

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2018-525358

(P2018-525358A)

(43) 公表日 平成30年9月6日 (2018. 9. 6)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 31/5377 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/5377	4 C 0 8 4
<b>A 6 1 P 35/02 (2006.01)</b>	A 6 1 P 35/02	4 C 0 8 5
<b>A 6 1 P 35/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 35/00	4 C 0 8 6
<b>A 6 1 P 43/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 43/00 1 1 1	
<b>A 6 1 K 45/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 45/00	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 47 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2018-502669 (P2018-502669)  
 (86) (22) 出願日 平成28年7月19日 (2016. 7. 19)  
 (85) 翻訳文提出日 平成30年3月8日 (2018. 3. 8)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2016/042905  
 (87) 国際公開番号 W02017/015262  
 (87) 国際公開日 平成29年1月26日 (2017. 1. 26)  
 (31) 優先権主張番号 62/194, 367  
 (32) 優先日 平成27年7月20日 (2015. 7. 20)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 516104157  
 ラム・セラピューティクス, インコーポレ  
 ーテッド  
 アメリカ合衆国コネチカット州06437  
 , ギルフォード, オールド・ウィットフィ  
 ールド・ストリート 530  
 (74) 代理人 100140109  
 弁理士 小野 新次郎  
 (74) 代理人 100118902  
 弁理士 山本 修  
 (74) 代理人 100106208  
 弁理士 宮前 徹  
 (74) 代理人 100120112  
 弁理士 中西 基晴

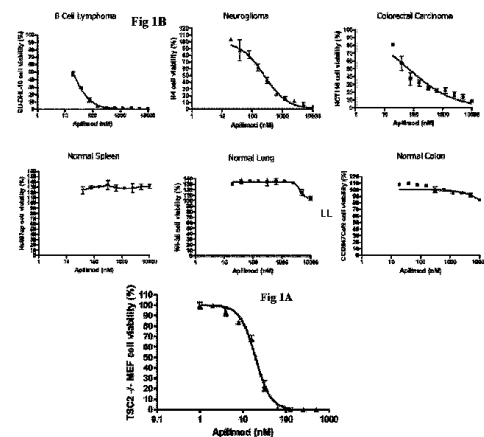
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アピリモドを用いる癌の処置方法

## (57) 【要約】

本発明は、アピリモドで癌を処置するための方法、なら  
 びに関連の組成物および方法に関する。

【選択図】図1B



**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

癌を処置する必要がある対象において癌を処置するための方法であって、当該対象の癌細胞における細胞 P I K f y v e 活性を阻害するのに有効な量のアピリモドを含む組成物を当該対象に投与することを含む、前記方法。

**【請求項 2】**

癌が、脳癌、神経膠腫、肉腫、乳癌、肺癌、非小細胞肺癌、中皮腫、虫垂癌、泌尿生殖器癌、腎細胞癌、前立腺癌、膀胱癌、精巣癌、陰茎癌、子宮頸癌、卵巣癌、フォン・ヒッペル・リンドウ病、頭頸部癌、胃腸癌、肝細胞癌、胆嚢癌、食道癌、胃癌、結腸直腸癌、脾臓癌、神経内分泌腫瘍、甲状腺腫瘍、下垂体腫瘍、副腎腫瘍、血液悪性腫瘍、リンパ腫、または白血病である、請求項 1 に記載の方法。

10

**【請求項 3】**

癌が B 細胞リンパ腫である、請求項 1 または 2 に記載の方法。

**【請求項 4】**

癌が非ホジキン B 細胞リンパ腫である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 5】**

前記対象がヒトである、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 6】**

投与工程を少なくとも 1 サイクルで実施し、当該サイクルが、アピリモドを含む前記組成物を投与する少なくとも 1 日と、それに続く、アピリモドを含む前記組成物を投与しない連続した少なくとも 1 日とからなる、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

**【請求項 7】**

投与工程を 2 から 10 までのサイクルで実施する、請求項 6 に記載の方法。

**【請求項 8】**

投与工程を 2 から 5 までのサイクルで実施する、請求項 7 に記載の方法。

**【請求項 9】**

前記サイクルが、前記組成物を投与する連続した 1 から 10 日と、それに続く、前記組成物を投与しない連続した 1 から 5 日とからなる、請求項 6 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 10】**

30

前記サイクルが、前記組成物を投与する連続した 2 から 5 日と、それに続く、前記組成物を投与しない連続した 1 から 2 日とからなる、請求項 6 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 11】**

前記サイクルが、前記組成物を投与する連続した 5 日と、それに続く、前記組成物を投与しない連続した 2 日とからなる、請求項 6 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 12】**

前記アピリモド組成物がアピリモド遊離塩基またはアピリモド・ジメシレートを含む、請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 13】**

40

前記アピリモド組成物が経口剤形または静脈内投与に適した剤形である、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 14】**

非ホジキン B 細胞リンパ腫が、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 ( D L B C L )、バーキットリンパ腫、縦隔 B 細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、およびマントル細胞リンパ腫から選択される、請求項 4 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 15】**

非ホジキン B 細胞リンパ腫が濾胞性リンパ腫である、請求項 14 に記載の方法。

**【請求項 16】**

非ホジキン B 細胞リンパ腫が治療抵抗性または再発性である、請求項 14 または 15 に

50

記載の方法。

【請求項 17】

少なくとも 1 種類の追加の有効薬剤を、アピリモドを含む前記組成物と組み合わせて投与する、請求項 1 ～ 16 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 18】

少なくとも 1 種類の追加の有効薬剤を、アピリモドを含む前記組成物と同じ組成物中において、またはアピリモドを含む前記組成物とは別個の組成物中において投与する、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

少なくとも 1 種類の追加の有効薬剤が、アルキル化剤、インターカレート剤、チューブリン結合剤、コルチコステロイド、およびその組合わせからなる群から選択される、請求項 17 または 18 に記載の方法。

10

【請求項 20】

少なくとも 1 種類の追加の有効薬剤が、イブルチニブ、リツキシマブ、ドキソルビシン、プレドニゾロン、ビンクリスチン、ベルケイド、およびその組合わせからなる群から選択される療法剤である、請求項 17 または 18 に記載の方法。

【請求項 21】

少なくとも 1 種類の追加の有効薬剤が、シクロホスファミド、ヒドロキシダウノルビシン（ドキソルビシンまたは *Adriamycin*（商標）とも呼ばれる）、ビンクリスチン（*Oncovin*（商標）とも呼ばれる）、プレドニゾン、プレドニゾロン、およびその組合わせから選択される療法剤である、請求項 17 または 18 に記載の方法。

20

【請求項 22】

少なくとも 1 種類の追加の有効薬剤が非療法剤である、請求項 17 または 18 に記載の方法。

【請求項 23】

非療法剤が、前記アピリモド組成物の 1 以上の副作用を改善するように選択される、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】

非療法剤が、オンダンセトロン、グラニセトロン、ドラセトロンおよびパロノセトロンからなる群から選択される、請求項 23 に記載の方法。

30

【請求項 25】

非療法剤が、ピンドロールおよびリスペリドンからなる群から選択される、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 26】

非療法剤が、前記アピリモド組成物中のアピリモドの生物学的利用能を増大させるように選択される、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 27】

非療法剤が CYP3A 阻害剤である、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 28】

CYP3A 阻害剤がリトナビルまたはコビシスタットである、請求項 27 に記載の方法。

40

【請求項 29】

対象において癌を処置するためのアピリモド組成物であって、アピリモド遊離塩基またはアピリモド・ジメシレート、ならびにアルキル化剤、インターカレート剤、チューブリン結合剤、コルチコステロイド、CYP3A 阻害剤、ならびにプログラム死 1（PD-1）受容体および/またはそのリガンド（PD-L1/2）が関連するチェックポイントシグナル伝達経路の阻害剤からなる群から選択される少なくとも 1 種類の追加の有効薬剤を含む前記組成物。

【請求項 30】

イブルチニブ、リツキシマブ、ドキソルビシン、プレドニゾロン、ビンクリスチン、ベ

50

ルケイド、およびエベロリムスのうち１種類以上を含む、請求項２９に記載の組成物。

【請求項３１】

プレドニゾロン、ベルケイド、およびエベロリムスのうち１種類以上を含む、請求項３０に記載の組成物。

【請求項３２】

イブルチニブを含む、請求項３０に記載の組成物。

【請求項３３】

ビンクリスチンを含む、請求項３０に記載の組成物。

【請求項３４】

CYP3A阻害剤を含む、請求項２９～３３のいずれか１項に記載の組成物。

10

【請求項３５】

CYP3A阻害剤が、リトナビルおよびコビシスタットから選択される、請求項３４に記載の組成物。

【請求項３６】

プログラム死１（PD-1）受容体および／またはそのリガンド（PD-L1/2）が関連するチェックポイントシグナル伝達経路の阻害剤を含む、請求項２９～３５のいずれか１項に記載の組成物。

【請求項３７】

阻害剤が、BMS-936559/MDX-1105、MPDL3280A、MSB0010718C、MED1473、CT-011/ビジリズマブ、BMS-936558/MDX-1106/ニボルマブ、およびペンブロリズマブ、ならびにそれらのうちいずれか２以上の組み合わせから選択される、請求項３６に記載の組成物。

20

【請求項３８】

さらに、オンダンセトロン、グラニセトロン、ドラセトロン、パロノセトロン、ピンドロールおよびリスペリドンのうち１種類以上を含む、請求項２９～３７のいずれか１項に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

関連出願

30

[01] 本出願は、U.S. Provisional Patent Application Serial No. 62/194,367, 2014年7月20日出願に基づく優先権を主張し、その内容全体を本明細書に援用する。

【０００２】

発明の分野

[02] 本発明は、アピリモド(apilimod)を含む組成物、およびそれを使用する方法に関する。

【背景技術】

【０００３】

[03] アピリモド(STA-5326とも呼ばれる、以下、“アピリモド”)はIL-12およびIL-23の有効な転写阻害剤として認識されている。たとえば、Wada et al. Blood 109 (2007): 1156-1164を参照。IL-12およびIL-23は、免疫細胞、たとえばB細胞およびマクロファージが抗原刺激に応答して正常に産生する炎症性サイトカインである。慢性炎症を特徴とする自己免疫障害および他の障害は、一部はこれらのサイトカインの不適正な産生を特徴とする。免疫細胞において、アピリモドによるIL-12/IL-23転写の選択的阻害はホスファチジルイノシトール-3-ホスフェート5-キナーゼ(PIKfyve)へのアピリモドの直接結合により仲介されることが最近示された。たとえば、Cai et al. Chemistry and Biol. 20 (2013):912-921を参照。PIKfyveは、自然免疫に重要なToll様受容体シグナル伝達において役割を果たす。

40

【０００４】

[04] アピリモドは、免疫調節剤およびIL-12/IL-23の特異的阻害剤として

50

のそのの活性に基づいて、自己免疫性および炎症性の疾患および障害を治療するのに有用なものとして提唱された。たとえば、US 6,858,606および6,660,733を参照（IL - 12またはIL - 23の過剰産生を特徴とする疾患および障害、たとえば関節リウマチ、敗血症、クローン病、多発性硬化症、乾癬、またはインスリン依存性糖尿病を治療するのに有用とされるアピリモドを含めた一群のピリミジン化合物を記載）。同様に、アピリモドは、c - RelまたはIL - 12 / 23を阻害するそのの活性に基づいて、特定の癌の治療に、特にこれらのサイトカインが異常な細胞増殖を促進する役割を果たすと考えられる癌に有用であると示唆された。たとえば、WO 2006/128129、およびBaird et al., *Frontiers in Oncology* 3:1 (それぞれ2013)を参照。

#### 【0005】

[05] アピリモドの3つの臨床試験がそれぞれ、自己免疫疾患および炎症性疾患におけるそのの潜在効力に注目した。それらの試験は、乾癬、関節リウマチ、およびクローン病を伴う患者において実施された。乾癬を伴う患者におけるオープンラベル臨床試験は、アピリモドの経口投与がTH1 - およびTH17 - 仲介炎症性疾患の治療のためのIL - 12 / IL - 23合成阻害を支持する免疫調節活性を示すと結論づけた。Wada et al., *PLoS One* 7:e35069 (April 2012)。しかし、関節リウマチ、およびクローン病における対照付き試験の結果は、アピリモドによるIL - 12 / IL - 23阻害が臨床改善になるという考えをこれらの適応症のいずれにおいても支持しなかった。関節リウマチを伴う患者におけるアピリモドのランダム化二重盲検プラセボ対照付き第II相臨床試験において、アピリモドは滑膜IL - 12およびIL - 23発現を変化させることができなかった。Krausz et al., *Arthritis & Rheumatism* 64:1750-1755 (2012)。その著者らは、“結果は、アピリモドによるIL - 12 / IL - 23阻害がRAにおける確固たる臨床改善を誘導できるという見解を支持しない”と結論づけた。同様に、活動性クローン病の治療についてのアピリモドのランダム化二重盲検プラセボ対照付き試験は、アピリモドは良好に耐容されたけれどもプラセボを上回る有効性を示さなかったと結論づけた。Sands et al. *Inflamm Bowel Dis.* 2010 Jul;16(7):1209-18。

#### 【0006】

[06] 哺乳類ラパマイシン標的(mammalian target of rapamycin) (mTOR) 経路は、細胞成長、細胞増殖、代謝、タンパク質合成、およびオートファジーを含めた多数の生理的機能に關与する重要な細胞シグナル伝達経路である(La Plante et al. *Cell* 2012, (149 (2), pp.274-293)。mTORは、アミノ酸、ストレス、酸素、エネルギー、および成長因子のレベルを伝達する細胞内と細胞外の情報(cue)を統合し、これらの環境情報に対する細胞応答を調節する、キナーゼである。癌、肥満症、糖尿病、および神経変性を含めた広範な障害および疾患においてmTOR脱調節が示唆されている。これらの疾患のうちあるものを治療するための薬物ターゲットとして、mTOR経路の特定の成分が探査された。しかし、療法効力はたとえばある種の癌の治療に限定され、あるmTOR阻害剤は代謝に対する有害作用をもつことが示された。結節性硬化症複合体腫瘍抑制遺伝子(tuberous sclerosis complex tumor suppressor gene) TSC1およびTSC2はmTORの負の調節物質である。

#### 【先行技術文献】

#### 【特許文献】

#### 【0007】

【特許文献1】US 6,858,606

【特許文献2】US 6,660,733

【特許文献3】WO 2006/128129

#### 【非特許文献】

#### 【0008】

【非特許文献1】Wada et al. *Blood* 109 (2007): 1156-1164

【非特許文献2】Cai et al. *Chemistry and Biol.* 20 (2013):912-921

【非特許文献3】Baird et al., *Frontiers in Oncology* 3:1 (2013)

【非特許文献4】Wada et al., PLoSOne 7:e35069 (April 2012)

【非特許文献5】Krauz et al., Arthritis & Rheumatism 64:1750-1755 (2012)

【非特許文献6】Sands et al Inflamm Bowel Dis. 2010 Jul;16(7):1209-18

【非特許文献7】La Plante et al Cell 2012, (149 (2), pp.274-293

【発明の概要】

【0009】

[07] 本発明は、一部は、アピリモドがTSCヌル細胞(TSC null cell)に対して細胞毒性の高い薬剤であるという予想外の知見に基づく。これらの細胞においては、mTOR経路が構成性活性である。mTOR経路は多数の癌において活性化され、100を超える癌細胞系のさらなるスクリーニングでアピリモドは多様な癌に由来する細胞系において抗増殖活性を示した。アピリモド感受性細胞系のうち、B細胞リンパ腫が最も感受性であった。しかし、予想外に、アピリモドに対するB細胞リンパ腫の差示感受性はこれらの細胞においてc-Rel発現、IL-12発現、またはIL-23発現と相関しなかった。以前の研究は異常な細胞増殖に際してc-Relおよび/またはIL-12/23の発現が決定的である癌に対してアピリモドが有用であろうと示唆していたので、これは意外であった。そうではなく、癌細胞におけるアピリモドの細胞毒性は細胞内トラフィッキング(intracellular trafficking)の阻害、ならびに対応するアポトーシス増大によるものであることを本発明者らは立証した。この活性はアピリモドのIL-12/23産生阻害による免疫調節活性に基づいては予測されなかった。さらに、450種類を超えるキナーゼのスクリーニングにより、ヒト癌細胞系においてPIKfyveがアピリモドに対する唯一の高親和性結合ターゲット(Kd = 75 pM)として同定された。

10

20

【0010】

[08] 本発明は、癌の処置、特にB細胞リンパ腫、殊に標準化学療法計画に対して耐性または治療抵抗性であるものの処置におけるアピリモドの療法使用のための新規方法を提供する。

【0011】

[09] 一態様において、本発明は、癌を処置する必要がある対象において癌を処置するための方法であって、対象の癌細胞における細胞PIKfyve活性を阻害するのに有効な量のアピリモドを含む組成物を対象に投与することを含む前記方法を提供する。一態様において、対象はヒトである。

30

【0012】

[10] 一態様において、癌は、脳癌、神経膠腫、肉腫、乳癌、肺癌、非小細胞肺癌、中皮腫、虫垂癌、泌尿生殖器癌、腎細胞癌、前立腺癌、膀胱癌、精巣癌、陰茎癌、子宮頸癌、卵巣癌、フォン・ヒッペル・リンドウ病(Hippel Lindau disease)、頭頸部癌、胃腸癌、肝細胞癌、胆嚢癌、食道癌、胃癌、結腸直腸癌、膵臓癌、神経内分泌腫瘍、甲状腺腫瘍、下垂体腫瘍、副腎腫瘍、血液悪性腫瘍、リンパ腫、または白血病である。一態様において癌はリンパ腫であり、さらなる態様において癌は非ホジキンリンパ腫である。

【0013】

[11] 一態様において、癌はDLBCL、濾胞性リンパ腫(follicular lymphoma)、辺縁帯リンパ腫(marginal zone lymphoma)(MZL)、CLL/SLL(慢性リンパ性白血病/小リンパ球性リンパ腫(Chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma))、およびマンツル細胞リンパ腫(mantle cell lymphoma)から選択される。

40

【0014】

[12] 一態様において、投与工程を少なくとも1サイクルで実施し、当該サイクルは、アピリモドを含む当該組成物を投与する少なくとも1日と、それに続く、アピリモドを含む当該組成物を投与しない連続した少なくとも1日とからなる。特定の態様において、2から10までのサイクル、または2から5までのサイクルで投与工程を実施する。一態様において、サイクルは、当該組成物を投与する連続した1から10日と、それに続く、当該組成物を投与しない連続した1から5日までとからなる。他の態様において、サイクルは、当該組成物を投与する連続した2から5日と、それに続く、当該組成物を投与しない

