



(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 I746449 B

(45)公告日：中華民國 110 (2021) 年 11 月 21 日

(21)申請案號：105122406

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 07 月 15 日

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

A61K31/519 (2006.01)

(30)優先權：2015/07/20 美國

62/194,367

(71)申請人：美商 A I 治療公司 (美國) AI THERAPEUTICS, INC. (US)

美國

(72)發明人：利辰斯登 翰睿 LICHENSTEIN, HENRI (US)；羅斯貝格 喬納森 M ROTHBERG, JONATHAN M. (US)；蓋爾 蘇菲亞 GAYLE, SOPHIA (US)；彼翰瑞 尼爾 BEEHARRY, NEIL (US)；貝殼特 保羅 BECKETT, PAUL (US)；藍德瑞特 尚恩 LANDRETTE, SEAN (US)；括瑞德 克里斯 CONRAD, CHRIS (US)；余 天恩 XU, TIAN (US)

(74)代理人：閻啓泰；林景郁

(56)參考文獻：

WO 2006/128129A2

WO 2015/112888A1

Dawn E. Dolan et al, "PD-1 Pathway Inhibitors: Changing the Landscape of Cancer Immunotherapy", Cancer Control, 2014, 21(3): 231-237.

審查人員：魏鳳鳳

申請專利範圍項數：項 圖式數： 共頁

(54)名稱

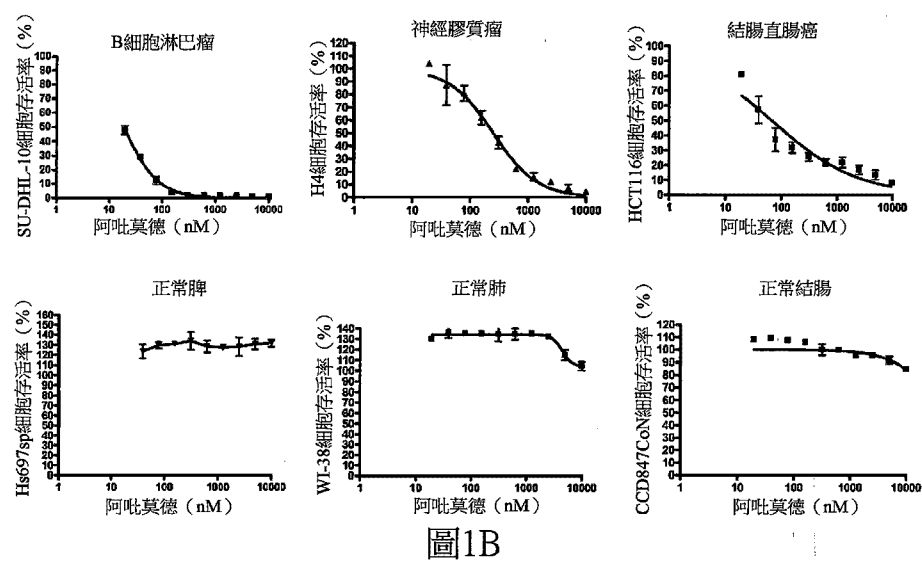
使用阿吡莫德治療癌症之方法

(57)摘要

本發明係關於用阿吡莫德治療癌症之方法及相關組成物及方法。

The present invention relates to methods for treating cancer with apilimod and related compositions and methods.

指定代表圖：



I746449

發明摘要

※ 申請案號：105122406

※ 申請日：105/07/15

※IPC 分類：**A61K31/5377**(2006.01)
A61K31/519(2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

使用阿吡莫德治療癌症之方法

METHODS FOR TREATING CANCER USING APILIMOD

【中文】

本發明係關於用阿吡莫德治療癌症之方法及相關組成物及方法。

【英文】

The present invention relates to methods for treating cancer with apilimod and related compositions and methods.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（ 1B ）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】：

無

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】(中文/英文)

使用阿吡莫德治療癌症之方法

METHODS FOR TREATING CANCER USING APILIMOD

【技術領域】

【0001】 本發明係關於包含阿吡莫德之組成物及其使用方法。

【先前技術】

【0002】 阿吡莫德亦稱為 STA-5326，在下文中為「阿吡莫德」，識別為 IL-12 及 IL-23 之有效轉錄抑制劑。參見例如 Wada 等人 *Blood* 109 (2007): 1156-1164。IL-12 及 IL-23 為通常由免疫細胞，諸如 B 細胞及巨噬細胞回應於抗原刺激而產生之發炎性細胞因子。特性在於慢性發炎之自體免疫病症及其他病症的部分特性為此等細胞因子之不適當產生。在免疫細胞中，近來展示阿吡莫德對 IL-12/IL-23 轉錄之選擇性抑制藉由阿吡莫德直接結合於磷脂酰肌醇-3-磷酸 5-激酶 (PIKfyve) 介導。參見例如 Cai 等人 *Chemistry and Biol.* 20 (2013):912-921。PIKfyve 在 Toll 樣受體信號傳導中起作用，Toll 樣受體信號傳導在先天性免疫性中為重要的。

【0003】 基於阿吡莫德作為 IL-12/IL-23 之免疫調節劑及特定抑制劑的活性，已提議其可用於治療自體免疫及發炎疾病及病症。參見例如 US 6,858,606 及 6,660,733 (描述嘧啶化合物家族，包括阿吡莫德，據稱可用於治療特性為 IL-12 或 IL-23 過度產生之疾病及病症，諸如類風濕性關節炎、敗血症、克羅恩氏病 (Crohn's disease)、多發性硬化症、牛皮癬或胰島素依賴性糖尿病)。類似地，基於其抑制 c-Rel 或 IL-12/23 之活性，尤其其中威信

此等細胞因子在促進異常細胞增殖中起一定作用的癌症中，提出阿吡莫德可用於治療某些癌症。參見例如 WO 2006/128129 及 Baird 等人, *Frontiers in Oncology* 3:1 (分別 2013)。

【0004】 阿吡莫德之三個臨床試驗每一者均集中於其在自體免疫及發炎疾病中之潛在功效。該等試驗在患有牛皮癬、類風濕性關節炎及克羅恩氏病之患者中進行。牛皮癬患者中之開放標記臨床研究推斷經口投予阿吡莫德展示免疫調節活性，證實 IL-12/IL-23 合成之抑制，用於治療 TH1-及 TH17-介導之發炎疾病。Wada 等人, *PLoSOne* 7:e35069 (2012 年 4 月)。但在類風濕性關節炎及克羅恩氏病中之對照試驗結果不支持阿吡莫德對 IL-12/IL-23 之抑制轉變成此等適應症中之任一者中臨床改善的概念。類風濕性關節炎患者中阿吡莫德之隨機化、雙盲、安慰劑對照 II 期臨床試驗中，阿吡莫德未能改變滑膜 IL-12 及 IL-23 表現。Krausz 等人, *Arthritis & Rheumatism* 64:1750-1755 (2012)。作者推斷「結果不支持阿吡莫德對 IL-12/IL-23 之抑制能夠誘發 RA 中穩固臨床改善之概念」。類似地，阿吡莫德用於治療活性克羅恩氏病之隨機化、雙盲、安慰劑對照試驗推斷雖然具有良好耐受性，但阿吡莫德未證實超過安慰劑之功效。Sands 等人 *Inflamm Bowel Dis.* 2010 年 7 月;16(7):1209-18。

【0005】 哺乳動物雷帕黴素目標 (mTOR) 路徑為與多種生理功能，包括細胞生長、細胞增殖、代謝、蛋白質合成及自體吞噬有關之重要細胞信號傳導路徑 (La Plante 等人 *Cell* 2012, (149 (2), 第 274-293 頁)。mTOR 為一種將信號傳導胺基酸、應力、氧、能量及生長因子之水準之細胞內及細胞外線索整合且調控細胞對此等環境線索之反應的激酶。mTOR 調控異常已

與包括癌症、肥胖、糖尿病及神經退化之各種病症及疾病相關。已研究 mTOR 路徑之某些組分作為治療此等疾病中之一些的藥物目標。然而，治療功效在例如治療一些癌症中為有限的，且已展示一些 mTOR 抑制劑對代謝具有不良影響。結節性硬化症複合腫瘤抑制基因 TSC1 及 TSC2 為 mTOR 之負向調控劑。

【發明內容】

【0006】 本發明部分基於意外地發現阿吡莫德為 TSC 裸細胞中高度細胞毒性劑。此等細胞中，mTOR 路徑為組成性活性的。mTOR 路徑在許多癌症中活化，且在超過 100 種癌細胞系之進一步篩選中，阿吡莫德展示在來自不同癌症之細胞系中抗增殖活性。在阿吡莫德敏感性癌細胞系之間，B 細胞淋巴瘤為最敏感的。但意外地，B 細胞淋巴瘤對阿吡莫德之差異敏感性不與此等細胞中 c-Rel 表現、IL-12 表現或 IL-23 表現相關。此為意外的，因為先前工作已提出阿吡莫德可用於對抗其中 c-Rel 及/或 IL-12/23 表現對促進異常細胞增殖至關重要之癌症。實際上，本發明者證實阿吡莫德在癌細胞中之細胞毒活性歸因於細胞內運輸之抑制及相應細胞凋亡之增加。此活性未基於阿吡莫德經由對 IL-12/23 產生之抑制的免疫調節活性來預測。另外，超過 450 種激酶之篩選鑑別 PIKfyve 為人類癌細胞系中阿吡莫德之唯一高親和力結合目標 ($K_d=75 \text{ pM}$)。

【0007】 本發明提供用於阿吡莫德治療癌症，且尤其治療 B 細胞淋巴瘤及尤其對標準化學療法方案具有抗性或難以治療之癌症之醫療用途的新方法。

【0008】 在一個具體實例中，本發明提供一種治療有需要之個體之癌

症的方法，該方法包含向該個體投予有效抑制個體癌細胞中細胞 PIKfyve 活性之量的包含阿吡莫德之組成物。在一個具體實例中，個體為人類。

【0009】 在一個具體實例中，癌症為腦癌、神經膠質瘤、肉瘤、乳癌、肺癌、非小細胞肺癌、間皮瘤、闌尾癌、泌尿生殖癌、腎細胞癌、前列腺癌、膀胱癌、睪丸癌、陰莖癌、子宮頸癌、卵巢癌、希佩爾·林道疾病（von Hippel Lindau disease）、頭頸癌、腸胃癌、肝細胞癌、膽囊癌、食道癌、胃癌、結腸直腸癌、胰臟癌、神經內分泌腫瘤、甲狀腺腫瘤、垂體腫瘤、腎上腺腫瘤、血液惡性病、淋巴瘤或白血病。在一個具體實例中，癌症為淋巴瘤，且在另一個具體實例中，癌症為非霍奇金氏淋巴瘤（non-Hodgkin's lymphoma）。

【0010】 在一個具體實例中，癌症選自 DLBCL、濾泡性淋巴瘤、邊緣區淋巴瘤（MZL）、CLL/SLL（慢性淋巴細胞性白血病/小淋巴細胞性淋巴瘤）及套細胞淋巴瘤。

【0011】 在一個具體實例中，投予步驟在由至少 1 天投予包含阿吡莫德之組成物，接著連續至少 1 天不投予包含阿吡莫德之組成物組成的至少一個週期中進行。在某些具體實例中，投予步驟在 2 至 10 個週期或 2 至 5 個週期中進行。在一個具體實例中，週期由連續 1 至 10 天投予組成物、接著連續 1 至 5 天不投予組成物組成。在另一個具體實例中，週期由連續 2 至 5 天投予組成物、接著連續 1 至 2 天不投予組成物組成。在另一具體實例中，週期由連續 5 天投予組成物、接著連續 2 天不投予組成物組成。

【0012】 在特定具體實例中，本發明提供以由以下組成之方案使用阿吡莫德治療癌症的方法：在 28 天週期內 5 天用阿吡莫德治療、接著 2 天中

止治療，歷時 1 至 2 個月、1 至 3 個月、1 至 4 個月、1 至 5 個月、1 至 6 個月或 6 至 12 個月範圍內的時間段。其他具體實例在以下且在下文更詳細地描述。

【0013】 在一個態樣中，本發明提供一種治療有需要之個體之癌症的方法，該方法包含向該個體投予治療有效量之本發明之阿吡莫德組成物，該組成物包含阿吡莫德或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、晶籠化合物、水合物、多晶型物、前藥、類似物或衍生物。在一個具體實例中，該方法包含向該個體投予有效抑制個體癌細胞中細胞 PIKfyve 活性之量的包含阿吡莫德之組成物。在一個具體實例中，阿吡莫德組成物包含阿吡莫德自由鹼或阿吡莫德二甲磺酸鹽。

【0014】 在一個具體實例中，該方法進一步包含向該個體投予至少一種其他活性劑。至少一種其他活性劑可為治療劑或非治療劑。至少一種其他活性劑可以與阿吡莫德組成物之單一劑型投予，或以與阿吡莫德組成物之分開劑型投予。在一個具體實例中，至少一種其他活性劑選自由以下各者組成之群：烷基化劑、插入劑、微管蛋白結合劑、皮質類固醇以及其組合。

【0015】 在一個具體實例中，至少一種其他藥劑為涉及程式化死亡 1 (PD-1) 受體及其配位體 (PD-L1/2) 之檢查點信號傳導路徑之抑制劑。在一個具體實例中，該方法包含抗 PD-L1 劑與抗 PD-1 劑之組合。在一個具體實例中，抑制劑為選自 BMS-936559/MDX-1105 (針對 PD-L1 之全人類、高親和力、免疫球蛋白 (Ig) G4 單株抗體)、MPDL3280A (以 PD-L1 為目標之經工程改造之人類單株抗體)、MSB0010718C 及 MEDI473 之抗 PD-L1 劑。

在一個具體實例中，抑制劑為選自 CT-011/皮立珠單抗 (pidilizumab)、BMS-936558/MDX-1106/納武單抗 (nivolumab) 及派立珠單抗 (pembrolizumab) 之抗 PD-1 劑。在一個具體實例中，抑制劑選自 BMS-936559/MDX-1105、MPDL3280A、MSB0010718C、MEDI473、CT-011/皮立珠單抗、BMS-936558/MDX-1106/納武單抗及派立珠單抗，以及前述任一者中兩者或更多者之組合。

【0016】 在一個具體實例中，至少一種其他活性劑為選自由以下組成之群的治療劑：依魯替尼 (ibrutinib)、利妥昔單抗 (rituximab)、小紅莓 (doxorubicin)、潑尼龍 (prednisolone)、長春新鹼 (vincristine)、萬珂 (velcade) 及依維莫司 (everolimus) 以及其組合。在一個具體實例中，至少一種其他活性劑為選自以下之治療劑：環磷醯胺 (cyclophosphamide)、羥基道諾黴素 (hydroxydaunorubicin) (亦稱為小紅莓 (doxorubicin) 或 Adriamycin™)、長春新鹼 (亦稱為 Oncovin™)、潑尼松 (prednisone)、潑尼龍以及其組合。在一個具體實例中，至少一種其他活性劑為選自由以下組成之群的治療劑：BMS-936559/MDX-1105、MPDL3280A、MSB0010718C、MEDI473、CT-011/皮立珠單抗、BMS-936558/MDX-1106/納武單抗及派立珠單抗，以及前述任一者中兩者或更多者之組合。

【0017】 在一個具體實例中，至少一種其他活性劑為非治療劑。在一個具體實例中，非治療劑經選擇以改善阿吡莫德組成物之一或多種副作用。在一個具體實例中，非治療劑選自由昂丹司瓊 (ondansetron)、格拉司瓊 (granisetron)、多拉司瓊 (dolasetron) 及帕洛諾司瓊 (palonosetron) 組成之群。在一個具體實例中，非治療劑選自由品多洛爾 (pindolol) 及利培酮

(risperidone) 組成之群。在一個具體實例中，非治療劑經選擇以增加阿吡莫德組成物中阿吡莫德之生體可用率。在此具體實例之一個態樣中，非治療劑為 CYP3A 抑制劑。在一特定具體實例中，CYP3A 抑制劑為利托那韋 (ritonavir) 或考比西他 (cobicistat)。

【0018】 在一個具體實例中，阿吡莫德組成物之劑型為口服劑型。在另一具體實例中，阿吡莫德組成物之劑型適合於靜脈內投予。在一個具體實例中，在劑型適合於靜脈內投予之情況下，投予藉由單次注射或藉由滴灌袋。

【0019】 在一個具體實例中，個體為人類癌症患者。在一個具體實例中，需要用本發明之阿吡莫德組成物治療之人類癌症患者為癌症為難以用標準化學療法方案治療之癌症患者。在一個具體實例中，需要用阿吡莫德組成物治療之人類癌症患者為癌症在用標準化學療法方案治療後復發之癌症患者。在一個具體實例中，癌症為淋巴瘤。在一個具體實例中，癌症為 B 細胞淋巴瘤。在一個具體實例中，B 細胞淋巴瘤為非霍奇金氏 B 細胞淋巴瘤。在一個具體實例中，非霍奇金氏 B 細胞淋巴瘤選自彌漫性大 B 細胞淋巴瘤 (DLBCL)、伯基特氏淋巴瘤 (Burkitt's lymphoma)、縱隔 B 細胞淋巴瘤、套細胞淋巴瘤及濾泡性淋巴瘤。在一個具體實例中，非霍奇金氏 B 細胞淋巴瘤為 DLBCL。在一個具體實例中，DLBCL 為 GCB 亞型。

【0020】 在一個具體實例中，標準化學療法方案包含選自由以下組成之群的一或多種治療劑：依魯替尼、利妥昔單抗、小紅莓、潑尼龍、長春新鹼、萬珂、環磷醯胺、地塞米松及依維莫司。在一個具體實例中，標準化學療法方案選自 CHOP (環磷醯胺、羥基道諾黴素、Oncovin™ (長春新

