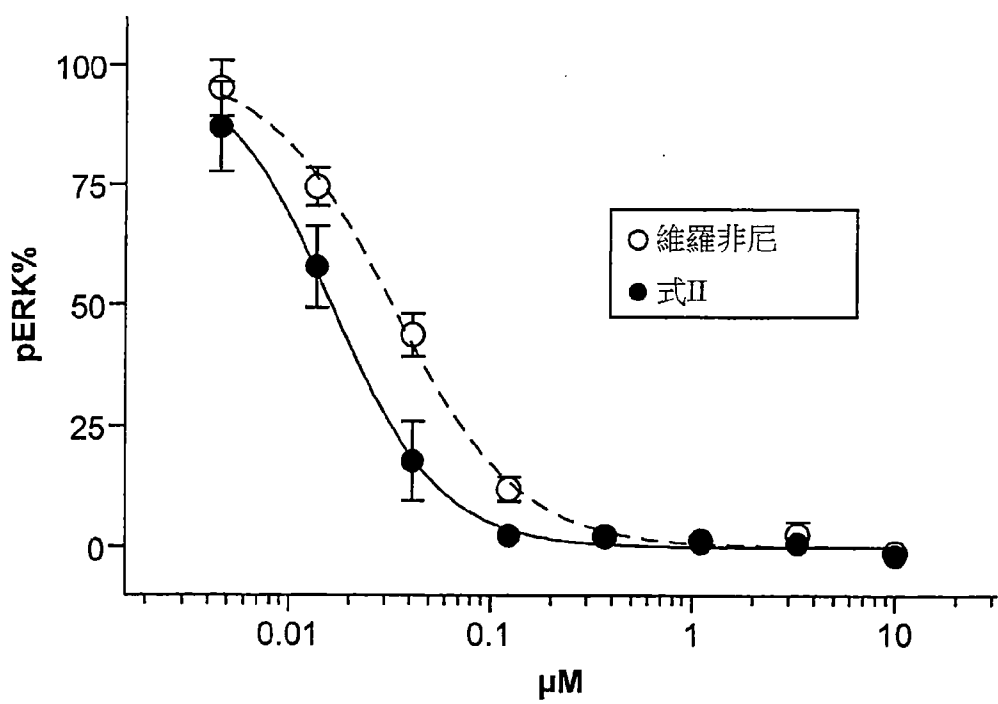


圖1A

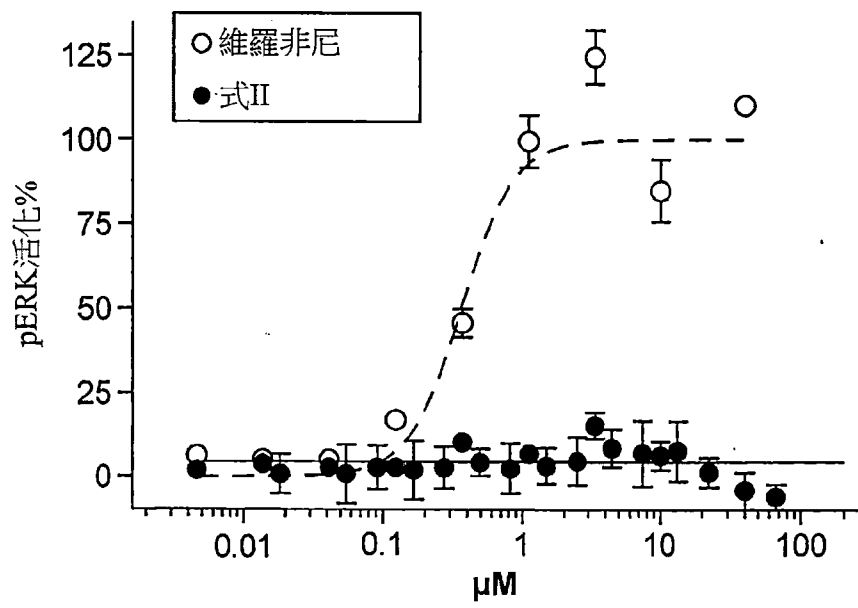


