(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7227913号
(P7227913)

(45)発行日　令和5年2月22日(2023.2.22)

(24)登録日　令和5年2月14日(2023.2.14)

(51)国際特許分類

Ａ６１Ｋ　31/4178(2006.01)		Ａ６１Ｋ	31/4178	
Ａ６１Ｐ　35/00　(2006.01)		Ａ６１Ｐ	35/00	
Ａ６１Ｐ　35/02　(2006.01)		Ａ６１Ｐ	35/02	
Ａ６１Ｐ　43/00　(2006.01)		Ａ６１Ｐ	43/00	１１１

ＦＩ

請求項の数　19　（全78頁）

(21)出願番号　特願2019-545304(P2019-545304)
(86)(22)出願日　平成30年2月21日(2018.2.21)
(65)公表番号　特表2020-508313(P2020-508313A)
(43)公表日　令和2年3月19日(2020.3.19)
(86)国際出願番号　PCT/US2018/018951
(87)国際公開番号　WO2018/156578
(87)国際公開日　平成30年8月30日(2018.8.30)
審査請求日　令和3年2月22日(2021.2.22)
(31)優先権主張番号　62/461,584
(32)優先日　平成29年2月21日(2017.2.21)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/578,948
(32)優先日　平成29年10月30日(2017.10.30)
最終頁に続く

(73)特許権者　507300722
アプトース バイオサイエンシーズ， インコーポレイテッド
カナダ国 エム２ジェイ ４アール３ オンタリオ， トロント，コンシューマーズ ロード ２５１， スイート １１０５
(73)特許権者　515178085
クリスタルジェノミクス・インコーポレイテッド
ＣＲＹＳＴＡＬＧＥＮＯＭＩＣＳ， ＩＮＣ．
大韓民国 １３４８８ ギョンギ－ド， ションナム－シ， ブンダン－グ， デウォンパンギョ－ロ ７００， コリア・バイオ・パーク， タワー・エイ， フィフ
最終頁に続く

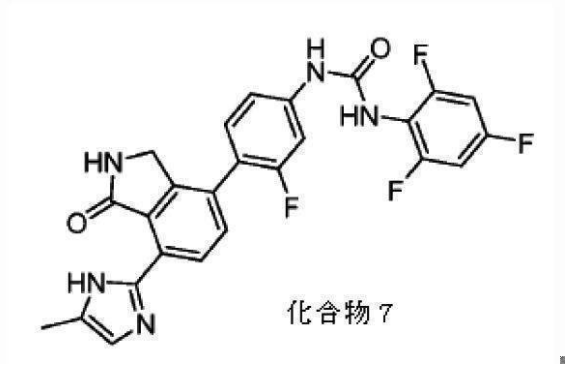
(54)【発明の名称】　血液悪性腫瘍患者の治療方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

がんの治療を、がんの治療を必要とする対象において行うための組成物であって、下記の化合物７、

【化２１】



化合物７

またはその製薬学的に許容可能な塩を含み、前記対象が、ＢＴＫの変異型を有し、前記変異ＢＴＫがＣ４８１Ｓ残基の少なくとも１つの点変異を含む、組成物。

【請求項２】

前記がんが、血液悪性腫瘍またはＢ細胞悪性腫瘍である、請求項１に記載の組成物。

【請求項３】

前記治療するＢ細胞悪性腫瘍が、マントル細胞リンパ腫（ＭＣＬ）、Ｂ細胞急性リンパ芽球性白血病（Ｂ－ＡＬＬ）、バーキットリンパ腫、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、びまん性大細胞型Ｂ細胞性リンパ腫（ＤＬＢＣＬ）および濾胞性リンパ腫（ＦＬ）からなる群の１つ以上から選択される、請求項２に記載の組成物。

【請求項４】

前記治療するＢ細胞悪性腫瘍が、マントル細胞リンパ腫（ＭＣＬ）である、請求項３に記載の組成物。

【請求項５】

前記治療するＢ細胞悪性腫瘍が、Ｂ細胞急性リンパ芽球性白血病（Ｂ－ＡＬＬ）である、請求項３に記載の組成物。

【請求項６】

前記治療するＢ細胞悪性腫瘍が、バーキットリンパ腫である、請求項３に記載の組成物。

【請求項７】

前記治療するＢ細胞悪性腫瘍が、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）である、請求項３に記載の組成物。

【請求項８】

前記治療するＢ細胞悪性腫瘍が、びまん性大細胞型Ｂ細胞性リンパ腫（ＤＬＢＣＬ）である、請求項３に記載の組成物。

【請求項９】

化合物７が、変異ＢＴＫの活性または発現を阻害及び／または低減する、請求項１に記載の組成物。

【請求項１０】

化合物７が、オーロラキナーゼの活性を阻害及び／または低減する、請求項９に記載の組成物。

【請求項１１】

前記オーロラキナーゼが、変異オーロラキナーゼである、請求項１０に記載の組成物。

【請求項１２】

化合物７が、対象の野生型もしくは変異型脾臓チロシンキナーゼ（ＳＹＫ）、野生型もしくは変異型血小板由来成長因子受容体アルファ（ＰＤＧＦＲα）または野生型もしくは変異型フムス関連チロシンキナーゼ３（ＦＬＴ３）の活性または発現を阻害及び／または低減する、請求項９に記載の組成物。

【請求項１３】

前記変異ＦＬＴ３が、少なくとも１つの点変異を含む、請求項１２に記載の組成物。

【請求項１４】

前記少なくとも１つの点変異が、Ｄ８３５、Ｆ６９１、Ｋ６６３、Ｙ８４２及びＮ８４１からなる群から選択される１つ以上の残基の変異である、請求項１３に記載の組成物。

【請求項１５】

前記変異ＦＬＴ３が、ＦＬＴ３－ＩＴＤである、請求項１２に記載の組成物。

【請求項１６】

前記変異ＦＬＴ３が、追加のＩＴＤ変異を有する、請求項１３に記載の組成物。

【請求項１７】

前記血液悪性腫瘍が、白血病である、請求項２に記載の組成物。

【請求項１８】

前記白血病が、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、急性前骨髄球性白血病、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性好中球性白血病、急性未分化白血病、未分化大細胞型リンパ腫、前リンパ球性白血病、若年性骨髄単球性白血病、成人Ｔ細胞急性リンパ性白血病、３血球系異形成を伴う急性骨髄性白血病、混合系統白血病、好酸球性白血病またはマントル細胞リンパ腫である、請求項１７に記載の組成物。

【請求項１９】

前記治療するＢ細胞悪性腫瘍が濾胞性リンパ腫（ＦＬ）である、請求項３に記載の組成

物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本願は、２０１７年２月２１日に出願した米国特許仮出願第６２／４６１，５８４号と、２０１７年１０月３０日に出願した米国特許仮出願第６２／５７８，９４８号に基づく優先権を主張するものであり、これらの仮出願の開示内容は、すべての目的のために、参照により、その全体が本明細書に援用される。
【０００２】
発明の分野
本発明は、血液がんなどの、がん治療のための２，３－ジヒドロ－イソインドール－１－オンという化合物、またはその製薬学的に許容可能な塩、エステル、プロドラッグ、水和物、溶媒和物及び異性体に関するものであり、患者は、ＦＬＴ３の変異、またはＢＴＫの野生型もしくは変異型を呈する。
【背景技術】
【０００３】
いくつかのチロシンキナーゼは、多くのタイプのがんで細胞の生存を促す調節経路の一部であることが示されている。フムス様チロシンキナーゼ３（ＦＬＴ３）遺伝子は、造血に影響を及ぼして血液の障害と悪性腫瘍を引き起こす膜結合型受容体型チロシンキナーゼをコードする上記のような一例である。
【０００４】
受容体型チロシンキナーゼＦＬＴ３は、膜近傍領域の活性化遺伝子内縦列重複（ＩＴＤ）と、活性化ループ残基Ｄ８３５におけるようなチロシンキナーゼドメインの点変異を含め、一連の変異を起こすことがある。ＦＬＴ３は、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）療法の標的である。それは、ＦＬＴ３－ＩＴＤ変異が、約２４％のＡＭＬ患者に存在し、きわめて不良な予後と関連付けられているからである。Ｃ．Ｔｈｉｅｄｅ ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ ２００２，９９，４３２６、Ｐ．Ｄ．Ｋｏｔｔａｒｉｄｉｓ ｅｔ ａｌ．，Ｌｅｕｋｅｍｉａ ＆ ｌｙｍｐｈｏｍａ ２００３，４４，９０５を参照されたい。しかしながら、ＦＬＴ３阻害剤であるソラフェニブまたはキザルチニブに対して耐性／再発を示した臨床患者で同定されているＤ８３５または「ゲートキーパー」Ｆ６９１の変異を含め、ＦＬＴ３のさらなる後天的変異によって、大半のＦＬＴ３阻害剤が無効になることがある。Ｃ．Ｈ．Ｍａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ ２０１２，１１９，５１３３、Ｃ．Ｃ．Ｓｍｉｔｈ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ２０１２，４８５，２６０を参照されたい。さらに、他の平行した生存促進性シグナル伝達経路の異常なアップレギュレーションによって、ＡＭＬがＦＬＴ３標的療法に対して耐性を獲得し得ることが報告されている。Ｗ．Ｚｈａｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｃｌｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．２０１４，２０，２３６３を参照されたい。
【０００５】
したがって、ＦＬＴ３の変異をきたした血液悪性腫瘍患者の変異ＦＬＴ３を阻害する治療に対するニーズが存在する。
【０００６】
別のチロシンキナーゼであるブルトンチロシンキナーゼ（ＢＴＫ）も、血液がんにおいて細胞増殖を調節する際に機能的に重要であることがわかっている。ＢＴＫは、一部のＴ細胞、ナチュラルキラー細胞、形質細胞などではなく、Ｂ細胞と造血細胞で見られる。様々な炎症性応答またはがんによって生じるＢ細胞膜受容体（ＢＣＲ）シグナルによって、ＢＴＫが刺激されると、ＢＴＫは、ホスホリパーゼＣγ２（ＰＬＣγ）のような下流シグナル伝達を開始することによって、ＴＮＦ－αＩＬ－６などのようなサイトカインと、ＮＦ－ＫＢの産生の際に重要な役割を果たす。
【０００７】

がん治療では、ＢＴＫは、抗自殺シグナルを生成するＢＣＲとＢ細胞表面タンパク質を修飾することが知られている。したがって、ＢＴＫを阻害すると、リンパ腫のように、ＢＣＲのシグナル伝達と関連するがんに対する抗がん作用が得られ得る。ＢＴＫ阻害剤の抗炎症剤及び抗がん剤としての作用機序は、Ｎａｔｕｒｅ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｂｉｏｌｏｇｙ ２０１１，７，４に詳しく記載されている。

【０００８】

これらのシグナル伝達経路は、正確に調節しなければならない。ＢＴＫをコードする遺伝子の変異は、ヒトにおいて、Ｘ連鎖無ガンマグロブリン血症（ＸＬＡ）として知られている遺伝性Ｂ細胞特異的免疫不全疾患の原因となる（Ｃｏｎｌｅｙ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２７：１９９－２２７，２００９）。ＢＣＲを介する異常なシグナル伝達によって、Ｂ細胞活性化の異常調節が起こり、いくつかの自己免疫疾患と炎症性疾患を引き起こし得る。前臨床試験によって、ＢＴＫ欠損マウスには、コラーゲン関節炎の発症に対する耐性があることが示されている。さらに、成熟Ｂ細胞を枯渇するＣＤ２０抗体であるリツキサンの臨床試験によって、関節リウマチ、全身性ループスエリテマトーデス及び多発性硬化症のようないくつかの炎症性疾患におけるＢ細胞の重要な役割が明らかにされている（Ｇｕｒｃａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｔ．Ｉｍｍｕｎｏｐｈａｒｍａｃｏｌ．９：１０－２５，２００９）。したがって、ＢＴＫ阻害剤を用いて、自己免疫疾患及び／または炎症性疾患を治療できる。

【０００９】

加えて、ＢＴＫの異常な活性化または過剰発現は、Ｂ細胞リンパ腫の病因において重要な役割を果たし、ＢＴＫの阻害が、血液悪性腫瘍の治療において有用であることが示されている（Ｄａｖｉｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ４６３：８８－９２，２０１０）。予備的臨床試験の結果から、ＢＴＫ阻害剤のイブルチニブ（ＰＣＩ－３２７６５）が、いくつかのタイプのＢ細胞リンパ腫の治療に有効であることが示された（例えば、５４th Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｓｏｃｉｅｔｙ ｏｆ Ｈｅｍａｔｏｌｏｇｙ（ＡＳＨ）ａｎｎｕａｌ ｍｅｅｔｉｎｇ ａｂｓｔｒａｃｔ，Ｄｅｃ．２０１２：６８６ Ｔｈｅ Ｂｒｕｔｏｎ’ｓ Ｔｙｒｏｓｉｎｅ Ｋｉｎａｓｅ（ＢＴＫ）Ｉｎｈｉｂｉｔｏｒ，ｉｂｒｕｔｉｎｉｂ（ＰＣＩ－３２７６５），Ｈａｓ Ｐｒｅｆｅｒｅｎｔｉａｌ Ａｃｔｉｖｉｔｙ ｉｎ ｔｈｅ ＡＢＣ Ｓｕｂｔｙｐｅ ｏｆ Ｒｅｌａｐｓｅｄ／Ｒｅｆｒａｃｔｏｒｙ Ｄｅ Ｎｏｖｏ Ｄｉｆｆｕｓｅ Ｌａｒｇｅ Ｂ－Ｃｅｌｌ Ｌｙｍｐｈｏｍａ（ＤＬＢＣＬ）：Ｉｎｔｅｒｉｍ Ｒｅｓｕｌｔｓ ｏｆ ａ Ｍｕｌｔｉｃｅｎｔｅｒ，Ｏｐｅｎ－Ｌａｂｅｌ，Ｐｈａｓｅ １ Ｓｔｕｄｙ）。ＢＴＫは、複数のシグナル伝達経路において、メディエーターとして中心的役割を果たすので、ＢＴＫの阻害剤には、抗炎症剤及び／または抗がん剤として大きな関心が寄せられている（Ｍｏｈａｍｅｄ ｅｔ ａｌ．，Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｒｅｖ．２２８：５８－７３，２００９、Ｐａｎ，Ｄｒｕｇ Ｎｅｗｓ ｐｅｒｓｐｅｃｔ ２１：３５７－３６２，２００８、Ｒｏｋｏｓｚ ｅｔ ａｌ．，Ｅｘｐｅｒｔ Ｏｐｉｎ．Ｔｈｅｒ．Ｔａｒｇｅｔｓ １２：８８３－９０３，２００８、Ｕｃｋｕｎ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｔｉ－ｃａｎｃｅｒ Ａｇｅｎｔｓ Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．７：６２４－６３２，２００７、Ｌｏｕ ｅｔ ａｌ，Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．５５（１０）：４５３９－４５５０，２０１２）。

【００１０】

イブルチニブは、ＢＴＫの活性部位における４８１位の残基のシステインと化学的に相互作用し、ＢＴＫ酵素を不活化する。しかしながら、４８１位の残基のシステインが、セリン残基に変異すると（ＢＴＫ－Ｃ４８１Ｓ）、イブルチニブに対する耐性が生じ、このＢＴＫ－Ｃ４８１Ｓは、臨床的に観察されている。この特定の点変異は、イブルチニブの標的を効果的に排除することによって、有効な薬物としてのイブルチニブを無効にする。イブルチニブで治療するＣＬＬ患者のうち、５１％が、様々な理由により、その使用を始めてから４年になるまでに中止する。例えば、２４％が、過敏症、有害事象、感染または死により、イブルチニブの使用を中止する。患者の２７％は、疾患の進行（例えば、リヒター症候群、ＢＴＫ－Ｃ４８１Ｓ変異、ＰＬＣγ２変異）により、その使用を中止し、イ

ブルチニブの使用を中止する患者の約１／３が、Ｃ４８１Ｓ変異を有する。したがって、難治性、過敏性または耐性の患者（変異型のＢＴＫを有する患者を含む）を治療するための新たな治療剤、特には、イブルチニブと異なる機序によって作用する治療剤を特定するニーズが存在する。

既存の治療剤は典型的には、様々な耐性表現型を示す標的に対して無効である。その結果、そのようながんの生存予後は不良である。したがって、複数のキナーゼ標的に対する親和性を示す新規医薬剤、具体的には、ＢＴＫとＦＬＴ３を二重に阻害できる医薬剤を開発することが重要である。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【００１１】

【文献】Ｃ．Ｔｈｉｅｄｅ ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ ２００２，９９，４３２６、Ｐ．Ｄ．Ｋｏｔｔａｒｉｄｉｓ ｅｔ ａｌ．，Ｌｅｕｋｅｍｉａ ＆ ｌｙｍｐｈｏｍａ ２００３，４４，９０５
Ｃ．Ｈ．Ｍａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ ２０１２，１１９，５１３３、Ｃ．Ｃ．Ｓｍｉｔｈ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ２０１２，４８５，２６０
Ｗ．Ｚｈａｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｃｌｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．２０１４，２０，２３６３
Ｎａｔｕｒｅ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｂｉｏｌｏｇｙ ２０１１，７，４
Ｃｏｎｌｅｙ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２７：１９９－２２７，２００９
Ｇｕｒｃａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｔ．Ｉｍｍｕｎｏｐｈａｒｍａｃｏｌ．９：１０－２５，２００９
Ｄａｖｉｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ４６３：８８－９２，２０１０
５４ｔｈ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｓｏｃｉｅｔｙ ｏｆ Ｈｅｍａｔｏｌｏｇｙ（ＡＳＨ）ａｎｎｕａｌ ｍｅｅｔｉｎｇ ａｂｓｔｒａｃｔ，Ｄｅｃ．２０１２：６８６ Ｔｈｅ Ｂｒｕｔｏｎ’ｓ Ｔｙｒｏｓｉｎｅ Ｋｉｎａｓｅ（ＢＴＫ）Ｉｎｈｉｂｉｔｏｒ，ｉｂｒｕｔｉｎｉｂ（ＰＣＩ－３２７６５），Ｈａｓ Ｐｒｅｆｅｒｅｎｔｉａｌ Ａｃｔｉｖｉｔｙ ｉｎ ｔｈｅ ＡＢＣ Ｓｕｂｔｙｐｅ ｏｆ Ｒｅｌａｐｓｅｄ／Ｒｅｆｒａｃｔｏｒｙ Ｄｅ Ｎｏｖｏ Ｄｉｆｆｕｓｅ Ｌａｒｇｅ Ｂ－Ｃｅｌｌ Ｌｙｍｐｈｏｍａ（ＤＬＢＣＬ）：Ｉｎｔｅｒｉｍ Ｒｅｓｕｌｔｓ ｏｆ ａ Ｍｕｌｔｉｃｅｎｔｅｒ，Ｏｐｅｎ－Ｌａｂｅｌ，Ｐｈａｓｅ １ Ｓｔｕｄｙ
Ｍｏｈａｍｅｄ ｅｔ ａｌ．，Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｒｅｖ．２２８：５８－７３，２００９
Ｐａｎ，Ｄｒｕｇ Ｎｅｗｓ ｐｅｒｓｐｅｃｔ ２１：３５７－３６２，２００８
Ｒｏｋｏｓｚ ｅｔ ａｌ．，Ｅｘｐｅｒｔ Ｏｐｉｎ．Ｔｈｅｒ．Ｔａｒｇｅｔｓ １２：８８３－９０３，２００８
Ｕｃｋｕｎ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｔｉ－ｃａｎｃｅｒ Ａｇｅｎｔｓ Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．７：６２４－６３２，２００７
Ｌｏｕ ｅｔ ａｌ，Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．５５（１０）：４５３９－４５５０，２０１２

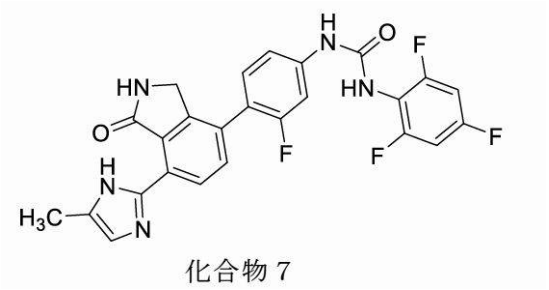
【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【００１２】

本開示は、化合物７、その製薬学的に許容可能な塩、エステル、プロドラッグ、水和物、溶媒和物及び異性体に関するものである。

【化１】



化合物７

【００１３】
一実施形態では、本開示は、対象の野生型フムス関連キナーゼ３（ＦＬＴ３）の活性または発現の阻害または低減方法であって、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩をその対象に投与することを含む方法を提供する。一実施形態では、本開示は、対象の変異ＦＬＴ３の活性または発現の阻害または低減方法であって、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩をその対象に投与することを含む方法を提供する。
【００１４】
一実施形態では、本開示は、ヒト細胞における野生型ＦＬＴ３の活性または発現の阻害または低減方法であって、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩をそのヒト細胞と接触させることを含む方法を提供する。別の実施形態では、本開示は、ヒト細胞における変異ＦＬＴ３の活性または発現の阻害または低減方法であって、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩をそのヒト細胞と接触させることを含む方法を提供する。
【００１５】
別の実施形態では、本開示は、野生型ＦＬＴ３発現細胞のアポトーシスを誘導することを、それを必要とする対象において行う方法であって、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含む方法を提供する。一実施形態では、本開示は、変異ＦＬＴ３発現細胞のアポトーシスを誘導することを、それを必要とする対象において行う方法であって、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含む方法を提供する。
【００１６】
一実施形態では、本開示は、野生型ＦＬＴ３と関連する血液悪性腫瘍の治療方法であって、それを必要とする対象に、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含む方法を提供する。一実施形態では、当該方法は、野生型ＦＬＴ３の活性または発現を阻害または低減する。別の実施形態では、本開示は、変異ＦＬＴ３と関連する血液悪性腫瘍の治療方法であって、それを必要とする対象に、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含む方法を提供する。一実施形態では、当該方法は、変異ＦＬＴ３の活性または発現を阻害または低減する。
【００１７】
本明細書に開示されている方法のいずれか１つの一実施形態では、変異ＦＬＴ３は、少なくとも１つの点変異を含む。一実施形態では、少なくとも１つの点変異は、Ｄ８３５、Ｆ６９１、Ｋ６６３、Ｒ８３４、Ｎ８４１及びＹ８４２からなる群から選択される１つ以上の残基の変異である。別の実施形態では、変異ＦＬＴ３は、少なくとも１つの変異をＤ８３５に含む。別の実施形態では、変異ＦＬＴ３は、少なくとも１つの変異をＦ６９１に含む。一実施形態では、変異ＦＬＴ３は、少なくとも１つの変異をＫ６６３に含む。別の実施形態では、変異ＦＬＴ３は、少なくとも１つの変異をＮ８４１に含む。別の実施形態では、変異ＦＬＴ３は、少なくとも１つの変異をＲ８３４に含む。別の実施形態では、変異ＦＬＴ３は、少なくとも１つの変異をＹ８４２に含む。
【００１８】
本明細書に開示されている方法のいずれか１つの一態様では、少なくとも１つの点変異は、ＦＬＴ３のチロシンキナーゼドメインにある。別の実施形態では、少なくとも１つの

点変異は、ＦＬＴ３の活性化ループにある。一実施形態では、少なくとも１つの点変異は、６８６位、６８７位、６８８位、６８９位、６９０位、６９１位、６９２位、６９３位、６９４位、６９５位及び６９６位からなる群から選択される１つ以上の位置のアミノ酸残基の変異である。一実施形態では、変異ＦＬＴ３は、追加のＩＴＤ変異を有する。一実施形態では、当該変異ＦＬＴ３は、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｈ、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｖ、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｙ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｖ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｙ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｈ、ＦＬＴ３－Ｆ６９１Ｌ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｆ６９１Ｌ、ＦＬＴ３－Ｋ６６３Ｑ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｋ６６３Ｑ、ＦＬＴ３－Ｎ８４１Ｉ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｎ８４１Ｉ、ＦＬＴ３－Ｒ８３４Ｑ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－８３４Ｑ、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｇ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｇ、ＦＬＴ３－Ｙ８４２Ｃ及びＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｙ８４２Ｃからなる群から選択される１つ以上の変異を有する。

【００１９】

本明細書に開示されている方法のいずれか１つの一実施形態では、少なくとも１つの点変異は、同じ対立遺伝子に存在する２つ以上の点変異である。一実施形態では、少なくとも１つの点変異は、異なる対立遺伝子に存在する２つ以上の点変異である。

【００２０】

本明細書に開示されている方法のいずれか１つの一実施形態では、対象は、哺乳動物である。別の実施形態では、対象は、ヒトである。

【００２１】

ヒト細胞において野生型ＦＬＴ３または変異ＦＬＴ３の活性または発現の阻害または軽減する、本明細書に開示されているいずれかの方法の一実施形態では、ヒト細胞はヒト白血病細胞株である。一態様では、ヒト白血病細胞株は、急性リンパ性白血病細胞株、急性骨髄性白血病細胞株、急性前骨髄球性白血病細胞株、慢性リンパ性白血病細胞株、慢性骨髄性白血病細胞株、慢性好中球性白血病細胞株、急性未分化白血病細胞株、未分化大細胞型リンパ腫細胞株、前リンパ球性白血病細胞株、若年性骨髄単球性白血病細胞株、成人Ｔ細胞急性リンパ性白血病細胞株、３血球系異形成を伴う急性骨髄性白血病細胞株、混合系統白血病細胞株、好酸球性白血病細胞株またはマントル細胞リンパ腫細胞株である。一態様では、ヒト白血病細胞株は、好酸球性白血病細胞株である。一実施形態では、ヒト白血病細胞株は、急性骨髄性白血病細胞株である。

【００２２】

野生型ＦＬＴ３または変異ＦＬＴ３の活性または発現と関連する血液悪性腫瘍の治療を治療する、本明細書に開示されているいずれかの方法の一実施形態では、血液悪性腫瘍は、白血病である。別の実施形態では、白血病は、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、急性前骨髄球性白血病、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性好中球性白血病、急性未分化白血病、未分化大細胞型リンパ腫、前リンパ球性白血病、若年性骨髄単球性白血病、成人Ｔ細胞急性リンパ性白血病、３血球系異形成を伴う急性骨髄性白血病、混合系統白血病、好酸球性白血病またはマントル細胞リンパ腫である。別の実施形態では、白血病は、好酸球性白血病である。別の実施形態では、白血病は、急性骨髄性白血病である。

【００２３】

一実施形態では、本開示は、血液悪性腫瘍の治療を、それを必要とする対象において行う方法であって、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含み、対象が、ＦＬＴ３の活性または発現の阻害剤に対して、耐性または再発を示す方法を提供する。一実施形態では、阻害剤は、キザルチニブ、ギルテリチニブ、スニチニブ、ソラフェニブ、ミドスタウリン、レスタウルチニブ、クレノラニブ、ＰＬＸ３３９７、ＰＬＸ３６２３、クレノラニブ、ポナチニブまたはパクリチニブである。別の実施形態では、阻害剤は、キザルチニブまたはギルテリチニブである。

【００２４】

一実施形態では、血液悪性腫瘍は、白血病である。別の実施形態では、白血病は、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、急性前骨髄球性白血病、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性好中球性白血病、急性未分化白血病、未分化大細胞型リンパ腫、前リ

ンパ球性白血病、若年性骨髄単球性白血病、成人Ｔ細胞急性リンパ性白血病、３血球系異形成を伴う急性骨髄性白血病、混合系統白血病、好酸球性白血病またはマントル細胞リンパ腫である。特定の実施形態では、白血病は、好酸球性白血病である。別の特定の実施形態では、白血病は、急性骨髄性白血病である。

【００２５】

一実施形態では、本開示は、異常な（例えば、過剰発現した）野生型ＢＴＫまたは変異ＢＴＫの活性または発現を阻害または低減することを、それを必要とする対象において行う方法であって、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含む方法を提供する。ある特定の実施形態では、当該変異ＢＴＫは、少なくとも１つの点変異を含む。例えば、当該少なくとも１つの点変異は、システイン残基にあってよい（例えば、システイン残基は、ＢＴＫのキナーゼドメインにある）。対象は、哺乳動物、例えばヒトであってよい。ある特定の実施形態では、少なくとも１つの点変異は、Ｅ４１残基、Ｐ１９０残基及びＣ４８１残基からなる群から選択される１つ以上の残基である。例えば、点変異は、Ｅ４１Ｋ、Ｐ１９０Ｋ及びＣ４８１Ｓからなる群から選択される１つ以上であってよい。一実施形態では、Ｃ４８１残基の点変異は、Ｃ４８１Ｓ、Ｃ４８１Ｒ、Ｃ４８１Ｔ及び／またはＣ４８１Ｙから選択される。

【００２６】

ある特定の実施形態では、ＢＴＫ変異体には、共有結合性ＢＴＫ阻害剤（例えば、イブルチニブ及び／またはアカラブルチニブ、あるいは他の共有結合性ＢＴＫ阻害剤）による阻害に対する耐性がある。一実施形態では、変異ＢＴＫの活性は、共有結合性不可逆ＢＴＫ阻害剤によって野生型ＢＴＫの活性を阻害した場合よりも、共有結合性不可逆ＢＴＫ阻害剤によって阻害される程度が低い。例えば、共有結合性不可逆ＢＴＫ阻害剤は、変異ＢＴＫに対するＩＣ５０が、野生型ＢＴＫに対するよりも少なくとも５０％高い。ある特定の実施形態では、ＢＴＫ変異体には、非共有結合性ＢＴＫ阻害剤による阻害に対する耐性がある。ある特定の実施形態では、ＢＴＫ変異体には、非共有結合性ＢＴＫ阻害剤による阻害に対する耐性がある。

【００２７】

一実施形態では、システイン上の点変異は、ＢＴＫの１つの対立遺伝子のみにある。別の実施形態では、システイン上の点変異は、ＢＴＫの２つの対立遺伝子にある。

【００２８】

一実施形態では、本開示は、がんの治療を、それを必要とする対象において行う方法であって、それを必要とする対象に、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含み、その患者は、ＢＴＫの野生型（例えば、過剰発現した野生型）または変異型を有する方法を提供する。

【００２９】

一実施形態では、本開示は、Ｂ細胞悪性腫瘍の治療を、それを必要とする対象において行う方法であって、その対象に、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含む方法を提供する。一実施形態では、化合物７は、ＢＴＫ、ＥＲＫ、ＦＬＴ３、ＡＵＲＫまたはＡＫＴの経路の活性化を阻害する。一実施形態では、対象は、ＢＴＫの変異型を有する。例えば、Ｂ細胞悪性腫瘍は、マントル細胞リンパ腫（ＭＣＬ）、Ｂ細胞急性リンパ芽球性白血病（Ｂ－ＡＬＬ）、バーキットリンパ腫、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）及びびまん性大細胞型Ｂ細胞性リンパ腫（ＤＬＢＣＬ）からなる群の１つ以上から選択される。ある特定の実施形態では、化合物７は、オーロラキナーゼのいずれかの型（野生型または変異型）の活性を阻害及び／または低減する。一実施形態では、オーロラキナーゼは、変異オーロラキナーゼである。一実施形態では、化合物７の投与によって、アポトーシスのような機構による細胞死を誘導する。別の実施形態では、化合物７の投与によって、多倍体化、オートファジー、細胞周期の停止またはアポトーシス以外の他の細胞死形態を誘導する。一実施形態では、化合物７は、野生型ＢＴＫ及び／または変異ＢＴＫの活性または発現を阻害及び／または低減する。変異ＢＴＫは、少なくとも１つの点変異を、例えばシステイン残基（例えばＣ４８１残基）に含む。

【００３０】
いくつかの実施形態では、化合物７は、対象の野生型フムス関連チロシンキナーゼ３（ＦＬＴ３）の活性または発現を阻害及び／または低減する。別の実施形態では、化合物７は、対象の変異型フムス関連チロシンキナーゼ３（ＦＬＴ３）の活性または発現を阻害及び／または低減する。変異ＦＬＴ３は、少なくとも１つの点変異を含み得る。例えば、少なくとも１つの点変異は、Ｄ８３５、Ｆ６９１、Ｋ６６３、Ｙ８４２及びＮ８４１からなる群から選択される１つ以上の残基の変異である。変異ＦＬＴ３は、１つまたは２つの対立遺伝子に追加のＩＴＤ変異を有し得る。
【００３１】
一実施形態では、本開示は、ヒト細胞における異常な（例えば、過剰発現した）野生型ＢＴＫまたは変異ＢＴＫの活性または発現の阻害または低減方法であって、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩をそのヒト細胞と接触させることを含む方法を提供する。変異ＢＴＫは、少なくとも１つの点変異を含み得る。一実施形態では、少なくとも１つの点変異は、システイン残基の変異である。一実施形態では、システイン残基は、ＢＴＫのキナーゼドメインにある。少なくとも１つの点変異は、Ｅ４１残基、Ｐ１９０残基及びＣ４８１残基からなる群から選択される１つ以上の点変異である。一実施形態では、システイン４８１残基の点変異は、Ｃ４８１Ｓ、Ｃ４８１Ｒ、Ｃ４８１Ｔ及び／またはＣ４８１Ｙから選択される。
【００３２】
当然のことながら、上記の概念と、下記でさらに詳細に論じられている追加の概念（ただし、それらの概念は、相互に矛盾しないものとする）を組み合わせたものはいずれも、本明細書に開示されている本発明の主題の一部として企図されている。特に、本開示の最後に示されている、請求対象の主題を組み合わせたものはいずれも、本明細書に開示されている本発明の主題の一部として企図されている。また、当然のことながら、本明細書で明示的に用いられている用語であって、参照により援用されているいずれかの開示でも見られ得る用語には、本明細書に開示されている特定的な概念と最も整合する意味を付与するものとする。
【図面の簡単な説明】
【００３３】
【図１】化合物７が、キザルチニブと類似した様式で、かつイブルチニブとは対照的な様式で、ＭＶ４－１１細胞においてＦＬＴ３経路を阻害することを示すウエスタンブロット像である。
【図２】化合物７が、ＭＶ４－１１細胞において、０．５ｎＭ、５．０ｎＭ及び５０ｎＭの処理量でＢＴＫ経路を阻害し、その結果が、イブルチニブで処理した場合の観察結果と一致していることを示すウエスタンブロット像である。
【図３】化合物７が、ＥＯＬ－１細胞において、０．５ｎＭ、５．０ｎＭ及び５０ｎＭの処理量でＢＴＫ経路を阻害し、その結果が、イブルチニブで処理した場合の観察結果と一致していることを示すウエスタンブロット像である。
【図４－１】用量応答曲線と、対応するＩＣ$_{50}$値の形で、ＦＬＴ３－ＩＴＤ細胞（ＭＶ４１１及びＭＯＬＭ－１３）とＦＬＴ３－ＷＴ細胞（ＮＯＭＯ－１及びＫＧ－１）に対する化合物７、イブルチニブ及びキザルチニブの細胞毒性作用の比較を示す。
【図４－２】同上。
【図５】様々な用量で、複数の投与経路によって（ＩＶ、経口用懸濁剤または経口用カプセル剤のいずれかによって）与えた、ラットでの化合物７の平均血漿中濃度の薬物動態データを示す。
【図６】いくつかの異なる用量で、２２日の期間にわたって投与した化合物７の効力を、同じ期間にわたって単一投与量で与えた対照及びイブルチニブと比較したマウス異種移植モデル試験を表す。対照またはイブルチニブによる処置と比べて、化合物７が、用量の多いほど、腫瘍体積を縮小させることを示す。
【図７－１】化合物７、イブルチニブ及びキザルチニブによって０．５ｎＭ、５．０ｎＭ

及び５０ｎＭで処理した場合の初期アポトーシス細胞、全アポトーシス細胞及び生細胞を示す。
【図７－２】同上。
【図８】イブルチニブ及びキザルチニブで処理した場合と比べて、化合物７が、ＭＶ４－１１細胞においてアポトーシスを誘導することを示しているウエスタンブロット像（上）とアネキシンＶアッセイ図（下）である。
【図９】ＨＥＫ２９３Ｔトランスフェクション細胞において、化合物７によって、様々な酵素のリン酸化形態が低減したことを示すウエスタンブロット像である。ＢＴＫの野生型とＣ４８１Ｓ変異型がいずれも、０．５μＭと１．０μＭの両方の濃度の化合物７によって阻害される。
【図１０】化合物７がＢＴＫを阻害することを示すウエスタンブロット像を示す。１時間時点と２４時間時点を示す。
【図１１－１】様々な細胞株に対する化合物７とイブルチニブの用量応答曲線を示す。
【図１１－２】同上。
【図１２】化合物７が、Ｂ細胞悪性腫瘍細胞株のＭｉｎｏとＲａｍｏｓにおいて、細胞アポトーシスを誘導することを示す。
【図１３】化合物７が、非常に強力なオーロラキナーゼ阻害剤であることを示す。細胞株は、上から下に向かって、Ｍｉｎｏ、Ｒａｍｏｓ、ＳＵ－ＤＨＬ６である。
【図１４－１】化合物７が、Ｂ細胞悪性腫瘍細胞株のＭｉｎｏとＲａｍｏｓにおいて、多倍体化を誘導することを示す。縦の線によって、正常なＤＮＡ量の細胞と多倍体を分けている。縦の線の左側では、細胞は、正常なＤＮＡ量（≦４Ｎ）を含み、Ｇ０／Ｇ１期、Ｓ期またはＧ２／Ｍ期の細胞周期にある。縦の線の右側では、細胞は、Ｍ期を経ずに、より多いＤＮＡ量（＞４Ｎ）を蓄積したことから、多倍体化が示唆される。
【図１４－２】同上。
【図１５】様々な造血細胞株における化合物７の細胞毒性の用量応答曲線を示す。
【図１６－１】様々なＦＬＴ３変異体（示されている）をトランスフェクションしたアイソジェニックなＢａ／Ｆ３細胞に対する化合物７、キザルチニブ、ギルテリチニブ及びクレノラニブの用量応答曲線を示している。
【図１６－２】同上。
【図１６－３】同上。
【図１７－１】化合物７が、時間依存的に、ＭＶ４－１１細胞においてアポトーシスを誘導することを示す。Ａは、ＭＶ４－１１細胞のみのアネキシンＶアッセイを表す。Ｂは、Ｂは、ビヒクルで処理した１時間時点のＭＶ４－１１細胞のアネキシンＶアッセイを表す。Ｃは、ビヒクルで処理した３時間時点のＭＶ４－１１細胞のアネキシンＶアッセイを表す。Ｄは、ビヒクルで処理したＭＶ４－１１細胞の６時間時点のアネキシンＶアッセイを表す。Ｄは、ビヒクルで処理したＭＶ４－１１細胞の２４時間時点のアネキシンＶアッセイを表す。Ｆは、化合物７で処理したＭＶ４－１１細胞の１時間時点のアネキシンＶアッセイを表す。Ｇは、化合物７で処理したＭＶ４－１１細胞の３時間時点のアネキシンＶアッセイを表す。Ｈは、化合物７で処理したＭＶ４－１１細胞の６時間時点のアネキシンＶアッセイを表す。Ｉは、化合物７で処理したＭＶ４－１１細胞の２４時間時点のアネキシンＶアッセイを表す。Ｊは、後期アポトーシス、初期アポトーシスまたは生存状態の細胞の割合（％）のプロットを表す（ＣＧ＝化合物７）。
【図１７－２】同上。
【図１７－３】同上。
【図１７－４】同上。
【図１７－５】同上。
【図１７－６】同上。
【図１７－７】同上。
【図１７－８】同上。
【図１７－９】同上。