鹼)及潑尼松或潑尼龍)、COOP (環磷醯胺、硫酸長春新鹼、鹽酸丙卡巴肼、潑尼松)、CVP (環磷醯胺、硫酸長春新鹼、潑尼松)、EPOCH (依託泊苷、潑尼松、硫酸長春新鹼、環磷醯胺、鹽酸小紅莓)、Hyper-CVAD (環磷醯胺、硫酸長春新鹼、鹽酸小紅莓、地塞米松)、ICE (異環磷醯胺、卡鉑、依託泊苷)、R-CHOP (利妥昔單抗、環磷醯胺、硫酸長春新鹼、鹽酸丙卡巴肼、潑尼松)及 R-CVP (利妥昔單抗、環磷醯胺、硫酸長春新鹼、潑尼松)。

【0021】 在一個具體實例中，該方法為一種治療淋巴瘤之方法，其使用包含阿吡莫德組成物及用於治療淋巴瘤之化學療法方案的組合療法。在一個具體實例中，化學療法方案為 CHOP 方案。在另一具體實例中，化學療法方案選自 COOP、CVP、EPOCH、Hyper-CVAD、ICE、R-CHOP 及 R-CVP。方案亦可包括一或多種如上所述之其他非治療劑，例如選自以下一或多者之非治療劑：CYP3A 抑制劑，諸如利托那韋或考比西他、昂丹司瓊、格拉司瓊、多拉司瓊、帕洛諾司瓊、品多洛爾及利培酮。

【圖式簡單說明】

【0022】 圖 1A：TSC2 缺乏細胞對阿吡莫德具有高度敏感性 ($IC_{50} = 19.5 \text{ nM}$)。

【0023】 圖 1B：與非癌症（正常）細胞相比，阿吡莫德對癌細胞中細胞存活之作用。

【0024】 圖 2A：在 3 天、5 天及 7 天與化合物一起培育下 HCT116 結腸直腸癌細胞對阿吡莫德之十點劑量反應。

【0025】 圖 2B：在 7 天分析中不同 NHL 亞型對阿吡莫德之敏感性

($IC_{50} < 125 \text{ nM}$)。

【0026】 圖 3：在阿吡莫德 (10 nM) 存在及不存在下用 93 種藥物之人工管理文庫篩選 SU-DHL-4 細胞鑑別依魯替尼為與阿吡莫德組合時發揮協同活性之藥物。

【0027】 圖 4：阿吡莫德抑制 SU-DHL-6 DLBCL 異種移植腫瘤之生長；頂線展示媒劑生理食鹽水（菱形，淡灰色實線）QDx5，2 天中止，QDx5 靜脈內；0.5% 甲基纖維素（三角形，實心深灰色線）QDx5，2 天中止，QDx5 經口；阿吡莫德二甲磺酸鹽（正方形，短劃線）67.5 mg/kg（47 mg/kg 自由鹼）QDx5 靜脈內，2 天中止，QDx5；阿吡莫德自由鹼（正方形，淡灰色實線）150 mg/kg QDx5，2 天中止，QDx5 經口；阿吡莫德自由鹼（十字形，實線）75 mg/kg BIDx5，2 天中止，BIDx5 經口。

【0028】 圖 5：活體內阿吡莫德與依魯替尼組合對 DLBCL 腫瘤之抗腫瘤活性；頂線展示媒劑（菱形，淡灰色實線）QDx5，2 天中止，QDx5 經口 + 靜脈內；依魯替尼（三角形，實心深灰色線）10 mg/kg QDx12 靜脈內；阿吡莫德自由鹼（正方形，短劃線）75 mg/kg QDx5，2 天中止，QDx5 經口；依魯替尼（十字形，實心深線）20 mg/kg QDx12 靜脈內；阿吡莫德自由鹼 75 mg/kg QDx5，2 天中止，QDx5 經口 + 依魯替尼 10 mg/kg QDx12 靜脈內（正方形，實心淡灰色線）；阿吡莫德自由鹼 75 mg/kg QDx5，2 天中止，QDx5 經口 + 依魯替尼 10 mg/kg QDx12 靜脈內（圓形，實心中灰色線）。

【0029】 圖 6：阿吡莫德以高親和力結合於 PIKfyve ($K_d = 75 \text{ pM}$)。

【0030】 圖 7：IL-23A 表現不為非霍奇金氏 B 細胞淋巴瘤中敏感性之統計學上顯著預測因子。展示阿吡莫德敏感性 NHB 細胞系（底部，深色）

及不敏感性 NHB 細胞系（頂部。淡色）。

【0031】 圖 8A：用指示濃度之阿吡莫德處理 24 小時的 H4 神經膠質瘤細胞中磷酸肌醇 PI(3,5)P₂ 之免疫染色。

【0032】 圖 8B：用媒劑（左）或 100 nM 阿吡莫德（右）處理 24 小時之 H4 神經膠質瘤細胞的微分干涉差顯微鏡（Differential Interference Contrast, DIC）影像。

【0033】 圖 9A：左：用非目標 shRNA（對照）或以 *PIKFYVE*（*shPIKFYVE*）為目標之髮夾轉導之 H4 的 DIC 影像。右：在用多西環素（doxycycline）誘發對照或 *PIKFYVE* shRNA 之後 H4 細胞之存活力。

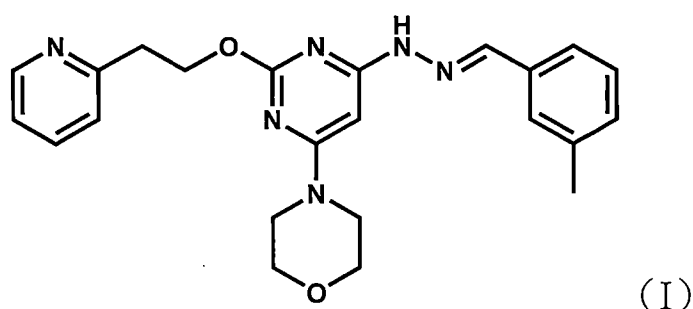
【0034】 圖 9B：H4 神經膠質瘤中 *PIKFYVE* 基因表現阻斷。

【實施方式】

【0035】 本發明提供與使用阿吡莫德治療需要此類治療之個體、較佳人類個體之癌症相關的組成物及方法。本發明一般關於基於阿吡莫德針對淋巴性與非淋巴性來源之一系列癌細胞之細胞毒活性的意外發現的阿吡莫德新用途，該細胞毒活性為不明確與阿吡莫德之已知之免疫調節及 IL-12/23 抑制活性相關或可自其預測的活性。另外，本發明提供癌症治療之新穎治療方法，其基於利用單獨、作為單一療法或與至少一種其他治療劑（諸如其他抗癌（化學治療）劑）組合之阿吡莫德的治療方案。本文所述之治療方案利用與非癌症（正常）細胞相比，阿吡莫德針對癌細胞之選擇性細胞毒活性，以及癌細胞對一段時間內投予之阿吡莫德的敏感性增加。

【0036】 如本文所用，術語「阿吡莫德組成物」可指包含阿吡莫德本身（自由鹼）之組成物，或可涵蓋如下所述的醫藥學上可接受之鹽、溶劑

合物、晶籠化合物、水合物、多晶型物、前藥、阿吡莫德之類似物或衍生物。阿吡莫德之結構展示於式 I 中：



【0037】 阿吡莫德之化學名稱為 2-[2-吡啶-2-基)-乙氧基]-4-N'-(3-甲基-伸苯甲基)-胼基]-6-(嗎啉-4-基)-嘧啶 (IUPAC 名稱：(E)-4-(6-(2-(3-甲基伸苯甲基)胼基)-2-(2-(吡啶-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)嗎啉)，且 CAS 號為 541550-19-0。

【0038】 阿吡莫德可例如根據美國專利第 7,923,557 號及第 7,863,270 號及第 WO 2006/128129 號中描述之方法製備。

【0039】 如本文所用，術語「醫藥學上可接受之鹽」為由例如阿吡莫德組成物之酸基及鹼基形成之鹽。例示性鹽包括（但不限於）硫酸鹽、檸檬酸鹽、乙酸鹽、乙二酸鹽、氯化物、溴化物、碘化物、硝酸鹽、硫酸氫鹽、磷酸鹽、磷酸鹽、異菸鹼酸鹽、乳酸鹽、水楊酸鹽、檸檬酸鹽、酒石酸鹽、油酸鹽、丹寧酸鹽、泛酸鹽、酒石酸氫鹽、抗壞血酸鹽、丁二酸鹽、順丁烯二酸鹽、苯磺酸鹽、龍膽酸鹽、反丁烯二酸鹽、葡萄糖酸鹽、葡萄糖醛酸鹽、葡萄糖二酸鹽、甲酸鹽、苯甲酸鹽、麩胺酸鹽、甲烷磺酸鹽、乙烷磺酸鹽、苯磺酸鹽、對甲苯磺酸鹽及雙羥萘酸鹽（例如 1,1'-亞甲基-雙-(2-羥基-3-萘甲酸鹽)）。在一較佳具體實例中，阿吡莫德之鹽包含甲烷磺酸鹽。

【0040】 術語「醫藥學上可接受之鹽」亦關於由具有酸性官能基、諸

如羧酸官能基之阿吡莫德組成物與醫藥學上可接受之無機鹼或有機鹼製備之鹽。

【0041】 術語「醫藥學上可接受之鹽」亦關於由具有鹼基官能基、諸如胺基官能基之阿吡莫德組成物與醫藥學上可接受之無機酸或有機酸製備之鹽。

【0042】 本文所述之化合物的鹽可自母體化合物，藉由習知化學方法，諸如 Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, P. Hemrich Stalil (編輯), Camille G. Wermuth (編輯), ISBN: 3-90639-026-8, 2002 年 8 月中描述之方法合成。一般而言，此類鹽可藉由使母體化合物與適當酸於水中或有機溶劑中或兩者之混合物中反應來製備。

【0043】 本文所描述之化合物之一種鹽形式可藉由熟習此項技術者熟知之方法轉化成自由鹼且視情況轉化成另一鹽形式。舉例而言，自由鹼可藉由使鹽溶液通過含有胺固定相之管柱（例如 Strata-NH₂ 管柱）形成。或者，鹽於水中之溶液可用碳酸氫鈉處理以使鹽分解且自由鹼沈澱。接著自由鹼可與另一酸使用常規方法組合。

【0044】 如本文所用，術語「多晶型物」意謂本發明之化合物（例如 2-[2-吡啶-2-基]-乙氧基]-4-N'-(3-甲基-仲苯甲基)-胍基]-6-(嗎啉-4-基)-嘧啶）或其複合物的固體結晶形式。相同化合物之不同多晶型物可展現不同物理、化學及/或光譜特性。不同物理特性包括（但不限於）穩定性（例如對熱或光）、可壓縮性及密度（調配及產品製造中為重要的）及溶解速率（其可影響生體可用率）。穩定性之差異可由化學反應性之變化（例如差異氧化，使得包含一種多晶型物之劑型與包含另一多晶型物之劑型相比更快速

變色)或機械變化(例如錠劑在儲存時由於動力學上有利之多晶型物轉變成熱力學上更穩定之多晶型物而破碎)或兩者(例如一種多晶型物之錠劑在高濕度下更易於破裂)引起。多晶型物之不同物理特性可影響其加工。舉例而言,由於例如粒子形狀或尺寸分佈,一種多晶型物可能比另一多晶型物更可能形成溶劑合物或可能更難以過濾或洗滌去。

【0045】 如本文所用,術語「水合物」意謂本發明之化合物(例如 2-[2-吡啶-2-基]-乙氧基]-4-N'-(3-甲基-伸苯甲基)-胍基]-6-(嗎啉-4-基)-嘧啶)或其鹽,其進一步包括藉由非共價分子間力結合之化學計算量或非化學計算量之水。

【0046】 如本文所用,術語「晶籠化合物」意謂呈含有將客體分子(例如溶劑或水)截留在內之空間(例如通道)之晶格形式的本發明之化合物(例如 2-[2-吡啶-2-基]-乙氧基]-4-N'-(3-甲基-伸苯甲基)-胍基]-6-(嗎啉-4-基)-嘧啶)或其鹽。

【0047】 如本文所用,術語「前藥」意謂可在生物條件(試管內或活體內)下水解、氧化或以其他方式反應以提供本發明化合物的本文所述之化合物(例如 2-[2-吡啶-2-基]-乙氧基]-4-N'-(3-甲基-伸苯甲基)-胍基]-6-(嗎啉-4-基)-嘧啶)之衍生物。前藥僅僅可在生物條件下進行此類反應時變得具有活性,或其呈其未反應形式可具有活性。本發明中涵蓋之前藥的實例包括(但不限於)包含可生物水解部分,諸如可生物水解醯胺、可生物水解酯、可生物水解胺基甲酸酯、可生物水解碳酸酯、可生物水解醯脲及可生物水解磷酸酯類似物的本文所述之化合物(例如 2-[2-吡啶-2-基]-乙氧基]-4-N'-(3-甲基-伸苯甲基)-胍基]-6-(嗎啉-4-基)-嘧啶)之類似物或衍生物。前藥之其他

實例包括包含-NO、-NO₂、-ONO 或-ONO₂ 部分的本文所揭示之任一式之化合物的衍生物。前藥典型地可使用熟知方法，諸如 Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery (1995) 172-178, 949-982 (Manfred E. Wolff 編, 第 5 版) 描述之方法。

【0048】 如本文所用，術語「溶劑合物」或「醫藥學上可接受之溶劑合物」為由一或多個溶劑分子與本文所揭示之化合物之一（例如 2-[2-吡啶-2-基]-乙氧基]-4-N'-(3-甲基-仲苯甲基)-胍基]-6-(嗎啉-4-基)-嘧啶) 締合所形成的溶劑合物。術語溶劑合物包括水合物（例如半水合物、單水合物、二水合物、三水合物、四水合物及其類似物）。

【0049】 如本文所用，術語「類似物」係指在結構上類似於另一化合物但組成略有不同（如由於一個原子經一不同元素之原子置換或由於存在特定官能基，或一個官能基經另一官能基置換）之化合物。因此，類似物為在功能及外觀上類似或相當，但在結構或來源上與參考化合物不類似或相當的化合物。如本文所用，術語「衍生物」指具有共同核心結構且經如本文所述之各種基團取代的化合物。

治療方法

【0050】 本發明提供用於治療有需要之個體之癌症的方法，其藉由向該個體投予治療有效量之本發明之阿吡莫德組成物，該組成物包含阿吡莫德或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、晶籠化合物、水合物、多晶型物、前藥、類似物或衍生物。在一個具體實例中，阿吡莫德組成物包含阿吡莫德自由鹼或阿吡莫德二甲磺酸鹽。本發明進一步提供阿吡莫德組成物用於製備可用於治療癌症之藥劑的用途。

【0051】 在一個具體實例中，癌症為腦癌、神經膠質瘤、肉瘤、乳癌、肺癌、非小細胞肺癌、間皮瘤、闌尾癌、泌尿生殖癌、腎細胞癌、前列腺癌、膀胱癌、睪丸癌、陰莖癌、子宮頸癌、卵巢癌、希佩爾·林道疾病、頭頸癌、腸胃癌、肝細胞癌、膽囊癌、食道癌、胃癌、結腸直腸癌、胰臟癌、神經內分泌腫瘤、甲狀腺腫瘤、垂體腫瘤、腎上腺腫瘤、血液惡性病或白血病。

【0052】 在一個具體實例中，癌症為淋巴瘤。在一個具體實例中，淋巴瘤為 B 細胞淋巴瘤。在一個具體實例中，B 細胞淋巴瘤選自由霍奇金氏 B 細胞淋巴瘤及非霍奇金氏 B 細胞淋巴瘤組成之群。在一個具體實例中，B 細胞淋巴瘤為選自由以下組成之群的非霍奇金氏 B 細胞淋巴瘤：DLBCL、濾泡性淋巴瘤、邊緣區淋巴瘤（MZL）或黏膜相關之淋巴組織淋巴瘤（MALT）、小細胞淋巴細胞性淋巴瘤（與慢性淋巴細胞性白血病重疊）及套細胞淋巴瘤。在一個具體實例中，B 細胞淋巴瘤為選自由以下組成之群的非霍奇金氏 B 細胞淋巴瘤：伯基特淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、原發性縱隔（胸腺）大 B 細胞淋巴瘤、淋巴漿細胞淋巴瘤（可顯現為瓦爾登斯特倫巨球蛋白血症（Waldenström macroglobulinemia））、結內邊緣區 B 細胞淋巴瘤（NMZL）、脾邊緣區淋巴瘤（SMZL）、血管內大 B 細胞淋巴瘤、原發性滲出性淋巴瘤、淋巴瘤樣肉芽腫、富含 T 細胞/組織細胞之大 B 細胞淋巴瘤、原發性中樞神經系統淋巴瘤、原發性皮膚彌漫性大 B 細胞淋巴瘤、腿型（原發性皮膚 DLBCL，腿型）、老年人之 EBV 陽性彌漫性大 B 細胞淋巴瘤、與發炎相關之彌漫性大 B 細胞淋巴瘤、血管內大 B 細胞淋巴瘤、ALK 陽性大 B 細胞淋巴瘤及漿母細胞淋巴瘤。

【0053】 在一個具體實例中，癌症為選自 DLBCL、濾泡性淋巴瘤、邊緣區淋巴瘤（MZL）、CLL/SLL（慢性淋巴細胞性白血病/小淋巴細胞性淋巴瘤）及套細胞淋巴瘤之淋巴瘤。

【0054】 在一個具體實例中，該方法為用於治療有需要之個體之非霍奇金氏淋巴瘤（NHL）的治療方案。在一個具體實例中，該方法包含向該個體投予有效抑制個體癌細胞中細胞 PIKfyve 活性之每日量的阿吡莫德組成物。在一個具體實例中，阿吡莫德組成物以由以下組成之方案投予：至少 1 天投予包含阿吡莫德之組成物、接著連續至少 1 天不投予包含阿吡莫德之組成物。在一個具體實例中，投予步驟在 2 至 10 個週期或 2 至 5 個週期中進行。在一個具體實例中，週期由連續 1 至 10 天投予組成物、接著連續 1 至 5 天不投予組成物組成。在一個具體實例中，週期由連續 2 至 5 天投予組成物、接著連續 1 至 2 天不投予組成物組成。在一個具體實例中，週期由連續 5 天投予組成物、接著連續 2 天不投予組成物組成。

