



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 112566661 B

(45) 授权公告日 2024.02.02

(21) 申请号 201980047782.5

(22) 申请日 2019.07.18

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 112566661 A

(43) 申请公布日 2021.03.26

(66) 本国优先权数据  
201810790198.6 2018.07.18 CN  
201811346173.3 2018.11.13 CN  
201910149525.4 2019.02.28 CN

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2021.01.15

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/CN2019/096540 2019.07.18

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02020/015703 ZH 2020.01.23

(73) 专利权人 正大天晴药业集团股份有限公司  
地址 222062 江苏省连云港市郁州南路369号

(72) 发明人 田心 沈忱 吕鹏 王祥建  
张喜全 刘铮 夏瑜 金小平  
李百勇 王忠民 韩宝惠 储天晴  
钟华 李榕

(51) Int.Cl.  
A61K 39/395 (2006.01)  
C07D 215/233 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01)

(56) 对比文件  
CN 107771078 A, 2018.03.06  
CN 106977602 A, 2017.07.25  
CN 106632674 A, 2017.05.10

审查员 敖愿

权利要求书1页 说明书30页 附图6页

(54) 发明名称

喹啉衍生物与抗体的药物组合

(57) 摘要

提供一种喹啉衍生物与抗体的药物组合,其包含免疫检查点抑制剂和酪氨酸激酶抑制剂,其中所述酪氨酸激酶抑制剂是式(I)的化合物或其药学上可接受的盐。药物组合显示具有良好的抗肺脏肿瘤和肝脏肿瘤活性。

1. 一种药物组合在制备治疗肝癌药物中的用途,所述药物组合包含:
  - a) 抗PD-1抗体,所述抗PD-1抗体包含如SEQ ID NO:8所示的重链可变区和如SEQ ID NO:10所示的轻链可变区,以及,
  - b) 盐酸安罗替尼。
2. 根据权利要求1所述的用途,其中所述抗PD-1抗体为14C12H1L1。
3. 根据权利要求1所述的用途,所述肝癌是原发性肝脏肿瘤或继发性肝脏肿瘤。
4. 根据权利要求1所述的用途,所述肝癌是为肝实质细胞癌。
5. 根据权利要求1-4任一项所述的用途,所述抗PD-1抗体和盐酸安罗替尼各自呈药物组合物,可同时、顺序或间隔给药。
6. 根据权利要求1-4任一项所述的用途,所述盐酸安罗替尼按照给药2周停1周的治疗周期施用。
7. 根据权利要求6所述的用途,所述每个治疗周期给予的药物组合含有84-168mg的盐酸安罗替尼。
8. 根据权利要求6所述的用途,所述药物组合含有84mg、112mg、140mg或168mg盐酸安罗替尼。
9. 根据权利要求6所述的用途,其中每天施用8mg、10mg或12mg盐酸安罗替尼,给药2周停1周。
10. 根据权利要求1-4任一项所述的用途,其中每2周一次或每3周一次施用100-600mg抗PD-1抗体。
11. 根据权利要求10所述的用途,其中每2周一次或每3周一次施用200mg抗PD-1抗体。

## 喹啉衍生物与抗体的药物组合

### 技术领域

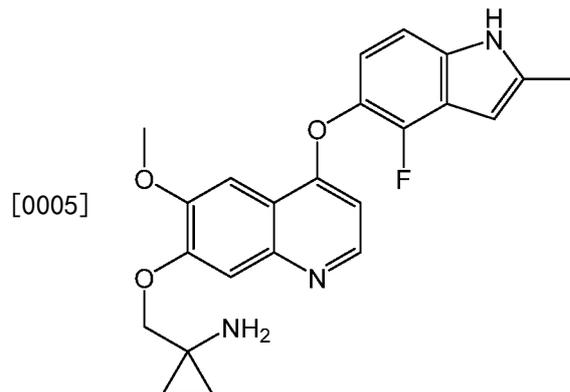
[0001] 本申请属于医药技术领域,涉及可用于抗肿瘤的联合治疗。具体的,本申请涉及基于喹啉衍生物与抗体的组合及其在抗肿瘤中的用途。

### 背景技术

[0002] 酪氨酸激酶是一组催化蛋白质酪氨酸残基磷酸化的酶,在细胞内的信号转导中起着重要的作用,它参与正常细胞的调节、信号传递和发育,也与肿瘤细胞的增殖、分化、迁移和凋亡密切相关。许多受体酪氨酸激酶都与肿瘤的形成相关,根据其细胞外区域结构的不同可分为表皮生长因子受体(EGFR)、血小板衍生生长因子受体(PDGFR)、血管内皮生长因子受体(VEGFR)、成纤维细胞生长因子受体(FGFR)等。

[0003] 安罗替尼(Anlotinib)是一种喹啉衍生物类酪氨酸激酶抑制剂,其作为多靶点酪氨酸激酶抑制剂(TKI)在影响肿瘤血管生成和增殖信号传导方面发挥作用,主要靶点包括:受体酪氨酸激酶血管内皮生长因子受体(VEGFR)1至3,表皮生长因子受体(EGFR),成纤维细胞生长因子受体(FGFR)1至4,血小板衍生生长因子受体(PDGFR) $\alpha$ 和 $\beta$ ,以及干细胞因子受体(SCFR)7、8和9。一项2期试验显示,安罗替尼可改善无进展生存期,并具有总体生存的潜在益处(Han B, et al. Br J Cancer. 2018; 118(5):654-661)。一项多中心、双盲、3期随机临床试验显示,在中国患者中,安罗替尼导致延长的总生存期和无进展生存期,这一发现表明,安罗替尼耐受性良好,是晚期NSCLC患者潜在的三线或进一步治疗(Han B, et al. JAMA Oncol. 2018 Nov; 4(11):1569-1575)。

[0004] 文献W02008112407在实施例24中公开了一种喹啉衍生物类的酪氨酸激酶抑制剂1-[[[4-(4-氟-2-甲基-1H-吡啶-5-基)氧基-6-甲氧基喹啉-7-基]氧基]甲基]环丙胺及其制备方法,它的结构式如式I所示:



式 I。

[0006] 包含T淋巴细胞的天然免疫系统具有强大的抗癌能力,其具有广泛的能力和精确的特异性,从而对各种肿瘤抗原做出响应。新兴的癌症免疫疗法通过激活的效应细胞的过继转移、针对相关抗原的免疫接种或提供非特异性免疫刺激剂来增强抗肿瘤免疫应答。在过去的近20年中,研究者努力开发特异性免疫检查点抑制剂并期望提供用于治疗癌症的新免疫治疗方案,包括开发结合并抑制CTLA-4的抗体(Antibody)伊匹单抗(Ipilimumab)(YERVOY®)用于治疗具有晚期黑素瘤的患者(Hodi等人(2010) N Engl J Med 363:711-

23), 和开发抗体诸如纳武利尤单抗 (Nivolumab, Opdivo®) 和帕博利珠单抗 (Pembrolizumab, Keytruda®), 它们特异性地结合程序性死亡受体-1 (PD-1) 并阻断抑制性 PD-1/PD-1 配体途径 (Topalian 等人 (2012a) *N Engl J Med* 366:2443-54)。其中, PD-1 (programmed death-1, PD-1) 是一种由活化的 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞表达的关键免疫检查点受体并介导免疫抑制, 其配体至少包括 PD-L1 和 PD-L2。PD-L1 (Programmed death-ligand 1) 又称为 CD274 或 B7-H1, 是由 CD274 基因编码的 40kDa 的 I 型跨膜蛋白, 是 PD-1 的一个配体。PD-L1 和 PD-1 两者都属于免疫球蛋白超家族并且都由两个细胞外 Ig 结构域, 即 N 末端 V 结构域和 C 末端恒定结构域组成。PD-L1 与程序性死亡受体-1 (PD-1) 和 B7-1 (CD80) 的结合界面是在 IgV 样结构域上 (Lin 等 (2008) *PNAS* 105:3011-3016)。PD-L1 含有保守的短的细胞内尾区 (约 30 个氨基酸), PD-1 含有两个基于细胞质酪氨酸的信号基序, 即基于免疫受体酪氨酸的抑制基序 (ITIM) 和基于免疫受体酪氨酸的转换基序 (ITSM)。在 T 细胞刺激之后, PD-1 将酪氨酸磷酸酶 SHP-2 募集到其胞质尾区内的 ITSM 基序, 导致参与 CD3+T 细胞信号传导级联的效应分子 (诸如 CD3 $\zeta$ 、PKC $\theta$  和 ZAP70) 的去磷酸化 (Freeman 等 (2000) *J Exp Med* 192:1027-34; Latchman 等 (2001) *Nat Immunol* 2:261-8; Carter 等 (2002) *Eur J Immunol* 32:634-43)。PD-L1 不仅在淋巴和非淋巴组织中的白细胞和非造血细胞上广泛分布, 而且还在各种癌细胞中广泛分布, 在多种肿瘤细胞表面高表达, 而且肿瘤的恶性程度以及不良预后与 PD-L1 的表达水平密切相关。有临床数据表明 PD-L1 的高肿瘤表达与增加的肿瘤侵袭性和较差的预后相关联。PD-1/PD-L1 复合物的形成传输抑制信号并负调节 T 细胞免疫应答; 它抑制 TCR 介导的 T 细胞活化、细胞因子产生和 T 细胞增殖 (Fife 等 (2011) *Nature Immunology* 10:1185-1193); 诱导同源抗原特异性 T 细胞之中的衰竭或无反应性 (Hofmeyer 等 (2011) *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2011:1-9); 促进 Th1 细胞分化成 Foxp3+ 调节性 T 细胞 (Armanath 等 (2011) *Science TransMed* 3:1-13; Francisco 等 (2009) *J. Exp. Med.* 206:3015-3029); 并诱导效应 T 细胞的凋亡。PD-L1 基因的破坏导致上调的 T 细胞应答和自身反应性 T 细胞的产生 (Latchman 等 (2004) *PNAS* 101:10691-10696)。PD-1 或 PD-L1 的抗体阻断导致增加的抗肿瘤免疫性 (Iwai 等 (2002) *PNAS* 99:12293-12297)。

[0007] 前人在肿瘤免疫治疗过程中遇到的最大挑战是由于肿瘤免疫耐受和逃逸所导致的疗效不佳。因此, 通过基于小分子抗肿瘤化合物与抗 PD-1/PD-L1 抗体的联合使用以打破机体已经建立的对肿瘤细胞的免疫耐受, 具有重要的理论意义和应用价值。

## 发明内容

[0008] 本申请的目的至少在于提供一种药物组合, 其包含酪氨酸激酶抑制剂、以及 PD-1 和其配体 PD-L1 之间的相互作用的抑制剂。在一些方案中, 所述酪氨酸激酶抑制剂是式 I 的化合物或其药学上可接受的盐, 在一些具体的实施方式中, 所述酪氨酸激酶抑制剂是式 I 的化合物的盐酸盐, 即盐酸安罗替尼。

[0009] 在一些方案中, PD-1 受体和其配体 PD-L1 之间的相互作用的抑制剂是结合程序性死亡受体 1 (PD-1) 和/或抑制 PD-1 活性的抗体或其抗原结合部分, 或者, 是结合程序性死亡配体 1 (PD-L1) 和/或抑制 PD-L1 活性的抗体或其抗原结合部分, 例如是抗 PD-1 抗体或者抗 PD-L1 抗体。在一些具体实施方案中, 所述抗体或其抗原结合部分是 (a) 单克隆抗体或其抗原结合片段, 其特异地结合人 PD-1 且阻断人 PD-L1 与人 PD-1 的结合; 或 (b) 单克隆抗体或其

抗原结合片段,其特异地结合人PD-L1且阻断人PD-L1与人PD-1的结合。

[0010] 在一些方案中,所述抗PD-1或PD-L1抗体是抗PD-1或PD-L1单克隆抗体。

[0011] 在一些方案中,所述抗PD-1或PD-L1抗体为人源性抗体或鼠源性抗体。

[0012] 在一些方案中,所述抗PD-1抗体可以选自纳武利尤单抗(Nivolumab)、帕博利珠单抗(Pembrolizumab)、Durvalumab、特瑞普利单抗(JS-001)、信迪利单抗(ICI308)、卡瑞利珠单抗(Camrelizumab)、替雷利珠单抗(BGB-A317)、14C12H1L1(康方生物)、杰诺单抗(GB226)、丽珠单抗(LZM009)、HLX-10、BAT-1306、AK103(HX008)、AK104(康方生物)、CS1003、SCT-I10A、F520、SG001、GLS-010中的任意一种或几种。

[0013] 在一些方案中,所述抗PD-L1抗体可以选自Atezolizumab、Avelumab、Durvalumab、KL-A167、SHR-1316、BGB-333、JS003、STI-A1014(ZKAB0011)、KN035、MSB2311、HLX-20、CS-1001中的任意一种或几种。

[0014] 在一些方案中,所述抗PD-1抗体包含:

[0015] 含有选自SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32或SEQ ID NO:33所示的氨基酸序列或者者与其具有至少80%一致性、优选至少85%一致性、优选90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%一致性的氨基酸序列的重链可变区;以及

[0016] 含有选自SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35或SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列或者者与其具有至少80%一致性、优选至少85%一致性、优选90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%一致性的氨基酸序列的轻链可变区。

[0017] 在一些方案中,所述抗PD-1抗体包含:选自SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:37或SEQ ID NO:39所示的重链;以及选自SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:40或SEQ ID NO:42所示的轻链。

[0018] 在一些方案中,所述抗PD-1抗体包含:

[0019] a. 如SEQ ID NO:1所示的重链可变区和如SEQ ID NO:4所示的轻链可变区;

[0020] b. 如SEQ ID NO:2所示的重链可变区和如SEQ ID NO:5所示的轻链可变区;

[0021] c. 如SEQ ID NO:3所示的重链可变区和如SEQ ID NO:6所示的轻链可变区;

[0022] d. 如SEQ ID NO:7所示的重链可变区和如SEQ ID NO:9所示的轻链可变区;

[0023] e. 如SEQ ID NO:8所示的重链可变区和如SEQ ID NO:10所示的轻链可变区;

[0024] f. 如SEQ ID NO:11所示的重链可变区和如SEQ ID NO:14所示的轻链可变区;

[0025] g. 如SEQ ID NO:12所示的重链可变区和如SEQ ID NO:15所示的轻链可变区;

[0026] h. 如SEQ ID NO:13所示的重链可变区和如SEQ ID NO:16所示的轻链可变区;

[0027] i. 如SEQ ID NO:17所示的重链和如SEQ ID NO:18所示的轻链;

[0028] j. 如SEQ ID NO:31所示的重链可变区和如SEQ ID NO:34所示的轻链可变区;

[0029] k. 如SEQ ID NO:32所示的重链可变区和如SEQ ID NO:35所示的轻链可变区;

[0030] l. 如SEQ ID NO:33所示的重链可变区和如SEQ ID NO:36所示的轻链可变区;

[0031] m. 如SEQ ID NO:37所示的重链和如SEQ ID NO:40所示的轻链;

[0032] n. 如SEQ ID NO:38所示的重链和如SEQ ID NO:41所示的轻链;或者

[0033] o. 如SEQ ID NO:39所示的重链和如SEQ ID NO:42所示的轻链。

[0034] 在一些方案中,所述抗PD-1抗体是结合PD-1的分离的抗体或抗体片段,其包含源自6F5抗体的CDR序列,所述6F5抗体的CDR序列如下:

[0035] HCDR1:GFTFSSYG (SEQ ID NO:19);

[0036] HCDR2:ISGGGSDT (SEQ ID NO:20);