圖1B

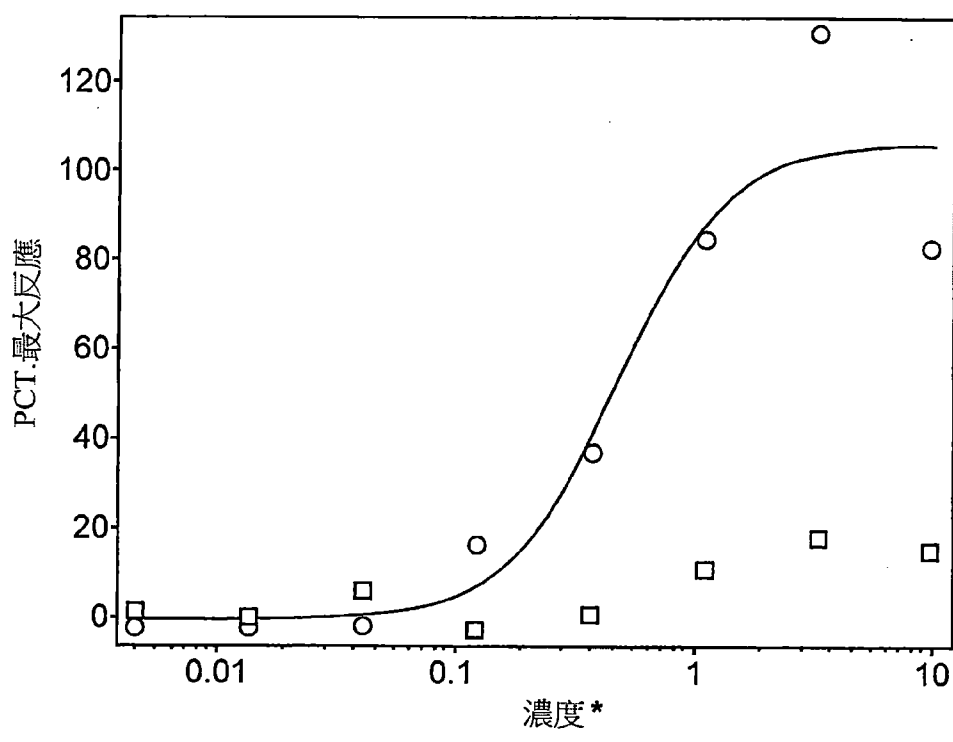


圖2A

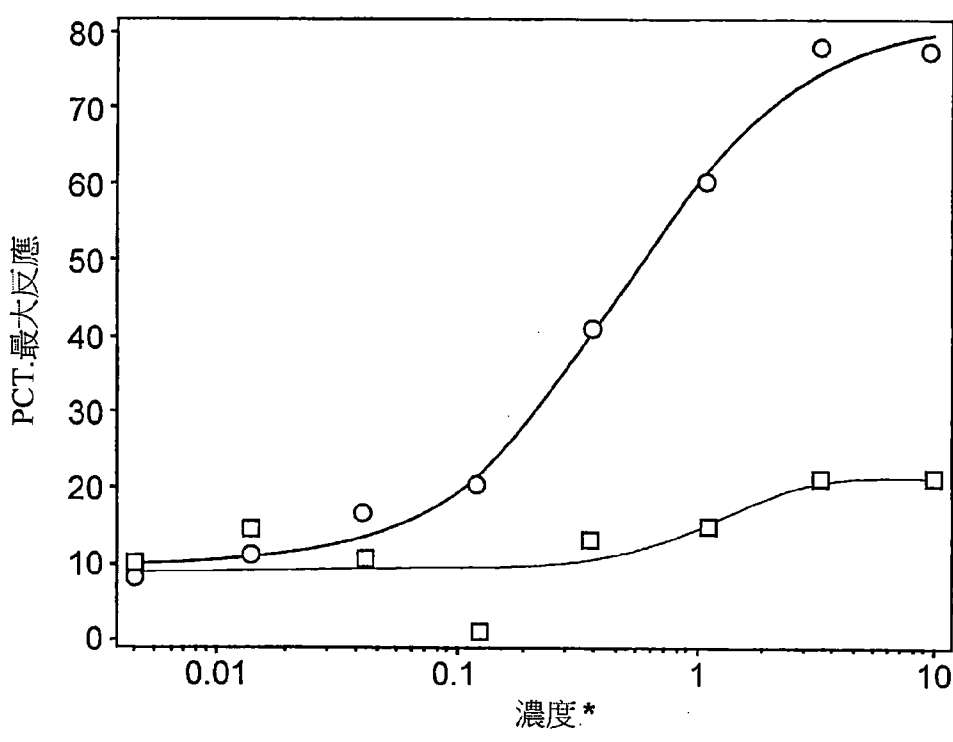