【0055】 在一個具體實例中，方法包含以下或由其組成：在 28 天週期中 5 天用阿吡莫德治療，接著 2 天中止治療，歷時 1 至 2 個月、1 至 3 個月、1 至 4 個月、1 至 5 個月、1 至 6 個月或 6 至 12 個月範圍內的時間段。

【0056】 根據任一此等具體實例，阿吡莫德組成物可包含阿吡莫德自由鹼或阿吡莫德二甲磺酸鹽。在一個具體實例中，NHL 為濾泡性淋巴瘤。在一個具體實例中，NHL 為套細胞淋巴瘤。在一個具體實例中，NHL 為伯基特氏淋巴瘤。在一個具體實例中，NHL 為彌漫性大 B 細胞淋巴瘤（DLBCL）、伯基特氏淋巴瘤、縱隔 B 細胞淋巴瘤或套細胞淋巴瘤。在一個具體實例中，NHL 為 DLBCL。在一個具體實例中，DLBCL 為難治性。在一

個具體實例中，難治性 DLBCL 為 DLBCL-ABC 或 DLBCL-GCB。在一個具體實例中，難治性 DLBCL 含有雙重 myc/bcl2 易位（「雙重打擊 DLBCL」）。在一個具體實例中，DLBCL 難以用標準 CHOP 治療進行治療。

組合療法

【0057】 本發明亦提供包含組合療法之方法。如本文所用，「組合療法」或「輔助療法」包括投予治療有效量之阿吡莫德組成物與至少一種其他活性劑，作為意欲自阿吡莫德組成物及其他活性劑之共同作用提供有益作用之特定治療方案的一部分。「組合療法」不意欲涵蓋作為分開單一療法方案之一部分的投予兩種或超過兩種治療化合物，其附帶且任意引起非所欲或預測之有益作用。

【0058】 在一個具體實例中，該方法為一種治療癌症之方法，其使用包含阿吡莫德組成物及用於治療癌症之化學療法方案的組合療法。在一個具體實例中，化學療法方案為 CHOP 方案。CHOP 指一般用於治療非霍奇金氏淋巴瘤之方案，其由以下活性劑組成：(C) 環磷醯胺，一種藉由結合於 DNA 且引起交聯形成來破壞 DNA 之烷基化劑；(H) 羥基道諾黴素（亦稱為小紅莓或阿德力黴素），藉由本身插入 DNA 鹼基之間而破壞 DNA 之插入劑；(O) Oncovin（長春新鹼），其藉由結合於蛋白質微管蛋白防止細胞複製；以及 (P) 潑尼松或 (P) 潑尼龍，其為皮質類固醇。在另一具體實例中，化學療法方案選自 COOP（環磷醯胺、硫酸長春新鹼、鹽酸丙卡巴肼、潑尼松）、CVP（環磷醯胺、硫酸長春新鹼、潑尼松）、EPOCH（依託泊苷、潑尼松、硫酸長春新鹼、環磷醯胺、鹽酸小紅莓）、Hyper-CVAD（環磷醯胺、硫酸長春新鹼、鹽酸小紅莓、地塞米松）、ICE（異環磷醯胺、卡鉑、依託

泊昔)、R-CHOP (利妥昔單抗、環磷醯胺、硫酸長春新鹼、鹽酸丙卡巴肼、潑尼松) 及 R-CVP (利妥昔單抗、環磷醯胺、硫酸長春新鹼、潑尼松)。

【0059】 至少一種其他活性劑可為治療劑，例如抗癌劑或癌症化學治療劑，或非治療劑以及其組合。關於治療劑，組合之有益作用包括（但不限於）由治療活性化合物之組合產生的藥物動力學或藥效學共同作用。關於非治療劑，組合之有益作用可涉及緩解毒性、副作用或與組合中之治療活性劑相關之不良事件。

【0060】 在一個具體實例中，至少一種其他藥劑為減緩阿吡莫德組成物之一或多種副作用的非治療劑，該一或多種副作用選自噁心、嘔吐、頭痛、眩暈、頭昏眼花、嗜眠及緊張中之任一者。在此具體實例之一個態樣中，非治療劑為血清素受體（亦稱為 5-羥基色胺受體或 5-HT 受體）之拮抗劑。在一個態樣中，非治療劑為 5-HT₃ 或 5-HT_{1a} 受體之拮抗劑。在一個態樣中，非治療劑選自由昂丹司瓊、格拉司瓊、多拉司瓊及帕洛諾司瓊組成之群。在另一態樣中，非治療劑選自由品多洛爾及利培酮組成之群。

【0061】 在一個具體實例中，至少一種其他活性劑為治療劑。在一個具體實例中，治療劑為抗癌劑。在一個具體實例中，抗癌劑為依魯替尼。在一個具體實例中，阿吡莫德組成物連同依魯替尼一起在單一劑型中或分開劑型中投予。在一個具體實例中，劑型為口服劑型。在另一具體實例中，劑型適合於靜脈內投予。

【0062】 在一個具體實例中，抗癌劑為批准用於治療淋巴瘤之藥物。此類藥物之非限制性實例包括艾比西特 (abiraterone) (甲胺喋呤 (methotrexate))、阿德曲斯 (adcetris) (貝倫妥單抗維多汀 (brentuximab

vedotin))、安伯氯林 (ambochlorin) (苯丁酸氮芥 (chlorambucil))、安伯洛林 (amboclorin) (苯丁酸氮芥)、阿拉儂 (arranon) (奈拉濱 (nelarabine))、貝森 (becenum) (卡莫司汀 (carmustine))、貝牛達克 (beleodaq) (貝林諾他 (belinostat))、貝林諾他、苯達莫司汀鹽酸鹽 (bendamustine hydrochloride)、百克沙 (bexxar) (托西莫單抗 (tositumomab) 及碘 I 131 托西莫單抗))、BiCNU (卡莫司汀 (carmustine))、博萊杉 (blenoxane) (博萊黴素 (bleomycin))、博萊黴素、硼替佐米 (bortezomib)、貝倫妥單抗維多汀、卡姆瑞思 (carmubris) (卡莫司汀)、卡莫司汀、苯丁酸氮芥、克拉芬 (clafen) (環磷醯胺)、環磷醯胺、癌得星 (cytoxan) (環磷醯胺)、地尼白介素迪夫托斯 (denileukin diftitox)、DepoCyt (脂質體阿糖胞苷)、鹽酸小紅莓、福樂斯 (folex) (甲胺喋呤)、弗洛汀 (folotyn) (普拉曲沙 (pralatrexate))、布突默單抗泰澤坦 (ibritumomab tiuxetan)、依魯替尼、艾德斯布 (idelalisib)、依布魯維卡 (imbruvica) (依魯替尼)、內含子 A (重組干擾素 α -2b)、伊斯達斯 (istodax) (羅米地辛 (romidepsin))、來那度胺 (lenalidomide)、瘤可寧 (leukeran) (苯丁酸氮芥)、林福利嗪 (linfolizin) (苯丁酸氮芥)、脂質體阿糖胞苷、甲氮芥鹽酸鹽、甲胺喋呤、甲胺喋呤 LPF (甲胺喋呤)、美西特 (mexate) (甲胺喋呤)、美西特-AQ (甲胺喋呤)、莫唑比 (mozobil) (派沙福 (perixafor))、木斯塔根 (mustargen) (甲氮芥鹽酸鹽)、奈拉濱 (nelarabine)、尼歐薩 (neosar) (環磷醯胺)、恩塔克 (ontak) (地尼白介素迪夫托斯)、派沙福、普拉曲沙 (pralatrexate)、潑尼松、重組干擾素 α -2b、雷利米得 (revlimid) (來那度胺)、美羅華 (rituxan) (利妥昔單抗)、利妥昔單抗、羅米地辛、托西莫單抗及碘 I 131 托西莫單抗、特瑞達 (treanda) (苯達莫司汀鹽酸鹽)、長春鹼

(velban)(硫酸長春花鹼)、萬珂(硼替佐米)、維爾薩(velsar)(硫酸長春花鹼)、硫酸長春花鹼(vinblastine sulfate)、文卡薩 PFS(vincasar PFS)(硫酸長春新鹼)、硫酸長春新鹼、伏立諾他(vorinostat)、澤娃靈(zevalin)(替伊莫單抗)、佐林紮(zolinza)(伏立諾他)及澤利格(zydelig)(艾德斯布(idelalisib))。

【0063】 在一個具體實例中，抗癌劑選自 EZH2 之抑制劑，例如 EPZ-6438。在一個具體實例中，抗癌劑選自紫杉醇、長春新鹼、小紅莓、坦羅莫司、卡鉑、奧伐木單抗、利妥昔單抗以及其組合。

【0064】 在一個具體實例中，至少一種其他藥劑為 B 細胞受體路徑抑制劑。在一些具體實例中，B 細胞受體路徑抑制劑為 CD79A 抑制劑、CD79B 抑制劑、CD19 抑制劑、Lyn 抑制劑、Syk 抑制劑、PI3K 抑制劑、Blnk 抑制劑、PLCy 抑制劑、PKCP 抑制劑或其組合。在一些具體實例中，至少一種其他藥劑為抗體、B 細胞受體信號傳導抑制劑、PI3K 抑制劑、IAP 抑制劑、mTOR 抑制劑、放射性免疫治療劑、DNA 破壞劑、蛋白酶體抑制劑、組蛋白去乙酰基酶抑制劑、蛋白激酶抑制劑、刺蝟抑制劑、Hsp90 抑制劑、端粒酶抑制劑、Jak1/2 抑制劑、蛋白酶抑制劑、PKC 抑制劑、PARP 抑制劑或其組合。

【0065】 在一個具體實例中，至少一種其他藥劑選自苯丁酸氮芥、異環磷醯胺、小紅莓、美沙拉嗪、撒利多胺、來那度胺、坦羅莫司、依維莫司、氟達拉賓、福他替尼、太平洋紫杉醇、多烯紫杉醇、奧伐木單抗、利妥昔單抗、地塞米松、潑尼松、CAL-101、布突默單抗、托西莫單抗、硼替佐米、噴司他丁、內皮生長抑素或其組合。

【0066】 在一個具體實例中，至少一種其他藥劑為單株抗體，諸如阿倫單抗（alemtuzumab）、貝伐單抗（bevacizumab）、卡托莫西單抗（catumaxomab）、西妥昔單抗（cetuximab）、依決洛單抗（edrecolomab）、吉妥珠單抗（gemtuzumab）、奧伐木單抗、帕尼單抗（panitumumab）、利妥昔單抗、曲妥珠單抗（trastuzumab）、艾庫組單抗（eculizumab）、艾法珠單抗（efalizumab）、莫羅單抗-CD3（muromab-CD3）、那他珠單抗（natalizumab）、阿達木單抗（adalimumab）、阿非莫單抗（afelimomab）、聚乙二醇化賽妥珠單抗（certolizumab pegol）、戈利木單抗（golimumab）、英利昔單抗（infliximab）、巴利昔單抗（basiliximab）、康納單抗（canakinumab）、達利珠單抗（daclizumab）、美泊利單抗（mepolizumab）、托西利單抗（tocilizumab）、優特克單抗（ustekinumab）、布突默單抗泰澤坦、托西莫單抗、阿巴伏單抗（abagovomab）、阿達木單抗、阿倫單抗、抗 CD30 單株抗體 Xmab2513、抗 MET 單株抗體 MetMab、阿泊珠單抗（apolizumab）、阿撲單抗（apomab）、阿西莫單抗（arcitumomab）、巴利昔單抗（basiliximab）、雙特異性抗體 2B1、布林莫單抗（blinatumomab）、貝倫妥單抗維多汀（brentuximab vedotin）、卡羅單抗噴地肽（capromab pendetide）、西妥木單抗（cixutumumab）、克勞迪西單抗（claudiximab）、康納木單抗（conatumumab）、達西珠單抗（dacetuzumab）、德諾單抗（denosumab）、艾庫組單抗、依帕珠單抗（epratuzumab）、鄂托默單抗（ertumaxomab）、埃達珠單抗（etaracizumab）、非吉單抗（figitumumab）、福萊索單抗（fresolimumab）、加利昔單抗（galiximab）、加尼圖單抗（ganitumab）、奧英妥珠單抗（gemtuzumab ozogamicin）、格雷巴土木單抗（glembatumumab）、布突默單抗（ibritumomab）、奧英妥珠單抗（inotuzumab）

ozogamicin)、伊派利單抗(ipilimumab)、來沙木單抗(lexatumumab)、林妥珠單抗(lintuzumab)、林妥珠單抗、魯卡木單抗(lucatumumab)、馬帕木單抗(mapatumumab)、馬妥珠單抗(matuzumab)、米拉珠單抗(milatumumab)、單株抗體 CC49、萊西單抗(necitumumab)、尼妥珠單抗(nimotuzumab)、奧伐木單抗、奧戈伏單抗(oregovomab)、帕妥珠單抗(pertuzumab)、拉瑪單抗(ramacurimab)、蘭比珠單抗(ranibizumab)、希普利珠單抗(siplizumab)、索尼普西珠單抗(sonpcizumab)、他尼珠單抗(tanezumab)、托西莫單抗、曲妥珠單抗、曲美單抗(tremelimumab)、土庫珠單抗西莫白介素(tucotuzumab celmoleukin)、維托珠單抗(veltuzumab)、維西珠單抗(visilizumab)、沃洛昔單抗(volociximab)及紮魯姆單抗(zalutumumab)。

【0067】 在組合療法之情況下，阿吡莫德組成物之投予可與一或多種其他活性劑之投予同時或依序進行。在另一具體實例中，投予組合療法之不同組分可在不同頻率下。一或多種其他藥劑可在本發明之化合物投予之前（例如 5 分鐘、15 分鐘、30 分鐘、45 分鐘、1 小時、2 小時、4 小時、6 小時、12 小時、24 小時、48 小時、72 小時、96 小時、1 週、2 週、3 週、4 週、5 週、6 週、8 週或 12 週）投予，與其同時投予，或在其之後（例如 5 分鐘、15 分鐘、30 分鐘、45 分鐘、1 小時、2 小時、4 小時、6 小時、12 小時、24 小時、48 小時、72 小時、96 小時、1 週、2 週、3 週、4 週、5 週、6 週、8 週或 12 週後）投予。

【0068】 一或多種其他活性劑可與阿吡莫德組成物一起調配成單一劑型共同投予，如本文中更詳細地描述。一或多種其他活性劑可與包含本發明之化合物的劑型分開投予。當其他活性劑與阿吡莫德組成物分開投予

時，其可藉由與阿吡莫德組成物相同或不同之投予途徑。

【0069】 較佳地，阿吡莫德組成物與一或多種其他藥劑組合投予在所治療之個體中提供協同反應。在此背景下，術語「協同」指組合比單獨單一療法之累加作用更有效之功效。根據本發明之組合療法的協同效應可允許與組合外之劑量及/或頻率相比，使用較低劑量及/或較低投予頻率的組合中之至少一種藥劑。組合之其他有益作用可顯現為避免或減少與組合中任一療法單獨使用（亦稱為單一療法）相關之有害或不必要副作用。

【0070】 「組合療法」亦包含與非藥物療法（例如手術或放射線治療）進一步組合投予本發明化合物。在組合療法進一步包含非藥物治療的情況下，非藥物治療可在任何適合之時間進行，只要治療化合物與非藥物治療之組合的協同作用達成有益效果即可。舉例而言，在適當情況下，當非藥物療法暫時自治療化合物投予中移除（可能隔數日或甚至數週）時，仍達成有益效果。

【0071】 非藥物治療可選自化學療法、放射線療法、激素療法、抗雌激素療法、基因療法及手術。舉例而言，非藥物療法為移除卵巢（例如以降低體內雌激素含量）、胸腔穿刺術（例如以自胸部移除流體）、放液穿刺術（例如以自腹部移除流體）、移除或縮小血管肌脂瘤之手術、肺移植（且視情況使用抗生素以預防由移植產生之感染）或氧療法（例如經由含有兩個小塑膠管之鼻部套管或置於兩個鼻孔中之尖頭、經由罩在鼻及嘴巴上之面部遮罩或經由經頸前部插入氣管中的小管，亦稱為經氣管氧療法）。

【0072】 在本文所述之方法之情況下，阿吡莫德組成物投予個體之量為治療有效量。術語「治療有效量」指足以治療、改善所治療之疾病或病

症之症狀、降低其嚴重程度或減少其持續時間，或增強或提高另一療法之治療作用或足夠在個體中展現可偵測之治療作用的量。在一個具體實例中，阿吡莫德組成物之治療有效量為有效抑制 PIKfyve 激酶活性之量。

【0073】 阿吡莫德組成物之有效量可在約 0.001 mg/kg 至約 1000 mg/kg、約 0.01 mg/kg 至約 100 mg/kg、約 10 mg/kg 至約 250 mg/kg、約 0.1 mg/kg 至約 15 mg/kg；或範圍下限為在 0.001 mg/kg 與 900 mg/kg 之間的任何量且範圍上限為 0.1 mg/kg 與 1000 mg/kg（例如 0.005 mg/kg 與 200 mg/kg、0.5 mg/kg 與 20 mg/kg）之間的任何量的範圍內。如熟習此項技術者所認識到，有效劑量亦將視所治療之疾病、投予途徑、賦形劑使用及與其他治療性治療共同使用（諸如使用其他藥劑）之可能性而變化。參見例如以引用的方式併入本文中之美國專利第 7,863,270 號。