50

連続した1から2日とからなる。さらなる態様において、サイクルは、当該組成物を投与する連続した5日と、それに続く、当該組成物を投与しない連続した2日とからなる。

【0015】

[13] 特定の態様において、本発明は、28日サイクルにおける5日のアピリモドによる処置と、それに続く2日のオフ（休薬）処置(off treatment)とからなる計画で、1から2か月まで、1から3か月まで、1から4か月まで、1から5か月まで、1から6か月まで、又は6から12か月までの範囲の期間、アピリモドを用いて癌を処置する方法を提供する。他の態様を以下にさらに詳細に記載する。

【0016】

[14] 一側面において、本発明は癌を処置する必要がある対象において癌を処置するための方法であって、本発明の療法有効量のアピリモド組成物を対象に投与することを含む前記方法を提供し、その組成物はアピリモド、またはその医薬的に許容できる塩、溶媒和物、包接化合物、水和物、多型、プロドラッグ、アナログもしくは誘導体を含む。一態様において、本方法は対象の癌細胞における細胞PIKfyve活性を阻害するのに有効な量のアピリモドを含む組成物を対象に投与することを含む。一態様において、アピリモド組成物はアピリモド遊離塩基またはアピリモド・ジメシレートを含む。

10

【0017】

[15] 一態様において、本方法はさらに、少なくとも1種類の追加の有効薬剤を対象に投与することを含む。少なくとも1種類の追加の有効薬剤は、療法剤または非療法剤であってよい。少なくとも1種類の追加の有効薬剤をアピリモド組成物との単一剤形で、またはアピリモドとは別個の剤形で投与することができる。一態様において、少なくとも1種類の追加の有効薬剤は、アルキル化剤、インターカレート剤、チューブリン結合剤、コルチコステロイド、およびその組み合わせからなる群から選択される。

20

【0018】

[16] 一態様において、少なくとも1種類の追加の薬剤は、プログラム死1(programmed death 1)(PD-1)受容体およびそのリガンド(PD-L1/2)が関連するチェックポイントシグナル伝達経路の阻害剤である。一態様において、本方法は抗PD-L1剤および抗PD-1剤の組合わせを含む。一態様において、阻害剤は、BMS-936559/MDX-1105(PD-L1に対する完全ヒト型、高親和性、免疫グロブリン(Ig)G4モノクローナル抗体)、MPDL3280A(PD-L1をターゲティングする工学作製したヒトモノクローナル抗体)、MSB0010718CおよびMED1473から選択される抗PD-L1剤である。一態様において、阻害剤は、CT-011/ピジリズマブ(pidilizumab)、BMS-936558/MDX-1106/ニボルマブ(nivolumab)、およびペンブロリズマブ(pembrolizumab)から選択される抗PD-1剤である。一態様において、阻害剤は、BMS-936559/MDX-1105、MPDL3280A、MSB0010718C、MED1473、CT-011/ピジリズマブ、BMS-936558/MDX-1106/ニボルマブ、およびペンブロリズマブ、ならびにそれらのうちいずれか2以上の組合わせから選択される。

30

【0019】

[17] 一態様において、少なくとも1種類の追加の有効薬剤は、イブルチニブ(ibrutinib)、リツキシマブ(rituximab)、ドキソルビシン(doxorubicin)、プレドニゾロン(prednisolone)、ビンクリスチン(vincristine)、ベルケイド(velcade)、およびエベロリムス(everolimus)、並びのその組み合わせからなる群から選択される療法剤である。一態様において、少なくとも1種類の追加の有効薬剤は、シクロホスファミド(cyclophosphamide)、ヒドロキシダウノルビシン(hydroxydaunorubicin)(ドキソルビシンまたはAdriamycin(商標)とも呼ばれる)、ビンクリスチン(Oncovin(商標)とも呼ばれる)、プレドニゾン、プレドニゾロン、およびその組合わせから選択される療法剤である。一態様において、少なくとも1種類の追加の有効薬剤は、BMS-936559/MDX-1105、MPDL3280A、MSB0010718C、MED1473、CT-011/ピジリズマブ、BMS-936558/MDX-1106/ニボルマブ、および

40

50

ペンブロリズマブ、ならびにそれらのうちいずれか 2 以上の組み合わせから選択される療法剤である。

【0020】

[18] 一態様において、少なくとも 1 種類の追加の有効薬剤は非療法剤である。一態様において、非療法剤はアピリモド組成物の 1 以上の副作用を改善するように選択される。一態様において、非療法剤はオンダンセトロン(ondansetron)、グラニセトロン(granisetron)、ドラセトロン(dolasetron)およびパロノセトロン(palonosetron)からなる群から選択される。一態様において、非療法剤はピンドロール(pindolol)およびリスペリドン(risperidone)からなる群から選択される。一態様において、非療法剤はアピリモド組成物中のアピリモドの生物学的利用能を増大させるように選択される。この態様の一側面において、非療法剤は CYP3A 阻害剤である。特定の態様において、CYP3A 阻害剤はリトナビル(ritonavir)およびコビススタット(cobicistat)である。

10

【0021】

[19] 一態様において、アピリモド組成物の剤形は経口剤形である。他の態様において、アピリモド組成物の剤形は静脈内投与に適している。一態様において、剤形が静脈内投与に適している場合、投与は単回注射または点滴バッグによる。

【0022】

[20] 一態様において、対象はヒト癌患者である。一態様において、本発明のアピリモド組成物による処置を必要とするヒト癌患者は、その癌が標準化学療法計画に対して治療抵抗性である者である。一態様において、アピリモド組成物による処置を必要とするヒト癌患者は、その癌が標準化学療法計画による処置の後に再発した者である。一態様において、癌はリンパ腫である。一態様において、癌は B 細胞リンパ腫である。一態様において、B 細胞リンパ腫は非ホジキン B 細胞リンパ腫である。一態様において、非ホジキン B 細胞リンパ腫は、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫(diffuse large B cell lymphoma) (DLBCL)、バーキットリンパ腫(Burkitt's lymphoma)、縦隔 B 細胞リンパ腫(mediastinal B cell lymphoma)、マントル細胞リンパ腫(mantle cell lymphoma)、および濾胞性リンパ腫(follicular lymphoma)から選択される。一態様において、非ホジキン B 細胞リンパ腫は DLBCL である。一態様において、DLBCL は GCB サブタイプである。

20

【0023】

[21] 一態様において、標準化学療法計画はイブルチニブ、リツキシマブ、ドキソルビシン、プレドニゾロン、ビンクリスチン、ベルケイド、シクロホスファミド、デキサメタゾンおよびエベロリムスからなる群から選択される 1 種類以上の療法剤を含む。一態様において、標準化学療法計画は、CHOP (シクロホスファミド、ヒドロキシダウノルビシン、Oncovin (商標) (ビンクリスチン)、およびプレドニゾン(prednisone)またはプレドニゾロン)、COOP (シクロホスファミド、硫酸ビンクリスチン、塩酸プロカルバジン(procarbazine hydrochloride)、プレドニゾン)、CVP (シクロホスファミド、硫酸ビンクリスチン、プレドニゾン)、EPOCH (エトポシド(etoposide)、プレドニゾン、硫酸ビンクリスチン、シクロホスファミド、塩酸ドキソルビシン)、Hyper-CVAD (シクロホスファミド、硫酸ビンクリスチン、塩酸ドキソルビシン、デキサメタゾン(dexamethasone))、ICE (イホスファミド(ifosfamide)、カルボプラチン(carboplatin)、エトポシド)、R-CHOP (リツキシマブ、シクロホスファミド、硫酸ビンクリスチン、塩酸プロカルバジン、プレドニゾン)、および R-CVP (リツキシマブ、シクロホスファミド、硫酸ビンクリスチン、プレドニゾン)から選択される。

30

40

【0024】

[22] 一態様において、本方法は、アピリモド組成物およびリンパ腫の処置のための化学療法計画を含む併用療法を用いてリンパ腫を処置する方法である。一態様において、標準化学療法計画は CHOP 計画である。他の態様において、標準化学療法計画は COOP、CVP、EPOCH、Hyper-CVAD、ICE、R-CHOP、および R-CVP から選択される。計画は前記の 1 種類以上の追加の非療法剤、たとえば 1 種類以上の CYP3A 阻害剤から選択される非療法剤、たとえばリトナビルまたはコビススタット、オ

50



ンダンセトロン、グラニセトロン、ドラセトロン、パロノセトロン、ピンドロールおよびリスペリドンをも含むことができる。

【図面の簡単な説明】

【0025】

【図1A】[23] 図1A：TSC2欠損細胞はアピリモドに対して高感受性である（ $IC_{50} = 19.5 \text{ nM}$ ）。

【図1B】[24] 図1B：アピリモドが非癌（正常）細胞と比較して癌細胞の細胞生存性に及ぼす影響。

【図2A】[25] 図2A：化合物と共にインキュベートした3、5および7日目の、アピリモドに対するHCT116結腸直腸癌細胞の10点用量応答。

【図2B】[26] 図2B：7日間アッセイにおけるアピリモドに対する種々のNHLサブタイプの感受性（ $IC_{50} < 125 \text{ nM}$ ）。

【図3】[27] 図3：手作業でキュレートした93種類の薬物のライブラリーを用いた、アピリモド（ $10 \text{ nM}$ ）有りと無しのSU-DHL-4細胞スクリーニングにより、イブルチニブがアピリモドと併用した際に相乗活性を発揮する薬物と同定された。

【図4】[28] 図4：アピリモドはSU-DHL-6 DLBCL異種移植腫瘍の増殖を阻害する；上の線は下記を示す：ビヒクル塩類溶液（菱形，淡灰色実線） QD（1日1回）×5、2日のオフ（休薬），QD×5 i.v.（静脈内）；0.5%メチルセルロース（三角、濃灰色実線） QD×5、2日のオフ，QD×5 p.o.（経口）；アピリモド・ジメシレート（四角，破線）  $67.5 \text{ mg/kg}$ （ $47 \text{ mg/kg}$ の遊離塩基） QD×5 i.v.，2日のオフ、QD×5；アピリモド遊離塩基（四角，淡灰色実線）  $150 \text{ mg/kg}$  QD×5、2日のオフ、QD×5 p.o.；アピリモド遊離塩基（×印，実線）  $75 \text{ mg/kg}$  BID（1日2回）×5、2日のオフ、BID×5 p.o.。

【図5】[29] 図5：イブルチニブと組み合わせたアピリモドのDLBCL腫瘍に対するインビボでの抗腫瘍活性；上の線は下記を示す：ビヒクル（菱形，淡灰色実線） QD×5、2日のオフ，QD×5 p.o.+i.v.；イブルチニブ（三角，濃灰色実線）  $10 \text{ mg/kg}$  QD×12 i.v.；アピリモド遊離塩基（四角，破線）  $75 \text{ mg/kg}$  QD×5、2日のオフ，QD×5 p.o.；イブルチニブ（×印，黒色実線）  $20 \text{ mg/kg}$  QD×12 i.v.；アピリモド遊離塩基  $75 \text{ mg/kg}$  QD×5、2日のオフ，QD×5 p.o.+イブルチニブ  $10 \text{ mg/kg}$  QD×12 i.v.（四角，淡灰色実線）；アピリモド遊離塩基  $75 \text{ mg/kg}$  QD×5、2日のオフ，QD×5 p.o.+イブルチニブ  $10 \text{ mg/kg}$  QD×12 i.v.（丸，中等度灰色実線）。

【図6】[30] 図6：アピリモドは高親和性でPIKfyveに結合する（ $K_d = 75 \text{ pM}$ ）。

【図7】[31] 図7：IL-23A発現は、非ホジキンB細胞リンパ腫における感受性の統計学的に有意な予測子ではない。アピリモド感受性（下，濃色）および非感受性（上，淡色）NHBC細胞系を示す。

【図8A】[32] 図8A：指示した濃度のアピリモドで24時間処理したH4神経膠腫細胞におけるホスホイノシチドPI(3,5)P<sub>2</sub>の免疫染色。

【図8B】[33] 図8B：ビヒクル（左）または100nMアピリモド（右）のいずれかで24時間処理したH4神経膠腫細胞の微分干渉コントラスト(Differential Interference Contrast)(DIC)イメージ。

【図9A】[34] 図9A：左：非ターゲティングshRNA（対照）またはPIKFYVEをターゲティングしたヘアピン(shPIKFYVE)のいずれかをトランスダクションしたH4のDICイメージ。右：対照またはドキシサイクリンで誘導した後のPIKFYVE shRNAのいずれかのH4細胞の生存性。

【図9B】[35] 図9B：H4神経膠腫におけるPIKFYVEノックダウン。

【発明を実施するための形態】

10

20

30

40

50

## 【 0 0 2 6 】

[36] 本発明は、癌の処置を必要とする対象、好ましくはヒト対象において癌を処置するためのアピリモドの使用に関連する組成物および方法を提供する。本発明は一般的に、リンパ由来および非リンパ由来の両方の広範な癌細胞に対するアピリモドの細胞毒性を予想外に見出したことに基づくアピリモドの新規使用に関するものであり、それはアピリモドの既知の免疫調節活性およびIL - 12 / 23 阻害活性に明らかには関連しない、あるいはそれらから予測できない活性である。さらに、本発明は、アピリモドを単独で単剤療法として、または少なくとも1種類の追加の療法剤、たとえば追加の抗癌（化学療法）剤と組み合わせて使用する療法計画に基づく、癌処置に対する新規療法を提供する。本明細書に記載する療法計画は、非癌（正常）細胞と比較した癌細胞に対するアピリモドの選択的細胞毒性、およびある期間にわたって投与したアピリモドに対する癌細胞の感受性の増大を利用する。

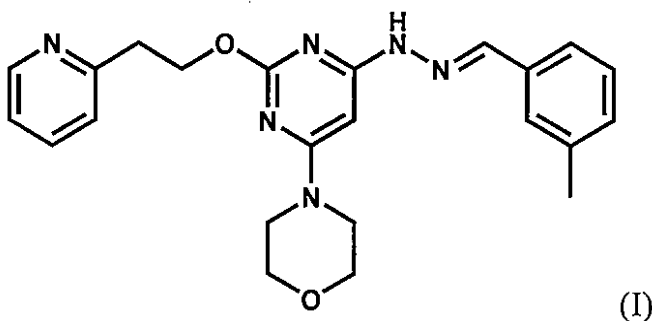
10

## 【 0 0 2 7 】

[37] 本明細書中で用いる用語“アピリモド組成物”は、アピリモドそのもの（遊離塩基）を含む組成物を表わすことができ、あるいは後記のようにアピリモドの医薬的に許容できる塩類、溶媒和物、包接化合物、水和物、多型、プロドラッグ、アナログまたは誘導体を含むことができる。アピリモドの構造を式Iに示す。

## 【 0 0 2 8 】

## 【 化 1 】



20

## 【 0 0 2 9 】

[38] アピリモドの化学名は、2 - [ 2 - ピリジン - 2 - イル ) - エトキシ ] - 4 - N ' - ( 3 - メチル - ベンジリデン ) - ヒドラジノ ] - 6 - ( モルホリン - 4 - イル ) - ピリミジン ( I U P A C 名 : ( E ) - 4 - ( 6 - ( 2 - ( 3 - メチルベンジリデン ) ヒドラジニル ) - 2 - ( 2 - ( ピリジン - 2 - イル ) エトキシ ) ピリミジン - 4 - イル ) モルホリン ) であり、C A S 番号は 5 4 1 5 5 0 - 1 9 - 0 である。

30

## 【 0 0 3 0 】

[39] アピリモドは、たとえばU.S. Patent No. 7,923,557および7,863,270、ならびにWO 2006/128129に記載された方法に従って製造できる。

[40] 本明細書中で用いる用語“医薬的に許容できる塩”は、たとえばアピリモド組成物の酸性基および塩基性基から形成される塩である。具体的な塩類には下記のものが含まれるが、それらに限定されない：硫酸塩、クエン酸塩、酢酸塩、シュウ酸塩、クロリド、ブロミド、ヨージド、硝酸塩、硫酸水素塩、リン酸塩、酸性リン酸塩、イソニコチン酸塩、乳酸塩、サリチル酸塩、酸性クエン酸塩、酒石酸塩、オレイン酸塩、タンニン酸塩、パントテン酸塩、酒石酸水素塩、アスコルビン酸塩、コハク酸塩、マレイン酸塩、ベシル酸塩、ゲンチシン酸塩、フマル酸塩、グルコン酸塩、グルカロン酸塩、サッカリン酸塩、ギ酸塩、安息香酸塩、グルタミン酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p - トルエンスルホン酸塩、およびパモ酸塩（たとえば、1 , 1 ' - メチレン - ビス - ( 2 - ヒドロキシ - 3 - ナフトエート ) ）。好ましい態様において、アピリモドの塩はメタンスルホン酸塩を含む。

40

## 【 0 0 3 1 】

[41] 用語“医薬的に許容できる塩”はまた、酸性官能基、たとえばカルボン酸官能基

50

をもつアピリモド組成物と医薬的に許容できる無機塩基または有機塩基から製造される塩を表わす。

【0032】

[42] 用語“医薬的に許容できる塩”はまた、塩基性官能基、たとえばアミノ官能基をもつアピリモド組成物と、医薬的に許容できる無機酸または有機酸から製造される塩を表わす。

【0033】

[43] 本明細書に記載する化合物の塩類は、親化合物から、一般的な化学的方法、たとえば下記に記載された方法により合成できる：Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, P. Hemrich Stalil (Editor), Camille G. Wermuth (Editor), ISBN: 3 -90639-026-8, August 2002。一般に、そのような塩類は、親化合物と適宜な酸を水中もしくは有機溶媒中または両者の混合物中で反応させることにより製造できる。 10

【0034】

[44] 本明細書に記載する化合物のある塩形態を、当業者に周知の方法により遊離塩基に、また所望により他の塩形態に変換できる。たとえば、遊離塩基はアミン固定相を収容したカラム（たとえば、Strata-NH<sub>2</sub>カラム）に塩溶液を通すことにより形成できる。あるいは、水中の塩溶液を炭酸水素ナトリウムで処理して塩を分解し、遊離塩基を析出させることができる。次いでその遊離塩基を常法により他の酸と結合させることができる。

