(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2020-105162
(P2020-105162A)
(43)公開日　令和2年7月9日(2020.7.9)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
A61K 31/519	(2006.01)	A61K	31/519		4C084
A61P 35/00	(2006.01)	A61P	35/00	ZNA	4C085
A61P 43/00	(2006.01)	A61P	43/00	111	4C086
A61K 45/06	(2006.01)	A61P	43/00	121	4C206
A61K 31/282	(2006.01)	A61K	45/06		

審査請求 未請求　請求項の数 131　ＯＬ　外国語出願　（全 155 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2019-205987 (P2019-205987)
(22)出願日　令和1年11月14日 (2019.11.14)
(31)優先権主張番号　62/769,355
(32)優先日　平成30年11月19日 (2018.11.19)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国 (US)
(31)優先権主張番号　62/821,376
(32)優先日　平成31年3月20日 (2019.3.20)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国 (US)
(31)優先権主張番号　62/865,819
(32)優先日　令和1年6月24日 (2019.6.24)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国 (US)

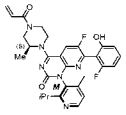
（特許庁注：以下のものは登録商標）

(71)出願人　500049716
アムジエン・インコーポレーテツド
アメリカ合衆国　カリフォルニア州　９１３２０，サウザンド　オークス，ワン　アムジエン　センター　ドライブ
(74)代理人　110001173
特許業務法人川口國際特許事務所
(72)発明者　ジェームズ・ラッセル・リップフォード
アメリカ合衆国、カリフォルニア・９１３２０－１７９９、サウザンド・オークス、ワン・アムジェン・センター・ドライブ
(72)発明者　ジュード・ロバート・キャノン
アメリカ合衆国、カリフォルニア・９１３２０－１７９９、サウザンド・オークス、ワン・アムジェン・センター・ドライブ

最終頁に続く

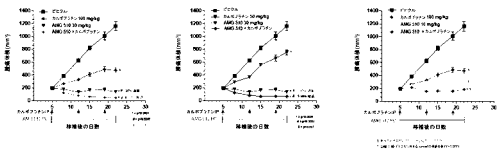
(54)【発明の名称】がん治療のためのＫＲＡＳＧ１２Ｃ阻害剤及び１種以上の薬学的に活性な追加の薬剤を含む併用療法

(57)【要約】
【課題】がん治療のためのＫＲＡＳＧ１２Ｃ阻害剤及び１種以上の薬学的に活性な追加の薬剤を含む併用療法を提供する。
【解決手段】本発明は、

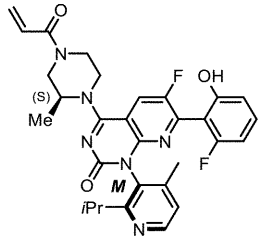


又はその薬学的に許容される塩などのＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}阻害剤、及び１種以上の薬学的に活性な追加の薬剤を含む、特にがんの治療のための併用療法を提供する。本発明はまた、がんの治療のための、ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}阻害剤、及び１種以上の薬学的に活性な追加の薬剤を含む医薬組成物に関する。
【選択図】図１

図１



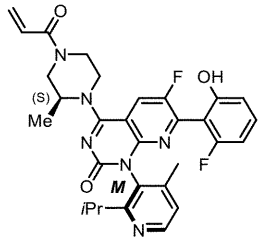
【特許請求の範囲】
【請求項１】
がんを治療する方法であって、それを必要とする患者に、治療有効量のＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤及び少なくとも１種の薬学的に活性な追加の成分を投与することを含む方法。
【請求項２】
前記ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤は、
【化１】



又はその薬学的に許容される塩である、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記がんはＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ変異を有する、請求項１に記載の方法。
【請求項４】
前記がんは膵臓がん、結腸直腸がん、肺がん、虫垂がん、子宮内膜がん、又は小腸がんである、請求項１に記載の方法。
【請求項５】
前記がんは膵臓がんである、請求項４に記載の方法。
【請求項６】
前記がんは結腸直腸がんである、請求項４に記載の方法。
【請求項７】
前記がんは肺がんである、請求項４に記載の方法。
【請求項８】
前記肺がんは非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）である、請求項７に記載の方法。
【請求項９】
前記がんは虫垂がんである、請求項４に記載の方法。
【請求項１０】
前記がんは子宮内膜がんである、請求項４に記載の方法。
【請求項１１】
前記がんは小腸がんである、請求項４に記載の方法。
【請求項１２】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤は、カルボプラチン、抗ＰＤ－１阻害剤、ＭＥＫ阻害剤、ＥＧＦＲ阻害剤、ＴＯＲ阻害剤、ＳＨＰ２阻害剤、ＰＩ３Ｋ阻害剤又はＡＫＴ阻害剤である、請求項１に記載の方法。
【請求項１３】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はカルボプラチンである、請求項１２に記載の方法。
【請求項１４】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤は抗ＰＤ－１阻害剤である、請求項１２に記載の方法。
【請求項１５】
前記抗ＰＤ－１阻害剤は、ＡＭＧ４０４、ペムブロリズマブ、及びニボルマブから選択される、請求項１４に記載の方法。
【請求項１６】
前記抗ＰＤ－１阻害剤はペムブロリズマブである、請求項１５に記載の方法。

【請求項１７】
前記抗ＰＤ－１阻害剤はＡＭＧ４０４である、請求項１５に記載の方法。
【請求項１８】
前記抗ＰＤ－１阻害剤はニボルマブである、請求項１５に記載の方法。
【請求項１９】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＭＥＫ阻害剤である、請求項１２に記載の方法。
【請求項２０】
前記ＭＥＫ阻害剤は、トラメチニブ、ピマセルチブ、ＰＤ－３２５９０１、ＭＥＫ１６２、ＴＡＫ－７３３、ＧＤＣ－０９７３又はＡＺＤ８３３０である、請求項１９に記載の方法。
【請求項２１】
前記ＭＥＫ阻害剤はトラメチニブである、請求項２０に記載の方法。
【請求項２２】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＥＧＦＲ阻害剤である、請求項１２に記載の方法。
【請求項２３】
前記ＥＧＦＲ阻害剤は、アファチニブ、エルロチニブ、ラパチニブ、又はセツキシマブである、請求項２２に記載の方法。
【請求項２４】
前記ＥＧＦＲ阻害剤はアファチニブである、請求項２３に記載の方法。
【請求項２５】
前記ＥＧＦＲ阻害剤はセツキシマブである、請求項２３に記載の方法。
【請求項２６】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＳＨＰ２阻害剤である、請求項１２に記載の方法。
【請求項２７】
前記ＳＨＰ２阻害剤はＲＭＣ４５５０である、請求項２６に記載の方法。
【請求項２８】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＴＯＲ阻害剤である、請求項１２に記載の方法。
【請求項２９】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＰＩ３Ｋ阻害剤である、請求項１２に記載の方法。
【請求項３０】
前記ＰＩ３Ｋ阻害剤は、ＡＭＧ５１１又はブパルリシブである、請求項２９に記載の方法。
【請求項３１】
前記ＰＩ３Ｋ阻害剤はＡＭＧ５１１である、請求項３０に記載の方法。
【請求項３２】
前記ＰＩ３Ｋ阻害剤はブパルリシブである、請求項３０に記載の方法。
【請求項３３】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＡＫＴ阻害剤である、請求項１２に記載の方法。
【請求項３４】
前記ＡＫＴ阻害剤はＡＺＤ５３６３である、請求項３３に記載の方法。
【請求項３５】

【化２】



又はその薬学的に許容される塩、少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤、及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物。

【請求項３６】

前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤は、カルボプラチン、抗ＰＤ－１阻害剤、ＭＥＫ阻害剤、ＥＧＦＲ阻害剤、ＳＨＰ２阻害剤、ＰＩ３Ｋ阻害剤又はＡＫＴ阻害剤である、請求項３５に記載の組成物。

【請求項３７】

前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はカルボプラチンである、請求項３６に記載の組成物。

【請求項３８】

前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤は抗ＰＤ－１阻害剤である、請求項３６に記載の組成物。

【請求項３９】

前記抗ＰＤ－１阻害剤は、ＡＭＧ４０４、ペムブロリズマブ、及びニボルマブから選択される、請求項３８に記載の組成物。

【請求項４０】

前記抗ＰＤ－１阻害剤はペムブロリズマブである、請求項３９に記載の組成物。

【請求項４１】

前記抗ＰＤ－１阻害剤はＡＭＧ４０４である、請求項３９に記載の組成物。

【請求項４２】

前記抗ＰＤ－１阻害剤はニボルマブである、請求項３９に記載の組成物。

【請求項４３】

前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＭＥＫ阻害剤である、請求項３６に記載の組成物。

【請求項４４】

前記ＭＥＫ阻害剤は、トラメチニブ、ピマセルチブ、ＰＤ－３２５９０１、ＭＥＫ１６２、ＴＡＫ－７３３、ＧＤＣ－０９７３又はＡＺＤ８３３０である、請求項４３に記載の組成物。

【請求項４５】

前記ＭＥＫ阻害剤はトラメチニブである、請求項４４に記載の組成物。

【請求項４６】

前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＥＧＦＲ阻害剤である、請求項３６に記載の組成物。

【請求項４７】

前記ＥＧＦＲ阻害剤は、アファチニブ、エルロチニブ、ラパチニブ又はセツキシマブである、請求項４６に記載の組成物。

【請求項４８】

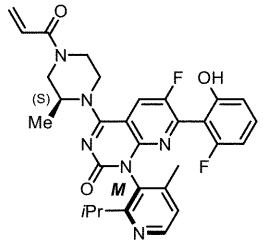
前記ＥＧＦＲ阻害剤はアファチニブである、請求項４７に記載の組成物。

【請求項４９】

前記ＥＧＦＲ阻害剤はセツキシマブである、請求項４７に記載の組成物。

【請求項５０】

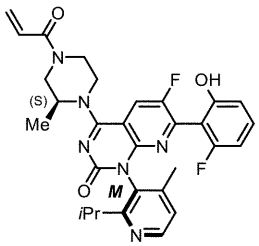
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＳＨＰ２阻害剤である、請求項３６に記載の組成物。
【請求項５１】
前記ＳＨＰ２阻害剤はＲＭＣ４５５０である、請求項５０に記載の組成物。
【請求項５２】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＴＯＲ阻害剤である、請求項３６に記載の組成物。
【請求項５３】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＰＩ３Ｋ阻害剤である、請求項３６に記載の組成物。
【請求項５４】
前記ＰＩ３Ｋ阻害剤は、ＡＭＧ５１１又はブパルリシブである、請求項５３に記載の組成物。
【請求項５５】
前記ＰＩ３Ｋ阻害剤は、ＡＭＧ５１１である、請求項５４に記載の組成物。
【請求項５６】
前記ＰＩ３Ｋ阻害剤は、ブパルリシブである、請求項５４に記載の組成物。
【請求項５７】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＡＫＴ阻害剤である、請求項３６に記載の組成物。
【請求項５８】
前記ＡＫＴ阻害剤はＡＺＤ５３６３である、請求項５７に記載の組成物。
【請求項５９】
$KRAS^{G12C}$阻害剤又はその薬学的に許容される塩、及び少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤を含むキット。
【請求項６０】
前記$KRAS^{G12C}$阻害剤は
【化３】



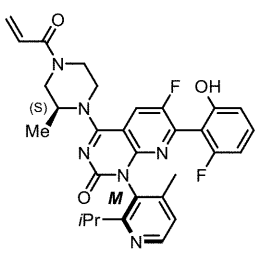
又はその薬学的に許容される塩である、請求項５９に記載のキット。
【請求項６１】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤は、カルボプラチン、抗ＰＤ－１阻害剤、ＭＥＫ阻害剤、ＥＧＦＲ阻害剤、ＴＯＲ阻害剤、ＳＨＰ２阻害剤、ＰＩ３Ｋ阻害剤又はＡＫＴ阻害剤である、請求項５９に記載のキット。
【請求項６２】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はカルボプラチンである、請求項５９に記載のキット。
【請求項６３】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤は抗ＰＤ－１阻害剤である、請求項５９に記載のキット。
【請求項６４】
前記抗ＰＤ－１阻害剤は、ＡＭＧ４０４、ペムブロリズマブ、及びニボルマブから選択される、請求項６３に記載のキット。

【請求項６５】
前記抗ＰＤ－１阻害剤はペムブロリズマブである、請求項６４に記載のキット。
【請求項６６】
前記抗ＰＤ－１阻害剤はＡＭＧ４０４である、請求項６４に記載のキット。
【請求項６７】
前記抗ＰＤ－１阻害剤はニボルマブである、請求項６４に記載のキット。
【請求項６８】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＭＥＫ阻害剤である、請求項６１に記載のキット。
【請求項６９】
前記ＭＥＫ阻害剤は、トラメチニブ、ピマセルチブ、ＰＤ－３２５９０１、ＭＥＫ１６２、ＴＡＫ－７３３、ＧＤＣ－０９７３又はＡＺＤ８３３０である、請求項６８に記載のキット。
【請求項７０】
前記ＭＥＫ阻害剤はトラメチニブである、請求項６９に記載のキット。
【請求項７１】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＥＧＦＲ阻害剤である、請求項６１に記載のキット。
【請求項７２】
前記ＥＧＦＲ阻害剤は、アファチニブ、エルロチニブ、ラパチニブ、又はセツキシマブである、請求項６１に記載のキット。
【請求項７３】
前記ＥＧＦＲ阻害剤はアファチニブである、請求項６２に記載のキット。
【請求項７４】
前記ＥＧＦＲ阻害剤はセツキシマブである、請求項６２に記載のキット。
【請求項７５】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＳＨＰ２阻害剤である、請求項６１に記載のキット。
【請求項７６】
前記ＳＨＰ２阻害剤はＲＭＣ４５５０である、請求項７５に記載のキット。
【請求項７７】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＴＯＲ阻害剤である、請求項６１に記載のキット。
【請求項７８】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＰＩ３Ｋ阻害剤である、請求項６１に記載のキット。
【請求項７９】
前記ＰＩ３Ｋ阻害剤は、ＡＭＧ５１１又はブパルリシブである、請求項７８に記載のキット。
【請求項８０】
前記ＰＩ３Ｋ阻害剤は、ＡＭＧ５１１である、請求項７９に記載のキット。
【請求項８１】
前記ＰＩ３Ｋ阻害剤は、ブパルリシブである、請求項７９に記載のキット。
【請求項８２】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＡＫＴ阻害剤である、請求項６１に記載のキット。
【請求項８３】
前記ＡＫＴ阻害剤はＡＺＤ５３６３である、請求項８２に記載のキット。
【請求項８４】
前記キットはがんを治療するためのものである、請求項５９に記載のキット。

【請求項８５】
前記がんはＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ変異を有する、請求項８４に記載のキット。
【請求項８６】
前記がんは、膵臓がん、結腸直腸がん、肺がん、虫垂がん、子宮内膜がん、又は小腸がんである、請求項８４に記載のキット。
【請求項８７】
前記がんは膵臓がんである、請求項８６に記載のキット。
【請求項８８】
前記がんは結腸直腸がんである、請求項８６に記載のキット。
【請求項８９】
前記がんは肺がんである、請求項８６に記載のキット。
【請求項９０】
前記肺がんは非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）である、請求項８９に記載のキット。
【請求項９１】
前記がんは虫垂がんである、請求項８６に記載のキット。
【請求項９２】
前記がんは子宮内膜がんである、請求項８６に記載のキット。
【請求項９３】
前記がんは小腸がんである、請求項８６に記載のキット。
【請求項９４】
被験体のがんの管理又は治療用の薬剤を製造するための、少なくとも１種の追加の化学療法薬と組み合わせた、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤の使用。
【請求項９５】
前記ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤は、
【化４】



又はその薬学的に許容される塩である、請求項９４に記載の使用。
【請求項９６】
少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤とともに、がんの治療に使用するＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤である化合物。
【請求項９７】
前記ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤は
【化５】