【0074】 在更特定態樣中，阿吡莫德組成物以 30-1000 毫克/天（例如 30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、125、150、175、200、225、250、275 或 300 毫克/天）之給藥方案投予至少 1 週（例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、36、48 或更多週）。較佳地，阿吡莫德組成物以 100-1000 毫克/天之給藥方案投予 4 或 16 週。或者或隨後，阿吡莫德組成物以 100 mg-300 mg 一天兩次之給藥方案投予 8 週或視情況 52 週。或者或隨後，阿吡莫德組成物以 50 mg-1000 mg 一天兩次之給藥方案投予 8 週或視情況 52 週。

【0075】 阿吡莫德組成物之有效量可每日投予一次或每日投予兩次，或每日投予兩至五次，每日多達兩次或多達三次，或每日多達八次。在一個具體實例中，阿吡莫德組成物每日投予三次、每日投予兩次、每日

投予一次、3 週週期中連續投予十四天（每日四次、每日三次或每日兩次，或每日一次）及 7 天中止、3 週週期中連續投予多達五天或七天（每日四次、每日三次或每日兩次，或每日一次）及 14-16 天中止，或每兩天投予一次或一週投予一次或每 2 週投予一次或每 3 週投予一次。

【0076】 在一個具體實例中，阿吡莫德組成物以如下方案每日投予一次或兩次：在 28 天週期中 5 天投予，2 天中止，歷時 1-2 個月、1-3 個月、1-4 個月、1-5 個月、1-6 個月或 6-12 個月之時間段。

【0077】 根據本文所描述之方法，「有需要之個體」為患有疾病、病症或病狀之個體，或相對於大部分群體，具有增加之出現疾病、病症或病狀之風險的個體。有需要之個體可為對當前可用於疾病或病症，例如癌症之療法「無反應」或「難治」之個體。在此背景下，術語「無反應」及「難治」指個體對療法之反應在臨床上不足以減輕與疾病或病症相關之一或多種症狀。在本文所述之方法之一個態樣中，有需要之個體為癌症難以用標準療法治療或癌症在標準治療後復發的患有癌症之個體。

【0078】 「個體」包括哺乳動物。哺乳動物可為例如任何哺乳動物，例如人類、靈長類動物、脊椎動物、鳥、小鼠、大鼠、家禽、犬、貓、牛、馬、山羊、駱駝、羊或豬。較佳地，哺乳動物為人類。術語「患者」係指人類個體。

【0079】 本發明亦提供用於治療如本文所述之疾病、病症或病狀的單一療法。如本文所用，「單一療法」指向有需要之個體投予單一活性或治療化合物。

【0080】 如本文所用，「治療（treatment）」、「治療（treating）」或「治

療 (treat)」描述出於對抗疾病、病狀或病症之目的，對患者之管理及護理，且包括投予阿吡莫德組成物以緩解疾病、病狀或病症之症狀或併發症，或消除疾病、病狀或病症。

【0081】 如本文所用，「預防 (prevention)」、「預防 (preventing)」或「預防 (prevent)」描述減少或消除疾病、病狀或病症之症狀或併發症的發作且包括投予阿吡莫德組成物以減少疾病、病狀或病症之症狀發作、出現或復發。

【0082】 在一個具體實例中，投予阿吡莫德組成物引起所治療之疾病或病症的症狀或併發症之消除，然而消除並非所必需。在一個具體實例中，症狀嚴重程度降低。在癌症之情況下，此類症狀可包括嚴重程度或進展之臨床標記物，包括腫瘤分泌生長因子、降解細胞外基質、變得血管化、喪失對並列組織之黏著性或轉移之程度以及轉移數目。

【0083】 根據本文所描述之方法治療癌症可引起腫瘤尺寸減小。腫瘤尺寸減小亦可稱為「腫瘤消退」。較佳地，在治療後，相對於在治療前之尺寸，腫瘤尺寸減小 5%或更大；更佳地，腫瘤尺寸減小 10%或更大；更佳地，減小 20%或更大；更佳地，減小 30%或更大；更佳地，減小 40%或更大；甚至更佳地，減小 50%或更大；以及最佳地，減小超過 75%或更大。腫瘤尺寸可由任何可再現之量測方式量測。腫瘤尺寸可量測為腫瘤直徑。

【0084】 根據本文所描述之方法治療癌症可引起腫瘤體積減小。較佳地，在治療後，相對於在治療前之尺寸，腫瘤體積減小 5%或更大；更佳地，腫瘤體積減小 10%或更大；更佳地，減小 20%或更大；更佳地，減小 30%或更大；更佳地，減小 40%或更大；甚至更佳地，減小 50%或更大；以及

最佳地，減小超過 75%或更大。腫瘤體積可由任何可再現之量測方式量測。

【0085】 根據本文所描述之方法治療癌症可減少腫瘤數目。較佳地，在治療後，相對於在治療前之數目，腫瘤數目減少 5%或更大；更佳地，腫瘤數目減少 10%或更大；更佳地，減少 20%或更大；更佳地，減少 30%或更大；更佳地，減少 40%或更大；甚至更佳地，減少 50%或更大；以及最佳地，減少超過 75%。腫瘤數目可由任何可再現之量測方式量測。腫瘤數目可藉由計數裸眼或在指定放大率下可見之腫瘤來量測。較佳地，指定放大率為 2x、3x、4x、5x、10x或 50x。

【0086】 根據本文所描述之方法治療癌症可減少遠離原發性腫瘤部位之其他組織或器官中轉移性病變數目。較佳地，在治療後，相對於在治療前之數目，轉移性病變數目減少 5%或更大；更佳地，轉移性病變數目減少 10%或更大；更佳地，減少 20%或更大；更佳地，減少 30%或更大；更佳地，減少 40%或更大；甚至更佳地，減少 50%或更大；以及最佳地，減少超過 75%或更大。轉移性病變數目可由任何可再現性之量測方式量測。轉移性病變數目可藉由計數裸眼或指定放大率下可見之轉移性病變來量測。較佳地，指定放大率為 2x、3x、4x、5x、10x或 50x。

【0087】 如本文所用，術語「選擇性」意謂傾向於在一個群體中比在另一個群體中發生頻率高。比較群體可為細胞群體。較佳地，與正常細胞相比，如本文所述之阿吡莫德組成物選擇性地作用於過度增殖性細胞或異常增殖性細胞。如本文所用，「正常細胞」為無法歸類為「細胞增殖性病變」之一部分的細胞。正常細胞缺乏可引起不必要病狀或疾病出現之不受調控或異常生長或兩者。較佳地，正常細胞具有通常起作用之細胞週期檢查點

控制機制。較佳地，阿吡莫德組成物選擇性地起作用以調節一個分子目標（例如目標激酶），但不顯著地調節另一分子目標（例如非目標激酶）。本發明亦提供一種選擇性地抑制酶，諸如激酶之活性的方法。較佳地，若一事件在群體 A 中之發生頻率與群體 B 相比超過兩倍，則其相對於群體 B 選擇性地發生在群體 A 中。若與群體 B 相比，事件在群體 A 中之發生頻率超過五倍，則其選擇性地發生。若事件在群體 A 中之發生頻率超過十倍；更佳地，超過五十倍；甚至更佳地，超過 100 倍；且最佳地，群體 A 中之發生頻率超過 1000 倍，則其選擇性地發生。舉例而言，若與正常細胞相比，細胞死亡在患病或過度增殖性細胞中之發生頻率超過兩倍，則將稱為選擇性地在患病或過度增殖性細胞中發生。

醫藥組成物及調配物

【0088】 本發明提供較佳為適合用於哺乳動物、較佳人類中之醫藥學上可接受之組成物的阿吡莫德組成物。在此背景下，該組成物可進一步包含至少一種醫藥學上可接受之賦形劑或載劑，其中該量有效治療疾病或病症。在一個具體實例中，疾病或病症為癌症，較佳為淋巴瘤，且最佳為 B 細胞淋巴瘤。在一個具體實例中，疾病或病症為 mTOR 疾病或病症。

【0089】 在一個具體實例中，阿吡莫德組成物包含阿吡莫德自由鹼或阿吡莫德二甲磺酸鹽。

【0090】 在一個具體實例中，阿吡莫德組成物與至少一種其他活性劑組合成單一劑型。在一個具體實例中，組成物進一步包含抗氧化劑。

【0091】 在一個具體實例中，至少一種其他活性劑選自由以下各者組成之群：烷基化劑、插入劑、微管蛋白結合劑、皮質類固醇以及其組合。

在一個具體實例中，至少一種其他活性劑為選自由以下組成之群的治療劑：依魯替尼、利妥昔單抗、小紅莓、潑尼龍、長春新鹼、萬珂及依維莫司以及其組合。在一個具體實例中，至少一種其他活性劑為選自環磷醯胺、羥基道諾黴素（亦稱為小紅莓（doxorubicin）或 Adriamycin™）、長春新鹼（亦稱為 Oncovin™）、潑尼松、潑尼龍以及其組合之治療劑。在一個具體實例中，至少一種其他活性劑為經選擇以改善阿吡莫德組成物之一或多種副作用的非治療劑。在一個具體實例中，非治療劑選自由昂丹司瓊、格拉司瓊、多拉司瓊及帕洛諾司瓊組成之群。在一個具體實例中，非治療劑選自由品多洛爾及利培酮組成之群。

【0092】 在一個具體實例中，至少一種其他活性劑選自 mTOR 路徑抑制劑、PI3K 抑制劑、雙重 PI3K/mTOR 抑制劑、SRC 抑制劑、VEGF 抑制劑、Janus 激酶（JAK）抑制劑、Raf 抑制劑、Erk 抑制劑、法呢基轉移酶抑制劑、組蛋白去乙醯基酶抑制劑、抗有絲分裂劑、多重抗藥性流出抑制劑、抗生素及治療抗體。在一個具體實例中，至少一種其他活性劑選自法呢基轉移酶抑制劑（例如替吡法尼）、抗有絲分裂劑（例如多烯紫杉醇）、組蛋白去乙醯基酶抑制劑（例如伏立諾他）及多重抗藥性流出抑制劑。

【0093】 在一個具體實例中，抗有絲分裂劑選自灰黃黴素、長春瑞賓酒石酸鹽、太平洋紫杉醇、多烯紫杉醇、長春新鹼、長春鹼、埃坡黴素 A、埃坡黴素 B、ABT-751、CYT997（魯西比林（Lexibulin））、長春氟寧酒石酸鹽（vinflunine tartrate）、福斯比林（Fosbretabulin）、GSK461364、ON-01910（瑞戈斯替（Rigosertib））、Ro3280、BI2536、NMS-P937、BI 6727（維拉斯替（Volasertib））、HMN-214 及 MLN0905。

【0094】 在一個具體實例中，聚醚抗生素選自莫能菌素鈉（sodium monensin）、尼日利亞菌素（nigericin）、纈胺黴素（valinomycin）、鹽黴素（salinomycin）。

【0095】 「醫藥組成物」為含有本文所述之化合物的調配物，其呈適合於投予個體之醫藥學上可接受之形式。如本文所用，短語「醫藥學上可接受」指彼等化合物、物質、組成物、載劑及/或劑型在合理醫學判斷之範疇內，適用於與人類及動物之組織接觸而無過度毒性、刺激、過敏反應或其他問題或併發症，且與合理益處/風險比率相匹配。

【0096】 「醫藥學上可接受之賦形劑」意謂適用於製備通常為安全、無毒及既非生物學上亦非其他方面非所要之醫藥組成物的賦形劑且包括對於獸醫學使用以及人類醫藥使用而言為可接受之賦形劑。醫藥學上可接受之賦形劑之實例包括（但不限於）無菌液體、水、緩衝生理食鹽水、乙醇、多元醇（例如丙三醇、丙二醇、液體聚乙二醇及其類似物）、油、清潔劑、懸浮劑、碳水化合物（例如葡萄糖、乳糖、蔗糖或聚葡萄糖）、抗氧化劑（例如抗壞血酸或麩胱甘肽）、螯合劑、低分子量蛋白質或其適合混合物。

【0097】 醫藥組成物可呈散裝或單位劑型提供。就投予之容易性及劑量之均勻性而言，將醫藥組成物調配成單位劑型尤其有利。如本文所用，術語「單位劑型」指適合作為單一劑量用於待治療之個體的實體離散單位；各單位含有經計算以產生所需治療效果之預定量活性化合物，與所需醫藥載劑結合。本發明之單位劑型的規格藉由及直接視活性化合物之獨特特徵及待實現之特定治療作用而定來規定。單位劑型可為安瓿、小瓶、栓劑、糖衣藥丸、錠劑、膠囊、IV 袋或氣溶膠吸入劑上之單泵。

【0098】 在治療應用中，劑量視藥劑、接受患者之年齡、體重及臨床病狀以及投予療法之臨床醫師或執業醫生之經驗及判斷以及影響所選劑量之其他因素而變化。一般而言，劑量應為治療有效量。劑量可以單位為毫克/公斤/天之量測值提供（該劑量可針對以公斤為單位之患者體重、以平方公尺為單位之身體表面積以及以年為單位之年齡調整）。醫藥組成物之有效量為提供如臨床醫師或其他合格觀測者所述之客觀可鑑別之改善的量。例如緩解病症、疾病或病狀之症狀。如本文所用，術語「劑量有效方式」指醫藥組成物在個體或細胞中產生所需生物作用之量。

【0099】 舉例而言，單位劑型可包含 1 奈克至 2 毫克或 0.1 毫克至 2 公克；或 10 毫克至 1 公克，或 50 毫克至 500 毫克或 1 微克至 20 毫克；或 1 微克至 10 毫克；或 0.1 毫克至 2 毫克。

【0100】 在一個具體實例中，單位劑型包含 25、50、75、100、200 或 300 毫克活性藥物成分，例如阿吡莫德自由鹼或阿吡莫德二甲磺酸鹽。在一個具體實例中，單位劑型為用於經口傳遞之錠劑或膠囊形式。

【0101】 醫藥組成物可採用藉由任何所需途徑（例如肺部、吸入、鼻內、經口、經頰、舌下、非經腸、皮下、靜脈內、肌肉內、腹膜內、胸膜內、鞘內、經皮、經黏膜、直腸及其類似途徑）投予的任何適合之形式（例如液體、氣溶膠、溶液、吸入劑、噴霧、噴霧劑；或固體、散劑、軟膏、糊劑、乳膏、洗劑、凝膠、貼片及其類似物）。舉例而言，本發明之醫藥組成物可呈水溶液或粉末形式用於藉由吸入或吹入（經由嘴巴或鼻）進行氣溶膠投予，呈錠劑或膠囊形式用於經口投予；呈適合於藉由直接注射或藉由添加至用於靜脈內輸注之無菌輸注液進行投予的無菌水溶液或分散液形

式；或呈洗劑、乳膏、泡沫、膜片、懸浮液、溶液或栓劑形式用於經皮或經黏膜投予。

【0102】 醫藥組成物可呈經口可接受之劑型形式，包括（但不限於）膠囊、錠劑、經頰形式、糖衣錠、口含錠及呈乳液、水性懸浮液、分散液或溶液形式之經口液體。膠囊可含有本發明之化合物與惰性填充劑及/或稀釋劑之混合物，該等惰性填充劑及/或稀釋劑為諸如醫藥學上可接受之澱粉（例如玉米、馬鈴薯或木薯澱粉）、糖、人工甜味劑、粉末狀纖維素（諸如結晶及微晶纖維素）、麵粉、明膠、樹膠等。在用於經口使用之錠劑之情況下，常用載劑包括乳糖及玉米澱粉。亦可添加諸如硬脂酸鎂之潤滑劑。對以膠囊形式經口投予而言，適用之稀釋劑包括乳糖及乾燥玉米澱粉。當水性懸浮液及/或乳液經口投予時，本發明之化合物可懸浮或溶解於油相中，與乳化劑及/或懸浮劑組合。必要時，亦可添加某些甜味劑及/或調味劑及/或著色劑。

【0103】 醫藥組成物可呈錠劑形式。錠劑可包含單位劑量之本發明之化合物連同惰性稀釋劑或載劑，諸如糖或糖醇，例如乳糖、蔗糖、山梨糖醇或甘露糖醇。錠劑可進一步包含非糖來源之稀釋劑，諸如碳酸鈉、磷酸鈣、碳酸鈣；或纖維素或其衍生物，諸如甲基纖維素、乙基纖維素、羥丙基甲基纖維素；及澱粉，諸如玉米澱粉。錠劑可進一步包含結合劑及成粒劑，諸如聚乙烯吡咯啉酮、崩解劑（例如可膨脹交聯聚合物，諸如交聯羧基甲基纖維素）、潤滑劑（例如硬脂酸酯）、防腐劑（例如對羥苯甲酸酯）、抗氧化劑（例如 BHT）、緩衝劑（例如磷酸鹽或檸檬酸鹽緩衝液）及發泡劑（諸如檸檬酸鹽/碳酸氫鹽混合物）。

【0104】 錠劑可為包衣錠劑。包衣可為保護膜包衣（例如蠟或清漆）或經設計以控制活性劑釋放之包衣，例如延遲釋放（在服用後的預定滯後時間之後釋放活性劑）或在胃腸道中特定位置釋放。後者可例如使用腸膜包衣，諸如以品牌名稱 Eudragit®出售之腸膜包衣實現。

【0105】 錠劑調配物可藉由習知壓縮、濕式造粒或乾式造粒方法製備且利用醫藥學上可接受之稀釋劑、結合劑、潤滑劑、崩解劑、表面改質劑（包括界面活性劑）、懸浮或穩定劑，包括（但不限於）硬脂酸鎂、硬脂酸、滑石、月桂基硫酸鈉、微晶纖維素、羧基甲基纖維素鈣、聚乙烯吡咯啉酮、明膠、褐藻酸、阿拉伯膠、黃原膠、檸檬酸鈉、複合矽酸鹽、碳酸鈣、甘胺酸、糊精、蔗糖、山梨糖醇、磷酸二鈣、硫酸鈣、乳糖、高嶺土、甘露糖醇、氯化鈉、滑石、乾澱粉及糖粉。較佳表面改質劑包括非離子及陰離子型表面改質劑。表面改質劑之代表性實例包括（但不限於）泊洛沙姆 188、氯化苯甲烴銨、硬脂酸鈣、鯨蠟硬脂醇、聚西托醇乳化蠟、脫水山梨糖醇酯、膠態二氧化矽、磷酸鹽、十二烷基硫酸鈉、矽酸鎂鋁及三乙醇胺。