【0035】

[45] 本明細書中で用いる用語“多型”は、本発明の化合物（たとえば、2-[2-ピリジン-2-イル)-エトキシ]-4-N'-(3-メチル-ベンジリデン)-ヒドラジノ]-6-(モルホリン-4-イル)-ピリミジン)またはその複合体の固体結晶形態を意味する。異なる多型の同一化合物が、異なる物理的、化学的および/または分光分析特性を示す可能性がある。異なる物理的特性には、安定性（たとえば、熱または光に対するもの）、圧縮適性および密度（配合および製品製造において重要）、および溶解速度（それは生物学的利用能に影響を及ぼす可能性がある）が含まれるが、これらに限定されない。安定性の相異は下記の変化から生じる可能性がある：化学反応性（たとえば、酸化較差；それによって、剤形はある多型から構成された場合に他の多型から構成された場合より急速に変色する）もしくは機械的特性（たとえば、動力学的に好ましい多型がより熱力学的に安定な多型に変換するのに伴って、錠剤は貯蔵に際して崩壊する）または両者（たとえば、ある多型の錠剤は高湿度ではより分解しやすい）。多型の異なる物理的特性は、それらの加工に影響を及ぼす可能性がある。たとえば、ある多型は、たとえばその粒子の形状または粒度分布のため、他の多型より溶媒和物を形成する傾向がより大きく、あるいは濾過または洗浄して不純物を除くのがより困難である可能性がある。 30

【0036】

[46] 本明細書中で用いる用語“水和物”は、本発明の化合物（たとえば、2-[2-ピリジン-2-イル)-エトキシ]-4-N'-(3-メチル-ベンジリデン)-ヒドラジノ]-6-(モルホリン-4-イル)-ピリミジン)またはその塩が、さらに非共有結合分子間力により結合した化学量論的量または非-化学量論的量的の水を含むものを意味する。 40

【0037】

[47] 本明細書中で用いる用語“包接化合物”は、空間（たとえば、チャネル）を含む結晶格子の形態の本発明化合物（たとえば、2-[2-ピリジン-2-イル)-エトキシ]-4-N'-(3-メチル-ベンジリデン)-ヒドラジノ]-6-(モルホリン-4-イル)-ピリミジン)またはその塩が、内部にトラップされたゲスト分子（たとえば、溶媒または水）をもつものを意味する。

【0038】

[48] 本明細書中で用いる用語“プロドラッグ”は、本明細書に記載する化合物（たとえば、2-[2-ピリジン-2-イル)-エトキシ]-4-N'-(3-メチル-ベンジ 50

リデン) - ヒドラジノ] - 6 - (モルホリン - 4 - イル) - ピリミジン) の誘導体であって、生物学的条件下で (インピトロまたはインピボで) 加水分解され、酸化され、または他の様式で反応して、本発明の化合物を供給できるものを意味する。プロドラッグは生物学的条件下でのそのような反応に際して初めて活性になる場合があり、あるいはそれらはそれらの未反応形態で活性をもつ場合がある。本発明において考慮されるプロドラッグの例には、本明細書に記載する化合物 (たとえば、2 - [2 - ピリジン - 2 - イル) - エトキシ] - 4 - N' - (3 - メチル - ベンジリデン) - ヒドラジノ] - 6 - (モルホリン - 4 - イル) - ピリミジン) のアナログまたは誘導体であって、生加水分解性(biohydrolyzable)部分を含むもの、たとえば生加水分解性アミド、生加水分解性エステル、生加水分解性カルバメート、生加水分解性カーボネート、生加水分解性ウレイド、および生加水分解性ホスフェートアナログが含まれるが、これらに限定されない。プロドラッグの他の例には、本明細書に開示するいずれかの式の化合物の誘導体であって、- NO、- NO<sub>2</sub>、- ONO、または- ONO<sub>2</sub> 部分を含むものが含まれる。プロドラッグは、一般に、周知の方法、たとえばBurger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery (1995) 172-178, 949-982 (Manfred E. Wolff ed., 5th ed)に記載された方法を用いて製造できる。

10

#### 【0039】

[49] 本明細書中で用いる用語“溶媒和物”または“医薬的に許容できる溶媒和物”は、本明細書に記載する化合物の1つ (たとえば、2 - [2 - ピリジン - 2 - イル) - エトキシ] - 4 - N' - (3 - メチル - ベンジリデン) - ヒドラジノ] - 6 - (モルホリン - 4 - イル) - ピリミジン) への1個以上の溶媒分子の会合から形成された溶媒和物である。溶媒和物という用語には、水和物 (たとえば、半 - 水和物、1水和物、2水和物、3水和物、4水和物など) が含まれる。

20

#### 【0040】

[50] 本明細書中で用いる用語“アナログ”は、構造的には他と類似するけれども組成においてわずかに異なる化学物質を表わす (1個の原子が異なる元素の原子により置き換えられた場合、または特定の官能基が存在する場合、または1つの官能基が他の官能基により置き換えられた場合のように)。よって、アナログは、機能および外観においては基準化合物と類似または同等であるけれども構造または由来においてはそうでない化合物である。本明細書中で用いる用語“誘導体”は、共通のコア構造をもち、本明細書に記載する種々の基で置換された化合物を表わす。

30

#### 【0041】

##### 処置方法

[51] 本発明は、療法有効量の本発明のアピリモド組成物を投与することにより、癌を処置する必要がある対象において癌を処置するための方法を提供し、その組成物はアピリモド、またはその医薬的に許容できる塩、溶媒和物、包接化合物、水和物、多型、プロドラッグ、アナログまたは誘導体を含む。一態様において、アピリモド組成物はアピリモド遊離塩基またはアピリモド・ジメシレートを含む。本発明はさらに、癌の処置に有用な医薬を調製するための、アピリモド組成物の使用を提供する。

#### 【0042】

[52] 一態様において、癌は脳癌、神経膠腫、肉腫、乳癌、肺癌、非小細胞肺癌、中皮腫、虫垂癌、泌尿生殖器癌、腎細胞癌、前立腺癌、膀胱癌、精巣癌、陰茎癌、子宮頸癌、卵巣癌、フォン・ヒッペル・リンドウ病、頭頸部癌、胃腸癌、肝細胞癌、胆嚢癌、食道癌、胃癌、結腸直腸癌、脾臓癌、神経内分泌腫瘍、甲状腺腫瘍、下垂体腫瘍、副腎腫瘍、血液悪性腫瘍、リンパ腫、または白血病である。

40

#### 【0043】

[53] 一態様において、癌はリンパ腫である。一態様において、リンパ腫はB細胞リンパ腫である。一態様において、B細胞リンパ腫はホジキンB細胞リンパ腫および非ホジキンB細胞リンパ腫からなる群から選択される。一態様において、B細胞リンパ腫はDLBCL、濾胞性リンパ腫、辺縁帯リンパ腫 (MZL)、または粘膜関連リンパ組織型リンパ腫 (mucosa associated lymphatic tissue lymphoma) (MALTL)、小リンパ球性リンパ

50

腫（慢性リンパ性白血病とオーバーラップする）、およびマンツル細胞リンパ腫から選択される非ホジキンB細胞リンパ腫である。一態様において、B細胞リンパ腫は下記のものからなる群から選択される非ホジキンB細胞リンパ腫である：パーキットリンパ腫、パーキットリンパ腫、原発性縦隔（胸腺）大細胞型B細胞リンパ腫(primary mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma)、リンパ形質細胞性リンパ腫(lymphoplasmacytic lymphoma)：これはワルデンシュトレーム・マクログロブリン血症(Waldenstroem macroglobulinemia)として顕性になる可能性がある、節性辺縁帯B細胞リンパ腫(nodal marginal zone B cell lymphoma)細胞リンパ腫(NMZL)、脾臓辺縁帯リンパ腫(splenic marginal zone lymphoma)(SMZL)、血管内大細胞型B細胞リンパ腫(intravascular B cell lymphoma)、原発性滲出液リンパ腫(primary effusion lymphoma)、リンパ腫様肉芽腫症(lymphomatoid granulomatosis)、T細胞/組織球豊富大細胞型B細胞リンパ腫(histiocyte-rich large B-cell lymphoma)、原発性中枢神経系リンパ腫、原発性皮膚びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma)、下肢型（原発性皮膚DLBCL, 下肢型）、高齢者のEBV陽性びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、炎症関連のびまん性大細胞型B細胞リンパ腫、血管内大細胞型B細胞リンパ腫、ALK陽性大細胞型B細胞リンパ腫、および形質芽細胞リンパ腫(plasmablastic lymphoma)。

10

【0044】

[54] 一態様において、癌はDLBCL、濾胞性リンパ腫、辺縁帯リンパ腫(MZL)、CLL/SLL（慢性リンパ性白血病/小リンパ球性リンパ腫）、およびマンツル細胞リンパ腫から選択されるリンパ腫である。

20

【0045】

[55] 一態様において、本発明の方法は、非ホジキンリンパ腫(NHL)を処置する必要がある対象においてそれを処置するための療法計画である。一態様において、本方法は、対象の癌細胞において細胞のPIKfyve活性を阻害するのに有効な1日量のアピリモド組成物を対象に投与することを含む。一態様において、アピリモド組成物は、アピリモドを含む組成物を投与する少なくとも1日と、それに続く、アピリモドを含む組成物を投与しない連続した少なくとも1日とからなる計画で投与される。一態様において、投与工程を2から10まで、または2から5までのサイクルで実施する。一態様において、サイクルは、当該組成物を投与する連続した1から10日までと、それに続く、当該組成物を投与しない連続した1から5日までとからなる。一態様において、サイクルは、当該組成物を投与する連続した2から5日と、それに続く、当該組成物を投与しない連続した1から2日とからなる。一態様において、サイクルは、当該組成物を投与する連続した5日と、それに続く、当該組成物を投与しない連続した2日とからなる。

30

【0046】

[56] 一態様において、本方法は下記を含むか、あるいはそれからなる：28日のサイクルにおいて5日のアピリモドによる処置と、それに続く2日のオフ（休薬）処置を、1から2か月まで、1から3か月まで、1から4か月まで、1から5か月まで、1から6か月まで、または6から12か月までの範囲の期間。

【0047】

[57] これらの態様のいずれかによれば、アピリモド組成物はアピリモド遊離塩基またはアピリモド・ジメシレートを含むことができる。一態様において、NHLは濾胞性リンパ腫である。一態様において、NHLはマンツル細胞リンパ腫である。一態様において、NHLはパーキットリンパ腫である。一態様において、NHLはびまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)、パーキットリンパ腫、縦隔B細胞リンパ腫、またはマンツル細胞リンパ腫である。一態様において、NHLはDLBCLである。一態様において、DLBCLは治療抵抗性である。一態様において、治療抵抗性DLBCLはDLBCL-ABCまたはDLBCL-GCBである。一態様において、治療抵抗性DLBCLは二重myc/bcl2トランスロケーション（“ダブルヒットDLBCL”）を含む。一態様において、DLBCLは標準CHOP治療に対して治療抵抗性である。

40

【0048】

50

### 併用療法

[58] 本発明はまた、併用療法を含む方法を提供する。本明細書中で用いる“併用療法(combination therapy)”または“共療法(co-therapy)”は、アピリモド組成物と追加の有効薬剤との共作用から有益な効果を得ることを意図した特定の治療計画の一部として、療法有効量のアピリモド組成物を少なくとも1種類の追加の有効薬剤と共に投与することを含む。“併用療法”は、意図または予測しなかった有益な効果を偶発的かつ恣意的に生じる2種類以上の療法化合物を別個の単剤療法計画の一部として投与することを含まないものとする。

#### 【0049】

[59] 一態様において、本方法は、アピリモド組成物および癌の処置のための化学療法計画を含む併用療法を用いて癌を処置する方法である。一態様において、化学療法計画はC H O P計画である。C H O Pは、非ホジキンリンパ腫の処置に一般に用いられる、下記の有効薬剤からなる計画を表わす：(C)yclophosphamide(シクロホスファミド)、D N Aに結合して架橋を形成することによりD N Aに損傷を与えるアルキル化剤；(H)ydroxydaunorubicin(ヒドロキシダウノルビシン)(ドキソルビシンまたはA d r i a m y c i nとも呼ばれる)、それ自体をD N A塩基間に挿入することによりD N Aに損傷を与えるインターカレーション剤；(O)ncovin(ビンクリスチン)、タンパク質チューブリンに結合することにより細胞が複製するのを阻止する；および(P)rednisone(プレドニゾン)または(P)rednisolone(プレドニゾロン)、これらはコルチコステロイドである。他の態様において、化学療法計画はC O O P(シクロホスファミド、硫酸ビンクリスチン、塩酸プロカルバジン、プレドニゾン)、C V P(シクロホスファミド、硫酸ビンクリスチン、プレドニゾン)、E P O C H(エトポシド、プレドニゾン、硫酸ビンクリスチン、シクロホスファミド、塩酸ドキソルビシン)、H y p e r - C V A D(シクロホスファミド、硫酸ビンクリスチン、塩酸ドキソルビシン、デキサメタゾン)、I C E(イホスファミド、カルボプラチン、エトポシド)、R - C H O P(リツキシマブ、シクロホスファミド、硫酸ビンクリスチン、塩酸プロカルバジン、プレドニゾン)、およびR - C V P(リツキシマブ、シクロホスファミド、硫酸ビンクリスチン、プレドニゾン)から選択される。

#### 【0050】

[60] 少なくとも1種類の追加の有効薬剤は、療法剤、たとえば抗癌剤もしくは癌化学療法剤、または非療法剤、およびその組合わせであってもよい。療法剤に関して、組合わせの有益な効果には療法有効化合物の組合わせから生じる薬物動態的または薬力学的な共作用が含まれるが、これらに限定されない。非療法剤に関して、組合わせの有益な効果は組合わせ中の療法有効化合物に関連する毒性、副作用、または有害事象の緩和に関係する可能性がある。

#### 【0051】

[61] 一態様において、少なくとも1種類の追加薬剤は、アピリモド組成物の1以上の副作用、すなわち吐き気、嘔吐、頭痛、めまい(dizziness)、立ちくらみ(lightheadedness)、眠気(drowsiness)およびストレスのいずれかから選択される1以上の副作用を緩和する非療法剤である。この態様の一側面において、非療法剤はセロトニン受容体(5 - ヒドロキシトリプタミン受容体または5 - H T受容体としても知られる)のアンタゴニストである。一側面において、非療法剤は5 - H T<sub>3</sub>または5 - H T<sub>1</sub>受容体のアンタゴニストである。一側面において、非療法剤はオンダンセトロン、グラニセトロン、ドラセトロンおよびパロノセトロンからなる群から選択される。他の側面において、非療法剤はピンドロールおよびリスベリドンからなる群から選択される。

#### 【0052】

[62] 一態様において、少なくとも1種類の追加の有効薬剤は療法剤である。一態様において、療法剤は抗癌剤である。一態様において、抗癌剤はイブルチニブである。一態様において、アピリモド組成物をイブルチニブと一緒に単一剤形で、または別個の剤形で投与する。一態様において、剤形は経口剤形である。他の態様において、剤形は静脈内投与

に適している。

【 0 0 5 3 】

[63] 一態様において、抗癌剤はリンパ腫の処置に使用するために承認された薬物である。そのような薬物の限定ではない例には、下記のものが含まれる：a b i t r e x a t e ((メトトレキセート(methotrexate))、アドセトリス(adcetris))(ブレンツキシマブ  
ベドチン(brentuximab vedotin))、アンボクロリン(ambochlorin)(クロラムブシル(chlorambucil))、アンボクロリン(amboclorin)(クロラムシル(chloramucil))、アラノン(arran  
on)(ネララビン(nelarabine))、ベセナム(becenum)(カルムスチン(carmustine))、ベロオ  
ダク(beleodaq)(ベリノスタット(belinostat))、ベリノスタット、塩酸ベンダムスチン(b  
endamustine hydrochloride)、b e x x a r (トシツモマブ(tositumomab)およびヨウ素 I  
1 3 1 トシツモマブ)、B i C N U (カルムスチン)、ブレノキササン(blenoxane) (ブレオマ  
イシン)、ブレオマイシン、ボルテゾミブ(bortezomib)、ブレンツキシマブ ベドチン、  
カルムブリス(carmubris) (カルムスチン)、カルムスチン、クロラムブシル、クラフェ  
ン(clafen) (シクロホスファミド)、シクロホスファミド、シトキササン(cytosan) (シク  
ロホスファミド)、デニロイキン ディフチトックス(denileukin diftitox)、D e p o  
C y t (シタラビンリポソーム(liposomal cytarabine))、塩酸ドキソルビシン、f o l e  
x (メトトレキセート)、フォロチン(folotylin)(プララトレキセート(pralatrexate))、  
イブリツモマブ チウキセタン(ibritumomab tiuxetan)、イブルチニブ、イデラリシブ(i  
delalisib)、イムブルピカ(imbruvica)(イブツルチニブ(ibrutinib))、イントロン A ( 20  
組換えインターフェロンアルファ - 2 b )、イストダックス(istodax)(ロミデプシン(rom  
idepsin))、レナリドミド(lenalidomide)、ロイケラン(leukeran) (クロラムブシル)、  
リンホリジン(linfolizin) (クロラムブシル)、シタラビンリポソーム、塩酸メクロレタ  
ミン(mechlorethamine hydrochloride)、メトトレキセート、m e t h o t r e x a t e  
L P F (メトトレキセート)、m e x a t e (メトトレキセート)、m e x a t e - A Q (メ  
トトレキセート)、モゾビル(mozobil)(ペリキサフォル(perixafor))、m u s t a r g e  
n (塩酸メクロレタミン(mechlorethamine hydrochloride))、ネララビン(nelarabine)、  
ネオサル(neosar) (シクロホスファミド)、オンタック(ontak) (デニロイキン ディ  
フチトックス)、ペリキサフォル(perixafor)、プララトレキセート、プレドニゾン、組  
換えインターフェロンアルファ - 2 b 、リブリミド(revlimid) (レナリドミド)、リツキ  
サン(rituxan)(リツキシマブ(rituximab))、リツキシマブ、ロミブプシン、トシツモマブ 30  
およびヨウ素 I 1 3 1 トシツモマブ、トレアンダ(treanda) (塩酸ベンダムスチン)、ベ  
ルバン(velban)(硫酸ビンブラスチン(vinblastine sulfate))、ベルケイド (ボルテゾミ  
ブ)、ベルサル(velsar) (硫酸ビンブラスチン)、硫酸ビンブラシン、ピンカサル P F  
S (vincasar PFS) (硫酸ピンクリスチン)、硫酸ピンクリスチン、ポリノスタット(vorin  
ostat)、ゼバリン(zevalin) (イブリツモマブ チウキセタン)、ゾリンザ(zolinza)(ポ  
リノスタット)、およびザイデリッヒ(zydelig) (イデラリシブ)。