【図１７－１０】同上。
【図１８－１】化合物７が、ＭＶ４１１細胞において、用量依存的に、Ｇ０／Ｇ１細胞周期の停止を誘導することを示す。Ａは、様々な濃度におけるＧ０／Ｇ１状態、Ｓ状態またはＧ２／Ｍ状態のいずれかのＭＶ４－１１細胞の割合（％）のグラフ図である。Ｂは、フローサイトグラムを示しており、ｙ軸は、５－エチニル－２’－デオキシウリジン（ＥｄＵ）の蛍光を表し、ｘ軸は、プロピジウムアイオダイド染色細胞を表す。
【図１８－２】同上。
【図１９－１】化合物７が、ＭＯＬＭ－１３細胞において、用量依存的に、Ｇ０／Ｇ１細胞周期の停止を誘導することを示す。縦の線によって、正常なＤＮＡ量の細胞と、多倍体が分けられている。縦の線の左側では、細胞は、正常なＤＮＡ量（≦４Ｎ）を含み、細胞周期のＧ０／Ｇ１相、Ｓ相またはＧ２／Ｍ相にある。縦の線の右側では、細胞は、Ｍ期を経ずに、より多いＤＮＡ量（＞４Ｎ）を蓄積したことから、多倍体化が示唆される。
【図１９－２】同上。
【図１９－３】同上。
【図１９－４】同上。
【図１９－５】同上。
【図１９－６】同上。
【図２０－１】Ａは、フローサイトグラムを示し、ｙ軸は、５－エチニル－２’－デオキシウリジン（ＥｄＵ）の蛍光を表し、ｘ軸は、プロピジウムアイオダイド染色細胞を表す。Ｂは、化合物７が、様々な造血細胞株において、多倍体化を誘導することを示す（図２０）。縦の線によって、正常なＤＮＡ量の細胞と、多倍体が分けられている。縦の線の左側では、細胞は、正常なＤＮＡ量（≦４Ｎ）を含み、細胞周期のＧ０／Ｇ１相、Ｓ相またはＧ２／Ｍ相にある。縦の線の右側では、細胞は、Ｍ期を経ずに、より多いＤＮＡ量（＞４Ｎ）を蓄積したことから、多倍体化が示唆される。
【図２０－２】同上。
【図２０－３】同上。
【図２０－４】同上。
【図２０－５】同上。
【図２０－６】同上。
【図２０－７】同上。
【図２０－８】同上。
【図２１－１】化合物７が、ＫＧ－１細胞において、用量依存的に細胞周期調節異常を誘導することが見いだされたことを示す。縦の線によって、正常なＤＮＡ量の細胞と、多倍体が分けられている。縦の線の左側では、細胞は、正常なＤＮＡ量（≦４Ｎ）を含み、細胞周期のＧ０／Ｇ１相、Ｓ相またはＧ２／Ｍ相にある。縦の線の右側では、細胞は、Ｍ期を経ずに、より多いＤＮＡ量（＞４Ｎ）を蓄積したことから、多倍体化が示唆される。
【図２１－２】同上。
【図２１－３】同上。
【図２１－４】同上。
【図２１－５】同上。
【図２１－６】同上。
【図２２－１】化合物７が、ＮＯＭＯ－１細胞において、用量依存的に細胞周期調節異常を誘導することが見いだされたことを示す。縦の線によって、正常なＤＮＡ量の細胞と、多倍体が分けられている。縦の線の左側では、細胞は、正常なＤＮＡ量（≦４Ｎ）を含み、細胞周期のＧ０／Ｇ１相、Ｓ相またはＧ２／Ｍ相にある。縦の線の右側では、細胞は、Ｍ期を経ずに、より多いＤＮＡ量（＞４Ｎ）を蓄積したことから、多倍体化が示唆される。
【図２２－２】同上。
【図２２－３】同上。
【図２２－４】同上。
【図２２－５】同上。

【図２２－６】同上。
【図２３－１】化合物７が、ＦＬＴ３の様々な変異（示されている変異）を有するアイソジェニックなＢＡ／Ｆ３細胞において、用量依存的に細胞周期調節異常を誘導することが見いだされたことを示す。
【図２３－２】同上。
【図２３－３】同上。
【図２３－４】同上。
【図２３－５】同上。
【図２３－６】同上。
【図２３－７】同上。
【図２３－８】同上。
【図２３－９】同上。
【図２３－１０】同上。
【図２３－１１】同上。
【図２３－１２】同上。
【図２３－１３】同上。
【図２４】ウエスタンブロット図に示されているように、化合物７が、オーロラキナーゼ阻害剤ＡＴ９２８と比べて、ＭＶ４－１１細胞において、オーロラキナーゼの活性とシグナル伝達を阻害することを示す。
【図２５】示されているウエスタンブロット図を通じて、化合物７が、イブルチニブ及びキザルチニブと比べて、ＦＬＴ－３ＷＴ細胞（ＫＧ－１）において、オーロラキナーゼの活性（Ａ）、及びシグナル伝達（Ｂ）を阻害することを示す。
【図２６】化合物７が、ＥＯＬ－１細胞において、ＰＤＧＦＲＡとＦＬＴ３（ＷＴ）のシグナル伝達を阻害することを示す。
【図２７】化合物７が、ＲＡＭＯＳ細胞において、細胞周期の進行を妨げることを示す。縦の線によって、正常なＤＮＡ量の細胞と、多倍体が分けられている。縦の線の左側では、細胞は、正常なＤＮＡ量（≦４Ｎ）を含み、細胞周期のＧ０／Ｇ１相、Ｓ相またはＧ２／Ｍ相にある。縦の線の右側では、細胞は、Ｍ期を経ずに、より多いＤＮＡ量（＞４Ｎ）を蓄積したことから、多倍体化が示唆される。
【図２８－１】化合物７が、Ｍｉｎｏ細胞、ＲＡＭＯＳ細胞、ＧＲＡＮＴＡ－５１９細胞及びＳＵ－ＤＨＬ－６細胞において、細胞周期の進行を妨げることを示す。縦の線によって、正常なＤＮＡ量の細胞と、多倍体が分けられている。縦の線の左側では、細胞は、正常なＤＮＡ量（≦４Ｎ）を含み、細胞周期のＧ０／Ｇ１相、Ｓ相またはＧ２／Ｍ相にある。縦の線の右側では、細胞は、Ｍ期を経ずに、より多いＤＮＡ量（＞４Ｎ）を蓄積したことから、多倍体化が示唆される。
【図２８－２】同上。
【図２８－３】同上。
【図２８－４】同上。
【図２９】化合物７が、イブルチニブと比べて、Ｒａｍｏｓ細胞において、ＢＴＫとオーロラキナーゼの活性を阻害することを示す。
【図３０－１】化合物７が、イブルチニブと比べて、Ｒａｍｏｓ細胞において、ＢＣＲのシグナル伝達に影響を及ぼすことを示す。
【図３０－２】同上。
【図３１】化合物７が、高血清濃度で高い活性を保持することを示す。
【発明を実施するための形態】
【００３４】
本開示は、一実施形態では、フムス関連チロシンキナーゼ（ＦＬＴ３）の異常な活性化によって起こる血液がんのようながんの治療のために、２，３－ジヒドロ－イソインドール－１－オンという化合物、またはその製薬学的に許容可能な塩、エステル、プロドラッグ、水和物、溶媒和物及び異性体によって、このキナーゼの野生型または変異型を阻害ま

たは低減する方法を提供する。さらに、ＢＴＫ、特に変異ＢＴＫ（例えば、Ｃ４８１Ｓ　ＢＴＫ）と関連するＢ細胞悪性腫瘍の治療に関する上記の課題に鑑み、化合物７が、驚くべきことに、Ｂ細胞悪性腫瘍細胞株（その多くは、従来の治療剤（例えばイブルチニブ）では、ほとんどまたはまったく効果が得られない）に対する細胞毒性を有することを発見した。化合物７の作用機序は、他の従来の治療剤（例えばイブルチニブ）とは異なり、ＢＴＫとの非共有結合性相互作用によるものと考えられ、この相互作用は、ＢＴＫタンパク質に対する耐性を阻止するのに関与する手段となる。したがって、本開示は、一実施形態では、異常な（例えば、過剰発現した）野生型ＢＴＫまたは変異ＢＴＫの活性または発現を阻害または低減することを、それを必要とする対象において行う方法であって、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含む方法を提供する。さらに、化合物７は、イブルチニブが作用しないＢ細胞悪性腫瘍で働く追加のキナーゼ（ＡＵＲＫ、ｃ－Ｓｒｃ及びその他のキナーゼ）を阻害する。

【００３５】

定義

本明細書で用いられている用語は、特定の実施形態を説明するためのものに過ぎず、限定するようには意図されていないことを理解されたい。

【００３６】

別段の定義のない限り、本明細書で用いられているすべての技術的用語と科学的用語は、本願が属する分野の当業者によって一般に理解される意味と同じ意味を有する。本明細書に記載されているものと同様又は同等のいずれの方法及び材料も、本願の実施又は試験の際に使用できるが、本明細書には、代表的な方法及び材料が記載されている。

【００３７】

本明細書を通じて、「一実施形態」または「実施形態」という場合には、その実施形態との関連で記載されている特定の特徴、構造または特性が、少なくとも１つの実施形態に含まれることを意味する。したがって、本明細書を通じて、様々な位置に、「一実施形態では」または「実施形態では」という表現が見られるのは、必ずしもすべて同じ実施形態について言及しているわけではない。さらに、特定の特徴、構造または特性は、１つ以上の実施形態において、いずれかの好適な形で組み合わせることができる。また、本明細書と添付の請求項で使用する場合、「ａ」、「ａｎ」及び「ｔｈｅ」という単数形には、文脈上明らかに別段に解される場合を除き、複数の言及物が含まれる。「または」という用語は概して、文脈上明らかに別段に解される場合を除き、「及び／または」を含め、「または」の意味で用いられていることにも留意されたい。

【００３８】

別段に示されていない限り、本明細書及び請求項で用いられている、成分の量、反応条件などを表す数値はすべて、いずれの場合も、「約」という用語によって修飾されているものとして理解されたい。したがって、特に反対の記載がない限り、本明細書と添付の請求項に示されている数値パラメーターは、本願によって得ようとしている所望の特性に応じて変動し得る近似値である。

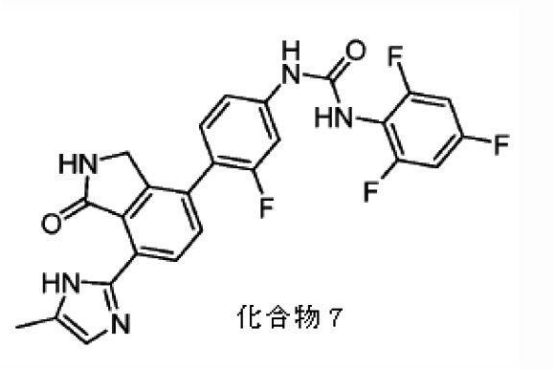
【００３９】

本明細書を通じて、ある特定の量に関して、数値範囲が示されている。これらの範囲には、その範囲内のすべての小範囲が含まれることを理解されたい。したがって、「５０～８０」という範囲には、その範囲内のすべての考え得る範囲（例えば、５１～７９、５２～７８、５３～７７、５４～７６、５５～７５、６０～７０など）が含まれる。さらに、所定の範囲内のすべての値は、その範囲に含まれる範囲の始点値または終点値となり得る（例えば、５０～８０という範囲には、５５～８０、５０～７５などのような始点値または終点値の範囲が含まれる）。

【００４０】

化合物７は、１－｛３－フルオロ－４－［７－（５－メチル－１Ｈ－イミダゾール－２－イル）－１－オキソ－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－イソインドール－４－イル］－フェニル｝－３－（２，４，６－トリフルオロフェニル）尿素を指し、下記の構造を有する。

【化２】



化合物７

【００４１】
本発明は、化合物７の製薬学的に許容可能な塩、エステル、プロドラッグ、水和物、溶媒和物及び異性体も含む。

【００４２】
「製薬学的に許容可能な塩」には、酸付加塩と塩基付加塩の両方が含まれる。

【００４３】
化合物７の製薬学的に許容可能な塩は、無機酸または有機酸から誘導した「製薬学的に許容可能な酸付加塩」であってよく、そのような塩は、アニオンを含む製薬学的に許容可能な非毒性の酸付加塩であり得る。例えば、塩としては、塩酸、硫酸、硝酸、リン酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸などのような無機酸と、酒石酸、ギ酸、クエン酸、酢酸、トリクロロ酢酸、トリフルオロ酢酸、グルコン酸、安息香酸、乳酸、フマル酸、マレイン酸などのような有機カルボン酸と、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、ｐ－トルエンスルホン酸、ナフタレンスルホン酸などのようなスルホン酸によって形成される酸付加塩を挙げることができる。

【００４４】
化合物７の製薬学的に許容可能な塩は、当該技術分野において周知の従来の方法によって調製してよい。具体的には、本発明による「製薬学的に許容可能な塩」は、例えば、アセトン、メタノール、エタノールまたはアセトニトリルなどのような水混和性有機溶媒に化合物７を溶解し、その溶解液に過剰な量の有機酸または無機酸の水溶液を加え、そのようにして得た混合物を沈殿または結晶化することによって調製してよい。さらに、「製薬学的に許容可能な塩」は、その生成物からその溶媒または過剰な酸をさらに蒸発させてから、その混合物を乾燥するか、または例えば吸引フィルターを用いることによって、その抽出物をろ過することによって調製してよい。

【００４５】
「エステル」という用語は、本明細書で使用する場合、－（Ｒ）$_n$－ＣＯＯＲ’という化学構造を有する化学構造部分を指し、別段に示されていない限り、その式中、ＲとＲ’はそれぞれ独立して、アルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール（芳香族環によって酸素原子に連結されている）及びヘテロ脂環（芳香族環によって連結されている）からなる群から選択されており、ｎは、０または１である。

【００４６】
「プロドラッグ」という用語は、本明細書で使用する場合、インビボで代謝活性化して、親薬物を生成させる前駆体化合物を指す。プロドラッグは有用である場合が多い。それは、場合によっては、その親薬物よりも容易に投与できるからである。例えば、いくつかのプロドラッグは、バイオアベイラビリティが低いことの多いその親薬物とは異なり、経口投与によって生体内で利用可能となる。さらに、プロドラッグは、その親薬物よりも、医薬組成物における溶解性が改善していることがある。例えば、化合物７は、薬物送達効率を向上させるために、エステルプロドラッグの形態で投与してよい。それは、薬物の溶解性は、細胞膜透過性に悪影響を及ぼし得るからである。そして、エステルプロドラッグ

形態の化合物は、標的細胞内に入ると、カルボン酸と活性体に代謝的に加水分解し得る。
【００４７】
化合物７の水和物または溶媒和物は、本発明の範囲に含まれる。本明細書で使用する場合、「溶媒和物」とは、溶媒和（溶媒分子と、本発明の活性剤の分子もしくはイオンとの組み合わせ）によって形成される複合体、または１つ以上の溶媒分子とともに、溶質イオンもしくは分子（本発明の活性剤）からなる凝集体を意味する。その溶媒は、水であることができ、この場合には、溶媒和物は、水和物であることができる。水和物の例としては、半水和物、一水和物、二水和物、三水和物、六水和物などが挙げられるが、これらに限らない。本開示の化合物の製薬学的に許容可能な塩は、溶媒和物形態でも存在し得ることを当業者は理解するはずである。溶媒和物は典型的には、水和によって形成され、水和は、本開示の化合物の調製の一部であるか、または本発明の無水化合物に自然に水分が吸収されることによる。水和物を含む溶媒和物は、化学量論比で、例えば、溶媒和物分子または水和物分子１つ当たりに２つ、３つ、４つの塩分子で存在し得る。別の可能性としては、例えば、３つ、５つ、７つの溶媒分子または水和物分子に対して、２つの塩分子が化学量論的である。アルコール（特にメタノール及びエタノール）、アルデヒド、ケトン（特にアセトン）、エステル（例えばエチルアセテート）のような、結晶化で用いる溶媒、特に製薬学的に許容可能な溶媒を、結晶格子に組み込むことができる。
【００４８】
本開示の化合物またはその製薬学的に許容可能な塩は、アトロプ異性体化が可能なように、１つ以上のキラリティー軸を含むことができる。アトロプ異性体は、単結合の回転障害に起因する立体異性体であり、立体ひずみまたは他の寄与因子によるエネルギー差によって、個々の配座異性体を単離可能にするほど充分に高い回転障壁が生じる。本開示には、本明細書に具体的に示されているか否かにかかわらず、このような考え得るすべての異性体と、それらのラセミ体及び光学的に純粋な形態が含まれるように意図されている。光活性異性体は、キラルシントンもしくはキラル試薬を用いて調製するか、または従来の技法、例えば、クロマトグラフィー及び分別結晶化を用いて分割することができる。個々のアトロプ異性体を調製／単離するための従来の技法としては、好適な光学的に純粋な前駆体からのキラル合成、あるいは例えばキラル高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）を用いた、ラセミ化合物（または塩もしくは誘導体のラセミ化合物）の分割が挙げられる。
【００４９】
「立体異性体」とは、同じ結合によって結合されている同じ原子で構成されているが、互換性のない異なる３次元構造を有する化合物を指す。本発明では、アトロプ異性に関連する場合、その様々な立体異性体と、その混合物が企図されている。
【００５０】
本明細書で使用する場合、タンパク質キナーゼの異常な活性化には、疾患、障害または状態を引き起こす通常から逸脱したキナーゼ挙動、異常なキナーゼ挙動、非定型的なキナーゼ挙動、変則的なキナーゼ挙動または不均整なキナーゼ挙動が含まれるように意図されている。前記疾患、障害及び状態としては、がん、関節リウマチ及び変形性関節症と関連する炎症、ぜんそく、アレルギー、アトピー性皮膚炎または乾癬を挙げられ得るが、これらに限らない。がんの場合には、疾患、障害及び状態は、無制御の細胞増殖によって特徴付けることができる。
【００５１】
タンパク質キナーゼの異常な活性化を原因とするがんの具体例としては、ＡＢＬ（アベルソンチロシンキナーゼ）、ＡＣＫ（活性化ｃｄｃ４２関連キナーゼ）、ＡＸＬ、オーロラ、ＢＬＫ（Ｂリンパ腫チロシンキナーゼ）、ＲＭＸ（骨髄Ｘ連鎖キナーゼ）、ＢＴＫ（ブルトンチロシンキナーゼ）、ＣＤＫ（サイクリン依存性キナーゼ）、ＣＳＫ（Ｃ－Ｓｒｃキナーゼ）、ＤＤＲ（ジスコイジンドメイン受容体）、ＥＰＨＡ（Ａ型エフリン受容体キナーゼ）、ＦＥＲ（Ｆｅｒ（ｆｐｓ／ｆｅｓ関連）チロシンキナーゼ）、ＦＥＳ（猫肉腫がん遺伝子）、ＦＧＦＲ（線維芽細胞増殖因子受容体）、ＦＧＲ、ＦＬＴ（フムス様チロシンキナーゼ）、ＦＲＫ（Ｆｙｎ関連キナーゼ）、ＦＹＮ、ＨＣＫ（造血細胞キナーゼ

）、ＩＲＲ（インスリン受容体関連受容体）、ＩＴＫ（インターロイキン２誘導性Ｔ細胞キナーゼ）、ＪＡＫ（ヤヌスキナーゼ）、ＫＤＲ（キナーゼ挿入ドメイン受容体）、ＫＩＴ、ＬＣＫ（リンパ球特異的タンパク質チロシンキナーゼ）、ＬＹＮ、ＭＡＰＫ（マイトジェン活性化タンパク質キナーゼ）、ＭＥＲ（ｃ－Ｍｅｒがん原遺伝子チロシンキナーゼ）、ＭＥＴ、ＭＩＮＫ（Ｍｉｓｓｈａｐｅｎ様キナーゼ）、ＭＮＫ（ＭＡＰＫ相互作用キナーゼ）、ＭＳＴ（Ｍａｍｍａｌｉａｎ　ｓｔｅｒｉｌｅ　２０様キナーゼ）、ＭＵＳＫ（筋特異的キナーゼ）、ＰＤＧＦＲ（血小板由来成長因子受容体）、ＰＬＫ（Ｐｏｌｏ様キナーゼ）、ＲＥＴ（トランスフェクション中の再構成）、ＲＯＮ、ＳＲＣ（ステロイド受容体コアクチベーター）、ＳＲＭ（スペルミジン合成酵素）、ＴＩＥ（免疫グロブリン及びＥＧＦリピートを有するチロシンキナーゼ）、ＳＹＫ（脾臓チロシンキナーゼ）、ＴＮＫｌ（非受容体型チロシンキナーゼ１）、ＴＲＫ（トロポミオシン受容体キナーゼ）、ＴＮＩＫ（ＴＲＡＦ２及びＮＣＫ相互作用キナーゼ）などが挙げられるが、これらに限らない。

【００５２】

特定の疾患または障害に関する、「治療する」、「治療すること」または「治療」という用語には、疾患もしくは障害の予防、及び／または疾患もしくは障害の症状及び／または病状の抑制、改良、改善または阻止が含まれる。概して、これらの用語は、本明細書で使用する場合、疾患または状態の症状の改善、緩和、抑制及び除去を指す。本発明の化合物７は、製剤または医薬中に、治療有効量で含まれてよく、その量は、特定の細胞（例えば、がん細胞）のアポトーシスのような生体作用、特定の細胞の増殖の低下をもたらすか、または例えば、疾患もしくは状態の症状の改善、緩和、抑制もしくは除去をもたらすことができる量である。これらの用語は、細胞増殖速度の低下もしくは停止（例えば、腫瘍増殖の減速もしくは停止）、または増殖がん細胞の数の減少（例えば、腫瘍の一部もしくは全部の除去）も指すことができる。

【００５３】

上記のような治療が、疾患、障害または状態の予防を指すときには、前記治療は、予防的治療という。前記予防剤の投与は、増殖性障害に特徴的な症状の発現前に行って、疾患または障害を予防するか、あるいは、その進行を遅延するようにできる。

【００５４】

本明細書で使用する場合、細胞増殖の「阻害」または「低下」という用語は、当業者に知られている方法を用いて測定した場合に、本願の方法、組成物及びこれらを組み合わせたものに供していない増殖細胞と比べて、細胞増殖量を、例えば１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％または１００％遅延、減少または例えば停止することを意味する。

【００５５】

本明細書で使用する場合、「アポトーシス」という用語は、内因性の細胞自壊または自滅プログラムを指す。誘導刺激に応答して、細胞は、細胞収縮、細胞膜のブレッビング、ならびにクロマチンの凝縮及び断片化を含む一連のイベントを起こす。これらのイベントの結果、膜結合性粒子の塊（アポトーシス小体）への細胞転換が起こり、これらの塊は、その後、マクロファージによって取り込まれる。

【００５６】

本明細書で使用する場合、「多倍体化」または「多倍体」とは、細胞が、基本数（「ｎ」）の数倍であって、通常の２倍数よりも多い（「２ｎ」）多くの染色体を有する状態を指す。「多倍体細胞」または「多倍体化細胞」という用語は、多倍体化状態の細胞を指す。換言すると、多倍体細胞または多倍体生物は、３倍以上の半数染色体数を有する。ヒトでは、通常の半数染色体数は２３であり、通常の染色体の二倍体での数は４６である。

【００５７】

「哺乳動物」には、ヒトと、実験動物及び家庭のペット（例えば、ネコ、イヌ、ブタ、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、ウサギ）のような家畜と、野生動物のような家畜以外の動物などが含まれる。「患者」または「対象」という用語には、本明細書で使用する場合、ヒ

トと動物が含まれる。
【００５８】
「哺乳動物以外の動物」には、哺乳動物以外の無脊椎動物と、トリ（例えば、ニワトリもしくはカモ）または魚のような哺乳動物以外の脊椎動物が含まれる。
【００５９】
「医薬組成物」とは、本開示の化合物と、当該技術分野において一般に認められている媒体との製剤であって、生物活性化合物を哺乳動物、例えばヒトに送達するための製剤を指す。このような媒体には、その製剤用のあらゆる製薬学的に許容可能な担体、希釈剤または賦形剤が含まれる。
【００６０】
「有効量」とは、治療有効量または予防有効量を指す。「治療有効量」とは、腫瘍サイズの縮小、寿命の延長または平均余命の延長のような所望の治療成果を得るために、必要な投与量及び期間で有効である量を指す。化合物の治療有効量は、対象の疾患の状態、年齢、性別及び体重、ならびに、化合物が対象において所望の応答を誘導する能力のような要因に従って変動し得る。投与レジメンを調節して、最適な治療応答をもたらすことができる。治療有効量は、化合物のいずれの毒性作用または有害作用よりも、治療上有益な作用が上回る量でもある。「予防有効量」とは、腫瘍の縮小または細胞増殖の減速のような所望の予防成果を得るために、必要な投与量かつ期間での有効な量を指す。典型的には、予防的用量は、対象において、疾患の発症前または疾患の初期に使用するものであり、その結果、予防有効量は、治療有効量よりも少なくなり得る。
【００６１】
「ブルトンチロシンキナーゼ」またはＢＴＫという用語は、本明細書で使用する場合、例えば米国特許第６，３２６，４６９号（ＧｅｎＢａｎｋ　Ａｃｃｅｓｓｉｏｎ　Ｎｏ．ＮＰ０００００５２）に開示されているように、ホモサピエンス由来のブルトンチロシンキナーゼを指す。
【００６２】
「共有結合性ＢＴＫ阻害剤」という用語は、本明細書で使用する場合、ＢＴＫと反応して、共有結合複合体を形成する阻害剤を指す。いくつかの実施形態では、共有結合性ＢＴＫ阻害剤は、不可逆性ＢＴＫ阻害剤である。
【００６３】
「非共有結合性ＢＴＫ阻害剤」という用語は、本明細書で使用する場合、ＢＴＫと反応して、非共有結合複合体または相互作用を形成する阻害剤を指す。いくつかの実施形態では、非共有結合性ＢＴＫ阻害剤は、可逆性ＢＴＫ阻害剤である。
【００６４】
方法
いくつかの実施形態では、本開示は、対象の野生型または変異型フムス関連チロシンキナーゼ３（ＦＬＴ３）の活性または発現の阻害または低減方法であって、それを必要とする対象に、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含む方法を提供する。一実施形態では、方法は、化合物７の投与によって、ＦＬＴ３の活性または発現を阻害または低減することを、それを必要とする対象において行う。
【００６５】
フムス関連チロシンキナーゼ３（ＦＬＴ３）とは、ＦＬＴ３遺伝子によってコードされるタンパク質を指す。野生型ＦＬＴ３とは、非変異型のタンパク質を指す。ＦＬＴ３は、膜近傍領域における活性化遺伝子内縦列重複（ＩＴＤ）と、ＦＬＴ３のチロシンキナーゼドメインまたは活性化ループにおける点変異を含む一連の変異を起こすことがある。点変異は、ＤＮＡ配列内の１つの塩基対が修飾されると起こる。例えば、Ｆ６９１Ｌとは、６９１位のアミノ酸のフェニルアラニンからロイシンへの変化を定義するように意図されている。
【００６６】
一実施形態では、変異ＦＬＴ３は、追加のＩＴＤ変異を有する。一実施形態では、ＩＴ

Ｄ変異は、ＡＭＬのようなＦＴＤ誘導性血液がんのきわめて不良な予後と関連している。
【００６７】
本明細書に開示されているいずれかの方法の別の実施形態では、変異ＦＬＴ３は、少なくとも１つの点変異を含む。別の実施形態では、少なくとも１つの点変異は、６８６位、６８７位、６８８位、６８９位、６９０位、６９１位、６９２位、６９３位、６９４位、６９５位及び６９６位からなる群から選択される１つ以上の位置のアミノ酸残基の変異である。別の実施形態では、変異ＦＬＴ３は、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｈ、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｖ、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｙ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｖ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｙ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｈ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｆ６９１Ｌ、ＦＬＴ３－Ｋ６６３Ｑ、ＦＬＴ３－Ｎ８４１Ｉ、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｇ、ＦＬＴ３－Ｙ８４２Ｃ及びＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｙ８４２Ｃからなる群から選択される１つ以上の変異を有する。別の実施形態では、当該少なくとも１つの点変異は、同じ対立遺伝子または異なる対立遺伝子にある２つ以上の点変異である。
【００６８】
本明細書に開示されているいずれかの方法の一実施形態では、少なくとも１つの点変異は、６８６位のアミノ酸残基の変異である。一実施形態では、少なくとも１つの点変異は、６８７位のアミノ酸残基の変異である。一実施形態では、少なくとも１つの点変異は、６８８位のアミノ酸残基の変異である。一実施形態では、少なくとも１つの点変異は、６８９位のアミノ酸残基の変異である。一実施形態では、少なくとも１つの点変異は、６９０位のアミノ酸残基の変異である。一実施形態では、少なくとも１つの点変異は、６９１位のアミノ酸残基の変異である。一実施形態では、少なくとも１つの点変異は、６９２位のアミノ酸残基の変異である。一実施形態では、少なくとも１つの点変異は、６９３位のアミノ酸残基の変異である。一実施形態では、少なくとも１つの点変異は、６９４位のアミノ酸残基の変異である。一実施形態では、少なくとも１つの点変異は、６９５位のアミノ酸残基の変異である。一実施形態では、少なくとも１つの点変異は、６９６位のアミノ酸残基の変異である。別の実施形態では、少なくとも１つの点変異は、６８６～６９６位のいずれかの残基に対応するアミノ残基の変異である。
【００６９】
別の実施形態では、変異ＦＬＴ３は、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｈである。別の実施形態では、変異ＦＬＴ３は、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｖである。別の実施形態では、変異ＦＬＴ３は、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｙである。別の実施形態では、変異ＦＬＴ３は、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｖである。別の実施形態では、変異ＦＬＴ３は、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｙである。別の実施形態では、変異ＦＬＴ３は、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｈである。別の実施形態では、変異ＦＬＴ３は、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｆ６９１Ｌである。別の実施形態では、変異ＦＬＴ３は、ＦＬＴ３－Ｋ６６３Ｑである。別の実施形態では、変異ＦＬＴ３は、ＦＬＴ３－Ｎ８４１Ｉである。別の実施形態では、変異ＦＬＴ３は、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｇ、ＦＬＴ３－Ｙ８４２Ｃ及び／またはＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｙ８４２Ｃである。
【００７０】
ＦＬＴ３は、がん療法の標的の１つである。ＦＬＴ３の異常な活性化と関係のある疾患、障害及び状態の例としては、ＦＬＴ３の変異による、ＦＬＴ３の過剰刺激に起因するもの、または異常に高いＦＬＴ３変異量による異常に高いＦＬＴ３活性量に起因する障害が挙げられる。いずれの理論に拘束されるものではないが、ＦＬＴ３の過剰活性は、がんを含む多くの疾患の病因に関係があるとされている。ＦＬＴ３の過剰活性と関連するがんとしては、血小板減少症、本態性血小板血症（ＥＴ）、特発性骨髄化生、骨髄線維症（ＭＦ）、骨髄化生を伴う骨髄線維症（ＭＭＭ）、慢性特発性骨髄線維症（ＵＩＭＦ）及び真性多血症（ＰＶ）、血液減少症、ならびに前がん状態の骨髄異形成症候群のような骨髄増殖性障害と、グリオーマ癌、肺癌、乳癌、結腸直腸癌、前立腺癌、胃癌、食道癌、大腸癌、膵臓癌、卵巣癌、ならびに骨髄異形成症、多発性骨髄腫、白血病及びリンパ腫を含む血液悪性腫瘍のようながんが挙げられるが、これらに限らない。
【００７１】

一実施形態では、本開示は、野生型ＦＬＴ３と関連する血液悪性腫瘍の治療方法であって、それを必要とする対象に、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含む方法を提供する。別の実施形態では、本開示は、変異ＦＬＴ３と関連する血液悪性腫瘍の治療方法であって、それを必要とする対象に、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含む方法を提供する。

【００７２】

本明細書に開示されている方法のいずれか１つの一実施形態では、血液悪性腫瘍の例としては、白血病、リンパ腫、ホジキン病及び骨髄腫が挙げられるが、これらに限らない。また、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、急性前骨髄球性白血病（ＡＰＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性好中球性白血病（ＣＮＬ）、急性未分化白血病（ＡＵＬ）、未分化大細胞型リンパ腫（ＡＬＣＬ）、前リンパ球性白血病（ＰＭＬ）、若年性骨髄単球性白血病（ＪＭＭＬ）、成人Ｔ細胞ＡＬＬ、３血球系異形成を伴うＡＭＬ（ＡＭＬＩＴＭＤＳ）、混合系統白血病（ＭＬＬ）、骨髄異形成症候群（ＭＤＳ）、骨髄増殖性障害（ＭＰＤ）及び多発性骨髄腫（ＭＭ）である。

【００７３】

一実施形態では、本開示は、野生型ＦＬＴ３または変異ＦＬＴ３と関連する白血病の治療方法であって、それを必要とする対象に、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含む方法を提供する。一実施形態では、白血病は、ＡＭＬである。

【００７４】

一実施形態では、本開示は、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩によって、ヒト細胞の野生型ＦＬＴ３または変異ＦＬＴ３の活性または発現を阻害または低減する方法を提供する。別の実施形態では、本開示は、ヒト細胞の変異ＦＬＴ３の活性または発現を、化合物７をヒト細胞と接触させることによって阻害または低減する方法を提供する。

【００７５】

一実施形態では、ヒト細胞は、ヒト白血病細胞株である。別の実施形態では、そのヒト白血病細胞株は、急性リンパ性白血病細胞株、急性骨髄性白血病細胞株、急性前骨髄球性白血病細胞株、慢性リンパ性白血病細胞株、慢性骨髄性白血病細胞株、慢性好中球性白血病細胞株、急性未分化白血病細胞株、未分化大細胞型リンパ腫細胞株、前リンパ球性白血病細胞株、若年性骨髄単球性白血病細胞株、成人Ｔ細胞急性リンパ性白血病細胞株、３血球系異形成を伴う急性骨髄性白血病細胞株、混合系統白血病細胞株、好酸球性白血病細胞株またはマントル細胞リンパ腫細胞株である。

【００７６】

特定の実施形態では、ヒト白血病細胞株は、好酸球性白血病である。別の実施形態では、ヒト白血病細胞株は、急性骨髄性白血病である。これらの血液がんのいずれも、ＦＬＴ３誘導性であることが知られている。一実施形態では、ＭＶ４－１１、ＭＵＴＺ－１１、ＭＯＬＭ－１３及びＰＬ－２１が、ＦＬＴ３－ＩＴＤ変異を有する急性骨髄性白血病細胞株である。

【００７７】

治療方法によって、ＦＬＴ３の異常なキナーゼ活性によって誘導される細胞増殖性障害を発症するリスクがあるかまたは発症しやすい対象を治療するための予防的方法と療法的方法の両方を提供する。一例では、本発明は、ＦＬＴ３に関連する細胞増殖性障害の予防方法であって、それを必要とする対象に、化合物７もしくはその製薬学的に許容可能な塩、または化合物７を含む医薬組成物を予防有効量投与することを含む方法を提供する。一実施形態では、予防的治療は、ＦＬＴ３誘導性細胞増殖性障害に特徴的な症状の発現前に行って、疾患または障害を予防するか、あるいは、その進行を遅らせるようにすることができる。

【００７８】

一実施形態では、本開示は、血液悪性腫瘍の治療を、それを必要とする対象において行う方法であって、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含み、対

象は、ＦＬＴ３の活性または発現の阻害剤に対して、耐性または再発を示す方法を提供する。一実施形態では、阻害剤は、キザルチニブ、ギルテリチニブ、スニチニブ、ソラフェニブ、ミドスタウリン、レスタウルチニブ、クレノラニブ、ＰＬＸ３３９７、ＰＬＸ３６２３、クレノラニブ、ポナチニブまたはパクリチニブである。別の実施形態では、阻害剤は、キザルチニブまたはギルテリチニブである。

【００７９】

一実施形態では、血液悪性腫瘍は、白血病である。別の実施形態では、白血病は、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、急性前骨髄球性白血病、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性好中球性白血病、急性未分化白血病、未分化大細胞型リンパ腫、前リンパ球性白血病、若年性骨髄単球性白血病、成人Ｔ細胞急性リンパ性白血病、３血球系異形成を伴う急性骨髄性白血病、混合系統白血病、好酸球性白血病またはマントル細胞リンパ腫である。特定の実施形態では、白血病は、好酸球性白血病である。別の特定の実施形態では、白血病は、急性骨髄性白血病である。

【００８０】

一実施形態では、本発明の方法は、野生型ＦＬＴ３発現細胞のアポトーシスを誘導することを、それを必要とする対象において行い、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩を対象に投与することを含む。一実施形態では、本開示は、変異ＦＬＴ３発現細胞のアポトーシスを誘導することを、それを必要とする対象において行う方法であって、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含む方法を提供する。

【００８１】

別の実施形態では、本発明の方法は、がんの治療を、それを必要とする対象において行う方法であって、対象に、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含み、対象は、ＦＬＴ３の変異型を有する。別の実施形態では、変異ＦＬＴ３は、少なくとも１つの点変異を含む。別の実施形態では、少なくとも１つの点変異は、Ｄ８３５、Ｆ６９１、Ｋ６６３、Ｙ８４２及びＮ８４１からなる群から選択される１つ以上の残基の変異である。別の実施形態では、変異ＦＬＴ３は、少なくとも１つの変異をＤ８３５に含む。別の実施形態では、変異ＦＬＴ３は、少なくとも１つの変異をＦ６９１に含む。別の実施形態では、変異ＦＬＴ３は、少なくとも１つの変異をＫ６６３に含む。別の実施形態では、変異ＦＬＴ３は、少なくとも１つの変異をＮ８４１に含む。別の実施形態では、少なくとも１つの点変異は、ＦＬＴ３のチロシンキナーゼドメインにある。別の実施形態では、少なくとも１つの点変異は、ＦＬＴ３の活性化ループにある。別の実施形態では、少なくとも１つの点変異は、６８６位、６８７位、６８８位、６８９位、６９０位、６９１位、６９２位、６９３位、６９４位、６９５位及び６９６位からなる群から選択される１つ以上の位置のアミノ酸残基の変異である。別の実施形態では、変異ＦＬＴ３は、ＩＴＤ変異である。別の実施形態では、変異ＦＬＴ３は、少なくとも１つの点変異とＩＴＤ変異を含む。別の実施形態では、変異ＦＬＴ３は、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｈ、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｖ、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｙ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｖ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｙ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｈ、ＦＬＴ３－Ｆ６９１Ｌ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｆ６９１Ｌ、ＦＬＴ３－Ｋ６６３Ｑ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｋ６６３Ｑ、ＦＬＴ３－Ｎ８４１Ｉ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｎ８４１Ｉ、ＦＬＴ３－Ｒ８３４Ｑ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－８３４Ｑ、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｇ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｇ、ＦＬＴ３－Ｙ８４２Ｃ及びＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｙ８４２Ｃからなる群から選択される１つ以上の変異を有する。別の実施形態では、少なくとも１つの点変異は、同じ対立遺伝子に存在する２つ以上の点変異である。別の実施形態では、少なくとも１つの点変異は、異なる対立遺伝子に存在する２つ以上の点変異である。別の実施形態では、対象は、哺乳動物である。別の実施形態では、対象は、ヒトである。別の実施形態では、がんは、白血病である。別の実施形態では、白血病は、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、急性前骨髄球性白血病、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性好中球性白血病、急性未分化白血病、未分化大細胞型リンパ腫、前リンパ球性白血病、若年性骨髄単球性白血病、成人Ｔ細胞急性リンパ性白血病、３血球系異形成を伴う急性骨髄性白血病、混合系統白血病、好酸球性白血病及び／また