【0106】 醫藥組成物可呈硬或軟明膠膠囊形式。根據此調配物，本發明之化合物可呈固體、半固體或液體形式。

【0107】 醫藥組成物可呈適合於非經腸投予之無菌水溶液或分散液形式。如本文所用，術語非經腸包括皮下、皮內、靜脈內、肌肉內、關節內、動脈內、滑膜內、胸骨內、鞘內、病灶內及顱內注射或輸注技術。

【0108】 醫藥組成物可呈適合於藉由直接注射或藉由添加至用於靜脈內輸注之無菌輸注液投予的無菌水溶液或分散液形式，且包含含有水、乙醇、多元醇（例如丙三醇、丙二醇及液體聚乙二醇）、其適合混合物或一

或多種植物油之溶劑或分散介質。呈自由鹼或藥理學上可接受之鹽形式的本發明化合物之溶液或懸浮液可於水中適當與界面活性劑混合來製備。以下給出適合界面活性劑之實例。分散液亦可例如於丙三醇、液體聚乙二醇及其於油中之混合物中製備。

【0109】 除存在於調配物中之任何載劑或稀釋劑(諸如乳糖或甘露糖醇)之外,用於本發明之方法的醫藥組成物可進一步包含一或多種添加劑。該一或多種添加劑可包含一或多種界面活性劑或由一或多種界面活性劑組成。界面活性劑典型地具有一或多個長脂族鏈,諸如能夠直接插入細胞脂質結構中以增強藥物滲透及吸收之脂肪酸。常用於表徵界面活性劑之相對親水性及疏水性的實驗參數為親水性親脂性平衡(「HLB」值)。具有較低 HLB 值之界面活性劑更具疏水性,且在油中具有更大溶解性,而具有較高 HLB 值之界面活性劑更具親水性,且在水溶液中具有更大溶解性。因此,一般認為親水性界面活性劑為 HLB 值超過約 10 之彼等化合物,且疏水性界面活性劑一般為 HLB 值小於約 10 之界面活性劑。然而,此等 HLB 值僅僅為指導,因為對於許多界面活性劑,HLB 值可相差多達約 8 個 HLB 單位,視選擇用來測定 HLB 值之實驗方法而定。

【0110】 在用於本發明之組成物中的界面活性劑中,為聚乙二醇(PEG)-脂肪酸及 PEG-脂肪酸單酯及二酯、PEG 丙三醇酯、醇-油酯基轉移產物、聚甘油基脂肪酸、丙二醇脂肪酸酯、固醇及固醇衍生物、聚乙二醇脫水山梨糖醇脂肪酸酯、聚乙二醇烷基醚、糖及其衍生物、聚乙二醇烷基酚、聚氧化乙烯-聚氧化丙烯(POE-POP)嵌段共聚物、脫水山梨糖醇脂肪酸酯、離子界面活性劑、脂溶性維生素及其鹽、水溶性維生素及其兩性衍

生物、胺基酸及其鹽以及有機酸及其酯及酸酐。

【0111】 本發明亦提供包含醫藥組成物之包裝及套組，其用於本發明之方法。套組可包含一或多種選自由以下組成之群的容器：瓶、小瓶、安瓿、泡殼包裝及注射器。套組可進一步包括治療及/或預防本發明之疾病、病狀或病症之使用說明書、一或多個注射器、一或多個塗藥器或適合於復原本發明之醫藥組成物之無菌溶液中之一或多者。

【0112】 除非另外指明，否則本文所用之所有百分比及比率均以重量計。本發明之其他特徵及優點自不同實施例顯而易見。所提供之實施例說明適用於實施本發明之不同組分及方法。該等實施例不限制所主張之發明。基於本發明，熟習此項技術者可識別且採用適用於實施本發明之其他組分及方法。

實施例

實施例 1：阿吡莫德為癌細胞中高度選擇性細胞毒性劑

【0113】 在高通量細胞存活篩選中，使用特徵為 mTOR 信號傳導活性組成性升高之 TSC2-/-小鼠胚胎纖維母細胞（TSC2-/- MEF）細胞鑑別阿吡莫德。簡言之，將測試化合物（5 μ l 儲備溶液，6 x 所需最終孔濃度）分配至 384 孔分析盤，將 TSC2-/- MEF 細胞（25 μ L 培養基中 1000 細胞/孔）添加至盤中且盤在含濕氣培育箱中在 5% CO₂ 氛圍下在 37°C 下培育 72 小時（3 天），歷時 3 天。細胞存活率利用 CellTiter-Glo®發光分析（Promega）根據製造商說明書測定。存活率表示為未經處理之對照細胞之百分比。作為一個實例，對於阿吡莫德，MEF-EV 細胞存活率（平均值 $\pm$ 標準偏差，n=3）為 0.5 μ M 下 2.16 $\pm$ 0.36%及 5 μ M 下 1.94 $\pm$ 0.07%。在 10 點劑量-反應曲線

中，對於所測試之 TSC2-/- MEF 細胞，阿吡莫德以 19.5 nM 之 IC_{50} 抑制細胞存活（圖 1）。接著在包括 B 細胞淋巴瘤（SUDHL-10）、神經膠質瘤（H4）及結腸直腸癌（HCT116）之其他癌細胞系上以及在來源於脾臟、肺及結腸之非癌症（正常）細胞系上測試阿吡莫德。在此等細胞存活分析中，阿吡莫德為一種相對於非癌症（正常）細胞（如其高得多之 IC_{50} 值證實，範圍比癌細胞 IC_{50} 值高 20 至 200 倍），在癌細胞中具有高度選擇性之細胞存活抑制劑。此等結果展示於圖 1B 中。

【0114】 在 3 天 CellTiterGlo™ 分析中，使用代表 24 種腫瘤類型之 122 種人類癌細胞系進一步評估阿吡莫德之細胞毒活性。在此 3 天分析中，若 IC_{50} 小於 500 nM，則稱細胞系為阿吡莫德敏感性。在此分析中 35 種細胞系鑑別為對阿吡莫德誘發之細胞毒性敏感。阿吡莫德敏感性細胞包括來源於包括非霍奇金氏淋巴瘤、霍奇金氏淋巴瘤、結腸直腸癌及肺癌之若干不同癌症的細胞。測試細胞系中最敏感細胞系為非霍奇金氏淋巴瘤（NHL）。剛超過 50% 測試之 NHL 細胞系對阿吡莫德敏感性，且 NHL 某些亞型對阿吡莫德極其敏感， IC_{50} 值小於 100 nM（與篩選中敏感/不敏感之截止值 500 nM 相比）。此等包括人類伯基特氏淋巴瘤（ST486）、人類套細胞淋巴瘤（JeKo-1）及人類 DLBCL（SUDHL-4， IC_{50} =50 nM）。唯一在此分析中不敏感之 NHL 亞型為濾泡性。DLBCL-GCB 與 DLBCL-ABC 亞型均為阿吡莫德敏感性，表明阿吡莫德可有效針對許多 NHL 癌症，包括常常難以用標準治療進行治療的更具侵襲性之亞型。

【0115】 NHL 表示嚴重程度變化之一群不同造血性惡性病，亞型在緩慢生長至侵襲性之範圍內。NHL 亞型包括彌漫性大 B 細胞淋巴瘤

(DLBCL)、伯基特氏淋巴瘤、套細胞淋巴瘤及濾泡性 B 細胞淋巴瘤。基於基因表現及來源細胞，DLBCL 劃分成兩個亞型，GCB 及 ABC。GCB 為生髮中心 B 細胞類型，由正常生髮中心 B 細胞產生，且 ABC 為活化 B 細胞類型，由分化成漿細胞之過程中後生髮中心 B 細胞產生。

【0116】 接著在更長細胞存活分析中測試阿吡莫德，且在 3 天、5 天及 7 天內比較測試之細胞敏感性。所有細胞系之敏感性隨暴露於阿吡莫德之時間增加而增加，7 天暴露之 IC_{50} 小於 125 nM。對於 HCT116 結腸直腸癌細胞，此例示在圖 2A 中。在 7 天分析中不同 NHL 亞型亦各展示對阿吡莫德增加之敏感性 ($IC_{50} < 125$ nM) (圖 2B)。且所有 NHL 亞型在此分析中為敏感性的，包括套細胞、濾泡性、伯基特氏、DLBCL-ABC、DLBCL-GCB 及雙重打擊 DLBCL。特別地，表示侵襲性淋巴瘤之所有細胞系均具敏感性，包括具有雙重 myc/bcl2 易位之細胞系 (「雙重打擊 DLBCL」) 以及套細胞淋巴瘤。總體而言，72% 測試之 32 種 NHL 細胞系對阿吡莫德具有敏感性，與非癌症 (正常) 細胞之 15.8 微莫耳 (μM) 相比，平均 IC_{50} 值為 69 nM。

實施例 2：阿吡莫德與 CHOP 組分協同作用

【0117】 如上文所論述，NHL 細胞證實在癌細胞系篩選中對阿吡莫德之特定敏感性。DLBCL 為最常見 NHL 類型，在西方國家中佔淋巴瘤 30%-40%。DLBCL 為成熟 B 細胞之侵襲性贅瘤。所有 DLBCL 患者中大約 40% 在第一線治療之後復發。許多難治性 DLBCL-GCB 癌症展現 MYC 及 BCL2 之單個及雙重易位。具有此等基因變異體之患者至少部分因 MYC 及 BCL2 過度表現而往往具有較不良預後。特別地，阿吡莫德甚至在顯示此等易位之 DLBCL-GCB 細胞系中亦有效 (表 2)，證實單獨、作為單一療法或

與標準治療組合之阿吡莫德在治療甚至 NHL 侵襲性亞型中之作用。

表 2. B 細胞淋巴瘤細胞系之 Bcl-2 及 c-myc 易位狀態及其對阿吡莫德之
敏感性。ND=無資料

編號	B 細胞淋巴瘤模型	細胞系	IC ₅₀ (nM)	Bcl-2	C-myc
7	人類 DLBCL-GCB	SUDHL-4	25	是	是
8	人類 DLBCL-GCB	SUDHL-6	80	是	否
9	人類 DLBCL-GCB	DB	150	否	否
10	人類 DLBCL-GCB	Toledo	270	ND	ND
11	人類 DLBCL-GCB	SUDHL-10	20	是	是
12	人類 DLBCL-GCB	WSU-DLCL2	160	是	否
13	人類 DLBCL-GCB	OCI-Ly19	380	是	否
20	人類 DLBCL-GCB	HT	642	ND	ND
21	人類 DLBCL-GCB	Pfeiffer	2,620	ND	ND

【0118】 當在試管內針對其他對 NHL 具有活性之臨床藥劑測試時，
阿吡莫德證明為測試之最有效藥物之一（表 3）。

表 3：在三天分析中比較阿吡莫德及各種化學療法藥物之 IC₅₀ 值

藥物	細胞目標	IC ₅₀ (nM) SU-DHL-4	IC ₅₀ (nM) WSU-DLCL2
阿吡莫德	PIKfyve	23	54
依魯替尼	BTk	718	747
艾德斯布	PI3Kd	2,034	6,154
EPZ-6438	EZH2	>20,000	>10,000
ABT-199	BCL-2	212	3,371
杜維力絲 (duvelisib)	PI3K γ/δ	13	863
KPT-330	XPO1	93	165

【0119】 為進一步評估阿吡莫德針對侵襲性 NHL 腫瘤之效力，測試
阿吡莫德與構成許多此類癌症之標準第一線治療之許多化學治療劑中的任
一者協同起作用之能力。此等化學治療劑包括例如環磷醯胺、小紅莓、長
春新鹼及潑尼松（稱為「CHOP」化學療法方案）以及化學治療劑萬珂（指
示其用於復發性套細胞淋巴瘤）。

【0120】 對於協同作用研究，使用以下 DLBCL-GCB 細胞系：

WSU-DLCL2、SUDHL-4 及 SUDHL-6。將細胞在 96 孔盤中以其最佳密度接種。細胞用單獨或與阿吡莫德組合之各藥劑處理。在使用 CellTiterGlo® (Promega) 評估增殖前將細胞處理 72 小時 (3 天)。為計算協同作用，使用 CalcuSyn(2.11 版, Biosoft) 確定組合指數(CI)，如 Chou 等人, *Adv. Enzyme. Regul.* (1984) 22:27-55 所定義。因此，CI 值>1 之藥物組合定義為拮抗，CI=1 之藥物組合定義為累加，且 CI<1 之藥物組合定義為協同。

【0121】 如表 4 中所示，阿吡莫德證實在全部三種細胞系中與所有測試藥劑（環磷醯胺、小紅莓、潑尼龍、長春新鹼及萬珂）之協同活性。此等結果證實與阿吡莫德之組合療法表示有望解決對有益於在標準化學療法方案之後復發或難以用標準化學療法方案治療之患者的治療未滿足之醫學需求的新方法。

表 4

組合治療		WSU-DLCL2	SU-DHL-4	SU-DHL-6
護理標準	環磷醯胺 (馬磷醯胺) +阿吡莫德	協同 Apili 62.5 nM /Maf 625 nM Fa = 0.82 ; Cl = 0.7	協同 Apili 125 nM /Maf 1250 nM Fa = 0.82 ; Cl = 0.7	協同 Apili 125 nM /Maf 1250 nM Fa = 0.77 ; Cl = 0.5
	小紅莓+阿吡莫德	協同 Apili 62.5 nM / Dox 25 nM Fa = 0.99 ; Cl = 0.4	協同 Apili 500 nM / Dox 200 nM Fa = 0.88 ; Cl = 0.9	協同 Apili 250 nM / Dox 100 nM Fa = 0.86 ; Cl = 0.1
	潑尼龍+阿吡莫德	協同 Apili 15.6 nM / Pred 156 nM Fa = 0.97 ; Cl = 0.3	協同 Apili 125 nM / Pred 625 nM Fa = 0.85 ; Cl = 0.5	協同 Apili 250 nM / Pred 556 nM Fa = 0.85 ; Cl = 0.2
	長春新鹼+阿吡莫德	協同 Apili 31.3 nM / Vin 0.3 nM Fa = 0.97 ; Cl = 0.2	協同 Apili 37 nM / Vin 1.25 nM Fa = 0.85 ; Cl = 0.4	協同 Apili 37 nM / Vin 1.25 nM Fa = 0.85 ; Cl = 0.4
其他療法	萬珂+阿吡莫德	協同 Apili 250 nM / Vel 5 nM Fa = 0.99 ; Cl = 0.3	協同 Apili 37 nM / Vel 2.5 nM Fa = 0.98 ; Cl = 0.2	協同 Vel 2.5 Maf 625 nM Fa = 0.98 ; Cl = 0.3

DLBCL-GCB 細胞系中阿吡莫德與 CHOP、萬珂或依維莫司之個別組分之藥物組合作用的概述。展示阿吡莫德 (Apli) 與任一 CHOP (環磷醯胺 (馬磷醯胺、20) =Maf; 小紅莓=Dox; 長春新鹼=Vin; 潑尼龍=Pred) 組分或萬珂 (Vel) 組合以產生分數作用 (Fa) 之濃度。組合指數 (CI) 用於確定組合作用, 其中 $CI > 1$ 為拮抗, $CI = 1$ 為累加, 且 $CI < 1$ 為協同, 其中 $Fa > 0.75$ 。

實例 3：阿吡莫德與依魯替尼之間的協同活性

【0122】 依魯替尼為以 B 細胞惡性病為目標之 FDA 批准藥物且指示用於治療套細胞淋巴瘤及慢性淋巴細胞性白血病之單一療法。其亦稱為 PCI-32765 且以商標 Imbruvica™ 出售。依魯替尼為酶布魯東氏酪胺酸激酶 (BTK) 之選擇性及共價抑制劑。BTK 為在細胞凋亡、細胞黏附及細胞遷移及歸巢之平行調節中出現的至少三個關鍵 B 細胞促存活機制之關鍵介體。阿吡莫德與依魯替尼之協同活性進一步表明阿吡莫德為有望用於與其他化學療法藥劑、尤其以 B 細胞淋巴瘤為目標之藥劑形成組合療法的藥劑。與單獨依魯替尼或阿吡莫德相比, 在阿吡莫德存在下依魯替尼顯著減小 SUDHL-4 細胞存活率。參見圖 3。此結果在兩個測試之其他細胞系 -WSU-DLCL2 及 SUDHL-6 中得到證實。

實例 4：活體內阿吡莫德對 DLBCL 腫瘤之抗腫瘤活性

【0123】 接著測試單獨及與依魯替尼組合之阿吡莫德抑制活體內腫瘤生長之能力。如下所述, 單獨阿吡莫德顯著減小腫瘤生長且阿吡莫德與依魯替尼之組合提供比任一單獨藥劑更大的生長抑制。

【0124】 該研究目標為臨床前評估單獨及與依魯替尼組合之阿吡莫德治療皮下 SUDHL-6 人類 DLBCL 癌症異種移植模型之活體內治療功效。

【0125】 在該研究之第一臂中，測試單獨阿吡莫德。SUDHL-6 細胞系維持於補充有 10%胎牛血清及 L-麩醯胺酸（2 mM）之 RPMI-1640 培養基中 5% CO₂之氛圍中 37℃ 下。腫瘤細胞每週兩次繼代培養且在指數生長期間收穫用於腫瘤接種。NOD-SCID 小鼠在接種前進行 γ 照射 24 小時。各小鼠在右側腰窩中皮下接種 0.1 ml 具有基質膠之 PBS（1:1）中 SU-DHL-6 腫瘤細胞（5×10⁶）。接著腫瘤生長至大約 80-120 mm³之平均尺寸，且接著小鼠分成 5 組且如表 5 中所詳述進行處理。