又はその薬学的に許容される塩である、請求項９６に記載の化合物。
【請求項９８】

前記がんはＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ変異を有する、請求項９６に記載の化合物。
【請求項９９】
前記がんは、膵臓がん、結腸直腸がん、肺がん、虫垂がん、子宮内膜がん、又は小腸がんである、請求項９６に記載の化合物。
【請求項１００】
前記がんは膵臓がんである、請求項９９に記載の化合物。
【請求項１０１】
前記がんは結腸直腸がんである、請求項９９に記載の化合物。
【請求項１０２】
前記がんは肺がんである、請求項９９に記載の化合物。
【請求項１０３】
前記肺がんは非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）である、請求項１０２に記載の化合物。
【請求項１０４】
前記がんは虫垂がんである、請求項９９に記載の化合物。
【請求項１０５】
前記がんは子宮内膜がんである、請求項９９に記載の化合物。
【請求項１０６】
前記がんは小腸がんである、請求項９９に記載の化合物。
【請求項１０７】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤は、カルボプラチン、抗ＰＤ－１阻害剤、ＭＥＫ阻害剤、ＥＧＦＲ阻害剤、ＴＯＲ阻害剤、ＳＨＰ２阻害剤、ＰＩ３Ｋ阻害剤又はＡＫＴ阻害剤である、請求項９６に記載の化合物。
【請求項１０８】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はカルボプラチンである、請求項１０７に記載の化合物。
【請求項１０９】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤は抗ＰＤ－１阻害剤である、請求項１０７に記載の化合物。
【請求項１１０】
前記抗ＰＤ－１阻害剤は、ＡＭＧ４０４、ペムブロリズマブ、及びニボルマブから選択される、請求項１０９に記載の化合物。
【請求項１１１】
前記抗ＰＤ－１阻害剤はペムブロリズマブである、請求項１１０に記載の化合物。
【請求項１１２】
前記抗ＰＤ－１阻害剤はＡＭＧ４０４である、請求項１１０に記載の化合物。
【請求項１１３】
前記抗ＰＤ－１阻害剤はニボルマブである、請求項１１０に記載の化合物。
【請求項１１４】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＭＥＫ阻害剤である、請求項１０７に記載の化合物。
【請求項１１５】
前記ＭＥＫ阻害剤は、トラメチニブ、ピマセルチブ、ＰＤ－３２５９０１、ＭＥＫ１６２、ＴＡＫ－７３３、ＧＤＣ－０９７３又はＡＺＤ８３３０である、請求項１１４に記載の化合物。
【請求項１１６】
前記ＭＥＫ阻害剤はトラメチニブである、請求項１１５に記載の化合物。
【請求項１１７】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＥＧＦＲ阻害剤である、請求項１０７に記載の化合物。
【請求項１１８】

前記ＥＧＦＲ阻害剤は、アファチニブ、エルロチニブ、ラパチニブ、又はセツキシマブである、請求項１１７に記載の化合物。
【請求項１１９】
前記ＥＧＦＲ阻害剤はアファチニブである、請求項１１８に記載の化合物。
【請求項１２０】
前記ＥＧＦＲ阻害剤はセツキシマブである、請求項１１８に記載の化合物。
【請求項１２１】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＳＨＰ２阻害剤である、請求項１０７に記載の化合物。
【請求項１２２】
前記ＳＨＰ２阻害剤はＲＭＣ４５５０である、請求項１２１に記載の化合物。
【請求項１２３】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＴＯＲ阻害剤である、請求項１０７に記載の化合物。
【請求項１２４】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＰＩ３Ｋ阻害剤である、請求項１０７に記載の化合物。
【請求項１２５】
前記ＰＩ３Ｋ阻害剤は、ＡＭＧ５１１又はブパルリシブである、請求項１２４に記載の化合物。
【請求項１２６】
前記ＰＩ３Ｋ阻害剤は、ＡＭＧ５１１である、請求項１２５に記載の化合物。
【請求項１２７】
前記ＰＩ３Ｋ阻害剤は、ブパルリシブである、請求項１２５に記載の化合物。
【請求項１２８】
前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＡＫＴ阻害剤である、請求項１０７に記載の化合物。
【請求項１２９】
前記ＡＫＴ阻害剤はＡＺＤ５３６３である、請求項１２８に記載の化合物。
【請求項１３０】
前記$KRAS^{G12C}$阻害剤、及び前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤は同時に投与される、請求項１に記載の方法。
【請求項１３１】
前記$KRAS^{G12C}$阻害剤及び前記少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤は別々に投与される、請求項１に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
＜関連出願の相互参照＞
本出願は２０１９年６月２４日に出願された米国仮特許出願第６２／８６５，８１９号明細書、２０１９年年３月２０日に出願された米国仮特許出願第６２／８２１，３７６号明細書、及び２０１８年１１月１９日に出願された米国仮特許出願第６２／７６９，３５５号明細書の優先権及び利益を主張し、これらの全ては、あらゆる目的のためにその全体が参照により本明細書に組み込まれる。
【０００２】
＜配列表＞
本願は、電子フォーマットの配列表と共に出願されている。配列表は、Ａ－２３２６－ＵＳ－ＮＰ＿ＳｅｑＬｉｓｔ＿１０２９１９＿ＳＴ２５．ｔｘｔ（２０１９年１０月２９日作成）という名称のファイルで提供されており、１５．４ｋｂのサイズである。電子フォーマットの配列表における情報は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０００３】
本発明は、特にがん治療のためのＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}阻害剤及び１種以上の、薬学的に活性な追加の薬剤を含む、併用療法を提供する。本発明はまた、がん治療のための、ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}阻害剤、及び１種以上の薬学的に活性な追加の薬剤を含む医薬組成物に関する。

【背景技術】
【０００４】
ＫＲＡＳ遺伝子変異は、膵臓がん、肺腺がん、結腸直腸がん、胆嚢がん、甲状腺がん、及び胆管がんで一般的である。ＫＲＡＳ変異はまた、ＮＳＣＬＣ患者の約２５％において観察され、いくつかの研究では、ＫＲＡＳ変異がＮＳＣＬＣ患者の負の予後因子であることが示されている。最近、Ｖ－Ｋｉ－ｒａｓ２　Ｋｉｒｓｔｅｎラット肉腫ウイルスがん遺伝子相同体（ＫＲＡＳ）変異は、結腸直腸がんにおける上皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ）標的療法に対する耐性を付与することが見出されており、したがって、ＫＲＡＳの変異状態は、重要な情報をＴＫＩ療法の処方前に提供することができる。まとめると、膵臓がん、肺腺がん、又は結腸直腸がんを有する患者、特にＫＲＡＳ変異を特徴とするがんを有すると診断された患者、及び化学療法後にまで進行した患者を含む患者のための新しい医学的治療が必要とされている。残基Ｇ１２、Ｇ１３、及びＱ６１における発がん性ＫＲＡＳ変異は、固形悪性腫瘍で見出される最も一般的なＲＡＳ変異の代表的なものである。最近、スイッチＩＩポケット（ＳＩＩＰ）に隣接する変異体システインと反応し、ＫＲＡＳをその不活性なＧＤＰ結合状態にロックする共有結合小分子阻害剤で、ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}が標的化できることが実証された。

【０００５】
ＫＲＡＳはヒトがんにおいて最も頻繁に変異するがん遺伝子であり、腫瘍内で重要なシグナル伝達タンパク質をコードする。ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}変異体はシステインを保有し、当該箇所は、有望な前臨床活性を有する共有結合阻害剤を設計するために利用されてきた。本発明者らは、新規な結合相互作用及び著しく増強された効力及び選択性を有する一連の阻害剤を最適化した。これらの努力は、臨床開発において最初のＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}阻害剤であるＡＭＧ５１０の発見に繋がった。臨床前ＡＭＧ５１０治療は、ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍を退縮させ、化学療法及び標的薬剤の抗腫瘍有効性を有意に改善した。免疫コンピテントマウスでは、ＡＭＧ５１０による治療は炎症誘発性腫瘍微小環境をもたらし、免疫チェックポイント阻害と組み合わせて永続性のある治癒をもたらした。治癒したマウスは、同質遺伝子ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｄ腫瘍の増殖を拒絶し、共有抗原に対する適応免疫を示唆している。ＡＭＧ５１０は最初の投薬コホートにおける臨床的抗腫瘍活性の予備的証拠を示し、有効な治療を欠く患者のための潜在的に形質転換的な治療を表す。

【０００６】
ＫＲＡＳ腫瘍タンパク質は、腫瘍細胞の増殖及び生存に関与する細胞内シグナル伝達経路の必須メディエーターであるＧＴＰアーゼである。正常細胞では、ＫＲＡＳは分子スイッチとして機能し、不活性なＧＤＰ結合状態と活性なＧＴＰ結合状態との間を交互に繰り返す。これらの状態間の遷移は、ＧＴＰをロードし、ＫＲＡＳを活性化するグアニンヌクレオチド交換因子（ＧＥＦ）、及びＫＲＡＳを不活性化するＧＴＰアーゼ活性化タンパク質（ＧＡＰ）によって触媒されるＧＴＰ加水分解によって促進される。ＧＴＰのＫＲＡＳへの結合は、ＲＡＦ－ＭＥＫ－ＥＲＫ（ＭＡＰＫ）を含むシグナル伝達経路を誘発するエフェクターの結合を促進する。ＫＲＡＳの体細胞性活性化変異はがんの特徴であり、ＧＡＰの会合を妨げ、それによってエフェクター結合を安定化し、ＫＲＡＳシグナル伝達を増強する。ＫＲＡＳ変異腫瘍を有する患者は、有意に芳しくない転帰及びより悪い予後を有する。腫瘍型のサブセットについて、いくつかのＭＡＰＫ経路タンパク質（例えば、ＭＥＫ、ＢＲＡＦ、ＥＧＦＲ）の臨床的に認可された阻害剤が存在するが、現在まで、ＫＲＡＳ変異腫瘍に対して選択的である臨床分子は存在しない。さらに、いくつかのＭＡＰＫ経路標的療法は、臨床的有効性の欠如のために、ＫＲＡＳ変異腫瘍の治療には禁忌である。さらに、非腫瘍又は非変異体選択的治療は、正常細胞におけるＭＡＰＫシグナル伝達の阻

害のために、標的毒性を導入することができる。これは、このような薬剤を標準治療又は免疫療法と組み合わせるための有用性を制限し得る。したがって、正常細胞に責任を課さない腫瘍選択的治療法の開発に対する、かなりの満たされていない必要性が存在する。

【０００７】

ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃは、肺腺がんの約１３％、結腸直腸がんの３％、及び他の固形腫瘍の２％に存在する。ＫＲＡＳ^{G12C}の変異体システインは、ＫＲＡＳの不活性ＧＤＰ結合型に存在するポケット（Ｐ２）に隣接して存在する。Ｐ２と変異体システインとの近接は、共有結合阻害剤の広範な探索に繋がった。ＫＲＡＳ^{G12C}の最初に報告された求電子スクリーニングはＡＲＳ－１６２０の最終的な同定に繋がり、これは、前臨床ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃモデルにおけるインビボ有効性を示す。Ａｒａｘｅｓ　ＰｈａｒｍａのＡＲＳ－１６２０は概念証明、変異体選択的ＫＲＡＳ阻害のマイルストーンであったが、前臨床試験のツール化合物として位置づけられた。Ａｍｇｅｎ，Ｉｎｃ．の科学者らは、ＫＲＡＳ^{G12C}の以前には利用されていなかった表面溝を利用し、有効性及び選択性を実質的に高めた、一連の新規なアクリルアミド系分子を同定した。集中的な求電子スクリーニング及び構造に基づく設計は、ヒトの臨床試験に到達した最初のＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤であるＡＭＧ５１０の発見に至った（ｗｗｗ．ｃｌｉｎｉｃａｌｔｒｉａｌｓ．ｇｏｖ　ＮＣＴ０３６００８８３を参照されたい）。本発明は、ＡＭＧ５１０の説得力のある前臨床活性、単独療法として、又は他の療法と併用した場合に腫瘍細胞殺傷を増強するその能力、及び腫瘍微小環境の免疫療法に対する感受性をこの上なく見事に高める免疫細胞浸潤に対する劇的な影響を含む。臨床的有効性についての予備的証拠もまた、本明細書で提示される。

【発明の概要】

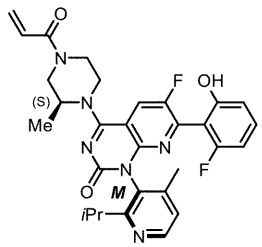
【課題を解決するための手段】

【０００８】

本発明は、

【０００９】

【化１】



ＡＭＧ５１０、又はその薬学的に許容される塩；及び１種以上の治療薬又は薬学的に活性な薬剤；及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物を含む。

【００１０】

本発明は、ＡＭＧ５１０、又は薬学的に許容される塩と少なくとも１種の治療薬との併用により、非限定的に肺がん、結腸がん及び膵臓がんを含む固形腫瘍などのがんを治療する方法をさらに含み、治療薬は、抗ＰＤ－１抗体、化学療法薬、ＭＥＫ阻害剤、ＥＧＦＲ阻害剤、ＴＯＲ阻害剤、ＳＨＰ２阻害剤、ＰＩ３Ｋ阻害剤、及びＡＫＴ阻害剤から選択される。

【００１１】

本発明はさらに、２つのＫＲＡＳ^{G12C}対立遺伝子を含む、単離された細胞株を含み、その細胞株はＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐＧ１２Ｃである。

【００１２】

本発明はさらに、２つのＫＲＡＳ^{G12C}対立遺伝子を含む細胞株を作製する方法であって、

ａ）２つのＫＲＡＳ^{G12C}対立遺伝子が生成されるよう、２つのＫＲＡＳ対立遺伝子両

方のヌクレオチドの置換を誘発するＣＲＩＳＰＲ構築物とともに、２つのＫＲＡＳ^{G12D}対立遺伝子を含む細胞株をインキュベートする工程；及び
ｂ）２つのＫＲＡＳ^{G12C}対立遺伝子を含む細胞株の単離工程、
を含む方法を含む。
【００１３】
＜実施形態の最初のセット＞
【００１４】
１．本発明の一実施形態では、本発明は膵臓がんを治療する方法を含み、その方法はそれを必要とする患者に、治療有効量のＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤及び少なくとも１種の化学療法薬を投与することを含む。
【００１５】
２．本発明の別の実施形態では、本発明は結腸がんを治療する方法を含み、その方法はそれを必要とする患者に、治療有効量のＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤及び少なくとも１種の化学療法薬を投与することを含む。
【００１６】
３．本発明の別の実施形態では、本発明は、結腸がんがＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃの変異を有する、実施形態２に記載の方法を含む。
【００１７】
４．本発明の別の実施形態では、本発明は肺がんを治療する方法を含み、その方法はそれを必要とする患者に、治療有効量のＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤及び化学療法薬を投与することを含む。
【００１８】
いくつかのそのような実施形態では、肺がんは非小細胞肺がんである。
【００１９】
５．本発明の別の実施形態では、本発明は、膵臓がんがＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃの変異を有する、実施形態１に記載の方法を含む。
【００２０】
６．本発明の別の実施形態では、本発明は、化学療法薬がカルボプラチンである、実施形態１～５のいずれか１つに記載の方法を含む。
【００２１】
７．本発明の別の実施形態では、本発明は膵臓がんを治療する方法を含み、その方法はそれを必要とする患者に、治療有効量のＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤及びＭＥＫ阻害剤を投与することを含む。
【００２２】
８．本発明の別の実施形態では、本発明は結腸がんを治療する方法を含み、その方法はそれを必要とする患者に、治療有効量のＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤及びＭＥＫ阻害剤を投与することを含む。
【００２３】
９．本発明の別の実施形態では、本発明は肺がんを治療する方法を含み、その方法はそれを必要とする患者に、治療有効量のＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤及びＭＥＫ阻害剤を投与することを含む。
【００２４】
１０．本発明の別の実施形態では、本発明は、肺がんがｐ．ＫＲＡＳ　Ｇ１２Ｃの変異を有する、実施形態９に記載の方法を含む。
【００２５】
１１．本発明の別の実施形態では、本発明は、ＭＥＫ阻害剤がトラメチニブである、実施形態７～１０のいずれか１つに記載の方法を含む。
【００２６】
１２．本発明の別の実施形態では、本発明は、ＭＥＫ阻害剤がピマセルチブ、ＰＤ－３２５９０１、ＭＥＫ１６２、ＴＡＫ－７３３、ＧＤＣ－０９７３又はＡＺＤ８３３０であ