【 0 0 5 4 】

[64] 一態様において、抗癌剤はE Z H 2 の阻害剤から選択される：たとえばE P Z -  
6 4 3 8。一態様において、抗癌剤はタキソール(taxol)、ピンクリスチン、ドキソルビ  
シン、テムシロリムス(temsirolimus)、カルボプラチン、オフアツムマブ(ofatumumab)、 40  
リツキシマブおよびその組み合わせから選択される。

【 0 0 5 5 】

[65] 一態様において、少なくとも1種類の追加の薬剤はB細胞受容体経路阻害剤であ  
る。ある態様において、B細胞受容体経路阻害剤はC D 7 9 A 阻害剤、C D 7 9 B 阻害剤  
、C D 1 9 阻害剤、L y n 阻害剤、S y k 阻害剤、P I 3 K 阻害剤、B l n k 阻害剤、  
P L C y 阻害剤、P K C P 阻害剤、またはその組み合わせである。ある態様において、少な  
くとも1種類の追加の薬剤は抗体、B細胞受容体シグナル伝達阻害剤、P I 3 K 阻害剤、  
I A P 阻害剤、m T O R 阻害剤、放射免疫療法剤(radioimmunotherapeutic)、D N A 損傷  
剤、プロテオソーム阻害剤、ヒストンデアシラーゼ阻害剤、プロテインキナーゼ阻害剤、  
ヘッジホッグ阻害剤、H s p 9 0 阻害剤、テロメラゼ阻害剤、J a k 1 / 2 阻害剤、プ 50

ロテアーゼ阻害剤、P K C 阻害剤、P A R P 阻害剤、またはその組合わせである。

【 0 0 5 6 】

[66] 一態様において、少なくとも 1 種類の追加の薬剤は、クロラムブシル、イホスファミド(ifosfamide)、ドキシソルピシン、メザラジン(mesalazine)、サリドマイド(thalidomide)、レナリドミド、テムシロリムス、エベロリムス、フルダラビン(fludarabine)、ホスタマチニブ(fostamatinib)、パクリタキセル(paclitaxel)、ドセタキセル(docetaxel)、オフアツムマブ、リツキシマブ、デキサメタゾン、プレドニゾン、C A L - 1 0 1、イブリットモマブ、トシツモマブ、ボルテゾミブ、ペントスタチン(pentostatin)、エンドスタチン(endostatin)、またはその組合わせから選択される。

【 0 0 5 7 】

[67] 一態様において、少なくとも 1 種類の追加薬剤は、モノクローナル抗体、たとえばアレムツツマブ(alemtuzumab)、ベバシズマブ、カツマキシマブ(catumaxomab)、セツキシマブ(cetuximab)、エドレコロマブ(edrecolomab)、ゲムツツマブ(gemtuzumab)、オフアツムマブ、パニツムマブ(panitumumab)、リツキシマブ、トラストツツマブ(trastuzumab)、エクリズマブ(eculizumab)、エファリズマブ(efalizumab)、m u r o m a b - C D 3、ナタリズマブ(natalizumab)、アダリムマブ(adalimumab)、アフエリモマブ(afelimomab)、セルトリズマブ ペゴル(certolizumab pegol)、ゴリムマブ(golimumab)、インフリキシマブ(infliximab)、バシリキシマブ(basiliximab)、カナキヌマブ(canakinumab)、ダクリズマブ(daclizumab)、メボリズマブ(mepolizumab)、トシリズマブ(tocilizumab)、ウステキヌマブ(ustekinumab)、イブリットモマブ チウキセタン(ibritumomab tiuxetan)、トシツモマブ、アバゴボマブ(abagovomab)、アデカツムマブ(adecatumumab)、アレムツツマブ、抗 - C D 3 0 モノクローナル抗体 X m a b 2 5 1 3、抗 - M E T モノクローナル抗体 M e t M a b、アポリズマブ(apolizumab)、アポマブ(apomab)、アルシツモマブ(arcitumomab)、バシリキシマブ、二重特異性抗体 2 B 1、ブリナツモマブ(blinatumomab)、ブレンツキシマブ ベドチン(brentuximab vedotin)、カプロマブ ペンデチド(capromab pendeptide)、シクスツムマブ(cixutumumab)、クラウディキシマブ(claudiximab)、コナツムマブ(conatumumab)、ダセツズマブ(dacetuzumab)、デノスマブ(denosumab)、エクリズマブ、エブラツツマブ(epratuzumab)、エルツマキシマブ(ertumaxomab)、エトラシズマブ(etraracizumab)、フィギツムマブ(figitumumab)、フレソリムマブ(fresolimumab)、ガリキシマブ(galiximab)、ガニツマブ(ganitumab)、ゲムツツマブ オゾガマイシン(gemtuzumab ozogamicin)、グレムバツムマブ(glembatumumab)、イブリットモマブ、イノツズマブ オゾガマイシン(inotuzumab ozogamicin)、イピリムマブ、レキサツムマブ(lexatumumab)、リンツズマブ(lintuzumab)、リンツズマブ、ルカツムマブ(lucatumumab)、マバツムマブ(mapatumumab)、マツズマブ(matuzumab)、ミラツズマブ(milatuzumab)、モノクローナル抗体 C C 4 9、ネシツムマブ(necitumumab)、ニモツズマブ(nimotuzumab)、オフアツムマブ、オレゴボマブ(oregovomab)、ペルツズマブ(pertuzumab)、ラマクリマブ(ramacurimab)、ラニビズマブ(ranibizumab)、シプリズマブ(siplizumab)、ソネブシズマブ(sonepcizumab)、タネズマブ(tanezumab)、トシツモマブ、トラストツツマブ、トレメリムマブ(tremelimumab)、ツコツズマブ セルモロイキン(tucotuzumab celmoleukin)、ベルツズマブ(veltuzumab)、ビシリズマブ(visilizumab)、ボロシキシマブ(volociximab)、およびザルツムマブ(zalutumumab)である。

【 0 0 5 8 】

[68] 併用療法に関して、アピリモド組成物の投与は 1 種類以上の追加の有効薬剤の投与と同時にまたはその投与後であってもよい。他の態様において、併用療法の異なる成分の投与は異なる頻度であってもよい。1 種類以上の追加薬剤を、本発明化合物の投与の前(たとえば、5 分前、1 5 分前、3 0 分前、4 5 分前、1 時間前、2 時間前、4 時間前、6 時間前、1 2 時間前、2 4 時間前、4 8 時間前、7 2 時間前、9 6 時間前、1 週間前、2 週間前、3 週間前、4 週間前、5 週間前、6 週間前、8 週間前、または 1 2 週間前)、それと同時に、またはその後(たとえば、5 分後、1 5 分後、3 0 分後、4 5 分後、1 時間後、2 時間後、4 時間後、6 時間後、1 2 時間後、2 4 時間後、4 8 時間後、7 2 時間後

10

20

30

40

50



、96時間後、1週間後、2週間後、3週間後、4週間後、5週間後、6週間後、8週間後、または12週間後)に投与することができる。

【0059】

[69] より詳細に本明細書に記載するように、1種類以上の追加の有効薬剤をアピリモド組成物との共投与のために単一剤形中に配合することができる。1種類以上の追加の有効薬剤を、本発明の化合物を含む剤形とは別個に投与することができる。アピリモド組成物とは別個に追加の有効薬剤を投与する場合、それはアピリモド組成物と同一または異なる投与経路によるものであってよい。

【0060】

[70] 好ましくは、アピリモド組成物を1種類以上の追加薬剤と組み合わせて投与することにより、処置される対象において相乗的応答が得られる。これに関して、用語“相乗的”は、組合わせの有効性がいずれかの単剤療法のための相加効果より有効であることを表わす。本発明による併用療法の相乗効果によって、組合わせ中の少なくとも1種類の薬剤を、その組合わせ以外のその用量および/または頻度と比較してより低い投与量および/またはより少ない投与頻度で使用する。組合わせのさらに他の有益な効果は、組合わせ中のいずれかの療法を単独で使用すること(単剤療法とも呼ばれる)に関連する有害または目的外の副作用が回避または低減されることに現われる可能性がある。

【0061】

[71] “併用療法”は、本発明の化合物を非薬物療法(たとえば、外科処置または放射線処置)とのさらなる組合わせで投与することをも含む。併用療法がさらに非薬物処置を含む場合、療法用化合物と非薬物処置の組合わせの共作用からの有益な効果が達成される限り、非薬物処置はいずれか適切な時点で実施できる。たとえば、適切な場合、療法用化合物の投与から非薬物処置を時間的におそらく数日または数週間ずらした場合にはなお、有益な効果が達成される。

【0062】

[72] 非薬物処置は、化学療法、放射線療法、ホルモン療法、抗エストロゲン療法、遺伝子療法、および外科処置から選択できる。たとえば、非薬物療法は下記のものである：卵巣摘除(たとえば、体内のエストロゲンのレベルを低下させるために)、胸郭穿刺術(thoracentesis)(たとえば、胸部から体液を除去するための)、穿刺術(paracentesis)(たとえば、腹部から体液を除去するための)、血管筋脂肪腫を摘除もしくは縮小するための外科処置、肺移植(場合により、移植による感染を阻止するために抗生物質と共に)、または酸素療法(たとえば、両鼻腔内に配置する2つの細いプラスチックチューブまたはプロング(prong)を収容した鼻カニューレによるか、あるいは鼻と口の上にフィットするマスクによるか、あるいは首の前から気管に挿入した細いチューブを通して(経気管酸素療法とも呼ばれる))。

【0063】

[73] 本明細書に記載する方法に関して、対象に投与するアピリモド組成物の量は療法有効量である。用語“療法有効量”は、処置される疾患もしくは障害を処置し、その症状を改善し、重症度を軽減し、持続時間を短縮し、または他の療法の療法効果を増強もしくは改善するのに十分な、あるいは対象において検知可能な効果を示すのに十分な量を表わす。一態様において、アピリモド組成物の療法有効量はPIKfyveキナーゼ活性を阻害するのに有効な量である。

【0064】

[74] アピリモド組成物の有効量は、約0.001mg/kgから約1000mg/kgまで、約0.01mg/kgから約100mg/kgまで、約10mg/kgから約250mg/kgまで、約0.1mg/kgから約15mg/kgまでの範囲；または範囲の下限が0.001mg/kg~900mg/kgのいずれかの量であり、範囲の上限が0.1mg/kg~1000mg/kgのいずれかの量であるいずれかの範囲であってもよい(たとえば、0.005mg/kg~200mg/kg、0.5mg/kg~20mg/kg)。当業者に認識されるように、有効量は処置される疾患、投与経路、賦形剤の

使用、および他の療法処置との共使用、たとえば他の薬剤の使用の可能性によっても変動するであろう。たとえば、U.S. Patent No. 7,863,270を参照；本明細書に援用する。

【0065】

[75] より具体的な側面において、アピリモド組成物を30～1000mg/日（たとえば、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、125、150、175、200、225、250、275、または300mg/日）、少なくとも1週間（たとえば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、36、48、またはそれ以上の週間）の投与計画で投与する。好ましくは、アピリモド組成物を100～1000mg/日、4または16週間の投与計画で投与する。あるいは、または続いて、アピリモド組成物を100mg～300mg、1日2回、8週間または所望により52週間の投与計画で投与する。あるいは、または続いて、アピリモド組成物を50mg～1000mg、1日2回、8週間または所望により52週間の投与計画で投与する。

10

【0066】

[76] 有効量のアピリモド組成物を、1日1回、1日2回、または1日2回から5回まで、最大で1日2回、または最大で1日3回、または最大で1日8回、投与することができる。一態様において、アピリモド組成物を、1日3回、1日2回、1日1回、14日のオン（投薬）（1日4回、1日3回、または1日2回、または1日1回）と7日のオフ（休薬）で3週間のサイクル、最大で5または7日のオン（1日4回、1日3回、または1日2回、または1日1回）と14～16日のオフで3週間のサイクル、あるいは2日毎に1回、または週1回、または2週毎に1回、または3週毎に1回、投与する。

20

【0067】

[77] 一態様において、アピリモド組成物を1日1回または1日2回、5日のオン、2日のオフ、28日間のサイクルで、1～2か月、1～3か月、1～4か月、1～5か月、1～6か月、または6～12か月の期間、投与する。

【0068】

[78] 本明細書に記載する方法によれば、“処置する必要がある対象”は、ある疾患、障害もしくは状態を伴う対象、または一般集団と対比してある疾患、障害もしくは状態を発現するリスクが高い対象である。処置する必要がある対象は、その疾患または障害、たとえば癌に現在利用できる療法に対して“不応答”または“治療抵抗性”である対象であってもよい。これに関して、用語“不応答”および“治療抵抗性”は、療法に対する対象の応答がその疾患または障害に関連する1以上の症状を軽減するのに臨床的に適切でないものを表わす。本明細書に記載する方法の一側面において、処置する必要がある対象は、癌を伴っており、その癌が標準療法に対して治療抵抗性であるか、あるいはその癌が標準処置後に再発した対象である。

30

【0069】

[79] “対象”には哺乳類が含まれる。哺乳類は、たとえばいずれかの哺乳類、たとえばヒト、霊長類、脊椎動物、鳥類、マウス、ラット、ニワトリ、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ヤギ、ラクダ、ヒツジまたはブタであってもよい。好ましくは、哺乳類はヒトである。用語“患者”はヒト対象を表わす。

40

【0070】

[80] 本発明はまた、本明細書に記載する疾患、障害または状態の処置のための単剤療法を提供する。本明細書中で用いる“単剤療法”は、処置する必要がある対象に単一の有効化合物または療法化合物を投与することを表わす。

【0071】

[81] 本明細書中で用いる“治療（処置）(treatment)”、“治療（処置）すること(treating)”または“治療（処置）する(treat)”は、疾患、状態または障害に対処する目的のための患者の管理およびケアを記述し、その疾患、状態または障害の1以上の症状または合併症を軽減するために、あるいは疾患、状態または障害を排除するために、アピリモド組成物を投与することを含む。

50

## 【 0 0 7 2 】

[82] 本明細書中で用いる“ 予防(prevention) ”、“ 予防すること(preventing) ”または“ 予防する(prevent) ”は、疾患、状態または障害の症状または合併症の発症を軽減または排除することを記述し、その疾患、状態または障害の症状または合併症の発症、発現または再発を低減するために、アピリモド組成物を投与することを含む。

## 【 0 0 7 3 】

[83] 一態様において、アピリモド組成物の投与は処置される疾患または障害の症状または合併症の排除をもたらすが、排除は要求されない。一態様において、症状の重症度が低減する。癌に関して、そのような症状には重症度または進行度の臨床マーカーを含めることができ、それには、腫瘍が増殖因子を分泌する、細胞外マトリックスを分解する、血管形成する、近位組織への接着性を喪失する、または転移する程度、ならびに転移数が含まれる。

10

## 【 0 0 7 4 】

[84] 本明細書に記載する方法に従った癌の処置は、腫瘍サイズの低減を生じることができる。腫瘍サイズの低減は“ 腫瘍退縮 ”とも呼ぶことができる。好ましくは、処置後に腫瘍サイズが処置前のそのサイズと対比して5 %以上、低減する；より好ましくは、腫瘍サイズが10 %以上、低減する；より好ましくは、20 %以上、低減する；より好ましくは、30 %以上、低減する；より好ましくは、40 %以上、低減する；よりさらに好ましくは、50 %以上、低減する；最も好ましくは、75 %以上またはそれ以上、低減する。腫瘍のサイズはいずれか再現性のある測定手段で測定できる。腫瘍のサイズは腫瘍の直径として測定できる。

20

## 【 0 0 7 5 】

[85] 本明細書に記載する方法に従った癌の処置は、腫瘍体積の低減を生じることができる。好ましくは、処置後に腫瘍体積が処置前のそのサイズと対比して5 %以上、低減する；より好ましくは、腫瘍体積が10 %以上、低減する；より好ましくは、20 %以上、低減する；より好ましくは、30 %以上、低減する；より好ましくは、40 %以上、低減する；よりさらに好ましくは、50 %以上、低減する；最も好ましくは、75 %以上またはそれ以上、低減する。腫瘍体積はいずれか再現性のある測定手段で測定できる。

## 【 0 0 7 6 】

[86] 本明細書に記載する方法に従った癌の処置は、腫瘍数の低減を生じることができる。好ましくは、処置後に腫瘍数が処置前の数と対比して5 %以上、低減する；より好ましくは、腫瘍数が10 %以上、低減する；より好ましくは、20 %以上、低減する；より好ましくは、30 %以上、低減する；より好ましくは、40 %以上、低減する；よりさらに好ましくは、50 %以上、低減する；最も好ましくは、75 %以上、低減する。腫瘍の数はいずれか再現性のある測定手段で測定できる。腫瘍の数は肉眼または特定倍率で見える腫瘍を計数することにより測定できる。好ましくは、特定倍率は2 x、3 x、4 x、5 x、10 x、または50 xである。

30

## 【 0 0 7 7 】

[87] 本明細書に記載する方法に従った癌の処置は、原発腫瘍部位から離れた他の組織または臓器における転移病巣の数の低減を生じることができる。好ましくは、処置後に転移病巣の数が処置前の数と対比して5 %以上、低減する；より好ましくは、転移病巣の数が10 %以上、低減する；より好ましくは、20 %以上、低減する；より好ましくは、30 %以上、低減する；より好ましくは、40 %以上、低減する；よりさらに好ましくは、50 %以上、低減する；最も好ましくは、75 %以上、低減する。転移病巣の数はいずれか再現性のある測定手段で測定できる。転移病巣の数は肉眼または特定倍率で見える転移病巣を計数することにより測定できる。好ましくは、特定倍率は2 x、3 x、4 x、5 x、10 x、または50 xである。

40

## 【 0 0 7 8 】

[88] 本明細書中で用いる用語“ 選択的に ”は、ある集団において他の集団より高い頻度で起きる傾向があることを意味する。比較する集団は細胞集団であってもよい。好まし