表 5：DLBCL 腫瘤之異種移植模型

組	處理	劑量	給藥時程	投予途徑	小鼠數目
1	媒劑（生理食鹽水）	-	QD×5 -2 天中止-QD×5	靜脈內	6
2	阿吡莫德二甲磺酸鹽	67.5 mg/kg (47mg/kg 自由鹼)	QD×5 -2 天中止-QD×5	靜脈內	6
3	0.5% 甲基纖維素	-	BID×5 -2 天中止-BID×5	經口	6
4	阿吡莫德自由鹼	75mg/kg	BID×5 -2 天中止-BID×5	經口	6
5	阿吡莫德自由鹼	150mg/kg	QD×5 -2 天中止-BID×5	經口	6

【0126】 使用測徑規在二維中一週兩次量測腫瘤尺寸，且以 mm³ 為單位，使用公式： $V = 0.5 \times a \times b^2$ 表示體積，其中 a 及 b 分別為腫瘤之長徑及短徑。對小鼠監測 29 天且在所有阿吡莫德處理臂中觀測到顯著生長抑制。靜脈內投予減小腫瘤尺寸達 58%（47 mg/kg）且經口給藥減小生長達 68%（150 mg/kg 分次劑量）或達 64%（150 mg/kg 單劑量），對體重作用可忽略（參見圖 4）。因此，阿吡莫德之靜脈內及經口投予顯示活體內削弱 SU-DHL-6 腫瘤之生長的類似功效。

【0127】 該研究之第二臂使用如上所述之相同方案，在相同 SUDHL-6 人類 DLBCL 癌症異種移植模型中評估阿吡莫德與依魯替尼組合時

之功效。各小鼠在右側腰窩中皮下接種 0.1 ml 具有基質膠之 PBS (1:1) 中 SU-DHL-6 腫瘤細胞 (5×10^6)。接著腫瘤生長至大約 80-120 mm³ 之平均尺寸，且接著小鼠分成 6 組且如表 6 中所詳述進行處理。

表 6：SUDHL-6 細胞系異種移植實驗

組	處理	劑量	給藥時程	投予途徑	小鼠數目
1	媒劑	NA	QDx5-2 天中止 -QDx5	經口+ 靜脈內	6
2	阿吡莫德自由鹼	75 mg/kg	QDx5-2 天中止 -QDx5	經口	6
3	依魯替尼	10 mg/kg	QDx12	靜脈內	6
4	依魯替尼	20 mg/kg	QDx12	靜脈內	6
5	阿吡莫德自由鹼+ 依魯替尼	75 mg/kg + 10 mg/kg	QDx5-2 天中止 -QDx5 + QDx12	經口+靜脈內	6
6	阿吡莫德自由鹼+ 依魯替尼	75 mg/kg + 20 mg/kg	QDx5-2 天中止 -QDx5 + QDx12	經口+靜脈內	6

【0128】 使用測徑規在二維中一週兩次量測腫瘤尺寸，且以 mm³ 為單位，使用公式： $V = 0.5 \times a \times b^2$ 表示體積，其中 a 及 b 分別為腫瘤之長徑及短徑。對小鼠監測 31 天且在 75 mg/kg 阿吡莫德 (57%)、10 mg/kg 依魯替尼 (54%) 及 20 mg/kg 依魯替尼 (64%) 處理臂中觀測到顯著生長抑制。75 mg/kg 阿吡莫德與依魯替尼之組合進一步以劑量依賴性方式減小腫瘤生長；10 mg/kg 依魯替尼 (65%) 及 20 mg/kg 依魯替尼 (70%) (參見圖 5)。

實例 5：阿吡莫德為 PIKfyve 激酶之高度選擇性結合劑

【0129】 為鑑別癌細胞中阿吡莫德之細胞目標，由人類神經膠質瘤細胞製備之全細胞溶解產物用於使用化學捕捉質譜分析 (CCMS) 鑑別其結合搭配物。此工作在 Caprotec Bioanalytics 公司 (Berlin Germany) 進行。參見 Michaelis 等人, *J. Med. Chem.*, 55 3934-44 (2012) 及其中所引用之參考文獻。簡

言之，合成採用阿吡莫德作為以單一取向附接之選擇性官能基之兩種捕捉化合物變異體且藉由 LC-MS 及 1H-NMR 分析以確保一致性及純度。在全細胞溶解產物中捕捉條件最佳化，例如蛋白質與捕捉化合物之非特定相互作用最小化、獲得蛋白質及捕捉化合物之最大結合的試劑及蛋白質之濃度等。一種捕捉化合物經選擇以鑑別使用阿吡莫德作為競爭配位體之 CCMS 實驗中特定蛋白質結合劑。藉由捕捉分析中 LC-S 偵測且在競爭對照實驗中顯著減弱之蛋白質視為特定結合劑。此等特定結合劑進一步經受嚴格資料分析準則以在無偏性資料評估之後確定特異性。特定蛋白質結合劑根據其在捕捉實驗中之改變倍數（FC）值分級。僅僅兩種蛋白質鑑別為阿吡莫德之高概率候選目標蛋白質：PIKfyve 及 Vac14。四個不同捕捉化合物濃度實驗中此等蛋白質之 FC 及 p 值展示於表 7 中。

表 7.

		捕捉化合物濃度			
		0.1 μM	0.5 μM	1.0 μM	2.0 μM
PIKfyve	log (FC) 2	6.3	6.2	4.1	4.3
	-log (p 值) 10	3.7	2.8	5.1	3.9
Vac14	log (FC) 2	6.2	5.6	Inf.	3.9
	-log (p 值) 10	3.9	3.8	1.9	3.6

【0130】 在另一研究中，進行阿吡莫德之蛋白激酶特徵分析以鑑別激酶目標(DiscoveRx, Fremont, CA)。解離常數(K_d)研究使用遞增濃度(0.05-3000 nM)之阿吡莫德針對 PIKfyve（阿吡莫德之一種已知目標）進行。實驗一式兩份地進行且測得 K_d 為 0.075 nM（範圍 0.069-0.081 nM）（圖 6）。

【0131】 隨後，阿吡莫德針對全面激酶圖（不包括 PIKfyve）進行篩

選。整個地，分析包括疾病相關激酶之 456 種激酶結合阿吡莫德之能力。阿吡莫德之篩選濃度為 $1\ \mu\text{M}$ ，濃度超過阿吡莫德針對 PIKfyve 之 K_d 的 10,000 倍。篩選結果展示阿吡莫德未結合於 456 種測試之激酶任一者。

【0132】 總之，此等結果證實阿吡莫德在癌細胞中以高選擇性結合單一細胞激酶 PIKfyve。PIKfyve 為結合於 PI(3)P 且催化脂質第二信使 PI(3,5)P₂ 及 PI(5)P 之形成的酶，且他人已展示阿吡莫德亦為正常細胞中此激酶 PIKfyve 之有效及特定抑制劑。Cai X 等人, *Chem Biol.* 2013 年 7 月 25 日;20(7):912-21。如以下更詳細論述，為瞭解阿吡莫德針對癌細胞之選擇性細胞毒性的機制，進行一系列旨在闡明其在癌細胞中之生物活性的實驗。

實例 6：阿吡莫德之抗癌活性之機制

【0133】 已知阿吡莫德為發炎性細胞因子 IL-12 及 IL-23 之有效抑制劑。在指示阿吡莫德用於治療疾病或病症之程度上，關於此活性預測其。雖然阿吡莫德之臨床測試集中於其在自體免疫及發炎疾病，諸如牛皮癬、類風濕性關節炎及克羅恩氏病中之潛在功效，但幾個公開提議提出阿吡莫德適用於對抗癌症，且特別對抗其中 c-rel 或 IL-12/23 充當促增生因子之癌症。分別參見例如 WO 2006/128129 及 Baird 等人, *Frontiers in Oncology* 3:1 (2013)。意外地，且與對阿吡莫德之 IL-12/23 抑制活性預測之此等期望相反，發現測試細胞系中 c-Rel 表現（c-Rel 為 IL-12/23 基因之轉錄因子）、IL-12 或 IL-23 表現任一者與對阿吡莫德之敏感性之間無相關性。簡言之，針對獲得針對阿吡莫德之劑量反應曲線的 22 種 B 細胞淋巴瘤細胞系，分析來自癌細胞系百科全書（Cancer Cell Line Encyclopedia, CCLE）之基因表現資料（參見表 8）。

表 8.針對基因表現及對阿吡莫德之反應分析的 22 種 B 細胞淋巴瘤細胞系。指出愛潑斯坦巴爾狀態（Epstein Barr status）及核 cREL 狀態。ND=無資料

編號	B 細胞淋巴瘤模型	細胞系	IC50 (nM)	EBV	核 REL
1	人類伯基特氏淋巴瘤	ST486	25	No	ND
2	人類伯基特氏淋巴瘤	Daudi	200	Yes	Yes
3	人類伯基特氏淋巴瘤	EB1	174	Yes	ND
4	人類伯基特氏淋巴瘤	GA-10	382	No	ND
5	人類套細胞淋巴瘤	Rec-1	300	No	ND
6	人類套細胞淋巴瘤	JeKo-1	70	No	ND
7	人類瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤-GCB	SUDHL-4	25	No	Yes
8	人類瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤-GCB	SUDHL-6	80	No	ND
9	人類瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤-GCB	DB	150	No	ND
10	人類瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤-GCB	Toledo	270	No	ND
11	人類瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤-GCB	SUDHL-10	20	No	ND
12	人類瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤-GCB	WSU-DLCL2	160	No	ND
13	人類瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤-GCB	OCI-Ly19	380	Yes	ND
14	人類伯基特氏淋巴瘤	Namalwa	600	Yes	ND
15	人類伯基特氏淋巴瘤	CA46	>10,000	No	ND
16	人類伯基特氏淋巴瘤	Raji	>10,000	Yes	Yes
17	人類套細胞淋巴瘤	GRANTA-519	>10,000	Yes	ND
18	人類濾泡性 B 細胞淋巴瘤	RL	>10,000	ND	ND
19	人類濾泡性淋巴瘤- DLBCL-GCB	DOHH-2	700	No	ND
20	人類瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤-GCB	HT	642	No	ND
21	人類瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤-GCB	Pfeiffer	2,620	ND	ND
22	人類瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤-GCB	KARPAS-422	>10,000	No	ND

【0134】 藉由未配對 t-檢驗，在敏感性（IC₅₀ 小於 500 nM）及不敏感（IC₅₀ 超過 500 nM）細胞系中比較 c-REL 之表現。在 c-REL 表現與敏感性之間未發現統計學上顯著之關係（p=0.97）。此外，在資料已公開之細胞系中對阿吡莫德之敏感性與存在組成性核 c-REL 或感染愛潑斯坦-巴爾二氏病毒之間未偵測到顯著關係。測試細胞系包括以下阿吡莫德敏感性（#1-13）及不敏感（#14-22）B 細胞淋巴瘤細胞系：人類伯基特氏淋巴瘤細胞系 1-4（ST486、Daudi、EB1、GA-10）、人類套細胞淋巴瘤 5-6（Rec-1、JeKo-1）、人類瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤-GCB 7-13（SUDHL-4、SUDHL-6、DB、Toledo、SUDHL-10、WSU-DLCL2、Ocl-Ly19）、人類伯基特氏淋巴瘤 14-16（Namalwa、

CA46、Raji)、人類套細胞淋巴瘤 17 (GRANTA-519)) 人類濾泡性 B 細胞淋巴瘤 18 (RL)、人類濾泡性淋巴瘤-DLBCL-GCB 19 (DOHH-2)、人類彌漫性大 B 細胞淋巴瘤-GCB (HT、Pfeiffer、KARPAS-422)。

【0135】 在包括以上提及之 22 種淋巴瘤細胞系之 75 種癌細胞系之不同群中進一步分析 IL-12A、IL-12RB1、IL-12RB2、IL-12B、IL-23A 及 IL-23R 之表現 (參見表 9)。

表 9.各種癌細胞系

編號	癌症模型	細胞系	IC50 (nM)
1	人類伯基特氏淋巴瘤	ST486	25
2	人類套細胞淋巴瘤	JeKo-1	70
3	人類彌漫性大 B 細胞淋巴瘤-GCB	SUDHL-4	25
4	人類彌漫性大 B 細胞淋巴瘤-GCB	SUDHL-6	80
5	人類伯基特氏淋巴瘤	Daudi	200
6	人類組織細胞淋巴瘤	U937	106
7	人類肺癌瘤	A549	110
8	人類結腸直腸癌	HCT116	125
9	人類 B 細胞淋巴瘤	DB	150
10	人類彌漫性大 B 細胞淋巴瘤-GCB	WSU-DLCL2	160
11	人類結腸直腸	HCT-15	200
12	人類結腸直腸	SW480	90
13	人類結腸直腸	COLO-205	380
14	人類結腸直腸	SW620	90
15	人類 T 細胞白血病	Jurkat	200
16	人類神經膠質瘤	H4	250
17	人類彌漫性大 B 細胞淋巴瘤-GCB	Toledo	270
18	人類 B 細胞非霍奇金氏淋巴瘤	Rec-1	300
19	人類霍奇金氏淋巴瘤	KMH-2	181
20	人類伯基特氏淋巴瘤	EB1	174
21	人類彌漫性大 B 細胞淋巴瘤-GCB	SUDHL-10	20
22	人類伯基特氏淋巴瘤	GA-10	382
23	人類彌漫性大 B 細胞淋巴瘤-GCB	OCI-Ly19	380
24	人類彌漫性大 B 細胞淋巴瘤-GCB	HT	642
25	人類彌漫性大 B 細胞淋巴瘤-GCB	Pfeiffer	2,620
26	人類伯基特氏淋巴瘤	Namalwa	600
27	人類濾泡性 B 細胞淋巴瘤-GCB	DOHH-2	700
28	人類膀胱癌瘤 (GATOR -/-)	SW780	1000
29	人類結腸直腸癌	MDST8	1000
30	人類伯基特氏淋巴瘤	Raji	10,000

31	人類霍奇金氏淋巴瘤	HD-MyZ	>1000
32	人類霍奇金氏淋巴瘤	L540	>1000
33	人類霍奇金氏淋巴瘤	HDLM-2	>1000
34	人類伯基特氏淋巴瘤	CA46	>10,000
35	人類多形性大細胞淋巴瘤	SUDHL-1	590
36	人類肺癌瘤	H1734	1500
37	人類結腸直腸癌	SW1116	1500
38	人類結腸直腸	COLO-320DM	2,060
39	人類神經母細胞瘤	A172	2000
40	人類肺癌瘤	H1693	2000
41	人類肺癌瘤	H460	> 2000
42	人類肺癌瘤	H358	>2000
43	人類胰臟癌	CAPAN2	>2000
44	人類胰臟癌	PANC1	>2000
45	人類胰臟癌	MiaPaCa-2	>2000
46	人類胰臟癌	AsPC1	>2000
47	人類前列腺癌	DU145	>2000
48	人類急性骨髓性白血病	KG-1	>2500
49	人類前列腺癌	LnCap	3000
50	人類 T 細胞白血病	HH	3,300
51	人類 T 細胞白血病	MOLT-4	3,300
52	人類前列腺癌	22RV1	>5000
53	人類結腸直腸癌	DLD-1	>5000
54	人類骨髓性白血病	K562	>5000
55	人類結腸直腸癌	RKO	>5000
56	人類卵巢	TOV-21G	7000
57	人類前列腺癌	PC-3	10,000
58	人類霍奇金氏淋巴瘤	L428	10,000
59	人類漿細胞瘤	RPMI-8226	>10,000
60	人類肺癌瘤	NCI-1975	>10,000
61	人類乳癌	CAMA1	>10,000
62	人類神經母細胞瘤	SW1088	>10,000
63	人類神經母細胞瘤	M0591K	>10,000
64	人類神經母細胞瘤	U-118 MG	>10,000
65	人類神經母細胞瘤	U-87 MG	>10,000
66	人類急性單核細胞性白血病	THP1	>10,000
67	人類瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤-GCB	KARPAS-422	>10,000
68	人類濾泡性 B 細胞淋巴瘤	RL	>10,000
69	人類套細胞淋巴瘤	GRANTA-519	>10,000
70	人類支氣管肺泡	NCI-H1650	>20,000
71	人類支氣管肺泡	SW1573	>20,000
72	人類支氣管肺泡	NCI-H1781	>20,000
73	人類支氣管肺泡	NCI-H1666	20,000
74	人類結腸直腸	LOVO	>10,000
75	人類結腸直腸	HT-29	>10,000

【0136】 簡言之，針對獲得針對阿吡莫德之劑量反應曲線的 75 種癌細胞系，分析來自 CCLE 之基因表現資料。藉由未配對 t-檢驗，在敏感性(IC_{50} 小於 500 nM) 及不敏感 (IC_{50} 超過 500 nM) 細胞系中比較各介白素基因之表現。未發現統計學上顯著之關係，唯一例外為 IL-23A ($p = 0.022$)。先前已指出 IL-23A 在阿吡莫德敏感性非小細胞肺癌細胞系中升高，且指出重組 IL-23A 增加非小細胞肺癌細胞系增殖 (參見 Baird 等人 2013, 上文)。重要地，敏感性癌症細胞系中 IL-23A 表現之統計顯著性似乎完全由僅僅兩種結腸癌細胞系驅動。此外，IL-23A 表現不為非霍奇金氏 B 細胞淋巴瘤中敏感性之統計學上顯著預測因子 (圖 7)。

【0137】 PIKfyve 產生脂質產物 $PI(3,5)P_2$ 及 $PI5P$ ，其又用來建立膜一致性及控制內溶酶體動力學。研究展示由 PIKfyve 抑制產生之 $PI(3,5)P_2$ 耗盡產生腫脹內溶酶體表現型。基於此等研究，測試阿吡莫德、PIKfyve 抑制及內溶酶體功能障礙之間的關係。如圖 8 中所示，實驗證實在 24 小時之後阿吡莫德誘發 H4 神經膠質瘤細胞中 $PI(3,5)P_2$ 大約 70% 減少 (圖 8A) 且此等細胞展現顯著腫脹之內溶酶體 (液泡) 表現型 (圖 8B)。此表現型為可逆的，且癌細胞系在藥物移除之後 3-4 天內恢復至正常外觀。