る、実施形態７～１０のいずれか１つに記載の方法を含む。
【００２７】
１３．本発明の別の実施形態では、本発明は膵臓がんを治療する方法を含み、その方法はそれを必要とする患者に、治療有効量のＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤及びＥＧＦＲ阻害剤を投与することを含む。
【００２８】
１４．本発明の別の実施形態では、本発明は結腸がんを治療する方法を含み、その方法はそれを必要とする患者に、治療有効量のＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤及びＥＧＦＲ阻害剤を投与することを含む。
【００２９】
１５．本発明の別の実施形態では、本発明は肺がんを治療する方法を含み、その方法はそれを必要とする患者に、治療有効量のＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤及びＥＧＦＲ阻害剤を投与することを含む。
【００３０】
１６．本発明の別の実施形態では、本発明は、ＥＧＦＲ阻害剤がアファチニブである、実施形態１３～１５のいずれか１つに記載の方法を含む。
【００３１】
１７．本発明の別の実施形態では、本発明は、ＥＧＦＲ阻害剤がエルロチニブである、実施形態１３及び１５のいずれか１つに記載の方法を含む。
【００３２】
１８．本発明の別の実施形態では、本発明は、ＥＧＦＲ阻害剤がラパチニブである、実施形態１５に記載の方法を含む。
【００３３】
１９．本発明の別の実施形態では、本発明は膵臓がんを治療する方法を含み、その方法はそれを必要とする患者に、治療有効量のＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤及びＳＨＰ２阻害剤を投与することを含む。
【００３４】
２０．本発明の別の実施形態では、本発明は結腸がんを治療する方法を含み、その方法はそれを必要とする患者に、治療有効量のＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤及びＳＨＰ２阻害剤を投与することを含む。
【００３５】
２１．本発明の別の実施形態では、本発明は肺がんを治療する方法を含み、その方法はそれを必要とする患者に、治療有効量のＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤及びＳＨＰ２阻害剤を投与することを含む。
【００３６】
２２．本発明の別の実施形態では、本発明は、ＳＨＰ２阻害剤がＲＭＣ－４５５０から選択される、実施形態１９～２１のいずれか１つに記載の方法を含む。
【００３７】
２３．本発明の別の実施形態では、本発明は、ＳＨＰ２阻害剤がＲＭＣ４５５０である、実施形態２２に記載の方法を含む。
【００３８】
２４．本発明の別の実施形態では、本発明は膵臓がんを治療する方法を含み、その方法はそれを必要とする患者に、治療有効量のＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤及びＰＩ３Ｋ阻害剤を投与することを含む。
【００３９】
２５．本発明の別の実施形態では、本発明は結腸がんを治療する方法を含み、その方法はそれを必要とする患者に、治療有効量のＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤及びＰＩ３Ｋ阻害剤を投与することを含む。
【００４０】
２６．本発明の別の実施形態では、本発明は肺がんを治療する方法を含み、その方法は

それを必要とする患者に、治療有効量のＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤及びＰＩ３Ｋ阻害剤を投与することを含む。

【００４１】

２７．本発明の別の実施形態では、本発明は、ＰＩ３Ｋ阻害剤がＡＭＧ５１１である、実施形態２４～２６のいずれか１つに記載の方法を含む。

【００４２】

２８．本発明の別の実施形態では、本発明は、ＰＩ３Ｋ阻害剤がブパルリシブである、実施形態２６に記載の方法を含む。

【００４３】

２９．本発明の別の実施形態では、本発明は膵臓がんを治療する方法を含み、その方法はそれを必要とする患者に、治療有効量のＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤及びＡＫＴ阻害剤を投与することを含む。

【００４４】

３０．本発明の別の実施形態では、本発明は肺がんを治療する方法を含み、その方法はそれを必要とする患者に、治療有効量のＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤及びＡＫＴ阻害剤を投与することを含む。

【００４５】

３１．本発明の別の実施形態では、本発明は、ＡＫＴ阻害剤がＡＺＤ５３６３である、実施形態２９～３０のいずれか１つに記載の方法を含む。

【００４６】

３２．本発明の別の実施形態では、本発明は結腸がんを治療する方法を含み、その方法はそれを必要とする患者に、治療有効量のＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤及びＥＧＦＲ抗体を投与することを含む。

【００４７】

３３．本発明の別の実施形態では、本発明は、ＥＧＦＲ抗体がセツキシマブである、実施形態３２に記載の方法を含む。

【００４８】

３２．本発明の別の実施形態では、本発明は結腸がんを治療する方法を含み、その方法はそれを必要とする患者に、治療有効量のＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤及び抗ＰＤ－１抗体を投与することを含む。

【００４９】

３３．本発明の別の実施形態では、本発明は、抗ＰＤ－１抗体がＡＭＧ４０４、ペムブロリズマブ及びニボルマブから選択される、実施形態３２に記載の方法を含む。

【００５０】

３４．本発明の別の実施形態では、本発明は、抗ＰＤ－１抗体がペムブロリズマブである、実施形態３３に記載の方法を含む。

【００５１】

３５．本発明の別の実施形態では、本発明は、抗ＰＤ－１抗体がＡＭＧ４０４である、実施形態３３に記載の方法を含む。

【００５２】

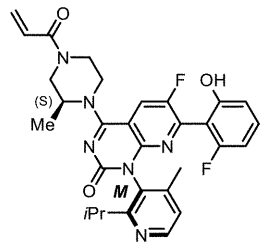
３６．本発明の別の実施形態では、本発明は、抗ＰＤ－１抗体がニボルマブである、実施形態３３に記載の方法を含む。

【００５３】

３７．本発明の別の実施形態では、本発明は

【００５４】

【化２】



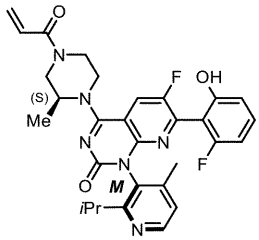
又はその薬学的に許容される塩；カルボプラチン；及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物を含む。

【００５５】

３８．本発明の別の実施形態では、本発明は

【００５６】

【化３】



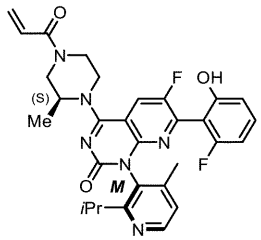
又はその薬学的に許容される塩；トラメチニブ；及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物を含む。

【００５７】

３９．本発明の別の実施形態では、本発明は

【００５８】

【化４】



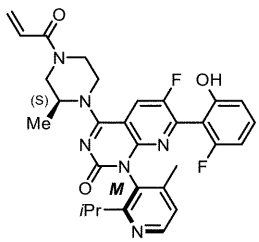
又はその薬学的に許容される塩；アファチニブ；及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物を含む。

【００５９】

４０．本発明の別の実施形態では、本発明は

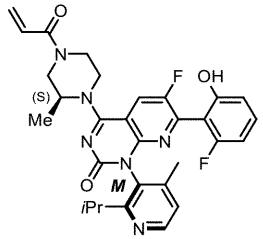
【００６０】

【化５】

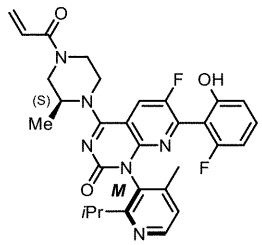


又はその薬学的に許容される塩；エルロチニブ；及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物を含む。

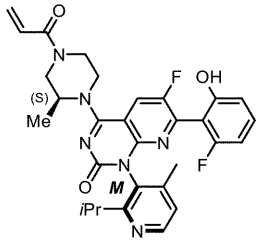
【００６１】
４１．本発明の別の実施形態では、本発明は
【００６２】
【化６】



又はその薬学的に許容される塩；ラパチニブ；及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物を含む。
【００６３】
４２．本発明の別の実施形態では、本発明は
【００６４】
【化７】

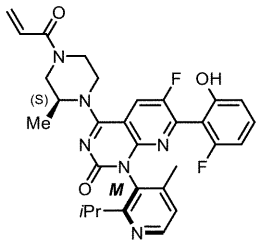


又はその薬学的に許容される塩；ＲＭＣ－４５５０；及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物を含む。
【００６５】
４３．本発明の別の実施形態では、本発明は
【００６６】
【化８】



又はその薬学的に許容される塩；ＡＭＧ５１１；及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物を含む。
【００６７】
４４．本発明の別の実施形態では、本発明は
【００６８】

【化９】



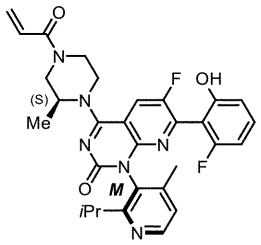
又はその薬学的に許容される塩；ブパルリシブ；及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物を含む。

【００６９】

４５．本発明の別の実施形態では、本発明は

【００７０】

【化１０】



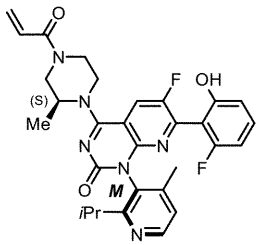
又はその薬学的に許容される塩；ＡＺＤ５３６３；及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物を含む。

【００７１】

４６．本発明の別の実施形態では、本発明は

【００７２】

【化１１】



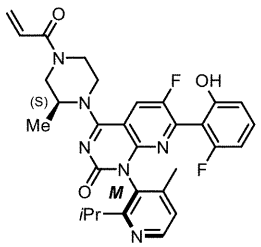
又はその薬学的に許容される塩；セツキシマブ；及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物を含む。

【００７３】

４７．本発明の別の実施形態では、本発明は

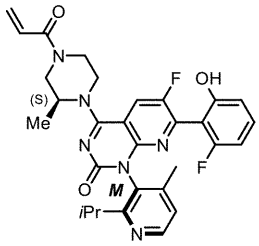
【００７４】

【化１２】

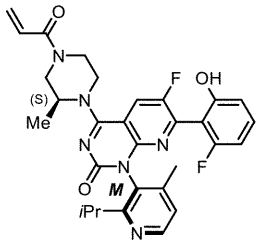


又はその薬学的に許容される塩；抗ＰＤ－１抗体；及び薬学的に許容される賦形剤を含む

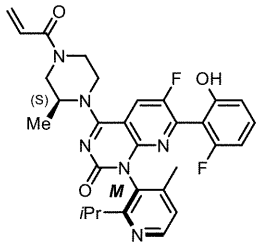
医薬組成物を含む。
【００７５】
４８．本発明の別の実施形態では、本発明は
【００７６】
【化１３】



又はその薬学的に許容される塩；ＡＭＧ４０４；及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物を含む。
【００７７】
４９．本発明の別の実施形態では、本発明は
【００７８】
【化１４】

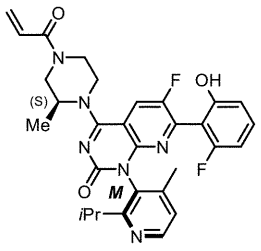


又はその薬学的に許容される塩；ペムブロリズマブ；及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物を含む。
【００７９】
５０．本発明の別の実施形態では、本発明は
【００８０】
【化１５】



又はその薬学的に許容される塩；ニボルマブ；及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物を含む。
【００８１】
５１．本発明の別の実施形態では、本発明は、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤が
【００８２】

【化１６】



又はその薬学的に許容される塩である、実施形態１～４又は７～３６のいずれか１つに記載の方法を含む。

【００８３】

５２．本発明の別の実施形態では、本発明は固形腫瘍を治療するために、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤とＭＥＫ阻害剤との併用を含む。

【００８４】

５３．本発明の別の実施形態では、本発明は肺がんを治療するために、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤とＭＥＫ阻害剤との併用を含む。

【００８５】

５４．本発明の別の実施形態では、本発明は結腸がんを治療するために、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤とＭＥＫ阻害剤との併用を含む。

【００８６】

５５．本発明の別の実施形態では、本発明は膵臓がんを治療するために、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤とＭＥＫ阻害剤との併用を含む。

【００８７】

５６．本発明の別の実施形態では、本発明は固形腫瘍を治療するために、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤と化学療法薬との併用を含む。

【００８８】

５７．本発明の別の実施形態では、本発明は肺がんを治療するために、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤と化学療法薬との併用を含む。

【００８９】

５８．本発明の別の実施形態では、本発明は結腸がんを治療するために、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤と化学療法薬との併用を含む。

【００９０】

５９．本発明の別の実施形態では、本発明は膵臓がんを治療するために、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤と化学療法薬との併用を含む。

【００９１】

６０．本発明の別の実施形態では、本発明は固形腫瘍を治療するために、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤とＥＧＦＲ阻害剤との併用を含む。

【００９２】

６１．本発明の別の実施形態では、本発明は肺がんを治療するために、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤とＥＧＦＲ阻害剤との併用を含む。

【００９３】

６２．本発明の別の実施形態では、本発明は結腸がんを治療するために、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤とＥＧＦＲ阻害剤との併用を含む。

【００９４】

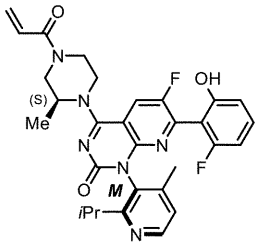
６３．本発明の別の実施形態では、本発明は膵臓がんを治療するために、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤とＥＧＦＲ阻害剤との併用を含む。

【００９５】

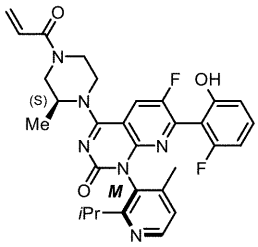
６４．本発明の別の実施形態では、本発明は固形腫瘍を治療するために、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤と抗ＰＤ－１抗体薬との併用を含む。

【００９６】
６５．本発明の別の実施形態では、本発明は肺がんを治療するために、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤と抗ＰＤ－１抗体薬との併用を含む。
【００９７】
６６．本発明の別の実施形態では、本発明は結腸がんを治療するために、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤と抗ＰＤ－１抗体薬との併用を含む。
【００９８】
６７．本発明の別の実施形態では、本発明は膵臓がんを治療するために、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤と抗ＰＤ－１抗体薬との併用を含む。
【００９９】
６８．本発明の別の実施形態では、本発明は、対象の膵臓がん、肺がん、又は結腸がんの管理又は治療用の薬剤を製造するために、化学療法薬と組み合わせたＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤の使用を含む。
【０１００】
６９．本発明の別の実施形態では、本発明は、対象の膵臓がん、肺がん、又は結腸がんの管理又は治療用の薬剤を製造するために、ＭＥＫ阻害剤と組み合わせたＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤の使用を含む。
【０１０１】
７０．本発明の別の実施形態では、本発明は、対象の膵臓がん、肺がん、又は結腸がんの管理又は治療用の薬剤を製造するために、ＥＧＦＲ阻害剤と組み合わせたＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤の使用を含む。
【０１０２】
７１．本発明の別の実施形態では、本発明は、対象の膵臓がん、肺がん、又は結腸がんの管理又は治療用の薬剤を製造するために、抗ＰＤ－１抗体と組み合わせたＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤の使用を含む。
【０１０３】
７２．本発明の別の実施形態では、本発明は、２つのＫＲＡＳ^{G12C}対立遺伝子を含む、単離された細胞株を含む。
【０１０４】
７３．本発明の別の実施形態では、本発明は、細胞株がＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃである、実施形態６８に記載の細胞株を含む。
【０１０５】
７４．本発明の別の実施形態では、本発明は、２つのＫＲＡＳ^{G12C}対立遺伝子を含む細胞株を作製する方法であって、
ａ）２つのＫＲＡＳ^{G12C}対立遺伝子が生成されるよう、２つのＫＲＡＳ対立遺伝子両方のヌクレオチドの置換を誘発するＣＲＩＳＰＲ構築物とともに、２つのＫＲＡＳＧ１２Ｄ対立遺伝子を含む細胞株をインキュベートする工程；及び
ｂ）２つのＫＲＡＳ^{G12C}対立遺伝子を含む細胞株の単離工程を含む方法、
を含む。
【０１０６】
７５．本発明の別の実施形態では、本発明は、ＣＲＩＳＰＲ構築物が配列ＣＴＴＧＴＧＡＴＧＧＴＴＧＧＡＧＣＴＧＡ（配列番号２１）を含む、実施形態７０に記載の方法を含む。
【０１０７】
７６．本発明の別の実施形態では、本発明はがんを治療する方法を含み、その方法はそれを必要とする患者に、治療有効量のＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤及び少なくとも１種の追加の化学療法薬を投与することを含む。
【０１０８】
７７．本発明の別の実施形態では、本発明は、固形腫瘍を治療するために、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤と抗ＰＤ－１抗体薬との併用を含む。