50

くは、本明細書に記載するアピリモド組成物は正常細胞と比較して過剰増殖している細胞または異常増殖している細胞に選択的に作用する。本明細書中で用いる“正常細胞”は、“細胞増殖性障害”の一部として分類できない細胞である。正常細胞は、不都合な状態または疾患の発現をもたらす可能性のある、無制御な増殖もしくは異常な増殖または両者を示さない。好ましくは、正常細胞は正常に機能している細胞周期チェックポイント制御機序を備えている。好ましくは、アピリモド組成物は、ある分子ターゲット（たとえば、ターゲットキナーゼ）を調節するけれども他の分子ターゲット（たとえば、非ターゲットキナーゼ）を有意には調節しないように選択的に作用する。本発明はまた、酵素、たとえばキナーゼの活性を選択的に阻害する方法を提供する。好ましくは、ある事象が集団 B と比較して集団 A において 2 倍を超える頻度で起きれば、それは集団 B と対比して集団 A において選択的に起きる。ある事象が集団 A において 5 倍を超える頻度で起きれば、それは選択的に起きる。ある事象が集団 B と比較して集団 A において 10 倍を超える頻度；より好ましくは 50 倍を超える頻度；よりさらに好ましくは 100 倍を超える頻度；最も好ましくは 1000 倍を超える頻度で起きれば、それは集団 A において選択的に起きる。たとえば、罹患している細胞または過剰増殖している細胞において正常細胞と比較して 2 倍を超える頻度で細胞死が起きれば、それは罹患している細胞または過剰増殖している細胞において選択的に起きると言われるであろう。

10

#### 【0079】

##### 医薬組成物および配合物

[89] 本発明は、哺乳類、好ましくはヒトに使用するのに適した、好ましくは医薬的に許容できる組成物であるアピリモド組成物を提供する。これに関して、組成物はさらに少なくとも 1 種類の医薬的に許容できる賦形剤またはキャリアーを含むことができ、その量は疾患または障害の処置のために効果的である。一態様において、疾患または障害は癌、好ましくはリンパ腫、最も好ましくは B 細胞リンパ腫である。一態様において、疾患または障害は m T O R 疾患または障害である。

20

#### 【0080】

[90] 一態様において、アピリモド組成物はアピリモド遊離塩基またはアピリモド・ジメシレートを含む。

[91] 一態様において、アピリモド組成物を少なくとも 1 種類の追加の有効薬剤と単一剤形で組み合わせる。一態様において、組成物はさらに抗酸化剤を含む。

30

#### 【0081】

[92] 一態様において、少なくとも 1 種類の追加の有効薬剤は、アルキル化剤、インターカレート剤、チューブリン結合剤、コルチコステロイド、およびその組合わせからなる群から選択される。一態様において、少なくとも 1 種類の追加の有効薬剤は、イブルチニブ、リツキシマブ、ドキシソルピシン、プレドニゾロン、ビンクリスチン、ベルケイド、およびエベロリムス、ならびにその組合わせからなる群から選択される療法剤である。一態様において、少なくとも 1 種類の追加の有効薬剤は、シクロホスファミド、ヒドロキシダウノルピシン（ドキシソルピシンまたは A d r i a m y c i n（商標）とも呼ばれる）、ビンクリスチン（O n c o v i n（商標）とも呼ばれる）、プレドニゾン、プレドニゾロン、およびその組合わせから選択される療法剤である。一態様において、少なくとも 1 種類の追加の有効薬剤は、アピリモド組成物の 1 以上の副作用を改善するように選択された非療法剤である。一態様において、非療法剤はオンダンセトロン、グラニセトロン、ドラセトロンおよびパロノセトロンからなる群から選択される。一態様において、非療法剤はピンドロールおよびリスペリドンからなる群から選択される。

40

#### 【0082】

[93] 一態様において、少なくとも 1 種類の追加の有効薬剤は、m T O R 経路の阻害剤、P I 3 K 阻害剤、二重 P I 3 K / m T O R 阻害剤、S R C 阻害剤、V E G F 阻害剤、ヤヌスキナーゼ (Janus kinase) ( J A K ) 阻害剤、R a f 阻害剤、E r k 阻害剤、ファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤、抗 - 有糸分裂剤、多剤耐性排出阻害剤 (multi-drug resistance efflux inhibitor)、抗生物質、および療法用抗

50

体から選択される。一態様において、少なくとも 1 種類の追加の有効薬剤は、ファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤（たとえば、ティピファルニブ(tipifarnib)）、抗 - 有糸分裂剤（たとえば、ドセタキセル）、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤（たとえば、ボリノスタット(vorinostat)）、および多剤耐性排出阻害剤から選択される。

【 0 0 8 3 】

[94] 一態様において、抗 - 有糸分裂剤は、グリセオフルビン(Griseofulvin)、酒石酸ビノレルビン(vinorelbine tartrate)、パクリタキセル、ドセタキセル、ビンクリスチン、ビンブラスチン、エポチロン(Epothilone) A、エポチロン B、A B T - 7 5 1、C Y T 9 9 7 (レキシブリン(Lexibulin))、酒石酸ビンフルニン(vinflunine tartrate)、フォスブレタブリン(Fosbretabulin)、G S K 4 6 1 3 6 4、O N - 0 1 9 1 0 (リゴセルチブ(Rigosertib))、R o 3 2 8 0、B I 2 5 3 6、N M S - P 9 3 7、B I 6 7 2 7 (ボラセルチブ(Volasertib))、H M N - 2 1 4 および M L N 0 9 0 5 から選択される。

【 0 0 8 4 】

[95] 一態様において、ポリエーテル系抗生物質は、モネンシンナトリウム(sodium monensin)、ニゲリシン(nigericin)、バリノマイシン(valinomycin)、サリノマイシン(salinomycin)から選択される。

【 0 0 8 5 】

[96] “医薬組成物”は、本明細書に記載する化合物を、対象に投与するのに適した医薬的に許容できる形態で含有する配合物である。本明細書中で用いる句“医薬的に許容できる”は、堅実な医学的判断の範囲内で、過度の毒性、刺激、アレルギー反応、または他の問題もしくは合併症なしに、妥当なリスク・ベネフィット比に相応して、ヒトおよび動物の組織と接触させて使用するのに適した化合物、物質、組成物、キャリアー、および/または剤形を表わす。

【 0 0 8 6 】

[97] “医薬的に許容できる賦形剤”は、医薬組成物を調製するのに有用な、一般的に安全、無毒性であり、かつ生物学的にも他の点でも不都合でない賦形剤を意味し、動物医療用にもヒトの医療用にも許容できる賦形剤を含む。医薬的に許容できる賦形剤の例には、限定ではなく、無菌の液体である水、緩衝塩類溶液、エタノール、ポリオール（たとえば、グリセロール、プロピレングリコール、液体ポリエチレングリコールなど）、油類、界面活性剤、懸濁化剤、炭水化物（たとえば、グルコース、ラクトース、スクロースまたはデキストラン）、抗酸化剤（たとえば、アスコルビン酸またはグルタチオン）、キレート化剤、低分子量タンパク質、またはその適切な混合物が含まれる。

【 0 0 8 7 】

[98] 医薬組成物はバルクまたは単位剤形で供給できる。投与の容易さおよび投与量の均一性のために、医薬組成物を単位剤形で配合することが特に有利である。本明細書中で用いる用語“単位剤形”は、処置される対象のための単位投与量として適した物理的に分離した単位を表わす；各単位は、目的とする療法効果を生じるように計算された前決定量の有効化合物を必要な医薬用キャリアーと共に含有する。本発明の単位剤形についての詳細は、有効化合物の独自の特性および達成すべき特定の療法効果によって支配され、それらに直接依存する。単位剤形は、アンプル、バイアル、坐剤、糖衣丸、錠剤、カプセル剤、I V バッグ、またはエアゾールインヘラーにおける 1 回の圧出であってもよい。

【 0 0 8 8 】

[99] 療法適用に際して、投与量は、選択した投与量に影響を及ぼす他の要因のうち、特に薬剤、レシipient患者の年齢、体重、および臨床状態、ならびにその療法を施す臨床医または専門医の経験および判断に応じて変動する。一般に、用量は療法有効量であるべきである。投与量は  $\text{mg} / \text{kg} / \text{日}$  の測定単位で提示できる（その用量は患者の体重  $\text{kg}$ 、体表面積  $\text{m}^2$ 、および年齢に合わせることができる）。医薬組成物の有効量は、臨床医または資格をもつ他の観察者が認めるような客観的に同定できる改善をもたらすものである。たとえば、障害、疾患または状態の症状の軽減。本明細書中で用いる用語“有効投与量”は、対象または細胞において目的とする生物学的効果を生じる医薬組成物の量を表

わす。

【0089】

[100] たとえば、単位剤形は1ナノグラム～2ミリグラム、もしくは0.1ミリグラム～2グラム；または10ミリグラムから1グラムまで、もしくは50ミリグラムから500ミリグラムまで、もしくは1マイクログラムから20ミリグラムまで；または1マイクログラムから10ミリグラムまで；または0.1ミリグラムから2ミリグラムまでを含むことができる。

【0090】

[101] 一態様において、単位剤形は25、50、75、100、200、または300ミリグラムの有効医薬成分、たとえばアピリモド遊離塩基またはアピリモド・ジメシレートを含む。一態様において、単位剤形は経口送達用の錠剤またはカプセル剤の形態である。

10

【0091】

[102] 医薬組成物は、いずれか希望する経路（たとえば、肺、吸入、鼻内、経口、口腔、舌下、非経口、皮下、静脈内、筋肉内、腹腔内、胸膜腔内、クモ膜下、経皮、経粘膜、直腸など）による投与のためのいずれか適切な形態をとることができる（たとえば、液体、エアゾール剤、液剤、吸入剤、ミスト剤(mist)、スプレー剤；または固体、散剤、軟膏剤、パスタ剤、クリーム剤、ローション剤、ゲル剤、パッチ剤など）。たとえば、本発明の医薬組成物は、吸入または吹入によるエアゾール投与（口または鼻を通した）のための水溶液または粉末の形態；経口投与のための錠剤またはカプセル剤の形態；直接注射によるかまたは静脈内注入用の無菌注入液への添加による投与に適した無菌水性液剤または分散液剤の形態；あるいは経皮または経粘膜投与のためのローション剤、クリーム剤、発泡剤、パッチ剤、懸濁液剤、液剤、または坐剤の形態であってもよい。

20

【0092】

[103] 医薬組成物は経口用として許容できる剤形の形態であってもよく、それにはカプセル剤、錠剤、口腔剤形、トローチ剤、ロゼンジ、および乳剤、水性懸濁液剤、分散液剤または液剤の形態の経口液体が含まれるが、これらに限定されない。カプセル剤は、本発明の化合物と、不活性な増量剤および/または希釈剤、たとえば医薬的に許容できるデンプン（たとえば、トウモロコシ、パレイショまたはタピオカのデンプン）、糖類、人工甘味料、粉末状のセルロース、たとえば結晶質および微結晶質セルロース、澱粉、ゼラチン、ガムなどとの混合物を収容することができる。経口用錠剤の場合、慣用されるキャリアには、ラクトースおよびトウモロコシデンプンが含まれる。滑沢剤、たとえばステアリン酸マグネシウムも添加できる。カプセル剤の形態での経口投与のために、有用な希釈剤にはラクトースおよび乾燥トウモロコシデンプンが含まれる。水性懸濁液剤および/または乳剤を経口投与する場合、乳化剤および/または懸濁化剤と混和した油相に本発明化合物を懸濁または溶解することができる。所望により、ある甘味料および/または矯味矯臭剤および/または着色剤を添加してもよい。

30

【0093】

[104] 医薬組成物は錠剤の形態であってもよい。錠剤は、単位量の本発明化合物を、不活性な希釈剤またはキャリアー、たとえば糖または糖アルコール、たとえばラクトース、スクロース、ソルビトールまたはマンニトールと一緒に含むことができる。錠剤はさらに非糖由来の希釈剤、たとえば炭酸ナトリウム、リン酸カルシウム、炭酸カルシウム、またはセルロースもしくはその誘導体、たとえばメチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、およびデンプン、たとえばトウモロコシデンプンを含むことができる。錠剤はさらに、結合剤および造粒剤、たとえばポリビニルピロリドン、崩壊剤（たとえば膨潤性の架橋ポリマー、たとえば架橋カルボキシメチルセルロース）、滑沢剤（たとえば、ステアレート）、保存剤（たとえば、パラベン類）、抗酸化剤（たとえば、BHT）、緩衝剤（たとえば、リン酸緩衝液またはクエン酸緩衝液）、および発泡剤、たとえばシトレート/バイカーボネート混合物を含むことができる。

40

【0094】

50

【105】錠剤はコーティング錠であってもよい。コーティングは、保護膜コーティング（たとえば、ろうまたはワニス）、または有効薬剤の放出を制御するためにデザインされた、たとえば遅延放出（摂取後の前決定した遅滞時間後に有効薬剤を放出）もしくは胃腸管内の特定位置での放出のためのコーティングであってもよい。後者は、たとえば腸溶膜コーティング、たとえば商品名 E u d r a g i t（登録商標）で販売されているものを用いて達成できる。

【0095】

【106】錠剤配合物は一般的な圧縮法、湿式造粒法または乾式造粒法により調製でき、医薬的に許容できる希釈剤、結合剤、滑沢剤、崩壊剤、表面改質剤（界面活性剤を含む）、懸濁化剤または安定剤を使用し、それにはステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、タルク、ラウリル硫酸ナトリウム、微結晶性セルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、ポリビニルピロリドン、ゼラチン、アルギン酸、アラビアゴム、キサンタンガム、クエン酸ナトリウム、複合ケイ酸塩、炭酸カルシウム、グリシン、デキストリン、スクロース、ソルビトール、リン酸ニカルシウム、硫酸カルシウム、ラクトース、カオリン、マンニトール、塩化ナトリウム、タルク、乾燥デンプンおよび粉末糖が含まれるが、これらに限定されない。好ましい表面改質剤には、非イオンおよびアニオン表面改質剤が含まれる。表面改質剤の代表例には、ポロキサマー 188、塩化ベンザルコニウム、ステアリン酸カルシウム、セトステアリルアルコール、セトマクロゴール(cetomacrogol)系乳化剤、ソルビタンエステル、コロイド二酸化ケイ素、ホスフェート、ドデシル硫酸ナトリウム、ケイ酸アルミニウムマグネシウム、およびトリエタノールアミンが含まれるが、これらに限定されない。

10

20

【0096】

【107】医薬組成物はハードまたはソフトゼラチンカプセル剤の形態であってもよい。この配合によれば、本発明の化合物は固体、半固体または液体の形態であってもよい。

【108】医薬組成物は、非経口投与に適した無菌の水性液剤または分散液剤であってもよい。本明細書中で用いる非経口という用語は、皮下、皮内、静脈内、筋肉内、関節内、動脈内、滑液包内、胸骨内、クモ膜下、病巣内および頭蓋内への注射法または注入法を含む。

【0097】

【109】医薬組成物は、直接注射による、または静脈内注入用の無菌注入液への添加による投与のいずれかに適した、無菌の水性液剤または分散液剤の形態であってもよく、水、エタノール、ポリオール（たとえば、グリセロール、プロピレングリコールおよび液体ポリエチレングリコール）、その適切な混合物、または１種類以上の植物油を含有する溶媒または分散媒を含む。遊離塩基または医薬的に許容できる塩としての本発明化合物の液剤または懸濁液剤は、適切に界面活性剤と混合した水中に調製できる。適切な界面活性剤の例を後記に挙げる。分散液剤も、たとえばグリセロール、液体ポリエチレングリコール、および油中におけるその混合物中に調製できる。

30

【0098】

【110】本発明の方法に使用するための医薬組成物は、配合物中に存在するいずれかのキャリアーまたは希釈剤（たとえば、ラクトースまたはマンニトール）のほかに、さらに１種類以上の添加剤を含むことができる。この１種類以上の添加剤は、１種類以上の界面活性剤を含むかまたはそれからなることができる。界面活性剤は一般に１以上の長い脂肪酸鎖、たとえば脂肪酸をもち、それによりそれらは細胞の脂質構造体中へ直接挿入されて薬物の透過および吸収を増強することができる。界面活性剤の相対的な親水性および疎水性を特徴づけるために一般に用いられる経験的パラメーターは、親水性 - 疎水性バランス（“HLB”値）である。より低いHLB値をもつ界面活性剤はより疎水性であって油中においてより大きな溶解度をもち、一方、より高いHLB値をもつ界面活性剤はより親水性であって水溶液中においてより大きな溶解度をもつ。よって、親水性界面活性剤は一般に約10より大きいHLB値をもつ化合物であるとみなされ、疎水性界面活性剤は一般に約10より小さいHLB値をもつものである。しかし、多くの界面活性剤についてHLB

40

50

値はHLB値を決定するために選択する経験的方法に応じて約8HLB単位も異なる可能性があるので、これらのHLB値は指標にすぎない。

【0099】

[111] 本発明の組成物中に使用する界面活性剤には、下記のものが含まれる：ポリエチレングリコール（PEG）-脂肪酸ならびにPEG-脂肪酸モノおよびジエステル、PEGグリセロールエステル、アルコール-油エステル交換生成物、ポリグリセリル脂肪酸、プロピレングリコール脂肪酸エステル、ステロールおよびステロール誘導体、ポリエチレングリコールソルビタン脂肪酸エステル、ポリエチレングリコールアルキルエーテル、糖およびその誘導体、ポリエチレングリコールアルキルフェノール、ポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレン（POE-POP）ブロックコポリマー、ソルビタン脂肪酸エステル、イオン性界面活性剤、脂溶性ビタミンおよびそれらの塩類、水溶性ビタミンおよびそれらの両親媒性誘導体、アミノ酸およびそれらの塩類、ならびに有機酸およびそれらのエステルおよび無水物。

10

【0100】

[112] 本発明はまた、本発明の方法に使用するための医薬組成物を含むパッケージングおよびキットを提供する。キットは、ボトル、バイアル、アンプル、プリスターパック、および注射器からなる群から選択される1以上の容器を含むことができる。キットはさらに、本発明の疾患、状態または障害を治療および/または防止するために使用するための1以上の指示、1以上の注射器、1以上のアプリケーション、または本発明の医薬組成物を再構成するのに適した無菌溶液を含むことができる。

20

【0101】

[113] 本明細書中で用いるすべてのパーセントおよび比率は、別に指示しない限り重量による。本発明の他の特徴および利点は種々の例から明らかである。提示した例は、本発明を実施するのに有用な種々の成分および方法を示す。それらの例は特許請求の範囲に示す発明を限定しない。本開示に基づいて、当業者は本発明を実施するのに有用な他の成分および方法を同定および利用できる。