はマントル細胞リンパ腫である。別の具体的な実施形態では、その白血病は、急性骨髄性白血病である。

【００８２】

一実施形態では、本発明は、キナーゼの活性または発現を二重に阻害または低減することを、それを必要とする対象において行うことを、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩をその対象に投与することによって行う方法を提供する。別の実施形態では、活性または発現を二重に阻害または低減する方法は、対象の変異フムス関連チロシンキナーゼ３（ＦＬＴ３）活性と、ブルトンチロシンキナーゼ（ＢＴＫ）の活性または発現の阻害または低減を組み合わせたものに対するものであり、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含む。一実施形態では、化合物７は、ＦＬＴ３（野生型ＦＬＴ３と変異ＦＬＴ３を含む）とＢＴＫの両方の活性を阻害または低減する。複数のキナーゼ経路を標的にするのは、予後不良のがんの転帰を改善できる方法である。

【００８３】

いくつかの実施形態では、本開示は、異常な（例えば、過剰発現した）野生型ＢＴＫまたは変異ＢＴＫの活性または発現を阻害または低減することを、それを必要とする対象において行う方法であって、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩をその対象に投与することを含む方法を提供する。

【００８４】

ある特定の実施形態では、そのＢＴＫは、野生型である。一実施形態では、野生型ＢＴＫは、対象において異常な状態である（例えば、過剰発現している）。別の実施形態では、野生型ＢＴＫは、対象において過活性または超活性状態である。

【００８５】

ある特定の実施形態では、そのＢＴＫは、変異ＢＴＫである。ＢＴＫ変異は、挿入変異、欠失変異及び置換変異（例えば点変異）のように、当業者には容易に明白である様々な要因を原因とし得る。一実施形態では、変異ＢＴＫは、少なくとも１つの点変異を含む。

【００８６】

様々な点変異が、本開示の範囲内に企図されている。例えば、少なくとも１つの点変異は、ＢＴＫいずれかの残基に対するものであってよい。いくつかの実施形態では、ＢＴＫ遺伝子内の変異としては、Ｌ１１位、Ｋ１２位、Ｓ１４位、Ｋ１９位、Ｆ２５位、Ｋ２７位、Ｒ２８位、Ｒ３３位、Ｙ３９位、Ｙ４０位、Ｅ４１位、Ｉ６１位、Ｖ６４位、Ｒ８２位、Ｑ１０３位、Ｖ１１３位、Ｓ１１５位、Ｔ１１７位、Ｑ１２７位、Ｃ１５４位、Ｃ１５５位、Ｔ１８４位、Ｐ１８９位、Ｐ１９０位、Ｙ２２３位、Ｗ２５１位、Ｒ２８８位、Ｌ２９５位、Ｇ３０２位、Ｒ３０７位、Ｄ３０８位、Ｖ３１９位、Ｙ３３４位、Ｌ３５８位、Ｙ３６１位、Ｈ３６２位、Ｈ３６４位、Ｎ３６５位、Ｓ３６６位、Ｌ３６９位、Ｉ３７０Ｍ位、Ｒ３７２位、Ｌ４０８位、Ｇ４１４位、Ｙ４１８位、Ｉ４２９位、Ｋ４３０位、Ｅ４４５位、Ｇ４６２位、Ｙ４７６位、Ｍ４７７位、Ｃ４８１位、Ｃ５０２位、Ｃ５０６位、Ａ５０８位、Ｍ５０９位、Ｌ５１２位、Ｌ５１８位、Ｒ５２０位、Ｄ５２１位、Ａ５２３位、Ｒ５２５位、Ｎ５２６位、Ｖ５３５位、Ｌ５４２位、Ｒ５４４位、Ｙ５５１位、Ｆ５５９位、Ｒ５６２位、Ｗ５６３位、Ｅ５６７位、５５７８位、Ｗ５８１位、Ａ５８２位、Ｆ５８３位、Ｍ５８７位、Ｅ５８９位、Ｓ５９２位、Ｇ５９４位、Ｙ５９８位、Ａ６０７位、Ｇ６１３位、Ｙ６１７位、Ｐ６１９位、Ａ６２２位、Ｖ６２６位、Ｍ６３０位、Ｃ６３３位、Ｒ６４１位、Ｆ６４４位、Ｌ６４７位、Ｌ６５２位、Ｖ１０６５位及び／またはＡ１１８５位のアミノ酸の変異が挙げられる。いくつかの実施形態では、ＢＴＫ遺伝子内の変異は、Ｌ１１Ｐ、Ｋ１２Ｒ、Ｓ１４Ｆ、Ｋ１９Ｅ、Ｆ２５Ｓ、Ｋ２７Ｒ、Ｒ２８Ｈ、Ｒ２８Ｃ、Ｒ２８Ｐ、Ｔ３３Ｐ、Ｙ３Ｓ９、Ｙ４０Ｃ、Ｙ４０Ｎ、Ｅ４１Ｋ、Ｉ６１Ｎ、Ｖ６４Ｆ、Ｖ６４Ｄ、Ｒ８２Ｋ、Ｑ１０３Ｑ５ＦＳＳＶＲ、Ｖ１１３Ｄ、Ｓ１１５Ｆ、Ｔ１１７Ｐ、Ｑ１２７Ｈ、Ｃ１５４５、Ｃ１５５Ｇ、Ｔ１８４Ｐ、Ｐ１８９Ａ、Ｙ２２３Ｆ、Ｗ２５１Ｌ、Ｒ２８８Ｗ、Ｒ２８８Ｑ、Ｌ２９５Ｐ、Ｇ３０２Ｅ、Ｒ３０７Ｋ、Ｒ３０７Ｇ、Ｒ３０７Ｔ、Ｄ３０８Ｅ、Ｖ３１９Ａ、Ｙ３３４Ｓ、Ｌ３５８Ｆ、Ｙ３６１Ｃ、Ｈ３６２Ｑ、Ｈ３６４Ｐ、Ｎ３６５Ｙ、Ｓ３６６Ｆ、Ｌ３６９Ｆ、Ｉ３７０Ｍ、Ｒ３

７２Ｇ、Ｌ４０８Ｐ、Ｇ４１４Ｒ、Ｙ４１８Ｈ、Ｉ４２９Ｎ、Ｋ４３０Ｅ、Ｅ４４５Ｄ、Ｇ４６２Ｄ、Ｇ４６２Ｖ、Ｙ４７６Ｄ、Ｍ４７７Ｒ、Ｃ４８１Ｓ、Ｃ５０２Ｆ、Ｃ５０２Ｗ、Ｃ５０６Ｙ、Ｃ５０６Ｒ、Ａ５０８Ｄ、Ｍ５０９１、Ｍ５０９Ｖ、Ｌ５１２Ｐ、Ｌ５１２Ｑ、Ｌ５１８Ｒ、Ｒ５２０Ｑ、Ｄ５２１Ｇ、Ｄ５２１Ｈ、Ｄ５２１Ｎ、Ａ５２３Ｅ、Ｒ５２５Ｇ、Ｒ５２５Ｐ、Ｒ５２５Ｑ、Ｎ５２６Ｋ、Ｖ５３５Ｆ、Ｌ５４２Ｐ、Ｒ５４４Ｇ、Ｒ５４４Ｋ、Ｙ５５１Ｆ、Ｆ５５９Ｓ、Ｒ５６２Ｗ、Ｒ５６２Ｐ、Ｗ５６３Ｌ、Ｅ５６７Ｋ、Ｓ５７８Ｙ、Ｗ５８１Ｒ、Ａ５８２Ｖ、Ｆ５８３Ｓ、Ｍ５８７Ｌ、Ｅ５８９Ｄ、Ｅ５８９Ｋ、Ｅ５８９Ｇ、Ｓ５９２Ｐ、Ｇ５９４Ｅ、Ｙ５９８Ｃ、Ａ６０７Ｄ、Ｇ６１３Ｄ、Ｙ６１７Ｅ、Ｐ６１９Ａ、Ｐ６１９Ｓ、Ａ６２２Ｐ、Ｖ６２６Ｇ、Ｍ６３０Ｉ、Ｍ６３０Ｋ、Ｍ６３０Ｔ、Ｃ６３３Ｙ、Ｒ６４１Ｃ、Ｆ６４４Ｌ、Ｆ６４４Ｓ、Ｌ６４７Ｐ、Ｌ６５２Ｐ、Ｖ１０６５１及びＡ１１８５Ｖから選択されている。一実施形態では、少なくとも１つの点変異は、システイン残基の変異である。一実施形態では、システイン残基は、ＢＴＫのキナーゼドメインにある。いくつかの実施形態では、少なくとも１つの点変異は、Ｅ４１残基、Ｐ１９０残基及びＣ４８１残基からなる群から選択される１つ以上の変異である。いくつかの実施形態では、ＢＴＫの変異は、４８１位のアミノ酸（すなわちＣ４８１）の変異である。Ｃ４８１点変異は、いずれかのアミノ酸部分で置換され得る。いくつかの実施形態では、ＢＴＫの変異は、Ｃ４８１Ｓである。一実施形態では、Ｃ４８１残基の点変異は、Ｃ４８１Ｓ、Ｃ４８１Ｒ、Ｃ４８１Ｔ及び／またはＣ４８１Ｙから選択される。一実施形態では、少なくとも１つの点変異は、Ｅ４１Ｋ、Ｐ１９０Ｋ及びＣ４８１Ｓからなる群から選択される１つ以上である。

【００８７】

いくつかの実施形態では、Ｂ細胞リンパ腫は、変異ＢＴＫポリペプチドを有する複数の細胞によって特徴付けられる。いくつかの実施形態では、変異ＢＴＫポリペプチドは、共有結合性及び／または不可逆性ＢＴＫ阻害剤による阻害に対する耐性を引き起こす１つ以上のアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、その変異ＢＴＫポリペプチドは、野生型ＢＴＫの４８１位のアミノ酸のシステインに共有結合する共有結合性及び／または不可逆性ＢＴＫ阻害剤による阻害に対する耐性を引き起こす１つ以上のアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、変異ＢＴＫポリペプチドは、ＰＣＩ－３２７６５（イブルチニブ）、ＰＣＩ－４５２９２、ＰＣＩ－４５４６６、ＡＶＬ－１０１／ＣＣ－１０１（Ａｖｉｌａ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ／Ｃｅｌｇｅｎｅ Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ）、ＡＶＬ－２６３／ＣＣ－２６３（Ａｖｉｌａ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ／Ｃｅｌｇｅｎｅ Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ）、ＡＶＬ－２９２／ＣＣ－２９２（Ａｖｉｌａ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ／Ｃｅｌｇｅｎｅ Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ）、ＡＶＬ－２９１／ＣＣ－２９１（Ａｖｉｌａ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ／Ｃｅｌｇｅｎｅ Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ）、ＣＮＸ７７４（Ａｖｉｌａ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ）、ＢＭＳ－４８８５１６（Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ Ｓｑｕｉｂｂ）、ＢＭＳ－５０９７４４（Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ Ｓｑｕｉｂｂ）、ＣＧＩ－１７４６（ＣＧＩ Ｐｈａｒｍａ／Ｇｉｌｅａｄ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）、ＣＧＩ－５６０（ＣＧＩ Ｐｈａｒｍａ／Ｇｉｌｅａｄ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）、ＣＴＡ－０５６、ＧＤＣ－０８３４（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）、ＨＹ－１１０６６（また、ＣＴＫ４Ｉ７８９１、ＨＭＳ３２６５Ｇ２１、ＨＭＳ３２６５Ｇ２２、ＨＭＳ３２６５Ｈ２１、ＨＭＳ３２６５Ｈ２２、４３９５７４－６１－５、ＡＧ－Ｆ－５４９３０）、ＯＮＯ－４０５９（Ｏｎｏ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｃｏ．，Ｌｔｄ．）、ＯＮＯ－ＷＧ３７（Ｏｎｏ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｃｏ．，Ｌｔｄ．）、ＰＬＳ－１２３（Ｐｅｋｉｎｇ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ）、ＲＮ４８６（Ｈｏｆｆｍａｎｎ－ＬａＲｏｃｈｅ）、ＨＭ７１２２４（Ｈａｎｍｉ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｃｏｍｐａｎｙ Ｌｉｍｉｔｅｄ）、ＬＦＭ－Ａ１３、ＢＧＢ－３１１１（Ｂｅｉｇｅｎｅ）、ＫＢＰ－７５３６（ＫＢＰ ＢｉｏＳｃｉｅｎｃｅｓ）、ＡＣＰ－１９６（Ａｃｅｒｔａ Ｐｈａｒｍａ）またはＪＴＥ－０５１（Ｊａｐａｎ Ｔｏｂａｃｃｏ Ｉｎｃ）から選択した共有結合性及び／または不可逆性ＢＴＫ阻害剤による阻害に対する耐性を引き起こす１つ以上のアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、変異ＢＴＫポリペプチドは、イブル

チニブによる阻害に対する耐性を引き起こす１つ以上のアミノ酸置換を含む。場合によっては、複数の細胞は、少なくとも２つの細胞を含む。ある特定の実施形態では、ＢＴＫ変異体は、非共有結合性ＢＴＫ阻害剤による阻害に対する耐性を引き起こす１つ以上のアミノ酸置換を含む。ある特定の実施形態では、そのＢＴＫ変異体は、可逆性ＢＴＫ阻害剤による阻害に対する耐性を引き起こす１つ以上のアミノ酸置換を含む。

【００８８】

上記のように、いくつかの実施形態では、修飾は、野生型ＢＴＫと比べて、４８１位のアミノ酸位のアミノ酸の置換または欠失を含む。いくつかの実施形態では、修飾は、野生型ＢＴＫと比べて、４８１位のアミノ酸の置換を含む。いくつかの実施形態では、修飾は、ＢＴＫポリペプチドの４８１位のアミノ酸位における、システインの、ロイシン、イソロイシン、バリン、アラニン、グリシン、メチオニン、セリン、トレオニン、フェニルアラニン、トリプトファン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、プロリン、チロシン、アスパラギン、グルタミン、アスパラギン酸及びグルタミン酸から選択したアミノ酸への置換である。いくつかの実施形態では、修飾は、ＢＴＫポリペプチドの４８１位のアミノ酸位における、システインの、セリン、メチオニンまたはトレオニンから選択したアミノ酸への置換である。いくつかの実施形態では、修飾は、ＢＴＫポリペプチドの４８１位のアミノ酸位における、システインのセリンへの置換である（「Ｃ４８１Ｓ」）。

【００８９】

いくつかの実施形態では、ＢＴＫの変異は、ＴＥＣ阻害剤（例えば、ＩＴＫ阻害剤、イブルチニブのようなＢＴＫ阻害剤）に対するＢ細胞増殖性障害の耐性を引き起こす。いくつかの実施形態では、ＢＴＫのＣ４８１Ｓ変異は、ＴＥＣ阻害剤（例えば、ＩＴＫ阻害剤、イブルチニブのようなＢＴＫ阻害剤）に対するＢ細胞増殖性障害の耐性を引き起こす。いくつかの実施形態では、ＢＴＫの変異は、共有結合性ＢＴＫ阻害剤に対するＢ細胞増殖性障害の耐性を引き起こす。いくつかの実施形態では、ＢＴＫの変異は、イブルチニブとアカラブルチニブに対するＢ細胞増殖性障害の耐性を引き起こす。

【００９０】

一実施形態では、変異ＢＴＫの活性は、共有結合性不可逆性ＢＴＫ阻害剤によって野生型ＢＴＫの活性を阻害した場合よりも、共有結合性不可逆性ＢＴＫ阻害剤によって阻害される程度が低い。共有結合性不可逆性ＢＴＫ阻害剤の変異ＢＴＫに対する$ＩＣ_{５０}$は、野生型ＢＴＫに対するよりも、少なくとも約１％～少なくとも約１０００％高くあり得る。例えば、共有結合性不可逆性ＢＴＫ阻害剤の変異ＢＴＫに対する$ＩＣ_{５０}$は、野生型ＢＴＫに対するよりも、少なくとも約１％、２％、３％、４％、５％、６％、７％、８％、９％、１０％、１１％、１２％、１３％、１４％、１５％、１６％、１７％、１８％、１９％、２０％、２１％、２２％、２３％、２４％、２５％、２６％、２７％、２８％、２９％、３０％、３１％、３２％、３３％、３４％、３５％、３６％、３７％、３８％、３９％、４０％、４１％、４２％、４３％、４４％、４５％、４６％、４７％、４８％、４９％、５０％、５１％、５２％、５３％、５４％、５５％、５６％、５７％、５８％、５９％、６０％、６１％、６２％、６３％、６４％、６５％、６６％、６７％、６８％、６９％、７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、１００％、１１０％、１２０％、１３０％、１４０％、１５０％、１６０％、１７０％、１８０％、１９０％、２００％、２１０％、２２０％、２３０％、２４０％、２５０％、２６０％、２７０％、２８０％、２９０％、３００％、３１０％、３２０％、３３０％、３４０％、３５０％、３６０％、３７０％、３８０％、３９０％、４００％、４１０％、４２０％、４３０％、４４０％、４５０％、４６０％、４７０％、４８０％、４９０％、５００％、５１０％、５２０％、５３０％、５４０％、５５０％、５６０％、５７０％、５８０％、５９０％、６００％、６１０％、６２０％、６３０％、６４０％、６５０％、６６０％、６７０％、６８０％、６９０％、７００％、７１０％、７２０％、７３０％、７４０％、７５０％、７６０％、７７０％、７８０％、７９０％、８００％、８１０

％、８２０％、８３０％、８４０％、８５０％、８６０％、８７０％、８８０％、８９０％、９００％、９１０％、９２０％、９３０％、９４０％、９５０％、９６０％、９７０％、９８０％、９９０％、少なくとも約１０００％まで高くあり得る。一実施形態では、共有結合性不可逆性ＢＴＫ阻害剤の変異ＢＴＫに対するＩＣ$_{50}$は、野生型ＢＴＫに対するよりも、少なくとも５０％高くあり得る。一実施形態では、不可逆性共有結合性ＢＴＫ阻害剤は、イブルチニブ及び／またはアカラブルチニブである。例えば、その不可逆性共有結合性ＢＴＫ阻害剤は、イブルチニブである。

【００９１】

一実施形態では、点変異は、ＢＴＫの１つの対立遺伝子のみにある。別の実施形態では、点変異は、ＢＴＫの２つの対立遺伝子にある。一実施形態では、システイン上の点変異は、ＢＴＫの１つの対立遺伝子のみにある。別の実施形態では、システイン上の点変異は、ＢＴＫの２つの対立遺伝子にある。一実施形態では、Ｃ４８１上の点変異は、ＢＴＫの１つの対立遺伝子のみにある。別の実施形態では、Ｃ４８１上の点変異は、ＢＴＫの２つの対立遺伝子にある。一実施形態では、Ｃ４８１Ｓ点変異は、ＢＴＫの１つの対立遺伝子のみにある。別の実施形態では、Ｃ４８１Ｓ点変異は、ＢＴＫの２つの対立遺伝子にある。

【００９２】

一実施形態では、対象は、哺乳動物である。一実施形態では、対象は、ヒトである。

【００９３】

本開示の別の態様は、がんの治療を、それを必要とする対象において行う方法であって、それを必要とする対象に化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含み、その対象はＢＴＫの変異型を有する方法に対するものである。

【００９４】

本開示の別の態様は、Ｂ細胞悪性腫瘍の治療を、それを必要とする対象において行う方法であって、その対象に化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含む方法に対するものである。一実施形態では、その対象は、ＢＴＫの変異型を有する。

【００９５】

いくつかの実施形態では、Ｂ細胞悪性腫瘍は、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、小リンパ球性リンパ腫（ＳＬＬ）、高リスクＣＬＬまたは非ＣＬＬ／ＳＬＬリンパ腫である。いくつかの実施形態では、Ｂ細胞増殖性障害は、濾胞性リンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞性リンパ腫（ＤＬＢＣＬ）、マントル細胞リンパ腫、ワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症、多発性骨髄腫、辺縁帯リンパ腫、バーキットリンパ腫、非バーキット高悪性度Ｂ細胞リンパ腫または節外性辺縁帯Ｂ細胞リンパ腫である。いくつかの実施形態では、Ｂ細胞悪性腫瘍は、急性または慢性骨髄性（ｍｙｅｌｏｇｅｎｏｕｓ）（または骨髄性（ｍｙｅｌｏｉｄ））白血病、骨髄異形成症候群または急性リンパ芽球性白血病である。いくつかの実施形態では、Ｂ細胞悪性腫瘍は、再発性または難治性びまん性大細胞型Ｂ細胞性リンパ腫（ＤＬＢＣＬ）、再発性または難治性マントル細胞リンパ腫、再発性または難治性濾胞性リンパ腫、再発性または難治性ＣＬＬ、再発性または難治性ＳＬＬ、再発性または難治性多発性骨髄腫である。いくつかの実施形態では、Ｂ細胞悪性腫瘍は、高リスクとして分類されるＢ細胞増殖性障害である。いくつかの実施形態では、Ｂ細胞悪性腫瘍は、高リスクＣＬＬまたは高リスクＳＬＬである。

【００９６】

したがって、一実施形態では、治療するＢ細胞悪性腫瘍は、マントル細胞リンパ腫（ＭＣＬ）、Ｂ細胞急性リンパ芽球性白血病（Ｂ－ＡＬＬ）、バーキットリンパ腫、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）及びびまん性大細胞型Ｂ細胞性リンパ腫（ＤＬＢＣＬ）からなる群の１つ以上から選択される。一実施形態では、治療するＢ細胞悪性腫瘍は、マントル細胞リンパ腫（ＭＣＬ）である。別の実施形態では、治療するＢ細胞悪性腫瘍は、Ｂ細胞急性リンパ芽球性白血病（Ｂ－ＡＬＬ）である。一実施形態では、治療するＢ細胞悪性腫瘍は、バーキットリンパ腫である。一実施形態では、治療するＢ細胞悪性腫瘍は、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）である。一実施形態では、治療するＢ細胞悪性腫瘍は、マントル細胞リンパ腫（ＭＣＬ）である。一実施形態では、治療するＢ細胞悪性腫瘍は、びまん性大細

胞型Ｂ細胞性リンパ腫（ＤＬＢＣＬ）である。

【００９７】

Ｂ細胞悪性腫瘍は、血液の新生物であり、Ｂ細胞悪性腫瘍には、とりわけ、非ホジキンリンパ腫、多発性骨髄腫及び白血病が含まれる。Ｂ細胞悪性腫瘍は、リンパ組織（リンパ腫の場合）または骨髄（白血病及び骨髄腫の場合）のいずれかに由来し得、いずれも、全てリンパ球または白血球の無制御な増殖と関連する。Ｂ細胞増殖性障害には、多くのサブタイプが存在する。Ｂ細胞増殖性障害の疾患経過と治療は、Ｂ細胞増殖性障害のサブタイプに左右されるが、各サブタイプ内でさえも、臨床提示、形態学的外観及び療法に対する応答は異なっている。

【００９８】

別の実施形態では、本発明の方法は、血液悪性腫瘍の治療を、それを必要とする患者に、化合物７またはその製薬学的塩を投与することによって行うことを含み得る。別の実施形態では、血液悪性腫瘍は、白血病である。別の実施形態では、白血病は、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、急性前骨髄球性白血病、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性好中球性白血病、急性未分化白血病、未分化大細胞型リンパ腫、前リンパ球性白血病、若年性骨髄単球性白血病、成人Ｔ細胞急性リンパ性白血病、３血球系異形成を伴う急性骨髄性白血病、混合系統白血病、好酸球性白血病及び／またはマントル細胞リンパ腫である。具体的な実施形態では、白血病は、急性骨髄性白血病である。

【００９９】

悪性リンパ腫は、主としてリンパ組織内にある細胞の腫瘍性転換である。悪性リンパ腫の２つの群は、ホジキンリンパ腫と非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）である。いずれのタイプのリンパ腫も、細網内皮系組織に浸潤する。しかしながら、これらは、由来の腫瘍性細胞、疾患部位、全身症状の存在及び治療に対する応答が異なる。

【０１００】

一実施形態では、化合物７は、オーロラキナーゼの活性を阻害及び／または低減する。オーロラキナーゼ（オーロラ－Ａ、オーロラ－Ｂ、オーロラ－Ｃ）は、細胞増殖に不可欠であるセリン／トレオニンタンパク質キナーゼであり、有糸分裂と減数分裂のさまざまなステップ（紡錘体の形成から細胞質分裂までに及ぶ）の重要な制御因子として特定されている。オーロラファミリーキナーゼは、細胞分裂に欠かせないものであり、腫瘍形成及びがん感受性と密接に関連付けられている。様々なヒトがんで、オーロラ－Ａ、オーロラ－Ｂ及び／またはオーロラＣの過剰発現及び／またはキナーゼ活性のアップレギュレーションが観察されている。オーロラキナーゼの過剰発現は、がんの進行と生存予後不良と臨床的に相関している。オーロラキナーゼは、細胞周期を調節するリン酸化イベント（例えば、ヒストンＨ３のリン酸化）に関与する。細胞周期の誤調節によって、細胞の増殖と、その他の異常が生じ得る。

【０１０１】

いずれかの特定の理論に拘束されるものではないが、ＢＴＫ及び／またはオーロラキナーゼの阻害により、細胞質分裂異常と、有糸分裂の異常停止を起こすことができ、その結果、多倍体細胞が生じ、細胞周期が停止し、最終的にアポトーシスが起こり得る。

【０１０２】

したがって、一実施形態では、化合物７の投与によって、多倍体化を誘導する。別の実施形態では、化合物７の投与によって、アポトーシスを誘導する。例えば、一実施形態では、細胞を有効量の化合物７と接触させることによって、細胞の多倍体化及び／または細胞周期の停止及び／またはアポトーシスを引き起こす。その細胞は、がん細胞または腫瘍細胞であってよい。したがって、一実施形態では、化合物７の投与によって、がん細胞及び／または腫瘍細胞においてアポトーシスを誘導する。さらに別の実施形態では、化合物７の投与によって、変異ＢＴＫ（例えばＣ４８１Ｓ）を発現するがん細胞及び／または腫瘍細胞においてアポトーシスを誘導する。

【０１０３】

本開示の実施形態のいずれかでは、化合物７は、野生型ＢＴＫ及び／または変異ＢＴＫ

の活性または発現を阻害及び／または低減し得る。したがって、いくつかの実施形態では、化合物７は、野生型ＢＴＫの活性または発現を阻害及び／または低減する。別の実施形態では、化合物７は、変異ＢＴＫの活性または発現を阻害及び／または低減する。変異ＢＴＫは、少なくとも１つの点変異を含み得る。一実施形態では、変異ＢＴＫは、少なくとも１つの点変異をシステイン残基に含む。一実施形態では、変異ＢＴＫは、少なくとも１つの点変異をＣ４８１残基に含む。一実施形態では、変異ＢＴＫは、少なくともＣ４８１Ｓ変異を含む。

【０１０４】

フムス関連チロシンキナーゼ３（ＦＬＴ３）とは、ＦＬＴ３遺伝子によってコードされるタンパク質を指す。野生型ＦＬＴ３とは、非変異型のタンパク質を指す。ＦＬＴ３は、膜近傍領域における活性化遺伝子内縦列重複（ＩＴＤ）と、ＦＬＴ３のチロシンキナーゼドメインまたは活性化ループにおける点変異を含む一連の変異を起こし得る。本開示の実施形態のいずれかでは、化合物７は、対象の野生型及び／または変異型フムス関連チロシンキナーゼ３（ＦＬＴ３）の活性または発現を阻害及び／または低減する。一実施形態では、化合物７は、対象の野生型フムス関連チロシンキナーゼ３（ＦＬＴ３）の活性または発現を阻害及び／または低減する。別の実施形態では、化合物７は、対象の変異型フムス関連チロシンキナーゼ３（ＦＬＴ３）の活性または発現を阻害及び／または低減する。変異型ＦＬＴ３は、少なくとも１つの点変異を含み得る。一実施形態では、変異ＦＬＴ３は、Ｄ８３５、Ｆ６９１、Ｋ６６３、Ｙ８４２及びＮ８４１からなる群から選択される１つ以上の残基に、少なくとも１つの点変異を含む。変異ＦＬＴ３は、ＦＬＴ３－ＩＴＤであり得る。当該変異ＦＬＴ３はさらに、追加のＩＴＤ変異を含み得る。

【０１０５】

本開示の別の態様は、ヒト細胞の異常な（例えば、過剰発現した）野生型ＢＴＫまたは変異ＢＴＫの活性または発現の阻害または低減方法であって、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩をそのヒト細胞と接触させることを含む方法に対するものである。

【０１０６】

一実施形態では、変異ＢＴＫは、少なくとも１つの点変異を含む。様々な点変異が本開示の範囲内で企図されており、上に記載されている。例えば、少なくとも１つの点変異は、ＢＴＫのいずれかの残基に対するものであってよい。一実施形態では、少なくとも１つの点変異は、システイン残基の変異である。一実施形態では、システイン残基は、ＢＴＫのキナーゼドメインにある。いくつかの実施形態では、少なくとも１つの点変異は、Ｅ４１残基、Ｐ１９０残基及びＣ４８１残基からなる群から選択される１つ以上の変異である。いくつかの実施形態では、ＢＴＫの変異は、４８１位のアミノ酸位の変異である。Ｃ４８１点変異は、いずれかのアミノ酸部分で置換されていてよい。いくつかの実施形態では、ＢＴＫの変異は、Ｃ４８１Ｓである。一実施形態では、Ｃ４８１残基の点変異は、Ｃ４８１Ｓ、Ｃ４８１Ｒ、Ｃ４８１Ｔ及び／またはＣ４８１Ｙから選択されている。一実施形態では、少なくとも１つの点変異は、Ｅ４１Ｋ、Ｐ１９０Ｋ及びＣ４８１Ｓからなる群から選択される１つ以上である。

【０１０７】

製剤

化合物７、その製薬学的に許容可能な塩、エステル、プロドラッグ、水和物、溶媒和物及び異性体、または化合物７もしくはその製薬学的に許容可能な塩を含む医薬組成物の有効量は、既知の方法に基づき、当業者が定めてよい。

【０１０８】

一実施形態では、本開示の医薬組成物または医薬製剤は、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩と、製薬学的に許容可能な担体を含む。製薬学的に許容可能な担体、希釈剤または賦形剤としては、ヒトまたは家畜での使用を許容できるものとして、米国食品医薬品局により認可されている任意のアジュバント、担体、賦形剤、流動化剤、甘味剤、希釈剤、保存剤、色素／着色剤、呈味増強剤、界面活性剤、湿潤剤、分散剤、懸濁化剤、安定剤、等張化剤、溶媒または乳化剤が挙げられるが、これらに限らない。

【０１０９】
一実施形態では、好適な製薬学的に許容可能な担体としては、不活性固体充填剤または希釈剤と、滅菌水溶液または有機溶液が挙げられるが、これらに限らない。製薬学的に許容可能な担体は、当業者に周知であり、そのような担体としては、約０．０１～約０．１Ｍ、好ましくは０．０５Ｍのリン酸緩衝液または０．８％生理食塩水が挙げられるが、これらに限らない。そのような製薬学的に許容可能な担体は、水溶液、非水溶液、懸濁液及び乳液であることができる。本願での使用に適する非水性溶媒の例としては、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油のような植物油、及びエチルオレエートのような注射可能な有機エステルが挙げられるが、これらに限らない。
【０１１０】
本願での使用に適する水性担体としては、水、エタノール、アルコール溶液／水溶液、グリセロール、乳液、または生理食塩水及び緩衝化媒体を含む懸濁液が挙げられるが、これらに限らない。経口用担体は、エリキシル剤、シロップ剤、カプセル剤、錠剤などであることができる。
【０１１１】
本願での使用に適する液体担体は、液剤、懸濁剤、乳剤、シロップ剤、エリキシル剤及び加圧配合物を調製する際に用いることができる。活性成分は、水、有機溶媒、製薬学的に許容可能な油と脂肪の両方またはそれらの混合物のような製薬学的に許容可能な液体担体に溶解または懸濁できる。液体担体は、可溶化剤、乳化剤、緩衝剤、保存剤、甘味剤、矯味矯臭剤、懸濁化剤、増粘剤、着色剤、粘度調節剤、安定剤または浸透圧調整剤のような他の好適な医薬品添加物を含むことができる。
【０１１２】
本願での使用に適する液体担体としては、水（部分的に、上記のような添加剤、例えば、セルロース誘導体、好ましくはナトリウムカルボキシメチルセルロース溶液を含む）、アルコール（一価アルコールと多価アルコール、例えばグリコールを含む）及びそれらの誘導体、ならびに油（例えば、精製ヤシ油及びラッカセイ油）が挙げられるが、これらに限らない。非経口投与用では、担体として、エチルオレエート及びイソプロピルミリステートのような油性エステルも挙げることができる。滅菌液体担体は、非経口投与用の化合物を含む滅菌液体形態で有用である。本明細書に開示されている加圧配合物用の液体担体は、ハロゲン化炭化水素またはその他の製薬学的に許容可能な噴射剤であることができる。
【０１１３】
本願での使用に適する固体担体としては、ラクトース、デンプン、グルコース、メチルセルロース、ステアリン酸マグネシウム、リン酸二ジカルシウム、マンニトールなどのような不活性物質が挙げられるが、これらに限らない。固体担体としてはさらに、矯味矯臭剤、滑沢剤、可溶化剤、懸濁化剤、充填剤、流動化剤、圧縮補助剤、結合剤または錠剤崩壊剤として作用する１つ以上の物質を挙げることができ、担体は、封入材であることもできる。散剤では、担体は、微粉化活性化合物との添加混合体中の微粉化固体であることができる。錠剤では、活性化合物が、好適な比率で、必要な圧縮特性を有する担体と混合されており、所望の形とサイズで圧密されている。散剤と錠剤は好ましくは、活性化合物を最大で９９％含む。好適な固体担体としては例えば、カルシウムホスフェート、ステアリン酸マグネシウム、タルク、糖、ラクトース、デキストリン、デンプン、ゼラチン、セルロース、ポリビニルピロリドン、低融点ワックス及びイオン交換樹脂が挙げられる。錠剤は、任意に１つ以上の補助成分とともに圧縮または成形することによって作製してよい。圧縮錠は、粉末または顆粒のようにさらさらした形態の活性成分を、任意に結合剤（例えば、ポビドン、ゼラチン、ヒドロキシプロピルメチルセルロース）、滑沢剤、不活性希釈剤、保存剤、崩壊剤（例えば、ナトリウムデンプングリコレート、架橋ポビドン、架橋カルボキシメチルセルロースナトリウム）、表面活性剤または分散剤と混合したものを好適な機械で圧縮することによって調製してよい。成形錠は、不活性液体希釈剤で湿らせた粉末状化合物の混合物を好適な機械で成形することによって作製してよい。錠剤は任意に、コーティングしたり、または割線を入れたりしてよいとともに、例えば、所望の放出プロ

ファイルが得られるように、ヒドロキシプロピルメチルセルロースを様々な割合で用いて、その錠剤中の活性成分を徐放または制御放出させるように調合してよい。胃以外の消化管部分で放出させるために、錠剤には任意に腸溶性コーティングを施してもよい。

【０１１４】

本願での使用に適する非経口用担体としては、塩化ナトリウム溶液、リンゲルデキストロース、デキストロース及び塩化ナトリウム、乳酸リンゲル液及び固定油が挙げられるが、これらに限らない。静脈内用担体としては、体液及び栄養補給液、リンゲルデキストロースをベースとするような電解質補液などが挙げられる。例えば、抗微生物剤、抗酸化剤、キレート剤、不活性ガスなどのような保存剤及びその他の添加剤も存在することができる。

【０１１５】

本願での使用に適する担体は、必要に応じて、当該技術分野において知られている従来の技法を用いて、崩壊剤、希釈剤、顆粒化剤、滑沢剤、結合剤などと混合できる。その担体は、当該技術分野において概ね知られているように、本発明の化合物と有害に反応しない方法を用いて、滅菌することもできる。

【０１１６】

本発明の製剤には、希釈剤を加えてよい。希釈剤は、固体の医薬組成物及び／または組み合わせの嵩を増大させて、その組成物及び／または組み合わせを含む医薬剤形を、患者と介護者にとってさらに扱いやすいものにできる。固体の組成物及び／または組み合わせ用の希釈剤としては、例えば、微結晶性セルロース（例えばＡＶＩＣＥＬ）、超微粒セルロース、ラクトース、デンプン、アルファ化デンプン、炭酸カルシウム、硫酸カルシウム、糖、デキストレート、デキストリン、デキストロース、二塩基性リン酸カルシウムホスフェート二水和物、三塩基性リン酸カルシウム、カオリン、炭酸マグネシウム、酸化マグネシウム、マルトデキストリン、マンニトール、ポリメタクリレート（例えばＥＵＤＲＡＧＩＴ（登録商標））、塩化カリウム、粉末セルロース、塩化ナトリウム、ソルビトール及びタルクが挙げられる。

【０１１７】

本開示の目的のために、製薬学的に許容可能な担体、アジュバント及びビヒクルを含む製剤で、経口、非経口、吸入噴霧、局所または直腸内を含む様々な手段によって投与するために、本開示の医薬組成物を調合することができる。非経口という用語には、本明細書で使用する場合、様々な注入技法による皮下注射、静脈内注射、筋肉内注射及び動脈内注射が含まれる。動脈内注射と静脈内注射には、本明細書で使用する場合、カテーテルによる投与が含まれる。

【０１１８】

本発明の医薬組成物は、当該技術分野において周知の従来の方法のいずれかを用いることによって、任意の種類の製剤及び薬物送達系に調製してよい。本発明の医薬組成物は、注射可能な製剤に調合してよく、その製剤は、髄腔内、脳室内、静脈内、腹腔内、鼻腔内、眼内、筋肉内、皮下または骨内を含む経路によって投与してよい。また、経口投与、または直腸、小腸・大腸もしくは鼻腔内の粘膜を介した非経口投与を行ってもよい（Ｇｅｎｎａｒｏ，Ａ．Ｒ．，ｅｄ．（１９９５）Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓを参照されたい）。好ましくは、本発明の組成物は、経腸投与ではなく、局所投与する。例えば、本発明の組成物は、注射するか、またはリザーバー製剤もしくは持続放出製剤のような標的薬物送達システムを介して送達してよい。

【０１１９】

本発明の医薬製剤は、混合プロセス、溶解プロセス、造粒プロセス、糖衣剤作製プロセス、研和プロセス、乳化プロセス、カプセル化プロセス、封入プロセスまたは凍結乾燥プロセスなど、当該技術分野におけるいずれかの周知の方法によって調製してよい。上述のように、本発明の組成物は、活性分子の医薬用途調製物への加工を容易にする賦形剤及びアジュバントのような１つ以上の生理学的に許容可能な担体を含んでよい。

【０１２０】

適切な製剤は、選択した投与経路によって決まる。例えば、注射用では、本発明の組成物を水溶液、好ましくは、ハンクス液、リンゲル液または生理食塩水緩衝剤のように、生理学的に適合する緩衝剤中に調合してよい。経粘膜投与または経鼻投与では、浸透させるバリアに適する浸透剤を製剤で用いてよい。このような浸透剤は、当該技術分野において概ね知られている。本発明の一実施形態では、本発明の化合物は、経口製剤で調製してよい。経口投与用では、本発明の化合物は、その活性化合物を、当該技術分野において知られている製薬学的に許容可能な担体と組み合わせることによって、容易に調合できる。そのような担体は、対象に経口摂取させるために、開示化合物を錠剤、丸剤、糖衣錠、カプセル剤、液剤、ゲル剤、シロップ剤、スラリー、懸濁剤などとして調合可能にする。本発明の化合物は、例えば、ココアバターまたはその他のグリセリドのような従来の坐剤基剤を含む座剤または保持型浣腸剤のような直腸用組成物で調合してもよい。