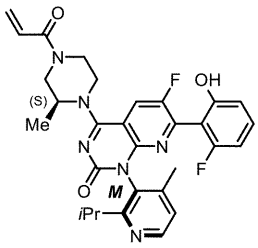
【０１０９】
７８．本発明の別の実施形態では、本発明は、対象の膵臓がん、肺がん、又は結腸がんの管理又は治療用の薬剤を製造するために、少なくとも１種の追加の化学療法薬と組み合わせたＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤の使用を含む。
【０１１０】
７９．本発明の別の実施形態では、本発明は、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤が
【０１１１】
【化１７】



又はその薬学的に許容される塩である、実施形態７６に記載の方法を含む。
【０１１２】
８０．本発明の別の実施形態では、本発明は、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤が
【０１１３】
【化１８】



又はその薬学的に許容される塩である、実施形態７７に記載の併用を含む。
【０１１４】
８１．本発明の別の実施形態では、本発明は、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤が
【０１１５】
【化１９】



又はその薬学的に許容される塩である、実施形態７８に記載の使用を含む。
【０１１６】
８２．本発明の別の実施形態では、本発明は、肺がんが非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）である、実施形態７８に記載の使用を含む。
【０１１７】
＜実施形態の第２のセット＞
【０１１８】
１．本発明の別の実施形態では、本発明はがんを治療する方法に関し、その方法はそれを

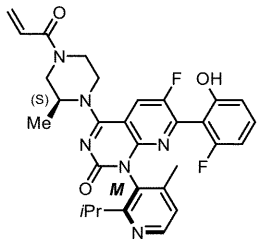
必要とする患者に、治療有効量のＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤及び少なくとも１種の追加の薬学的に活性な薬剤を投与することを含む。

【０１１９】

２．さらなる実施形態では、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤は、

【０１２０】

【化２０】



又はその薬学的に許容される塩である、実施形態１に記載の方法。

【０１２１】

３．さらなる実施形態では、がんはＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ変異を有する、実施形態１に記載の方法。

【０１２２】

４．さらなる実施形態では、がんは膵臓がん、結腸直腸がん、肺がん、虫垂がん、子宮内膜がん、又は小腸がんである、実施形態１に記載の方法。

【０１２３】

５．さらなる実施形態では、がんは膵臓がんである、実施形態４に記載の方法。

【０１２４】

６．さらなる実施形態では、がんは結腸直腸がんである、実施形態４に記載の方法。

【０１２５】

７．さらなる実施形態では、がんは肺がんである、実施形態４に記載の方法。

【０１２６】

８．さらなる実施形態では、肺がんは非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）である、実施形態７に記載の方法。

【０１２７】

９．さらなる実施形態では、がんは虫垂がんである、実施形態４に記載の方法。

【０１２８】

１０．さらなる実施形態では、がんは子宮内膜がんである、実施形態４に記載の方法。

【０１２９】

１１．さらなる実施形態では、がんは小腸がんである、実施形態４に記載の方法。

【０１３０】

１２．さらなる実施形態では、少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤は、カルボプラチン、抗ＰＤ－１阻害剤、ＭＥＫ阻害剤、ＥＧＦＲ阻害剤、ＴＯＲ阻害剤、ＳＨＰ２阻害剤、ＰＩ３Ｋ阻害剤又はＡＫＴ阻害剤である、実施形態１に記載の方法。

【０１３１】

１３．さらなる実施形態では、少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤はカルボプラチンである、実施形態１２に記載の方法。

【０１３２】

１４．さらなる実施形態では、少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤は抗ＰＤ－１阻害剤である、実施形態１２に記載の方法。

【０１３３】

１５．さらなる実施形態では、抗ＰＤ－１阻害剤は、ＡＭＧ４０４、ペムブロリズマブ、及びニボルマブから選択される、実施形態１４に記載の方法。

【０１３４】

１６．さらなる実施形態では、抗ＰＤ－１阻害剤はペムブロリズマブである、実施形態１５に記載の方法。

【０１３５】

１７．さらなる実施形態では、抗ＰＤ－１阻害剤はＡＭＧ４０４である、実施形態１５に記載の方法。

【０１３６】

１８．さらなる実施形態では、抗ＰＤ－１阻害剤は、ニボルマブである、実施形態１５に記載の方法。

【０１３７】

１９．さらなる実施形態では、少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＭＥＫ阻害剤である、実施形態１２に記載の方法。

【０１３８】

２０．さらなる実施形態では、ＭＥＫ阻害剤は、トラメチニブ、ピマセルチブ、ＰＤ－３２５９０１、ＭＥＫ１６２、ＴＡＫ－７３３、ＧＤＣ－０９７３又はＡＺＤ８３３０である、実施形態１９に記載の方法。

【０１３９】

２１．さらなる実施形態では、ＭＥＫ阻害剤はトラメチニブである、実施形態２０に記載の方法。

【０１４０】

２２．さらなる実施形態では、少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤はＥＧＦＲ阻害剤である、実施形態１２に記載の方法。

【０１４１】

２３．さらなる実施形態では、ＥＧＦＲ阻害剤は、アファチニブ、エルロチニブ、ラパチニブ、又はセツキシマブである、実施形態２２に記載の方法。

【０１４２】

２４．さらなる実施形態では、ＥＧＦＲ阻害剤はアファチニブである、実施形態２３に記載の方法。

【０１４３】

２５．さらなる実施形態では、ＥＧＦＲ阻害剤はセツキシマブである、実施形態２３に記載の方法。

【０１４４】

２６．さらなる実施形態では、少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤はＳＨＰ２阻害剤である、実施形態１２に記載の方法。

【０１４５】

２７．さらなる実施形態では、ＳＨＰ２阻害剤はＲＭＣ４５５０である、実施形態２６に記載の方法。

【０１４６】

２８．さらなる実施形態では、ＳＨＰ２阻害剤はＲＭＣ４６３０である、実施形態２６に記載の方法。

【０１４７】

２９．さらなる実施形態では、少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤はＰＩ３Ｋ阻害剤である、実施形態１２に記載の方法。

【０１４８】

３０．さらなる実施形態では、ＰＩ３Ｋ阻害剤はＡＭＧ５１１又はブパルリシブである、実施形態２９に記載の方法。

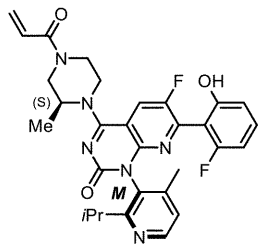
【０１４９】

３１．さらなる実施形態では、ＰＩ３Ｋ阻害剤はＡＭＧ５１１である、実施形態３０に記載の方法。

【０１５０】

３２．さらなる実施形態では、ＰＩ３Ｋ阻害剤はブパルリシブである、実施形態３０に

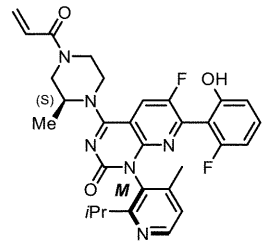
記載の方法。
【０１５１】
３３．さらなる実施形態では、少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤はＡＫＴ阻害剤である、実施形態１２に記載の方法。
【０１５２】
３４．さらなる実施形態では、ＡＫＴ阻害剤はＡＺＤ５３６３である、実施形態３３に記載の方法。
【０１５３】
３５．さらなる実施形態では、
【０１５４】
【化２１】



又はその薬学的に許容される塩；少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤；及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物。
【０１５５】
３６．さらなる実施形態では、少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤は、カルボプラチン、抗ＰＤ－１阻害剤、ＭＥＫ阻害剤、ＥＧＦＲ阻害剤、ＴＯＲ阻害剤、ＳＨＰ２阻害剤、ＰＩ３Ｋ阻害剤又はＡＫＴ阻害剤である、実施形態３５に記載の組成物。
【０１５６】
３７．さらなる実施形態では、少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤はカルボプラチンである、実施形態３６に記載の組成物。
【０１５７】
３８．さらなる実施形態では、少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤は抗ＰＤ－１阻害剤である、実施形態３６に記載の組成物。
【０１５８】
３９．さらなる実施形態では、抗ＰＤ－１阻害剤は、ＡＭＧ４０４、ペムブロリズマブ、及びニボルマブから選択される、実施形態３８に記載の組成物。
【０１５９】
４０．さらなる実施形態では、抗ＰＤ－１阻害剤はペムブロリズマブである、実施形態３９に記載の組成物。
【０１６０】
４１．さらなる実施形態では、抗ＰＤ－１阻害剤はＡＭＧ４０４である、実施形態３９に記載の組成物。
【０１６１】
４２．さらなる実施形態では、抗ＰＤ－１阻害剤はニボルマブである、実施形態３９に記載の組成物。
【０１６２】
４３．さらなる実施形態では、少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＭＥＫ阻害剤である、実施形態３６に記載の組成物。
【０１６３】
４４．さらなる実施形態では、ＭＥＫ阻害剤は、トラメチニブ、ピマセルチブ、ＰＤ－３２５９０１、ＭＥＫ１６２、ＴＡＫ－７３３、ＧＤＣ－０９７３又はＡＺＤ８３３０である、実施形態４３に記載の組成物。

【０１６４】
４５．さらなる実施形態では、ＭＥＫ阻害剤はトラメチニブである、実施形態４４に記載の組成物。
【０１６５】
４６．さらなる実施形態では、少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤はＥＧＦＲ阻害剤である、実施形態３６に記載の組成物。
【０１６６】
４７．さらなる実施形態では、ＥＧＦＲ阻害剤は、アファチニブ、エルロチニブ、ラパチニブ、又はセツキシマブである、実施形態４６に記載の組成物。
【０１６７】
４８．さらなる実施形態では、ＥＧＦＲ阻害剤はアファチニブである、実施形態４７に記載の組成物。
【０１６８】
４９．さらなる実施形態では、ＥＧＦＲ阻害剤はセツキシマブである、実施形態４７に記載の組成物。
【０１６９】
５０．さらなる実施形態では、少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤はＳＨＰ２阻害剤である、実施形態３６に記載の組成物。
【０１７０】
５１．さらなる実施形態では、ＳＨＰ２阻害剤はＲＭＣ４５５０である、実施形態５０に記載の組成物。
【０１７１】
５２．さらなる実施形態では、ＳＨＰ２阻害剤はＲＭＣ４６３０である、実施形態５０に記載の組成物。
【０１７２】
５３．さらなる実施形態では、少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤はＰＩ３Ｋ阻害剤である、実施形態３６に記載の組成物。
【０１７３】
５４．さらなる実施形態では、ＰＩ３Ｋ阻害剤はＡＭＧ５１１又はブパルリシブである、実施形態５３に記載の組成物。
【０１７４】
５５．さらなる実施形態では、ＰＩ３Ｋ阻害剤はＡＭＧ５１１である、実施形態５４に記載の組成物。
【０１７５】
５６．さらなる実施形態では、ＰＩ３Ｋ阻害剤はブパルリシブである、実施形態５４に記載の組成物。
【０１７６】
５７．さらなる実施形態では、少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤はＡＫＴ阻害剤である、実施形態３６に記載の組成物。
【０１７７】
５８．さらなる実施形態では、ＡＫＴ阻害剤はＡＺＤ５３６３である、実施形態５７に記載の組成物。
【０１７８】
５９．さらなる実施形態では、キットであり、そのキットは$KRAS^{G12C}$阻害剤、又はその薬学的に許容される塩；及び少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤を含む。
【０１７９】
６０．さらなる実施形態では、$KRAS^{G12C}$阻害剤は
【０１８０】

【化２２】



又はその薬学的に許容される塩である、実施形態５９に記載のキット。

【０１８１】

６１．さらなる実施形態では、少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤は、カルボプラチン、抗ＰＤ－１阻害剤、ＭＥＫ阻害剤、ＥＧＦＲ阻害剤、ＴＯＲ阻害剤、ＳＨＰ２阻害剤、ＰＩ３Ｋ阻害剤又はＡＫＴ阻害剤である、実施形態５９に記載のキット。

【０１８２】

６２．さらなる実施形態では、少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤はカルボプラチンである、実施形態５９に記載のキット。

【０１８３】

６３．さらなる実施形態では、少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤は抗ＰＤ－１阻害剤である、実施形態５９に記載のキット。

【０１８４】

６４．さらなる実施形態では、抗ＰＤ－１阻害剤は、ＡＭＧ４０４、ペムブロリズマブ、及びニボルマブから選択される、実施形態６３に記載のキット。

【０１８５】

６５．さらなる実施形態では、抗ＰＤ－１阻害剤は、ペムブロリズマブである、実施形態６４に記載のキット。

【０１８６】

６６．さらなる実施形態では、抗ＰＤ－１阻害剤はＡＭＧ４０４である、実施形態６４に記載のキット。

【０１８７】

６７．さらなる実施形態では、抗ＰＤ－１阻害剤は、ニボルマブである、実施形態６４に記載のキット。

【０１８８】

６８．さらなる実施形態では、少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＭＥＫ阻害剤である、実施形態６１に記載のキット。

【０１８９】

６９．さらなる実施形態では、ＭＥＫ阻害剤は、トラメチニブ、ピマセルチブ、ＰＤ－３２５９０１、ＭＥＫ１６２、ＴＡＫ－７３３、ＧＤＣ－０９７３又はＡＺＤ８３３０である、実施形態６８に記載のキット。

【０１９０】

７０．さらなる実施形態では、ＭＥＫ阻害剤はトラメチニブである、実施形態６９に記載のキット。

【０１９１】

７１．さらなる実施形態では、少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＥＧＦＲ阻害剤である、実施形態６１に記載のキット。

【０１９２】

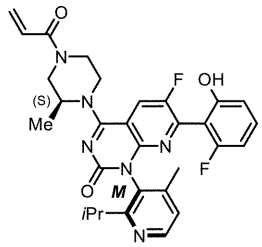
７２．さらなる実施形態では、ＥＧＦＲ阻害剤は、アファチニブ、エルロチニブ、ラパチニブ、又はセツキシマブである、実施形態６１に記載のキット。

【０１９３】

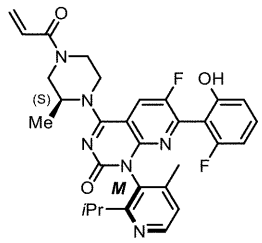
７３．さらなる実施形態では、ＥＧＦＲ阻害剤はアファチニブである、実施形態６２に記載のキット。