圖2B

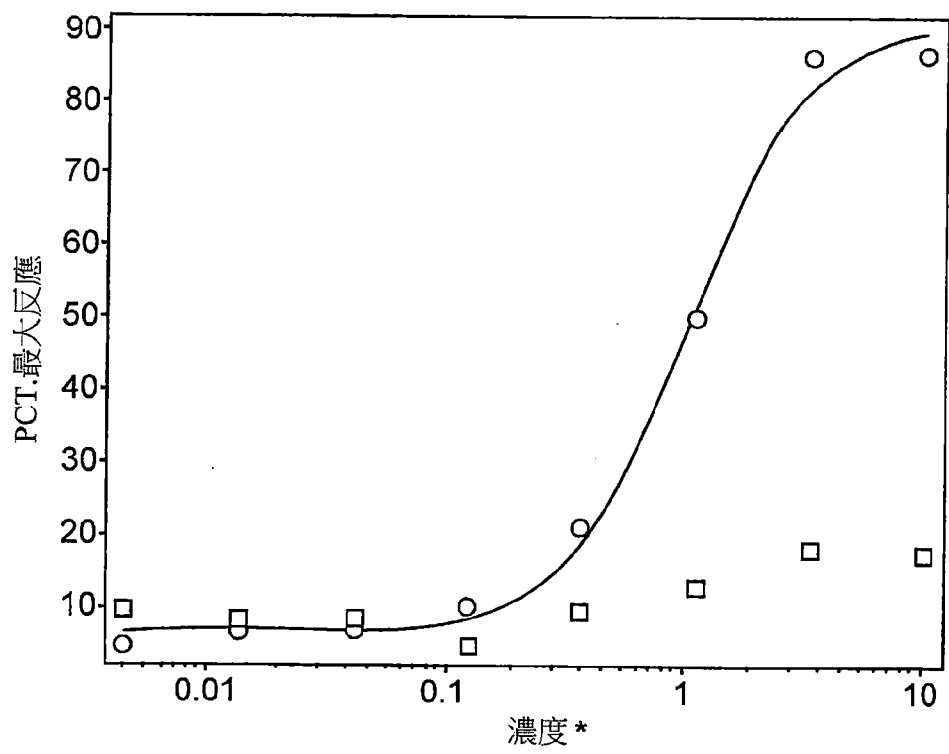


圖2C