【実施例】

【0102】

実施例1：アピリモドは癌細胞において高選択的細胞毒である

[114] 構成的に増大したmTORシグナル伝達活性を特徴とするTSC2-/-マウス胎仔線維芽細胞(mouse embryonic fibroblast) (TSC2-/-MEF)を用いるハイスループット細胞生存性スクリーニングで、アピリモドを同定した。要約すると、被験化合物(5 $\mu$ l原液, 希望する最終ウェル濃度の6 $\times$ )を384ウェルアッセイプレートに分注し、TSC2-/-MEF細胞(ウェル当たり1000個の細胞, 25 $\mu$ Lの培地中)をプレートに添加し、プレートを37 $^{\circ}$ Cで72時間(3日間)、5% CO<sub>2</sub>雰囲気下に加湿インキュベーター内で3日間インキュベートした。Cell Titer-Glo(登録商標)蛍光アッセイ(Promega)で製造業者の指示に従って細胞生存率を決定した。生存率を非処理対照細胞に対するパーセントとして表示した。一例として、アピリモドについてMEF-EV細胞生存率(平均 $\pm$ 標準偏差, n=3)は0.5 $\mu$ Mで2.16 $\pm$ 0.36%、5 $\mu$ Mで1.94 $\pm$ 0.07%であった。10ポイント用量応答曲線において、アピリモドは被験TSC2-/-MEF細胞について19.5nMのIC<sub>50</sub>で細胞生存性を阻害した(図1)。次いでB細胞リンパ腫(SUDHL-10)、神経膠腫(H4)および結腸直腸癌(HCT116)を含めた他の癌細胞系について、ならびに脾臓、肺および結腸に由来する非癌(正常)細胞系について、アピリモドを試験した。これらの細胞生存性アッセイにおいて、アピリモドは、癌細胞のものより20~200倍高い範囲にあるはるかに高い非癌(正常)細胞のIC<sub>50</sub>値により立証されるように、非癌(正常)細胞と対比して癌細胞における細胞生存性の高選択的阻害剤であった。これらの結果を図1Bに示す。

30

40

【0103】

[115] 24の腫瘍タイプを表わす122のヒト癌細胞系を用いて、3日間のCell

50



Titer Glo (商標) アッセイでアピリモドの細胞毒性をさらに査定した。この3日間のアッセイにおいて、 $IC_{50}$  が500 nM未満であれば細胞系をアピリモド感受性と呼んだ。このアッセイにおいて35の細胞系をアピリモド誘導による細胞毒性に対して感受性と同定した。アピリモド感受性細胞には、非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、結腸直腸癌および肺癌を含めた数種類の異なる癌に由来する細胞が含まれていた。試験したうち最も感受性であるものは非ホジキンリンパ腫(NHL)細胞系であった。試験したNHL細胞系のちょうど50%以上がアピリモドに対して感受性であり、あるサブタイプのNHLは100 nM未満の $IC_{50}$  値でアピリモドに対して著しく感受性であった(このスクリーニングの感受性/非感受性カットオフ500 nMと比較して)。これらには、ヒトパーキットリンパ腫(ST486)、ヒトマントル細胞リンパ腫(Jeko-1)およびヒトDLBCL(SUDHL-4,  $IC_{50}$  = 50 nM)が含まれていた。このアッセイにおいて感受性ではなかった唯一のNHLサブタイプは濾胞性のものであった。DLBCL-GCBおよびABCサブタイプは両方ともアピリモド感受性であり、このことは、標準治療に対してしばしば治療抵抗性である、より侵襲性(aggressive)のサブタイプを含めた多数のNHL癌に対して、アピリモドが有効な可能性があることを示す。

#### 【0104】

[116] NHLは、増殖の遅いものから侵襲性のものにまでわたるサブタイプを含む多様な重症度の広範なグループの造血細胞系悪性疾患を表わす。NHLのサブタイプには、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)、パーキットリンパ腫、マントル細胞リンパ腫、および濾胞性B細胞リンパ腫が含まれる。DLBCLは遺伝子発現および起源細胞に基づいて2つのサブタイプ、GCBとABCに分類される。GCBは胚中心(germinal center) B細胞タイプであって普通の胚中心B細胞から発生し、ABCは活性化B細胞タイプであって形質細胞に分化する過程の後 - 胚中心(post-germinal center) B細胞から発生する。

#### 【0105】

[117] 次にアピリモドをより長期の細胞生存性アッセイにおいて試験し、3、5および7日間にわたって試験した細胞の感受性を比較した。アピリモドへの曝露時間の増大に伴ってすべての細胞系の感受性が増大し、7日間の曝露について125 nM未満の $IC_{50}$  になった。これをHCT116結腸直腸癌細胞について図2Aに例示する。種々のNHLサブタイプがそれぞれ同様に7日間のアッセイにおいてアピリモドに対して増大した感受性を示した( $IC_{50}$  < 125 nM) (図2B)。かつ、マントル細胞性、濾胞性、パーキット、DLBCL-ABC、DLBCL-GCB、およびダブルヒット(double-hit) DLBCLを含めて、すべてのNHLサブタイプがこのアッセイにおいて感受性であった。特に、二重myc/bcl2転写過剰症(“ダブルヒットDLBCL”)をもつものおよびマントル細胞リンパ腫を含めて、侵襲性リンパ腫を示すすべての細胞系が感受性であった。全体として32の被験NHL細胞系のうち72%がアピリモドに対して感受性であり、非癌(正常)細胞の15.8マイクロモル濃度( $\mu$ M)と比較して平均 $IC_{50}$  値は69 nMであった。

#### 【0106】

**実施例2：アピリモドはCHOPの成分と相乗作用する**

[118] 前記で考察したように、NHL細胞は本発明者らの癌細胞系スクリーニングにおいてアピリモドに対して格別の感受性を示した。DLBCLは最も一般的タイプのNHLであり、西洋諸国におけるリンパ腫の30~40%を占める。DLBCLは成熟B細胞の侵襲性新生物である。すべてのDLBCL患者のうちおよそ40%が第一選択治療後に再発する。多くの治療抵抗性DLBCL-GCB癌がMYCおよびBCL2の単一および二重転写過剰症を示す。これらの遺伝子バリエーションを伴う患者は、少なくとも一部はMYCおよびBCL2の過剰発現のため、より予後不良となる傾向がある。特に、アピリモドはこれらの転写過剰症を示すDLBCL-GCB細胞系においてすら有効であり(表2)、これは侵襲性サブタイプのNHLの処置においてすら、アピリモドが単独で単剤療法として、または標準治療との組み合わせで果たす役割を支持する。

【 0 1 0 7 】

【 表 1 】

表 2. B 細胞リンパ腫系統についての Bcl-2 および c-myc トランスロケーション状態およびアピリモドに対するそれらの感受性. ND= データ無し

番号	B 細胞リンパ腫モデル	細胞系	IC <sub>50</sub> (nM)	Bcl-2	C-myc
7	ヒトDLBCL-GCB	SUDHL-4	25	有	有
8	ヒトDLBCL-GCB	SUDHL-6	80	有	無
9	ヒトDLBCL-GCB	DB	150	無	無
10	ヒトDLBCL-GCB	Toledo	270	ND	ND
11	ヒトDLBCL-GCB	SUDHL-10	20	有	有
12	ヒトDLBCL-GCB	WSU-DLCL2	160	有	無
13	ヒトDLBCL-GCB	OCI-Ly19	380	有	無
20	ヒトDLBCL-GCB	HT	642	ND	ND
21	ヒトDLBCL-GCB	Pfeiffer	2,620	ND	ND

10

20

【 0 1 0 8 】

[119] NHL に対して有効な他の臨床薬剤と対比してインビトロ試験した場合、アピリモドは試験したうちで最も有効な薬物のひとつであることが証明された (表 3)。

【 0 1 0 9 】

【 表 2 】

表 3: 3 日間のアッセイにおけるアピリモドおよび種々の化学療法薬の IC<sub>50</sub> 値の比較

薬物	細胞ターゲット	IC <sub>50</sub> (nM) SU-DHL-4	IC <sub>50</sub> (nM) WSU-DLCL2
アピリモド	PIKfyve	23	54
イブルチニブ	BTK	718	747
イデラリシブ	PI3Kd	2,034	6,154
EPZ-6438	EZH2	>20,000	>10,000
ABT-199	BCL-2	212	3,371
デュベリシブ	PI3Kγ/δ	13	863
KPT-330	XPO1	93	165

30

40

【 0 1 1 0 】

[120] 侵襲性 NHL 腫瘍に対するアピリモドの有効性をさらに評価するために、そのような多くの癌に対する標準第一選択治療を含めた他の多数の化学療法剤のいずれかとアピリモドが相乗作用する能力を試験した。これらには、たとえばシクロホスファミド、ド

50

キソルピシン、ピンクリスチンおよびプレドニゾン（“CHOP”化学療法計画と呼ばれる）、ならびに再発したマントル細胞リンパ腫に適用される化学療法剤ベルケイドが含まれる。

#### 【0111】

[121] 相乗作用試験のために、下記のDLBCL-GCB細胞系を用いた：WSU-DLCL2、SU-DHL-4およびSU-DHL-6。細胞を96ウェルプレートにそれらの最適密度で播種した。単独またはアピリモドと組み合わせたそれぞれの薬剤で細胞を処理した。細胞を72時間（3日間）処理した後、Cell Titer Glo（登録商標）（Promega）を用いて増殖を査定した。相乗作用の計算のために、CalcuSyn（バージョン2.11, Biosoft）を用いて、Chou et al., Adv. Enzyme. Regul. (1984) 22:27-55により定義される組み合わせ指数(combination index) (CI) を決定した。よって、CI値>1を生じる薬物組み合わせを拮抗的、CI=1を相加的、CI<1を相乗的と判定した。

10

#### 【0112】

[122] 表4に示すように、アピリモドは3つの細胞系すべてにおいてすべての被験薬剤（シクロホスファミド、ドキソルビシン、プレドニゾン、ピンクリスチンおよびベルケイド）との相乗活性を示した。これらの結果は、アピリモドとの併用療法が、標準化学療法計画後に再発する患者またはその計画に対して治療抵抗性である患者に有益な処置についてのアンメットメディカルニーズに対処するための有望な新規アプローチを表わすことを立証する；

20

#### 【0113】

#### 【表3】

表4

併用処置		WSU-DLCL2	SU-DHL-4	SU-DHL-6
標準治療	シクロホスファミド (マホスファミド) + アピリモド	相乗的 Apili 62.5 nM / Maf 625 nM Fa = 0.82; CI = 0.7	相乗的 Apili 125 nM / Maf 1250 nM Fa = 0.82; CI = 0.7	相乗的 Apili 125 nM / Maf 1250 nM Fa = 0.77; CI = 0.5
	ドキソルビシン + アピリモド	相乗的 Apili 62.5 nM / Dox 25 nM Fa = 0.99; CI = 0.4	相乗的 Apili 500 nM / Dox 200 nM Fa = 0.88; CI = 0.9	相乗的 Apili 250 nM / Dox 100 nM Fa = 0.86; CI = 0.1
	プレドニゾン + アピリモド	相乗的 Apili 15.6 nM / Pred 156 nM Fa = 0.97; CI = 0.3	相乗的 Apili 125 nM / Pred 625 nM Fa = 0.85; CI = 0.5	相乗的 Apili 250 nM / Pred 556 nM Fa = 0.85; CI = 0.2
	ピンクリスチン + アピリモド	相乗的 Apili 31.3 nM / Vin 0.3 nM Fa = 0.97; CI = 0.2	相乗的 Apili 37 nM / Vin 1.25 nM Fa = 0.85; CI = 0.4	相乗的 Apili 37 nM / Vin 1.25 nM Fa = 0.85; CI = 0.4
他の療法	ベルケイド + アピリモド	相乗的 Apili 250 nM / Vel 5 nM Fa = 0.99; CI = 0.3	相乗的 Apili 37 nM / Vel 2.5 nM Fa = 0.98; CI = 0.2	相乗的 Vel 2.5 Maf 625 nM Fa = 0.98; CI = 0.3

30

40

50

## 【0114】

D L B C L - G C B 細胞系におけるアピリモドと C H O P の個々の成分、ベルケイドまたはエベロリムスとの薬物併用効果のまとめ。C H O P (シクロホスファミド (マホスファミド (mafosfamide), 20) = M a f ; ドキソルビシン = D o x ; ビンクリスチン = V i n ; プレドニゾロン = P r e d ) 成分、またはベルケイド (V e l ) のいずれかとの組み合わせにおける、フラクション効果 (Fraction effect) (F a ) を生じるアピリモド (A p i l i ) の濃度を示す。組み合わせ指数 (C I ) を用いて併用効果を判定した; C I > 1 は拮抗的、C I = 1 は相加的、C I < 1 は相乗的であり、その際、F a > 0.75 である。

## 【0115】

10

## 実施例 3 : アピリモドとイブルチニブとの相乗活性

[123] イブルチニブは、B 細胞性悪性疾患をターゲティングする F D A 承認薬であり、マントル細胞リンパ腫および慢性リンパ性白血病を処置する際の単剤療法用として適用される。それは P C I - 32765 としても知られており、商品名 I m b r u v i c a (商標) で市販されている。イブルチニブは、酵素ブルトン型チロシンキナーゼ (Bruton's tyrosine kinase) (B T K) の選択的かつ共有接合性阻害剤である。B T K は、並行して起きる少なくとも 3 つの重要な B 細胞生存促進機序 (pro-survival mechanism) における鍵メディエーターである - アポトーシス、細胞接着、ならびに細胞の移動およびホーミング (homing) の調節。アピリモドとイブルチニブとの相乗活性はさらに、アピリモドが他の化学療法剤、特に B 細胞リンパ腫をターゲティングする薬剤との併用療法に用いるための有望な薬剤であることを指摘する。イブルチニブは、イブルチニブまたはアピリモド単独と比較してアピリモドの存在下で S U D H L - 4 細胞生存率を有意に低下させた。参照: 図 3。この結果は他の 2 種類の被験細胞系 W S U - D L C L 2 および S U D H L - 6 において確認された。

20

## 【0116】

## 実施例 4 : インビボでの D L B C L 腫瘍に対するアピリモドの抗腫瘍活性

[124] アピリモドがインビボで腫瘍増殖を阻害する能力を、単独およびイブルチニブとの組み合わせの両方において次に試験した。後記のように、アピリモドは単独で腫瘍増殖を有意に低減し、アピリモドとイブルチニブの組み合わせはいずれかの薬剤単独より大きな増殖阻害をもたらした。

30

## 【0117】

[125] この試験の目的は、皮下 S U D H L - 6 ヒト D L B C L 癌異種移植モデルの処置におけるアピリモドのインビボ療法効力を、単独またはイブルチニブとの組み合わせで前臨床評価することであった。

## 【0118】

[126] 試験の第 1 アームにおいては、アピリモドを単独で試験した。S U D H L - 6 細胞系を、10% ウシ胎仔血清および L - グルタミン (2 mM) を補足した R P M I - 1640 培地中、37 °C で 5% C O<sub>2</sub> 雰囲気中に維持した。腫瘍細胞を週 2 回継代培養し、腫瘍接種のために指数増殖期に収穫した。接種の 24 時間前に N O D - S C I D マウスを線照射した。各マウスの右腹部に S U - D H L - 6 腫瘍細胞 (5 × 10<sup>6</sup>) を 0.1 mL の M a t r i g e l 含有 P B S (1:1) 中において皮下接種した。次いで腫瘍をおおよそ 80 ~ 120 mm<sup>3</sup> の平均サイズまで増殖させ、次いでマウスを 5 グループに分けて表 5 に詳述するように処理した。

40

## 【0119】

【表 4】

表 5: DLBCL 腫瘍の異種移植モデル

グループ	処置	投与量	投与計画	投与経路	マウスの数
1	ビヒクル (生理食塩水)	-	QD(1日1回)×5-2日間のオフ-QD×5	i.v.(静脈内)	6
2	アピリモド ジメシレート	67.5mg/kg (47mg/kg 遊離塩基)	QD×5-2日間のオフ-QD×5	i.v.	6
3	0.5% メチルセルロース	-	BID(1日2回)×5-2日間のオフ-BID×5	p.o.(経口)	6
4	アピリモド遊離塩基	75mg/kg	BID×5-2日間のオフ-BID×5	p.o.	6
5	アピリモド遊離塩基	150mg/kg	QD×5-2日間のオフ-BID×5	p.o.	6

10

20

## 【0120】

[127] 腫瘍サイズを週2回、カリパスで2方向に測定し、次式を用いて体積を $\text{mm}^3$ で表示する： $V = 0.5 a \times b^2$ ；式中のaおよびbはそれぞれ腫瘍の長径および短径である。マウスを29日間モニターし、すべてのアピリモド処理アームに有意の増殖阻害がみられた。静脈内投与は腫瘍サイズを58%（47mg/kg）低減し、経口投与は増殖を68%（150mg/kgの分割投与）または64%（150mg/kgの単回投与）低減し、体重に対する影響は無視できる程度であった（参照：図4）。よって、アピリモドの静脈内投与と経口投与はSU-DHL-6腫瘍のインビボ増殖損傷において類似の効力を示した。

30

## 【0121】

[128] 第2アームの試験は、前記と同じプロトコルを用いて同じSU-DHL-6ヒトDLBCL癌異種移植モデルにおいてイブルチニブと組み合わせた場合のアピリモドの効力を評価した。各マウスの右腹部にSU-DHL-6腫瘍細胞（ $5 \times 10^6$ ）を0.1mlのMatrigel含有PBS（1：1）中において皮下接種した。次いで腫瘍をおおよそ80～120 $\text{mm}^3$ の平均サイズまで増殖させ、次いでマウスを6グループに分けて表6に詳述するように処理した。

## 【0122】

## 【表 5】

表 6: SUDHL-6 細胞系異種移植実験

グループ	処置	投与量	投与計画	投与経路	マウスの数
1	ビヒクル	投与なし	QDx5-2 日間のオフ-QDx5	p.o. + i.v.	6
2	アピリモド遊離塩基	75 mg/kg	QDx5-2 日間のオフ-QDx5	p.o.	6
3	イブルチニブ	10 mg/kg	QD×12	i.v.	6
4	イブルチニブ	20 mg/kg	QD×12	i.v.	6
5	アピリモド遊離塩基 + イブルチニブ	75 mg/kg + 10 mg/kg	QDx5-2 日間のオフ-QDx5 + QD×12	p.o. + i.v.	6
6	アピリモド遊離塩基 + イブルチニブ	75 mg/kg + 20 mg/kg	QDx5-2 日間のオフ-QDx5 + QD×12	p.o. + i.v.	6

## 【0123】

[129] 腫瘍サイズを週 2 回、カリパスで 2 方向に測定し、次式を用いて体積を  $\text{mm}^3$  で表示する： $V = 0.5 a \times b^2$ ；式中の a および b はそれぞれ腫瘍の長径および短径である。マウスを 31 日間モニターし、75 mg/kg アピリモド（57%）、10 mg/kg イブルチニブ（54%）、および 20 mg/kg イブルチニブ（64%）処理アームに有意の増殖阻害がみられた。75 mg/kg アピリモドとイブルチニブの組合せはさらに用量依存性で腫瘍増殖を低減した；10 mg/kg イブルチニブ（65%）および 20 mg/kg イブルチニブ（70%）（参照：図 5）。

## 【0124】

実施例 5：アピリモドは PIKfyve キナーゼの高選択的結合剤である

[130] 癌細胞におけるアピリモドの細胞ターゲットを同定するために、ヒト神経膠腫細胞から調製した全細胞溶解物を用いて化合物捕獲質量分析(chemical capture mass spectrometry) (CCMS) によりその結合パートナーを同定した。この作業は Caprotec Bioanalytics GmbH (ドイツ、ベルリン) で実施された。参照：Michaelis et al., J. Med. Chem., 55 3934-44 (2012) およびそれに引用された参考文献。要約すると、単一配向(single orientation)で結合したアピリモドを選択性官能基(selectivity function)として用いる 2 種類の捕獲化合物バリエーションを合成し、LC-MS および  $^1\text{H-NMR}$  により分析して同一性および純度を確認した。全細胞溶解物における捕獲条件を最適化した；たとえば、タンパク質と捕獲化合物の非特異的相互作用の最小化、タンパク質と捕獲化合物の最大結合を得るための試薬およびタンパク質の濃度など。ア

ピリモドを競合リガンドとして用いる C C M S 実験で特異的タンパク質バインダーを同定するために、1つの捕獲化合物を選択した。捕獲アッセイにおいて L C - S により検出され、かつ競合対照実験で有意に低減するタンパク質を、特異的バインダーとみなす。これらの特異的バインダーにさらにストリンジェントデータ解析基準を施して、不偏データ (unbiased data) 評価後に特異性を判定した。特異的タンパク質バインダーを、捕獲実験におけるそれらの倍率変化 (fold change) ( F C ) 値に従ってランク付けした。2種類のタンパク質のみがアピリモドの高確率候補ターゲットタンパク質と同定された： P I K f y v e および V a c 1 4 。4つの異なる捕獲化合物濃度実験におけるこれらのタンパク質についての F C および p - 値を 表 7 に示す。

【 0 1 2 5 】

【表 6】

表 7.