[0037] HCDR3:ARQLNYAWFAY (SEQ ID NO:21);

[0038] LCDR1:ESVDNYGISF (SEQ ID NO:22);

[0039] LCDR2:TSS (SEQ ID NO:23);以及

[0040] LCDR3:QQSKEVPWT (SEQ ID NO:24)。

[0041] 在一些方案中,所述抗PD-1抗体是结合PD-1的分离的抗体或抗体片段,其包含源自14C12抗体的CDR序列,所述14C12抗体的CDR序列如下:

[0042] HCDR1:GFAFSSYD (SEQ ID NO:25);

[0043] HCDR2:ISGGGRYT (SEQ ID NO:26);

[0044] HCDR3:ANRYGEAWFAY (SEQ ID NO:27);

[0045] LCDR1:QDINTY (SEQ ID NO:28);

[0046] LCDR2:RAN (SEQ ID NO:29);以及

[0047] LCDR3:LQYDEFPLT (SEQ ID NO:30)。

[0048] 在一些方案中,所述式I化合物可以以药学上可接受的盐或其药学上可接受的制剂形式存在,优选其盐酸盐形式。

[0049] 在一些具体实施方案中,所述化合物为1-[[[4-(4-氟-2-甲基-1H-吡啶-5-基)氧基-6-甲氧基喹啉-7-基]氧基]甲基]环丙胺的盐酸盐,即盐酸安罗替尼。

[0050] 在一些方案中,所述药物组合包含:式I的化合物或其盐酸盐(例如二盐酸盐);以及信迪利单抗或其抗原结合片段,InVivoMAb anti-mouse PD-1单抗或其抗原结合片段,或者14C12H1L1或其抗原结合片段。

[0051] 本申请的目的至少还在于提供一种药物组合的抗肿瘤用途,所述药物组合包含酪氨酸激酶抑制剂以及PD-1受体和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂。在一些实施方案中,所述酪氨酸激酶抑制剂是式I的化合物或其盐酸盐,并且所述PD-1受体和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂是抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段。在一些具体实施方案中,所述抗PD-1单克隆抗体包含:具有选自SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32或SEQ ID NO:33所示的氨基酸序列的重链可变区;以及具有选自SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35或SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列的轻链可变区。

[0052] 本申请还提供了一种用于治疗患有癌症或肿瘤的主体的方法,其包括向所述主体施用治疗有效量的酪氨酸激酶抑制剂以及治疗有效量的PD-1受体和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂。在一些实施方案中,所述酪氨酸激酶抑制剂是式I的化合物或其盐酸盐。在一些实施方案中,PD-1受体和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂是结合程序性死亡受体1 (PD-1) 和/或抑制PD-1活性的抗体或其抗原结合部分,例如是抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段。

[0053] 本申请也提供了一种用于治疗患有癌症或肿瘤的主体的联合疗法,所述方法包括给所述主体单独施用治疗有效量的酪氨酸激酶抑制以及单独施用治疗有效量的抑制PD-L1和/或PD-L1结合活性的抗体或其抗原结合部分。

[0054] 本申请也提供了一种治疗患有癌症或肿瘤的主体的方法,所述癌症或肿瘤是肺癌,所述方法包括:(i) 测量所述主体的样品中的PD-1和/或PD-L1水平,其中所述主体是PD-1和/或PD-L1阳性的,和(ii) 给所述主体施用治疗有效量的抗PD-1和/或PD-L1抗体或其抗原结合部分。

[0055] 本申请提供了一种用于治疗患有癌症或肿瘤的主体的方法。在某些实施方案中,所述主体是被确诊为肺癌的患者,例如是被确诊为非小细胞肺癌的患者,或者是被确诊为小细胞肺癌的患者,其癌症可能是难治性的、复发性的或转移性的肺癌。例如,在某些患者中,其肺癌是复发性的;在某些患者中,所述肺癌是转移性的;在某些患者中,其肺癌是难治性的。在一些具体实施方案中,本申请所述的非小细胞肺癌是鳞状非小细胞细胞癌,在另一些具体实施方案中,本申请所述的非小细胞肺癌是非鳞状非小细胞细胞癌。在一些具体的方案中,本申请所述的非小细胞肺癌是肺腺癌、肺鳞状细胞癌或肺大细胞癌。

[0056] 在本申请的一些方案中,所述主体先前已接受手术、化疗和/或放射治疗。在一些具体实施方式中,所述主体经手术、化疗和/或放射治疗后获完全缓解后再次出现疾病进展。在一些具体实施方式中,所述主体经手术、化疗和/或放射治疗后未能完全缓解或未能部分缓解。

[0057] 在本申请的一些方案中,主体先前未接受过系统化疗。在一些方案中,主体先前已接受手术治疗、放射治疗、诱导化疗和/或辅助化疗,或者主体接受同期的化疗。在一些具体实施方式中,主体先前未接受过系统化疗,但是接受过手术治疗、放射治疗、诱导化疗和/或辅助化疗或者将接受同期的化疗。在一些具体实施方式中,主体经手术治疗、放射治疗、诱导化疗、同期的化疗和/或辅助化疗后,获完全缓解后再次出现疾病进展。在一些具体实施方式中,主体经手术治疗、放射治疗、诱导化疗、同期的化疗和/或辅助化疗后,未能完全缓解或未能部分缓解。在一些具体实施方式中,主体经手术治疗、放射治疗、诱导化疗、同期的化疗和/或辅助化疗后癌症发生转移。

[0058] 在本申请的一些方案中,所述癌症或肿瘤是肺癌(Lung Cancer)或肺脏恶性肿瘤。在一些具体实施方式中,所述癌症是非小细胞肺癌(NSCLC)。在另一些具体实施方式中,所述癌症是小细胞肺癌(SCLC)。在一些具体实施方式中,所述癌症是复发性或难治性肺癌。在一些具体实施方式中,所述肺癌是复发性的。在一些具体实施方式中,所述肺癌是难治性的。在一些具体实施方式中,所述肺癌是转移性的。在一些具体实施方式中,所述癌症治疗是复发性或难治性非小细胞肺癌的一线治疗。在一些具体实施方式中,所述癌症治疗是转移性非小细胞肺癌的一线治疗,例如是淋巴转移、脑转移和/或骨转移的非小细胞肺癌的一线治疗。

[0059] 在本申请的一些方案中,所述肺癌选自非小细胞肺癌。在一些实施方案中,所述肺癌包括肺鳞癌或肺腺癌。在一些具体实施方案中,所述肺癌是晚期肺癌。在一些具体实施方案中,所述肺癌是EGFR、ALK和/或ROS1野生型的非小细胞肺癌。在一些具体实施方案中,所述肺癌选自晚期鳞癌型非小细胞肺癌、晚期腺癌型非小细胞肺癌。在一些具体实施方案中,所述肺癌选自i) EGFR、ALK和/或ROS 1野生型的鳞癌型非小细胞肺癌,以及ii) EGFR、ALK和/

或ROS1野生型的腺癌型非小细胞肺癌。在一些实施方案中,所述肺癌是接受过一线标准化疗失败或无法耐受化疗的晚期(IIIB/IV期)肺癌。

[0060] 在本申请的一些方案中,癌症是复发性和/或转移性非小细胞肺癌。在一些方案中,癌症是复发性和/或转移性小细胞肺癌。

[0061] 在本申请的一些方案中,所述药物组合用于治疗或预防肺脏恶性肿瘤,可为原发性肺脏肿瘤或继发性肺脏肿瘤。

[0062] 在本申请的一些方案中,所述肺脏恶性肿瘤为转移性肺癌。在另一些方案中,所述转移性肺癌为从肺癌、胃癌、直肠癌、结肠癌、大肠癌、胰腺癌或乳腺癌转移的转移癌。

[0063] 在本申请的一些方案中,所述主体是驱动基因阴性(即EGFR、ALK和ROS1突变阴性)的局部晚期(IIIB期)、转移性或复发性(IV期)NSCLC患者。在一些实例中,所述患者经组织学或细胞学证实不能手术治疗且不能接受根治性同步放化疗。在一些非限制性的例子中,所述EGFR突变包括但不限于19或21号外显子突变。

[0064] 在本申请的一些方案中,所述药物组合可用于治疗或预防肝脏恶性肿瘤,其可为原发性肝脏肿瘤或继发性肝脏肿瘤。

[0065] 在本申请的一些方案中,所述肝脏恶性肿瘤为肝实质细胞癌。

[0066] 在本申请的一些方案中,所述肝脏恶性肿瘤为转移性肝癌。在另一些方案中,所述转移性肝癌为从肺癌、胃癌、直肠癌、结肠癌、大肠癌、胰腺癌或乳腺癌转移的转移癌。

[0067] 在本申请的一些方案中,所述药物组合是固定组合。在一些方案中,所述固定组合呈固体药物组合物形式或液体药物组合物形式。

[0068] 在本申请的一些方案中,所述药物组合是非固定组合。在一些方案中,所述非固定组合中的抗PD-1/PD-L1抗体和式I化合物各自呈药物组合物形式。

[0069] 在一些方案中,还提供一种用于治疗肺脏肿瘤或肝脏恶性肿瘤的药物组合的试剂盒,其中含有(a)第一药物组合物,含有抗PD-1/PD-L1抗体作为活性成分;和(b)第二药物组合物,其中含有式I化合物作为活性成分。

[0070] 在本申请的一些实施方案中,所述试剂盒含有其量为56~168mg、例如84~168mg的式I化合物。在部分方案中,所述试剂盒含有其量选自56mg、70mg、84mg、112mg、140mg、168mg或上述任意值形成的范围的式I化合物。在部分方案中,所述试剂盒含有其量为112mg~168mg的式I化合物。在一些实施方案中,可以将处于上述剂量范围内的式I化合物整体包装在一起。在另一些方案中,可以将处于上述剂量范围内的式I化合物以单位剂量分开包装,例如,以8mg、10mg或12mg的单位剂量分开包装。

[0071] 本申请的目的还在于提供一种用于预防或治疗癌症或肿瘤的方法,其中,向有需要的受试者施用(例如序贯地或同时施用)治疗有效量的酪氨酸激酶抑制剂以及治疗有效量的PD-1受体和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂。在一些实施方案中,所述酪氨酸激酶抑制剂是式I的化合物或其盐酸盐。在一些实施方案中,PD-1受体和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂是结合程序性死亡受体1(PD-1)和/或抑制PD-1活性的抗体或其抗原结合部分,例如是抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,所述癌症或肿瘤选自肝脏肿瘤(例如肝脏恶性肿瘤,诸如肝细胞癌)或肺脏肿瘤(例如肺癌,诸如非小细胞肺癌)。

[0072] 本申请的目的还至少在于提供PD-1或PD-L1的拮抗剂用于治疗癌症的用途,所述

拮抗剂与式I的化合物或其药学上可接受的盐组合使用。

[0073] 本申请的目的还至少在于提供式I的化合物或其药学上可接受的盐用于治疗癌症的用途,所述化合物或其盐与PD-1或PD-L1的拮抗剂组合使用。在一些方案中,PD-1拮抗剂是PD-1单克隆抗体或其抗原结合片段,其特异地结合人PD-1且阻断人PD-L1与人PD-1的结合,和/或,PD-L1拮抗剂是PD-L1单克隆抗体或其抗原结合片段,其特异地结合人PD-1且阻断人PD-L1与人PD-1的结合。

[0074] 本申请的目的还至少在于提供一种药物包,其在独立的容器中分别包含单包装的药物组合物,其中,在一个容器中包含含有式I的化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物,并在第二个容器中包含含有PD-1拮抗剂或PD-L1拮抗剂的药物组合物。

[0075] 在本申请的一些实施方案中,所述药物组合物包含有其量为56~168mg、例如84~168mg的式I化合物。在部分方案中,所述药物组合物包含有其量选自56mg、70mg、84mg、112mg、140mg、168mg或上述任意值形成的范围的式I化合物。在部分方案中,所述药物组合物包含有其量为112mg~168mg的式I化合物。

[0076] 在一些方案中,所述抗PD-1抗体以1mg/kg、2mg/kg、3mg/kg、5mg/kg、6mg/kg、9mg/kg、10mg/kg体重的剂量施用。

[0077] 在一些方案中,所述抗PD-1抗体以能够有效治疗所述癌症的一个或多个统一剂量施用。在一些具体实施方式中,所述统一剂量在大约10mg至大约1000mg抗PD-1抗体的范围内。在一些具体实施方式中,所述统一剂量选自大约100mg、大约150mg、大约200mg、大约250mg、大约300mg、大约350mg、大约400mg、大约450mg、大约500mg、大约600mg、大约700mg、大约800mg、大约900mg、或大约1000mg抗PD-1抗体。在一些具体实施方式中,所述统一剂量选自大约200mg抗PD-1抗体。

[0078] 在一些方案中,抗PD-1抗体的施用治疗以2周(14天)或3周(21天)为一个周期,优选在每个周期第一天(D1)静脉给予抗PD-1抗体。即,所述抗PD-1抗体以每两周一次(q2w)或者每三周一次(q3w)的频率施用。

[0079] 本发明提供包括含有固定剂量抗PD-1抗体的容器的制品。本发明还提供抗PD-L1抗体在制备用于治疗癌症的包括含有固定剂量的抗PD-1抗体的容器的制品中的用途。在一些具体实施方式中,所述容器是管形瓶。所述固定剂量选自大约10mg、大约20mg、大约30mg、大约40mg、大约50mg、大约60mg、大约100mg、大约150mg、大约200mg、大约250mg、大约300mg、大约350mg、大约400mg、大约500mg、或大约1000mg的抗PD-1抗体。在一些具体实施方式中,所述制品进一步包括指导使用者为癌症病人施用所述固定剂量的抗PD-1抗体的包装插页或药品说明书。在一些具体实施方式中,所述制品包括1个或1个以上的管形瓶,所述管形瓶含有大约50mg、100mg、200mg、300mg、350mg、400mg、500mg或600mg的抗PD-1抗体。在一些具体实施方式中,所述制品包括1个管形瓶,所述管形瓶含有大约50mg的抗PD-1抗体。在一些具体实施方式中,所述制品包括1个管形瓶,所述管形瓶含有大约200mg的抗PD-1抗体。在一些具体实施方式中,所述制品包括1个管形瓶,所述管形瓶含有大约350mg的抗PD-1抗体。在一些具体实施方式中,所述制品以50mg/5mL/瓶、100mg/10mL/瓶、200mg/10mL/瓶、或350mg/35mL/瓶的抗PD-1抗体溶液的形式进行包装。

[0080] 本申请的目的还在于提供用于预防或治疗癌症或肿瘤的药物组合,其中,所述药物组合包含酪氨酸激酶抑制剂、以及PD-1和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂。在一些

实施方案中,所述酪氨酸激酶抑制剂是式I的化合物或其盐酸盐。在一些实施方案中,PD-1受体和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂是结合程序性死亡受体1 (PD-1) 和/或抑制PD-1活性的抗体或其抗原结合部分,例如是抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,所述癌症或肿瘤选自肝脏肿瘤(例如肝脏恶性肿瘤,诸如肝细胞癌)或肺脏肿瘤(例如肺癌,诸如非小细胞肺癌)。

[0081] 本申请的目的还在于提供药物组合在制备用于预防或治疗癌症或肿瘤的制剂中的用途,其中,所述药物组合包含酪氨酸激酶抑制剂、以及PD-1和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂。在一些实施方案中,所述酪氨酸激酶抑制剂是式I的化合物或其盐酸盐。在一些实施方案中,PD-1受体和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂是结合程序性死亡受体1 (PD-1) 和/或抑制PD-1活性的抗体或其抗原结合部分,例如是抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,所述癌症或肿瘤选自肝脏肿瘤(例如肝脏恶性肿瘤,诸如肝细胞癌)或肺脏肿瘤(例如肺癌,诸如非小细胞肺癌)。