【０１９４】
７４．さらなる実施形態では、ＥＧＦＲ阻害剤はセツキシマブである、実施形態６２に記載のキット。
【０１９５】
７５．さらなる実施形態では、少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＳＨＰ２阻害剤である、実施形態６１に記載のキット。
【０１９６】
７６．さらなる実施形態では、ＳＨＰ２阻害剤はＲＭＣ４５５０である、実施形態７５に記載のキット。
【０１９７】
７７．さらなる実施形態では、ＳＨＰ２阻害剤はＲＭＣ４６３０である、実施形態７５に記載のキット。
【０１９８】
７８．さらなる実施形態では、少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＰＩ３Ｋ阻害剤である、実施形態６１に記載のキット。
【０１９９】
７９．さらなる実施形態では、ＰＩ３Ｋ阻害剤はＡＭＧ５１１又はブパルリシブである、実施形態７８に記載のキット。
【０２００】
８０．さらなる実施形態では、ＰＩ３Ｋ阻害剤はＡＭＧ５１１である、実施形態７９に記載のキット。
【０２０１】
８１．さらなる実施形態では、ＰＩ３Ｋ阻害剤はブパルリシブである、実施形態７９に記載のキット。
【０２０２】
８２．さらなる実施形態では、少なくとも１種の、薬学的に活性な追加の薬剤はＡＫＴ阻害剤である、実施形態６１に記載のキット。
【０２０３】
８３．さらなる実施形態では、ＡＫＴ阻害剤はＡＺＤ５３６３である、実施形態８２に記載のキット。
【０２０４】
８４．さらなる実施形態では、キットはがんを治療するためのものである、実施形態５９に記載のキット。
【０２０５】
８５．さらなる実施形態では、がんはＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ変異を有する、実施形態８４に記載のキット。
【０２０６】
８６．さらなる実施形態では、がんは膵臓がん、結腸直腸がん、肺がん、虫垂がん、子宮内膜がん、又は小腸がんである、実施形態８４に記載のキット。
【０２０７】
８７．さらなる実施形態では、がんは膵臓がんである、実施形態８６に記載のキット。
【０２０８】
８８．さらなる実施形態では、がんは結腸直腸がんである、実施形態８６に記載のキット。
【０２０９】
８９．さらなる実施形態では、がんは肺がんである、実施形態８６に記載のキット。
【０２１０】
９０．さらなる実施形態では、肺がんは非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）である、実施形態８９に記載のキット。
【０２１１】

９１．さらなる実施形態では、がんは虫垂がんである、実施形態８６に記載のキット。
【０２１２】
９２．さらなる実施形態では、がんは子宮内膜がんである、実施形態８６に記載のキット。
【０２１３】
９３．さらなる実施形態では、がんは小腸がんである、実施形態８６に記載のキット。
【０２１４】
９４．さらなる実施形態では、対象のがんの管理又は治療用の薬剤の製造のための、少なくとも１種の追加の化学療法薬と併用するＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤の使用。
【０２１５】
９５．さらなる実施形態では、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤は、
【０２１６】
【化２３】



又はその薬学的に許容される塩である、実施形態９４に記載の使用。
【０２１７】
９６．さらなる実施形態では、少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤とともに、がんの治療に使用するＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤である化合物。
【０２１８】
９７．さらなる実施形態では、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤は、
【０２１９】
【化２４】



又はその薬学的に許容される塩である、実施形態９６に記載の化合物。
【０２２０】
９８．さらなる実施形態では、がんはＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ変異を有する、実施形態９６に記載の化合物。
【０２２１】
９９．さらなる実施形態では、がんは膵臓がん、結腸直腸がん、肺がん、虫垂がん、子宮内膜がん、又は小腸がんである、実施形態９６に記載の化合物。
【０２２２】
１００．さらなる実施形態では、がんは膵臓がんである、実施形態９９に記載の化合物。
【０２２３】
１０１．さらなる実施形態では、がんは結腸直腸がんである、実施形態９９に記載の化合物。

【０２２４】
１０２．さらなる実施形態では、がんは肺がんである、実施形態９９に記載の化合物。
【０２２５】
１０３．さらなる実施形態では、肺がんは非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）である、実施形態１０２に記載の化合物。
【０２２６】
１０４．さらなる実施形態では、がんは虫垂がんである、実施形態９９に記載の化合物。
【０２２７】
１０５．さらなる実施形態では、がんは子宮内膜がんである、実施形態９９に記載の化合物。
【０２２８】
１０６．さらなる実施形態では、がんは小腸がんである、実施形態９９に記載の化合物。
【０２２９】
１０７．さらなる実施形態では、少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤は、カルボプラチン、抗ＰＤ－１阻害剤、ＭＥＫ阻害剤、ＥＧＦＲ阻害剤、ＴＯＲ阻害剤、ＳＨＰ２阻害剤、ＰＩ３Ｋ阻害剤又はＡＫＴ阻害剤である、実施形態９６に記載の化合物。
【０２３０】
１０８．さらなる実施形態では、少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤はカルボプラチンである、実施形態１０７に記載の化合物。
【０２３１】
１０９．さらなる実施形態では、少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤は抗ＰＤ－１阻害剤である、実施形態１０７に記載の化合物。
【０２３２】
１１０．さらなる実施形態では、抗ＰＤ－１阻害剤は、ＡＭＧ４０４、ペムブロリズマブ、及びニボルマブから選択される、実施形態１０９に記載の化合物。
【０２３３】
１１１．さらなる実施形態では、抗ＰＤ－１阻害剤はペムブロリズマブである、実施形態１１０に記載の化合物。
【０２３４】
１１２．さらなる実施形態では、抗ＰＤ－１阻害剤はＡＭＧ４０４である、実施形態１１０に記載の化合物。
【０２３５】
１１３．さらなる実施形態では、抗ＰＤ－１阻害剤はニボルマブである、実施形態１１０に記載の化合物。
【０２３６】
１１４．さらなる実施形態では、少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤はＭＥＫ阻害剤である、実施形態１０７に記載の化合物。
【０２３７】
１１５．さらなる実施形態では、ＭＥＫ阻害剤は、トラメチニブ、ピマセルチブ、ＰＤ－３２５９０１、ＭＥＫ１６２、ＴＡＫ－７３３、ＧＤＣ－０９７３又はＡＺＤ８３３０である、実施形態１１４に記載の化合物。
【０２３８】
１１６．さらなる実施形態では、ＭＥＫ阻害剤はトラメチニブである、実施形態１１５に記載の化合物。
【０２３９】
１１７．さらなる実施形態では、少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤はＥＧＦＲ阻害剤である、実施形態１０７に記載の化合物。
【０２４０】

１１８．さらなる実施形態では、ＥＧＦＲ阻害剤は、アファチニブ、エルロチニブ、ラパチニブ、又はセツキシマブである、実施形態１１７に記載の化合物。

【０２４１】

１１９．さらなる実施形態では、ＥＧＦＲ阻害剤はアファチニブである、実施形態１１８に記載の化合物。

【０２４２】

１２０．さらなる実施形態では、ＥＧＦＲ阻害剤はセツキシマブである、実施形態１１８に記載の化合物。

【０２４３】

１２１．さらなる実施形態では、少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤はＳＨＰ２阻害剤である、実施形態１０７に記載の化合物。

【０２４４】

１２２．さらなる実施形態では、ＳＨＰ２阻害剤はＲＭＣ４５５０である、実施形態１２１に記載の化合物。

【０２４５】

１２３．さらなる実施形態では、ＳＨＰ２阻害剤はＲＭＣ４６３０である、実施形態１２１に記載の化合物。

【０２４６】

１２４．さらなる実施形態では、少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤はＰＩ３Ｋ阻害剤である、実施形態１０７に記載の化合物。

【０２４７】

１２５．さらなる実施形態では、ＰＩ３Ｋ阻害剤はＡＭＧ５１１又はブパルリシブである、実施形態１２４に記載の化合物。

【０２４８】

１２６．さらなる実施形態では、ＰＩ３Ｋ阻害剤はＡＭＧ５１１である、実施形態１２５に記載の化合物。

【０２４９】

１２７．さらなる実施形態では、ＰＩ３Ｋ阻害剤はブパルリシブである、実施形態１２５に記載の化合物。

【０２５０】

１２８．さらなる実施形態では、少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤はＡＫＴ阻害剤である、実施形態１０７に記載の化合物。

【０２５１】

１２９．さらなる実施形態では、ＡＫＴ阻害剤はＡＺＤ５３６３である、実施形態１２８に記載の化合物。

【０２５２】

１３０．さらなる実施形態では、$KRAS^{G12C}$阻害剤及び少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤は同時に投与される、実施形態１に記載の方法。

【０２５３】

１３１．さらなる実施形態では、$KRAS^{G12C}$阻害剤及び少なくとも１種の薬学的に活性な追加の薬剤は別々に投与される、実施形態１に記載の方法。

【０２５４】

本発明のさらなる実施形態は、$KRAS^{G12C}$阻害剤と、化学療法薬、ＰＤ－１阻害剤、ＭＥＫ阻害剤、Ｐｉ３Ｋ選択的阻害剤、ＥＧＦＲ阻害剤、ＴＯＲ阻害剤、ＳＨＰ２阻害剤又はＡＫＴ阻害剤から選択される別の治療薬とを含む併用を含む。本発明のさらなる実施形態は、がん治療のための併用を含み、その併用は、$KRAS^{G12C}$阻害剤と、化学療法薬、ＰＤ－１阻害剤、ＭＥＫ阻害剤、Ｐｉ３Ｋ選択的阻害剤、ＥＧＦＲ阻害剤、ＴＯＲ阻害剤、ＳＨＰ２阻害剤又はＡＫＴ阻害剤から選択される別の治療薬とを含む。本発明のさらなる実施形態は、がん治療のために、$KRAS^{G12C}$阻害剤と、化学療法薬、ＰＤ－１阻害剤、ＭＥＫ阻害剤、Ｐｉ３Ｋ選択的阻害剤、ＥＧＦＲ阻害剤、ＴＯＲ阻害剤

、ＳＨＰ２阻害剤又はＡＫＴ阻害剤から選択される別の治療薬とを含む併用方法を含む。本発明のさらなる実施形態は、がん治療のための併用を含み、その併用は、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤と、化学療法薬、ＰＤ－１阻害剤、ＭＥＫ阻害剤、Ｐｉ３Ｋ選択的阻害剤、ＥＧＦＲ阻害剤、ＴＯＲ阻害剤、ＳＨＰ２阻害剤又はＡＫＴ阻害剤から選択される別の治療薬とを含み、その使用はその併用薬の自己投与を含む。

【０２５５】

本発明のさらなる実施形態は、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤と、化学療法薬、ＰＤ－１阻害剤、ＭＥＫ阻害剤、Ｐｉ３Ｋ選択的阻害剤、ＥＧＦＲ阻害剤、ＴＯＲ阻害剤、ＳＨＰ２阻害剤又はＡＫＴ阻害剤から選択される別の治療薬とをさらに含む併用薬の処方を含む、がんの治療方法を含む。本発明のさらなる実施形態は、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤と、化学療法薬、ＰＤ－１阻害剤、ＭＥＫ阻害剤、Ｐｉ３Ｋ選択的阻害剤、ＥＧＦＲ阻害剤、ＴＯＲ阻害剤、ＳＨＰ２阻害剤又はＡＫＴ阻害剤から選択される別の治療薬とをさらに含む併用薬を、それを必要とする対象に処方することを含む、がんの治療方法を含む。

【０２５６】

本発明のさらなる実施形態は、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤と、化学療法薬、ＰＤ－１阻害剤、ＭＥＫ阻害剤、Ｐｉ３Ｋ選択的阻害剤、ＥＧＦＲ阻害剤、ＴＯＲ阻害剤、ＳＨＰ２阻害剤、又はＡＫＴ阻害剤から選択される別の治療薬とを含む併用薬を使用してがんを治療する方法を含み、そうした方法は、前記併用薬を処方集にリストすること、及びそのようながんの治療を必要とする患者に指示することをさらに含む。

【０２５７】

本発明のさらなる実施形態は、がん治療のために、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤と、化学療法薬、ＰＤ－１阻害剤、ＭＥＫ阻害剤、Ｐｉ３Ｋ選択的阻害剤、ＥＧＦＲ阻害剤、ＴＯＲ阻害剤、ＳＨＰ２阻害剤、又はＡＫＴ阻害剤から選択される別の治療薬とを含む併用薬の使用方法を含み、そうした方法は、そのようながんの治療を必要とする患者が自己投与のために前記併用薬を購入することを含む。

【０２５８】

本発明のさらなる実施形態は、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤と、化学療法薬、抗ＰＤ－１阻害剤、ＭＥＫ阻害剤、Ｐｉ３Ｋ選択的阻害剤、ＥＧＦＲ阻害剤、ＴＯＲ阻害剤、ＳＨＰ２阻害剤又はＡＫＴ阻害剤から選択される別の治療薬とを含む併用薬の投与を、それを必要とする対象に指導することを含む、がんの治療方法を含む。

【０２５９】

本発明のさらなる実施形態は、本明細書に記載の併用薬の

Ａ］処方、

Ｂ］販売及び販売目的の広告、

Ｃ］購入、

Ｄ］自己投与のための指導、又は

Ｅ］投与

を含む、がん治療のプロセスを含む（ただし、この併用薬は、がん治療を必要とする対象に対して、がん治療のために規制機関により認可されている）。

【０２６０】

本発明のさらなる実施形態は、がんの治療のために、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤と、化学療法薬、ＰＤ－１阻害剤、ＭＥＫ阻害剤、ＰＩ３Ｋ選択的阻害剤、ＥＧＦＲ阻害剤、ＴＯＲ阻害剤、ＳＨＰ２阻害剤、又はＡＫＴ阻害剤から選択される別の治療薬とを含む併用薬を供給する方法を含み、前記方法は医師、薬局、患者、又は保険会社に、前記併用薬の販売に対して払い戻しを行うことを含む。