		捕獲化合物濃度			
		0.1 $\mu$ M	0.5 $\mu$ M	1.0 $\mu$ M	2.0 $\mu$ M
PIKfyve	$\log_2$ (FC)	6.3	6.2	4.1	4.3
	$-\log_{10}$ (p-値)	3.7	2.8	5.1	3.9
Vac14	$\log_2$ (FC)	6.2	5.6	Inf.	3.9
	$-\log_{10}$ (p-値)	3.9	3.8	1.9	3.6

【 0 1 2 6 】

[131] 別の試験において、アピリモドのプロテインキナーゼプロファイリングを実施して、キナーゼターゲットを同定した ( D i s c o v e R x , カリフォルニア州フリーモント)。アピリモドを漸増濃度 ( 0 . 0 5 ~ 3 0 0 0 n M ) で用いて、アピリモドの既知ターゲットである P I K f y v e に対する解離定数 (  $K_d$  ) 試験を実施した。実験を二重に実施し、 $K_d$  は 0 . 0 7 5 n M ( 範囲 0 . 0 6 9 ~ 0 . 0 8 1 n M ) であると決定された ( 図 6 )。

【 0 1 2 7 】

[132] 次に、アピリモドをキナーゼの包括パネル ( P I K f y v e を含まない ) に対してスクリーニングした。疾患関連キナーゼを含む合計 4 5 6 種類のキナーゼをそれらがアピリモドと結合する能力についてアッセイした。アピリモドのスクリーニング濃度は 1  $\mu$  M、すなわち P I K f y v e に対するアピリモドの  $K_d$  より > 1 0 , 0 0 0 倍高い濃度であった。このスクリーニングからの結果は、アピリモドが 4 5 6 種類の被験キナーゼのいずれにも結合しないことを示した。

【 0 1 2 8 】

[133] 合わせると、これらの結果はアピリモドが癌細胞において単一の細胞キナーゼ、P I K f y v e に高選択性で結合することを立証する。P I K f y v e は P I ( 3 ) P に結合して脂質セカンドメッセンジャーである P I ( 3 , 5 ) P 2 および P I ( 5 ) P の形成を触媒する酵素であり、他の人々がアピリモドは正常細胞においてもこのキナーゼ P I K f y v e の有効かつ特異的な阻害剤であることを示している。Cai X et al., Chem Biol. 2013 Jul 25;20(7):912-21。以下においてより詳細に考察するように、癌細胞に対するアピリモドの選択的細胞毒性の機序を理解するために、本発明者らは癌細胞におけるその生物活性を解明することを目的とした一連の実験を実施した。

【 0 1 2 9 】

#### 実施例 6 : アピリモドの抗癌活性の機序

[134] アピリモドは炎症性サイトカイン I L - 1 2 および I L - 2 3 の有効な阻害剤

10

20

30

40

50

であることが知られている。アピリモドが疾患または障害の処置のために適用される限り、それはこの活性を意味していた。アピリモドの臨床試験は自己免疫疾患および炎症性疾患、たとえば乾癬、関節リウマチおよびクローン病におけるその有望な効力に注目したが、アピリモドが癌、具体的にはc - r e lまたはI L - 1 2 / 2 3が増殖促進因子として作用する癌に対して有用な可能性があるという示唆はわずかしか公表されていない。たとえば、それぞれWO 2006/128129およびBaird et al., Frontiers in Oncology 3:1 (2013)を参照。意外にも、アピリモドのI L - 1 2 / 2 3阻害活性について断定されたこれらの予想に反して、本発明者らは被験細胞系においてc - R e l発現(c - R e lはI L - 1 2 / 2 3遺伝子の転写因子である)、I L - 1 2またはI L - 2 3発現のいずれかとアピリモドに対する感受性との間に相関性を見出さなかった。要約すると、C a n c e r C e l l L i n e E n c y c l o p e d i a (C C L E)からの遺伝子発現データを、本発明者らがアピリモドに対する用量応答曲線を得た22種類のB細胞リンパ腫系統について分析した(参照: 表8)。

10

【0130】



【表 7 - 1】

表 8. 遺伝子発現およびアピリモドに対する応答について分析した 22 の B 細胞リンパ腫系統. エプスタインバー状態および核 cREL 状態を記載する. ND= No Data

番号	B 細胞リンパ腫モデル	細胞系	IC50 (nM)	EBV	核 REL
1	ヒト バーキットリンパ腫	ST486	25	無	ND
2	ヒト バーキットリンパ腫	Daudi	200	有	有
3	ヒト バーキットリンパ腫	EB1	174	有	ND
4	ヒト バーキットリンパ腫	GA-10	382	無	ND
5	ヒト マントル細胞リンパ腫	Rec-1	300	無	ND
6	ヒト マントル細胞リンパ腫	JeKo-1	70	無	ND
7	ヒト びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 -GCB	SUDHL-4	25	無	有
8	ヒト びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 -GCB	SUDHL-6	80	無	ND
9	ヒト びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 -GCB	DB	150	無	ND
10	ヒト びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 -GCB	Toledo	270	無	ND
11	ヒト びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 -GCB	SUDHL-10	20	無	ND
12	ヒト びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 -GCB	WSU-DLCL2	160	無	ND
13	ヒト びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 -GCB	OCI-Ly19	380	有	ND
14	ヒト バーキットリンパ腫	Namalwa	600	有	ND
15	ヒト バーキットリンパ腫	CA46	>10,000	無	ND
16	ヒト バーキットリンパ腫	Raji	>10,000	有	有

【 0 1 3 1 】

【表 7 - 2】

17	ヒト マントル細胞リンパ腫	GRANTA-519	>10,000	有	ND
18	ヒト 濾胞性 B 細胞リンパ腫	RL	>10,000	ND	ND
19	ヒト 濾胞性リンパ腫 - DLBCL-GCB	DOHH-2	700	無	ND
20	ヒト びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 -GCB	HT	642	無	ND
21	ヒト びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 -GCB	Pfeiffer	2,620	ND	ND
22	ヒト びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 -GCB	KARPAS-422	>10,000	無	ND

10

EBV: エプスタイン-バーウイルス

## 【0132】

[135] c - R E L の発現を、感受性 (  $IC_{50}$  が 500 nM 未満 ) 系統と非感受性 (  $IC_{50}$  が 500 nM を超える ) 系統において、対応のない t 検定 (unpaired t-test) により比較した。c - R E L 発現と感受性の間に統計的に有意の関係はみられなかった (  $p = 0.97$  )。さらに、データが公表されている細胞系において、アピリモドに対する感受性と構成性核 c - R E L またはエプスタイン - バーウイルス感染のいずれかの存在との間に有意の関係は検出されなかった。被験細胞系には下記のアピリモド感受性 ( # 1 ~ 13 ) および非感受性 ( # 14 ~ 22 ) B 細胞リンパ腫系統が含まれていた: ヒトパーキットリンパ腫細胞系 1 ~ 4 ( S T 486 , D a u d i , E B 1 , G A - 10 )、ヒトマントル細胞リンパ腫 5 ~ 6 ( R e c - 1 , J e K o - 1 )、ヒトびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 - G C B 7 ~ 13 ( S U D H L - 4 , S U D H L - 6 , D B , T o l e d o , S U D H L - 10 , W S U - D L C L 2 , O C 1 - L y 19 )、ヒトパーキットリンパ腫 14 ~ 16 ( N a m a l w a , C A 46 , R a j i )、ヒトマントル細胞リンパ腫 17 ( G R A N T A - 519 )、ヒト濾胞性 B 細胞リンパ腫 18 ( R L )、ヒト濾胞性リンパ腫 - D L B C L - G C B 19 ( D O H H - 2 )、ヒトびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 - G C B ( H T , P f e i f f e r , K A R P A S - 422 )。

20

30

## 【0133】

[136] I L - 12 A、I L - 12 R B 1、I L - 12 R B 2、I L - 12 B、I L - 23 A および I L - 23 R の発現を、前記 22 種類のリンパ腫系統を含む多様なグループの 75 種類の癌細胞系においてさらに分析した ( 参照: 表 9 )。

## 【0134】

【表 8 - 1】

表 9. 種々の癌細胞系

番号	癌モデル	細胞系	IC <sub>50</sub> (nM)
1	ヒト バーキットリンパ腫	ST486	25
2	ヒト マントル細胞リンパ腫	JeKo-1	70
3	ヒト びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 -GCB	SUDHL-4	25
4	ヒト びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫-GCB	SUDHL-6	80
5	ヒト バーキットリンパ腫	Daudi	200
6	ヒト 組織球性リンパ腫	U937	106
7	ヒト 肺癌	A549	110
8	ヒト 結腸直腸癌	HCT116	125
9	ヒト B 細胞リンパ腫	DB	150
10	ヒト びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫-GCB	WSU-DLCL2	160
11	ヒト 結腸直腸癌	HCT-15	200
12	ヒト 結腸直腸癌	SW480	90
13	ヒト 結腸直腸癌	COLO-205	380
14	ヒト 結腸直腸癌	SW620	90
15	ヒト T 細胞白血病	Jurkat	200
16	ヒト 神経膠腫	H4	250
17	ヒト びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫-GCB	Toledo	270
18	ヒト B 細胞非ホジキンリンパ腫	Rec-1	300
19	ヒト ホジキンリンパ腫	KMH-2	181
20	ヒト バーキットリンパ腫	EB1	174
21	ヒト びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫-GCB	SUDHL-10	20
22	ヒト バーキットリンパ腫	GA-10	382
23	ヒト びまん性大細胞型 B 細胞リンパ	OCI-Ly19	380

【 0 1 3 5 】

【表 8 - 2】

	腫-GCB		
24	ヒト びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫-GCB	HT	642
25	ヒト びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫-GCB	Pfeiffer	2,620
26	ヒト バーキットリンパ腫	Namalwa	600
27	ヒト 濾胞性 B 細胞リンパ腫-GCB	DOHH-2	700
28	ヒト 膀胱癌 (GATOR -/-)	SW780	1000
29	ヒト 結腸直腸癌	MDST8	1000
30	ヒト バーキットリンパ腫	Raji	10,000
31	ヒト ホジキンリンパ腫	HD-MyZ	>1000
32	ヒト ホジキンリンパ腫	L540	>1000
33	ヒト ホジキンリンパ腫 a	HDLM-2	>1000
34	ヒト バーキットリンパ腫	CA46	>10,000
35	ヒト 未分化大細胞型リンパ腫	SUDHL-1	590
36	ヒト 肺癌	H1734	1500
37	ヒト 結腸直腸癌	SW1116	1500
38	ヒト 結腸直腸癌	COLO-320DM	2,060
39	ヒト 神経芽細胞腫	A172	2000
40	ヒト 肺癌	H1693	2000
41	ヒト 肺癌	H460	> 2000
42	ヒト 肺癌	H358	>2000
43	ヒト 膵臓癌	CAPAN2	>2000
44	ヒト 膵臓癌	PANC1	>2000
45	ヒト 膵臓癌	MiaPaCa-2	>2000
46	ヒト 膵臓癌	AsPC1	>2000
47	ヒト 前立腺癌	DU145	>2000
48	ヒト急性骨髄性白血病	KG-1	>2500
49	ヒト 前立腺癌	LnCap	3000
50	ヒト T 細胞リンパ腫	HH	3,300
51	ヒト T 細胞白血病	MOLT-4	3,300
52	ヒト 前立腺癌	22RV1	>5000
53	ヒト 結腸直腸癌	DLD-1	>5000
54	ヒト 骨髄性白血病	K562	>5000
55	ヒト 結腸直腸癌	RKO	>5000

【表 8 - 3】

56	ヒト 卵巣癌	TOV-21G	7000
57	ヒト 前立腺癌	PC-3	10,000
58	ヒト ホジキンリンパ腫	L428	10,000
59	ヒト 形質細胞腫	RPMI-8226	>10,000
60	ヒト 肺癌	NCI-1975	>10,000
61	ヒト 乳癌	CAMA1	>10,000
62	ヒト 神経芽細胞腫	SW1088	>10,000
63	ヒト 神経芽細胞腫	M0591K	>10,000
64	ヒト 神経芽細胞腫	U-118 MG	>10,000
65	ヒト 神経芽細胞腫	U-87 MG	>10,000
66	ヒト 急性単球性白血病	THP1	>10,000
67	ヒト びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫-GCB	KARPAS-422	>10,000
68	ヒト 濾胞性 B 細胞リンパ腫	RL	>10,000
69	ヒト マントル細胞リンパ腫	GRANTA-519	>10,000
70	ヒト 細気管支肺胞上皮癌	NCI-H1650	>20,000
71	ヒト 細気管支肺胞上皮癌	SW1573	>20,000
72	ヒト 細気管支肺胞上皮癌	NCI-H1781	>20,000
73	ヒト 細気管支肺胞上皮癌	NCI-H1666	20,000
74	ヒト 結腸直腸癌	LOVO	>10,000
75	ヒト 結腸直腸癌	HT-29	>10,000

10

20

30

## 【 0 1 3 7 】

【137】 要約すると、アピリモドに対する用量応答曲線が得られた 75 種類の癌細胞系について C C L E からの遺伝子発現データを解析した。各インターロイキン遺伝子の発現を、感受性 (500 nM 未満の  $IC_{50}$ ) 系統と非感受性 (500 nM より大きい  $IC_{50}$ ) 系統において、対応のない t 検定により比較した。IL - 23 A (  $p = 0.022$  ) のみを除いて、統計的に有意の関係はみられなかった。IL - 23 A はアピリモド感受性非小細胞肺癌系統において増大すると以前に指摘され、組換え IL - 23 A は非小細胞肺癌系統の増殖を増大させると指摘された ( 参照 : Baird et al. 2013, 前掲 )。重要なことに、感受性癌系統における IL - 23 A 発現の統計的有意性が完全に誘導されるのはわずか 2 つの結腸癌系統によってであると思われる。さらに、IL - 23 A 発現は非ホジキン B 細胞リンパ腫における感受性の統計的に有意の予測子ではない ( 図 7 )。

40

## 【 0 1 3 8 】

【138】 P I K f y v e は脂質生成物 P I ( 3 , 5 ) P<sub>2</sub> および P I 5 P を産生し、それらが今度は膜一体性 (membrane identity) を樹立してエンドリソソーム動態 (endolysosomal dynamics) を制御する作用をする。P I K f y v e の阻害から生じる P I ( 3 , 5 ) P<sub>2</sub> 枯渇は腫脹したエンドリソソーム表現型を生じることが試験により示された。これらの試験に基づいて、アピリモド、P I K f y v e 阻害およびエンドリソソーム機能不全の間の関係を調べた。図 8 に示すように、本発明者らの実験は、アピリモドが 24 時間後に H 4 神経膠腫細胞においておよそ 70 % の P I ( 3 , 5 ) P<sub>2</sub> 減少を誘導し ( 図 8 A )、これらの細胞は著しく腫脹したエンドリソソーム ( 液胞 (vacuole) ) 表現型を示す ( 図

50

8 B) ことを立証した。この表現型は可逆性であり、癌細胞系は薬物除去後 3 ~ 4 日以内に正常な外観に戻った。

【0139】

[139] 次に、P I K f y v e 遺伝子生成物の抑制がアピリモドでみられた細胞毒性を再現できるかどうかを、被験細胞系の 1 つである H 4 神経膠腫細胞において試験した。図 9 に示すように、P I K F Y V E 転写体をターゲティングするドキシサイクリン誘導によるヘアピンは、腫脹したエンドリソソーム表現型および激的な細胞生存性低減を H 4 において誘導した。

【0140】

[140] ここに提示するデータを合わせると、アピリモドの抗癌特性はそれの P I K f y v e 阻害により生じるという結論が支持される。

10

実施例 7：ヒトにおけるアピリモドの薬物動態

[141] 本発明者らの前臨床データは、適切な血漿濃度を臨床試験で達成できればアピリモドが NHL 患者に有効な可能性があることを示唆する。これまでレポートしていないが、アピリモドの薬物動態 (P K) を第 1 相試験で樹立した。要約すると、普通の健康なボランティアにおいて、下記の投与スキーム (表 10) に従って、1 回量での、または 10 時間離れた 2 回量に分割した、1 日の経口投与後に、アピリモドの P K パラメーターを決定した。

【0141】

【表 9】

20

表 10: 普通の健康なボランティアにおける第 1 相、用量漸増(QD/BID)試験。被験者をランダム化して有効物質またはプラセボを投与した。投与は 1 日間、QD(1 日 1 回)投与については AM のみ、BID(1 日 2 回)投与については AM と PM に行なわれた。