[0082] 本申请的目的还在于提供单位制剂,其中,所述单位制剂包含:化合物成分,6~12mg的式I化合物或其盐酸盐;以及抗体成分,50~350mg的抗PD-1抗体或其抗原结合片段;其中,化合物成分和抗体成分分别单独包装。

[0083] 本申请的目的还在于提供一种用于预防或治疗癌症或肿瘤的方法,其中,向有需要的受试者给予一份或多份上述的单位制剂。优选地,所述单位制剂中的化合物成分和抗体成分各自分开施用。

#### [0084] 安罗替尼药物组合物

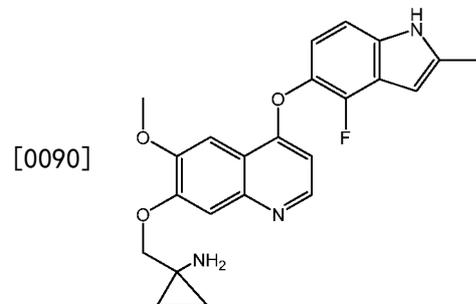
[0085] 在本申请中,安罗替尼药物组合物为包含安罗替尼或盐酸安罗替尼(即,式I的化合物或其盐酸盐)作为活性成分的任意药物组合物。

[0086] 在本申请的一些实施方案中,所述安罗替尼药物组合物的单位剂量包括2mg、6mg、8mg、10mg、或12mg的安罗替尼。

[0087] 在本申请的一些实施方案中,按照给药2周停1周的治疗周期,每个治疗周期给予所述安罗替尼药物组合物的总剂量包括84~168mg。在部分方案中,所述安罗替尼药物组合物的总剂量包括选自84mg、112mg、140mg、168mg或上述任意值形成的范围。在部分方案中,所述安罗替尼药物组合物的总剂量优选包括112mg~168mg。

#### [0088] 安罗替尼

[0089] 如本申请所用,所述安罗替尼(即,式I的化合物)的化学名为1-[[[4-(4-氟-2-甲基-1H-吡啶-5-基)氧基-6-甲氧基喹啉-7-基]氧基]甲基]环丙胺,其具有如下的结构式:



[0091] 如本申请所用,所述安罗替尼包括其非盐形式(例如,自由酸或自由碱),也包括其药学上可接受的盐,所述非盐形式或盐都纳入本申请的保护范围内。例如,所述安罗替尼的

药学上可接受的盐可以是盐酸盐或二盐酸盐。本申请中涉及的安罗替尼或其盐的剂量,除非另有说明,均基于安罗替尼游离碱计算。

[0092] 信迪利单抗

[0093] 如本申请所用,信迪利单抗(Sintilimab, IBI308, IBI-308)是抗PD-1单克隆抗体,其序列和结构可以参见文献CN108473977A的抗体D。2018年12月27日,信达生物的PD-1抗体药物“信迪利单抗注射液”正式被中国国家药品监督管理局(NMPA)批准上市,用于至少经过二线系统化疗的复发性或难治性经典型霍奇金淋巴瘤的治疗。

[0094] 信迪利单抗的重链全长序列:

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGLIIPMFDTAGYAQKFQGRVAITVDESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARAEHSSTGTFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLGK。

[0096] 信迪利单抗的轻链全长序列:

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISWLAWYQQKPGKAPKLLISAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANHLPTFTGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC。

[0098] 14C12H1L1

[0099] 如本申请所用,14C12H1L1是抗PD-1单克隆抗体,其序列和结构可以参见文献(CN106977602A)。在所述14C12H1L1单克隆抗体中,HCDR1包含序列GFAFSSYD(SEQ ID NO:25),HCDR2包含序列ISGGGRYT(SEQ ID NO:26),HCDR3包含序列ANRYGEAWFAY(SEQ ID NO:27),LCDR1包含序列QDINTY(SEQ ID NO:28),LCDR2包含序列RAN(SEQ ID NO:29),LCDR3包含序列LQYDEFPLT(SEQ ID NO:30)。

[0100] 定义和说明

[0101] 除非另有说明,本申请中所用的下列术语具有下列含义。一个特定的术语在没有特别定义的情况下不应该被认为是不确定的或不清楚的,而应该按照本领域普通的含义去理解。当本申请中出现商品名时,意在指代其对应的商品、组合物或其活性成分。

[0102] 如本文所用,术语“抗体”是指具有至少一个抗原结合结构域的抗原结合蛋白。本申请的抗体和其片段可以是整个抗体或其任何片段。因此,本申请的抗体和其片段包括单克隆抗体或其片段和抗体变体或其片段,以及免疫缀合物。抗体片段的实例包括Fab片段、Fab'片段、F(ab)'片段、Fv片段、分离的CDR区、单链Fv分子(scFv)和本领域已知的其它抗体片段。抗体和其片段还可以包括重组多肽、融合蛋白和双特异性抗体。本文公开的抗PD-L1抗体和其片段可以是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型。

[0103] 术语“同种型”是指由重链恒定区基因编码的抗体种类。在一个实施方案中,本文公开的抗PD-1/PD-L1抗体和其片段是IgG1或IgG4同种型。本申请的抗PD-1/PD-L1抗体和其片段可以衍生自任何物种,其包括但不限于小鼠、大鼠、兔、灵长类动物、美洲驼和人。PD-1/PD-L1抗体和其片段可以是嵌合抗体、人源化抗体或完整的人抗体。

[0104] 术语“人源化抗体”是指其中抗原结合位点来源于非人物种且可变区框架来源于人免疫球蛋白序列的抗体。人源化抗体在框架区中可包含置换,使得该框架可能不是所表

达的人免疫球蛋白或种系基因序列的精确拷贝。

[0105] “分离的抗体”表示这样的抗体：其基本上不含有具有不同抗原特异性的其它抗体（例如，分离的特异性地结合PD-1/PD-L1的抗体基本上不含有特异性地结合除PD-1/PD-L1以外的抗原的抗体）。但是，分离的特异性地结合PD-1/PD-L1的抗体可以具有与其它抗原（诸如来自不同物种的PD-1/PD-L1分子）的交叉反应性。此外，分离的抗体可以基本上不含有其它细胞材料和/或化学物质。

[0106] 术语“单克隆抗体”（“mAb”）是指单分子组合物的抗体分子。单克隆抗体组合物显示出对于特定表位的单一结合特异性和亲和力，或就双特异性单克隆抗体而言，显示出对于两种不同表位的双重结合特异性。mAb是分离的抗体的一个例子。通过本领域技术人员已知的杂交瘤技术、重组技术、转基因技术或其它技术，可以生产mAb。分离的抗PD-1/PD-L1单克隆抗体的例子包括但不限于纳武利尤单抗（Nivolumab）（Opdivo®）、帕博利珠单抗（Pembrolizumab）（Keytruda®）、Durvalumab、Avelumab、特瑞普利单抗（JS-001，君实生物）、信迪利单抗（Sintilimab，IBI308，信达生物）、卡瑞利珠单抗（SHR-1210，Camrelizumab，恒瑞医药，可以参见CN105026428B或W02015085847A1）、替雷利珠单抗（BGB-A317，百济神州）、14C12H1L1（中山康方）、杰诺单抗（GB226，嘉和生物）、丽珠单抗（LZM009，丽珠制药）、HLX-10（复宏汉霖）、BAT-1306（百奥泰）、HX008（AK103，康方生物/翰中生物）、AK104（中山康方）、CS1003（基石药业）、SCT-I10A（神州细胞）、F520（山东新时代药业/鲁南制药）、SG001（尚健生物）、GLS-010（誉衡药业）、Atezolizumab（Tecentriq®，罗氏）、Avelumab（Bavencio®，默克/辉瑞）、Durvalumab（Imfinzi®，阿斯利康）KL-A167（科伦药业）、SHR-1316（恒瑞医药）、BGB-333（百济神州）、JS003（君实生物）、STI-A1014（ZKAB0011，兆科药业）、KN035（康宁杰瑞/思路迪）、MSB2311（迈博斯生物）、HLX-20（复宏汉霖）、CS-1001（基石药业）等。

[0107] 抗体的“抗原结合部分”（也称为“抗原结合片段”）表示抗体的一个或多个片段，其保留特异性地结合被完整抗体结合的抗原的能力。

[0108] 如本文所用，术语“衍生的”当用于指相对于参考抗体或其它结合蛋白的分子或多肽时，意指能够与参考抗体或其它结合蛋白特异性地结合相同表位的分子或多肽。

[0109] 如本文所用，术语“EC50”是指有效浓度，抗体的50%最大应答。如本文所用，术语“IC50”是指抑制浓度，抗体的50%最大应答。EC50和IC50两者均可以通过ELISA或FACS分析或本领域已知的任何其它方法进行测量。

[0110] 术语“治疗”一般是指获得需要的药理和/或生理效应的操作。该效应根据完全或部分地预防疾病或其症状，可以是预防性的；和/或根据部分或完全稳定或治愈疾病和/或由于疾病产生的副作用，可以是治疗性的。本文使用的“治疗”涵盖了对患者疾病的任何治疗，包括：(a) 预防易感染疾病或症状但还没诊断出患病的患者所发生的疾病或症状；(b) 抑制疾病的症状，即阻止其发展；或(c) 缓解疾病的症状，即，导致疾病或症状退化。

[0111] 如本文所用，术语“全身治疗”是指药物物质通过血流传送，到达并影响全身细胞的治疗。

[0112] 如本文所用，术语“系统化疗”是指不包括作为多模式治疗的一个环节针对局部晚期疾病进行的化疗的全身化疗，其中，针对局部晚期疾病进行的化疗包括诱导化疗、放疗同期的化疗以及辅助化疗。

[0113] 如本文所用，术语“受试者”表示哺乳动物，诸如啮齿动物、猫科动物、犬科动物和

灵长类动物。优选地,根据本申请的受试者是人。

[0114] “施用”表示使用本领域技术人员已知的多种方法和递送系统中的任一种,向主体物理引入包含治疗剂的组合物。免疫检查点抑制剂(例如,抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体)的施用途径包括静脉内、肌肉内、皮下、腹膜内、脊柱或其它胃肠外施用途径,例如通过注射或输注。本文中使用的短语“胃肠外施用”是指,通常通过注射进行的除了肠内和局部施用以外的施用模式,且包括但不限于,静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、淋巴管内、病灶内、囊内、眶内、心内、真皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内、硬膜外和胸骨内注射和输注、以及体内电穿孔。在某些实施方案中,所述免疫检查点抑制剂(例如,抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体)通过非胃肠外途径施用,在某些实施方案中,口服施用。其它非胃肠外途径包括局部、表皮或粘膜施用途径,例如,鼻内地、阴道地、直肠地、舌下地或局部地。还可以执行施用,例如,一次、多次,和/或在一个或多个延长的时间段中。

[0115] 本文中使用的“不良事件”(AE)是与医学治疗的应用有关的任何不利的和通常非故意的或不希望的迹象(包括异常的实验室发现)、征状或疾病。例如,不利事件可以与响应于治疗的免疫系统的激活或免疫系统细胞(例如,T细胞)的扩增相关。医学治疗可以具有一种或多种相关的AE,并且每种AE可以具有相同或不同的严重性水平。对能够“改变不利事件”的方法的提及是指降低与不同治疗方案的应用相关的一种或多种AE的发生率和/或严重性的治疗方案。

[0116] 本文中使用的“给药间隔”是指在施用给主体的本文公开的制剂的多个剂量之间逝去的时间的量。因而可以将给药间隔指示为范围。

[0117] 本文中使用的术语“给药频率”表示在给定时间中本文公开的制剂的施用剂量的频率。可以将给药频率指示为每个给定时间的给药次数,例如,每周1次或2周1次。

[0118] 术语“统一剂量(flat dose)”的应用是指,不考虑患者的重量或体表面积(BSA)施用给患者的剂量。因此将统一剂量规定为药剂(例如,抗PD-1抗体)的绝对量,而不是规定为mg/kg剂量。例如,60kg人和100kg人将接受相同剂量的抗体(例如,240mg抗PD-1抗体)。

[0119] 关于本申请的组合物的术语“固定剂量”的应用是指,单一组合物中的两种或更多种不同抗体彼此以特定(固定)比率存在于所述组合物中。在某些实施方案中,所述固定剂量是基于所述抗体的重量(例如,mg)。在某些实施方案中,所述固定剂量是基于所述抗体的浓度(例如,mg/ml)。在某些实施方案中,所述mg第一抗体:mg第二抗体的比率是至少约1:1、约1:2、约1:3、约1:4、约1:5、约1:6、约1:7、约1:8、约1:9、约1:10、约1:15、约1:20、约1:30、约1:40、约1:50、约1:60、约1:70、约1:80、约1:90、约1:100、约1:120、约1:140、约1:160、约1:180、约1:200、约200:1、约180:1、约160:1、约140:1、约120:1、约100:1、约90:1、约80:1、约70:1、约60:1、约50:1、约40:1、约30:1、约20:1、约15:1、约10:1、约9:1、约8:1、约7:1、约6:1、约5:1、约4:1、约3:1或约2:1。例如,第一抗体和第二抗体的3:1比率可以是指,瓶中可以含有约240mg第一抗体和80mg第二抗体,或约3mg/ml的第一抗体和1mg/ml的第二抗体。

[0120] 本文提及的术语“基于重量的剂量”是指基于患者的重量计算出的、施用给患者的剂量。例如,当具有60kg体重的患者需要3mg/kg的抗PD-1抗体和1mg/kg的抗CTLA-4抗体时,人们可以从抗PD-1抗体和抗CTLA-4抗体的3:1比率固定剂量制剂中一次性抽取适当量的抗PD-1抗体(即,180mg)和抗CTLA-4抗体(即,60mg)。

[0121] 术语“免疫疗法”表示通过一定方法治疗患有疾病或处于感染或遭受疾病复发的

风险的主体,所述方法包括诱导、增强、抑制或以其它方式改变免疫应答。主体的“治疗”或“疗法”表示在主体上执行的任何类型的干预或过程,或给主体施用活性剂,目的在于逆转、减轻、改善、抑制、减慢或阻止征状、并发症或病症的发作、进展、发展、严重程度或复发,或与疾病相关的生化指标。

[0122] 本文中使用的“PD1/PD-L1阳性的”可以与“至少约1%的PD-1/PD-L1表达”互换使用。在一个实施方案中,通过本领域已知的任意方法可以使用PD-1/PD-L1表达。在另一个实施方案中,通过自动化的IHC测量PD-1/PD-L1表达。在某些实施方案中,“PD-1/PD-L1阳性的”是指存在至少100个在细胞表面上表达PD-1/PD-L1的细胞。

[0123] “程序性死亡受体-1 (PD-1)”表示属于CD28家族的免疫抑制性受体。PD-1主要在体内先前活化的T细胞上表达,并且结合两种配体PD-L1和PD-L2。本文使用的术语“PD-1”包括人PD-1 (hPD-1)、hPD-1的变体、同种体和物种同系物,以及与hPD-1具有至少一个共同表位的类似物。

[0124] “程序性死亡配体-1 (PD-L1)”是针对PD-1的两种细胞表面糖蛋白配体(另一种是PD-L2)之一,其在结合PD-1后下调T细胞活化和细胞因子分泌。

[0125] “主体”包括任何人或非人动物。术语“非人动物”包括但不限于脊椎动物诸如非人灵长类动物、绵羊、狗,和啮齿类动物诸如小鼠、大鼠和豚鼠。在某些实施方案中,所述主体是人。术语“主体”、“受试者”和“患者”在本文中的某些语境下可互换地使用。