【０１２１】

経口用の医薬調製物は、固体賦形剤として得てよく、任意に、得られた混合物を粉砕し、所望に応じて、好適なアジュバントを加えた後、顆粒混合物を加工して、錠剤または糖衣錠中心錠を得てよい。好適な賦形剤は、特には、ラクトース、スクロース、マンニトールもしくはソルビトールを含む糖のような充填剤、トウモロコシデンプン、コムギデンプン、コメデンプン、バレイショデンプン、ゼラチン、トラガカントガム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ナトリウムカルボキシメチルセルロースのようなセルロース調合物、及び／またはポリビニルピロリドン（ＰＶＰ）調合物であってよい。また、架橋ポリビニルピロリドン、寒天、またはアルギン酸もしくはアルギン酸ナトリウムのようなその塩などの崩壊剤を用いてもよい。また、ドデシル硫酸ナトリウムなどのような湿潤剤を加えてもよい。

【０１２２】

糖衣錠中心錠には、好適なコーティングが施されている。この目的においては、濃縮糖溶液を用いてよく、この溶液は任意に、アラビアゴム、タルク、ポリビニルピロリドン、カルボポールゲル、ポリエチレングリコール及び／または二酸化チタン、ラッカー溶液、ならびに好適な有機溶媒または溶媒混合物を含んでよい。識別のため、または異なる組み合わせの活性化合物用量を特徴付けるために、染料または顔料を錠剤または糖衣錠コーティングに加えてもよい。

【０１２３】

経口投与用の医薬製剤としては、ゼラチンで作られているプッシュフィットカプセル剤と、ゼラチンと、グリセロールまたはソルビトールのような可塑剤で作られている密閉軟カプセル剤が挙げられ得る。プッシュフィットカプセル剤は、ラクトースのような充填剤、デンプンのような結合剤、及び／またはタルクもしくはステアリン酸マグネシウムのような滑沢剤、ならびに任意に安定剤との混合体中に活性成分を含むことができる。軟カプセル剤では、活性化合物は、脂肪油、液体パラフィンまたは液体ポリエチレングリコールのような好適な液体に溶解または懸濁していてよい。加えて、安定剤を加えてもよい。経口投与用のいずれの製剤も、経口投与に適する投与量である必要がある。

【０１２４】

一実施形態では、本発明の化合物は、皮膚パッチなどによる経皮投与または局所投与を行ってよい。一態様では、本発明の経皮または局所用製剤は、加えて、１つまたは複数の透過促進剤またはその他の作用剤（送達する化合物の移動を促す作用剤を含む）を含むことができる。好ましくは、例えば、位置特異的な送達が望ましい状況で、経皮または局所投与を用いてよい。

【０１２５】

吸入による投与用では、本発明の化合物は利便的に、好適な噴射剤、例えば、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素またはいずれかの他の好適な気体の使用によって、圧縮パックまたはネブライザーから出るエアゾールスプレー調製物の形態で送達してよい。加圧エアゾールの場合には、適切な投与単位は、定量した量を送達するためのバルブを設けることによって定めてよい。

吸入器または注入器で使用するために、カプセル剤と、例えばゼラチンのカートリッジを調合してよい。これらは典型的には、本発明の化合物と、ラクトースまたはデンプンのような好適な粉末基剤との粉末ミックスを含む。注射、例えばボーラス注射または持続注入による非経口投与用に調合した組成物は、例えば、保存剤を加えたアンプルまたは多投与量容器内で、単位剤形で供給できる。この組成物は、油性または水性ビヒクル中の懸濁剤、液剤または乳剤のような形態をとってよく、懸濁化剤、安定剤及び／または分散剤のような製剤化剤を含んでよい。非経口投与用の製剤としては、水溶液または水溶性形態中のその他の組成物が挙げられる。

【０１２６】

本発明の活性化合物の懸濁剤は、適切な油性注射用懸濁液として調製してもよい。好適な親油性溶媒またはビヒクルとしては、ゴマ油のような脂肪油と、エチルオレエートもしくはトリグリセリドのような合成脂肪酸エステル、またはリポソームが挙げられ得る。水性注射用懸濁剤は、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ソルビトールまたはデキストランのような、懸濁剤の粘度を向上させる物質を含んでよい。任意に、懸濁剤は、好適な安定剤、または高濃縮溶液の調製を可能にするために、化合物の溶解性を向上させる作用剤も含んでよい。あるいは、その活性成分は、使用前に、好適なビヒクル、例えば滅菌パイロジェンフリー水で構成するための粉末形態であってよい。

【０１２７】

上述のように、本発明の組成物は、リザーバー製剤として調合してもよい。そのような長期作用型製剤は、埋入（例えば、皮下もしくは筋肉内埋入）、または筋肉内注射によって投与してよい。したがって、例えば、本発明の化合物は、好適なポリマー材、疎水性材（例えば、許容可能な油中の乳剤）もしくはイオン交換樹脂とともに、または難溶性誘導体、例えば難溶性塩として調合してよい。

【０１２８】

本発明の治療方法で用いるいずれの組成物でも、治療有効用量は、当該技術分野において周知の様々な技法を用いて、最初に推定できる。例えば、細胞培養アッセイから得た情報に基づき、動物モデルにおいて、ある用量を調合して、ＩＣ$_{50}$を含む循環濃度範囲を得る。同様に、例えば、細胞培養アッセイとその他の動物実験から得たデータを用いて、ヒト対象に適する投与量範囲を定めることができる。

【０１２９】

薬剤の治療有効用量とは、対象の症状を改善、または生存期間を延長する薬剤量を指す。細胞培養または実験動物において、標準的な製剤手順によって、例えば、ＬＤ$_{50}$（集団の５０％致死量）とＥＤ$_{50}$（集団の５０％治療有効量）を求めることによって、そのような分子の毒性と治療効力を求めることができる。毒性作用と治療作用との用量比は治療指数であり、この指数は、ＬＤ$_{50}$／ＥＤ$_{50}$の比として表すことができる。治療指数の高い薬剤が探求される。

【０１３０】

投与量は好ましくは、毒性がほとんど見られないかまたは見られないＥＤ$_{50}$を含む循環濃度の範囲内に収まる。投与量は、用いる剤形と、用いる投与経路に応じて、この範囲内で変動し得る。的確な製剤、投与経路及び投与量は、当該技術分野において周知の方法に従って、対象の状態の特質に鑑み選択しなければならない。

【０１３１】

加えて、薬剤または組成物の投与量は、治療する対象の年齢、体重、性別、健康状態、疾患の程度、苦痛の重症度、投与方式及び処方医の判断を含む様々な要因に依存することになる。

【０１３２】

本開示の化合物または医薬組成物は、単回または複数回単位用量形態で製造及び／または投与してよい。

【０１３３】

本発明について一般的に記載したが、下記の実施例（例示として提供されており、本発

明を限定するようには意図されていない）を参照することを通じて、本発明がさらに容易に理解されるであろう。別段の明示的な記載のない限り、条件と手順は、当該技術分野において広く知られているようにして行った。

【実施例】

【０１３４】

合成：材料と方法

各種出発物質は、当該技術分野において周知の従来の合成方法に従って調製してよい。出発物質のいくつかは、Ａｌｄｒｉｃｈ、Ｓｉｇｍａ、ＴＣＩ、Ｗａｋｏ、Ｋａｎｔｏ、Ｆｌｕｏｒｃｈｅｍ、Ａｃｒｏｓ、Ａｂｏｃａｄｏ、Ａｌｆａ、Ｆｌｕｋａなど（これらに限らない）のような試薬メーカー及び試薬供給業者から市販されている。

【０１３５】

本開示の化合物は、容易に入手可能な出発物質から、従来の方法及び下記のプロセスによって調製できる。典型的または最適なプロセス条件（すなわち、反応温度、時間、反応基質のモル比、溶媒、圧力など）として別段の定めのない限り、本発明の化合物の製造には、異なる方法も用いてよい。最適な反応条件は、用いる特定の反応物質または溶媒に応じて変動し得る。しかしながら、そのような条件は、当業者が従来の最適化プロセスによって定めることができる。

【０１３６】

加えて、当業者は、特定の反応を行う前に、様々な保護基を用いて、いくつかの官能基を保護／脱保護できることを認識する。特定の官能基を保護及び／または脱保護する好適な条件と、保護基の使用は、当該技術分野において周知である。

【０１３７】

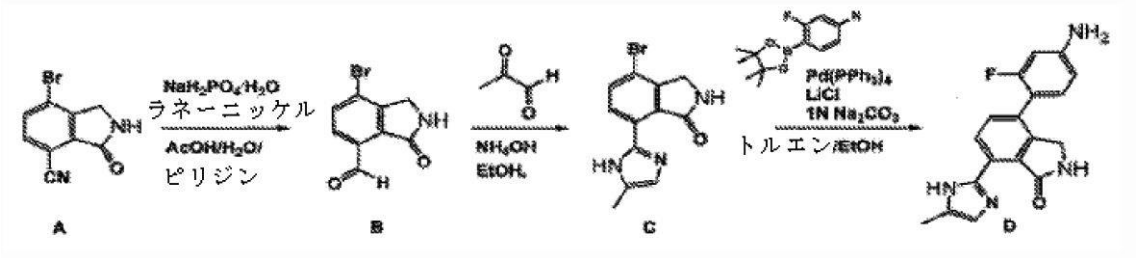
例えば、Ｔ．Ｗ．Ｇｒｅｅｎｅ ａｎｄ Ｇ．Ｍ．Ｗｕｔｓ，Ｐｒｏｔｅｃｔｉｎｇ Ｇｒｏｕｐｓ ｉｎ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，Ｓｅｃｏｎｄ ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｗｉｌｅｙ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９９１と、上で引用した他の参照文献に、様々な種類の保護基が記載されている。

【０１３８】

本発明の一実施形態では、本発明の化合物７は、下に示されているようなスキーム１に従って、中間体の化合物Ｄを合成してから、化合物Ｄに反応スキーム２の手順を行うことによって調製してよい。しかしながら、上記の化合物Ｄの合成方法は、反応スキーム１に限らない。

スキーム１

【化３】



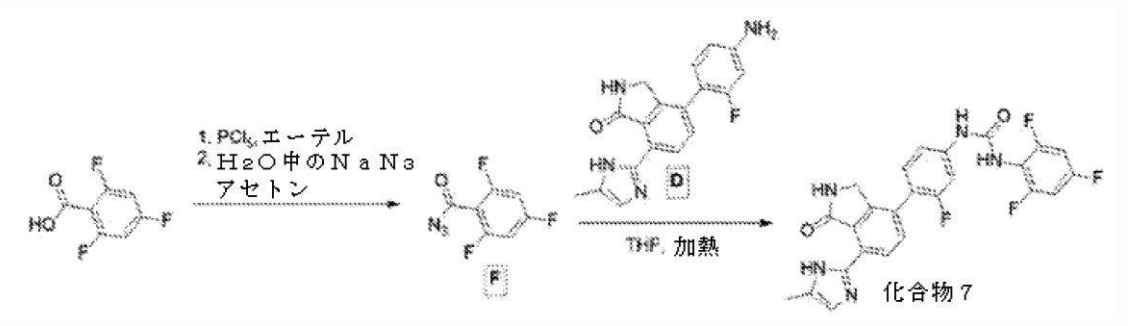
【０１３９】

反応スキーム１の出発物質、すなわち化合物Ａの調製方法は、国際公開第２０１２／０１４０１７号に記載されており、化合物Ｄの調製は、米国特許出願公開第２０１５／０３３６９３４号に記載されている。

【０１４０】

実施例１：ｌ－｛３－フルオロ－４－［７－（５－メチル－１Ｈ－イミダゾール－２－イル）－１－オキソ－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－イソインドール－４－イル］－フェニル｝－３－（２，４，６－トリフルオロ－フェニル）－尿素（化合物７）の合成

【化４】



【０１４１】

２，４，６－トリフルオロ安息香酸（０．０８ｇ、０．４５ｍｍｏｌ）をジエチルエーテル（５．７ｍＬ）に分散させて、五塩化リン（PCl_5、０．１１ｇ、０．５２ｍｍｏｌ）をゆっくり加えてから、１時間撹拌した。反応が終了したら、有機溶媒を減圧下、室温未満で濃縮してから、アセトン（３．８ｍＬ）を加えることによって、反応溶液を希釈した。その後、水（０．２８ｍＬ）に溶解したアジ化ナトリウム（NaN_3、０．０３５ｇ、０．５４５ｍｍｏｌ）を反応溶液にゆっくり０℃で滴下した。２時間、室温で撹拌後、その結果形成された２，４，６－トリフルオロベンゾイルアジドを酢酸エチルで希釈してから、水で洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥し、ＴＨＦ（２ｍＬ）に分散させ、４－（４－アミノ－２－フルオロフェニル）－７－（５－メチル－１Ｈ－イミダゾール－２－イル）イソインドリン－１－オン（化合物Ｄ、０．０７３ｇ、０．２３ｍｍｏｌ）を含むＴＨＦ（７．５ｍＬ）を加えてから、３時間、９０℃で撹拌した。反応が終了したら、その溶媒を減圧下で濃縮してから、シリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶離剤：塩化メチレン：メタノール＝２０：１）によって精製して、化合物７を得た（０．０２６ｇ、収率：２３％）。^{1}Ｈ－ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ）：１４．４６－１４．３７（ｍ１Ｈ），９．４７－９．４５（ｂｒｍ，１Ｈ），９．３７（ｓ，１Ｈ），８．４５（ｄ，Ｊ＝ｌ．８Ｈｚ，１Ｈ），８．３０－８．２７（ｂｒｍ，１Ｈ），７．６３－７．４６（ｍ，３Ｈ），７．３１－７．２６（ｍ，３Ｈ），７．０９－６．８４（ｍ，１Ｈ），４．４２（ｓ，２Ｈ），２．３１－２．２１（ｍ，３Ｈ）．ＬＣＭＳ［Ｍ＋１］：４９６．３．

【０１４２】

実施例２：野生型ＦＬＴ３キナーゼ及び変異ＦＬＴ３キナーゼに対する化合物７の結合定数

前記キナーゼ活性の測定値は、結合定数またはK_d値として表す。これらの値を得るためのプロトコールを本項で説明する。大半のアッセイでは、ＢＬ２１株由来のＥ．ｃｏｌｉ宿主において、キナーゼタグ付きＴ７ファージ株を調製した。Ｅ．ｃｏｌｉを対数増殖期まで増殖させて、Ｔ７ファージに感染させ、溶解するまで、振とうしながら３２℃でインキュベートした。溶解液を遠心分離し、ろ過して細胞破片を除去した。残存キナーゼをＨＥＫ－２９３細胞で産生させてから、ｑＰＣＲによる検出のために、ＤＮＡタグを付加した。ストレプトアビジンでコートした磁気ビーズをビオチン化小分子リガンドで３０分、室温で処理して、キナーゼアッセイ用の親和性樹脂を作製した。リガンドが結合したビーズを過剰なビオチンでブロックし、ブロッキング緩衝液（ＳｅａＢｌｏｃｋ（Ｐｉｅｒｃｅ）、１％ＢＳＡ、０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０、１ｍＭ ＤＴＴ）で洗浄して、未結合のリガンドを除去し、非特異的結合を低減させた。キナーゼと、リガンドが結合した親和性ビーズと、試験化合物を１×結合緩衝液（２０％ＳｅａＢｌｏｃｋ、０．１７×ＰＢＳ、０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０、６ｍＭ ＤＴＴ）中で合わせることによって、結合反応物を作製した。試験化合物は、１００％ＤＭＳＯ中の１１１倍ストックとして調製した。１１点の３倍化合物希釈系列とともに、３つのＤＭＳＯ対照ポイントを用いて、K_dを求めた。K_d測定用の化合物はすべて、音響転送（非接触式分注）によって、１００％ＤＭＳ

Ｏ中に分配した。続いて、化合物を直接希釈してアッセイ液にして、ＤＭＳＯの終濃度が０．９％となるようにした。いずれの反応も、ポリプロピレン製の３８４ウェルプレートで行った。それぞれ、最終量は０．０２ｍｌであった。アッセイプレートを振とうしながら室温で１時間インキュベートし、親和性ビーズを洗浄緩衝液（１×ＰＢＳ、０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０）で洗浄した。続いて、ビーズを溶出用緩衝液（１×ＰＢＳ、０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０、０．５μＭ非ビオチン化親和性リガンド）に再懸濁し、振とうしながら室温で３０分インキュベートした。その溶出液中のキナーゼ濃度をｑＰＣＲによって測定した。

【０１４３】

化合物７とキザルチニブについて測定した結合定数を、下記の表１に示す。

【表１－１】

表１．化合物７及びキザルチニブの結合定数（K_d）

	化合物７	キザルチニブ
FLT3(D835H)	2.2	3.7
FLT3(D835V)	7.9	該当なし
FLT3(D835Y)	4.2	7.1

【表１－２】

	化合物７	キザルチニブ
FLT3(ITD)	3.1	8.8
FLT3(ITD－D835V)	1700	該当なし
FLT3(ITD－F691L)	15	該当なし
FLT3(K663Q)	0.55	2.2
FLT3(N841I)	0.76	4.1
FLT3(R834Q)	6.4	該当なし
FLT3(WT)	0.24	1.3

【０１４４】

実施例３：ＭＶ４－１１細胞での化合物７のウエスタンブロット解析

図１は、ウエスタンブロット解析結果を示す。いずれの理論に拘束されるものではないが、この結果によって、化合物７がＭＶ４－１１細胞においてＦＬＴ３経路を阻害することが示されている。

【０１４５】

実施例４：化合物７によるＦＬＴ３変異体の阻害

【表２】

表２．ＦＬＴ３における化合物７のＩＣ$_{50}$

	IC_{50} (nM)
FLT3(D835Y)	166.5
FLT3(ITD)	0.8172
FLT3(WT)	8.746

【０１４６】

実施例５：造血細胞株に対する化合物７の細胞毒性

【表３－１】

表３．化合物７の細胞毒性

疾患の種類	細胞株	IC50（μM）
		平均
AML	EOL-1	0.00004495
AML	MV4-11	0.000238
AML	Molm-13	0.0003951
ALL	RS411	0.001508
MCL	Mino	0.005976
MCL	GRANTA-519	0.01359
バーキット	Ramos	0.01841
AML	NOMO-1	0.02052
AML	KG-1	0.02869
MCL	Jeko-1	0.07377
DLBCL	SU-DHL6	0.1216
バーキット	Daudi	0.1660

【表３－２】

疾患の種類	細胞株	IC50（μM）
		平均
AML	HL60	0.2796
DLBCL	RL	0.4262
AML	SKM-1	0.8161
AML	MUTZ-8	0.793700
ALL	Jurkat	1.59
バーキット	Raji	2.03
AML	THP-1	2.97
CLL	MEC-1	3.80
AML	HEL92.1.7	4.69
CML	K562	12.94

【０１４７】

表３には、様々な造血細胞株における化合物７の細胞毒性が示されており、対応する用量応答曲線が図１５に示されている。加えて、図４には、ＦＬＴ３－ＩＴＤ（ＭＶ４１１及びＭＯＬＭ－１３）細胞とＦＬＴ３－ＷＴ（ＮＯＭＯ－１及びＫＧ－１）細胞に対する化合物７、キザルチニブ及びイブルチニブの細胞毒性作用が示されている。さらに、図１６には、ＦＬＴ３変異体をトランスフェクションしたアイソジェニックなＢａ／Ｆ３細胞に対する化合物７、キザルチニブ、ギルテリチニブ及びクレノラニブの用量応答曲線が示されており、その結果が、表４にまとめられている。

【表４】

表４　ＦＬＴ３変異体をトランスフェクションしたアイソジェニックなＢａ／Ｆ３細胞に対する化合物７のＩＣ$_{50}$

FLT3 阻害剤	トランスフェクション Ba/F3 細胞における IC_{50}(nM、n=3)				
	FLT3 WT	FLT3 D835Y	FLT3 ITD	FLT3 ITD-D835Y	FLT3 ITD-F691L
化合物７	11.3	8.8	0.5	19.3	10.0
キザルチニブ	1956.0	2089.0	2.2	246.4	115.3
ギルテリチニブ	500.3	472.5	26.5	6.8	98.4
クレノラニブ	2617.0	888.9	35.0	31.7	257.6

【０１４８】

実施例６：ＭＶ４－１１細胞のアポトーシス

一試験では、ＭＶ４１１細胞を独立して、様々な濃度の化合物７、イブルチニブもしくはキザルチニブとともに、またはこれらを含めずに、２４時間処理して、アポトーシス細胞と生細胞の数を測定した。いずれの理論に拘束されるものではないが、図７及び８の結果から、化合物７が、ＭＶ４－１１細胞においてアポトーシスを誘導することが示されている。

【０１４９】

別の試験では、ＭＶ４－１１細胞のアポトーシスにおける化合物７の時間依存性を調べたところ、図１７から見てとれるように、化合物７は、時間依存的にアポトーシスを誘導する。図７、８及び１７に示されているデータは、アポトーシスを測定するための周知のプロトコールを用いて得たものであり、そのプロトコールは、当業者には容易にわかる。いずれの理論に拘束されるものではないが、手順の概要は、例えば、Ｒｉｅｇｅｒ ｅｔａｌ．，Ｍｏｄｉｆｉｅｄ Ａｎｎｅｘｉｎ Ｖ／Ｐｒｏｐｉｄｉｕｍ Ｉｏｄｉｄｅ Ａｐｏｐｔｏｓｉｓ Ａｓｓａｙ Ｆｏｒ Ａｃｃｕｒａｔｅ Ａｓｓｅｓｓｍｅｎｔ ｏｆ Ｃｅｌｌ Ｄｅａｔｈ，Ｊ ＶＩ．Ｅｘｐ．２０１１；（５０）：２５９７に見ることができる。

【０１５０】

実施例７：ラットでの薬物動態試験

図５は、化合物７を経口投与すると、ＡＵＣが用量依存的に改善することを示す。１００ｍｇ／ｋｇの経口用懸濁液で、最も良い結果が得られる。２ｍｇ／ｋｇという低用量を静脈内投与しても、適正な暴露を得られた。

【０１５１】

実施例８：異種移植

図６には、対照またはイブルチニブによる処置と比べて、化合物７が、用量の多いほど腫瘍体積を低下させることが示されている。

【０１５２】

実施例９：化合物７によるＢＴＫの阻害

【表５】

表５．ＢＴＫにおける化合物７のＩＣ$_{50}$

	IC_{50} (nM)
BTK	8.42
BTK (C481S)	2.52
BTK (E41K)	14.53
BTK (P190K)	6.59

【０１５３】

表５は、化合物７が、一連のＢＴＫを阻害することを示す。

【０１５４】

実施例１０：ＭＶ４－１１細胞及びＥＯＬ－１細胞での化合物７のウエスタンブロット解析

図２及び３は、ウエスタンブロット解析結果を示す。いずれの理論に拘束されるものではないが、この結果によって、化合物７が、ＭＶ４－１１細胞及びＥＯＬ－１細胞においてＢＴＫ経路を阻害することが示されている。

【０１５５】

実施例１１：ＦＬＴ３　ＷＴとＦＬＴ変異体の抗増殖活性の比較

【表６－１】

表６．

表．ＡＭＬ細胞株における化合物７、キザルチニブ及びギルテリチニブの抗増殖活性の比較

細胞株	特徴	IC_{50} (nM)[a]		
		化合物７	キザルチニ	ギルテリチ

【表６－２】

				ブ	ニブ
マウス細胞	Ba/F3-FLT3	FLT3-WT	9.49	794	79.52
	Ba/F3-ITD	FLT3-ITD	0.30	0.74	36.21
	Ba/F3-D835G	FLT3-D835G	0.12	1.27	28.08
	Ba/F3-D835Y	FLT3-D835Y	8.26	776.21	372.68
	Ba/F3-ITD+691	ITD+F691L	0.43	33.60	119.45
	Ba/F3-ITD+842	ITD+Y842C	0.73	6.73	44.74
	Ba/F3-ITD+D835Y	FLT3-ITD+D835Y	9.72	85.31	10.59
	Ba/F3-ITD+D835H	FLT3-ITD+D835H	6.74	9.02	10.43
ヒト細胞	MOLM13	FLT3-ITD, t(9:11)	0.82	5.21	35.79
	MOLM14	FLT3-ITD, t(9:11)	0.92	0.67	58.83
	MV4-11	FLT3-ITD, t(4:11)	0.17	1.39	175.66
	THP-1	FLT3-WT, t(9:11)	3.88	>10000	2301
	Kasumi-1	FLT3-WT	21.99	29.7	2233

[a]半最大阻害濃度（IC_{50}）は、７２時間の処理によって求めた（ギルテリチニブでは、４８時間によるものとした）。

【０１５６】

実施例１２：化合物７に対する患者の感受性に関するエキソビボアッセイ

急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）と診断された患者８５人と、骨髄異形成症候群／骨髄増殖性腫瘍（ＭＤＳ／ＭＰＮ）の患者１５人と、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）の患者１８人と、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）の患者５６人において、エキソビボアッセイを用いて、マルチキナーゼ阻害剤である化合物７に対する感受性を評価した。化合物７に対する感受性は、１０ｎＭ～１０μＭの濃度範囲にわたって評価した。３日の培養期間後、テトラゾリウムベースの比色ＭＴＳアッセイを用いて、細胞生存能を評価し、薬物感受性の測定値として、IC_{50}値を算出した。

【０１５７】

データセットにおける血液悪性腫瘍の４つの一般的サブタイプにわたり、化合物７に対して幅広い感受性が見られる。ＡＭＬのケースの大半で、化合物７に対する感受性が見られ、５１／８５（６０％）のケースで、IC_{50}が０．１μＭ未満であった。他のサブタイプ（ＭＤＳ／ＭＰＮ、ＡＬＬ、ＣＬＬ）の感受性は、同程度または若干低いレベルであった（４０～６０％、表７参照）。データセットにおいては、ＦＬＴ３の変異状態が、３８個のＡＭＬ患者サンプルでわかっており、３０サンプルはＷＴ、８サンプルはＩＴＤ＋であり、点変異のあるサンプルは０である。このサブセットにおいて、化合物７に対する感受性を解析したことによって、ＦＬＴ３－ＩＴＤ＋のサンプルで感受性が高い傾向が明らかであるが、充分な検出力のある統計解析を得るには、もっと大きいサンプルサイズが必要となる。

【表７】

表７：患者の化合物７に対する感受性

診断の種類	評価数	IC_{50}<0.1μMのサンプルの割合（%）
AML	85	60（51/85）
MDS/MPN	15	53（8/15）
ALL	18	61（11/18）
CLL	56	41（23/56）

【０１５８】

化合物７は、ＡＭＬ、ならびに他のサブタイプの血液悪性腫瘍に対して、広範かつ強力な活性を示す。予備的解析では、ＦＬＴ３の変異したＡＭＬケースの方が、ＦＬＴ３野生型のケースよりも、化合物７に対する感受性が高い傾向が示されているが、化合物７に対する感受性と、ＦＬＴ３の変異した状態との充分に検出力のある統計的関連性を得るには、追加の患者サンプルを継続して増やすことが必要となり得る。要するに、いずれの理論に拘束されるものではないが、原発性血液悪性腫瘍患者サンプルに対する化合物７の前臨床解析によって、ＡＭＬとその他のサブタイプの疾患における広範な薬物活性のエビデンスが示されているとともに、血液悪性腫瘍に対するこの薬剤のさらなる開発が支持される。

【０１５９】

実施例１３：細胞周期調節異常に対する化合物７の作用

細胞周期の様々な局面に対する化合物７の作用を調べた。

【０１６０】

一実験では、化合物７が、ＭＶ４１１細胞において、Ｇ０／Ｇ１細胞周期の停止を用量依存的に誘導することがわかった（図１８Ａ及び１８Ｂ）。別の実験では、化合物７が、ＭＯＬＭ－１３細胞において、Ｇ０／Ｇ１細胞周期の停止を用量依存的に誘導することがわかった（図１９）。

【０１６１】

別の実験では、化合物７が、様々な造血細胞株において、多倍体化を誘導することがわかった（図２０）。ＭＶ４－１１細胞、ＮＯＭＯ－１細胞及びＫＧ－１細胞を漸増濃度の化合物７で２４時間処理し、ＥｄＵ及びＰＩ染色を用いたあとに、ＢＤ　Ａｃｃｕｒｉ　Ｃ６フローを用いたＦＡＣＳ解析によって、ＤＮＡ量の増加または多倍体表現型を評価した。

【０１６２】

別の実験では、化合物７が、ＫＧ－１細胞（図２１）、ＮＯＭＯ－１細胞（図２２）及びＦＬＴ３の変異を有するアイソジェニックなＢＡ／Ｆ３細胞（図２３）において、細胞周期調節異常を用量依存的に誘導することがわかった。

【０１６３】

実施例１４：造血細胞における細胞シグナル伝達に対する化合物７の阻害作用

図２４には、化合物７が、ＭＶ４－１１細胞において、オーロラキナーゼ活性とシグナル伝達を阻害することが、図２５には、化合物７が、ＦＬＴ３　ＷＴ細胞（ＫＧ－１）において、オーロラキナーゼ活性とシグナル伝達を阻害することが示されている。このことは、オーロラキナーゼ阻害剤のＡＴ９２８３（図２４）、ならびにキナーゼ阻害剤のイブルチニブ及びキザルチニブ（図２５）と比較されている。図２６には、化合物７が、ＥＯＬ－１細胞において、ＰＤＧＦＲＡ及びＦＬＴ３（ＷＴ）のシグナル伝達を阻害することが示されている。いずれの理論に拘束されるものではないが、これらの図には、化合物７が、造血細胞株における様々な細胞シグナル伝達経路の強力な阻害剤として作用することが示されている。

【０１６４】

実施例１５：ＢＴＫに対する化合物７の相対的効能

表８に示されているように、野生型ＢＴＫに対する化合物７の効能に加えて、化合物７は、ＢＴＫ－Ｃ４８１Ｓ変異体に対するｎＭ単位の効能も示す。野生型ＢＴＫに対する化

合物７の効能は、５．０ｎＭであり、これは、アカラブルチニブの効能と同等である。さらに驚くべきことに、化合物７は、イブルチニブとアカラブルチニブに対して耐性を持つＢＴＫ－Ｃ４８１Ｓに対する有効性が最も高い。化合物７は、イブルチニブの効力に寄与すると考えられている重要な標的であるＩＴＫに対しても非常に強力である。さらに、化合物７は、ＥＧＦＲの阻害をせず、これにより、発疹及び下痢のような合併症の可能性が低いことが示唆されている。

【表８】

表８：ＢＴＫに対する各種化合物の阻害性

					BTK IC50 (nM)		重要なオフターゲット	
	企業	適応	状態	結合	WT	C481S	ITK	EGFR
化合物7	Aptose	造血細胞	臨床前	非共有結合	5.0	2.5	4.3	>1000
イブルチニブ	Abbvie	CLL, MCL, WM	市販中	共有結合	0.5	×	10.7	5.6
アカラブルチニブ	AZ/Acerta	腫瘍 - H/S	P3	共有結合	5.1	×	>1000	>1000
BGB-3111	Beigene	造血細胞	P1	共有結合	0.2	×	30.0	-
GS-4059	Gilead/Ono	造血細胞	P1	共有結合	2.2	×	-	-
CC-292	Celgene	造血細胞	P1	共有結合	<0.5	×	-	-
SNS-062	Sunesis	造血細胞	P1	非共有結合	0.4	4.5	49.0	-

【０１６５】

実施例１６：化合物７は、ＢＴＫの野生型とＣ４８１Ｓ変異型を阻害する

ＨＥＫ２９３Ｔ細胞に、野生型ＢＴＫまたはＣ４８１Ｓ　ＢＴＫで一過的にトランスフェクションした。このトランスフェクション細胞を化合物７（０．５μＭと１．０μＭ）で、または化合物７を含めずに、６時間処理した。この処理は、三重で行い、結果をウエスタンブロット解析によって解析した。

【０１６６】

図９において、リン酸化形態の酵素が低減していることによって明らかにされたように、化合物７は、０．５μＭと１．０μＭの両方の濃度で、ＢＴＫの野生型とＣ４８１Ｓ変異型の両方を阻害する。しかしながら、イブルチニブと比べると、化合物７は、ＢＴＫを阻害する程度がイブルチニブよりも低いことが観察されており、機序経路が異なることが示唆されている（図１０）。

【０１６７】

実施例１７：Ｂ細胞悪性腫瘍細胞株に対する化合物７の細胞毒性

細胞を９６ウェルプレートに播種し、ビヒクル（ＤＭＳＯ）または１０の異なる濃度の化合物７のいずれかで、３日間、３７℃、５％CO_2で処理した。ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ９６ ＡＱｕｅｏｕｓ Ｏｎｅ Ｓｏｌｕｔｉｏｎ（ＭＴＳ Ｐｒｏｍｅｇａ Ｃａｔ＃Ｇ３５８１）を用いて細胞生存能を評価し、ＧｒａｐｈＰａｄ Ｐｒｉｓｍ ７というソフトウェアを用いて、IC_{50}値を算出した。

【０１６８】

表９に、様々なＢ細胞悪性腫瘍細胞株における化合物７の細胞毒性を示す。加えて、図１１は、表９の細胞株における化合物７及びイブルチニブの用量応答曲線を示す。

【表９】

表９．化合物７の細胞毒性

B 細胞悪性腫瘍	細胞株	IC50（μM）
		平均
B-ALL	RS411	0.001508
	MHH-Cal14	0.0027800
FL	DOHH2	0.002937
MCL	Mino	0.005976
	GRANTA-519	0.013590
	Jeko-1	0.073770
バーキット	Ramos	0.018410
	Daudi	0.166000
	Raji	2.031000
GCB-DLBCL	SU-DHL6	0.121600
	RL	0.426200
	BJAB	0.882000
ABC-DLBCL	U2932	0.632300
	SU-CHL2	0.744400
	OCI-LY3	0.830500
CLL	MEC-1	3.804000
HL	L1236	7.818
CML	K562	12.940000

【０１６９】

実施例１８：化合物７は、Ｂ細胞悪性腫瘍においてアポトーシスを誘導する

機序試験を行って、化合物７の作用機序を割り出した。アネキシンＶとプロピジウムアイオダイド（ＰＩ）で染色してから、ＢＤ　Ａｃｃｕｒｉ　Ｃ６フローサイトメーターで解析することによって、処理細胞のアポトーシス状態を割り出した（生細胞は、アネキシンＶ／ＰＩ陰性であり、初期アポトーシス細胞は、アネキシンＶ陽性であり、後期アポトーシス細胞は、アネキシンＶ陽性かつＰＩ陽性である）。加えて、特異的抗体を用いたウエスタンブロットによって、典型的なアポトーシスマーカーである切断ＰＡＲＰの産生をアッセイした。

【０１７０】

図１２に示されているように、化合物７は、Ｂ細胞悪性腫瘍において細胞アポトーシスを誘導する。Ｍｉｎｏ細胞株とＲａｍｏｓ細胞株の両方を漸増濃度の化合物７及びイブルチニブで処理した。化合物７は、試験したすべての濃度で、イブルチニブよりも効果的にアポトーシスを誘導した。それぞれのウエスタンブロット像におけるリン酸化パターンによって、このアポトーシス増加が確認される。

【０１７１】

実施例１９：化合物７は、Ｂ細胞悪性腫瘍においてオーロラキナーゼとＢＴＫを阻害する

オーロラキナーゼまたは及び下流標的のリン酸化レベルに関するウエスタンブロットと、細胞周期及びＤＮＡ量解析によって、オーロラキナーゼ活性の阻害を測定した。化合物７で処理した細胞の全細胞抽出物をゲル電気泳動によって分離し、ニトロセルロース膜に移し、特異的抗体を用いて、オーロラキナーゼＡ／Ｂ及びＨ３Ｓ１０のリン酸化の阻害を検出した。化合物７またはビヒクルで処理した細胞を５－エチニル－２’デオキシウリジン（Ｅｄｕ）のＡｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　４８８及びＰＩで染色することによって、ＤＮＡ合成と細胞周期相を評価した。

【０１７２】

化合物７は、イブルチニブよりも、Ｂ細胞がん細胞に対する細胞毒性が高い一方で、イブルチニブよりも、ＢＴＫ阻害剤活性は低い（図１０）。化合物７の高い効能をさらに理解するために、オーロラキナーゼに対するその阻害作用を調べたところ、漸増濃度の化合物７でのウエスタンブロットでのリン酸化パターンによって確認されたように、オーロラキナーゼ阻害剤として有効であることがわかった（図１３）。いずれの特定の理論に拘束されるものではないが、Ｂ細胞がん細胞における化合物７の高い細胞毒性は、そのマルチキナーゼ経路阻害プロファイルに部分的に起因すると考えられる。

【０１７３】

実施例２０：化合物７は、Ｂ細胞悪性腫瘍において、多倍体化を誘導した後、アポトーシスを誘導する

化合物７の強力な細胞毒性を充分に解明するために、さらなる機序試験を行った。Ｂ細胞株をビヒクルまたは化合物７で２４～７２時間処理し、ＥｄｕおよびＰＩ染色の後に、ＢＤ　Ａｃｃｕｒｉ　Ｃ６フローサイトメーターを用いたＦＡＣＳ解析を用いて、ＤＮＡ量の増加または多倍体表現型を評価した。

【０１７４】

Ｍｉｎｏ細胞株とＲａｍｏｓ細胞株を漸増濃度の化合物７またはイブルチニブで処理して、化合物７が、イブルチニブと比べて、Ｂ細胞悪性腫瘍細胞株における多倍体化の誘導に対して及ぼす相対的作用を測定した。図１４に示されるように、化合物７は、細胞死の特徴を示すウエスタンブロットで示されているように、Ｍｉｎｏ細胞に対しては０．１ｎＭ及び１．０ｎＭの濃度で、Ｒａｍｏｓ細胞に対しては、５ｎＭの濃度で、多倍体化（＞４ｎ）を効果的に誘導した後、アポトーシスを誘導した。

【０１７５】

実施例２１：化合物７は、Ｂ細胞悪性腫瘍において、細胞周期の進行を妨げる

図２７及び２８は、化合物７が細胞周期の進行を妨げることを示す。いずれの理論に拘束されるものではないが、これらの図は、化合物７が、Ｂ細胞悪性腫瘍細胞株において細胞シグナル伝達経路を妨げることを示す。図２７及び２８に示されているデータは、細胞周期の進行を測定するための周知のプロトコール（例えば、ＥｄＵ及び／またはＰＩ染色後、ＢＤ　Ａｃｃｕｒｉ　Ｃ６フローを用いたＦＡＣＳ解析を行うもの）を用いて得たものであり、そのプロトコールは、当業者には容易にわかるものである。

【０１７６】

実施例２２．Ｂ細胞悪性腫瘍細胞株における細胞シグナル伝達に対する化合物７の阻害作用

図２９は、イブルチニブに対して、化合物７が、Ｒａｍｏｓ細胞において、ＢＴＫ及びオーロラキナーゼの活性を阻害することを示す。

【０１７７】

図３０は、化合物７が、Ｒａｍｏｓ細胞において、ＢＣＲシグナル伝達に影響を及ぼすことを示す。この実験では、Ｒａｍｏｓ細胞を、示されている濃度の化合物７もしくはイブルチニブとともに、またはこれらを含めずに、１時間（６回反復）または６時間（３回反復）処理してから、１２μｇ／ｍＬのＩｇＭで３分刺激した。