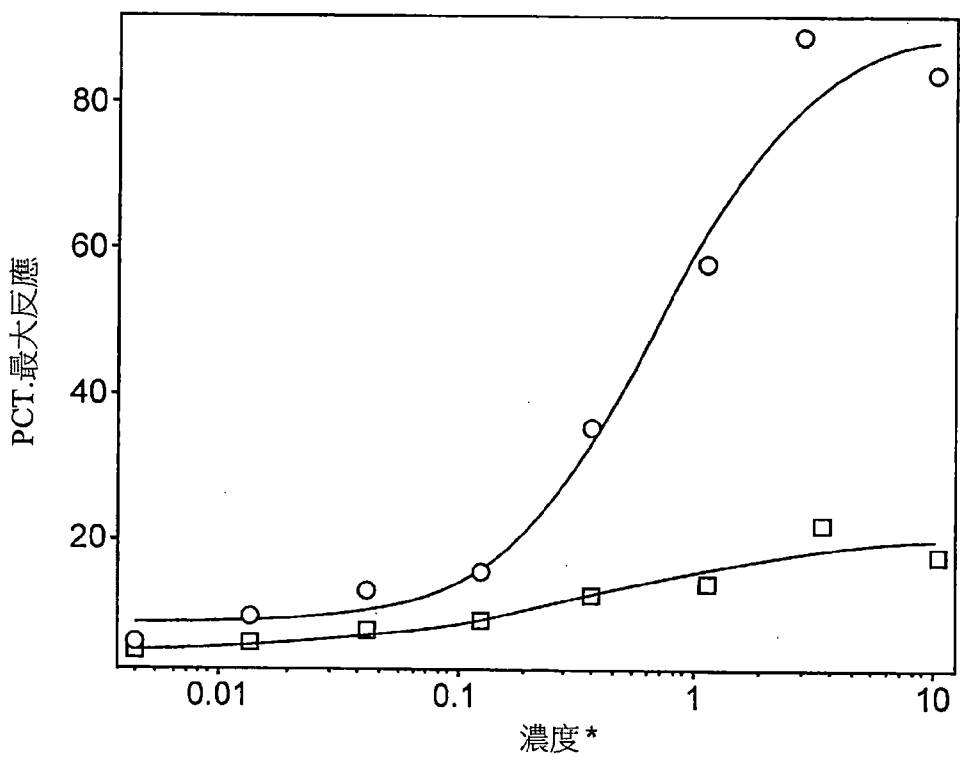


圖2D

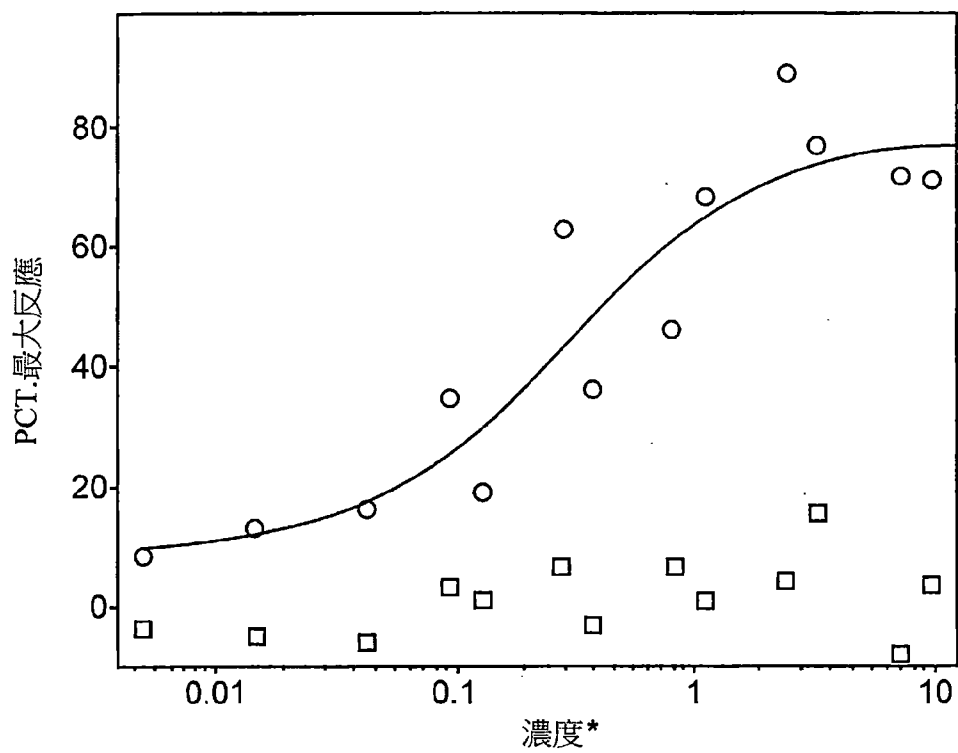


圖2E