[0126] 药物或治疗剂的“治疗有效量”或“治疗上有效的剂量”是当单独使用或与另一种治疗剂联合使用时保护主体免于疾病发作或促进疾病消退的药物的任何量,所述疾病消退通过疾病征状的严重程度降低、无疾病征状阶段的频率和持续时间的增加、或由疾病折磨引起的损伤或失能的预防来证明。使用熟练的从业人员已知的多种方法可以评价治疗剂的促进疾病消退的能力,诸如在临床试验期间在人主体中,在预测对于人类的效力的动物模型系统中,或通过体外测定法中测定所述药剂的活性。

[0127] 本文中使用的“亚治疗剂量”是指,当单独施用用于治疗过度增殖性疾病(例如,癌症)时低于治疗性化合物的常用或典型剂量的治疗性化合物(例如,抗体)的剂量。

[0128] 作为例子,“抗癌药”促进主体中的癌症消退或阻止进一步的肿瘤生长。在某些实施方案中,治疗有效量的药物促进癌症消退至消除癌症的点。“促进癌症消退”是指单独地或与抗肿瘤剂联合施用有效量的药物,导致肿瘤生长或大小的减小、肿瘤的坏死、至少一种疾病征状的严重程度降低、无疾病征状阶段的频率和持续时间的增加、或由疾病折磨引起的损伤或失能的预防。此外,关于治疗的术语“有效的”和“有效性”包括药理学有效性和生理学安全性。药理学有效性表示药物在患者中促进癌症消退的能力。生理学安全性表示由药物施用引起的在细胞、器官和/或生物体水平的毒性水平或其它不利的生理效应(不良作用)。

[0129] 作为用于治疗肿瘤的例子,相对于未治疗的主体,或者,在某些实施方案中,相对于用护理标准疗法治疗的患者,治疗有效量的抗癌药可以将细胞生长或肿瘤生长抑制至少约10%、至少约20%、至少约40%、至少约60%或至少约80%。在本申请的其它实施方案中,可以观察到肿瘤消退并持续至少约20天、至少约40天或至少约60天的时间段。尽管存在治疗有效性的这些最终测量,免疫治疗药物的评价还必须考虑“免疫相关的”应答模式。

[0130] “免疫相关的”应答模式表示在用免疫治疗剂治疗的癌症患者中经常观察到的临

床应答模式,所述免疫治疗剂通过诱导癌症特异性免疫应答或通过改变天然免疫过程而产生抗肿瘤作用。该应答模式的特征在于在肿瘤负荷的初始增加或新病变出现之后的有益的治疗效果,其在传统化学治疗剂的评价中将被分类为疾病进展并且将与药物失效同义。因此,免疫治疗剂的适当评价可以需要长期监测这些药剂对靶疾病的影响。

[0131] 药物的治疗有效量包括“预防有效量”,其为当单独地或与抗肿瘤剂联合施用给处于发生癌症的风险的主体(例如,具有恶化前病症的主体)或具有癌症复发的风险的主体时,抑制癌症的发生或复发的任何药物量。在某些实施方案中,预防有效量完全阻止癌症的发生或复发。“抑制”癌症的发生或复发是指减少癌症的发生或复发的可能性,或完全阻止癌症的发生或复发。

[0132] “复发性”癌症是在对初始治疗(例如手术)产生应答后,在初始部位或远处部位再生的癌症。“局部复发性”癌症是在治疗后,在与先前治疗的癌症相同的位置出现的癌症。

[0133] “不能切除的”癌症是无法通过手术去除的。

[0134] “转移性”癌症是指从身体的一部分(例如肺部)扩散到身体的另一部分的癌症。

[0135] 备选方案(例如,“或”)的应用应当被理解是指指备选方案中的任一个、两个或它们的任意组合。本文中使用的不定冠词“一个”或“一种”应当理解为表示任何列举或枚举的组分中的“一个或多个/一种或多种”。

[0136] 术语“约”、“大约”或“基本上包含”表示在本领域普通技术人员确定的特定值或组成的可接受误差范围内的值或组成,其将部分地取决于如何测量或测定值或组成,即,测量系统的限制。例如,“约”、“大约”或“基本上包含”可以是指按本领域中的实践,在1个或超过1个标准差内。可替换地,“约”或“基本上包含”可以是指与由其修饰的参数或数值相差至多10%或20%(即,±10%或±20%)的范围。例如,约3mg可以包括2.7mg至3.3mg之间(对于10%)或2.4mg至3.6mg(对于20%)之间的任何数字。此外,特别是关于生物学系统或过程,该术语可以是指直到一个数量级或直到数值的至多5倍。当在本申请和权利要求中提供特定值或组成时,除非另有说明,否则“约”或“基本上包含”的含义应当假定在该特定值或组成的可接受误差范围内。

[0137] 本文中使用的术语“约每周一次”、“约每两周一次”或任意其它类似的给药间隔术语是指近似值。“约每周一次”可以包括每7天±1天,即,每6天至每8天。“约每两周一次”可以包括每14天±3天,即,每11天至每17天。类似的近似值适用于,例如,约每3周一次,约每4周一次,约每5周一次,约每6周一次,和约每12周一次。在某些实施方案中,约每6周一次或约每12周一次的给药间隔是指可以在第一周的任意天施用第一剂,然后可以分别在第六周或第十二周的任意天施用第二剂。在其它实施方案中,约每6周一次或约每12周一次的给药间隔是指在第一周的特定天(例如,星期一)施用第一剂,并然后分别在第六周或第十二周的相同天(即,星期一)施用第二剂。类似的原则适用于包括、但不限于“约每2周1次”,“约每月1次”等……的短语。

[0138] 如本文中所述的,任何浓度范围、百分比范围、比率范围或整数范围应当理解为包括在列举的范围内的任意整数的值,且当适当时,包括其分数(诸如整数的十分之一和百分之一),除非另外指出。

[0139] 除特别声明外,本申请中的“约”或“大约”是指在所给定的具体数值范围±5%范围内波动,优选在±2%范围内波动,更优选在±1%范围内波动。例如pH值为约5.5表示pH

为 $5.5 \pm 5\%$ , 优选pH为 $5.5 \pm 2\%$ , 更优选pH为 $5.5 \pm 1\%$ 。

[0140] 术语“药学上可接受的”是针对那些化合物、材料、组合物和/或剂型而言, 它们在可靠的医学判断的范围之内, 适用于与人类和动物的组织接触使用, 而没有过多的毒性、刺激性、过敏性反应或其它问题或并发症, 与合理的利益/风险比相称。

[0141] 术语“药学上可接受的盐”包括碱根离子与自由酸形成的盐或酸根离子与自由碱形成的盐, 例如包括盐酸盐、氢溴酸盐、硝酸盐、硫酸盐、磷酸盐、甲酸盐、乙酸盐、三氟乙酸盐、富马酸盐、草酸盐、马来酸盐、柠檬酸盐、琥珀酸盐、甲磺酸盐、苯磺酸盐或对甲基苯磺酸盐, 优选盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、甲酸盐、乙酸盐、三氟乙酸盐、富马酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐、对甲基苯磺酸盐、钠盐、钾盐、铵盐、氨基酸盐等。本申请中, 当形成药学上可接受的盐时, 所述自由酸与碱根离子的摩尔量之比为约 $1:0.5 \sim 1:5$ , 优选 $1:0.5, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7$ 或 $1:8$ 。本申请中, 当形成药学上可接受的盐时, 所述自由碱与酸根离子的摩尔量之比为约 $1:0.5 \sim 1:5$ , 优选 $1:0.5, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7$ 或 $1:8$ 。

[0142] 术语“固定组合”指活性组分(例如抗PD-1抗体或式I化合物)以固定总剂量或剂量比例, 或以单一实体、药物组合物或制剂的形式同时给予受试者。

[0143] 术语“非固定组合”指两种以上活性组分作为独立的实体(例如药物组合物、制剂)同时、并行或依序且无具体时间限制地给予受试者, 其中所述给予受试者的活性成份达到治疗有效量水平。非固定组合可列举的例子是鸡尾酒疗法, 例如给予3种或以上之活性组分。在非固定组合中, 所述各个活性组分可以作为完全独立的药物组合物进行包装、销售或给药。所述“非固定组合”也包括“固定组合”之间、或“固定组合”与任一或多种活性组分的独立实体的联合使用。

[0144] 如本文所用, “联用”或“联合使用”意指两种或更多种活性物质可以在混合物中一起、作为单一制剂同时地或作为单一制剂以任何顺序依次地施用于受试者。

[0145] 术语“药物组合物”是指一种或多种本申请的活性成分(例如抗PD-1抗体或式I化合物)或其药物组合与药学上可接受的辅料组成的混合物。药物组合物的目的是有利于对受试者给予本申请的化合物或其药物组合。

[0146] 术语“协同效应”指两种或多种成份(例如抗PD-1抗体或式I化合物)所产生的效果(例如抑制结肠癌生长、或缓解结肠癌症状)大于成份单独给药的效果的简单加成。

[0147] 施用方式

[0148] 下述内容并非限制本申请药物组合的施用方式。

[0149] 本申请的药物组合中的组分可以各自分开配制、或者其中的部分或全部共同配制。在一个实施方案中, 本申请的药物组合可以配制成适合于单次或多次施用的药物组合物。

[0150] 本申请的药物组合中的组分可以各自单独施用、或者其中的部分或全部共同施用。本申请的药物组合中的组分可以基本上不同时施用, 或者其中的部分或全部基本上同时施用。

[0151] 本申请的药物组合中的组分可以各自独立地、或者其中的部分或全部共同以适合的各种途径施用, 包括但不限于, 口服或肠胃外(通过静脉内、肌内、局部或皮下途径)。在一些实施方案中, 本申请的药物组合的组分可以各自独立地、或者其中的部分或全部共同口服施用或注射施用, 例如静脉注射或腹腔注射。

[0152] 本申请的药物组合中的组分可以各自独立地、或者其中的部分或全部共同是适合的剂型,包括但不限于,片剂、含片、丸剂、胶囊剂(例如硬胶囊、软胶囊、肠溶胶囊、微囊剂)、酞剂、颗粒剂、糖浆剂、注射剂(肌肉内、静脉内、腹腔内)、颗粒剂、乳剂、悬浮液、溶液、分散剂和用于口服或非口服给药的缓释制剂的剂型。

[0153] 本申请的药物组合中的组分可以各自独立地、或者其中的部分或全部共同含有药学上可接受的载体和/或赋形剂。

[0154] 本申请的药物组合还可以包含另外的治疗剂。在一个实施方式中,所述另外的治疗剂可以是本领域已知的癌症治疗剂,优选肺癌治疗剂。

[0155] 在一些具体实施方案中,本申请考察了盐酸安罗替尼、抗PD-1抗体单用或合用对肺脏肿瘤的疗效。实验结果令人惊奇的发现,盐酸安罗替尼与抗PD-1抗体可具有明显的协同效应,打破了机体已经建立的对肿瘤细胞的免疫耐受。

### 附图说明

[0156] 图1示出了盐酸安罗替尼、甲磺酸乐伐替尼单用或与抗mPD-1抗体合用对小鼠肝癌H22皮下移植瘤生长的影响。

[0157] 图2示出了盐酸安罗替尼、甲磺酸乐伐替尼单用或与抗mPD-1抗体合用的各处理组小鼠个体肿瘤生长曲线。

[0158] 图3示出了实验结束时(D17),盐酸安罗替尼、甲磺酸乐伐替尼单用或与抗mPD-1抗体合用的各处理组个体肿瘤体积(上图)和个体肿瘤重量(下图)。

[0159] 图4示出了盐酸安罗替尼、甲磺酸乐伐替尼单用或与抗mPD-1抗体合用对荷瘤小鼠体重的影响。

[0160] 图5示出了盐酸安罗替尼、甲磺酸乐伐替尼单用或与抗mPD-1抗体合用对肝癌H22皮下移植瘤的疗效的肿瘤的照片。

[0161] 图6示出了14C12H1L1联合盐酸安罗替尼一线治疗不可切除的肝细胞癌的开放性、多中心Ib/II期临床研究的13位患者的SLD(治疗开始后记录到的最小靶病灶长径的总和)变化。

[0162] 图7示出了14C12H1L1联合盐酸安罗替尼一线治疗不可切除肝的细胞癌的开放性、多中心Ib/II期临床研究的13位患者随时间的SLD变化。

### 具体实施方式

[0163] 下面结合具体实施例对本申请进行进一步的描述,然而,本申请中这些实施例仅用于阐明而不限制本申请的范围。同样,本申请不限于本文描述的任何具体优选的实施方案。本领域技术人员应该理解,对本申请技术特征所作的等同替换、或相应的改进仍属于本申请的保护范围之内。除特别说明的以外,以下实施例采用的试剂均为市售产品,溶液的配制可以采用本领域常规技术。

[0164] 表1缩略语表

[0165]

缩略语	解释	缩略语	解释
ADA	抗药抗体	INR	国际标准化比率
ADCC	抗体依赖的细胞介导的细胞毒性作用	IRB	机构审查委员会
AE	不良事件	IRR	输注相关反应
AKT	蛋白激酶 B	ITSM	免疫受体酪氨酸转换基序
ALB	白蛋白	IV	静脉内
ALP	碱性磷酸酶	Keytruda	帕博利珠单抗
ALT	丙氨酸氨基转移酶	LDH	乳酸脱氢酶
ANA	抗核抗体	LVEF	左室射血分数
ANC	中性粒细胞绝对计数	MedDRA	药事管理的标准医学术语集
APTT	活化部分凝血酶原时间	NLPHL	结节性淋巴细胞为主型
ASCT	自体造血干细胞移植	NOAEL	无毒性反应剂量
AST	门冬氨酸氨基转移酶	MTD	最大耐受剂量
BSA	体表面积	MRI	核磁共振成像
CAR-T	嵌合抗原受体 T 细胞疗法	NCI	美国国立癌症研究所
CI	置信区间	NYHA	纽约心脏病协会
CK	肌酸激酶	ORR	客观缓解率
CK-MB	肌酸激酶同工酶	OS	总体生存期
CL	清除率	Opdivo	欧狄沃
Cmax	峰浓度, 最大血药浓度	PD	疾病进展
Cmin	谷浓度	PD-1	程序性死亡受体 1
CNS	中枢神经系统	PD-L1	程序性死亡配体 1
CPS	肿瘤细胞和免疫细胞的 PD-L1 表达总分/肿瘤细胞数目	PD-L2	程序性死亡配体 2
Cr	肌酐	PET-CT	正电子发射计算机断层显像
CR	完全缓解	PI3K	磷脂酰肌醇 3 激酶
CRA	临床监查员	PKC	蛋白激酶 C
CRO	合同研究组织	PKCS	PK 浓度集
CT	计算机断层成像	PKPS	PK 参数分析集
CTCAE	不良事件常用术语评定标准	Pembrolizu- mab	帕博利珠单抗
CTLA-4	细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4	PFS	无进展生存期
CSS	稳态血药浓度	PS	体能状态
DBIL	直接胆红素	PLT	血小板
DCR	疾病控制率	PK	药代动力学
DNA	脱氧核糖核酸	p.o.	口服用药
DOR	缓解持续时间	PT	凝血酶原时间
DC 细胞	树突状细胞	PPS	符合方案集
D-Dimer	D-2 聚体	PT	血浆凝血酶原时间
EC50	半最大效应浓度	QTc	按心率校正的 QT 间期
ECOG	美国东部肿瘤协作组	RBC	红细胞