【０１７８】

いずれの理論に拘束されるものではないが、これらの図は、化合物７が、Ｂ細胞悪性腫瘍細胞株において、様々な細胞シグナル伝達経路の強力な阻害剤として作用することを示す。

【０１７９】

実施例２３．化合物７は、高血清条件において細胞毒性を発揮する

化合物７を用量依存的に、異なる血清濃度で試験した。図３１は、化合物７が、高血清濃度で高い活性を保持することを示す。この実験では、ＭＶ４－１１細胞（ｎ＝６）とＥＯＬ－１細胞（ｎ＝３～６）を正常（１０％）または高血清（３０％、５０％、８０％）ＦＢＳを含む培地中で、化合物７とともに、またはこれを含めずに、７２時間処理し、ＭＴＳアッセイをエンドポイントとした。

【０１８０】
実施例２４．一般的な実験手順
ＩＣ$_{50}$及びＥＣ$_{50}$：本明細書に記載されている、ある特定の細胞生存能試験では、トリプタン青色色素排除法またはＭＴＳアッセイを用いて評価した。本明細書に記載されている特定のアポトーシス試験及び関連試験では、アネキシンＶ陽性性によるＦＡＣＳを介して測定した。細胞増殖の阻害に関する５０％阻害濃度（ＩＣ$_{50}$）と、アポトーシスの誘導に関する５０％効果濃度（ＥＣ$_{50}$）は、ＣａｌｃｕＳｙｎ（ＢｉｏＳｏｆｔ，Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ，ＵＫ）を用いて算出した。
【０１８１】
イムノブロットアッセイ：細胞を様々な濃度の化合物７で処理し、細胞溶解物のために回収した。示されているタンパク質の総レベルとリン酸化レベルをウエスタンブロットによって求めた。
【０１８２】
動物試験：Ｂａｌｂ／ｃマウスにヒト細胞（例えば、ＦＬＴ－ＩＴＤ変異白血病細胞ＭＶ４－１１）を注射し（皮下）、示されている用量の化合物７で１４日間、経口処置した（１日１回）。腫瘍量を測定することによって、作用（例えば、抗白血病作用）を評価した。例えば、体重を測定することによって、経口毒性を評価した。初日の投与後、示されている時点に、血漿中の化合物７の濃度を測定した。
【０１８３】
抗増殖アッセイベースのＭＴＳアッセイ：ＭＴＳアッセイを行って、抗増殖性細胞外シグナル関連キナーゼを評価した（Ｂａｒｌｔｒｏｐ，Ｊ．Ａ．ｅｔ ａｌ．，（１９９１）５－（３－ｃａｒｂｏｘｙｍｅｔｈｏｘｙｐｈｅｎｙｌ）－２－（４，５－ｄｉｍｅｔｈｙｌｔｈｉａｚｏｌｙ）－３－（４－ｓｕｌｆｏｐｈｅｎｙｌ）ｔｅｔｒａｚｏｌｉｕｍ，ｉｎｎｅｒ ｓａｌｔ（ＭＴＳ）ａｎｄ ｒｅｌａｔｅｄ ａｎａｌｏｇ ｏｆ ３－（４，５－ｄｉｍｅｔｈｙｌｔｈｉａｚｏｌｙｌ）－２，５，－ｄｉｐｈｅｎｙｌｔｅｔｒａｚｏｌｉｕｍ ｂｒｏｍｉｄｅ（ＭＴＴ）ｒｅｄｕｃｉｎｇ ｔｏ ｐｕｒｐｌｅ ｗａｔｅｒ ｓｏｌｕｂｌｅ ａｃｔｉｖｉｔｉｅｓ ｏｆ ｔｈｅ ｉｎｖｅｎｔｉｖｅ ｃｏｍｐｏｕｎｄｓ ｖｉａ ｉｎｈｉｂｉｔｉｏｎ ｏｎ ｆｏｒｍａｚａｎｓ ａｓ ｃｅｌｌ－ｖｉａｂｉｌｉｔｙ ｉｎｄｉｃａｔｏｒｓ．Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．ｌ，６１１－４、Ｃｏｒｙ，Ａ．Ｈ．ｅｔ ａｌ．，（１９９１）；Ｕｓｅ ｏｆ ａｎ ａｑｕｅｏｕｓ ｓｏｌｕｂｌｅ ｔｅｒｔｒａｚｏｌｉｕｍ／ｆｏｒｍａｚａｎ ａｓｓａｙ ｆｏｒ ｃｅｌｌ ｇｒｏｗｔｈ ａｓｓａｙｓ ｉｎ ｃｕｌｔｕｒｅ．Ｃａｎｃｅｒ Ｃｏｍｍ．３，２０７－１２）。下に示されている手順による試験には、ヒトリンパ腫細胞株、例えば、Ｊｅｋｏ－１（ＡＴＣＣ）、Ｍｉｎｏ（ＡＴＣＣ）、Ｈ９（Ｋｏｒｅａｎ Ｃｅｌｌ Ｌｉｎｅ Ｂａｎｋ）及びＳＲ（ＡＴＣＣ）、ならびにヒト白血病細胞株、例えば、ＭＶ４－１１（ＡＴＣＣ）、Ｍｏｌｍ－１３（ＤＳＭＺ）及びＫｕ８１２（ＡＴＣＣ）を用いた。１０％ＦＢＳを添加したＲＰＭＩ１６４０培地（ＧＩＢＣＯ，Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）の入った９６ウェルプレートに、各細胞（例えば、Ｊｅｋｏ－１細胞、Ｍｉｎｏ細胞、Ｈ９細胞、ＳＲ細胞、ＭＶ４－１１細胞、Ｍｏｌｍ－１３細胞及びＫｕ８１２細胞）を１０，０００細胞／ウェルの密度で移してから、２４時間、３７℃及び５％ ２０ CO_2の条件でインキュベートした。ウェルを０．２μＭ、１μＭ、５μＭ、２５μＭ及び１００μＭのそれぞれの試験化合物で処理した。ウェルを０．０８重量％の量（試験化合物と同量）のＤＭＳＯで処理して、対照として用いた。得られた細胞を４８時間インキュベートした。ＭＴＳアッセイは市販されており、そのアッセイとしては、Ｐｒｏｍｅｇａ ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ９６（登録商標）Ａｑｕｅｏｕｓ Ｎｏｎ－Ｒａｄｉｏａｃｔｉｖｅ Ｃｅｌｌ Ｐｒｏｌｉｆｅｒａｔｉｏｎ Ａｓｓａｙが挙げられる。ＭＴＳアッセイは、試験化合物の細胞生存能を評価する目的で行った。３－（４，５－ジメチルチアゾール－２－イル）－５－（３－カルボキシメトキシフェニル）－２－（４－スルホフェニル）－２Ｈ－テトラゾリウム分子内塩（「ＭＴＳ」）とフェナジンメトサルフェート（ＰＭＳ）との混合溶液２０μＬを各ウェルに加えてから、２時間、３７℃で

インキュベートした。続いて、サンプルの吸光度を４９０ｎｍにおいて測定した。未処理されていない対照群にと比較した試験化合物の吸光度に基づき、抗増殖活性レベルを算出した。試験化合物が、がん細胞の増殖を５０％低下させるＥＣ５０（μＭ）値を算出した。本発明の化合物の抗炎症剤、ならびに抗がん剤としての有効性を評価するために、例えば、Ｊｅｋｏ－１リンパ腫細胞、Ｍｉｎｏリンパ腫細胞、Ｈ９リンパ腫細胞及びＳＲリンパ腫細胞を用いることによって、抗増殖活性に関するアッセイを行った。

【０１８４】

ＲＢＣ ＨｏｔＳｐｏｔキナーゼアッセイプロトコール：

用いた試薬：基礎反応緩衝液：２０ｍＭ Ｈｅｐｅｓ（ｐＨ７．５）、１０ｍＭ $MgCl_2$、１ｍＭ ＥＧＴＡ、０．０２％Ｂｒｉｊ３５、０．０２ｍｇ／ｍｌ ＢＳＡ、０．１ｍＭ Na_3VO_4、２ｍＭ ＤＴＴ、１％ＤＭＳＯ。必要とする補因子を各キナーゼ反応液に個々に加える。

【０１８５】

化合物７を１００％のＤＭＳＯに所定の濃度まで溶解した。ＤＭＳ中のｅｐＭｏｔｉｏｎ５０７０によって、段階希釈を行った。基質を反応緩衝液中で新たに調製し、基質溶液に対するいずれの必要な補因子も加えた。溶液にキナーゼを加え、ゆっくり混合した。Ａｃｏｕｓｔｉｃ技術（Ｅｃｈｏ５５０、ナノリットル範囲）によって、化合物７を１００％のＤＭＳＯ中でキナーゼ反応混合物に加え、２０分、室温でインキュベートした。^{33}Ｐ－ＡＴＰ（比活性１０μＣｉ／μｌ）を反応混合物に加えて、反応を開始させ、２時間インキュベートしてから、フィルター結合法によって、キナーゼ活性を検出した。

【０１８６】

シグナル伝達アッセイ：細胞（例えば、ＭＶ４－１１）を指定用量（例えば５００ｐＭ）の化合物７、または比較薬（例えばキザルチニブ）もしくはビヒクル（例えばＤＭＳＯ）で処理してから、ＦＬＴ３とその下流シグナルに関するウエスタンブロットに供した。

【０１８７】

細胞毒性手順：細胞を９６ウェルプレートに播種し、ビヒクルのＤＭＳＯ、または指定の濃度の化合物７で処理し、７２時間インキュベートした。７２時間のインキュベート期間の終わりに、ＭＴＳベースのアッセイを行い、ＧｒａｐｈＰａｄ Ｐｒｉｓｍ７．０によってＩＣ５０を求めた。

【０１８８】

細胞周期解析：細胞をビヒクルのＤＭＳＯまたは化合物７で処理し、ＰＩ及びＥｄＵで染色してから、フローサイトメトリーによって解析して、細胞周期相を割り出した。

【０１８９】

本明細書に論じられる刊行物は、本願の出願日前のそれらの開示内容について示されているに過ぎない。本明細書中のいかなるものも、本発明が、先行発明によるそのような刊行内容に先行する権利を与えられないことを認めるものとして解釈すべきではない。

【０１９０】

すべての刊行物、特許及び特許出願は、そのあらゆる図面及び付属書類を含め、個々の刊行物、特許もしくは特許出願、または図面もしくは付属書類がそれぞれ、参照により、あらゆる目的で、その全体が援用されることが具体的かつ個々に記された場合と同程度に、参照により、あらゆる目的で、その全体が援用される。

【０１９１】

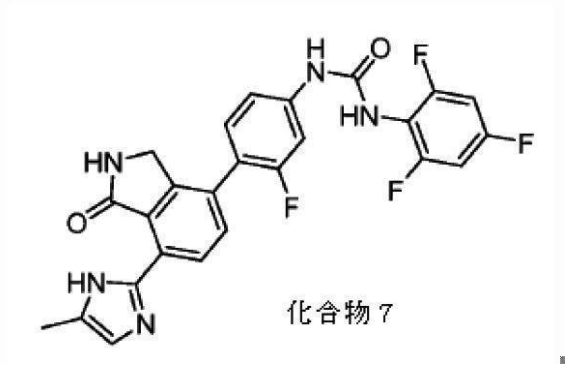
本発明について、提示されているその具体的な実施形態との関連で記載したが、それは、さらなる修正を行うことができ、本願は、本発明の関係する技術分野において既知な形でまたは通常に実施する範囲内にあり、本明細書で上述した本質的特徴に適用することができ、添付の請求項の範囲に従うような本明細書からの逸脱形態を含め、本発明の原理に概ね従っている、本発明のあらゆる変形形態、用途または適合形態を網羅するように意図されていることが理解されるであろう。

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目１)

野生型フムス関連チロシンキナーゼ３（ＦＬＴ３）の活性または発現を阻害または低減することを、それを必要とする対象において行う方法であって、下記の化合物７、

【化５】



化合物７

またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含む、前記方法。

(項目２)

対象の変異ＦＬＴ３の活性または発現の阻害または低減方法であって、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含む、前記方法。

(項目３)

前記変異ＦＬＴ３が、少なくとも１つの点変異を含む、項目２に記載の方法。

(項目４)

前記少なくとも１つの点変異が、Ｄ８３５、Ｆ６９１、Ｋ６６３、Ｙ８４２及びＮ８４１からなる群から選択される１つ以上の残基の変異である、項目３に記載の方法。

(項目５)

前記変異ＦＬＴ３が、少なくとも１つの変異をＤ８３５に含む、項目３に記載の方法。

(項目４)

前記変異ＦＬＴ３が、少なくとも１つの変異をＦ６９１に含む、項目３に記載の方法。

(項目５)

前記変異ＦＬＴ３が、少なくとも１つの変異をＫ６６３に含む、項目３に記載の方法。

(項目６)

前記変異ＦＬＴ３が、少なくとも１つの変異をＮ８４１に含む、項目３に記載の方法。

(項目７)

前記少なくとも１つの点変異が、ＦＬＴ３のチロシンキナーゼドメインにある、項目３に記載の方法。

(項目８)

前記少なくとも１つの点変異が、ＦＬＴ３の活性化ループにある、項目３に記載の方法。

(項目９)

前記少なくとも１つの点変異が、６８６位、６８７位、６８８位、６８９位、６９０位、６９１位、６９２位、６９３位、６９４位、６９５位及び６９６位からなる群から選択される１つ以上の位置のアミノ酸残基の変異である、項目３に記載の方法。

(項目１０)

前記変異ＦＬＴ３が、追加のＩＴＤ変異を有する、項目２～９のいずれか１項に記載の方法。

(項目１１)

前記変異ＦＬＴ３が、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｈ、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｖ、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｙ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｖ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｙ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｈ、ＦＬＴ３－Ｆ６９１Ｌ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｆ６９１Ｌ、ＦＬＴ３－Ｋ６６３Ｑ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｋ６６３Ｑ、ＦＬＴ３－Ｎ８４１Ｉ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｎ８４１Ｉ、ＦＬＴ３－Ｒ８３４Ｑ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－８３４Ｑ、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｇ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｇ、ＦＬＴ３－Ｙ８４２Ｃ及びＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｙ８４２Ｃからなる群から選択される１つ以上の変異を有する、項目２に記載の方法。

(項目１２)
前記少なくとも１つの点変異が、同じ対立遺伝子に存在する２つ以上の点変異である、項目３～１１に記載の方法。
(項目１３)
前記少なくとも１つの点変異が、異なる対立遺伝子に存在する２つ以上の点変異である、項目３～１１に記載の方法。
(項目１４)
前記対象が、哺乳動物である、項目２に記載の方法。
(項目１５)
前記対象が、ヒトである、項目１４に記載の方法。
(項目１６)
ヒト細胞における野生型の活性または発現の阻害または低減方法であって、下記の化合物７、
【化６】



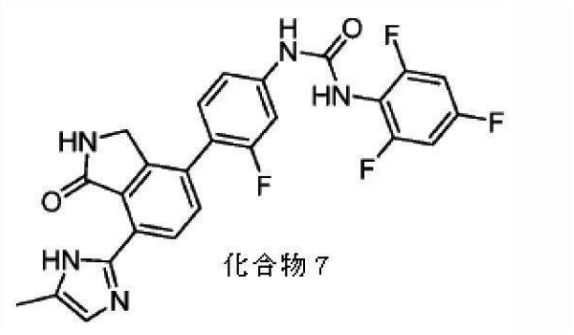
またはその製薬学的に許容可能な塩を前記ヒト細胞と接触させることを含む、前記方法。
(項目１７)
ヒト細胞における変異ＦＬＴ３の活性または発現の阻害または低減方法であって、下記の化合物７、
【化７】



またはその製薬学的に許容可能な塩を前記ヒト細胞と接触させることを含む、前記方法。
(項目１８)
前記変異ＦＬＴ３が、少なくとも１つの点変異を含む、項目１７に記載の方法。
(項目１９)
前記少なくとも１つの点変異が、Ｄ８３５、Ｆ６９１、Ｋ６６３、Ｙ８４２及びＮ８４１からなる群から選択される１つ以上の残基の変異である、項目１８に記載の方法。
(項目２０)
前記変異ＦＬＴ３が、少なくとも１つの変異をＤ８３５に含む、項目１７に記載の方法。
(項目２１)
前記変異ＦＬＴ３が、少なくとも１つの変異をＦ６９１に含む、項目１７に記載の方法。
(項目２２)

前記変異ＦＬＴ３が、少なくとも１つの変異をＫ６６３に含む、項目１７に記載の方法。
(項目２３)
前記変異ＦＬＴ３が、少なくとも１つの変異をＮ８４１に含む、項目１７に記載の方法。
(項目２４)
前記少なくとも１つの点変異が、ＦＬＴ３のチロシンキナーゼドメインにある、項目１８に記載の方法。
(項目２５)
前記少なくとも１つの点変異が、ＦＬＴ３の活性化ループにある、項目１８に記載の方法。
(項目２６)
前記少なくとも１つの点変異が、６８６位、６８７位、６８８位、６８９位、６９０位、６９１位、６９２位、６９３位、６９４位、６９５位及び６９６位からなる群から選択される１つ以上の位置のアミノ酸残基の変異である、項目１８に記載の方法。
(項目２７)
前記変異ＦＬＴ３が、追加のＩＴＤ変異を有する、項目１７～２６のいずれか１項に記載の方法。
(項目２８)
前記変異ＦＬＴ３が、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｈ、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｖ、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｙ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｖ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｙ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｈ、ＦＬＴ３－Ｆ６９１Ｌ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｆ６９１Ｌ、ＦＬＴ３－Ｋ６６３Ｑ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｋ６６３Ｑ、ＦＬＴ３－Ｎ８４１Ｉ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｎ８４１Ｉ、ＦＬＴ３－Ｒ８３４Ｑ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－８３４Ｑ、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｇ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｇ、ＦＬＴ３－Ｙ８４２Ｃ及びＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｙ８４２Ｃからなる群から選択される１つ以上の変異を有する、項目１７に記載の方法。
(項目２９)
前記少なくとも１つの点変異が、同じ対立遺伝子に存在する２つ以上の点変異である、項目１８～２８に記載の方法。
(項目３０)
前記少なくとも１つの点変異が、異なる対立遺伝子に存在する２つ以上の点変異である、項目１８～２８に記載の方法。
(項目３１)
前記ヒト細胞が、ヒト白血病細胞株である、項目１６または１７に記載の方法。
(項目３２)
前記ヒト白血病細胞株が、急性リンパ性白血病細胞株、急性骨髄性白血病細胞株、急性前骨髄球性白血病細胞株、慢性リンパ性白血病細胞株、慢性骨髄性白血病細胞株、慢性好中球性白血病細胞株、急性未分化白血病細胞株、未分化大細胞型リンパ腫細胞株、前リンパ球性白血病細胞株、若年性骨髄単球性白血病細胞株、成人Ｔ細胞急性リンパ性白血病細胞株、３血球系異形成を伴う急性骨髄性白血病細胞株、混合系統白血病細胞株、好酸球性白血病細胞株またはマントル細胞リンパ腫細胞株である、項目３１に記載の方法。
(項目３３)
前記ヒト白血病細胞株が、好酸球性白血病細胞株である、項目３１に記載の方法。
(項目３４)
前記ヒト白血病細胞株が、急性骨髄性白血病細胞株である、項目３１に記載の方法。
(項目３５)
野生型ＦＬＴ３発現細胞のアポトーシスを誘導することを、それを必要とする対象において行う方法であって、下記の化合物７、

【化８】

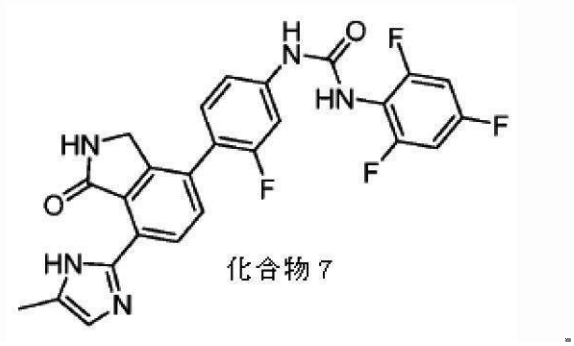


またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含む、前記方法。

(項目３６)

変異ＦＬＴ３発現細胞のアポトーシスを誘導することを、それを必要とする対象において行う方法であって、下記の化合物７、

【化９】



またはsonoseiyakugakutekinikyoyoukanounaenwotouyosurukotowohukumu,zenkihouhou.

(項目３７)

前記変異ＦＬＴ３が、少なくとも１つの点変異を含む、項目３６に記載の方法。

(項目３８)

前記少なくとも１つの点変異が、Ｄ８３５、Ｆ６９１、Ｋ６６３、Ｙ８４２及びＮ８４１からなる群から選択される１つ以上の残基の変異である、項目３７に記載の方法。

(項目３９)

前記変異ＦＬＴ３が、少なくとも１つの変異をＤ８３５に含む、項目３７に記載の方法。

(項目４０)

前記変異ＦＬＴ３が、少なくとも１つの変異をＦ６９１に含む、項目３７に記載の方法。

(項目４１)

前記変異ＦＬＴ３が、少なくとも１つの変異をＫ６６３に含む、項目３７に記載の方法。

(項目４２)

前記変異ＦＬＴ３が、少なくとも１つの変異をＮ８４１に含む、項目３７に記載の方法。

(項目４３)

前記少なくとも１つの点変異が、ＦＬＴ３のチロシンキナーゼドメインにある、項目３７に記載の方法。

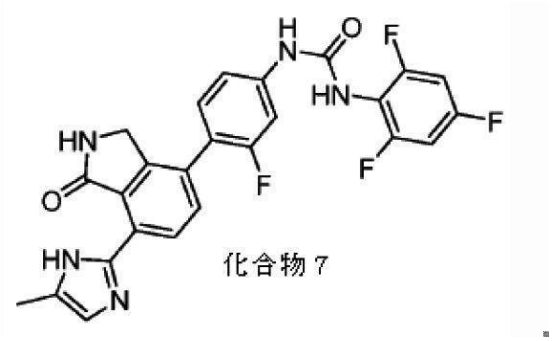
(項目４４)

前記少なくとも１つの点変異が、ＦＬＴ３の活性化ループにある、項目３７に記載の方法。

(項目４５)

前記少なくとも１つの点変異が、６８６位、６８７位、６８８位、６８９位、６９０位、６９１位、６９２位、６９３位、６９４位、６９５位及び６９６位からなる群から選択

される１つ以上の位置のアミノ酸残基の変異である、項目３７に記載の方法。
(項目４６)
前記変異ＦＬＴ３が、追加のＩＴＤ変異を有する、項目３６～４５のいずれか１項に記載の方法。
(項目４７)
前記変異ＦＬＴ３が、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｈ、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｖ、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｙ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｖ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｙ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｈ、ＦＬＴ３－Ｆ６９１Ｌ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｆ６９１Ｌ、ＦＬＴ３－Ｋ６６３Ｑ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｋ６６３Ｑ、ＦＬＴ３－Ｎ８４１Ｉ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｎ８４１Ｉ、ＦＬＴ３－Ｒ８３４Ｑ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－８３４Ｑ、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｇ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｇ、ＦＬＴ３－Ｙ８４２Ｃ及びＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｙ８４２Ｃからなる群から選択される１つ以上の変異を有する、項目３６に記載の方法。
(項目４８)
前記少なくとも１つの点変異が、同じ対立遺伝子に存在する２つ以上の点変異である、項目３７～４７に記載の方法。
(項目４９)
前記少なくとも１つの点変異が、異なる対立遺伝子に存在する２つ以上の点変異である、項目３７～４７に記載の方法。
(項目５０)
野生型ＦＬＴ３と関連する血液悪性腫瘍の治療方法であって、それを必要とする対象に、下記の化合物７、
【化１０】

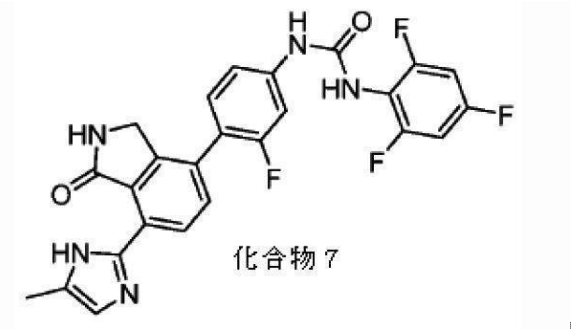


化合物７

またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含む、前記方法。
(項目５１)
野生型ＦＬＴ３の活性または発現を阻害または低減する、項目５０に記載の方法。
(項目５２)
変異ＦＬＴ３と関連する血液悪性腫瘍の治療方法であって、それを必要とする対象に、化合物７またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含む、前記方法。
(項目５３)
変異ＦＬＴ３の活性または発現を阻害または低減する、項目５２に記載の方法。
(項目５４)
前記変異が、少なくとも１つの点変異を含む、項目５３に記載の方法。
(項目５５)
前記少なくとも１つの点変異が、Ｄ８３５、Ｆ６９１、Ｋ６６３、Ｙ８４２及びＮ８４１からなる群から選択される１つ以上の残基の変異である、項目５３に記載の方法。
(項目５６)
前記変異ＦＬＴ３が、少なくとも１つの変異をＤ８３５に含む、項目５３に記載の方法。
(項目５７)
前記変異ＦＬＴ３が、少なくとも１つの変異をＦ６９１に含む、項目５３に記載の方法。
(項目５８)

前記変異ＦＬＴ３が、少なくとも１つの変異をＫ６６３に含む、項目５３に記載の方法。
(項目５９)
前記変異ＦＬＴ３が、少なくとも１つの変異をＮ８４１に含む、項目５３に記載の方法。
(項目６０)
前記少なくとも１つの点変異が、ＦＬＴ３のチロシンキナーゼドメインにある、項目５３に記載の方法。
(項目６１)
前記少なくとも１つの点変異が、ＦＬＴ３の活性化ループにある、項目５３に記載の方法。
(項目６２)
前記少なくとも１つの点変異が、６８６位、６８７位、６８８位、６８９位、６９０位、６９１位、６９２位、６９３位、６９４位、６９５位及び６９６位からなる群から選択される１つ以上の位置のアミノ酸残基の変異である、項目５３に記載の方法。
(項目６３)
前記変異ＦＬＴ３が、追加のＩＴＤ変異を有する、項目５２～６２のいずれか１項に記載の方法。
(項目６４)
前記変異ＦＬＴ３が、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｈ、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｖ、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｙ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｖ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｙ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｈ、ＦＬＴ３－Ｆ６９１Ｌ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｆ６９１Ｌ、ＦＬＴ３－Ｋ６６３Ｑ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｋ６６３Ｑ、ＦＬＴ３－Ｎ８４１Ｉ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｎ８４１Ｉ、ＦＬＴ３－Ｒ８３４Ｑ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－８３４Ｑ、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｇ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｇ、ＦＬＴ３－Ｙ８４２Ｃ及びＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｙ８４２Ｃからなる群から選択される１つ以上の変異を有する、項目５２に記載の方法。
(項目６５)
前記１つ以上の変異が、同じ対立遺伝子に存在する、項目５３～６４に記載の方法。
(項目６６)
前記１つ以上の変異が、異なる対立遺伝子に存在する、項目５３～６４に記載の方法。
(項目６７)
前記血液悪性腫瘍が、白血病である、項目５０または５２に記載の方法。
(項目６８)
前記白血病が、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、急性前骨髄球性白血病、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性好中球性白血病、急性未分化白血病、未分化大細胞型リンパ腫、前リンパ球性白血病、若年性骨髄単球性白血病、成人Ｔ細胞急性リンパ性白血病、３血球系異形成を伴う急性骨髄性白血病、混合系統白血病、好酸球性白血病またはマントル細胞リンパ腫である、項目６７に記載の方法。
(項目６９)
前記白血病が、好酸球性白血病である、項目６８に記載の方法。
(項目７０)
前記白血病が、急性骨髄性白血病である、項目６８に記載の方法。
(項目７１)
血液悪性腫瘍の治療を、それを必要とする対象において行う方法であって、下記の化合物７、

【化１１】



またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含み、前記対象が、ＦＬＴ３の活性または発現の阻害剤に対して、耐性または再発を示す、前記方法。

(項目７２)

前記阻害剤が、キザルチニブ、ギルテリチニブ、スニチニブ、ソラフェニブ、ミドスタウリン、レスタウルチニブ、クレノラニブ、ＰＬＸ３３９７、ＰＬＸ３６２３、クレノラニブ、ポナチニブまたはパクリチニブである、項目７１に記載の方法。

(項目７３)

前記阻害剤が、キザルチニブまたはギルテリチニブである、項目７１に記載の方法。

(項目７４)

前記血液悪性腫瘍が、白血病である、項目７１に記載の方法。

(項目７５)

前記白血病が、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、急性前骨髄球性白血病、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性好中球性白血病、急性未分化白血病、未分化大細胞型リンパ腫、前リンパ球性白血病、若年性骨髄単球性白血病、成人Ｔ細胞急性リンパ性白血病、３血球系異形成を伴う急性骨髄性白血病、混合系統白血病、好酸球性白血病またはマントル細胞リンパ腫である、項目７４に記載の方法。

(項目７６)

前記白血病が、好酸球性白血病である、項目７４に記載の方法。

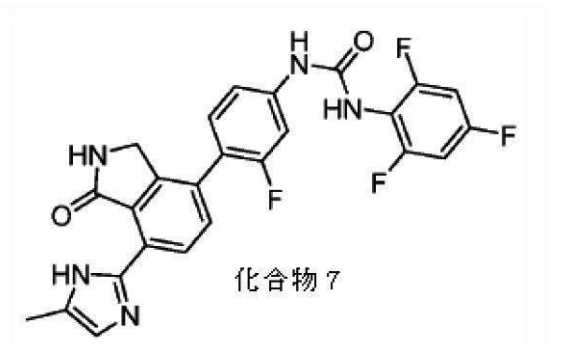
(項目７７)

前記白血病が、急性骨髄性白血病である、項目７４に記載の方法。

(項目７８)

異常な（例えば、過剰発現した）野生型ＢＴＫまたは変異ＢＴＫの活性または発現を阻害または低減することを、それを必要とする対象において行う方法であって、下記の化合物７、

【化１２】



またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含む、前記方法。

(項目７９)

前記変異ＢＴＫが、少なくとも１つの点変異を含む、項目７８に記載の方法。

(項目８０)

前記少なくとも１つの点変異が、システイン残基の変異である、項目７９に記載の方法。
(項目８１)
前記システイン残基が、ＢＴＫのキナーゼドメインにある、項目８０に記載の方法。
(項目８２)
前記少なくとも１つの点変異が、Ｅ４１残基、Ｐ１９０残基及びＣ４８１残基からなる群から選択される１つ以上である、項目７９に記載の方法。
(項目８３)
前記少なくとも１つの点変異が、Ｃ４８１残基の変異である、項目８０に記載の方法。
(項目８４)
Ｃ４８１残基の前記点変異が、Ｃ４８１Ｓ、Ｃ４８１Ｒ、Ｃ４８１Ｔ及び／またはＣ４８１Ｙから選択される、項目８３に記載の方法。
(項目８５)
前記少なくとも１つの点変異が、Ｅ４１Ｋ、Ｐ１９０Ｋ及びＣ４８１Ｓからなる群から選択される１つ以上である、項目８０に記載の方法。
(項目８６)
前記ＢＴＫ変異体が、共有結合性ＢＴＫ阻害剤による阻害に対して耐性を持つ、項目７８に記載の方法。
(項目８７)
共有結合性不可逆性ＢＴＫ阻害剤によって野生型ＢＴＫの活性を阻害した場合よりも、共有結合性不可逆性ＢＴＫ阻害剤によって変異ＢＴＫの活性が阻害される程度が低い、項目７８に記載の方法。
(項目８８)
前記共有結合性不可逆性ＢＴＫ阻害剤の前記変異ＢＴＫに対するＩＣ５０が、前記野生型ＢＴＫに対するよりも少なくとも５０％高い、項目８７に記載の方法。
(項目８９)
前記不可逆性共有結合性ＢＴＫ阻害剤が、イブルチニブ及び／またはアカラブルチニブである、項目８６に記載の方法。
(項目９０)
前記不可逆性共有結合性ＢＴＫ阻害剤が、イブルチニブである、項目８９に記載の方法。
(項目９１)
前記システイン上の前記点変異が、ＢＴＫの１つの対立遺伝子のみにある、項目８３に記載の方法。
(項目９２)
前記システイン上の前記点変異が、ＢＴＫの２つの対立遺伝子にある、項目８３に記載の方法。
(項目９３)
前記対象が、哺乳動物である、項目７８に記載の方法。
(項目９４)
前記対象が、ヒトである、項目９３に記載の方法。
(項目９５)
がんの治療を、それを必要とする対象において行う方法であって、それを必要とする対象に、下記の化合物７、

【化１３】

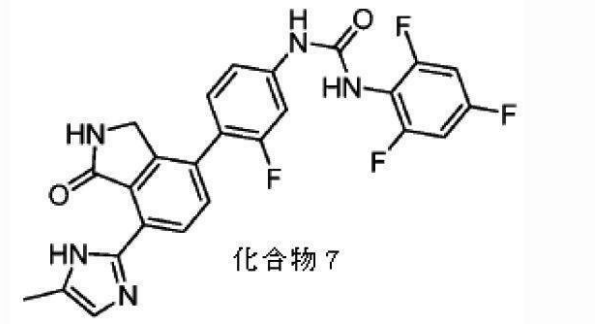


またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含み、前記対象が、ＢＴＫの変異型を有する、前記方法。

(項目９６)

Ｂ細胞悪性腫瘍の治療を、それを必要とする対象において行う方法であって、前記対象に、下記の化合物７、

【化１４】



またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含む、前記方法。

(項目９７)

前記対象が、ＢＴＫの変異型を有する、項目９６に記載の方法。

(項目９８)

前記治療するＢ細胞悪性腫瘍が、マントル細胞リンパ腫（ＭＣＬ）、Ｂ細胞急性リンパ芽球性白血病（Ｂ－ＡＬＬ）、バーキットリンパ腫、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）及びびまん性大細胞型Ｂ細胞性リンパ腫（ＤＬＢＣＬ）からなる群の１つ以上から選択される、項目９６または９７に記載の方法。

(項目９９)

前記治療するＢ細胞悪性腫瘍が、マントル細胞リンパ腫（ＭＣＬ）である、項目９８に記載の方法。

(項目１００)

前記治療するＢ細胞悪性腫瘍が、Ｂ細胞急性リンパ芽球性白血病（Ｂ－ＡＬＬ）である、項目９８に記載の方法。

(項目１０１)

前記治療するＢ細胞悪性腫瘍が、バーキットリンパ腫である、項目９８に記載の方法。

(項目１０２)

前記治療するＢ細胞悪性腫瘍が、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）である、項目９８に記載の方法。

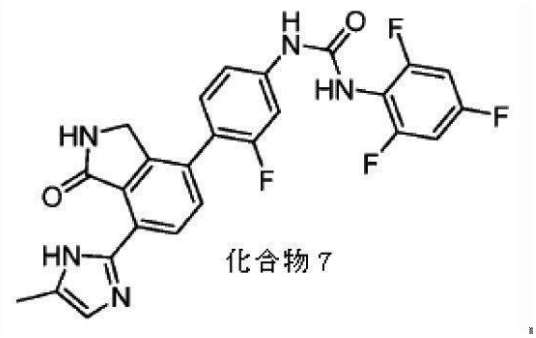
(項目１０３)

前記治療するＢ細胞悪性腫瘍が、びまん性大細胞型Ｂ細胞性リンパ腫（ＤＬＢＣＬ）である、項目９８に記載の方法。

(項目１０４)

化合物７が、オーロラキナーゼの活性を阻害及び／または低減する、項目９５～１０３のいずれか１項に記載の方法。
(項目１０５)
前記オーロラキナーゼが、変異オーロラキナーゼである、項目１０４に記載の方法。
(項目１０６)
化合物７の投与によって、アポトーシスを誘導する、項目９５～１０５のいずれか１項に記載の方法。
(項目１０７)
化合物７の投与によって、多倍体化を誘導する、項目９５～１０５のいずれか１項に記載の方法。
(項目１０８)
化合物７が、野生型ＢＴＫの活性または発現を阻害及び／または低減する、項目９５～１０７のいずれか１項に記載の方法。
(項目１０９)
化合物７が、変異ＢＴＫの活性または発現を阻害及び／または低減する、項目９５～１０７のいずれか１項に記載の方法。
(項目１１０)
前記変異ＢＴＫが、少なくとも１つの点変異を含む、項目１０９に記載の方法。
(項目１１１)
前記少なくとも１つの点変異が、システイン残基の変異である、項目１１０に記載の方法。
(項目１１２)
前記少なくとも１つの点変異が、Ｃ４８１残基の変異である、項目１１１に記載の方法。
(項目１１３)
化合物７が、対象の野生型フムス関連チロシンキナーゼ３（ＦＬＴ３）の活性または発現を阻害及び／または低減する、項目９５～１１２のいずれか１項に記載の方法。
(項目１１４)
化合物７が、前記対象の変異型フムス関連チロシンキナーゼ３（ＦＬＴ３）の活性または発現を阻害及び／または低減する、項目９５～１１２のいずれか１項に記載の方法。
(項目１１５)
前記変異ＦＬＴ３が、少なくとも１つの点変異を含む、項目１１４に記載の方法。
(項目１１６)
前記少なくとも１つの点変異が、Ｄ８３５、Ｆ６９１、Ｋ６６３、Ｙ８４２及びＮ８４１からなる群から選択される１つ以上の残基の変異である、項目１１５に記載の方法。
(項目１１７)
前記変異ＦＬＴ３が、ＦＬＴ３－ＩＴＤである、項目１１６に記載の方法。
(項目１１８)
前記変異ＦＬＴ３が、追加のＩＴＤ変異を有する、項目１１６に記載の方法。
(項目１１９)
ヒト細胞の異常な（例えば、過剰発現した）野生型ＢＴＫまたは変異ＢＴＫの活性または発現の阻害または低減方法であって、下記の化合物７、

【化１５】



化合物７

またはその製薬学的に許容可能な塩を前記ヒト細胞と接触させることを含む、前記方法。

(項目１２０)

前記変異ＢＴＫが、少なくとも１つの点変異を含む、項目１１９に記載の方法。

(項目１２１)

前記少なくとも１つの点変異が、システイン残基の変異である、項目１２０に記載の方法。

(項目１２２)

前記システイン残基が、ＢＴＫのキナーゼドメインにある、項目１２１に記載の方法。

(項目１２３)

前記少なくとも１つの点変異が、Ｅ４１残基、Ｐ１９０残基及びＣ４８１残基からなる群から選択される１つ以上である、項目１２１に記載の方法。

(項目１２４)

前記少なくとも１つの点変異が、システイン４８１残基の変異である、項目１２３に記載の方法。

(項目１２５)

システイン４８１残基の前記点変異が、Ｃ４８１Ｓ、Ｃ４８１Ｒ、Ｃ４８１Ｔ及び／またはＣ４８１Ｙから選択されている、項目１２４に記載の方法。

(項目１２６)

システイン４８１残基の前記点変異が、Ｃ４８１Ｒ、Ｃ４８１Ｔ及び／またはＣ４８１Ｙから選択される、項目１２８に記載の方法。

(項目１２７)

さらに、血液悪性腫瘍を治療する、項目９６または９７に記載の方法。

(項目１２８)

前記血液悪性腫瘍が、白血病である、項目１２７に記載の方法。

(項目１２９)