【０２６１】

明確にするために記すと、「指導」という用語は、その一般的に理解されている定義に加えて、規制機関によって認可されたラベル上の情報を含むことを意味する。

【図面の簡単な説明】

【０２６２】

【図１】図１は、カルボプラチンと併用したＡＭＧ５１０が、ＮＣＩ－Ｈ３５８、ＮＳＣＬＣ腫瘍の増殖抑制を増強することを示す。
【図２】図２は、ＭＥＫ阻害剤ＰＤ－３２５９０１と併用したＡＭＧ５１０が、ＮＳＣＬＣのＮＣＩ－Ｈ３５８異種移植モデルで増強された効力をもたらすことを示す。
【図３】図３は、インビボでＡＭＧ５１０が、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍の増殖を阻害することを示す。
【図４】図４は、抗ＰＤ－１抗体と併用したＡＭＧ５１０が、ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ変異がんのマウスモデルで、生存性の増加及び永続性のある治癒をもたらすことを示す。
【図５】図５は、ＡＭＧ５１０による治療が、ＣＴ－２６　Ｇ１２Ｃ－Ｈ１０腫瘍でＣＤ８＋及びＣＤ４＋Ｔ細胞浸潤の増加をもたらすことを示す。
【図６】図６は、ＡＭＧ５１０による治療が、ＣＴ－２６　Ｇ１２Ｃ－Ｈ１０腫瘍でＰＤ－Ｌ１陽性好中球の増加をもたらすことを示す。
【図７】図７は、相加性過剰マトリックスが相乗的相互作用の領域を識別することを示す。
【図８】図８は、自己交差マトリックスモデルの相加性を実験的に示す。
【図９】図９は、ＡＭＧ５１０がＲＭＣ－４５５０（ＳＨＰ２ｉ）及びトラメチニブ（ＭＥＫｉ）の両方と相乗作用し、ＮＣＩ－Ｈ３５８細胞株で細胞殺滅を達成することを示す。
【図１０】図１０は、アファチニブ又はＲＭＣ－４５５０の単剤活性の欠如がＭＩＡ　ＰａＣＡ－２細胞株での比較的弱い相乗作用に寄与し得ることを示す。
【図１１】図１１は、３Ｄ培養での組み合わせが、相乗作用の増大を露呈し得ることを示す。
【図１２】図１２は、ＡＭＧ５１０×トラメチニブがＮＣＩ－Ｈ３５８で相乗作用を有することを示す。
【図１３】図１３は、ＮＣＩ－Ｈ３５８細胞株においてＡＭＧの自己交差を示す。
【図１４】図１４は、ＮＣＩ－Ｈ３５８細胞株においてトラメチニブの自己交差を示す。
【図１５】図１５は、ＡＭＧ５１０×トラメチニブがＭＩＡ　ＰａＣａ－２細胞株において弱い相乗作用を有することを示す。
【図１６】図１６は、３Ｄ培養がＭＩＡ　ＰａＣａ－２におけるＡＭＧ５１０×トラメチニブの相乗作用を向上させることを示す。
【図１７】図１７は、ＮＣＩ－Ｈ１３７３細胞株におけるＡＭＧ５１０×トラメチニブ（３Ｄ）を示す。
【図１８】図１８はＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃにおける各単剤の高い効力のために、ＡＭＧ５１０×トラメチニブが弱い相乗作用を有することを示す。
【図１９】図１９は、ＡＭＧ５１０×ＰＤ－３２５９０１がＭＩＡ　ＰａＣａ－２において弱い相乗作用を有することを示す。
【図２０】図２０は、ＡＭＧ５１０×アファチニブがＮＣＩ－Ｈ３５８細胞株において相乗作用を有することを示す。
【図２１】図２１は、ＡＭＧ５１０×アファチニブがＭＩＡ　ＰａＣａ－２細胞株において弱い相乗作用を有することを示す。
【図２２】図２２は、３Ｄ培養がＭＩＡ　ＰａＣａ－２細胞株においてＡＭＧ５１０×アファチニブの相乗作用を向上させないことを示す。
【図２３】図２３は、ＮＣＩ－Ｈ１３７３細胞株におけるＡＭＧ５１０×アファチニブ（３Ｄ）を示す。
【図２４】図２４は、ＡＭＧ５１０×アファチニブがＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃにおいて適度な相乗作用を有することを示す。
【図２５】図２５は、ＡＭＧ５１０×ラパチニブがＮＣＩ－Ｈ３５８細胞株において相乗作用を有することを示す。
【図２６】図２６は、ＡＭＧ×エルロチニブがＮＣＩ－Ｈ３５８細胞株において適度な相乗作用を有することを示す。

【図２７】図２７は、ＭＩＡ　ＰａＣａ－２細胞株においては、エルロチニブ活性の欠如に起因して、ＡＭＧ５１０×エルロチニブの相乗作用が観察されないことを示す。
【図２８】図２８は、ＳＷ８３７においては、インビボでのセツキシマブ活性の欠如に起因して、ＡＭＧ５１０×セツキシマブの相乗作用が観察されないことを示す。
【図２９】図２９は、ＡＭＧ５１０×ＲＭＣ－４５５０がＮＣＩ－Ｈ３５８細胞株において相乗作用を有することを示す。
【図３０】図３０は、ＡＭＧ５１０×ＲＭＣ－４５５０がＭＩＡ　ＰａＣａ－２細胞株において弱い相乗作用を有することを示す。
【図３１】図３１は、ＡＭＧ５１０×ＲＭＣ－４５５０がＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃにおいて適度な相乗作用を有することを示す。
【図３２】図３２は、ＡＭＧ５１０×ＡＭＧ５１１がＮＣＩ－Ｈ３５８細胞株において適度な相乗作用を有することを示す。
【図３３】図３３は、ＡＭＧ５１０×ＡＭＧ５１１がＭＩＡ　ＰａＣａ－２細胞株において弱い相乗作用を有することを示す。
【図３４】図３４は、ＡＭＧ５１０×ＡＭＧ５１１がＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃにおいて適度な相乗作用を有することを示す。
【図３５】図３５は、ＡＭＧ５１０×ブパルリシブ（ＢＫＭ１２０）がＮＣＩ－Ｈ３５８細胞株において適度な相乗作用を有することを示す。
【図３６】図３６は、ＡＭＧ５１０×ＡＺＤ５３６３がＮＣＩ－Ｈ３５８細胞株において弱い相乗作用を有することを示す。
【図３７】図３７は、ＡＭＧ５１２０×ＡＺＤ５３６３がＭＩＡ　ＰａＣａ－２において弱い相乗作用を有することを示す。
【図３８】図３８は、ＡＭＧ５１０が、２Ｄ培養におけるＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２ＣのＫＲＡＳシグナル伝達を阻害することを示す。
【図３９】図３９は、マウスＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ細胞が、３Ｄ培養におけるＡＭＧ５１０に感受性を有することを示す。
【図４０－１】図４０（ａ）は、ＧＤＰ及びＡＲＳ－１６２０に結合した$KRAS^{G12C/C51S/C80L/C118S}$のＸ線共結晶構造を示す（ＰＤＢ　ＩＤ：５Ｖ９Ｕ）。図４０（ｂ）は、１．６５Åの分解能で、ＧＤＰ及びＡＭＧ５１０に結合した$KRAS^{G12C/C51S/C80L/C118S}$のＸ線共結晶構造を示す（ＰＤＢ　ＩＤ：まだ割り当てられていない）。図４０（ｃ）は、精製$KRAS^{G12C/C118A}$又は$KRAS^{C118A}$タンパク質（ｎ＝４）を用いた、ＳＯＳ１で触媒されたヌクレオチド交換アッセイで測定した、ＡＭＧ５１０及びＡＲＳ－１６２０の生化学的活性を示す。
【図４０－２】図４０（ｄ）は、質量分析によって決定されたＡＭＧ５１０及びＡＲＳ－１６２０の反応速度特性を示す（ｎ≧２）。図４０（ｅ）は、２時間処理後のＥＲＫ１／２リン酸化の阻害によって測定した、ＮＣＩ－Ｈ３５８及びＭＩＡ　ＰａＣａ－２におけるＡＭＧ５１０及びＡＲＳ－１６２０の細胞活性を示す（ｎ＝２）。
【図４０－３】図４０（ｆ）は、２時間処理後のＮＣＩ－Ｈ３５８及びＭＩＡ　ＰａＣａ－２細胞におけるＡＭＧ５１０によるＥＲＫリン酸化の阻害及び$KRAS^{G12C}$の占有率を示す（ｎ＝３）。図４０（ｇ）は、７２時間処理後の細胞生存率に対する作用によって測定された、ＮＣＩ－Ｈ３５８及びＭＩＡ　ＰａＣａ－２におけるＡＭＧ５１０及びＡＲＳ－１６２０の細胞活性を示す（ｎ＝３）。
【図４０－４】図４０（ｈ）は、ＥＲＫリン酸化の阻害によって決定された、ＡＭＧ５１０及びＡＲＳ－１６２０の反応速度特性を示す（ｎ≧２）。
【図４１－１】図４１（ａ）は、４時間又は２４時間処理後のＮＣＩ－Ｈ３５８又はＭＩＡ　ＰａＣａ－２における細胞シグナル伝達に対する影響を、ＡＭＧ５１０の用量応答と共に示す。図４１（ｂ）は、２４時間までの時点における、０．１μＭ　ＡＭＧ５１０による処理後のＮＣＩ－Ｈ３５８又はＭＩＡ　ＰａＣａ－２の細胞シグナル伝達に対する影響を示す。
【図４１－２】図４１（ｃ）は、２時間処理後のＥＲＫ１／２リン酸化の阻害によって測

定（ｎ≧２）した、ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ及び非ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ変異体細胞株パネルに対して横断的なＡＭＧ５１０の細胞活性を示す。図４１（ｄ）は、７２時間処理後の細胞生存率に対する作用によって測定した、ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ及び非ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ変異体細胞株パネルに対して横断的なＡＭＧ５１０の細胞活性を示す。

【図４１－３】図４１（ｅ）は、生存率用量応答曲線が少なくともｎ＝２の実験の代表的な例であることを示す。ＡＭＧ５１０による７２時間の処理が、接着性単層培養又はスフェロイド培養条件下の細胞生存率に及ぼす影響（ｎ＝２）。図４１（ｆ）は、１μＭのＡＭＧ５１０で４時間処理した後の、ＮＣＩ－Ｈ３５８全細胞溶解物のシステインプロテオーム分析を示す（ｎ＝５）。

【図４２－１】図４２（ａ）、（ｂ）は、ＡＭＧ５１０がインビボでＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ変異腫瘍のＥＲＫ１／２リン酸化を阻害することを示す。ＭＩＡ　ＰａＣａ－２　Ｔ２（図４２（ａ））又はＮＣＩ－Ｈ３５８（図４２（ｂ））腫瘍を有するマウスに、ビヒクル経口又はＡＭＧ５１０（全ての他の棒）経口のいずれかで単回用量を投与し、２時間後（図４２（ａ）、（ｂ））に採取し、ＭＳＤ免疫アッセイによって測定したｐ－ＥＲＫレベルについて評価した。血漿及び腫瘍試料を採取し、ＡＭＧ５１０濃度について分析した（それぞれ、赤三角、白抜き黒丸）。データは、ビヒクルに対する対照のパーセントとして示す。データは、平均腫瘍体積±ＳＥＭ（ｎ＝３／群）を表す。図４２（ａ）、（ｂ）、＊＊＊＊Ｐ＜０．０００１；＊Ｐ＜０．０５（ダネット法による）。

【図４２－２】図４２（ｃ）、（ｄ）は、ＡＭＧ５１０がインビボでＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ変異腫瘍のＥＲＫ１／２リン酸化を阻害することを示す。ＭＩＡ　ＰａＣａ－２　Ｔ２腫瘍を有するマウスに、ビヒクル経口又はＡＭＧ５１０（全ての他の棒）経口のいずれかで単回用量を投与し、示されているように経時的に採取し、ＭＳＤ免疫アッセイによって測定したｐ－ＥＲＫレベルについて評価した。血漿及び腫瘍試料を採取し、ＡＭＧ５１０濃度について分析した（それぞれ、赤三角、白抜き黒丸）。データは、ビヒクルに対する対照のパーセントとして示す。データは、平均腫瘍体積±ＳＥＭ（ｎ＝３／群）を表す。＊＊＊＊Ｐ＜０．０００１；＊Ｐ＜０．０５（ダネット法による）。図４２（ｅ）は、質量分析を用いたＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}の共有結合修飾の、投薬レジメンにわたる、ＡＭＧ５１０治療結果を示し、これはＭＩＡ　ＰａＣａ－２　Ｔ２を有するマウスのｐ－ＥＲＫ阻害に相関する。図４２（ｆ）は、質量分析を用いたＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}の共有結合修飾の、投薬レジメンにわたる、ＡＭＧ５１０治療結果を示し、これはＮＣＩ－Ｈ３５８を有するマウスのｐ－ＥＲＫ阻害に相関する。図４２（ｇ）は、質量分析を用いたＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}の共有結合修飾の、経時的なＡＭＧ５１０の治療結果を示し、これはＭＩＡ　ＰａＣａ－２　Ｔ２を有するマウスのｐ－ＥＲＫ阻害に相関する。

【図４３－１】図４３（ａ）は、定着したＭＩＡ　ＰａＣａ－２　Ｔ２ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍を有するマウスに、ビヒクル又はＡＭＧ５１０のいずれかを投与したことを示す。ＡＭＧ５１０は、ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ変異腫瘍のインビボ増殖を選択的に阻害する。データは平均腫瘍体積±ＳＥＭ（ｎ＝１０／群）を表す。＊＊＊＊Ｐ＜０．０００１、＊Ｐ＜０．０５（ダネット法による治療群に対するビヒクルの比較）、＃Ｐ＜０．０５（対応のあるｔ検定回帰）、＊＊＊＊Ｐ＜０．０００１（ＲＭ二元配置ＡＮＯＶＡによる）。図４３（ｂ）は、定着したＮＣＩ－Ｈ３５８ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍を有するマウスに、ビヒクル又はＡＭＧ５１０のいずれかを投与したことを示す。ＡＭＧ５１０は、ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ変異腫瘍のインビボ増殖を選択的に阻害する。データは平均腫瘍体積±ＳＥＭ（ｎ＝１０／群）を表す。＊＊＊＊Ｐ＜０．０００１、＊Ｐ＜０．０５（ダネット法による治療群に対するビヒクルの比較）、＃Ｐ＜０．０５（対応のあるｔ検定回帰）、＊＊＊＊Ｐ＜０．０００１（ＲＭ二元配置ＡＮＯＶＡによる）。

【図４３－２】図４３（ｃ）は、定着したＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍を有するマウスに、ビヒクル又はＡＭＧ５１０のいずれかを投与したことを示す。ＡＭＧ５１０は、ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ変異腫瘍のインビボ増殖を選択的に阻害する。データは平均腫瘍体積±ＳＥＭ（ｎ＝１０／群）を表す。＊＊＊＊Ｐ＜０．０００１、＊Ｐ＜０．０５（ダネット法による治療群に対するビヒクルの比較）、＃Ｐ＜０．０５（対応のあるｔ

検定回帰）、＊＊＊＊Ｐ＜０．０００１（ＲＭ二元配置ＡＮＯＶＡによる）。図４３（ｄ）は、ビヒクル又はＡＭＧ５１０のいずれかで治療したマウスを用いた、ＫＲＡＳ^{G12C}ＮＳＣＬＣ　ＰＤＸモデルにおける腫瘍増殖の効果を示す。ＡＭＧ５１０は、ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ変異腫瘍のインビボ増殖を選択的に阻害する。データは平均腫瘍体積±ＳＥＭ（ｎ＝１０／群）を表す。

【図４３－３】図４３（ｅ）は、ＡＭＧ５１０で治療された２人のＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ肺がん患者からのＣＴスキャンを示す。代表的な治療前（「ベースライン」）及び治療後（R_xの）スキャン。左側：上部パネルは肺の左上葉を表し、下部パネルは肺の右下葉を表す。右側：上部パネルは肺の左上葉を表し、下部パネルは胸膜を表す。ＡＭＧ５１０は、ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ変異腫瘍のインビボ増殖を選択的に阻害する。図４３（ｆ）は、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍を有するマウスに、ビヒクル又はＡＭＧ５１０を投与したことを示す。ＡＭＧ５１０治療マウス（１００ｍｇ／ｋｇ）からの、個々のＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍のプロット。図４３（ｇ）は、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍を有するマウスに、ビヒクル又はＡＭＧ５１０を投与したことを示す。ＡＭＧ５１０治療マウス（２００ｍｇ／ｋｇ）からの、個々のＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍のプロット。１００ｍｇ／ｋｇ群の継続治療は、多分、ｐ－ＥＲＫの不完全な阻害に起因して、退縮が持続しなかった（図３ｉ）ことを示唆した（延長データ図２ａ）。したがって、２００ｍｇ／ｋｇ用量のＡＭＧ５１０を評価したところ、ｐ－ＥＲＫのほぼ完全な阻害をもたらし（延長データ図２ａ）、１０例のうち８例の永続性のある治癒をもたらし（図３ｊ）、ＡＭＧ５１０の血漿レベルは細胞ＩＣ９０のすぐ下であった（延長データ図２ｈ）。

【図４４－１】図４４（ａ）は、ＮＣＩ－Ｈ３５８腫瘍異種移植片に対してカルボプラチンと併用したＡＭＧ５１０を表す。データは平均腫瘍体積±ＳＥＭ（ｎ＝１０／群）を表す。ａ＊＊＊Ｐ＜０．００１（各単剤に対する併用治療のダネット法による比較）、$^{\#}$Ｐ＜０．００１（対応のあるｔ検定回帰）、ｃ＊＊＊＊Ｐ＜０．００１（各単剤に対する併用治療のダネット法による比較）、＃Ｐ＜０．００１（対応のあるｔ検定回帰）。全ての治療群からの結果は、ビヒクルと比較して有意であった（＊＊＊＊Ｐ＜０．０００１（ダネット法による））。図４４（ｂ）は、Ｌｏｅｗｅ相加過剰アルゴリズムを用いて標的薬剤と併用したＡＭＧ５１０の相乗作用のスコアを計算し、より高いスコア（より暗い赤色）はより強い相乗相互作用を示すヒートマップとして表している。