[0166]	EC	伦理委员会	RECIST	实体瘤疗效评价标准
	ECG	心电图	R/M	复发/转移性
	eCRF	电子病历报告表	SCCHN	头颈鳞状
	EDC	电子数据采集系统	SAE	严重不良事件
	EPO	促红细胞生成素	SCCHN	头颈部鳞癌
	EMA	欧洲药品管理局	SDV	源数据核查
	FDA	美国食品药品监督管理局	SUSAR	相关/可疑非预期严重不良事件
	FDG	18F-脱氧葡萄糖	SLE	系统性红斑狼疮
	FGB	纤维蛋白原	SS	安全数据集
	GCP	临床试验质量管理规范	SUSAR	相关/可疑非预期严重不良事件
	GGT	$\gamma$ -谷氨酰转移酶	T1	肿瘤浸润基膜
	GM-CSF	粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子	T1/2	半衰期
	Glu	葡萄糖	Ta	非浸润性肿瘤
	HDT	高剂量化疗	TCR	T 细胞表面受体
	HGB	血红蛋白	Tecentriq®	阿特殊单抗
	HIV	人免疫缺陷病毒	TEN	中毒性表皮坏死松解症
	HPV	人乳头瘤病毒	TPS	肿瘤比例评分
	ICH	国际协调会议	Tis	原位癌
	IEC	独立伦理委员会	Tmax	达峰时间
	IFN	干扰素	TMB	肿瘤突变负荷
Ig	免疫球蛋白	TNF	肿瘤坏死因子	
IL	白细胞介素	ULN	正常值上限	
IHC	免疫组化检查	Vss	稳态分布容积	

[0167] 实施例一盐酸安罗替尼联合用药治疗晚期非小细胞肺癌

[0168] 本实施例披露了盐酸安罗替尼联合用药治疗晚期非小细胞肺癌探索性研究结果。主要目标人群为驱动基因阴性(即EGFR、ALK和ROS1突变阴性)的经组织学或细胞学证实的不能手术治疗且不能接受根治性同步放化疗的局部晚期(IIIIB)、转移性或复发性(IV期)NSCLC患者。

[0169] 主要研究终点:安全性、ORR。

[0170] 次要研究终点:DCR、PFS、OS。

[0171] 无进展生存期(PFS):定义为从首次给药直至肿瘤客观进展或死亡时间。

[0172] 总生存期(OS):定义为首次给药开始至因任何原因引起死亡的时间。以天数计,失访的受试者,通常将最后一次随访时间计算为死亡时间。

[0173] 关键入选标准:中国IIIIB/IV期NSCLC;既往未接受系统治疗;分子分型明确;18~75岁;PS评分:0~1分;预计生存期超过3月;有足够器官储备功能;没有症状的脑转移。

[0174] 关键排除标准:先前接受系统抗癌治疗;具有影响口服药物的多种因素;已知的有症状脑转移、脊髓压迫、癌性脑膜炎,或筛选时CT或MRI检查发现脑或者软脑膜的疾病者;中央型空洞型鳞癌或存在出血倾向;存在任何重度和/未能控制的疾病的患者。

[0175] 盐酸安罗替尼:淡黄色结晶性粉末,含量98.9%,批号17316007,2-8℃避光、保存。盐酸安罗替尼为正天晴药业集团股份有限公司提供。盐酸安罗替尼用蒸馏水配制并稀释到所需浓度。

[0176] 给药剂量:

[0177] 抗PD-1抗体:每个周期(共21天)的第一天(D1)施用信迪利单抗注射剂,200mg,静

脉输注,每21天给药一次。

[0178] 盐酸安罗替尼胶囊(活性成分为安罗替尼二盐酸盐):抗PD-1抗体注射液开始输注±5min内空腹服用盐酸安罗替尼胶囊12mg,连续口服2周停1周,即21天为一个治疗周期。

[0179] 试验开始前将本试验的试验方案、电子病例报告表副本、知情同意书样稿等呈交临床研究负责单位及各参研单位伦理委员会进行了审查,只有获得同意进行临床试验的伦理委员会批件后才能进行临床试验。临床试验开始前研究人员向所有受试者详细介绍本试验的目的、风险及受益,确保所有受试者在试验前都已知情同意,并签署知情同意书,并在试验过程中充分保障受试者的权益。研究者严格遵循赫尔辛基宣言(2013)的人体医学研究的伦理准则及《药物临床试验质量管理规范(2003)》等相关法律法规的规定履行研究者的职责。

[0180] 截至2019年1月25日已有11位患者具备疗效评价条件。该11位参加研究的患者基本情况和疗效评估结果见表2,其中疗效评估时间分别为第二周期(约42天)和第四周期(约84天);疗效评价的统计结果参见表3。

[0181] 表2参加研究的患者基本情况和疗效评估结果

编号	年龄	病理	分期	首次用药时间	疗效评估	
					第二周期	第四周期
1	71	腺癌	C-T2N1M1a(脑)IV期	2018.9.21	SD(-25.32%)	PR(-42.8%)
2	64	鳞癌	C-T4N3M0 IIIb期	2018.10.17	SD(-6.65%)	SD(-18.92%)
3	66	鳞癌	C-T2bN3M0 IIIb期	2018.11.1	PR(-33.02%)	PR(-53.11%)
4	61	腺癌	C-T4(侵犯胸壁) IIIc期	2018.11.5	PR(-50.63%)	
[0182] 5	65	非小	C-T2bN3M0 IIIb期	2018.11.12	PR(-31.11%)	
6	58	鳞癌	C-T1N3(锁骨上)M0 IIIb期	2018.11.20	PR(-21.0%)	
7	65	腺癌	C-T1aN3M0 IV期	2018.11.30	SD(-21.05%)	PR(-31.64%)
8	65	鳞癌	C-T4N3M1(胸膜,肺内)IV期	2018.12.3	SD(-21.0%)	
9	61	鳞癌	C-T4N3M0 IIIc期	2018.12.6	SD(-6.59%)	
10	61	鳞癌	C-T4N3M0 IIIb	2018.12.6	PR(-30.27%)	
11	68	鳞癌	C-T2N2M1(骨,肺)IV期	2018.12.25	SD(-27.76%)	

[0183] 本项安罗替尼联合一线治疗晚期非小细胞肺癌的探索性数据研究结果提示了令人惊讶的疗效,联合信迪利单抗的ORR:63.6%,DCR:100%(参见表3),PFS及OS值得期待。同时,安罗替尼一线联合模式可显示出高度的患者耐受(详细结果未示出)。

[0184] 表3安罗替尼联合信迪利单抗疗效评价

疗效	例数(目前11例疗效评价)
CR	0/11(0.0%)
PR	7/11(63.6%)
[0185] SD	4/11(36.4%)
PD	0/11(0.0%)
ORR	7/11(63.6%)
DCR	11/11(100.0%)

[0186] 实施例二盐酸安罗替尼联合用药治疗肝癌

[0187] 1. 药物信息

[0188] 盐酸安罗替尼:淡黄色结晶性粉末,含量98.9%,批号17316007,有效期至2018年

12月,2-8℃避光、保存。

[0189] 甲磺酸乐伐替尼:类白色结晶性粉末,含量98.7%,批号19916003,有效期至2019年6月,2-8℃避光、保存。

[0190] Anti-mouse PD-1(简称:mPD-1):无色透明液体,纯度>95%,浓度7.83mg/ml,批号665418F1,2-8℃避光、保存。

[0191] 2.提供单位

[0192] 盐酸安罗替尼、甲磺酸乐伐替尼由正大天晴药业集团股份有限公司提供。

[0193] mPD-1,采购自Bio X Cell公司,规格:InVivoMAb anti-mouse PD-1(CD279)。

[0194] 3.配制方法

[0195] 盐酸安罗替尼、甲磺酸乐伐替尼用蒸馏水配制并稀释到所需浓度;mPD-1用生理盐水稀释到所需浓度,临用时配制。

[0196] 4.细胞

[0197] 将H22细胞在10-cm培养皿中培养,培养条件为RPMI 1640培养基中加10%胎牛血清以及青霉素、链霉素,于37℃、含5%CO<sub>2</sub>空气的培养箱中培养。一周2次传代,当细胞呈指数生长时,收集细胞,计数,接种。

[0198] 5.实验动物

[0199] KM小鼠,6-7周,雌性,购自上海杰思捷实验动物有限公司。生产许可证号:SCXK(沪)2013-0006;动物合格证号No.311620400013790。饲养环境:SPF级。

[0200] 本实验动物的使用及福利遵照“国际实验动物评估和认可委员会(AAALAC)”的规定执行。每天监测动物的健康状况及死亡情况,例行检查包括观察受试物或药物对动物日常行为表现的影响如行为活动、体重变化、外观体征等。

[0201] 6.实验指标

[0202] 实验指标为考察药物对肿瘤生长的影响,具体指标为T/C(%)或抑瘤率TGI(%)。

[0203] 每周二次用游标卡尺测量肿瘤直径,肿瘤体积(V)计算公式为:

[0204] 肿瘤体积(V)计算公式为:

[0205]  $V=1/2 \times a \times b^2$ 其中a、b分别表示长、宽。

[0206]  $T/C(\%) = (T - T_0) / (C - C_0) \times 100$ 其中T、C分别为测试组和对照组动物中的实验结束时的肿瘤体积;T<sub>0</sub>、C<sub>0</sub>分别为测试组和对照组动物中的实验开始时的肿瘤体积。

[0207] 抑瘤率(TGI)(%) = 100 - T/C(%)。

[0208] 当肿瘤出现消退时,抑瘤率(TGI)(%) = 100 - (T - T<sub>0</sub>) / T<sub>0</sub> × 100

[0209] 如果肿瘤比起始体积缩小,即T < T<sub>0</sub>或C < C<sub>0</sub>时,即定义为肿瘤部分消退(PR);如果肿瘤完全消失,即定义为肿瘤完全消退(CR)。

[0210] 7.实验实施

[0211] 每只小鼠皮下接种H22细胞,待肿瘤长到100~200mm<sup>3</sup>时,将小鼠随机分组并给药;小鼠灌胃(i.g.)或腹腔注射(IP)给药;溶剂组灌胃给药相同体积的蒸馏水;给药体积0.1mL/10g体重;具体给药剂量和给药方案见表4。

[0212] 表4给药剂量和给药方案

肿瘤	药物	动物#	剂量 (mg/kg)	给药途径	给药时间
[0213] H22	对照	10	溶剂	i.g.	QD×17
	盐酸安罗替尼	10	1	i.g.	QD×17
	甲磺酸乐伐替尼	10	5	i.g.	QD×17
	mPD-1	10	1	IP	D0、D3、D7、D10、D14
	盐酸安罗替尼+mPD-1	10	1/1	i.g./IP	QD×17 / D0、D3、D7、D10、D14
	甲磺酸乐伐替尼+mPD-1	10	5/1	i.g./IP	QD×17 / D0、D3、D7、D10、D14

[0214] 注:随机分组,第一次给药时间为D<sub>0</sub>;IP:腹腔注射;i.g.,灌胃给药;QD,每日一次。

[0215] 实验结束后,或当动物的肿瘤体积达到1500mm<sup>3</sup>的安乐死终点时,二氧化碳吸入处死动物,随后解剖取肿瘤组织并称重拍照。

#### [0216] 8. 实验结果

[0217] 盐酸安罗替尼(1mg/kg, i.g., QD×17)能够抑制小鼠肝癌H22皮下移植瘤的生长,抑瘤率为61.7%;甲磺酸乐伐替尼(5mg/kg, i.g., QD×17)对H22皮下移植瘤的抑瘤率为79%;mPD-1(1mg/kg, IP, 每周2次,共5次)对H22的抑瘤率为29.3%,有2/10肿瘤完全消退;盐酸安罗替尼与mPD-1合用抑瘤率可提高到79.5%,有1/10肿瘤部分消退和1/10肿瘤完全消退;甲磺酸乐伐替尼与mPD-1合用对H22的抑瘤率为63.4%,有1/10肿瘤部分消退。荷瘤小鼠对盐酸安罗替尼与mPD-1合用药物能很好耐受,没有明显体重减轻等症状发生。相比较,盐酸安罗替尼与mPD-1合用对肝癌H22皮下移植瘤的疗效强于盐酸安罗替尼或mPD-1单药疗效。结果见表5。

[0218] 表5对小鼠肝癌H22皮下移植瘤的疗效

项目 分组	平均肿瘤体积 (mm <sup>3</sup> )		平均肿瘤体积 (mm <sup>3</sup> )		% T/C	抑瘤率 (%)	部分消退	完全消退	实验开始 每组 动物数	实验结束 每组 动物数
	D0	SEM	D17	SEM	D17					
溶剂	130.1	±5.7	2336.1	±376.4	-	-	0	0	10	10
盐酸安罗替尼 1mg/kg	131.4	±4.7	975.3	±224.9	38.3	61.7	0	0	10	10
甲磺酸乐伐替尼 5mg/kg	127.6	±4.0	590.8	±129.5	21.0	79.0	0	0	10	10
mPD-1 1mg/kg	135.9	±4.6	1696.1	±536.1	70.7	29.3	0	2	10	10
盐酸安罗替尼 1mg/kg+mPD-1 1mg/kg	131.3	±3.0	583.9	±185.8	20.5	79.5	1	1	10	10
甲磺酸乐伐替尼 5mg/kg+mPD-1 1mg/kg	135.9	±6.4	942.4	±230.5	36.6	63.4	1	0	10	10

[0220] 对各给药组小鼠肿瘤情况进行分析,结果如下。

[0221] 如图1所示,给药后D0-D17,各给药组小鼠的平均肿瘤体积都随着给药天数的增加而增加,但各组的增幅不同。溶剂对照组小鼠平均肿瘤体积增加最快,D17体积最大,其它组D17平均肿瘤体积情况如下:mPD-1(1mg/kg) > 盐酸安罗替尼(1mg/kg) > 甲磺酸乐伐替尼(5mg/kg) > 甲磺酸乐伐替尼(5mg/kg)+mPD-1(1mg/kg) > 盐酸安罗替尼(1mg/kg)+mPD-1(1mg/kg) > 甲磺酸乐伐替尼(5mg/kg)。

[0222] 如图2所示,给药后D0-D17,各组小鼠个体肿瘤生长情况与图1较为一致,溶剂对照组呈现快速增长趋势,盐酸安罗替尼(1mg/kg)+mPD-1(1mg/kg)增长最为平缓。

[0223] 如图3所示,试验结束(D17)各剂量组的小鼠个体肿瘤体积和肿瘤重量:溶剂对照组>mPD-1(1mg/kg)>甲磺酸乐伐替尼(5mg/kg)+mPD-1(1mg/kg)>盐酸安罗替尼(1mg/kg)>甲磺酸乐伐替尼(5mg/kg)>盐酸安罗替尼(1mg/kg)+mPD-1(1mg/kg)。

[0224] 如图4所示,给药D0-D17,溶剂对照组和mPD-1组小鼠体重呈现稳定增加,甲磺酸乐伐替尼(5mg/kg)+mPD-1(1mg/kg)、盐酸安罗替尼(1mg/kg)、甲磺酸乐伐替尼(5mg/kg)、盐酸安罗替尼(1mg/kg)+mPD-1(1mg/kg)组没有明显体重减轻等症状发生。

[0225] 如图5所示,给药结束后解剖小鼠取出肿瘤,发现肿瘤增长情况与图1结果一致。

[0226] 甲磺酸乐伐替尼(5mg/kg, i.g., QD 17)明显抑制小鼠肝癌H22皮下移植瘤的生长,盐酸安罗替尼(1mg/kg)+mPD-1(1mg/kg)能够达到基本相同的肿瘤抑制效果,并且在抑制肿瘤生长效果上,要优于甲磺酸乐伐替尼,但所用剂量可大大降低,有利于降低药物副作用风险;mPD-1对H22有一定疗效,但盐酸安罗替尼与mPD-1合用时能够对H22抑瘤率有明显提高,并且荷瘤小鼠可对合用药物表现很好的耐受。