【0138】 接著測試 PIKfyve 基因產物之壓製是否可複製在測試細胞系之一 H4 神經膠質瘤細胞中在阿吡莫德下看到之細胞毒性作用。如圖 9 中所示，誘發以 *PIKFYVE* 轉錄物為目標之多西環素誘導性髮夾誘發腫脹內溶酶體表現型及 H4 細胞中細胞存活顯著減少。

【0139】 總之，此處呈現之資料支持阿吡莫德之抗癌特性經由其抑制 PIKfyve 產生的結論。

實例 7：人類中阿吡莫德之藥物動力學

【0140】 臨床前資料表明若在臨床試驗中可實現適合血漿濃度，則阿吡莫德在 NHL 患者中可具活性。已在 1 期試驗中建立阿吡莫德之藥物動力學 (PK)，不過先前未報導。簡言之，在根據以下給藥模式 (表 10)，以 1 劑或劃分成相隔 10 小時之 2 劑單日經口投予之後，測定正常健康志願者中阿吡莫德之 PK 參數。

表 10：正常健康志願者中 1 期、劑量遞增 (QD/BID) 研究。個體隨機分組以接受活性劑或安慰劑。一天進行給藥，其中僅僅在 AM 中 QD 給藥，且在 AM 及 PM 中 BID 給藥。

組	劑量/投予	頻率	總劑量
A	7 mg	一次	7 mg
B	7 mg	2 次	14 mg
C	14 mg	2 次	28 mg
D	35 mg	2 次	70 mg
E	70 mg	2 次	140 mg
F	105 mg	2 次	210 mg

【0141】 阿吡莫德濃度隨時間推移之 PK 曲線展示於圖 5 中。在 105 mg BID (210 mg 總日劑量) 下，阿吡莫德在 AM 及 PM 中分別具有 192 及 149 ng/ml 之平均血漿濃度 (表 11)。

表 11：人類血漿中阿吡莫德自由鹼之組合雄性及雌性 PK 參數之概述 ^a

除接收單劑量之 A 組外，劑量每日投予兩次，AM 與 PM 劑量之間相隔 10 小時。除 E 外之所有組的個體數目為 n=9，E 中一名個體由於濃度異常而不包括於分析中。所示 C_{max} 值為 8 或 9 名個體之平均值。

處理	劑量 (mg) ^a	AM C _{max} (ng/ml)	PM C _{max} (ng/ml)
A	7	10.8 +/- 2.7	NA
B	14	12.7 +/- 5.9	8.18 +/- 2.73
C	28	18.2 +/- 5.8	10.7 +/- 5.0
D	70	71.8 +/- 17.1	63.0 +/- 22.6
E	140	145 +/- 30	110 +/- 43
F	210	192 +/- 51	149 +/- 38

【0142】 此外，24 小時時間段之約 50%內，阿吡莫德血漿濃度保持在 50 ng/ml（等於 125 nM）以上；敏感性之截止 IC₅₀在圖 3B 中。亦將預期此等血漿濃度具有藥效學（PD）作用，因為在處理 24 小時後阿吡莫德誘發外周血單核細胞中液泡形成。

【0143】 阿吡莫德在 105 mg BID 下具有可耐受之安全特徵，不過在慢性發炎性疾病條件下先前發起人之大部分 2 期功效研究在 100 mg（或更低）之總日劑量下進行。此等資料證實在人類中可實現能夠在試管內有效遏制 NHL 生長且可能具有 PD 作用的阿吡莫德濃度，因此支持所計劃之阿吡莫德在 NHL 中之 1 期劑量遞增研究。

【符號說明】

無

申請專利範圍

1. 一種用於治療個體的癌症之組成物，其包含與抑制劑組合之阿吡莫德（apilimod）或其醫藥上可接受的鹽，該抑制劑為涉及程式化死亡 1（PD-1）受體及/或其配位體（PD-L1/2）之檢查點信號傳導路徑之抑制劑，該抑制劑係選自 BMS-936558/MDX-1106/納武單抗（nivolumab）及 MPDL3280A。
2. 根據申請專利範圍第 1 項之組成物，其中該癌症為腦癌、神經膠質瘤、肉瘤、乳癌、肺癌、非小細胞肺癌、間皮瘤、闌尾癌、泌尿生殖癌、腎細胞癌、前列腺癌、膀胱癌、睪丸癌、陰莖癌、子宮頸癌、卵巢癌、希佩爾·林道疾病（von Hippel Lindau disease）、頭頸癌、腸胃癌、肝細胞癌、膽囊癌、食道癌、胃癌、結腸直腸癌、胰臟癌、神經內分泌腫瘤、甲狀腺腫瘤、垂體腫瘤、腎上腺腫瘤、血液惡性病、淋巴瘤或白血病。
3. 根據申請專利範圍第 1 項之組成物，其中該癌症為 B 細胞淋巴瘤。
4. 根據申請專利範圍第 3 項之組成物，其中該癌症為非霍奇金氏 B 細胞淋巴瘤。
5. 根據申請專利範圍第 1 項之組成物，其中該個體為人類。
6. 根據申請專利範圍第 1 項之組成物，其中該投予步驟在由至少 1 天投予該包含阿吡莫德之組成物，接著連續至少 1 天不投予該包含阿吡莫德之組成物組成的至少一個週期中進行。
7. 根據申請專利範圍第 6 項之組成物，其中該投予步驟在 2 至 10 個週期中進行。
8. 根據申請專利範圍第 6 項之組成物，其中該週期由連續 1 至 10 天投予

該組成物、接著連續 1 至 5 天不投予該組成物組成。

9. 根據申請專利範圍第 1 項之組成物，其中該組成物包含阿吡莫德自由鹼或阿吡莫德二甲磺酸鹽。
10. 根據申請專利範圍第 1 項之組成物，其中該組成物為口服劑型或適合於靜脈內投予之劑型。
11. 根據申請專利範圍第 4 項之組成物，其中該非霍奇金氏 B 細胞淋巴瘤選自彌漫性大 B 細胞淋巴瘤 (DLBCL)、伯基特氏淋巴瘤、縱隔 B 細胞淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤及套細胞淋巴瘤。
12. 根據申請專利範圍第 11 項之組成物，其中該非霍奇金氏 B 細胞淋巴瘤為濾泡性淋巴瘤。
13. 根據申請專利範圍第 11 項之組成物，其中該非霍奇金氏 B 細胞淋巴瘤為難治性或復發性。
14. 根據申請專利範圍第 1 項之組成物，其中該檢查點信號傳導路徑之抑制劑在與該包含阿吡莫德之組成物相同的組成物中，或與該包含阿吡莫德之組成物分開的組成物中投予。
15. 根據申請專利範圍第 1 項之組成物，其中所述組成物進一步與經投予的至少一種其他活性劑組合，所述至少一種其他活性劑在與該包含阿吡莫德之組成物相同的組成物中，或在與該包含阿吡莫德之組成物分開的組成物中投予，且該至少一種其他活性劑係選自依魯替尼 (ibrutinib)、利妥昔單抗 (rituximab)、小紅莓 (doxorubicin)、潑尼龍 (prednisolone)、長春新鹼 (vincristine)、萬珂 (velcade) 及依維莫司 (everolimus) 中之一或多者。

16. 根據申請專利範圍第 15 項之組成物，其中該組成物進一步包含潑尼龍、萬珂及依維莫司中之一或多者。
17. 根據申請專利範圍第 15 項之組成物，其中該組成物進一步包含依魯替尼。
18. 根據申請專利範圍第 15 項之組成物，其中該組成物進一步包含長春新鹼。
19. 根據申請專利範圍第 15 項之組成物，其進一步包含 CYP3A 抑制劑。
20. 根據申請專利範圍第 19 項之組成物，其中該 CYP3A 抑制劑選自利托那韋（ritonavir）及考比西他（cobicistat）。