【図４４－２】図４４（ｃ）は、ＮＣＩ－Ｈ３５８腫瘍異種移植片上に対してＭＥＫ阻害剤（ＰＤ－０３２５９０１）と併用したＡＭＧ５１０を表す。データは平均腫瘍体積±ＳＥＭ（ｎ＝１０／群）を表す。ａ＊＊＊Ｐ＜０．００１（各単剤に対する併用治療のダネット法による比較）、＃Ｐ＜０．００１（対応のあるｔ検定回帰）、ｃ＊＊＊＊Ｐ＜０．００１（各単剤に対する併用治療のダネット法による比較）、$^{\#}$Ｐ＜０．００１（対応のあるｔ検定回帰）。全ての治療群からの結果は、ビヒクルと比較して有意であった（＊＊＊Ｐ＜０．０００１（ダネット法による））。

【図４５－１】図４５（ａ）は、ビヒクル、ＡＭＧ５１０、抗ＰＤ－１、又は抗ＰＤ－１と併用したＡＭＧ５１０のいずれかで治療した個々のマウスの、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍の増殖を示す（ｎ＝１０／群）。丸印付きの線は、腫瘍のないマウスを表す。図４５（ｂ）は、代用生存エンドポイント（腫瘍サイズ＞８００mm^3）のＫａｐｌａｎ　Ｍｅｉｅｒ分析を示す。Ｍａｎｔｅｌ－Ｃｏｘの＊＊＊＊Ｐ＜０．００１（ビヒクル対照に対して）；$^{\#}$Ｐ＜０．００５（ＡＭＧ５１０又は抗ＰＤ－１単独に対する併用）。

【図４５－２】図４５（ｃ）は、ビヒクル、ＡＭＧ５１０、抗ＰＤ－１、抗ＰＤ－１と併用したＡＭＧ５１０、又はＭＥＫｉのいずれかで４日間にわたって治療し、フローサイトメトリーによって免疫表現型を決定したマウスのＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍を示す（ｎ＝８／群）。＊＊＊＊Ｐ＜０．０００１、＊＊＊Ｐ＜０．００１、＊＊Ｐ＜０．０１、＊Ｐ＜０．０５（ビヒクル対照とのテューキー法による比較）；ＮＳ＝有意でない。図４５（ｄ）は、２日間の治療後にＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍から

、ＲＮＡが単離されたことを示す（ｎ＝５／群）。遺伝子発現及びスコアを、ＮａｎｏＳｔｒｉｎｇの技術によって計算した（方法を参照されたい）。＊＊＊＊Ｐ＜０．０００１、＊＊＊Ｐ＜０．００１（テューキー法による）。

【図４５－３】図４５（ｅ）は、インターフェロンガンマ（「ＩＦＮγ」）の存在下又は非存在下、ＡＭＧ５１０による２４時間治療後の、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ細胞上におけるＭＨＣクラスＩ抗原Ｈ－２Ｋ^{d}の、フローサイトメトリーによって測定した細胞表面発現を示す。分泌されたＩＦＮ－γのレベルを、ＥＬＩＳｐｏｔアッセイにより測定した（ｎ＝４～５／群）。図４５（ｆ）は、ＡＭＧ５１０＋抗ＰＤ－１治療で治癒し、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ、ＣＴ－２６、又は４Ｔ１細胞で再検証したマウスの個々の腫瘍増殖を示す。

【図４５－４】図４５（ｇ）は、脾臓細胞を採取し、示されている細胞、ＣＴ－２６、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ又は４Ｔ１細胞で検証したことを示す。＊Ｐ＝０．０２６９（対照対併用の、対応のないｔ検定比較）。図４５（ｈ）は、ＡＭＧ５１０の治療が、炎症誘発性腫瘍微小環境を誘発することを示す。ビヒクル、ＡＭＧ５１０、抗ＰＤ－１、抗ＰＤ－１と併用したＡＭＧ５１０、又はＭＥＫｉのいずれかで４日間にわたって治療したマウスからの、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍の免疫表現型を、免疫組織染色（ｎ＝５／群）、ＣＤ３／Ｋｉ６７に対する免疫組織染色によって決定した。Ｋｉ６７免疫陽性染色は青色で核用であり、ＣＤ３とＣＤ８免疫陽性染色は褐色で細胞質用である。（ｈ）中の矢印は、ＣＤ３及びＫｉ６７に対する二重の免疫陽性を有する細胞の例を指す。

【図４５－５】図４５（ｉ）は、ＡＭＧ５１０による治療が炎症誘発性腫瘍微小環境を誘発し、ビヒクル、ＡＭＧ５１０、抗ＰＤ－１、抗ＰＤ－１と併用したＡＭＧ５１０、又はＭＥＫｉのいずれかで４日間にわたって治療したマウスからの、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍の免疫表現型を、免疫組織染色（ｎ＝５／群）、ＣＤ８に対する免疫組織染色によって決定した。Ｋｉ６７免疫陽性染色は青色で核用であり、ＣＤ３とＣＤ８免疫陽性染色は褐色で細胞質用である。

【図４６－１】図４６（ａ）は、精製ＫＲＡＳ$^{Ｇ１２Ｃ／Ｃ１１８Ａ}$又はＫＲＡＳ^{Ｃ１１８Ａ}タンパク質を用いたＳＯＳ１で触媒されたヌクレオチド交換アッセイで測定した、ＡＭＧ５１０及びその非反応性プロピオンアミド類似体の生化学的活性を示す（ｎ≧２）。データは、示されている独立した反復数に対する平均±ＳＤを表す。図４６（ｂ）は、計算された最大反応速度、並びに最大速度の半分を達成するＡＭＧ５１０及びＡＲＳ－１６２０の濃度を示す。データは、示されている独立した反復数に対する平均±ＳＤを表す。図４６（ｃ）は、$t_{1/2}$＝１２．２分を有するＮＣＩ－Ｈ３５８細胞の、ＲＭＣ－４５５０によるＥＲＫリン酸化の阻害を示す（ｎ＝２）。データは、示されている独立した反復数に対する平均±ＳＤを表す。

【図４６－２】図４６（ｄ）は、接着性単層又はスフェロイド培養条件での、ＭＩＡ　ＰａＣａ－２及びＮＣＩ－Ｈ１３７３の細胞生存率におよぼすＡＭＧ５１０による７２時間処理の影響を示す（ｎ＝２）。データは、示されている独立した反復数に対する平均±ＳＤを表す。図４６（ｅ）は、細胞培養におけるアミノ酸を用いた安定同位体標識法（Ｓｔａｂｌｅ　Ｉｓｏｔｏｐｅ　Ｌａｂｅｌｉｎｇ　ｂｙ／ｗｉｔｈ　Ａｍｉｎｏ　ａｃｉｄｓ　ｉｎ　Ｃｅｌｌ　ｃｕｌｔｕｒｅ）（ＳＩＬＡＣ）による、ＭＩＡ　ＰａＣａ－２及びＮＣＩ－Ｈ３５８細胞中におけるＫＲＡＳの半減期の決定を示す。データは、示されている独立した反復数に対する平均±ＳＤを表す。

【図４７－１】図４７（ａ）～（ｃ）は、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍を有するマウスを、単回用量のビヒクルで経口により、又は示されている用量のＡＭＧ５１０で経口により処置し、２時間後に採取したことを示す。ｐ－ＥＲＫのレベルは、ＭＳＤ免疫アッセイにより測定した。血漿及び腫瘍試料を採取し、ＡＭＧ５１０濃度について分析した（それぞれ、赤三角、白抜き黒丸）。データは、ビヒクルに対する対照のパーセント（ＰＯＣ）として示す。＊＊＊＊Ｐ＜０．０００１、＊Ｐ＜０．０５（ビヒクルに対するダネット法による比較）。図４７（ｄ）は、ＡＭＧ５１０による処置が、ｐ－ＥＲＫ阻害

と逆相関するＫＲＡＳＧ１２Ｃの共有結合修飾をもたらすことを示す。図４７（ｅ）は、ＳＷ４８０－１ＡＣ異種移植モデルの腫瘍増殖におよぼすＡＭＧ５１０の影響を示す。腫瘍が約２００ｍｍ^{3}に達したときに治療を開始した。＊＊＊＊Ｐ＜０．０００１（ＲＭ二元配置ＡＮＯＶＡによる）。図４７（ｆ）は、ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}ＳＣＬＣ　ＰＤＸモデルの腫瘍増殖におよぼすＡＭＧ５１０治療の影響を示す。腫瘍が約２００ｍｍ^{3}に達したときに治療を開始した。＊＊＊＊Ｐ＜０．０００１（ＲＭ二元配置ＡＮＯＶＡによる）。図４７（ｇ）は、ＭＩＡ　ＰａＣａ－２　Ｔ２、ＮＣＩ－Ｈ３５８異種移植片からのＡＭＧ５１０の血漿レベルを示す。図４７（ｈ）は、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ異種移植片からのＡＭＧ５１０の血漿レベルを示す。図４７（ｉ）は、１４日目から３２日目までのＢＡＬＢ／ｃヌードマウス中の、ＡＭＧ５１０による治療マウス（２００ｍｇ／ｋｇ）の、個々のＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍プロットを示す。

【図４７－２】図４７（ｊ）は、ＡＭＧ５１０で治療された２人のＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ肺がん患者のＣＴスキャンを示す。先に図４３ｄに記載した患者の、さらなる代表的な治療前（「ベースライン」）及び治療後（Ｒ$_{x}$）スキャンは、（左側の上から下へ）肺左上葉、肺左下葉、リンパ節、肺左上葉、肺左上葉である。右側の上から下へ、肺左下葉、肺左下葉、胸膜、及び副腎である。

【図４７－３】図４７（ｋ）は、ＮＣＩ－Ｈ３５８腫瘍異種移植片に対する、単剤の、又はカルボプラチンと併用したＡＭＧ５１０を示す。＊＊＊＊Ｐ＜０．００１（ビヒクル対照に対するダネット法による比較）、$^{\#}$Ｐ＜０．００１（対応のあるｔ検定回帰）。

【図４８－１】図４８は、示されている細胞株において標的化薬剤と併用投与されたＡＭＧ５１０の増殖阻害マトリックス及びＬｏｅｗｅ相加過剰を示し、より暗い色は、より大きな細胞殺滅（増殖阻害）及びより強い相乗的相互作用（Ｌｏｅｗｅ過剰）を意味する。阻害剤の試験された最大濃度及び各組合せのマトリックスによってカバーされた用量範囲が記されている。個々の異種組合せ（Ａ×Ｂ）を、それらのそれぞれの相乗スコアをそれらの成分の自己交差（Ａ×Ａ又はＢ×Ｂ）の相乗スコアと比較することによって評価した。異種組合せは、それらの相乗作用スコアが、いずれかの成分の自己交差相乗スコアの３倍を超えた場合にのみ相乗作用があるとみなした。

【図４８－２】図４８は、示されている細胞株において標的化薬剤と併用投与されたＡＭＧ５１０の増殖阻害マトリックス及びＬｏｅｗｅ相加過剰を示し、より暗い色は、より大きな細胞殺滅（増殖阻害）及びより強い相乗的相互作用（Ｌｏｅｗｅ過剰）を意味する。阻害剤の試験された最大濃度及び各組合せのマトリックスによってカバーされた用量範囲が記されている。個々の異種組合せ（Ａ×Ｂ）を、それらのそれぞれの相乗スコアをそれらの成分の自己交差（Ａ×Ａ又はＢ×Ｂ）の相乗スコアと比較することによって評価した。異種組合せは、それらの相乗作用スコアが、いずれかの成分の自己交差相乗スコアの３倍を超えた場合にのみ相乗作用があるとみなした。

【図４８－３】図４８は、示されている細胞株において標的化薬剤と併用投与されたＡＭＧ５１０の増殖阻害マトリックス及びＬｏｅｗｅ相加過剰を示し、より暗い色は、より大きな細胞殺滅（増殖阻害）及びより強い相乗的相互作用（Ｌｏｅｗｅ過剰）を意味する。阻害剤の試験された最大濃度及び各組合せのマトリックスによってカバーされた用量範囲が記されている。個々の異種組合せ（Ａ×Ｂ）を、それらのそれぞれの相乗スコアをそれらの成分の自己交差（Ａ×Ａ又はＢ×Ｂ）の相乗スコアと比較することによって評価した。異種組合せは、それらの相乗作用スコアが、いずれかの成分の自己交差相乗スコアの３倍を超えた場合にのみ相乗作用があるとみなした。

【図４８－４】図４８は、示されている細胞株において標的化薬剤と併用投与されたＡＭＧ５１０の増殖阻害マトリックス及びＬｏｅｗｅ相加過剰を示し、より暗い色は、より大きな細胞殺滅（増殖阻害）及びより強い相乗的相互作用（Ｌｏｅｗｅ過剰）を意味する。阻害剤の試験された最大濃度及び各組合せのマトリックスによってカバーされた用量範囲が記されている。個々の異種組合せ（Ａ×Ｂ）を、それらのそれぞれの相乗スコアをそれらの成分の自己交差（Ａ×Ａ又はＢ×Ｂ）の相乗スコアと比較することによって評価した。異種組合せは、それらの相乗作用スコアが、いずれかの成分の自己交差相乗スコアの３