[0227] 实施例三抗PD-1单克隆抗体的制备

[0228] PD-1杂交瘤细胞株的建立

[0229] 1.根据分子生物学方法制备具有相应氨基酸序列的融合蛋白PD-1,用上述方法制备的PD-1融合蛋白作为抗原,用弗氏佐剂进行乳化免疫BALB/C小鼠。小鼠产生免疫应答后取其脾细胞与小鼠骨髓瘤细胞进行细胞融合成杂交瘤细胞,形成的杂交瘤细胞使用96孔板进行培养。

[0230] 2.针对各杂交瘤细胞株细胞分泌的抗体,用PD-1-hFc作为抗原包被酶标板,用含1%BSA的PBS缓冲液封闭酶标板,包被好的酶标板用于进行间接ELISA法筛选分泌与PD-1特异性结合的新的抗体的杂交瘤细胞。

[0231] 3.通过竞争ELISA法,从间接ELISA筛选得到的杂交瘤细胞中筛选出能够分泌与PD-L1竞争结合PD-1的单克隆抗体的杂交瘤细胞。

[0232] 4.将筛选得到的细胞株进行亚克隆,从而筛选得到分泌与PD-L1竞争特异性结合PD-1抗体的单克隆稳定细胞株。具体做法如下:对需要进亚克隆的细胞用进行活细胞计数,根据活细胞数量用含15%胎牛血清的IMDM培养基进行稀释接种到96孔细胞培养板中培养,理论接种的细胞密度为1细胞/孔。待细胞长成单克隆细胞团后用ELISA方法进行筛选,经多次亚克隆及筛选后,得到稳定单克隆细胞株。

[0233] 5.得到稳定细胞株后,用含10%的低IgG胎牛血清对稳定细胞株进行培养,在培养7~10天后收集细胞培养上清进行抗体纯化得到相应的抗PD-1抗体。

[0234] 抗体人源化设计

[0235] 为构建人源化抗体,将鼠源抗体的可变区氨基酸序列与人的可变区基因序列进行比对。通过选择性突变部分鼠源性氨基酸序列至人源化氨基酸序列,分别设计出多种人源化抗体。

[0236] 人源化抗体1的重链可变区序列为:

EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFTFSSYGMSWVRQTPEKSLEWVATISGGGSDTYYPDSVKG  
[0237] RFTISRDNANKNNLYLQMSLRSEDALYYCARQLNYAWFAYWGQGLTVSAAKTPPSVYRSSKGNSS  
LAAVTS (SEQ ID NO:1)

- [0238] 人源化抗体1的轻链可变区序列为：  
DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDNYGISFMNWFQKPGQPPELLIYTSSNQSGVPARFSGS
- [0239] GSGTDFSLNIHPMEEDDTAMYFCQSQKEVPWTFGGGKLEIKR (SEQ ID NO:4)
- [0240] 人源化抗体2的重链可变区序列为：  
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGSDTYYPDSVKG
- [0241] RFTISRDN SKNNLYLQMSSLRAEDTAVYYCARQLNYAWFAYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:2)
- [0242] 人源化抗体2的轻链可变区序列为：  
DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVDNYGISFMNWFQKPGQPPELLIYTSSNQGTGVPARFSGS
- [0243] GSGTDFTLNINPMEADDTAMYFCQSQKEVPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:5)
- [0244] 人源化抗体3的重链可变区序列为：  
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGSDTYADSVKG
- [0245] RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQLNYAWFAYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:3)
- [0246] 人源化抗体3的轻链可变区序列为：  
DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVDNYGISFMNWFQKPGQPPELLIYTSSNKDTGVPARFSGS
- [0247] GSGTDFTLTINPMEAEDTAVYYCQSQKEVPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:6)
- [0248] 人源化抗体4的重链可变区序列为：  
EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFAFSSYDMSWVRQTPEKRLEWVATISGGGRYTYYPDSVKG
- [0249] RFTISRDN ARNTLYLQMSSLRSEDALYYCANRYGEAWFAYWGQGLTVTVSA (SEQ ID NO:7)
- [0250] 人源化抗体4的轻链可变区序列为：  
DIKMTQSPSSMYASLGERVTFTCKASQDINTYLSWFQKPGKSPKTLIYRANRLVDGVP SRFSGSGSG
- [0251] QDYSLTISSLEYEDMGIYYCLQYDEFPLTFGAGTKLEL (SEQ ID NO:9)
- [0252] 人源化抗体5的重链可变区序列为：  
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFSSYDMSWVRQAPGKGLDWVATISGGGRYTYYPDSVKG
- [0253] RFTISRDN SKNNLYLQMNSLRAEDTALYYCANRYGEAWFAYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:8)
- [0254] 人源化抗体5的轻链可变区序列为：  
DIQMTQSPSSMSASVGDRTFTCRASQDINTYLSWFQKPGKSPKTLIYRANRLVSGVPSRFSGSGSG
- [0255] QDYTLTISSLQPEDMATYYCLQYDEFPLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO:10)
- [0256] 人源化抗体6的重链可变区序列为：  
EVQLVQSGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSSYGMSWVRQTPEKGLDWVATISGGGRD TYYPDSVKG
- [0257] RFTISRDN SKNNLYLQMNSLRAEDTALYYCARQKGEAWFAYW GQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 11)
- [0258] 人源化抗体6的轻链可变区序列为：  
DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVDNYGISFMNWFQKPGQPPELLIYAASNKGTGVPARFSGS
- [0259] GSGTDFTLNIHPMEENDTAMYFCQSQKEVPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 14)
- [0260] 人源化抗体7的重链可变区序列为：  
EVQLVQSGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLDWVATISGGGRD TYYPDSVK
- [0261] GRFTISRDN SKNNLYLQMNSLRAEDTALYYCARQKGEAWFAYW GQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 12)
- [0262] 人源化抗体7的轻链可变区序列为：  
DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVDNYGISFMNWFQKPGQPPELLIYAASNKGTGVPARFSGS
- [0263] GSGTDFTLNINPMEENDTAMYFCQSQKEVPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 15)
- [0264] 人源化抗体8的重链可变区序列为：  
EVQLVQSGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLDWVATISGGGRD TYYPDSVK
- [0265] GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQKGEAWFAYW GQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 13)
- [0266] 人源化抗体8的轻链可变区序列为：  
DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVDNYGISFMNWFQKPGQPPELLIYAASNKATGVPARFSGS
- [0267] GSGTDFTLNINPMEANDTAVYYFCQSQKEVPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 16)

[0268] 人源化抗体8A的重链序列为:

EVQLVQSGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLDWVATISGGGRDTYYPDSVK  
GRFTISRDNKNNLYLQMNSLRAEDTALYYCARQKGEAWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS  
TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNV

[0269] PSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMIRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYV  
DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY  
TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQE  
GNVFSCSVMHEALHHYTQKSLSLGK (SEQ ID NO: 17)

[0270] 人源化抗体8A的轻链序列为:

DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESDNYGISFMNWFQKPGQPKLLIYAASNKGTGVPARFSGS  
GSGTDFTLNINPMEENDTAMYFCQKSKEVPWTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLL  
NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV  
TKSFNRGEC (SEQ ID NO: 18)

[0272] 人源化抗体9的重链可变区序列为:

QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYYMYWVRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTNFNEKF  
[0273] KNRVTLTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQGTTVTVSS (SEQIDNO:31)

[0274] 人源化抗体9的轻链可变区序列为:

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQKPGQAPRLLIYLASYLESVGPARGSGS  
[0275] GSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGKVEIK (SEQIDNO:34)

[0276] 人源化抗体9的重链序列为:

QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYYMYWVRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTNFNEKF  
KNRVTLTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAP  
CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCN  
[0277] VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQF  
NWXVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ  
REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK  
SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGK (SEQIDNO:37)

[0278] 人源化抗体9的轻链序列为:

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQKPGQAPRLLIYLASYLESVGPARGSGS  
GSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNN  
[0279] FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK  
SFNRGEC (SEQIDNO:40)

[0280] 人源化抗体10的重链可变区序列为:

QVQLVESGGGVVQGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAWIWYDGSKRYADSVK  
[0281] GRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLTVTVSS (SEQIDNO:32)

[0282] 人源化抗体10的轻链可变区序列为:

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGT  
[0283] DFTLTISSLEPEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQIDNO:35)

[0284] 人源化抗体10的重链序列为:

QVQLVESGGGVVQGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAWIWYDGSKRYADSVK  
GRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA  
ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNV  
[0285] VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVE  
VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP  
SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVF  
SCSVMHEALHNHYTQKSLSLGK (SEQIDNO:38)

[0286] 人源化抗体10的轻链序列为:

[0287] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGGT  
DFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRFTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR  
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR  
GEC (SEQIDNO:41)

[0288] 人源化抗体11的重链可变区序列为:

[0289] EVQLLESGGVLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFGMTWVRQAPGKGLEWVSGISGGGRDITYFADSVKG  
RFTISRDNKNTLYLQMNSLKGEDTAVYYCVKWGNIYFDYWGQGLTVTVSS (SEQIDNO:33)

[0290] 人源化抗体11的轻链可变区序列为:

[0291] DIQMTQSPSSLSASVGDITITCRASLSINTFLNHWYQQKPGKAPNLLIYAASSLHGGVPSRFSGSGGT  
DFTLTIRTLQPEDFATYYCQQSSNTPFTFGPGTVVDFR (SEQIDNO:36)

[0292] 人源化抗体11的重链序列为:

[0293] EVQLLESGGVLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFGMTWVRQAPGKGLEWVSGISGGGRDITYFADSVKG  
RFTISRDNKNTLYLQMNSLKGEDTAVYYCVKWGNIYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCRSTS  
ESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPS  
NTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVD  
GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVY  
TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQE  
GNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQIDNO:39)

[0294] 人源化抗体11的轻链序列为:

[0295] DIQMTQSPSSLSASVGDITITCRASLSINTFLNHWYQQKPGKAPNLLIYAASSLHGGVPSRFSGSGGT  
DFTLTIRTLQPEDFATYYCQQSSNTPFTFGPGTVVDFRRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR  
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR  
GEC (SEQIDNO:42)

[0296] 全基因合成编码上述人源化抗体的核酸序列,并构建到表达载体。提取表达载体DNA,转染哺乳动物细胞293细胞。细胞转染后,抗体在哺乳动物细胞内表达,并分泌到细胞外。通过抗体A亲和层析柱,纯化表达的抗体,即可获得人源化抗体蛋白。这些实验操作均为本领域已知的常规操作。

[0297] 实施例四 14C12H1L1联合盐酸安罗替尼一线治疗不可切除的肝细胞癌的临床研究

[0298] 本实施例披露了早期的14C12H1L1联合盐酸安罗替尼一线治疗不可切除的肝细胞癌的开发性、多中心Ib/II期临床研究结果。

[0299] 本研究是一项开放性、多中心Ib/II期临床研究,目的是评价14C12H1L1联合安罗替尼一线治疗不可切除的肝细胞癌的有效性,即安全性。

[0300] 主要终点:根据RECISIT v1.1评估的客观缓解率(ORR)。

[0301] 次要终点:(1)研究者根据RECISIT v1.1评估的疾病控制率(DCR)、缓解持续时间(DOR):至缓解时间(TTR)、无进展生存期(PFS)和疾病进展时间(TPP);(2)总生存期(OS);(3)安全评估:AE的发生率和严重程度、有临床意义的异常实验室检查结果。

[0302] 无进展生存期(PFS):定义为从首次给药直至肿瘤客观进展或死亡时间。

[0303] 总生存期(OS):定义为首次给药开始至因任何原因引起死亡的时间。以天数计,失访的受试者,通常将最后一次随访时间计算为死亡时间。

[0304] 持续缓解时间(DOR):定义为从第一次评价为CR或者PR开始至第一次评价为PD或死亡的时间。

[0305] 至缓解时间(TTR):为受试者首次用药开始至第一次评价为CR或者PR的时间。

[0306] 试验药物

[0307] 14C12H1L1注射液,100mg/10ml溶液,生产厂家:康方天成(广东)制药有限公司,2-8℃避光保存。

[0308] 盐酸安罗替尼胶囊(福可维),8mg/粒,生产厂家:正大天晴药业集团股份有限公司,密封、避光。

[0309] 给药

[0310] 给药方案和剂量选择

[0311] 14C12H1L1联合安罗替尼,其中,14C12H1L1:200mg,Q3W静脉注射;安罗替尼:每日一次,每次8mg,用药14天停药7天,21天为一个周期。

[0312] 早期研究结果

[0313] 治疗效果

[0314] 截止2019年7月15日,共13例受试者接受了至少一次肿瘤评价,中位治疗周期为3次。在这些患者中,3例达到了部分缓解(PR),客观缓解率(ORR)为23.1%(3/13),疾病控制率(DCR)为69.2%(9/13)(图6,图7)。

[0315] 不良事件

[0316] 截止2019年6月27日,治疗相关的不良事件(TRAЕ)发生率为75%,3级及以上TRAЕ为12.5%。结果显示,14C12H1L1联合盐酸安罗替尼一线治疗不可切除的肝细胞癌的不良事件发生率(参见表6)显著低于安罗替尼单药治疗(数据未示出)或14C12H1L1单药治疗(数据未示出)的不良事件发生率。

[0317] 表6 14C12H1L1联合安罗替尼治疗的不良事件

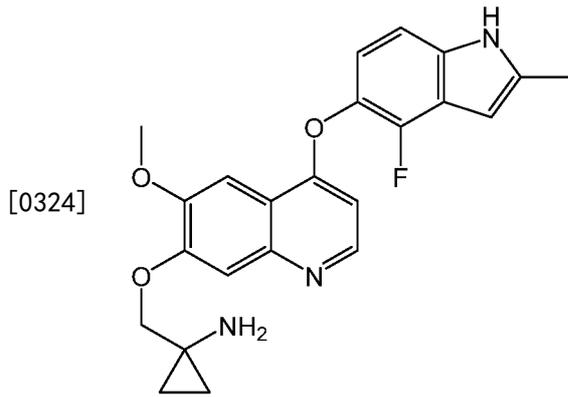
	n (%)	与所有联合治疗相关	与 14C12H1L1 相关	与安罗替尼相关
[0318]	TRAЕ	75%	62.5%	75%
	≥3 级 TRAЕ	12.5%	6.25%	12.5%
[0319]	SAE	12.5%	6.25%	12.5%
	导致退出 TRAЕ	12.5%	6.25%	12.5%

[0320] 本申请所述的示例性实施方案可以通过如下编号的段落进行描述:

[0321] 1.一种药物组合,包含:

[0322] a) PD-1和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂,以及

[0323] b) 酪氨酸激酶抑制剂,其中所述酪氨酸激酶抑制剂是式I的化合物或其药学上可接受的盐,



[0325] 2. 根据段落1所述的药物组合,其中式I的化合物的药学上可接受的盐为1-[[[4-(4-氟-2-甲基-1H-咪唑-5-基)氧基-6-甲氧基喹啉-7-基]氧基]甲基]环丙胺的盐酸盐、优选二盐酸盐。

[0326] 3. 根据段落1-2任一项所述的药物组合,其中所述PD-1和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂是抗PD-1或抗PD-L1抗体,或其抗原结合片段。