圖式

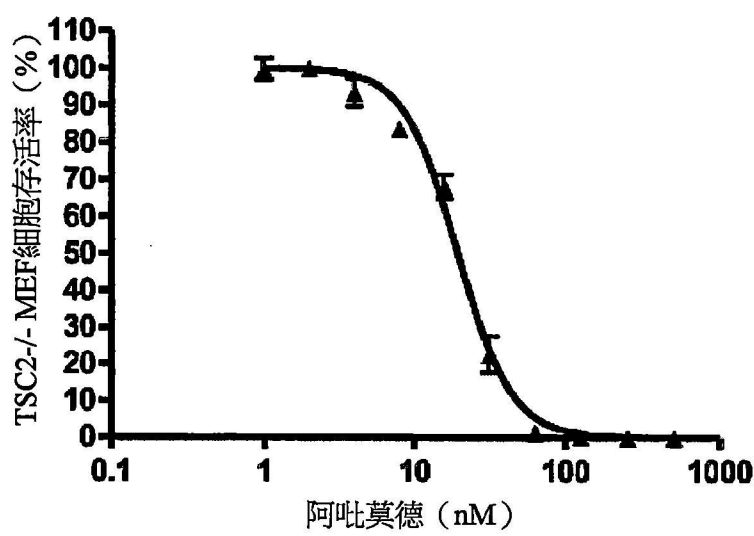


圖1A

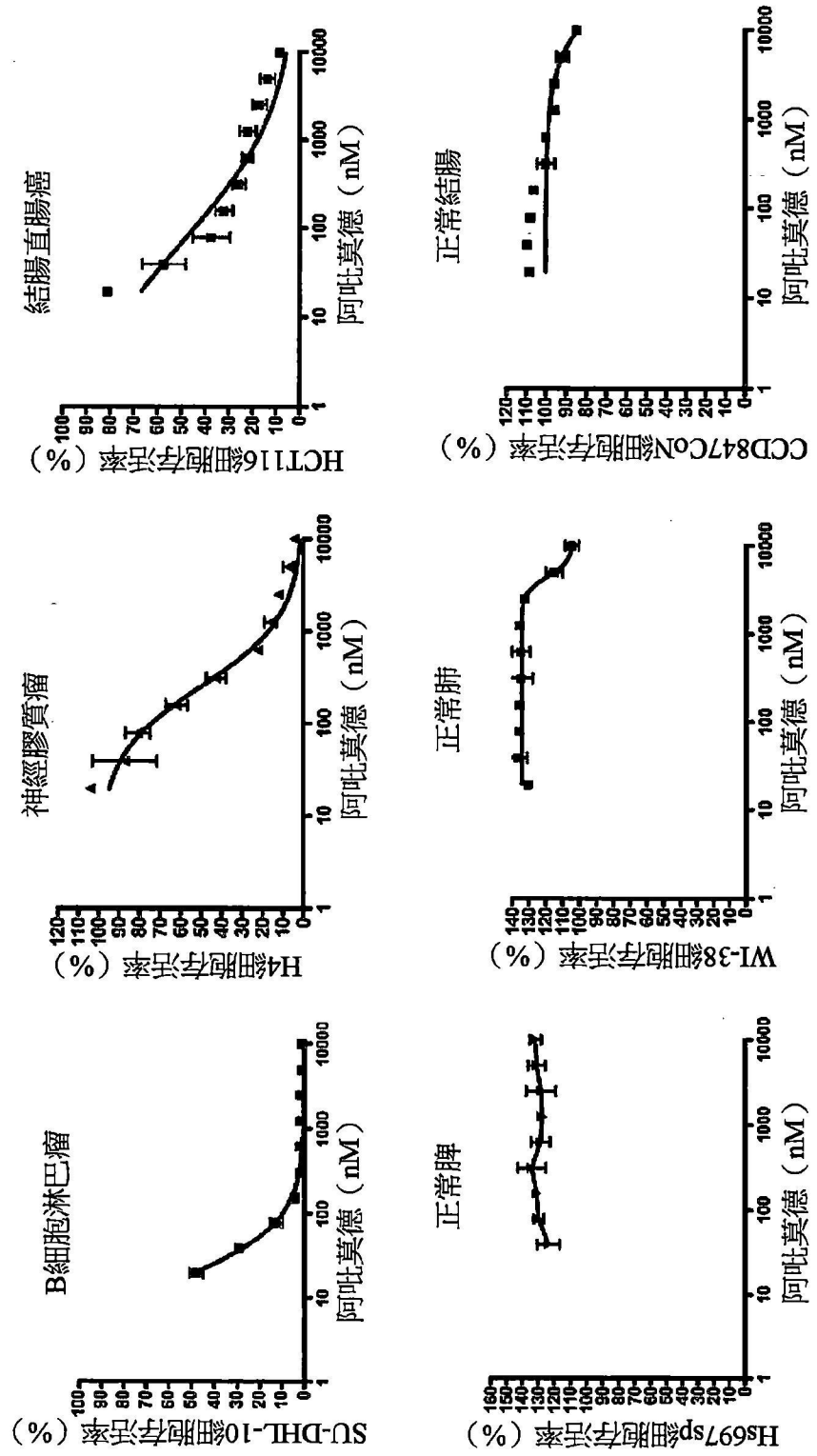


圖1B

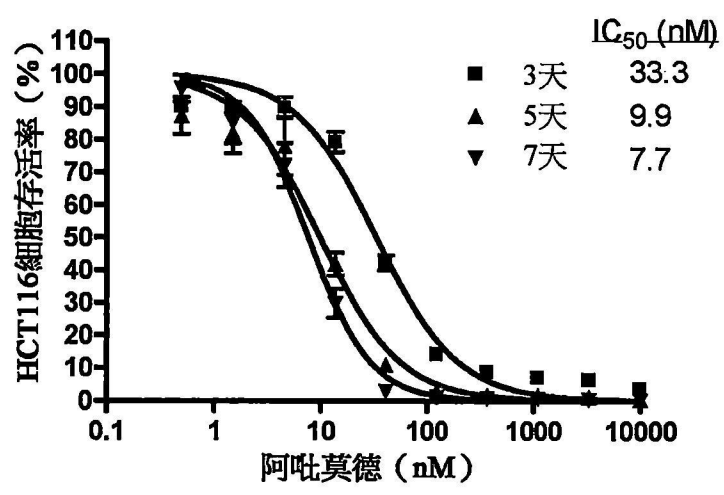


圖2A

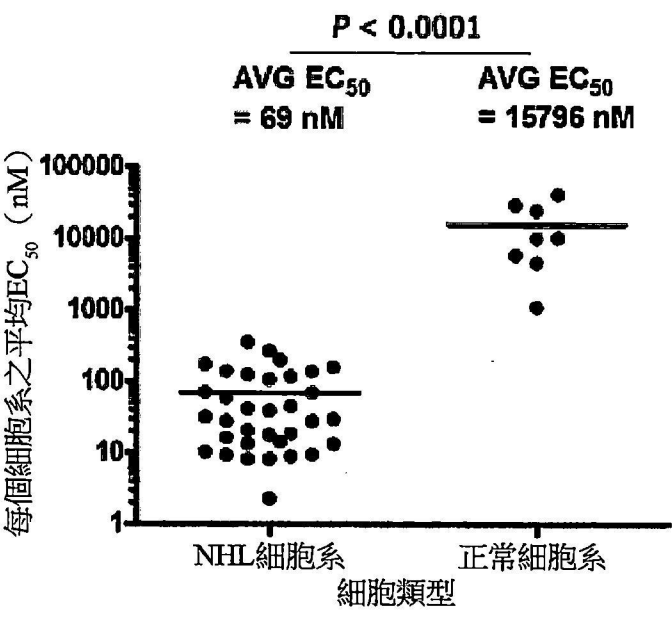


圖2B

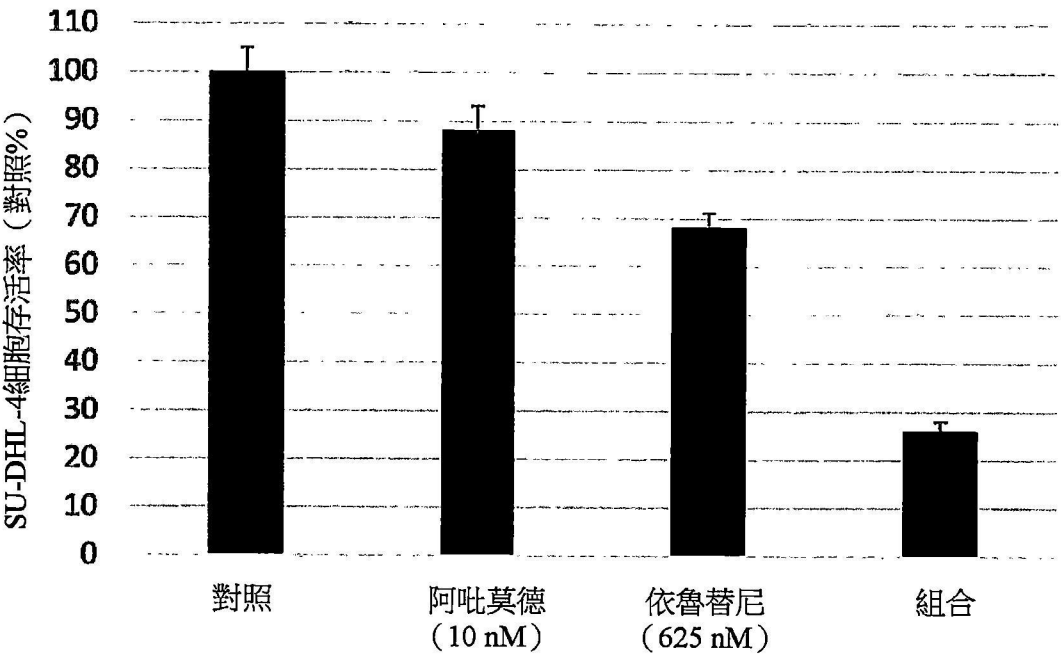


圖3

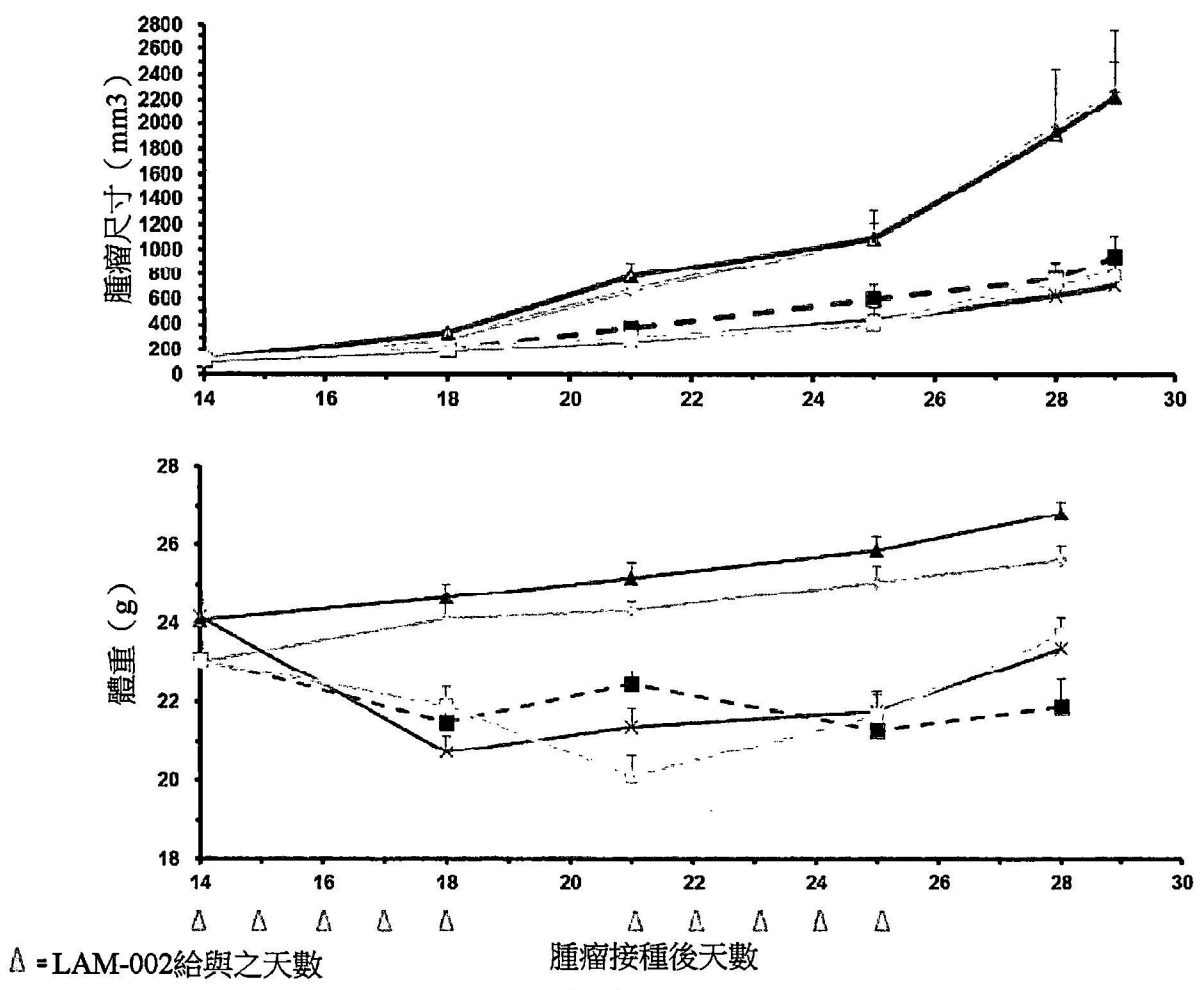


圖4

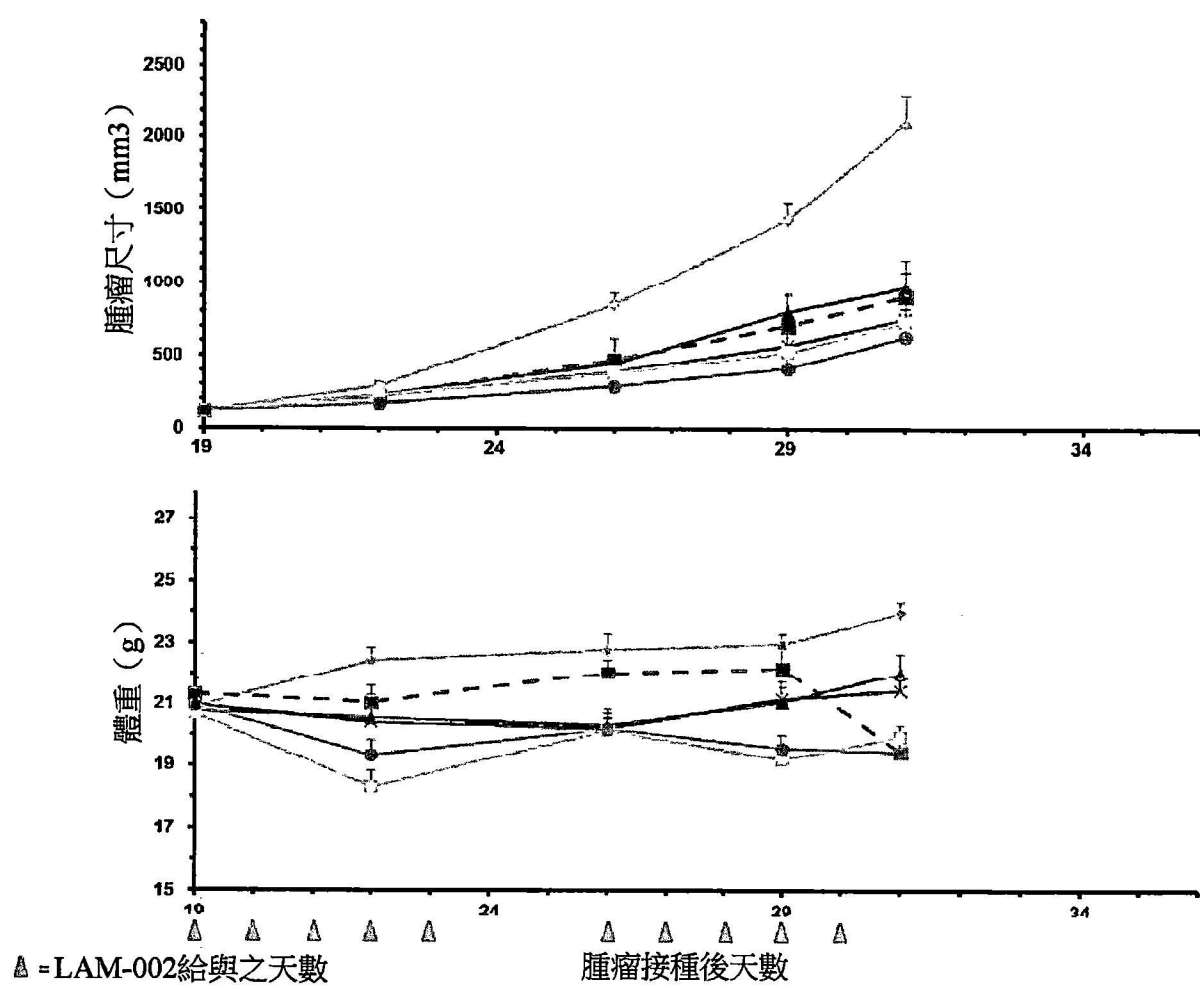
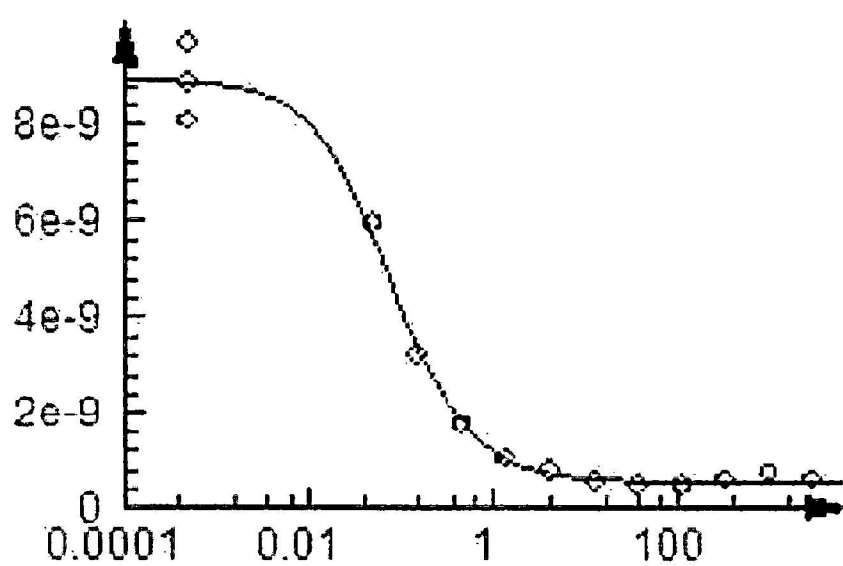


圖5



$K_d = 75 \text{ pM}$

圖6

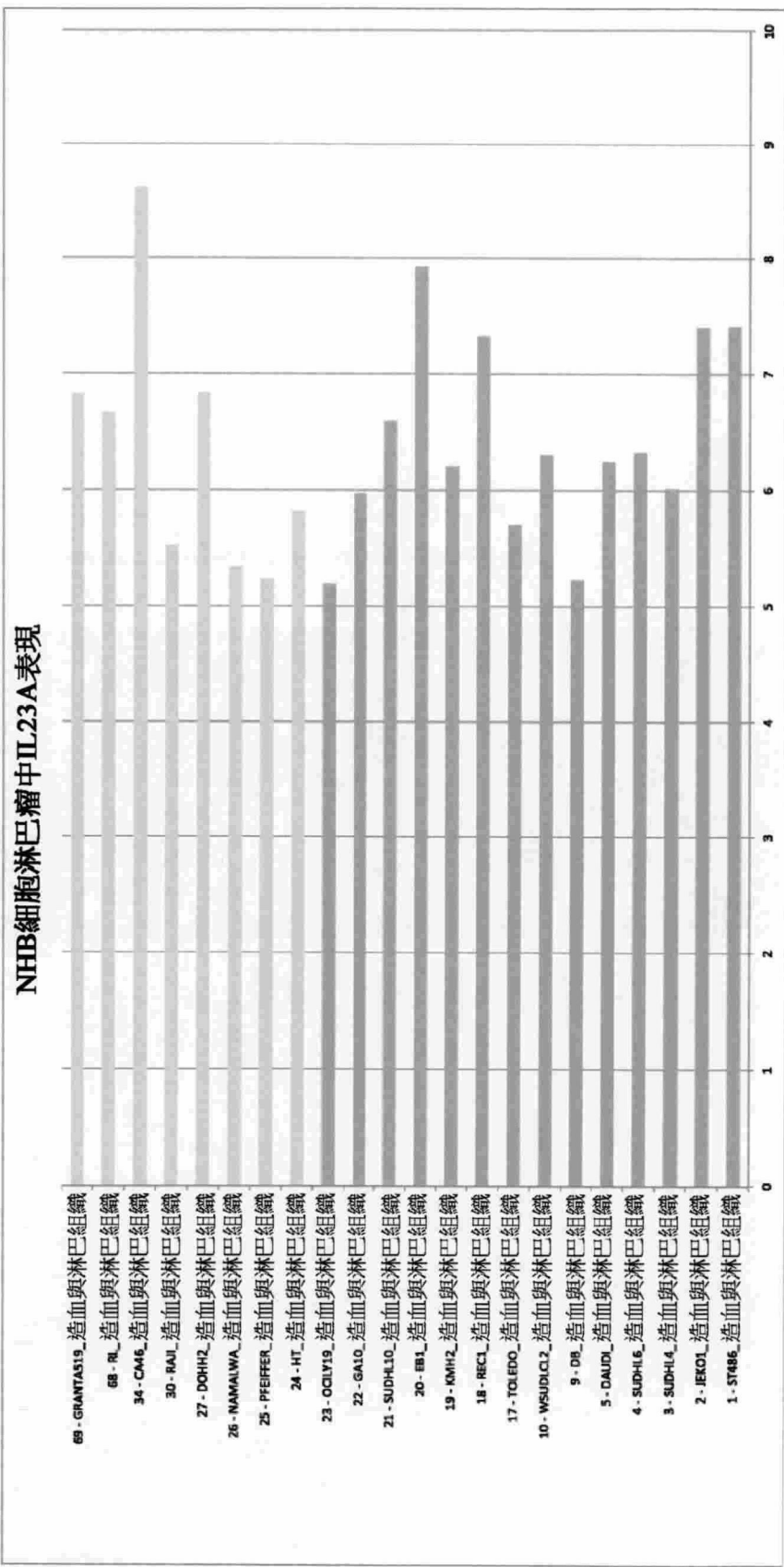


圖7

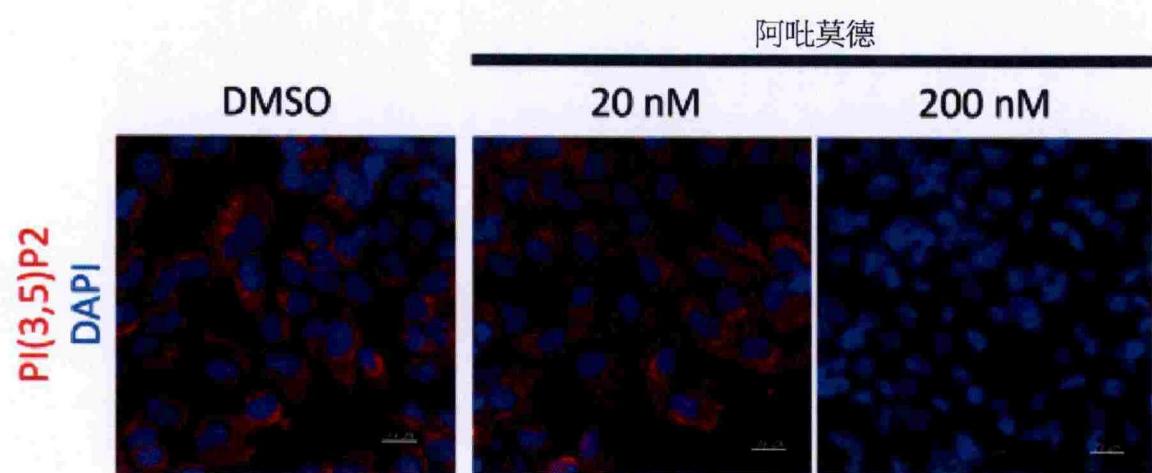
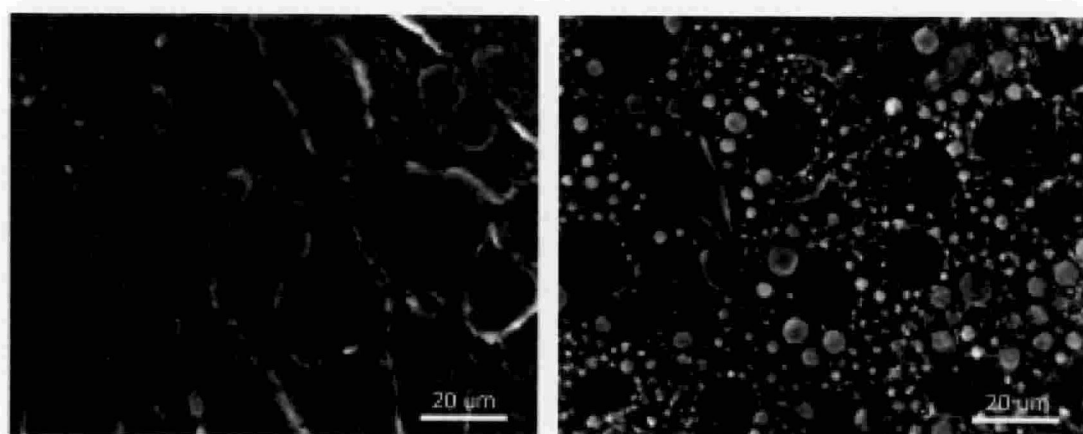


圖8A



媒劑

阿吡莫德

圖8B



圖9A

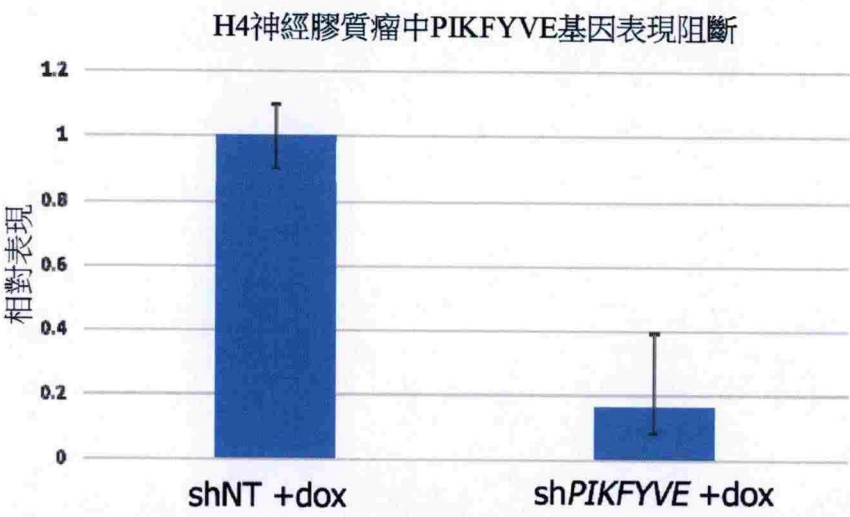


圖9B