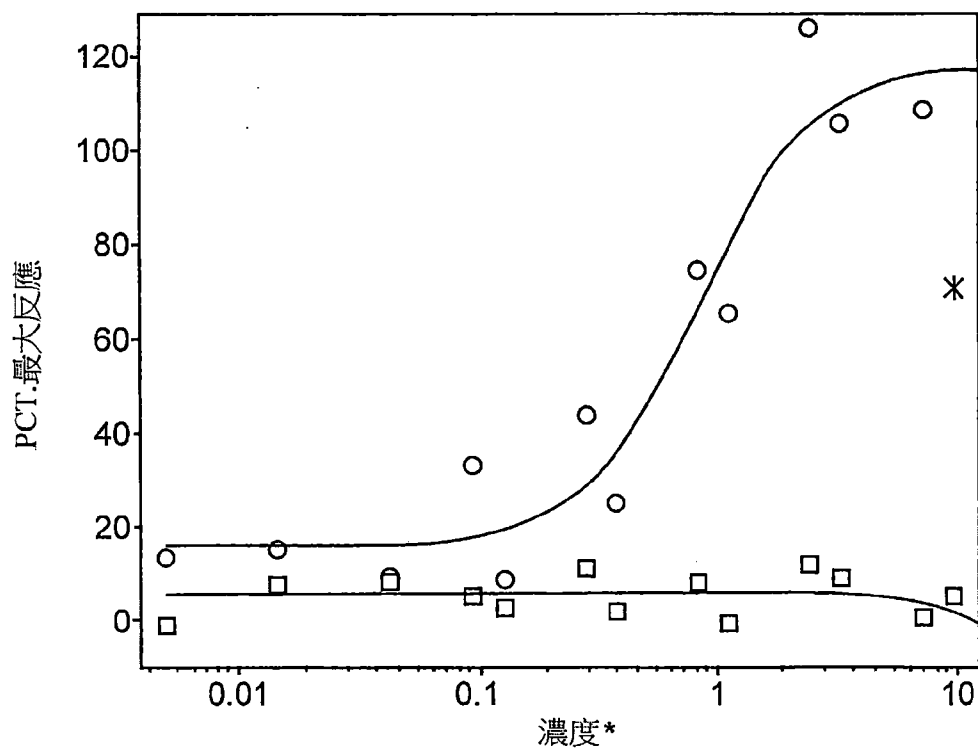


圖2F

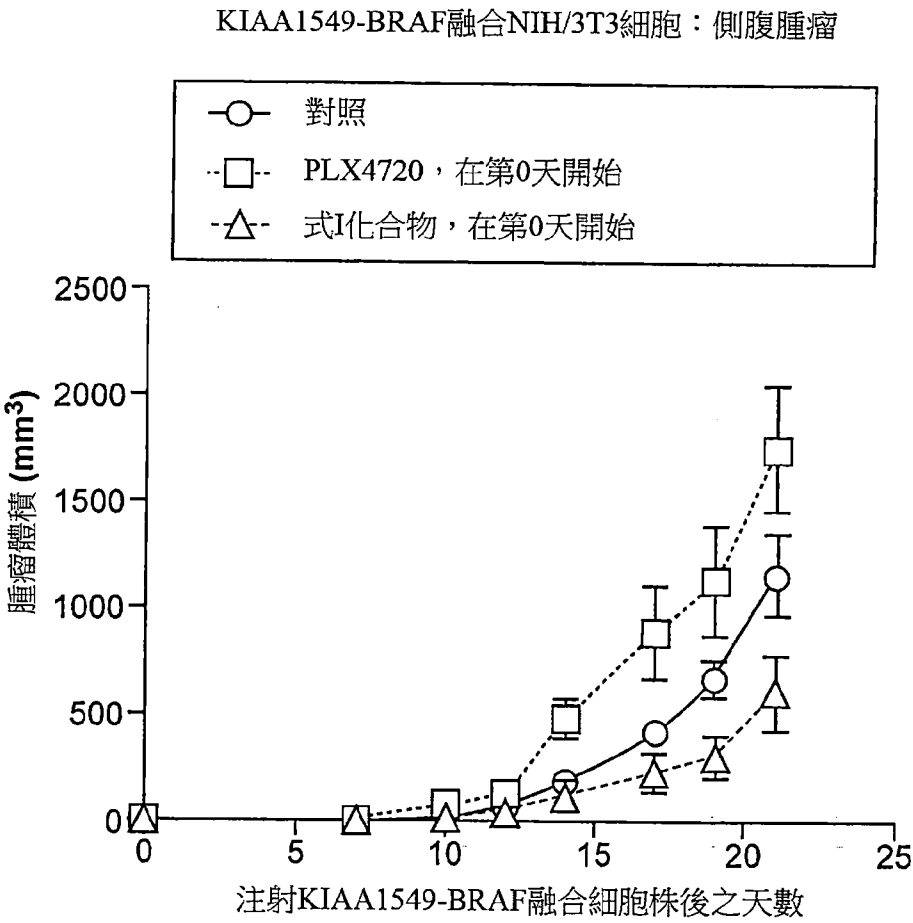


圖3