[0327] 4. 根据段落3所述的药物组合,其中所述抗PD-1或抗PD-L1抗体是抗PD-1或抗PD-L1的单克隆抗体。

[0328] 5. 根据段落3-4任一项所述的药物组合,其中所述抗PD-1抗体可以选自纳武利尤单抗、帕博利珠单抗、特瑞普利单抗、信迪利单抗、卡瑞利珠单抗、替雷利珠单抗、14C12H1L1、杰诺单抗、丽珠单抗、HLX-10、BAT-1306、AK103、AK104、CS1003、SCT-I10A、F520、SG001、GLS-010中的任意一种或几种。

[0329] 6. 根据段落3-4任一项所述的药物组合,其中所述抗PD-L1抗体可以选自Atezolizumab、Avelumab、Durvalumab、KL-A167、SHR-1316、BGB-333、JS003、STI-A1014 (ZKAB0011)、KN035、MSB2311、HLX-20、CS-1001中的任意一种或几种。

[0330] 7. 根据段落3-4任一项所述的药物组合,其中所述抗PD-1抗体包含:

[0331] 含有选自SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32或SEQ ID NO:33所示的氨基酸序列或者与其具有至少80%一致性的氨基酸序列的重链可变区;以及

[0332] 含有选自SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35或SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列或者与其具有至少80%一致性的氨基酸序列的轻链可变区。

[0333] 8. 根据段落7所述的药物组合,其中所述抗PD-1抗体包含:

[0334] a. 如SEQ ID NO:1所示的重链可变区和如SEQ ID NO:4所示的轻链可变区;

[0335] b. 如SEQ ID NO:2所示的重链可变区和如SEQ ID NO:5所示的轻链可变区;

[0336] c. 如SEQ ID NO:3所示的重链可变区和如SEQ ID NO:6所示的轻链可变区;

[0337] d. 如SEQ ID NO:7所示的重链可变区和如SEQ ID NO:9所示的轻链可变区;

[0338] e. 如SEQ ID NO:8所示的重链可变区和如SEQ ID NO:10所示的轻链可变区;

[0339] f. 如SEQ ID NO:11所示的重链可变区和如SEQ ID NO:14所示的轻链可变区;

[0340] g. 如SEQ ID NO:12所示的重链可变区和如SEQ ID NO:15所示的轻链可变区;

[0341] h. 如SEQ ID NO:13所示的重链可变区和如SEQ ID NO:16所示的轻链可变区;

- [0342] i. 如SEQ ID NO:17所示的重链和如SEQ ID NO:18所示的轻链;
- [0343] j. 如SEQ ID NO:31所示的重链可变区和如SEQ ID NO:34所示的轻链可变区;
- [0344] k. 如SEQ ID NO:32所示的重链可变区和如SEQ ID NO:35所示的轻链可变区;
- [0345] l. 如SEQ ID NO:33所示的重链可变区和如SEQ ID NO:36所示的轻链可变区;
- [0346] m. 如SEQ ID NO:37所示的重链和如SEQ ID NO:40所示的轻链;
- [0347] n. 如SEQ ID NO:38所示的重链和如SEQ ID NO:41所示的轻链;或者
- [0348] o. 如SEQ ID NO:39所示的重链和如SEQ ID NO:42所示的轻链。
- [0349] 9. 根据段落1-8任一项所述的药物组合,所述药物组合是固定组合。
- [0350] 10. 根据段落9所述的药物组合,所述固定组合呈固体药物组合物形式或液体药物组合物形式。
- [0351] 11. 根据段落1-8任一项所述的药物组合,所述药物组合是非固定组合。
- [0352] 12. 根据段落11所述的药物组合,所述非固定组合中的抗PD-1抗体和式I化合物或其药学上可接受的盐各自呈药物组合物形式。
- [0353] 13. 根据段落1-12任一项所述的药物组合,包含:式I的化合物或其盐酸盐;以及信迪利单抗或其抗原结合片段,InVivoMAb anti-mouse PD-1单抗或其抗原结合片段,或者14C12H1L1或其抗原结合片段。
- [0354] 14. 段落1-13任一项所述的药物组合在治疗或预防肝脏恶性肿瘤方面的用途。
- [0355] 15. 根据段落14所述的用途,所述药物组合用于治疗原发性肝脏肿瘤或继发性肝脏肿瘤。
- [0356] 16. 根据段落14所述的用途,所述肝脏恶性肿瘤为肝实质细胞癌。
- [0357] 17. 根据段落14所述的用途,所述肝脏恶性肿瘤为转移性肝癌。
- [0358] 18. 根据段落17所述的用途,所述转移性肝癌为从肺癌、胃癌、直肠癌、结肠癌、大肠癌、胰腺癌或乳腺癌转移的转移癌。
- [0359] 19. PD-1和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂与式I的化合物或其药学上可接受的盐的组合用于预防或治疗癌症的用途。
- [0360] 20. 用于预防或治疗癌症或肿瘤的药物组合,其中,所述药物组合包含式I的化合物或其药学上可接受的盐、以及PD-1和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂。
- [0361] 21. 段落19-20任一项所述的用途,所述PD-1和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂是抗PD-1或抗PD-L1单克隆抗体或其抗原结合片段,其特异地结合人PD-1或PD-L1且阻断人PD-L1与人PD-1的结合。
- [0362] 22. 段落19-21任一项所述的用途,所述所述癌症或肿瘤选自肝脏肿瘤(例如肝脏恶性肿瘤,诸如肝细胞癌)或肺脏肿瘤(例如肺癌,诸如非小细胞肺癌)。
- [0363] 23. 治疗主体中的癌症的方法,其包括向所述主体施用治疗有效量的包含如下的药物组合:
- [0364] PD-1受体和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂,和
- [0365] 酪氨酸激酶抑制剂,其中所述酪氨酸激酶抑制剂是式I的化合物或其药学上可接受的盐。
- [0366] 24. 根据段落23所述的方法,其中所述PD-1和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂是抗PD-1或抗PD-L1抗体,或其抗原结合片段。

[0367] 25. 根据24所述的方法,其中所述抗PD-1抗体可以选自纳武利尤单抗、帕博利珠单抗、特瑞普利单抗、信迪利单抗、卡瑞利珠单抗、替雷利珠单抗、14C12H1L1、杰诺单抗、丽珠单抗、HLX-10、BAT-1306、AK103、AK104、CS1003、SCT-I10A、F520、SG001、GLS-010中的任意一种或几种。

[0368] 26. 根据24所述的方法,其中所述抗PD-L1抗体可以选自Atezolizumab、Avelumab、Durvalumab、KL-A167、SHR-1316、BGB-333、JS003、STI-A1014、KN035、MSB2311、HLX-20、CS-1001中的任意一种或几种。

[0369] 27. 根据24所述的方法,其中所述抗PD-1抗体包含:

[0370] 含有选自SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32或SEQ ID NO:33所示的氨基酸序列或者与其具有至少80%一致性的氨基酸序列的重链可变区;以及

[0371] 含有选自SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35或SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列或者与其具有至少80%一致性的氨基酸序列的轻链可变区。

[0372] 28. 根据23-27任一项所述的方法,其中大约每周一次(q1w)、大约每2周一次(q2w)、大约每3周一次(q3w)、或者大约每4周一次(q4w)施用PD-1受体和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂。

[0373] 29. 根据23-28任一项所述的方法,其中所述方法导致客观反应,优选完全反应或部分反应。

[0374] 30. 根据23-29任一项所述的方法,其中所述主体先前未接受过系统化疗。

[0375] 31. 根据23-30任一项所述的方法,其中所述主体先前未接受过系统化疗,但是接受过手术治疗、放射治疗、诱导化疗和/或辅助化疗中的一种或几种,或者主体接受同期的化疗。

[0376] 32. 根据23-30任一项所述的方法,其中所述主体先前已接受系统化疗。

[0377] 33. 根据23-32任一项所述的方法,其中所述癌症是驱动基因阴性的。

[0378] 34. 根据33所述的方法,其中所述驱动基因阴性包括主体的EGFR、ALK和ROS1基因中的1种、2种或3种是突变阴性的。

[0379] 35. 根据26-32任一项所述的方法,其中所述主体中的EGFR、ALK和ROS1基因均为野生型基因或均为突变阴性的。

[0380] 36. 根据26-35任一项所述的方法,其中所述癌症是肺癌。

[0381] 37. 根据23-36任一项所述的方法,其中所述癌症是复发性和/或转移性肺癌。

[0382] 38. 根据23-37任一项所述的方法,其中所述癌症是晚期肺癌。

[0383] 39. 根据23-38任一项所述的方法,其中所述癌症是小细胞或非小细胞肺癌。

[0384] 40. 根据23-39任一项所述的方法,其中所述癌症治疗是对复发性或转移性非小细胞肺癌的一线治疗。

[0385] 41. 根据39-40任一项所述的方法,其中所述非小细胞肺癌是肺腺癌、肺鳞状细胞癌或肺大细胞癌。

[0386] 42. 根据段落26-35任一项所述的方法,所述癌症是原发性肝脏肿瘤或继发性肝脏肿瘤。

- [0387] 43. 根据段落41所述的方法,所述肝脏恶性肿瘤为肝实质细胞癌。
- [0388] 44. 根据段落41所述的方法,所述肝脏恶性肿瘤为转移性肝癌。
- [0389] 45. 根据段落44所述的方法,所述转移性肝癌为从肺癌、胃癌、直肠癌、结肠癌、大肠癌、胰腺癌或乳腺癌转移的转移癌。
- [0390] 46. 用于预防或治疗癌症或肿瘤的药物组合,其中,所述药物组合包含酪氨酸激酶抑制剂、以及PD-1和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂,其中所述酪氨酸激酶抑制剂是式I的化合物或其药学上可接受的盐。
- [0391] 47. 根据23-46任一项所述的方法或药物组合,所述PD-1受体和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂和酪氨酸激酶抑制剂各自呈药物组合,可同时、顺序或间隔给药。
- [0392] 48. 根据23-47任一项所述的方法或药物组合,所述式I的化合物或其药学上可接受的盐按照给药2周(14天)停1周(7天)的治疗周期施用。
- [0393] 49. 根据48所述的方法或药物组合,所述每个治疗周期给予的药物组合含有约84~168mg的式I的化合物或其药学上可接受的盐。
- [0394] 50. 根据48或49所述的方法或药物组合,所述药物组合含有选自约84mg、约112mg、约140mg、约168mg或上述任意值形成的范围内的式I的化合物或其药学上可接受的盐。
- [0395] 51. 根据50所述的方法或药物组合,所述药物组合含有约112mg的式I的化合物或其药学上可接受的盐。
- [0396] 52. 根据50所述的方法或药物组合,所述药物组合含有约140mg的式I的化合物或其药学上可接受的盐。
- [0397] 53. 根据50所述的方法或药物组合,所述药物组合含有约168mg的式I的化合物或其药学上可接受的盐。
- [0398] 54. 根据50所述的方法或药物组合,其中每天施用约8mg、10mg或约12mg式I的化合物或其药学上可接受的盐,给药2周停1周。
- [0399] 55. 根据23-54任一项所述的方法或药物组合,其中大约每2周一次(q2w)或大约每3周一次(q3w)施用100-600mg抗PD-1抗体。
- [0400] 56. 根据23-55任一项所述的方法或药物组合,其中大约每2周一次(q2w)施用约200mg抗PD-1抗体。
- [0401] 57. 根据23-56任一项所述的方法或药物组合,其中大约每3周一次(q3w)施用约200mg抗PD-1抗体。
- [0402] 58. 一种药物包,其在独立的容器中包含单独包装的药物组合,其中,在一个容器中包含含有式I的化合物或其药学上可接受的盐的药物组合,并在第二个容器中包含含有PD-1受体和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂的药物组合。
- [0403] 59. 根据58所述的药物包,所述药物包含有84-168mg的式I的化合物或其药学上可接受的盐。
- [0404] 60. 根据59所述的药物包,所述药物包含有选自84mg、112mg、140mg、168mg或上述任意值形成的范围内的式I的化合物或其药学上可接受的盐。
- [0405] 61. 根据60所述的药物包,所述药物包含有112mg~168mg的式I的化合物或其药学上可接受的盐。
- [0406] 62. 一种用于治疗肝脏肿瘤的试剂盒,其中含有(a)第一药物组合,含有PD-1受

体和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂作为活性成分；和(b)第二药物组合物，其中含有式I的化合物或其药学上可接受的盐作为活性成分。

[0407] 63. 根据62所述的试剂盒，所述试剂盒包含有84~168mg的式I的化合物或其药学上可接受的盐。

[0408] 64. 根据63所述的试剂盒，所述试剂盒包含有选自84mg、112mg、140mg、168mg或上述任意值形成的范围的式I的化合物或其药学上可接受的盐。

[0409] 65. 根据64所述的试剂盒，所述试剂盒包含有112mg~168mg的式I的化合物或其药学上可接受的盐。

[0410] 66. 单位制剂，其中，所述单位制剂包含：化合物成分，6~12mg的式I化合物或其盐酸盐；以及抗体成分，50~350mg的抗PD-1抗体或其抗原结合片段；其中，化合物成分和抗体成分分别单独包装。

[0411] 67. 一种用于预防或治疗癌症或肿瘤的方法，其中，向有需要的受试者给予一份或多份段落66所述的单位制剂。

[0412] 68. 根据67所述的方法，其中所述癌症或肿瘤选自肝脏肿瘤（例如肝脏恶性肿瘤，诸如肝细胞癌）或肺脏肿瘤（例如肺癌，诸如非小细胞肺癌）。

[0413] 根据本申请所公开的内容，虽然根据优选实施方案对本申请的组合物和方法进行了描述，但对本领域技术人员而言，在不背离本申请的概念、精神和范围的情况下，可对此所述的组合物和/或方法以及所述方法的步骤或步骤的顺序进行改变。