前記白血病が、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、急性前骨髄球性白血病、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性好中球性白血病、急性未分化白血病、未分化大細胞型リンパ腫、前リンパ球性白血病、若年性骨髄単球性白血病、成人Ｔ細胞急性リンパ性白血病、３血球系異形成を伴う急性骨髄性白血病、混合系統白血病、好酸球性白血病及び／またはマントル細胞リンパ腫である、項目１２８に記載の方法。

(項目１３０)

前記白血病が、急性骨髄性白血病である、項目１２９に記載の方法。

(項目１３１)

がんの治療を、それを必要とする対象において行う方法であって、それが必要な対象に、下記の化合物７、

【化１６】



化合物７

またはその製薬学的に許容可能な塩を投与することを含み、前記対象が、変異型のＦＬＴ３を有する、前記方法。

(項目１３２)

前記変異ＦＬＴ３が、少なくとも１つの点変異を含む、項目１３１に記載の方法。

(項目１３３)

前記少なくとも１つの点変異が、Ｄ８３５、Ｆ６９１、Ｋ６６３、Ｙ８４２及びＮ８４１からなる群から選択される１つ以上の残基の変異である、項目１３２に記載の方法。

(項目１３４)

前記変異ＦＬＴ３が、少なくとも１つの変異をＤ８３５に含む、項目１３３に記載の方法。

(項目１３５)

前記変異ＦＬＴ３が、少なくとも１つの変異をＦ６９１に含む、項目１３３に記載の方法。

(項目１３６)

前記変異ＦＬＴ３が、少なくとも１つの変異をＫ６６３に含む、項目１３３に記載の方法。

(項目１３７)

前記変異ＦＬＴ３が、少なくとも１つの変異をＮ８４１に含む、項目１３３に記載の方法。

(項目１３８)

前記少なくとも１つの点変異が、ＦＬＴ３のチロシンキナーゼドメインにある、項目１３３に記載の方法。

(項目１３９)

前記少なくとも１つの点変異が、ＦＬＴ３の活性化ループにある、項目１３３に記載の方法。

(項目１４０)

前記少なくとも１つの点変異が、６８６位、６８７位、６８８位、６８９位、６９０位、６９１位、６９２位、６９３位、６９４位、６９５位及び６９６位からなる群から選択される１つ以上の位置のアミノ酸残基の変異である、項目１３３に記載の方法。

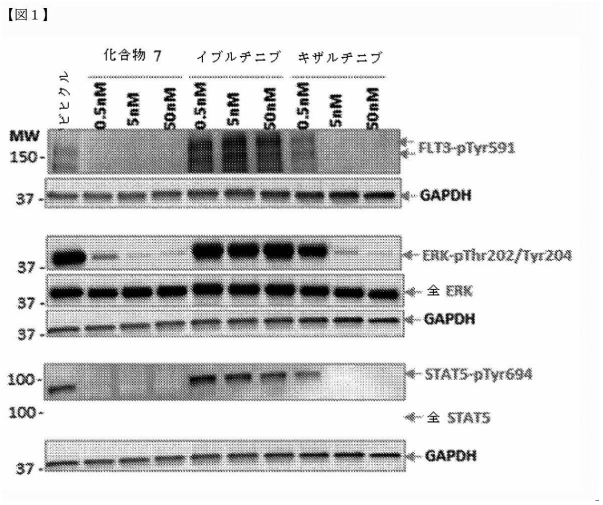
(項目１４１)

前記変異ＦＬＴ３が、追加のＩＴＤ変異を有する、項目１３２～１４０のいずれか１項に記載の方法。

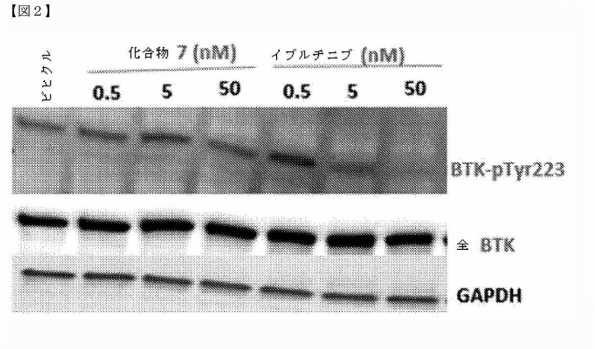
(項目１４２)

前記変異ＦＬＴ３が、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｈ、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｖ、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｙ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｖ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｙ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｈ、ＦＬＴ３－Ｆ６９１Ｌ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｆ６９１Ｌ、ＦＬＴ３－Ｋ６６３Ｑ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｋ６６３Ｑ、ＦＬＴ３－Ｎ８４１Ｉ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｎ８４１Ｉ、ＦＬＴ３－Ｒ８３４Ｑ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－８３４Ｑ、ＦＬＴ３－Ｄ８３５Ｇ、ＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｄ８３５Ｇ、ＦＬＴ３－Ｙ８４２Ｃ及びＦＬＴ３－ＩＴＤ－Ｙ

８４２Ｃからなる群から選択される１つ以上の変異を有する、項目１３１に記載の方法。
(項目１４３)
前記少なくとも１つの点変異が、同じ対立遺伝子に存在する２つ以上の点変異である、項目１３２～１４２のいずれか１項に記載の方法。
(項目１４４)
前記少なくとも１つの点変異が、異なる対立遺伝子に存在する２つ以上の点変異である、項目１３２～１４２のいずれか１項に記載の方法。
(項目１４５)
前記がんが、白血病である、項目１３１～１４４のいずれか１項に記載の方法。
(項目１４６)
前記白血病が、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、急性前骨髄球性白血病、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性好中球性白血病、急性未分化白血病、未分化大細胞型リンパ腫、前リンパ球性白血病、若年性骨髄単球性白血病、成人Ｔ細胞急性リンパ性白血病、３血球系異形成を伴う急性骨髄性白血病、混合系統白血病、好酸球性白血病及び／またはマントル細胞リンパ腫である、項目１４５に記載の方法。
(項目１４７)
前記白血病が、急性骨髄性白血病である、項目１４６に記載の方法。
【図面】
【図１】