コホート	投与当たりの量	回数	総投与量
A	7 mg	1 回	7 mg
B	7 mg	2 回	14 mg
C	14 mg	2 回	28 mg
D	35 mg	2 回	70 mg
E	70 mg	2 回	140 mg
F	105 mg	2 回	210 mg

30

40

【0142】

[142] アピリモド濃度の経時 P K 曲線を図 5 に示す。105 mg B I D (210 mg の総 1 日量) で、アピリモドは AM および PM でそれぞれ 192 および 149 ng / ml の平均血漿濃度をもっていた (表 11)。

【0143】

表 11：ヒト血漿中のアピリモド遊離塩基についての男女合わせた P K パラメーターのまとめ。<sup>a</sup> AM と PM の投与間を 10 時間で 1 日 2 回で投与した用量；ただし、コホート A には 1 回で投与した。すべてのコホートについて被験者数は n = 9 であった；ただし、E では異常濃度のため 1 人の被験者を分析に含めなかった。示した C<sub>max</sub> 値は 8 また

50

は 9 人の被験者の平均である

【 0 1 4 4 】

【 表 1 0 】

処置	投与量 (mg) <sup>a</sup>	AM C <sub>max</sub> (ng/ml)	PM C <sub>max</sub> (ng/ml)
A	7	10.8 +/- 2.7	投与なし
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

10

20

【 0 1 4 5 】

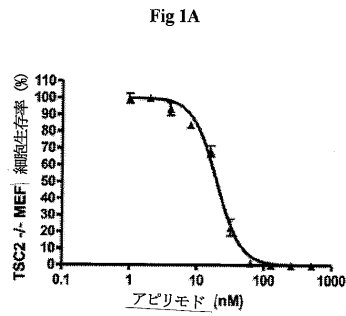
[143] さらに、24時間の期間の約50%について、アピリモド血漿濃度は50 ng / ml (125 nMに等しい) より高い状態を維持した；図3B中の感受性についてのカットオフIC<sub>50</sub>。アピリモドは24時間の処置後に末梢血単核細胞において液胞形成を誘導するので、これらの血漿濃度は薬力学的(PD)効果をもつことも期待される。

【 0 1 4 6 】

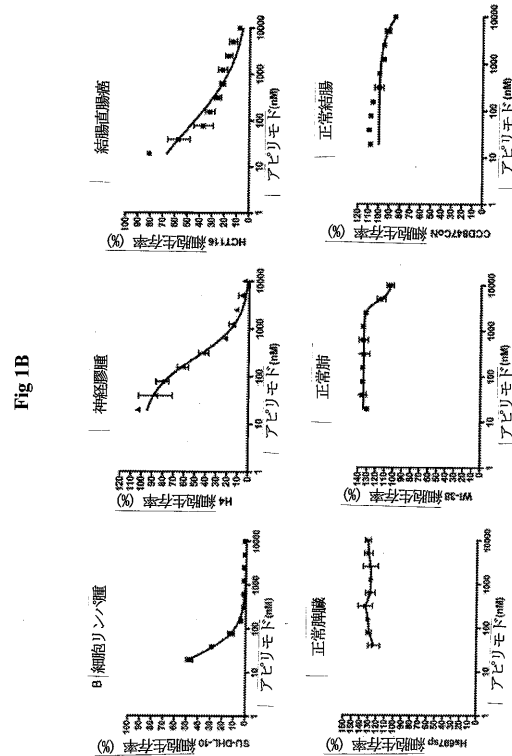
[144] これまでのスポンサーの慢性炎症性疾患状態における第2相有効性試験は大部分が100 mg (またはそれ未満) の総1日量で実施されたが、アピリモドは105 mg BIDで耐容できる安全性プロファイルをもっていた。これらのデータは、インビトロでNHL増殖を効果的に抑制できかつPD効果をもつ可能性があるアピリモド濃度をヒトにおいて達成できることを立証し、よって本発明者らが企画したNHLにおけるアピリモドの第1相の用量漸増試験を支持する。

30

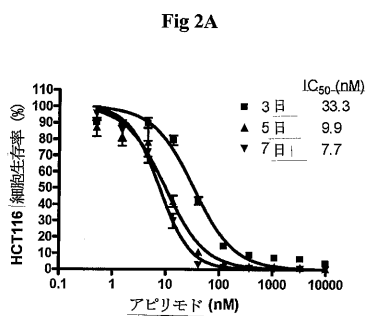
【図 1 A】



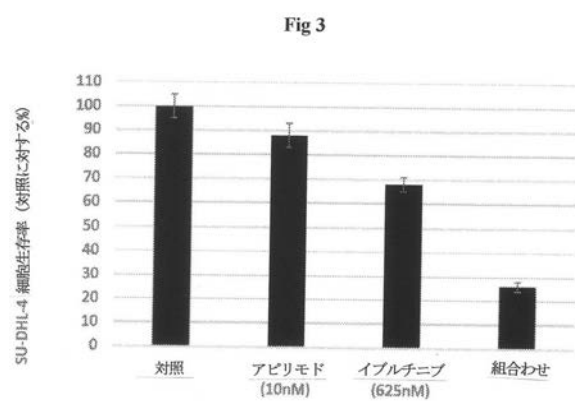
【図 1 B】



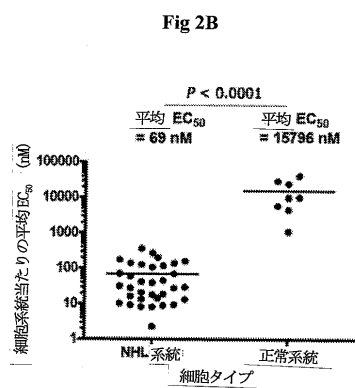
【図 2 A】



【図 3】



【図 2 B】





【 図 4 】

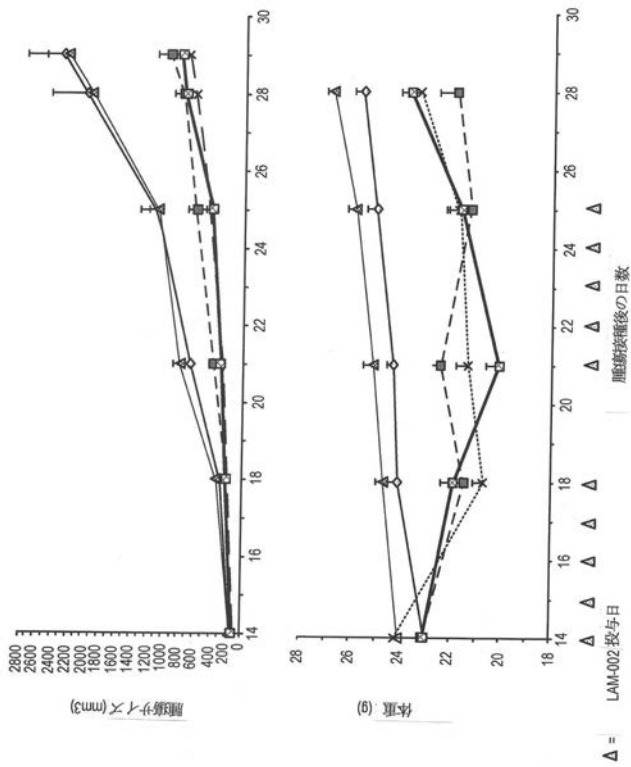


FIG. 4

【 図 5 】

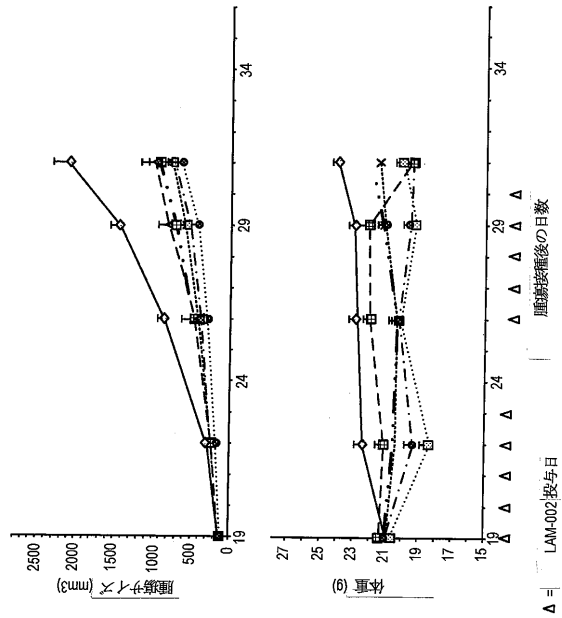


FIG. 5

【 図 6 】

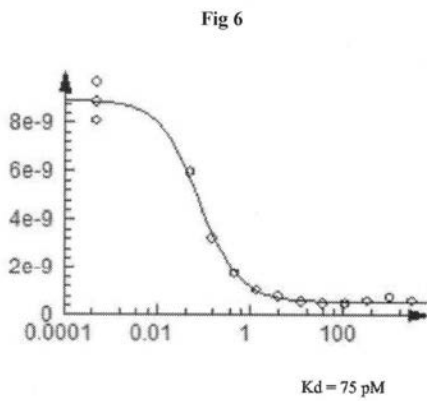


Fig 6

【 図 7 】

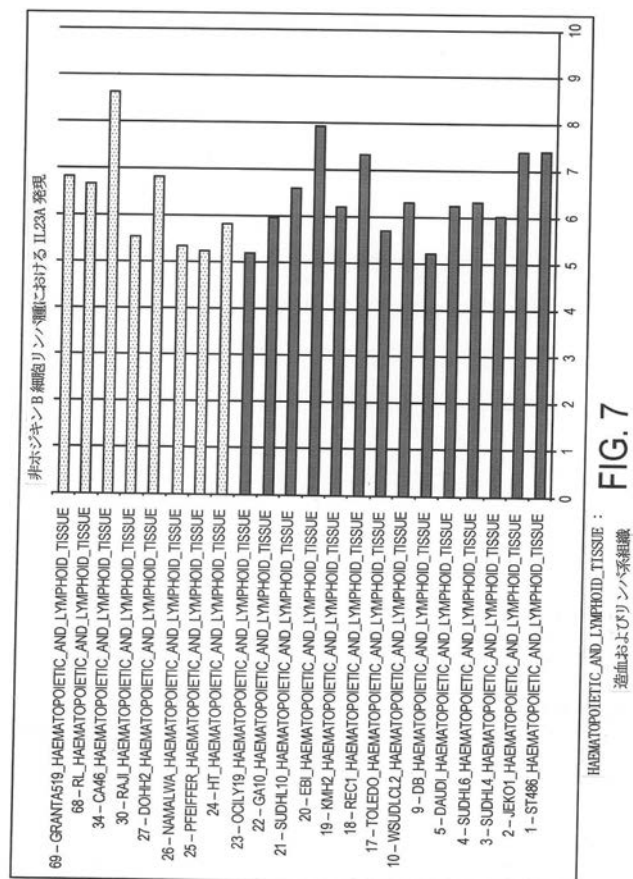
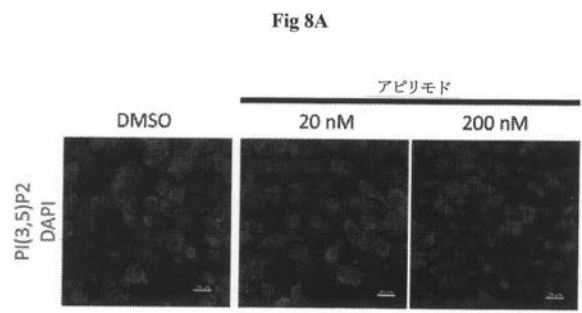
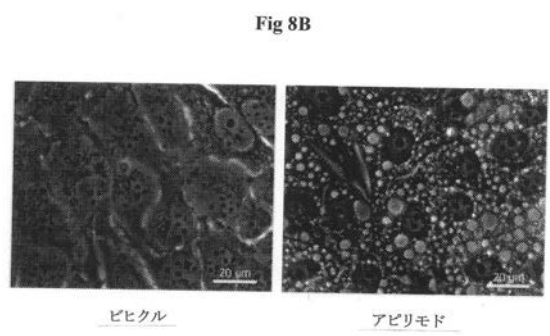


FIG. 7

【 図 8 A 】



【 図 8 B 】



【 図 9 A 】

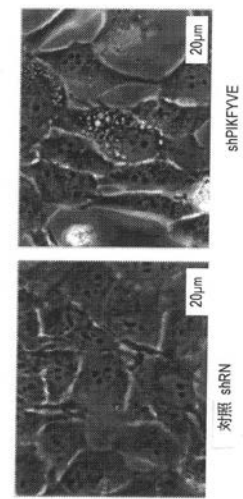
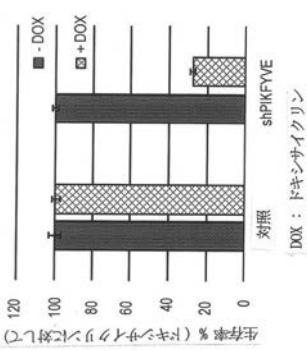
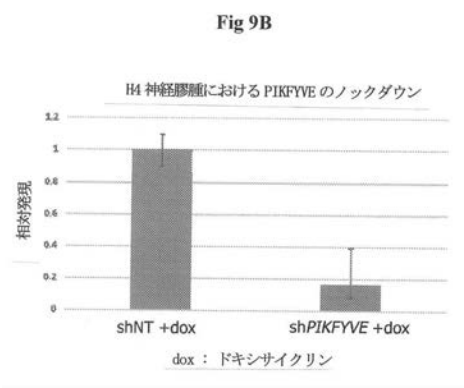


FIG. 9A

【 図 9 B 】



## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/US2016/042905

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. A61K45/06 A61K31/44 A61K31/506 A61K31/5377 A61P35/00 A61P35/02 ADD. According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K A61P Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, WPI Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2006/128129 A2 (SYNTA PHARMACEUTICALS CORP [US]; BERTIN JOHN [US]; GRANT ETHAN P [US]) 30 November 2006 (2006-11-30)	1-5, 12, 14, 15, 17-24, 29-31, 33, 38
Y	claims 273-282 compound 50; page 66 page 203 - page 211 ----- -/--	1-38
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 15 September 2016		Date of mailing of the international search report 26/09/2016
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Loher, Florian

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/US2016/042905

X(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	XINMING CAI ET AL: "PIKfyve, a Class III PI Kinase, Is the Target of the Small Molecular IL-12/IL-23 Inhibitor Apilimod and a Player in Toll-like Receptor Signaling", CHEMISTRY AND BIOLOGY., vol. 20, no. 7, 1 July 2013 (2013-07-01), pages 912-921, XP055236360, GB ISSN: 1074-5521, DOI: 10.1016/j.chembiol.2013.05.010 the whole document -----	1-38
Y	CORONAS S ET AL: "Elevated levels of PtdIns5P in NPM-ALK transformed cells: Implication of PIKfyve", BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, ACADEMIC PRESS INC. ORLANDO, FL, US, vol. 372, no. 2, 25 July 2008 (2008-07-25), pages 351-355, XP022707298, ISSN: 0006-291X, DOI: 10.1016/J.BBRC.2008.05.062 [retrieved on 2008-05-22] figure 3 page 353, last paragraph - page 354 -----	1-38
X,P	WO 2015/112888 A1 (LAM THERAPEUTICS INC [US]) 30 July 2015 (2015-07-30) page 7, paragraph 34 - paragraph 35 page 11, paragraph 51 - page 15, paragraph 64 page 24, paragraph 96 - page 27, paragraph 110 figures 2a,2b examples 2-7 -----	1-38

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/US2016/042905

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2006128129	A2	30-11-2006	NONE
WO 2015112888	A1	30-07-2015	AU 2015209133 A1 11-08-2016
			CA 2937655 A1 30-07-2015
			WO 2015112888 A1 30-07-2015

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード ( 参考 )
A 6 1 K 31/519 (2006.01)	A 6 1 K 31/519	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	T
A 6 1 K 31/704 (2006.01)	A 6 1 K 31/704	
A 6 1 K 31/573 (2006.01)	A 6 1 K 31/573	
A 6 1 K 31/475 (2006.01)	A 6 1 K 31/475	
A 6 1 K 31/69 (2006.01)	A 6 1 K 31/69	
A 6 1 K 31/675 (2006.01)	A 6 1 K 31/675	
A 6 1 K 31/4178 (2006.01)	A 6 1 K 31/4178	
A 6 1 K 31/439 (2006.01)	A 6 1 K 31/439	
A 6 1 K 31/404 (2006.01)	A 6 1 K 31/404	
A 6 1 K 31/517 (2006.01)	A 6 1 K 31/517	
A 6 1 K 31/427 (2006.01)	A 6 1 K 31/427	
A 6 1 K 31/436 (2006.01)	A 6 1 K 31/436	
	A 6 1 K 39/395	N

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(74)代理人 100128750

弁理士 廣瀬 しのぶ

(72)発明者 リチェンステイン, ヘンリ

アメリカ合衆国コネチカット州06437, ギルフォード, オールド・ウィットフィールド・ストリート 530

(72)発明者 ロスバーク, ジョナサン・エム

アメリカ合衆国コネチカット州06437, ギルフォード, オールド・ウィットフィールド・ストリート 530

(72)発明者 ゲイル, ソフィア

アメリカ合衆国コネチカット州06437, ギルフォード, オールド・ウィットフィールド・ストリート 530

(72)発明者 ビーハリー, ニール

アメリカ合衆国コネチカット州06437, ギルフォード, オールド・ウィットフィールド・ストリート 530

(72)発明者 ベケット, ポール

アメリカ合衆国コネチカット州06437, ギルフォード, オールド・ウィットフィールド・ストリート 530

(72)発明者 ランドレット, ショーン

アメリカ合衆国コネチカット州06437, ギルフォード, オールド・ウィットフィールド・ストリート 530

(72)発明者 コンラッド, クリス

アメリカ合衆国コネチカット州06437, ギルフォード, オールド・ウィットフィールド・ストリート 530

(72)発明者 シュイ, ティエン

アメリカ合衆国コネチカット州 0 6 4 3 7 , ギルフォード , オールド・ウィットフィールド・スト  
リート 5 3 0

F ターム(参考) 4C084 AA19 MA02 MA52 MA65 NA05 NA14 ZB261 ZB271 ZC20 ZC41  
4C085 AA14 BB01 CC23 EE03 GG02 GG04  
4C086 AA01 AA02 BC13 BC38 BC46 BC73 BC82 CB06 CB15 CB17  
CB21 CB22 DA10 DA38 DA43 EA10 GA07 GA08 GA09 GA10  
GA12 MA01 MA04 MA52 MA65 NA14 ZB26 ZB27 ZC20 ZC41