[0414] 本文所引用的所有文献的公开内容通过引用结合于此，引用程度为，它们提供示例性的、程序上和其他的细节补充本文所述内容。

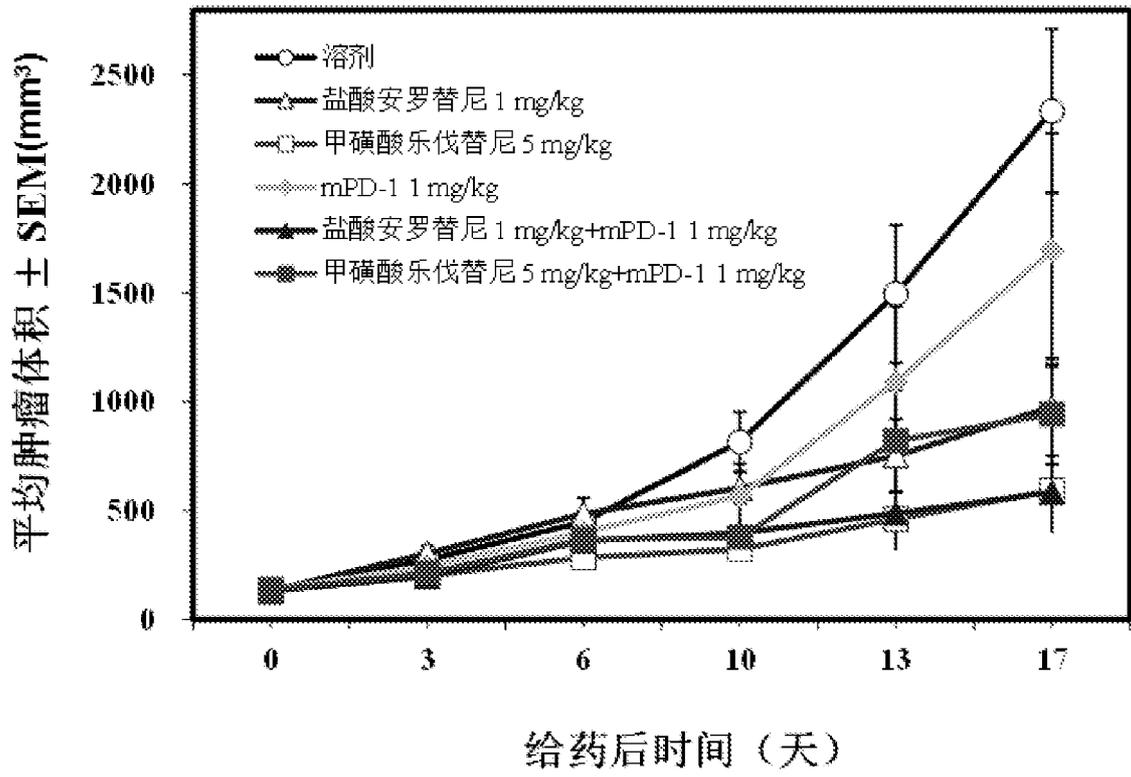


图1

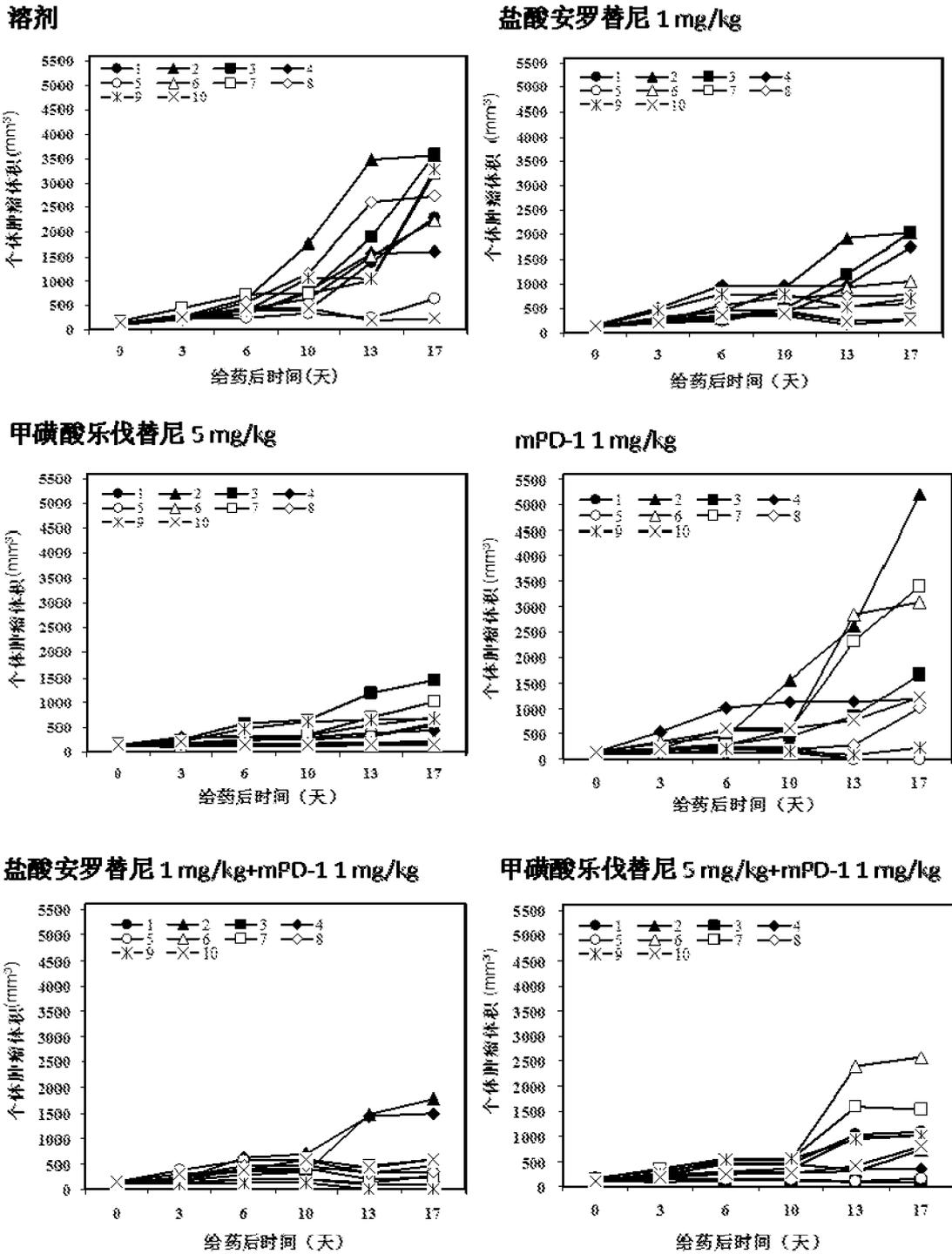


图2

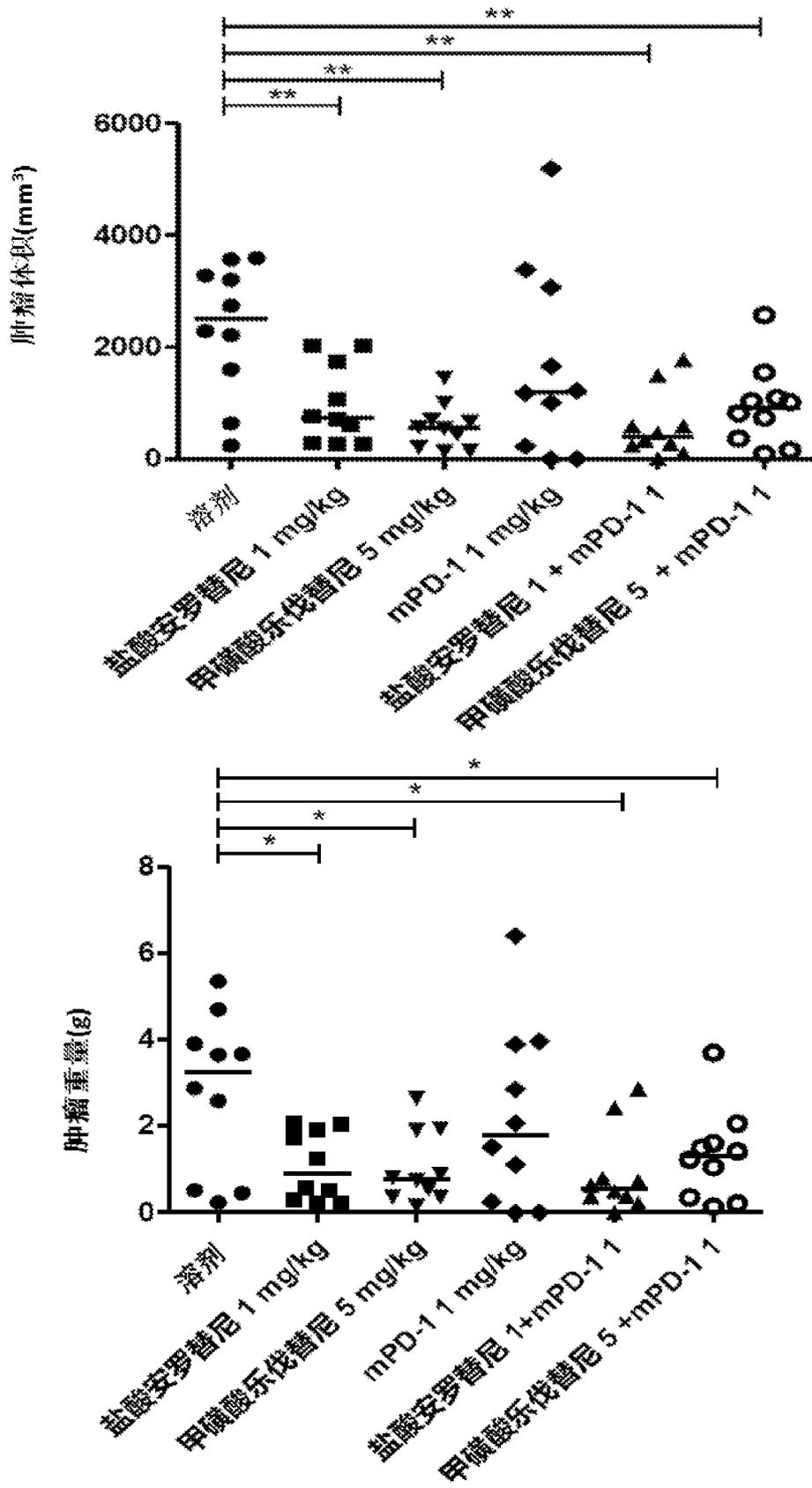


图3

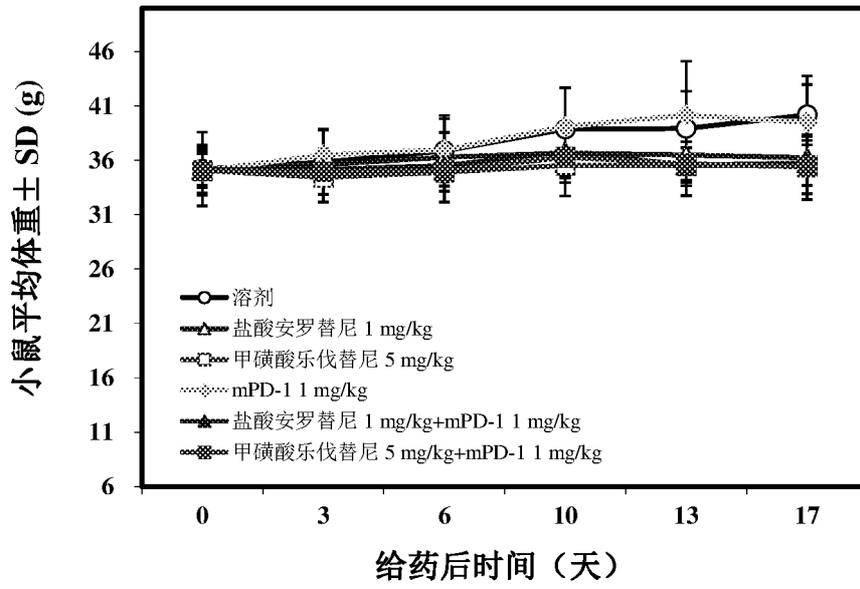


图4



图5

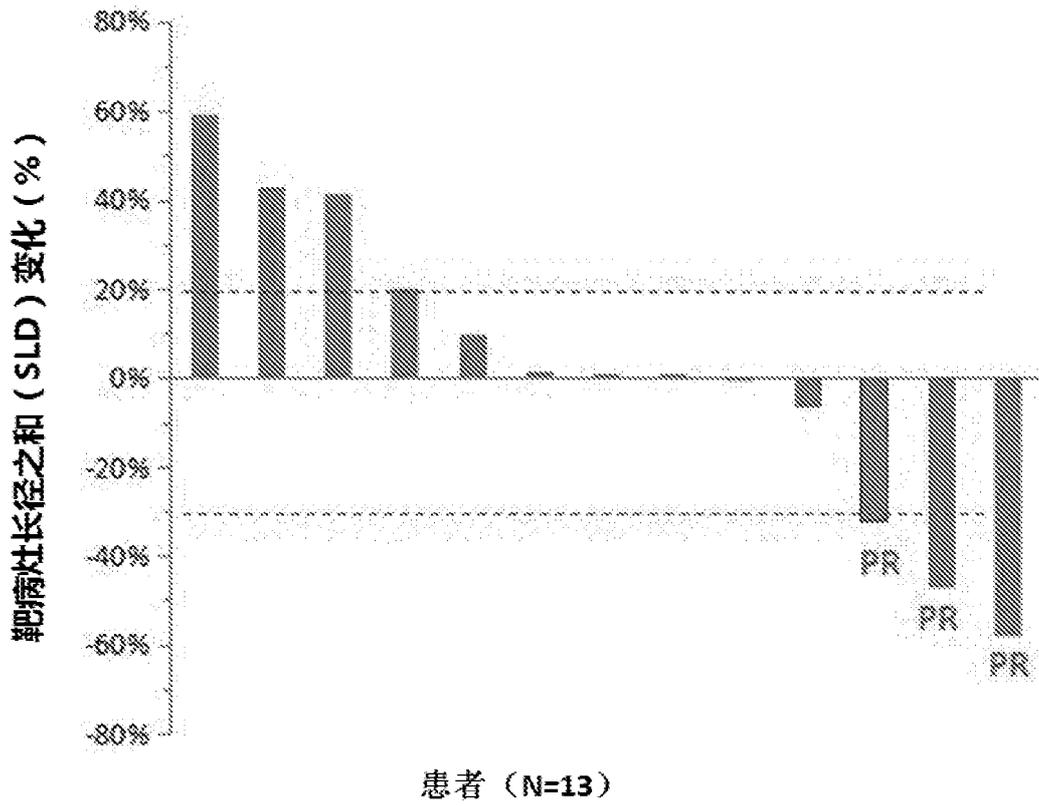


图6

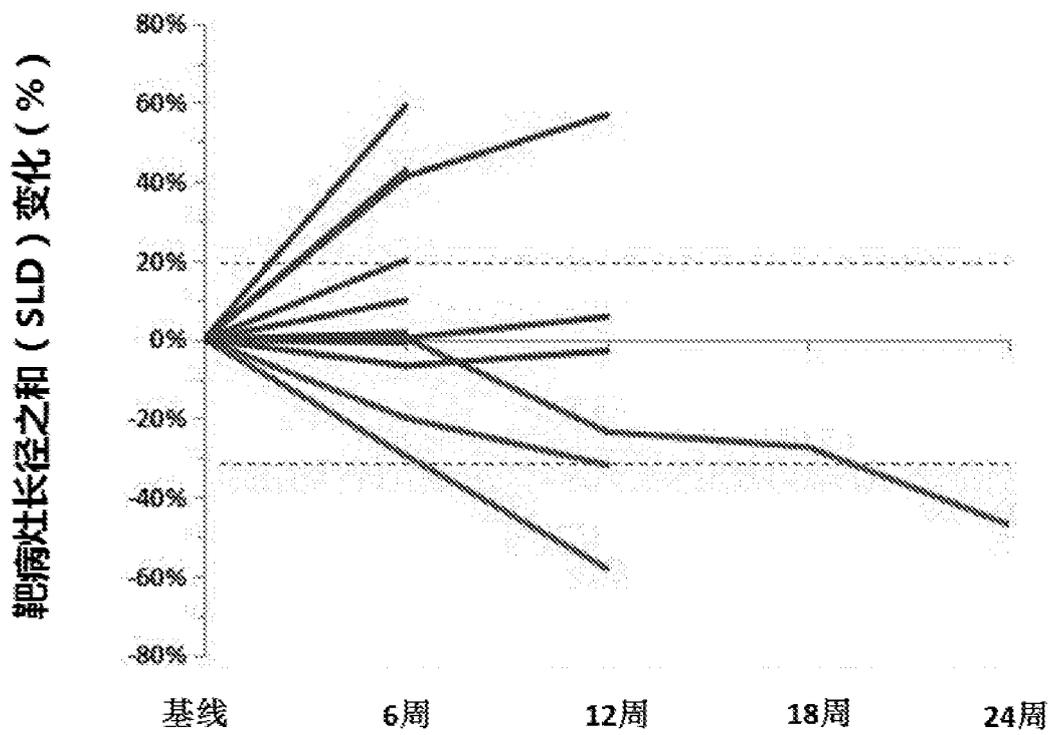


图7