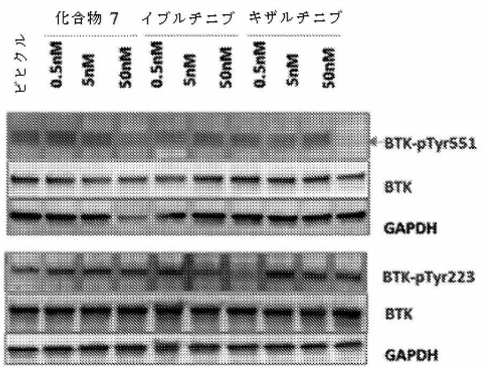


【図２】



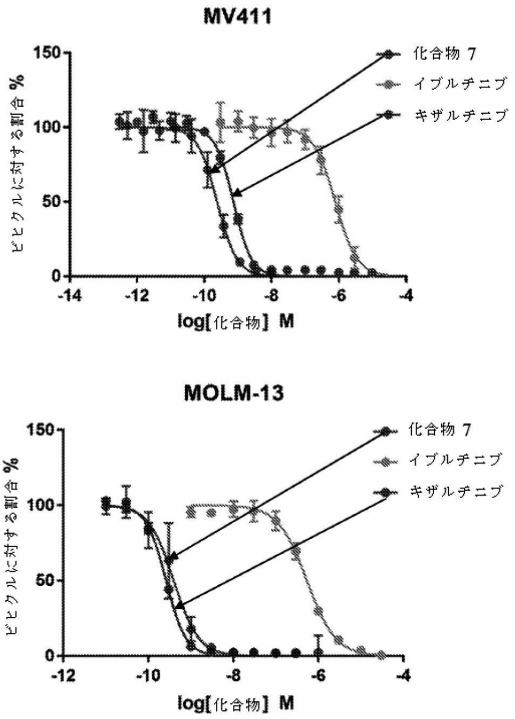
【図３】

【図３】



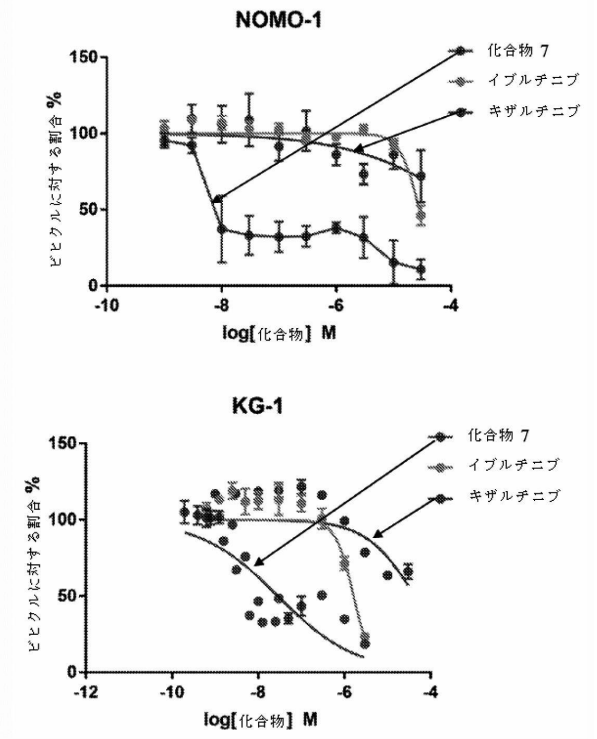
【図４－１】

【図４－１】



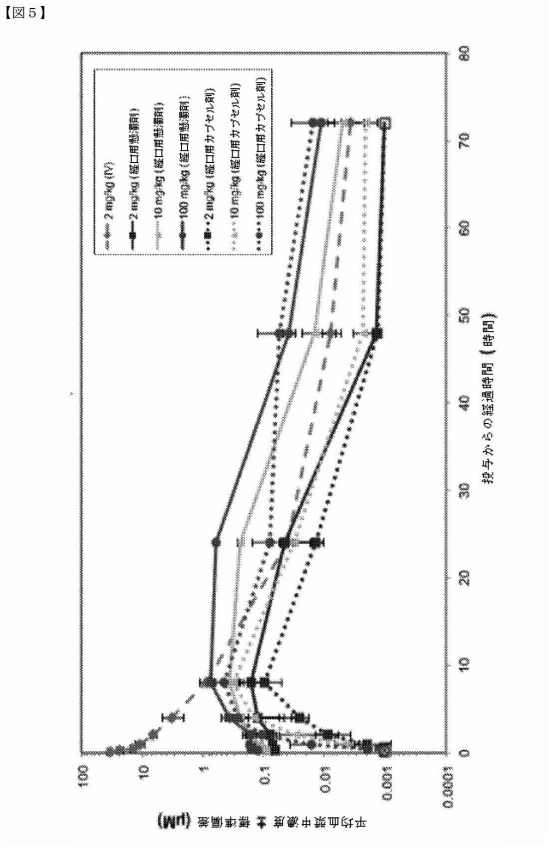
【図４－２】

【図４－２】



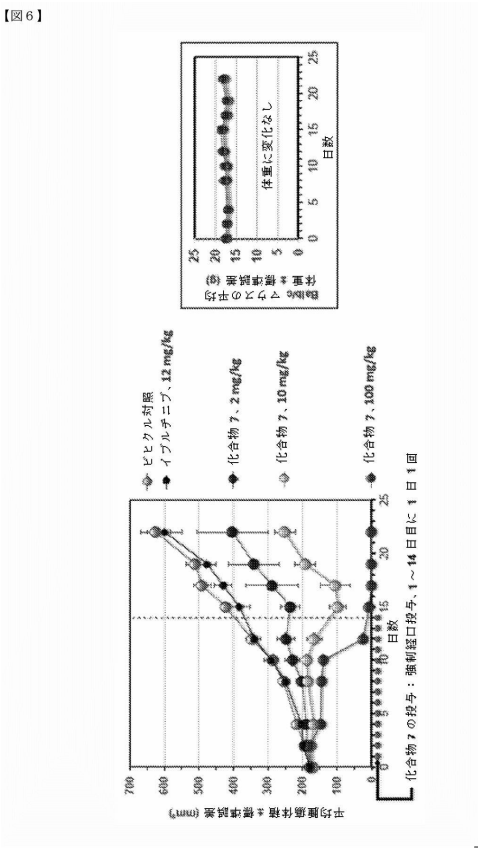
【図５】

【図５】



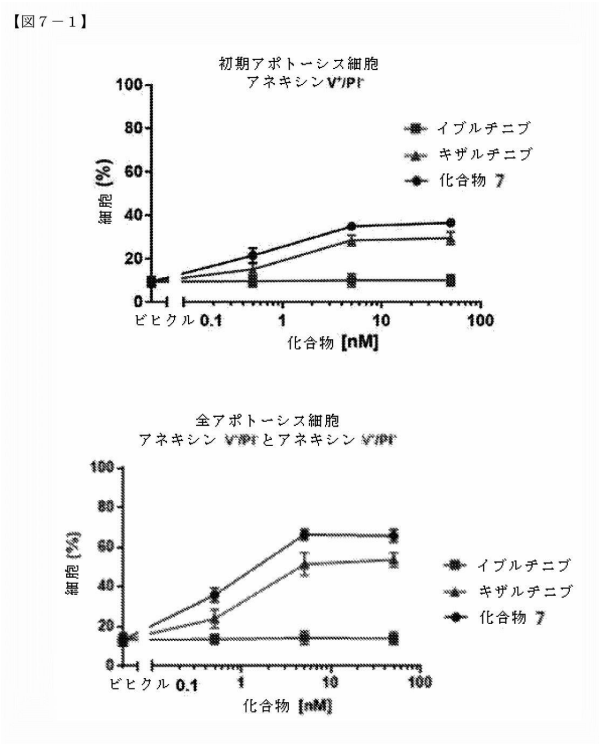
【図６】

【図６】



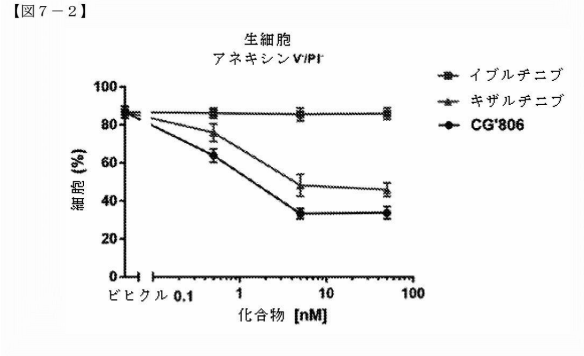
【図７－１】

【図７－１】



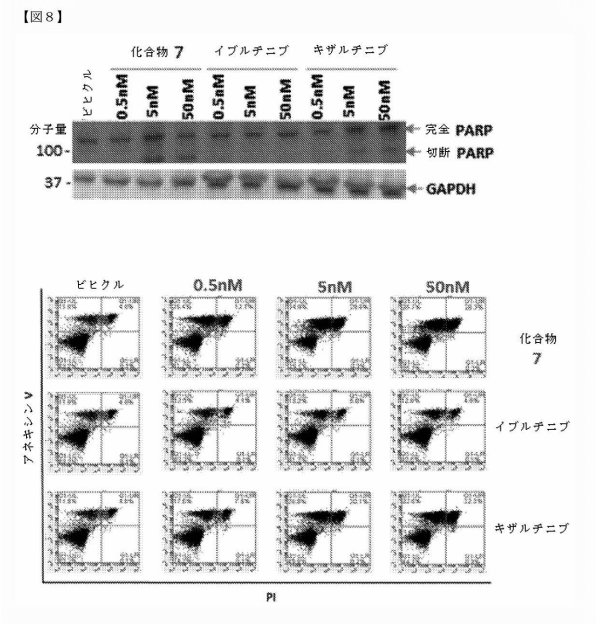
【図７－２】

【図７－２】

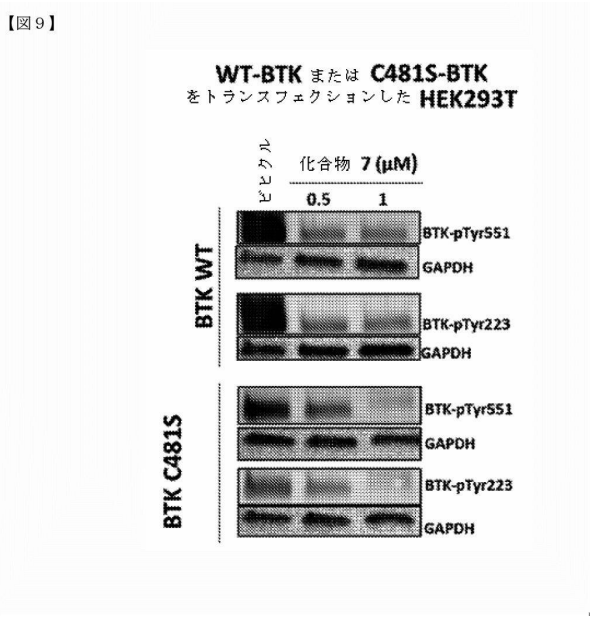


【図８】

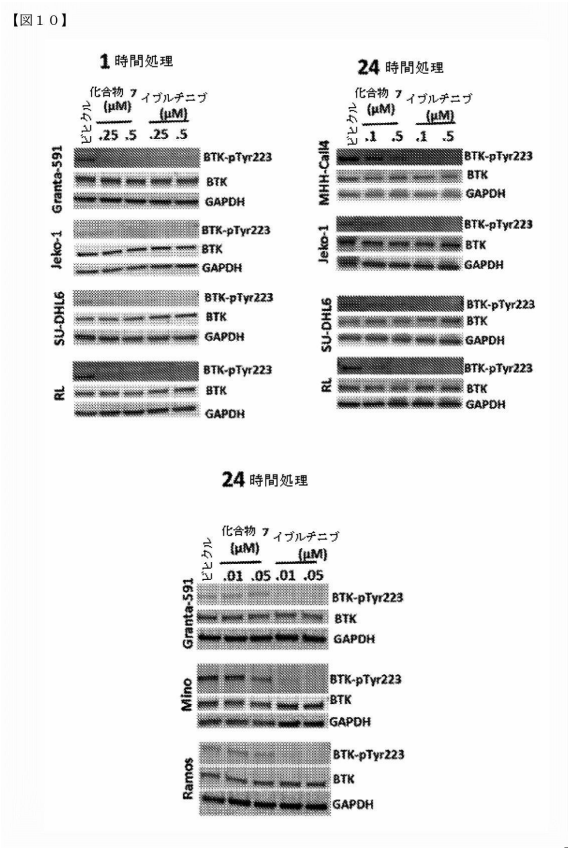
【図８】



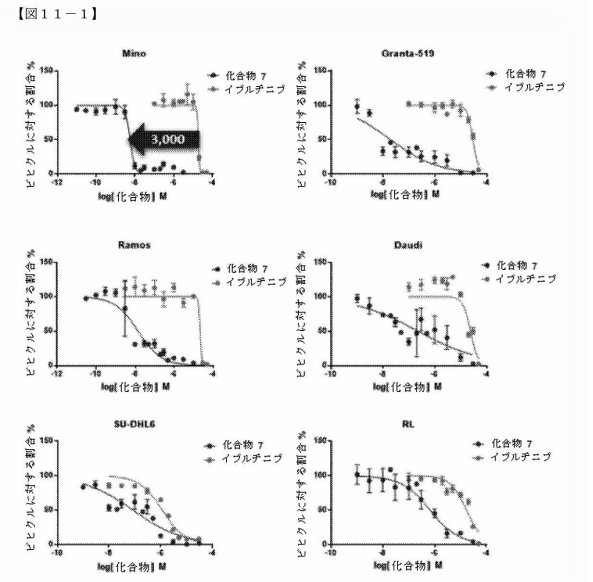
【図９】



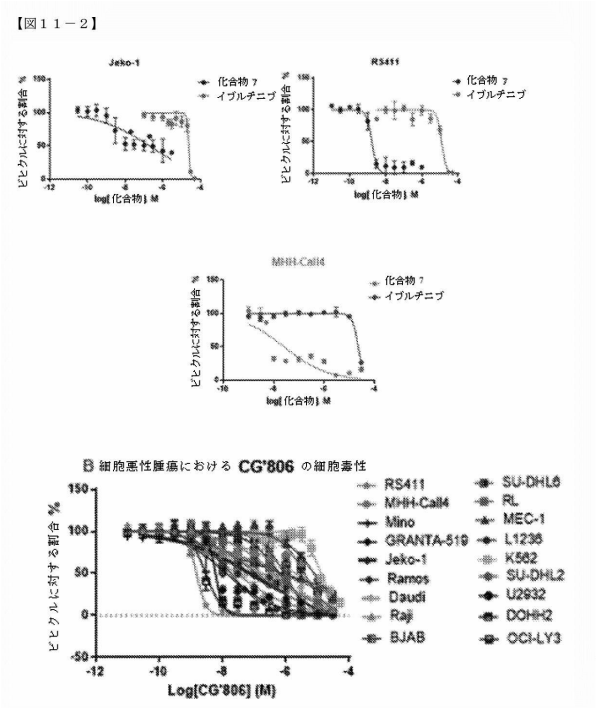
【図１０】



【図１１－１】

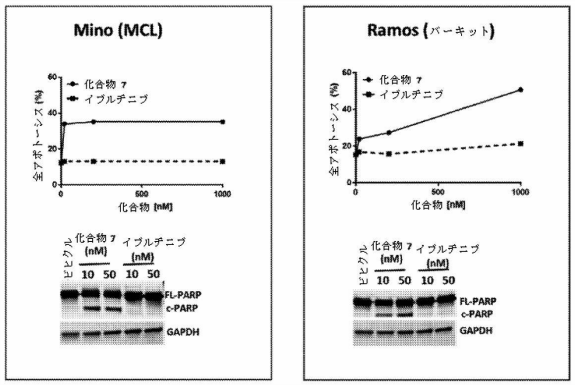


【図１１－２】



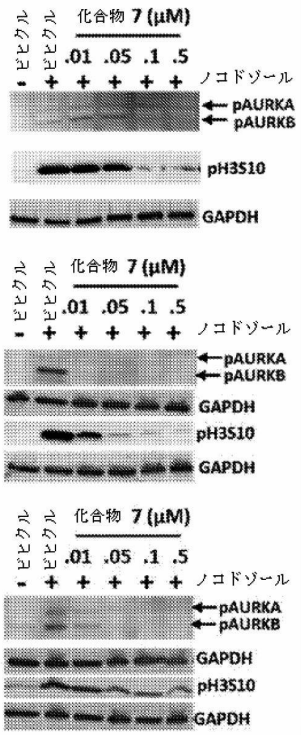
【図１２】

【図１２】



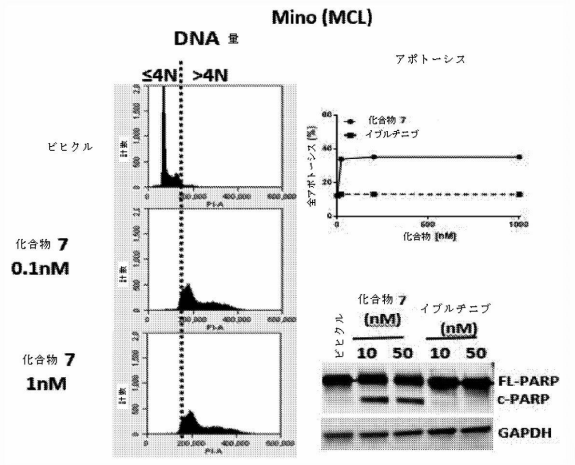
【図１３】

【図１３】



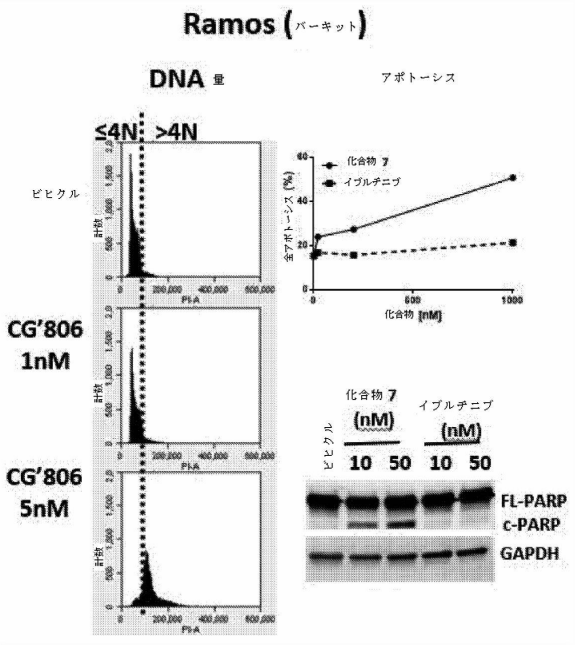
【図１４－１】

【図１４－１】

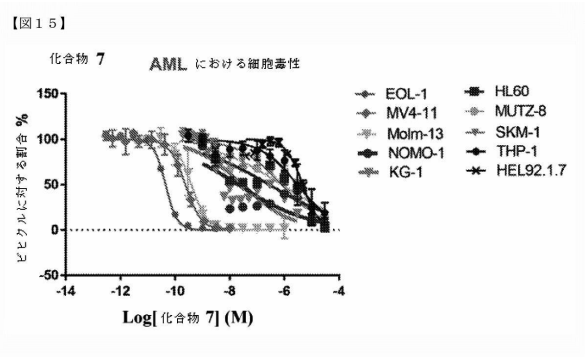


【図１４－２】

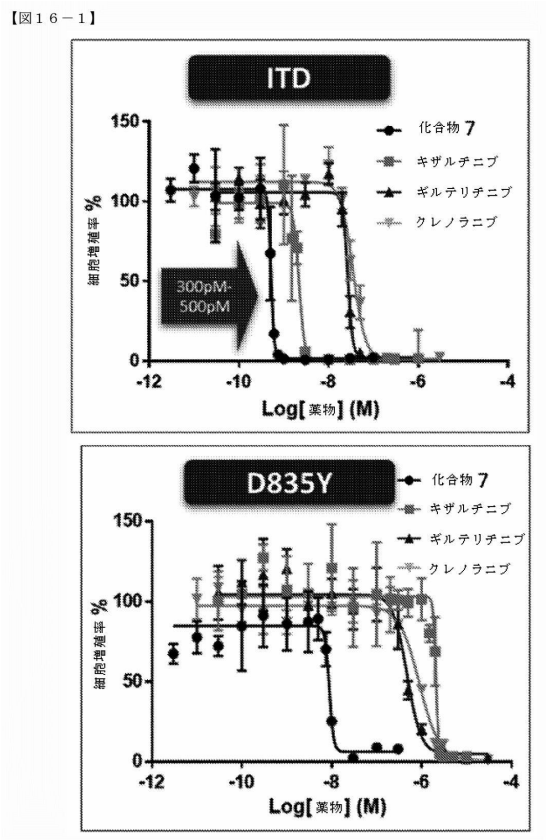
【図１４－２】



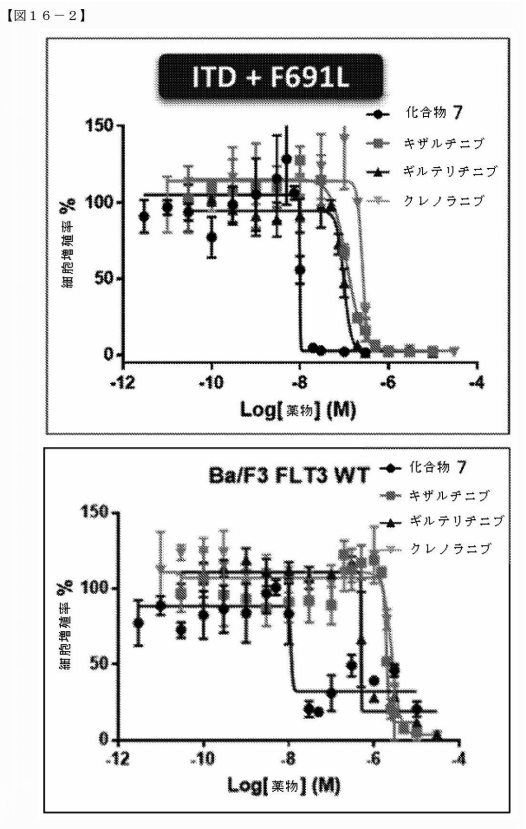
【図１５】



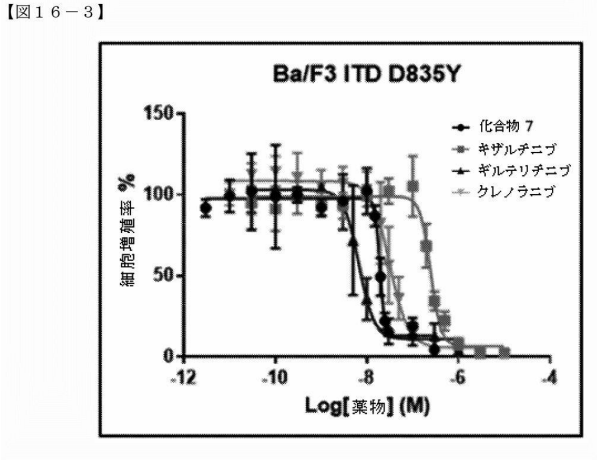
【図１６－１】



【図１６－２】

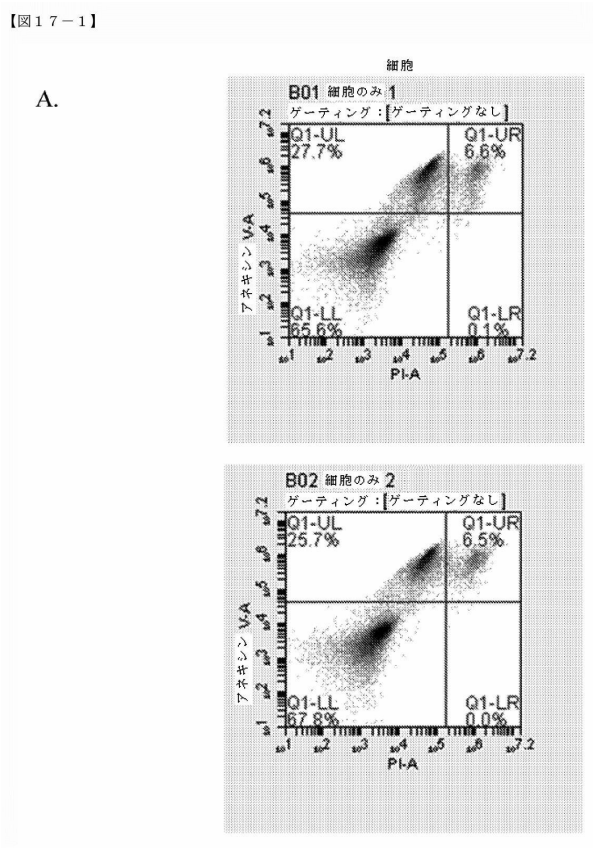


【図１６－３】



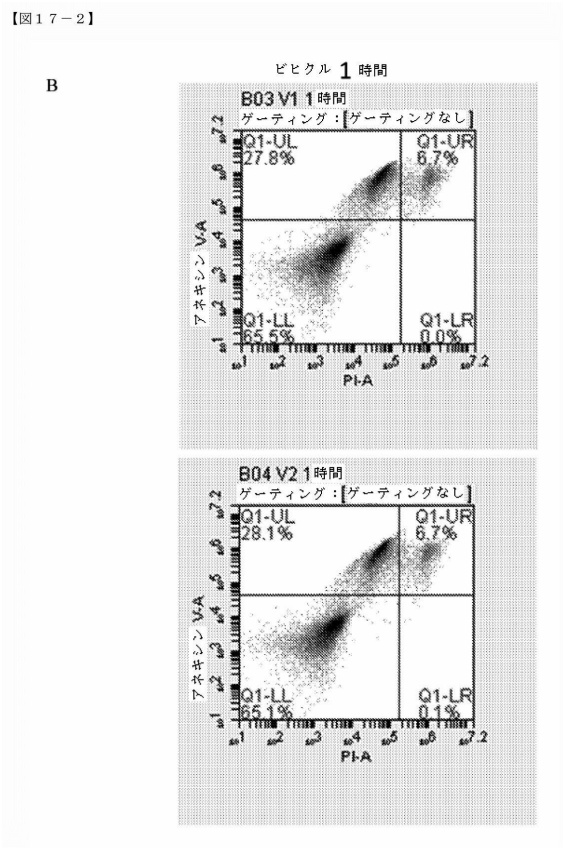
【図１７－１】

【図１７－１】



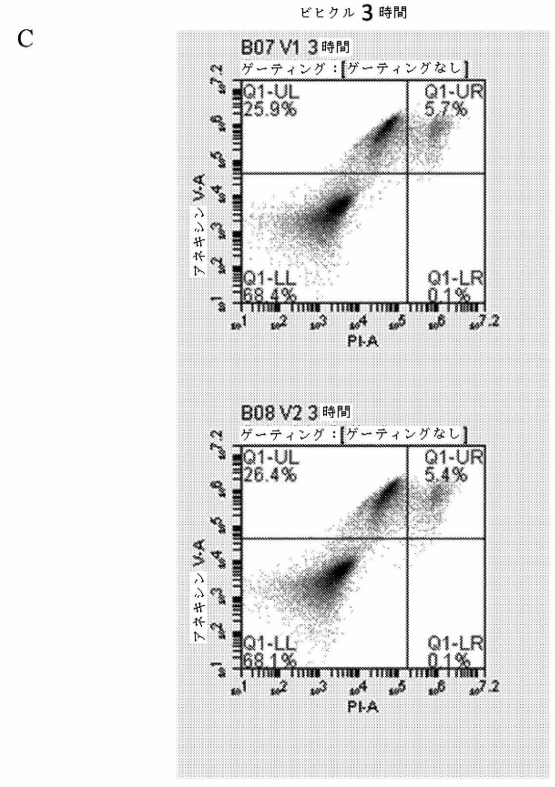
【図１７－２】

【図１７－２】



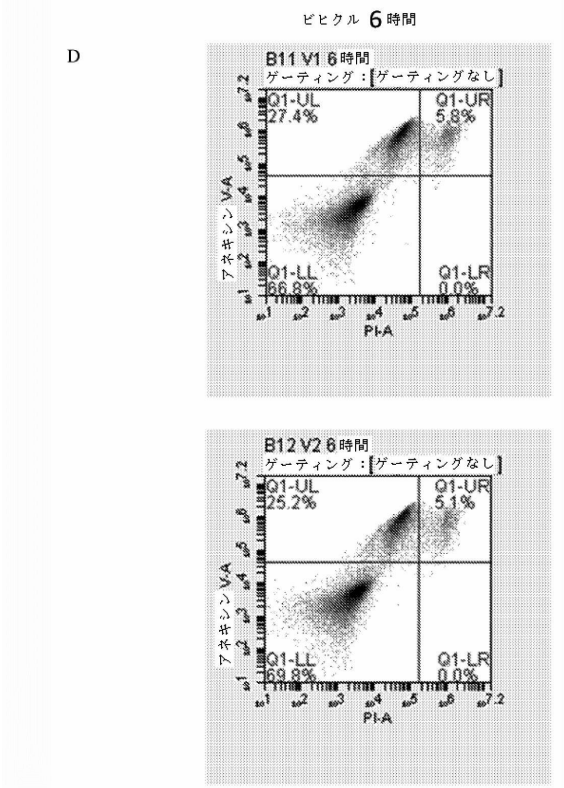
【図１７－３】

【図１７－３】



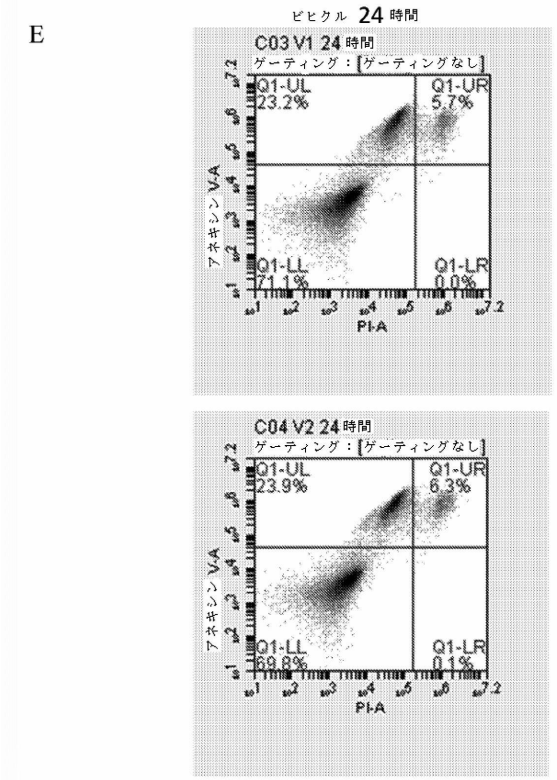
【図１７－４】

【図１７－４】



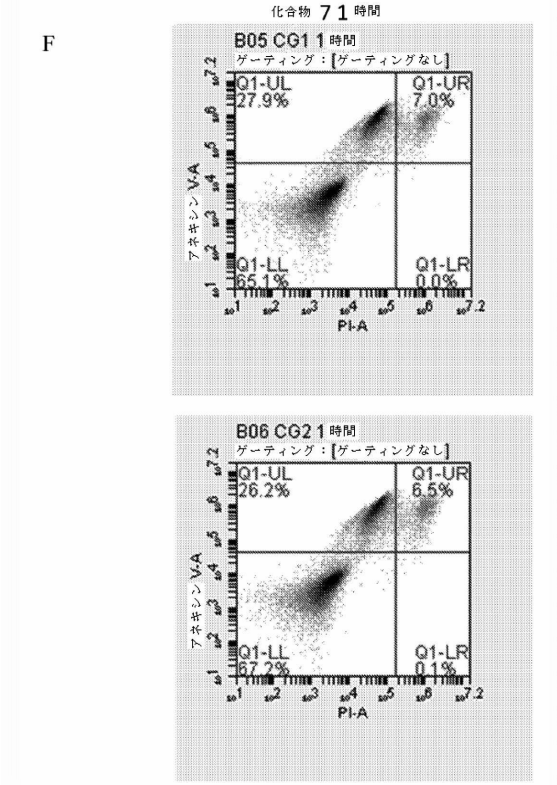
【図１７－５】

【図１７－５】



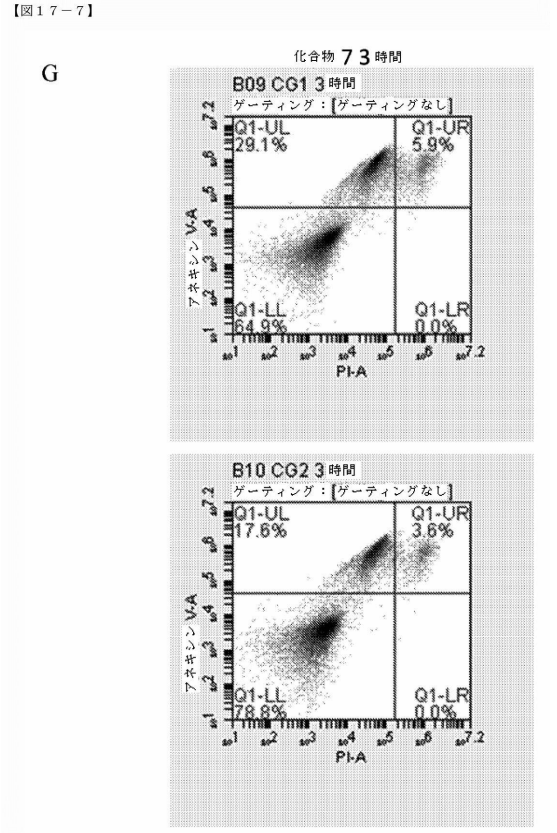
【図１７－６】

【図１７－６】



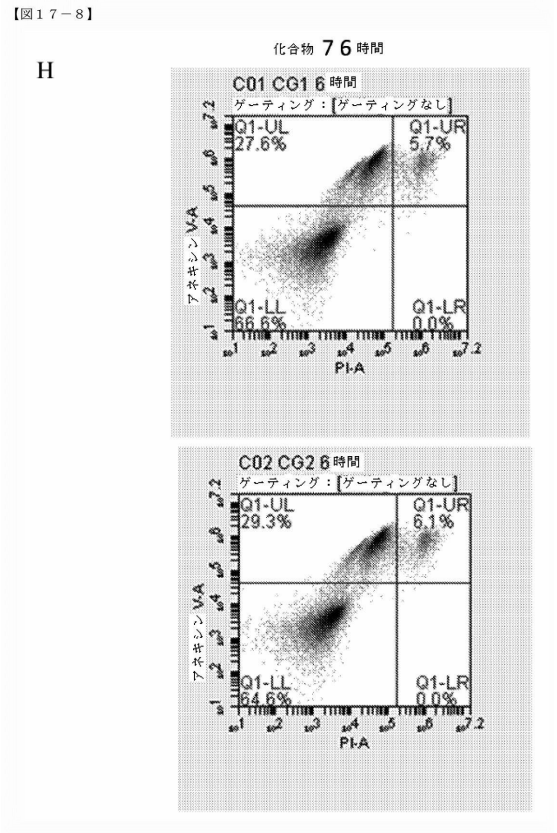
【図１７－７】

【図１７－７】



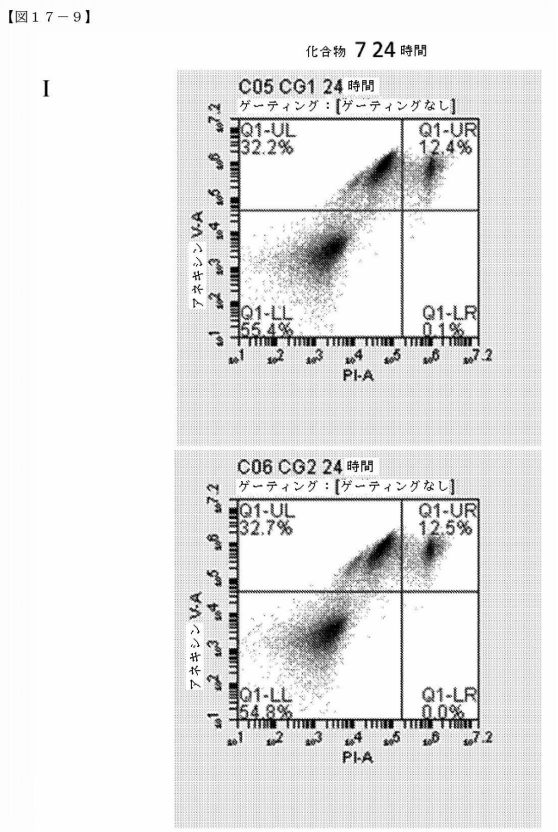
【図１７－８】

【図１７－８】



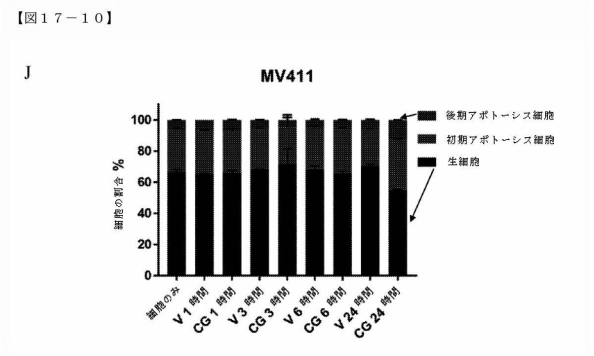
【図１７－９】

【図１７－９】



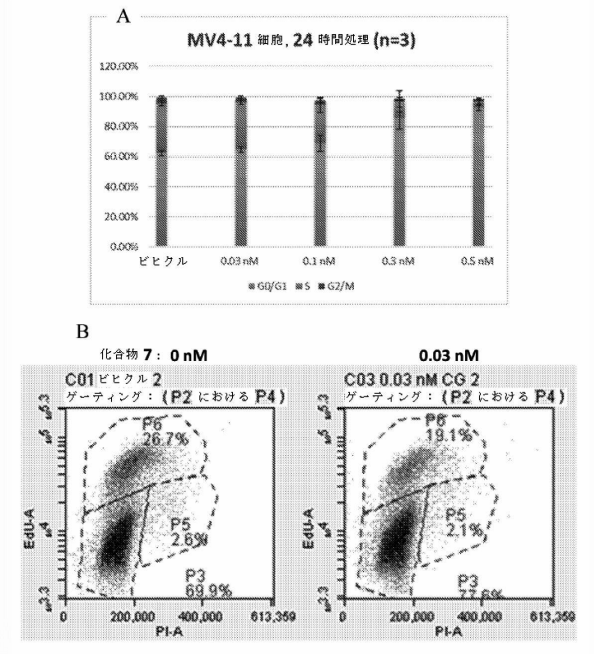
【図１７－１０】

【図１７－１０】



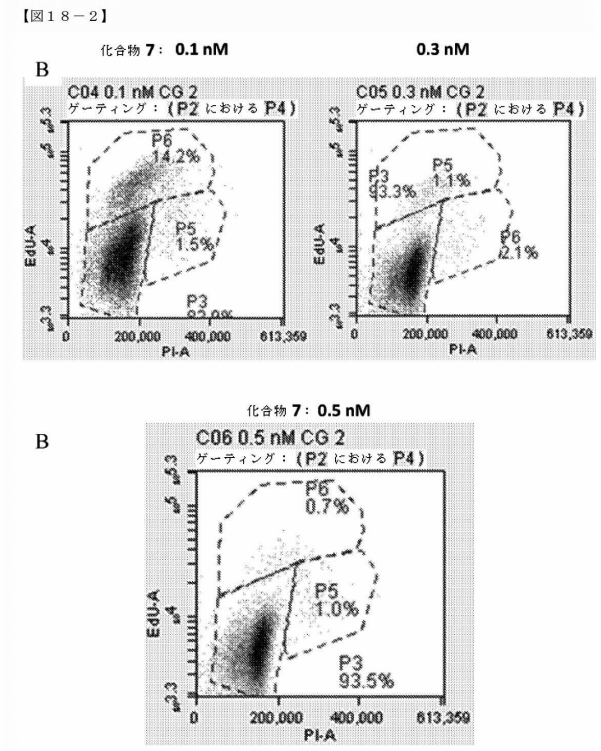
【図１８－１】

【図１８－１】

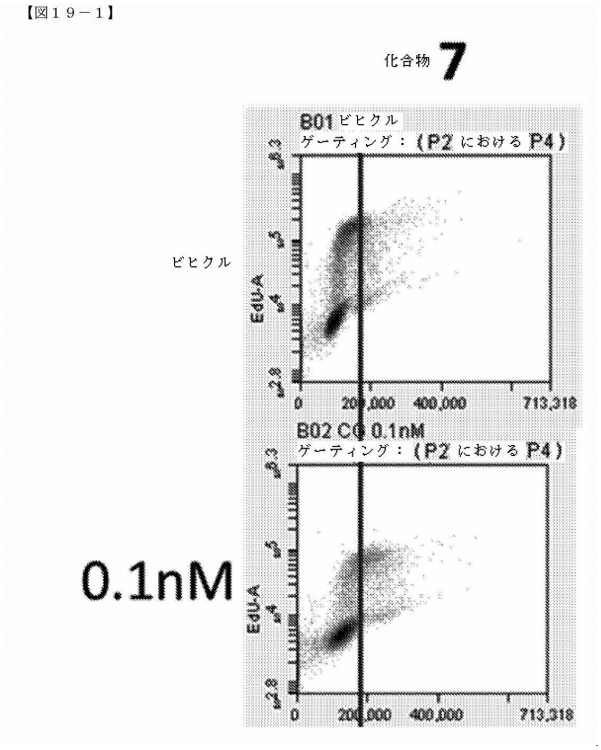


【図１８－２】

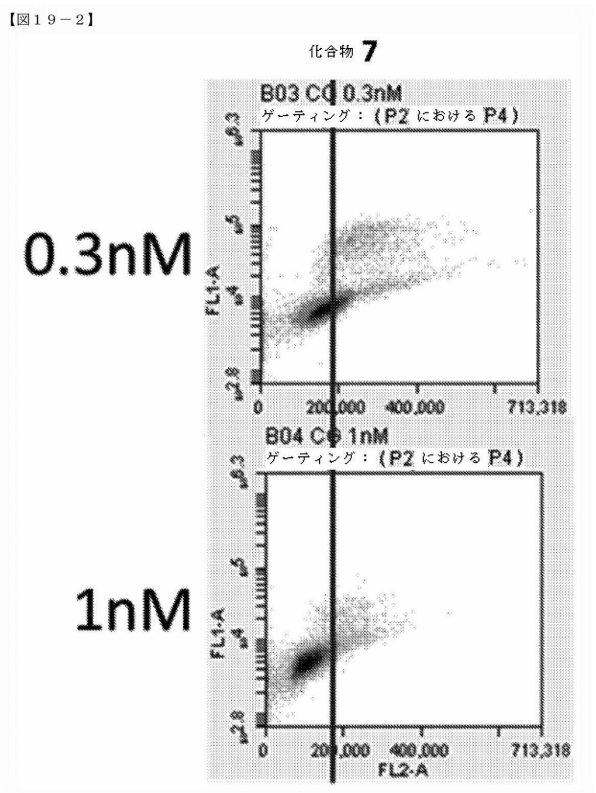
【図１８－２】



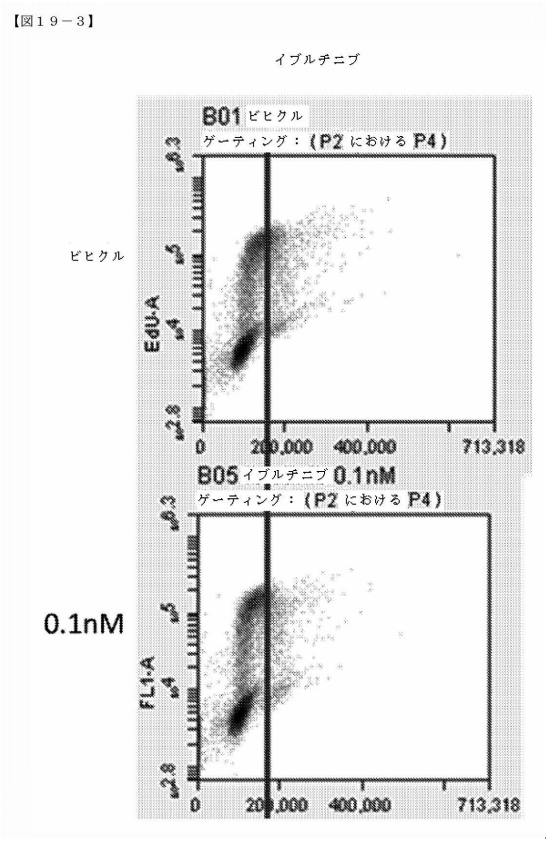
【図１９－１】



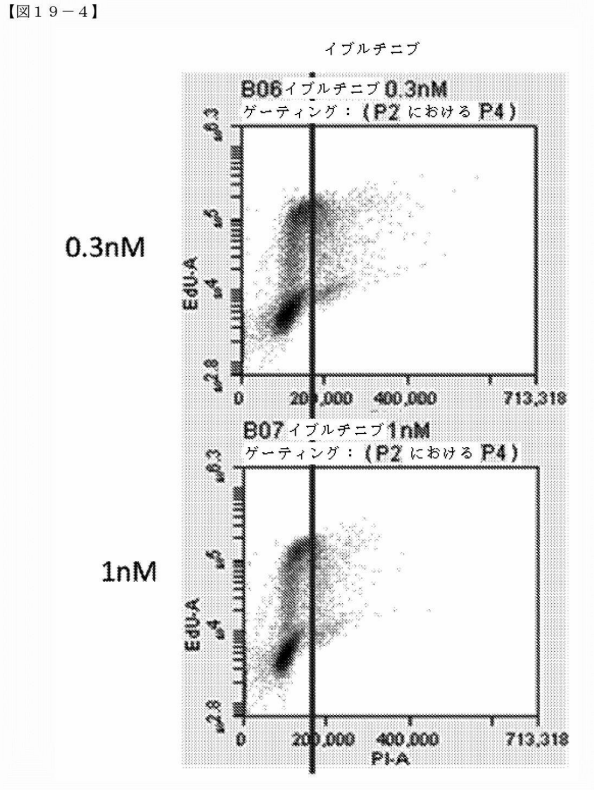
【図１９－２】



【図１９－３】

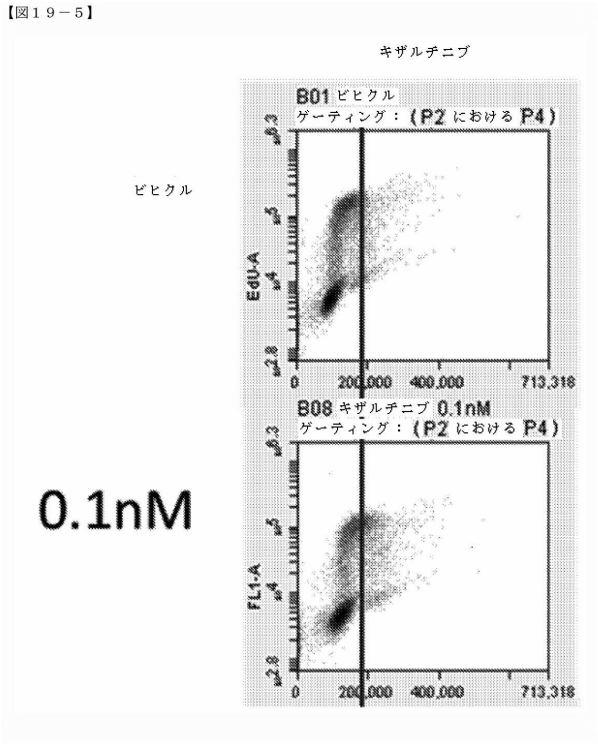


【図１９－４】



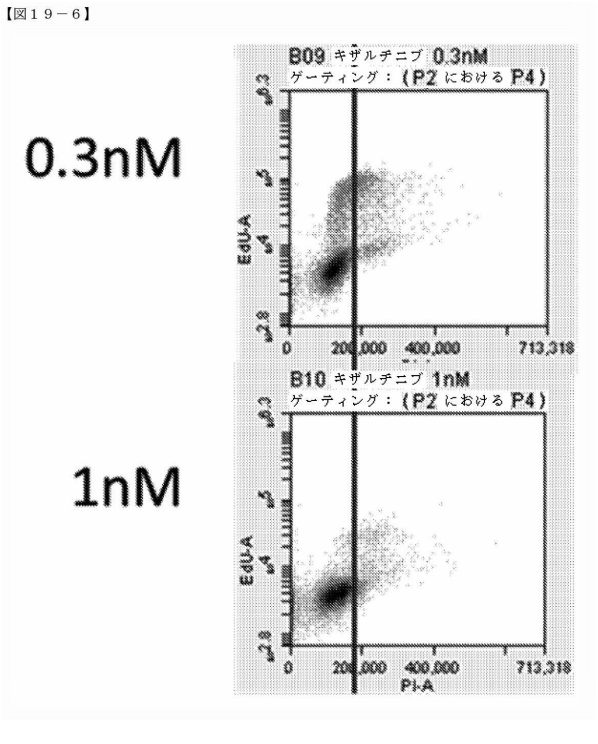
【図１９－５】

【図１９－５】



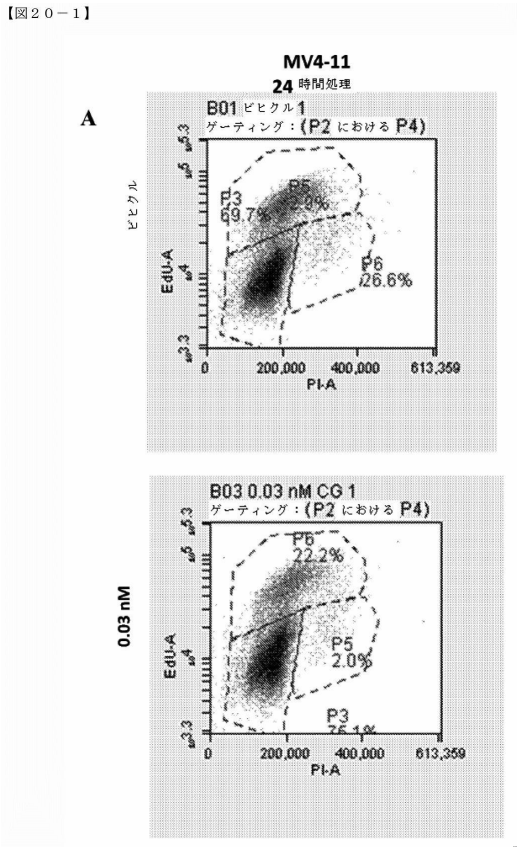
【図１９－６】

【図１９－６】



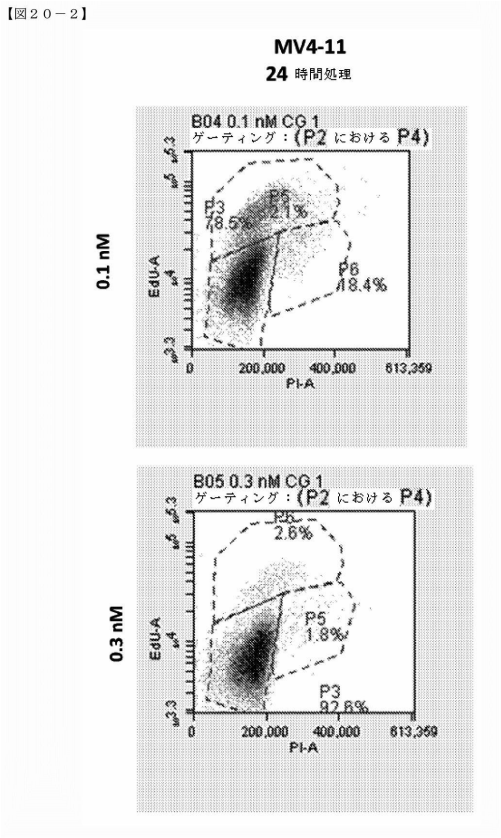
【図２０－１】

【図２０－１】



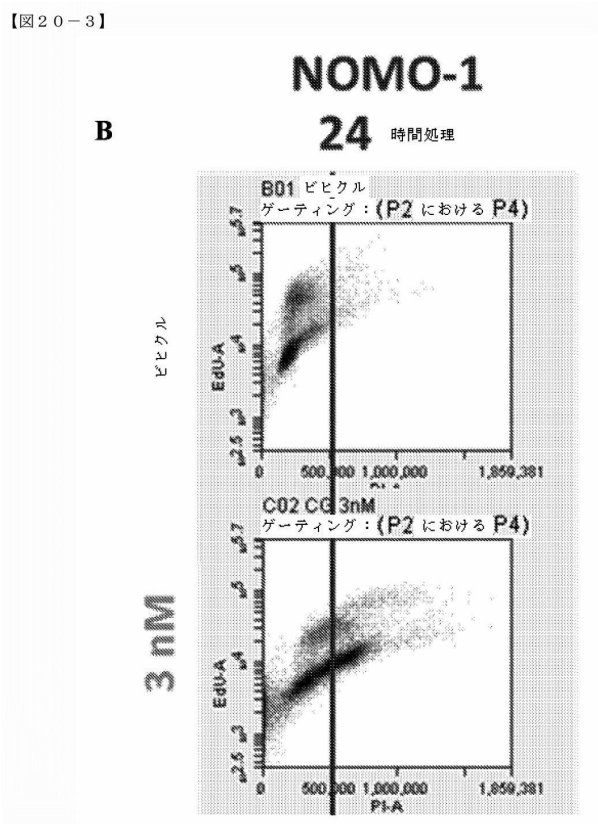
【図２０－２】

【図２０－２】



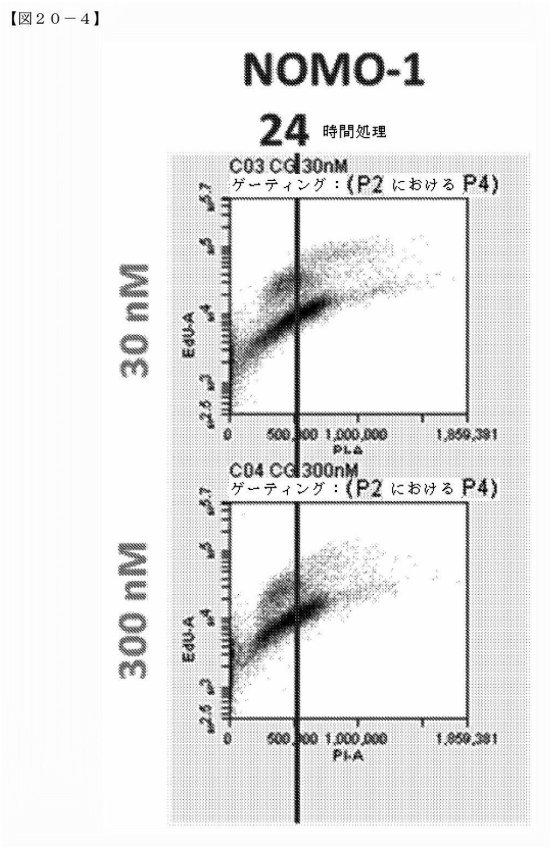
【図２０－３】

【図２０－３】



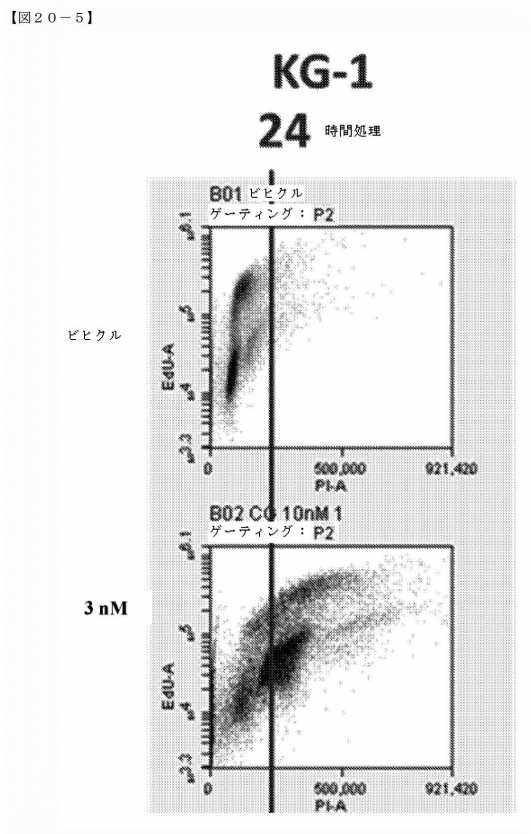
【図２０－４】

【図２０－４】



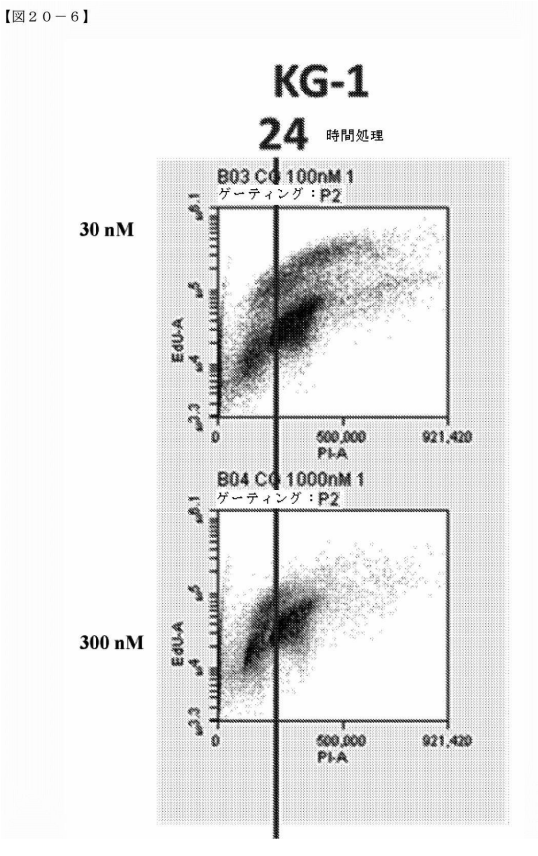
【図２０－５】

【図２０－５】



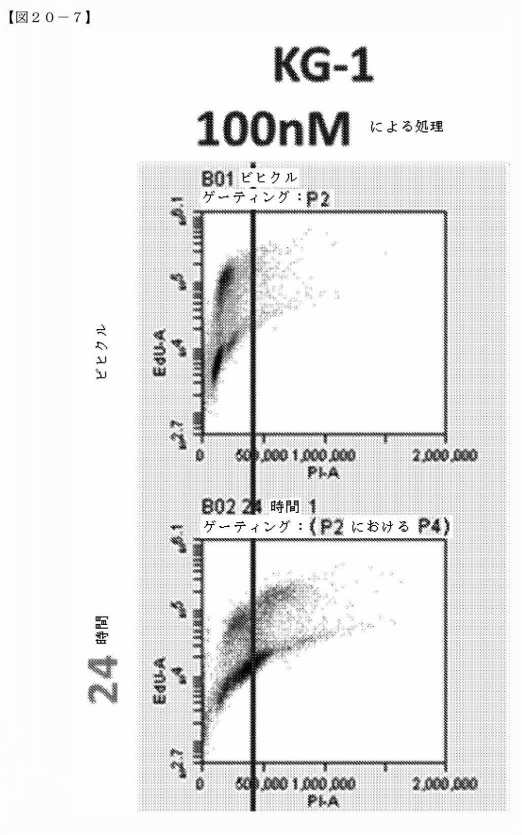
【図２０－６】

【図２０－６】



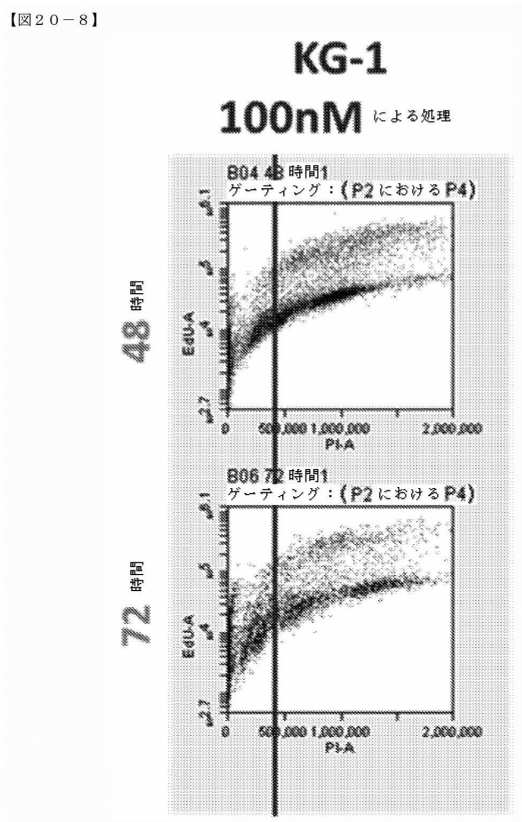
【図２０－７】

【図２０－７】



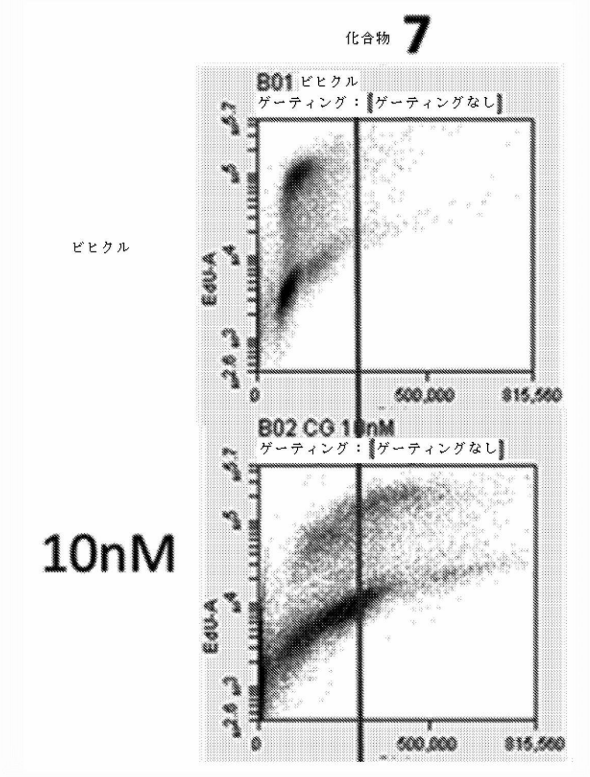
【図２０－８】

【図２０－８】



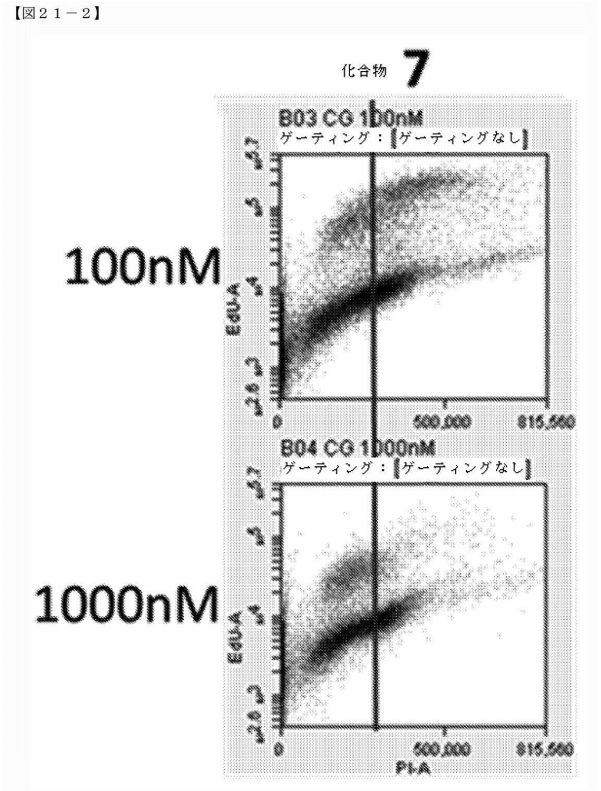
【図２１－１】

【図２１－１】



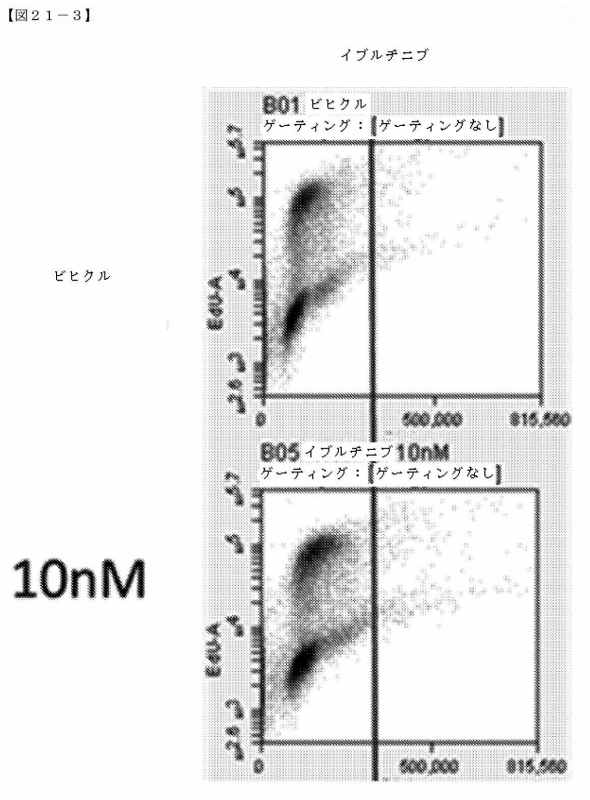
【図２１－２】

【図２１－２】



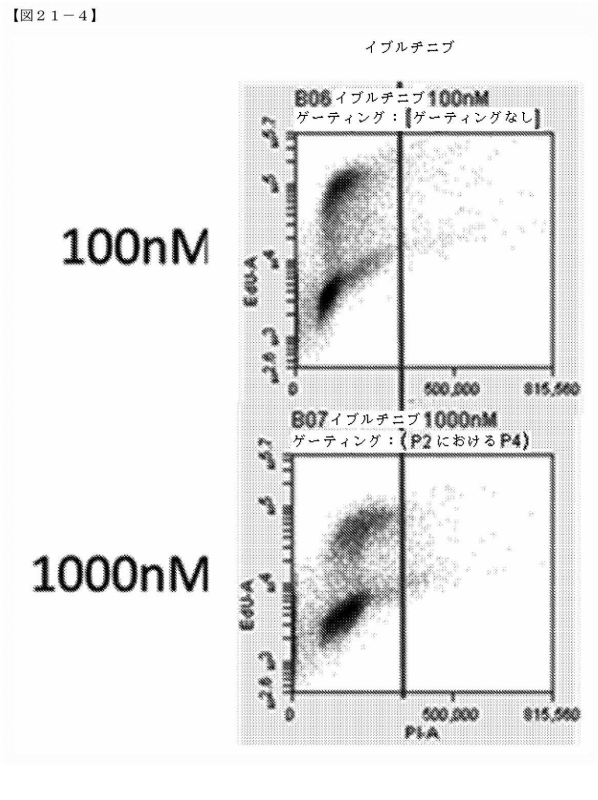
【図２１－３】

【図２１－３】



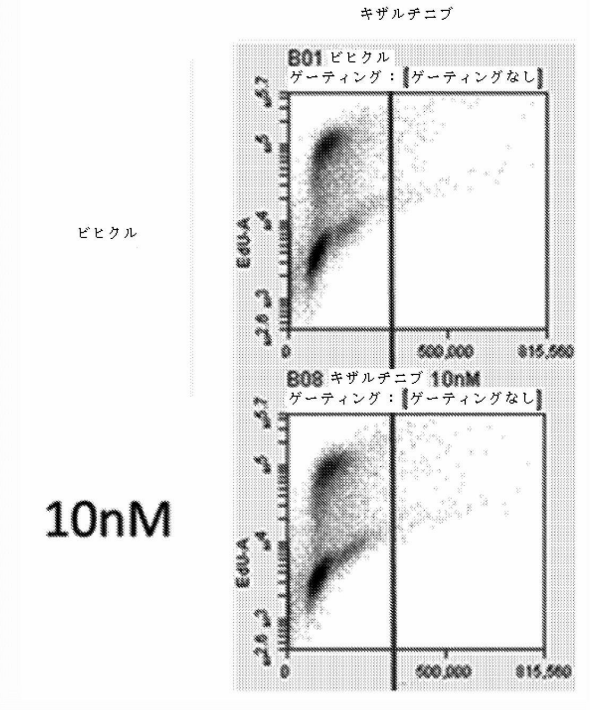
【図２１－４】

【図２１－４】



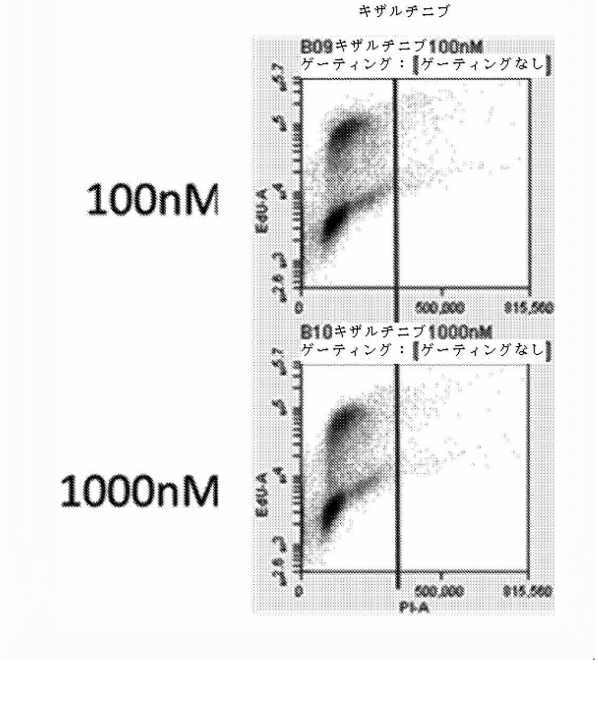
【図２１－５】

【図２１－５】



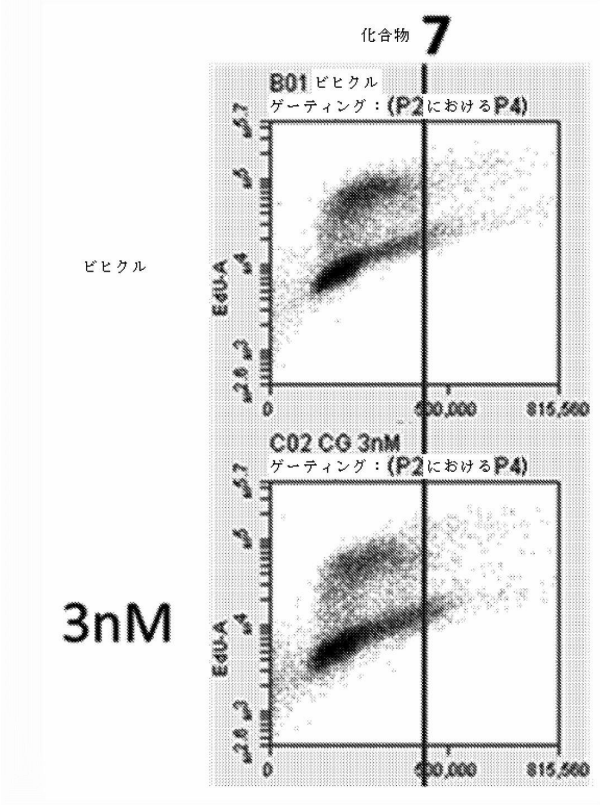
【図２１－６】

【図２１－６】



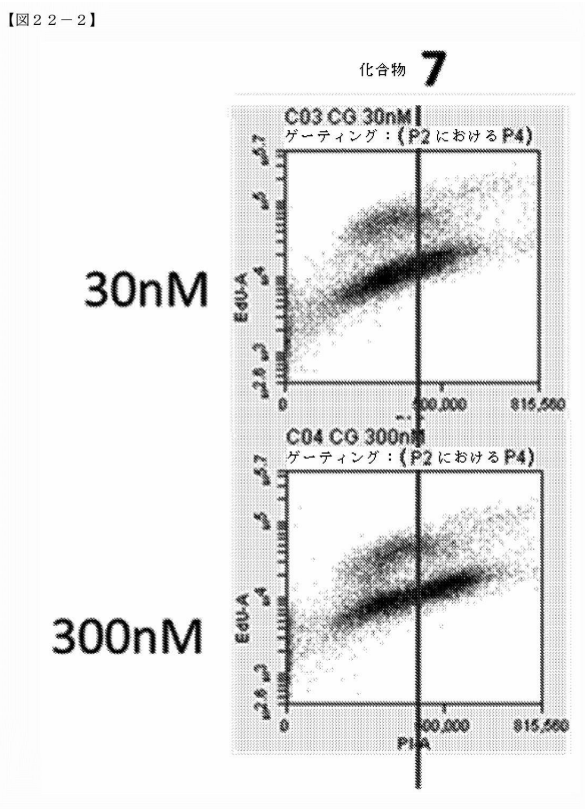
【図２２－１】

【図２２－１】



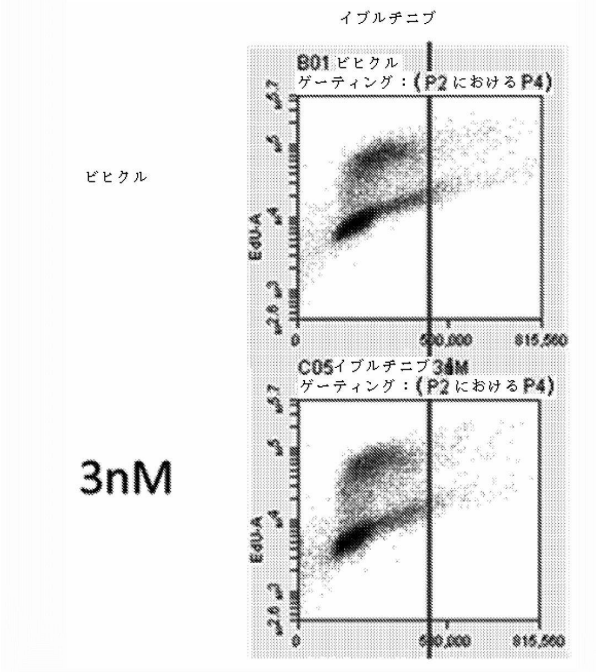
【図２２－２】

【図２２－２】



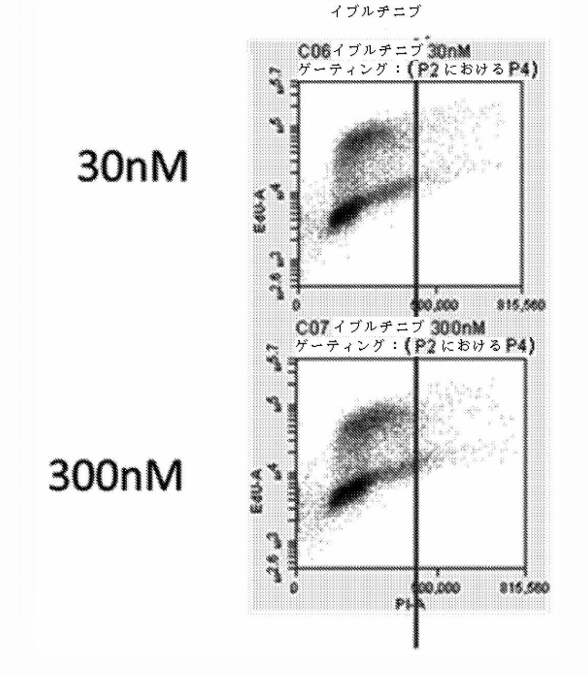
【図２２－３】

【図２２－３】

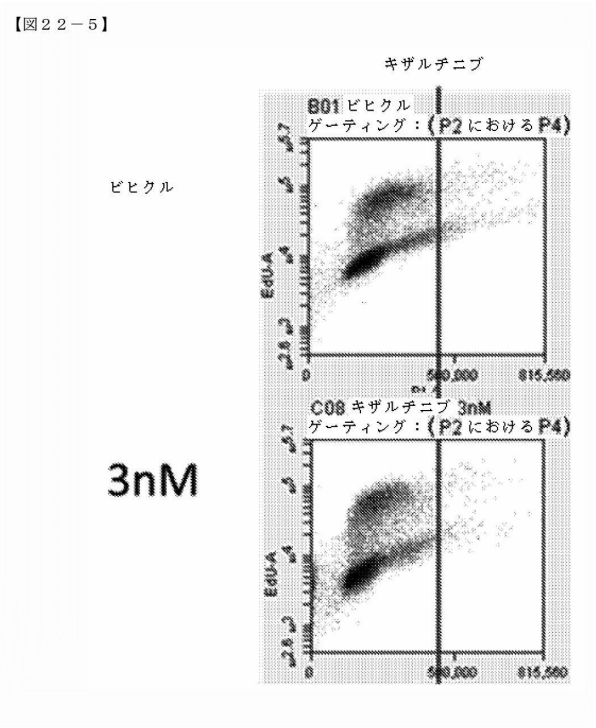


【図２２－４】

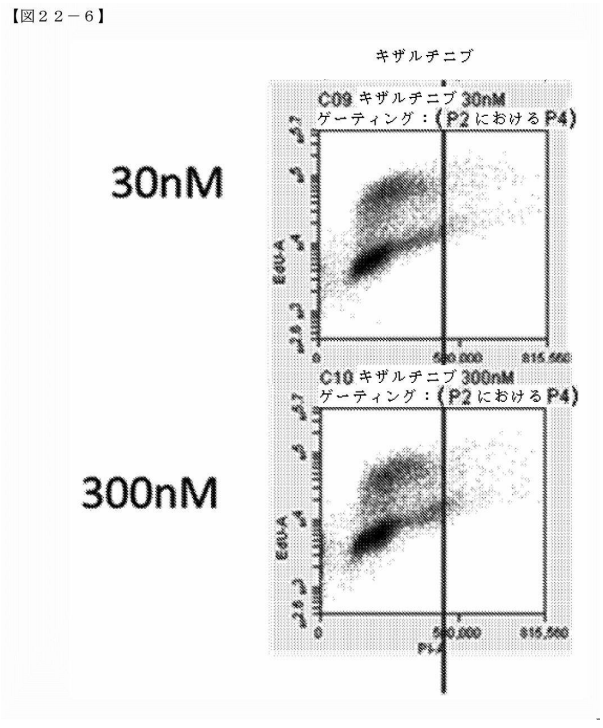
【図２２－４】



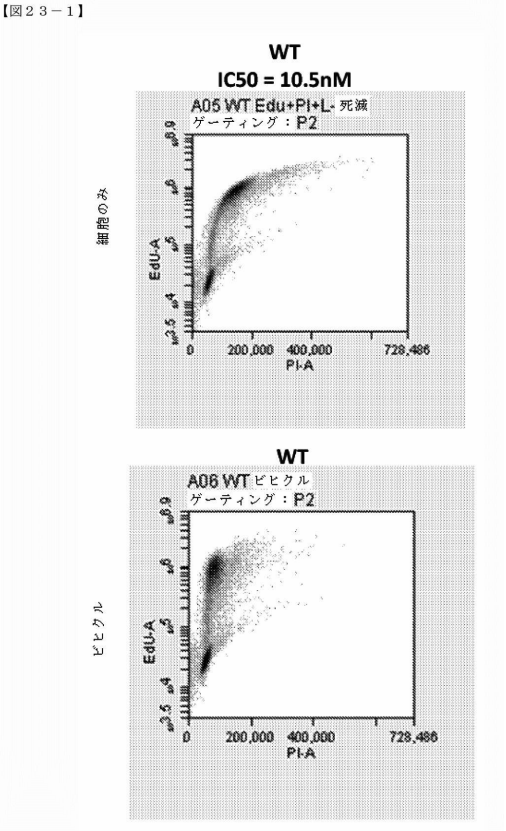
【図２２－５】



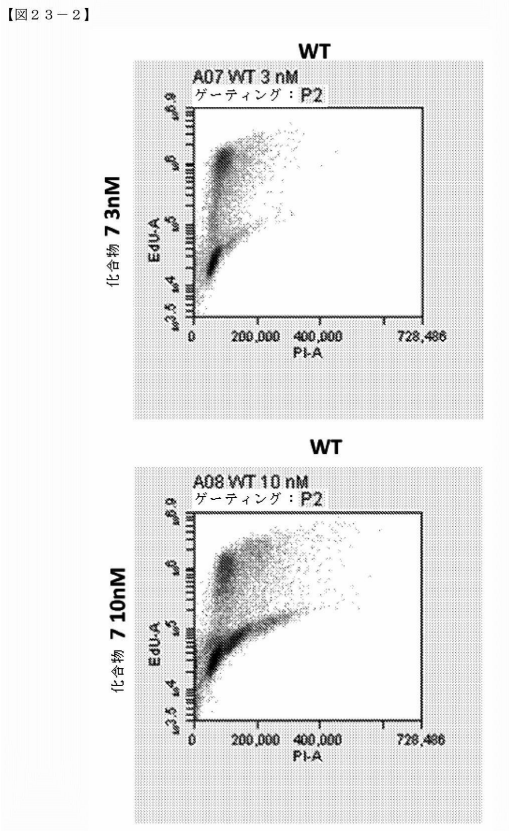
【図２２－６】



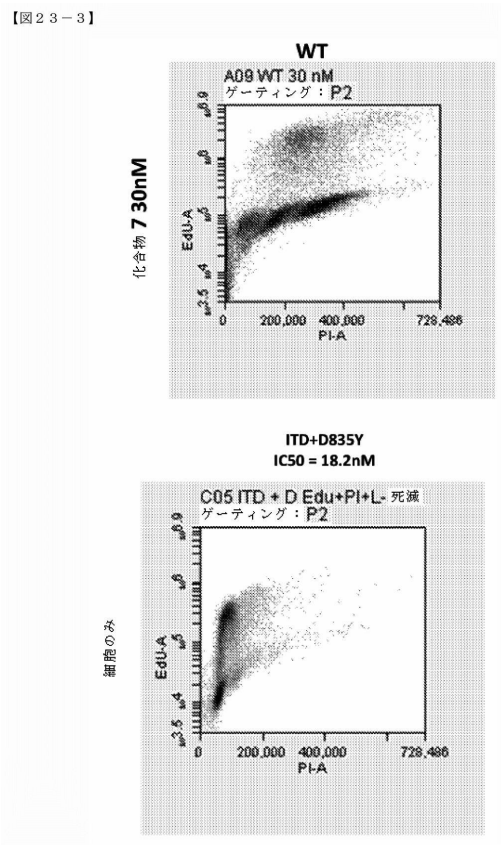
【図２３－１】



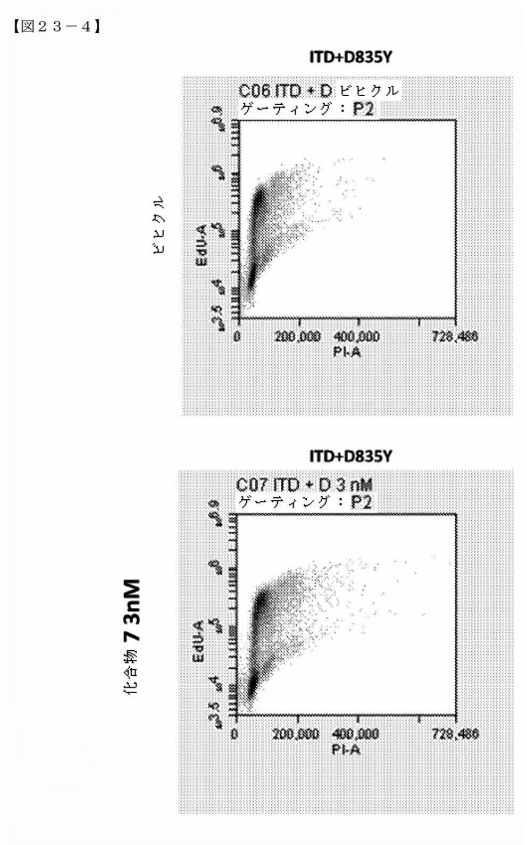
【図２３－２】



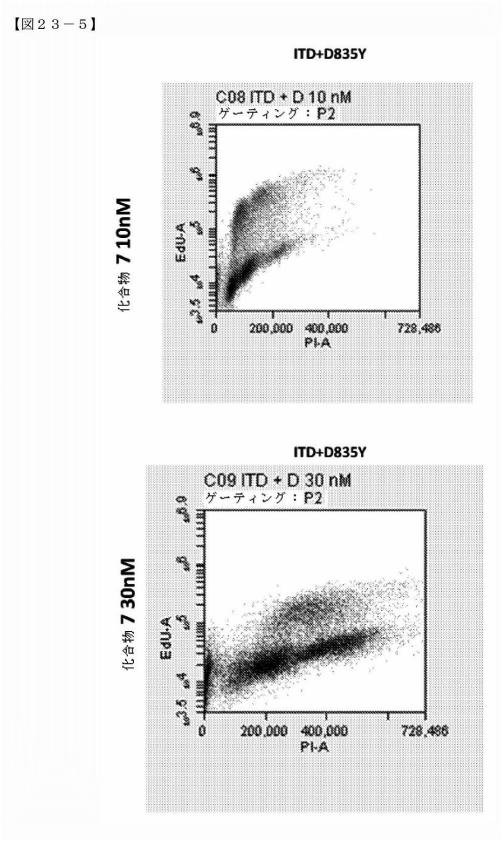
【図２３－３】



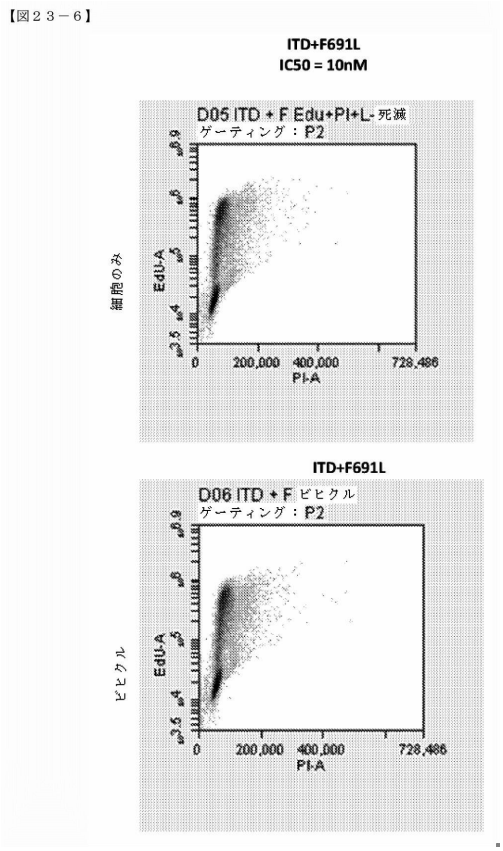
【図２３－４】



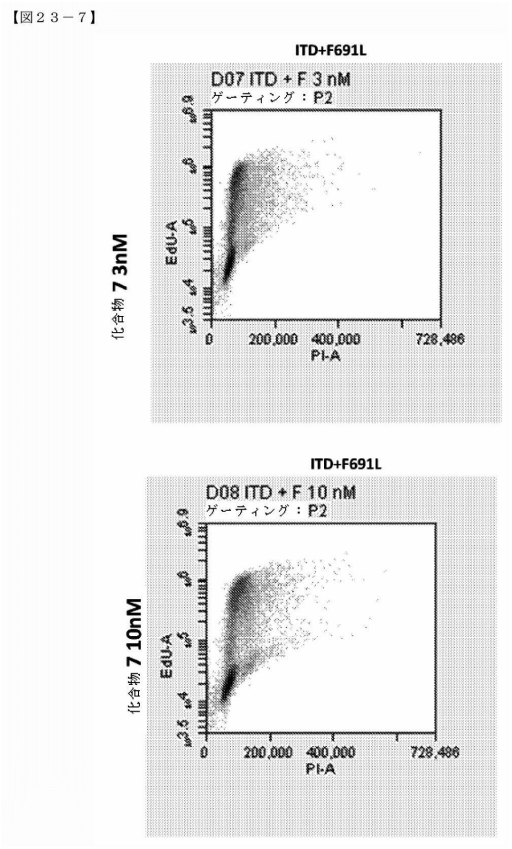
【図２３－５】



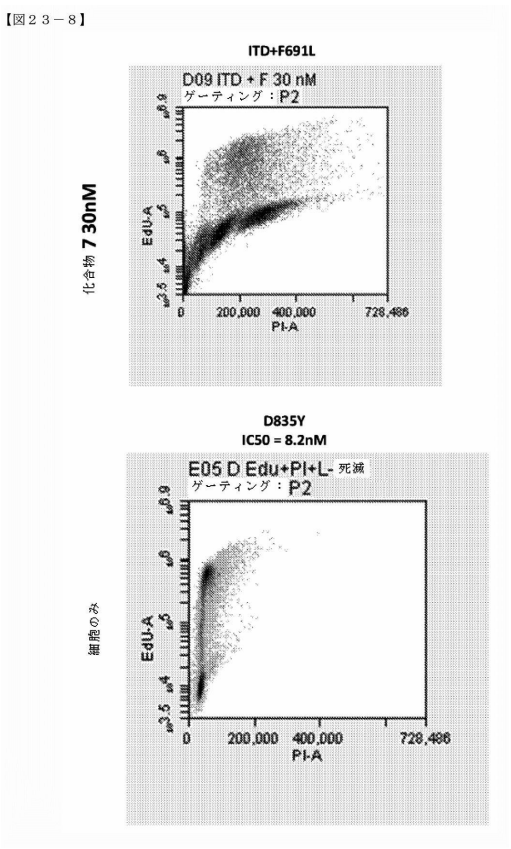
【図２３－６】



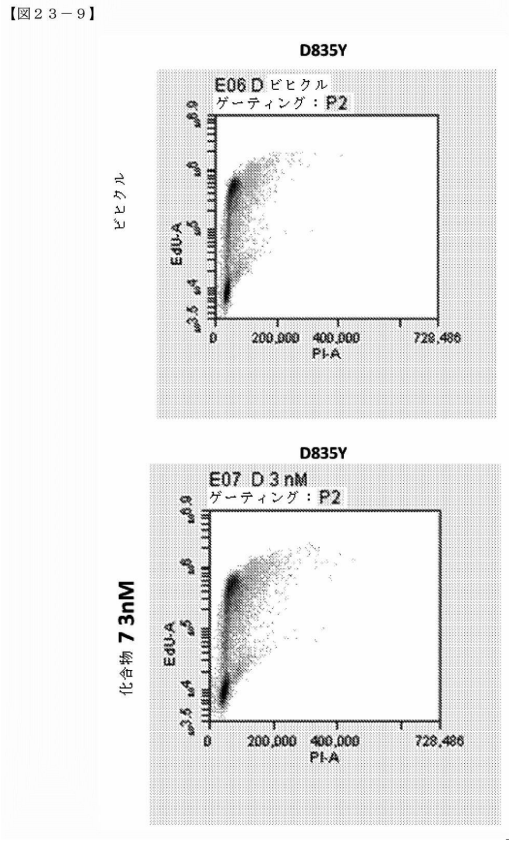
【図２３－７】



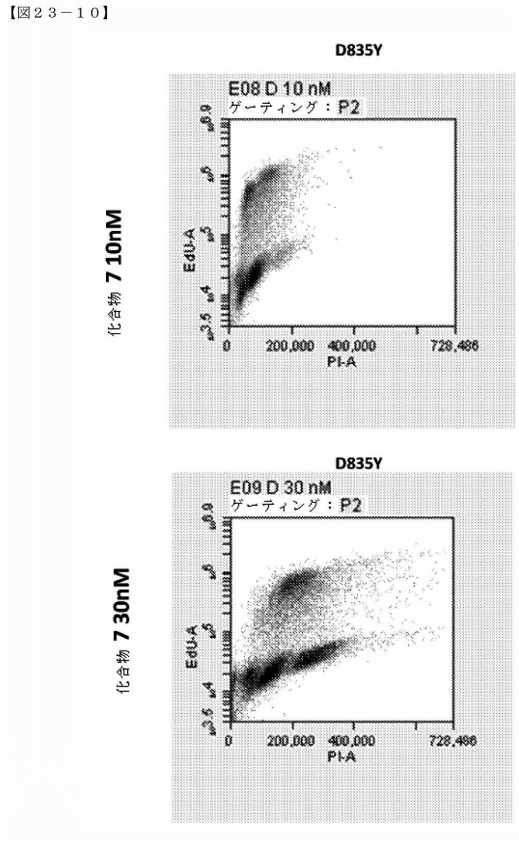
【図２３－８】



【図２３－９】

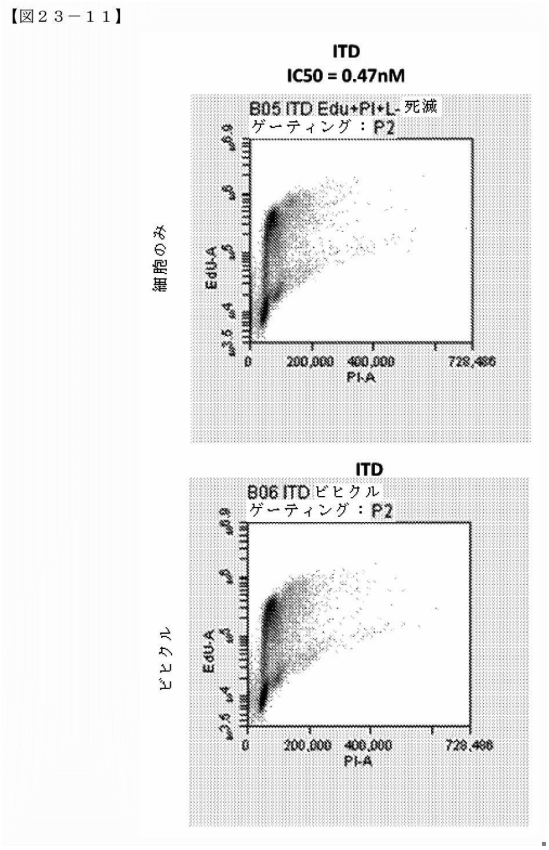


【図２３－１０】



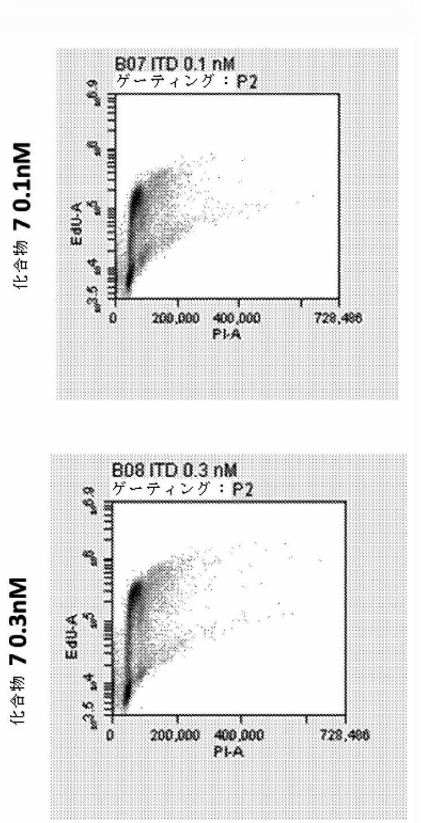
【図２３－１１】

【図２３－１１】



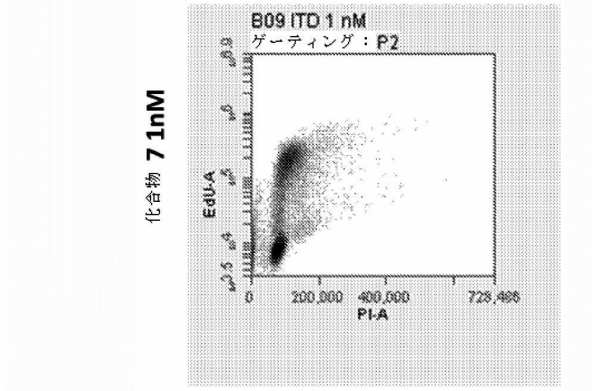
【図２３－１２】

【図２３－１２】



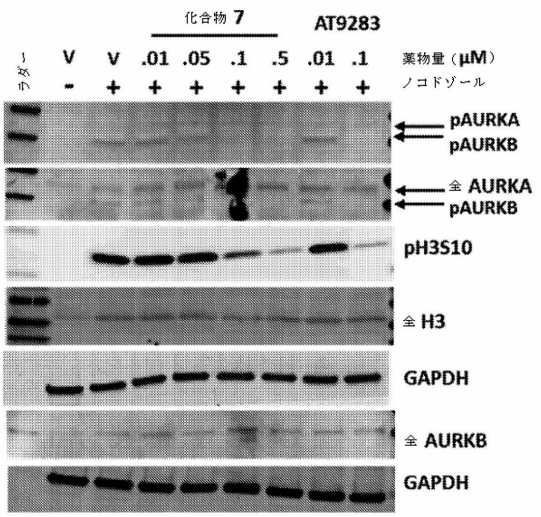
【図２３－１３】

【図２３－１３】

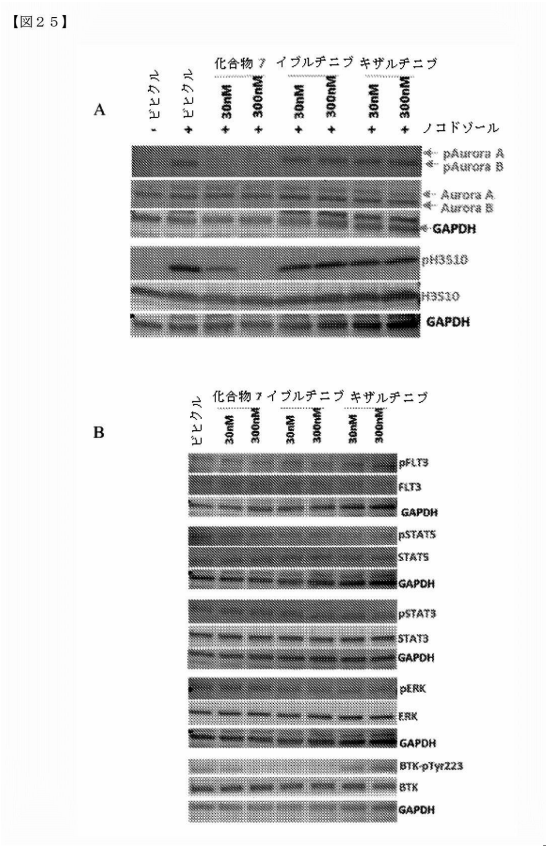


【図２４】

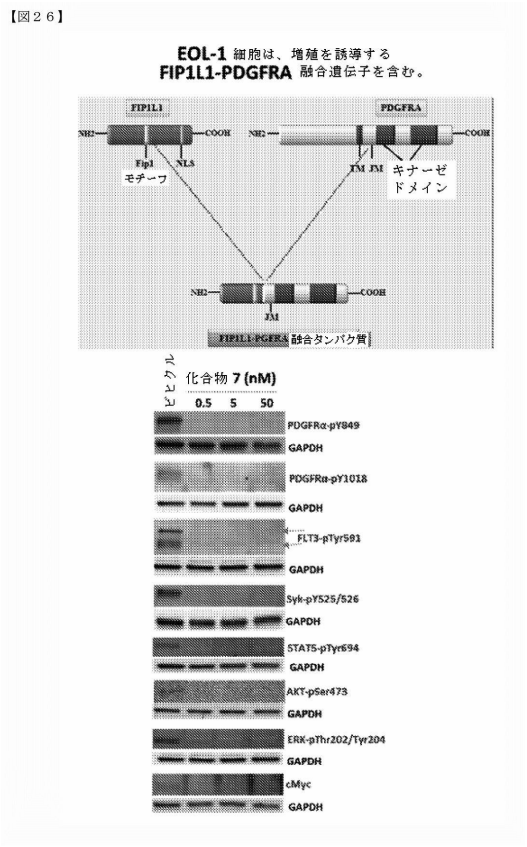
【図２４】



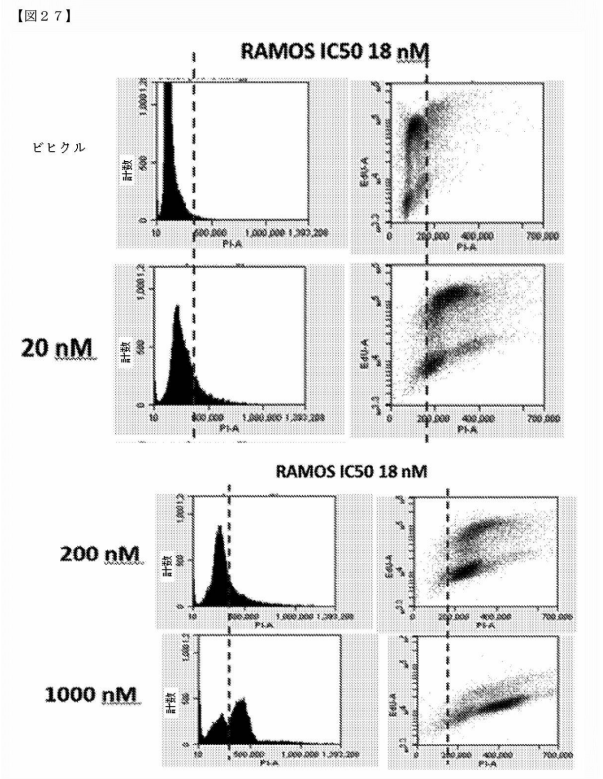
【図２５】



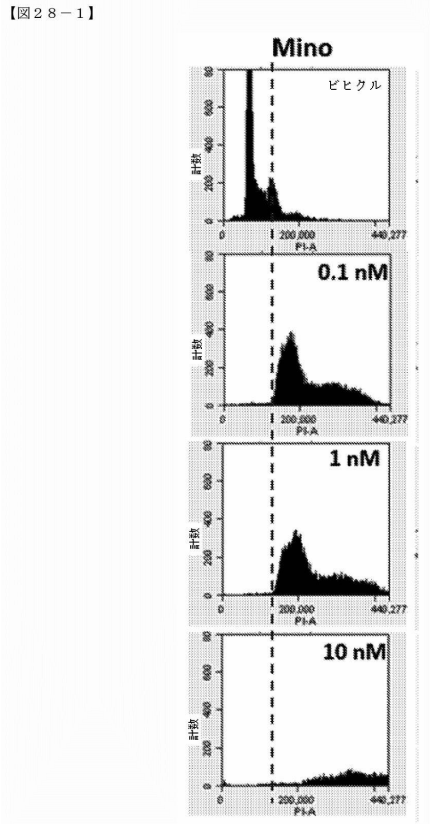
【図２６】



【図２７】

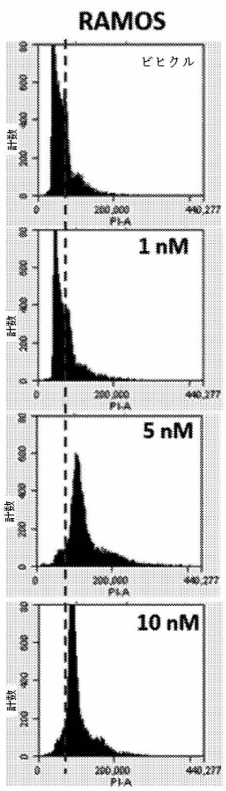


【図２８－１】



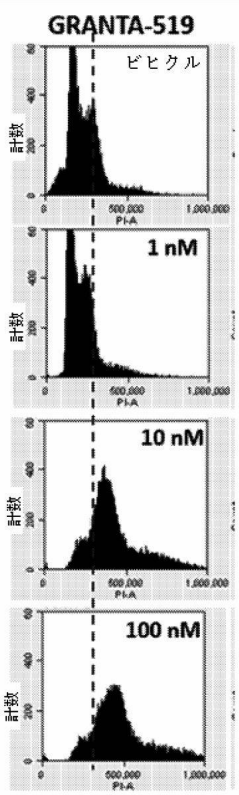
【図２８－２】

【図２８－２】



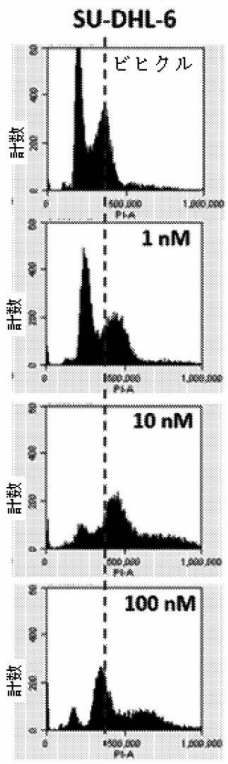
【図２８－３】

【図２８－３】



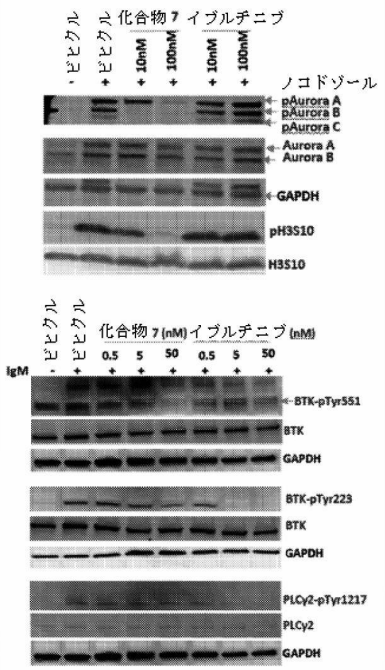
【図２８－４】

【図２８－４】

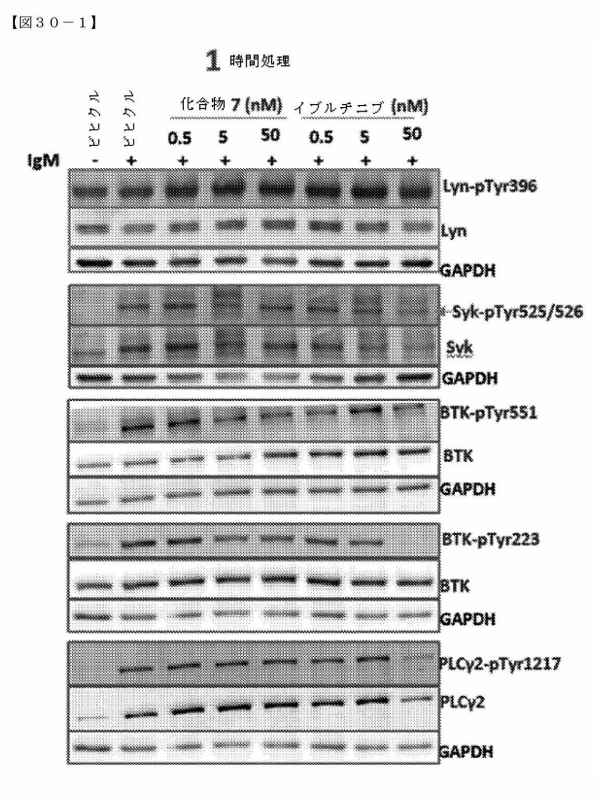


【図２９】

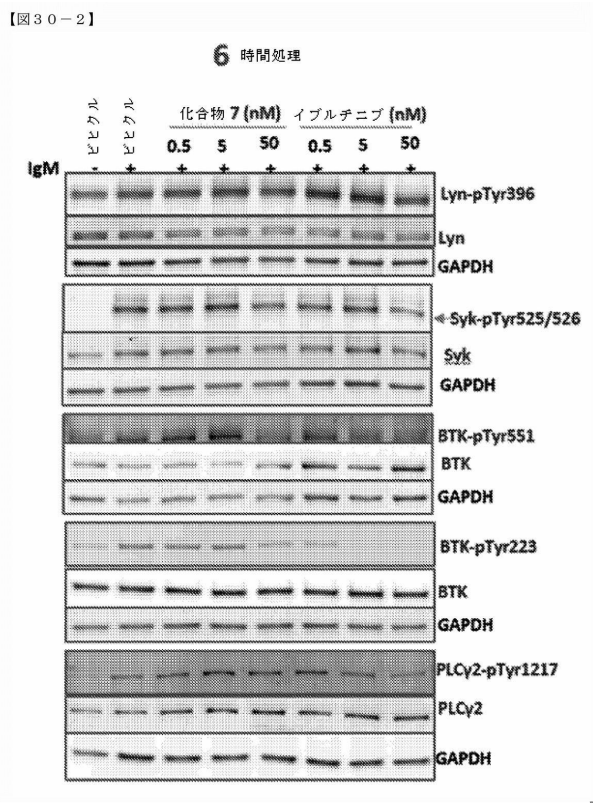
【図２９】



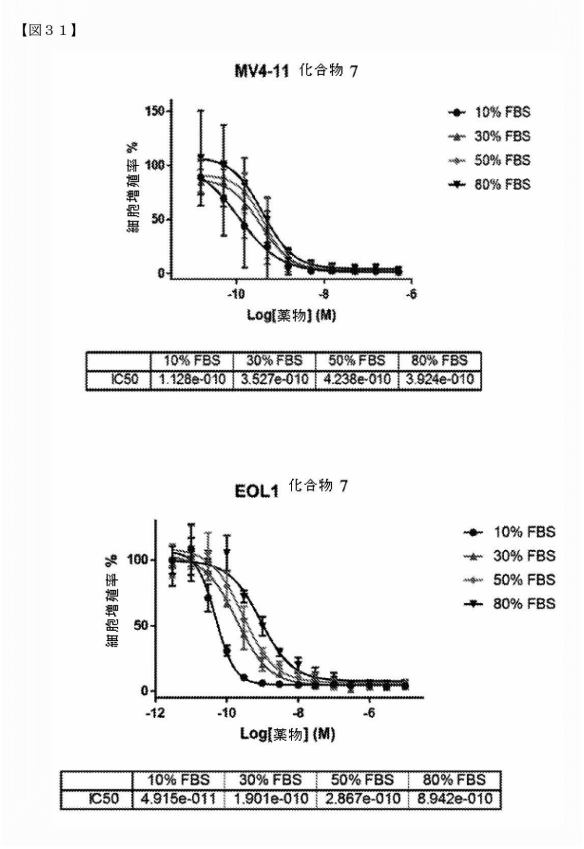
【図３０－１】



【図３０－２】



【図３１】



	10% FBS	30% FBS	50% FBS	80% FBS
IC50	1.128e-010	3.527e-010	4.238e-010	3.924e-010

	10% FBS	30% FBS	50% FBS	80% FBS
IC50	4.915e-011	1.901e-010	2.867e-010	8.942e-010

フロントページの続き

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
前置審査
スフロア
(74)代理人 100078282
弁理士 山本 秀策
(74)代理人 100113413
弁理士 森下 夏樹
(72)発明者 ライス， ウィリアム ジー．
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９２０１４， デル マー， ノガレス ドライブ １３６０１
(72)発明者 チョ， ジュン ミョン
大韓民国 ０５５５３ ソウル， ソンパグ， オリンピックロ， ２１２， ガレリア パラス ビー－４６０１
(72)発明者 ホン， ヨンレ
大韓民国 １６８０２ ギョンギ－ド， ヨンイン－シ， スジ－グ， ドンチョン－ロ １９２ ボン－ギル， ９－１８
審査官 福山 則明
(56)参考文献 特表２０１６－５０４３５１（ＪＰ，Ａ）
国際公開第２０１２／０４７０１７（WO，Ａ２）
ファルマシア，2016年，Vol. 52, No. 5，p. 441
Blood，2012年，Vol. 120, No. 21, 2569，pp. 1-3
Blood，2015年，Vol. 126, No. 23, 5117，pp. 1-3
Oncogene，2015年，Vol. 34，pp. 2426-2436
Blood，2012年，Vol. 120, No. 21, 686，pp. 1-4
Blood，2012年，Vol. 120, No. 21, 156，pp. 1-3
ACS chemical biology，2016年，DOI: 10.1021/acschembio.6b00480
SCIENTIFIC REPORTS，2015年，Vol. 5: 12949，pp. 1-9
BLOOD，2015年，Vol. 125, No. 12，pp. 1936-1947
(58)調査した分野 (Int.Cl.，ＤＢ名)
Ａ６１Ｋ ３１／００－３１／８０
ＣＡｐｌｕｓ／ＲＥＧＩＳＴＲＹ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）