倍を超えた場合にのみ相乗作用があるとみなした。
【図４８－５】図４８は、示されている細胞株において標的化薬剤と併用投与されたＡＭＧ５１０の増殖阻害マトリックス及びＬｏｅｗｅ相加過剰を示し、より暗い色は、より大きな細胞殺滅（増殖阻害）及びより強い相乗的相互作用（Ｌｏｅｗｅ過剰）を意味する。阻害剤の試験された最大濃度及び各組合せのマトリックスによってカバーされた用量範囲が記されている。個々の異種組合せ（Ａ×Ｂ）を、それらのそれぞれの相乗スコアをそれらの成分の自己交差（Ａ×Ａ又はＢ×Ｂ）の相乗スコアと比較することによって評価した。異種組合せは、それらの相乗作用スコアが、いずれかの成分の自己交差相乗スコアの３倍を超えた場合にのみ相乗作用があるとみなした。
【図４８－６】図４８は、示されている細胞株において標的化薬剤と併用投与されたＡＭＧ５１０の増殖阻害マトリックス及びＬｏｅｗｅ相加過剰を示し、より暗い色は、より大きな細胞殺滅（増殖阻害）及びより強い相乗的相互作用（Ｌｏｅｗｅ過剰）を意味する。阻害剤の試験された最大濃度及び各組合せのマトリックスによってカバーされた用量範囲が記されている。個々の異種組合せ（Ａ×Ｂ）を、それらのそれぞれの相乗スコアをそれらの成分の自己交差（Ａ×Ａ又はＢ×Ｂ）の相乗スコアと比較することによって評価した。異種組合せは、それらの相乗作用スコアが、いずれかの成分の自己交差相乗スコアの３倍を超えた場合にのみ相乗作用があるとみなした。
【図４９】図４９（ａ）は、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ及び親ＣＴ－２６細胞株におけるＡＭＧ５１０及びＭＥＫ阻害剤トラメチニブの細胞活性を、２時間処理後におけるＥＲＫ１／２リン酸化の阻害の測定によって示す（ｎ≧２）。図４９（ｂ）は、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ及び親ＣＴ－２６細胞株におけるＡＭＧ５１０及びＭＥＫ阻害剤トラメチニブの細胞活性を、スフェロイド培養で７２時間処理した後の細胞生存率に対する作用によって測定した（ｎ＝２）。
【図５０－１】図５０（ａ）は、ビヒクル、ＡＭＧ５１０、抗ＰＤ－１、抗ＰＤ－１と併用したＡＭＧ５１０、又はＭＥＫｉのいずれかで４日間にわたって治療し、フローサイトメトリーによって免疫表現型を決定したマウスのＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍を示す（ｎ＝８／群）。＊Ｐ＜０．０５（ビヒクル対照に対するテューキー法による）；ＮＳは有意でない；＊＊＊Ｐ＜０．００１（ビヒクルに対するダネット法による比較）；＊＊＊＊Ｐ＜０．０００１（ビヒクル対照に対するダネット法による比較）。図５０（ｂ）は、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍を有するマウスが、単回用量のビヒクル経口（黒色棒）又は示されている用量のＭＥＫｉ経口（青色棒）で処置され、２時間後に採取されたことを示す。ｐ－ＥＲＫのレベルは、ＭＳＤ免疫アッセイにより測定した。血漿及び腫瘍試料を収集し、ＭＥＫｉ濃度を分析した（それぞれ、赤三角、白抜き黒丸）。データは、ビヒクルに対する対照のパーセント（ＰＯＣ）として示す。＊Ｐ＜０．０５（ビヒクル対照に対するテューキー法による）；ＮＳは有意でない；＊＊＊Ｐ＜０．００１（ビヒクルに対するダネット法による比較）；＊＊＊＊Ｐ＜０．０００１（ビヒクル対照に対するダネット法による比較）。図５０（ｃ）は、経時的な腫瘍増殖に対するＭＥＫｉ治療の影響が、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍を有するマウスで測定されたことを示す。データは、平均腫瘍体積±ＳＥＭ（ｎ＝１０／群）を表す。＊Ｐ＜０．０５（ビヒクル対照に対するテューキー法による）；ＮＳは有意でない；＊＊＊Ｐ＜０．００１（ビヒクルに対するダネット法による比較）；＊＊＊＊Ｐ＜０．０００１（ビヒクル対照に対するダネット法による比較）。
【図５０－２】図５０（ｄ）は、ビヒクル、ＡＭＧ５１０、抗ＰＤ－１、ＡＭＧ５１０＋抗ＰＤ－１、又はＭＥＫｉのいずれかで４日間にわたって治療された、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍を有するマウスの腫瘍体積を示す。データは、平均腫瘍体積±ＳＥＭ（ｎ＝８／群）を表す。図５０（ｅ）は、２日間の治療後にＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍から、ＲＮＡが単離されたことを示す。遺伝子発現及びスコアを、ＮａｎｏＳｔｒｉｎｇの技術によって計算した（ｎ＝５／群）。＊Ｐ＜０．０５（ビヒクル対照に対するテューキー法による）；ＮＳは有意でない；＊＊＊Ｐ＜０．００１（ビヒクルに対するダネット法による比較）；＊＊＊＊Ｐ＜０．０００１（ビヒクル対照に対するダ

ネット法による比較）。
【図５０－３】図５０（ｆ）は、ＩＦＮγの存在下又は非存在下、ＡＭＧ５１０による２４時間治療後の、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ細胞上におけるＭＨＣクラスＩ抗原（Ｈ－２Ｄ^{d}及びＨ－２Ｌ^{d}）の、フローサイトメトリーによって測定した細胞表面発現を示す。図５０（ｇ）は、ＣＴ－２６又はＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍のいずれかを有するＢａｌｂ／ｃマウスの増殖曲線を示す。図５０（ｈ）は、親ＣＴ－２６又はＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ細胞をＡＭＧ５１０又はＭＥＫｉで２４時間処理した後の、ＣＸＣＬ１０又はＣＸＣＬ１１転写物及び分泌ＩＰ－１０タンパク質の定量を示す。
【図５０－４】図５０（ｉ）は、ＩＦＮγの存在下又は非存在下でのＡＭＧ５１０による、４８時間処置後のＳＷ－１５７３及び４８時間処置後のＭＩＡ　ＰａＣＡ－２と共に、２４時間処置後のＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ細胞上における、ＭＨＣクラスＩ抗原（ＨＬＡ、Ｈ－２Ｄ^{d}及びＨ－２Ｋ^{d}）の細胞表面発現をフローサイトメトリーの測定により示す。
【発明を実施するための形態】
【０２６３】
本発明は、特にがん治療のためのＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}阻害剤及び１種以上の薬学的に活性な追加の薬剤を含む併用療法を提供する。本発明はまた、がん治療のための、ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}阻害剤及び１種以上の薬学的に活性な追加の薬剤を含む、医薬組成物に関する。本明細書で開示される化合物は、すべて薬学的に許容される同位体標識化合物を含む（ここで、本明細書中に開示される化合物の１つ以上の原子は、同じ原子番号を有するが、天然に通常見出される原子質量又は質量数とは異なる原子質量又は質量数を有する原子によって置換されている）。開示された化合物に組み込むことができる同位体の例には、水素、炭素、窒素、酸素、リン、フッ素、塩素、及びヨウ素の同位体、例えば、それぞれ、２Ｈ、３Ｈ、１１Ｃ、１３Ｃ、１４Ｃ、１３Ｎ、１５Ｎ、１５Ｏ、１７Ｏ、１８Ｏ、３１Ｐ、３２Ｐ、３５Ｓ、１８Ｆ、３６Ｃｌ、１２３Ｉ、及び１２５Ｉが含まれる。これらの放射性標識化合物は、例えば、作用部位若しくは作用様式、又は薬理学的に重要な作用部位への結合親和性を特徴づけるすることによって、化合物の有効性を決定又は測定するのを助けるのに有用であり得る。本開示の、ある種の同位体標識化合物、例えば放射性同位体を組み込んだものは、薬剤及び／又は基質の組織分布の研究に有用である。放射性同位体のトリチウム、すなわち３Ｈ及び炭素－１４、すなわち１４Ｃは、組み込みが簡単であり、検出手段が容易であることを考慮すると、この目的のために特に有用である。
【０２６４】
重水素、すなわち２Ｈなどの重い同位体による置換は、より大きい代謝安定性の結果としてもたらされる特定の治療上の利点、例えばインビボ半減期の増大又は投薬必要量の減少をもたらし得、したがってある種の状況では好ましい。
【０２６５】
１１Ｃ、１８Ｆ、１５Ｏ及び１３Ｎのような陽電子放出同位体による置換は、基質受容体占有率を調べるための陽電子放出トポグラフィー（ＰＥＴ）研究に有用であり得る。構造（Ｉ）の同位体標識化合物は、一般に、当業者に周知の従来手法によって、又は以前に使用された非標識試薬の代わりに適切な同位体標識試薬を使用して、下記の調製及び実施例に記載されるものと類似のプロセスによって調製することができる。
【０２６６】
本明細書で開示される同位体標識化合物は、一般に、当業者に周知の従来手法により、又は以前に使用された非標識試薬の代わりに適切な同位体標識試薬を使用して、添付の実施例及びスキームに記載したものと類似の方法により調製することができる。
【０２６７】
本明細書で開示される化合物のいくつかは、光学異性体及び配座異性体（又はコンフォーマー）を含む、立体異性体（すなわち、原子の空間配置のみが異なる異性体）として存在し得る。本明細書で開示される化合物は、純粋な個々の立体異性体調製物及びそれぞれ

に富んだ調製物の両方、並びにこのような立体異性体のラセミ混合物の両方、並びに当業者に周知の方法に従って分離され得る個々のジアステレオマー及びエナンチオマーとして、すべての立体異性体を含む。さらに、本明細書で開示される化合物は、化合物の全ての互変異性型を含む。

【０２６８】

本明細書で開示される化合物のいくつかは、分子の他の部分との立体相互作用の結果として、分子中の単結合周りの回転が妨げられるか、又は非常に遅くされるときに生じる、立体配座立体異性体であるアトロプ異性体として存在し得る。本明細書で開示される化合物は、純粋な個々のアトロプ異性体調製物及びそれぞれに富んだ調製物の両者として、又はそれぞれの非特定的混合物として、すべてのアトロプ異性体を含む。単結合の周りの回転障壁が十分に高く、立体配座間の相互変換が十分に遅い場合には、異性体種の分離及び単離が可能であり得る。異性体種の分離及び単離は、周知であり且つ受け入れられている記号「Ｍ」又は「Ｐ」によって適切に示される。

【０２６９】

別の実施形態では、これらの化合物は、本出願の化合物を生成させるプロセスで中間体として使用することができる。

【０２７０】

別の実施形態では、これらの化合物は、薬学的に許容される塩の形態とすることができ、薬学的に許容される賦形剤を有する医薬製剤の形態とすることができる。

【０２７１】

また、本明細書に提供されるのは、本明細書で開示される化合物と、例えば、希釈剤又は担体などの薬学的に許容される賦形剤とをともに含む医薬組成物である。本発明での使用に適した化合物及び医薬組成物は、化合物がその意図された目的を達成するのに有効な量で投与することができるものを含む。化合物の投与は、以下でより詳細に記載される。

【０２７２】

別の実施形態では、これらの化合物は、本出願の化合物を生成させるプロセスで中間体として使用することができる。

【０２７３】

別の実施形態では、これらの化合物は、薬学的に許容される塩の形態とすることができ、薬学的に許容される賦形剤を有する医薬剤形とすることができる。

【０２７４】

また、本明細書に提供されるのは、本明細書で開示される化合物と、例えば、希釈剤又は担体などの薬学的に許容される賦形剤とをともに含む医薬組成物である。本発明での使用に適した化合物及び医薬組成物は、化合物がその意図された目的を達成するのに有効な量で投与することができるものを含む。化合物の投与は、以下でより詳細に記載される。

【０２７５】

当業者は、投与経路及び所望の用量に応じて、適切な医薬剤形を決定することができる。例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，１４３５－７１２（１８ｔｈ ｅｄ．，Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ，Ｅａｓｔｏｎ，Ｐｅｎｎｓｙｌｖａｎｉａ，１９９０）を参照されたい。剤形は、投与された薬剤の物理的状態、安定性、インビボ放出速度、及びインビボ消失速度に影響を及ぼし得る。投与経路に依存して、適切な用量は、体重、体表面積又は器官サイズに従って計算され得る。適切な治療用量を決定するのに必要な計算のさらなる改良は、特に本明細書で開示される用量情報及び分析、並びに動物又はヒトの臨床試験を通して得られる薬物動態学的データに照らして、過度の実験なしに当業者によってルーチンとしてなされる。

【０２７６】

「薬学的に許容される」又は「薬理学的に許容される」という語句は、動物又はヒトに投与される場合に、有害な、アレルギー性の、又は他の不都合な反応をもたらさない分子実体及び組成物を指す。本明細書では、「薬学的に許容される」は、任意の、且つ全ての溶媒、分散媒体、コーティング、抗菌剤及び抗真菌剤、等張剤及び吸収遅延剤などを含む

。薬学的に活性な物質用のそのような賦形剤の使用は、当技術分野で周知である。任意の従来の媒体又は薬剤が治療組成物と不適合でなければ、治療組成物におけるその使用が意図される。補助的な活性成分もまた、組成物に組み込むことができる。例示的な実施形態では、製剤は、固形コーンシロップ、高オレインベニバナ油、ココナッツ油、大豆油、Ｌ－ロイシン、リン酸三カルシウム、Ｌ－チロシン、Ｌ－プロリン、酢酸Ｌ－リジン、ＤＡＴＥＭ（乳化剤）、Ｌ－グルタミン、Ｌ－バリン、リン酸二カリウム、Ｌ－イソロイシン、Ｌ－アルギニン、Ｌ－アラニン、グリシン、Ｌ－アスパラギン一水和物、Ｌ－セリン、クエン酸カリウム、Ｌ－トレオニン、クエン酸ナトリウム、塩化マグネシウム、Ｌ－ヒスチジン、Ｌ－メチオニン、アスコルビン酸、炭酸カルシウム、Ｌ－グルタミン酸、Ｌ－シスチン二塩酸塩、Ｌ－トリプトファン、Ｌ－アスパラギン酸、塩化コリン、タウリン、ｍ－イノシトール、硫酸第一鉄、パルミチン酸アスコルビル、硫酸亜鉛、Ｌ－カルニチン、アルファ－トコフェリルアセテート、塩化ナトリウム、ナイアシンアミド、トコフェロール混合物、パントテン酸カルシウム、硫酸銅、塩化チアミン塩酸塩、ビタミンＡパルミテート、硫酸マンガン、リボフラビン、塩酸ピリドキシン、葉酸、β－カロテン、ヨウ化カリウム、フィロキノンビオチン、セレン酸ナトリウム、塩化クロム、モリブデン酸ナトリウム、ビタミンＤ３及びシアノコバラミンを含み得る。

【０２７７】

化合物は、薬学的に許容される塩として医薬組成物中に存在することができる。本明細書では、「薬学的に許容される塩」は、例えば、塩基付加塩及び酸付加塩を含む。

【０２７８】

薬学的に許容される塩基付加塩は、アルカリ及びアルカリ土類金属又は有機アミンなどの金属又はアミンを用いて生成し得る。化合物の薬学的に許容される塩は、また、薬学的に許容されるカチオンを用いて調製し得る。適切な薬学的に許容されるカチオンは当業者に周知であり、アルカリ、アルカリ土類、アンモニウム及び第四級アンモニウムカチオンを含む。炭酸塩又は炭酸水素塩も可能である。カチオンとして使用される金属の例は、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、アンモニウム、カルシウム、又は第二鉄などである。適切なアミンの例としては、イソプロピルアミン、トリメチルアミン、ヒスチジン、Ｎ，Ｎ’－ジベンジルエチレンジアミン、塩化プロカイン、コリン、ジエタノールアミン、ジシクロヘキシルアミン、エチレンジアミン、Ｎ－メチルグルカミン、及びプロカインが挙げられる。

【０２７９】

薬学的に許容される酸付加塩には、無機又は有機酸塩が含まれる。適切な酸塩の例には、塩酸塩、ギ酸塩、酢酸塩、クエン酸塩、サリチル酸塩、硝酸塩、リン酸塩が含まれる。薬学的に許容される、他の適切な塩は当業者に周知であり、例えば、ギ酸、酢酸、クエン酸、シュウ酸、酒石酸、若しくはマンデル酸、塩酸、臭化水素酸、硫酸又はリン酸；有機カルボン酸、スルホン酸、スルホ酸若しくはホスホ酸又はＮ－置換スルファミン酸、例えば、酢酸、トリフルオロ酢酸（ＴＦＡ）、プロピオン酸、グリコール酸、コハク酸、マレイン酸、ヒドロキシマレイン酸、メチルマレイン酸、フマル酸、リンゴ酸、酒石酸、乳酸、シュウ酸、グルコン酸、グルカル酸、グルクロン酸、クエン酸、安息香酸、ケイ皮酸、マンデル酸、サリチル酸、４－アミノサリチル酸、２－フェノキシ安息香酸、２－アセトキシ安息香酸、エンボン酸、ニコチン酸又はイソニコチン酸を有するもの；及び、天然のタンパク質の合成に関与する２０種のアルファアミノ酸、例えば、グルタミン酸又はアスパラギン酸などのアミノ酸を有するもの、そしてまた、フェニル酢酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、２－ヒドロキシエタンスルホン酸、エタン１，２－ジスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、４－メチルベンゼンスルホン酸、ナフタレン２－スルホン酸、ナフタレン１，５－ジスルホン酸、２－又は３－ホスホグリセリン酸、グルコース６－リン酸、Ｎ－シクロヘキシルスルファミン酸（シクラメートの形成を伴う）を有するもの、又はアスコルビン酸などの他の酸性有機化合物を有するものを含む。

【０２８０】

本明細書で開示される化合物を含有する医薬組成物は、従来法で、例えば、従来の混合

、溶解、造粒、糖衣錠製造、粉末化、乳化、カプセル化、封入、又は凍結乾燥プロセスによって製造することができる。適切な剤形は、選択する投与経路に依存する。

【０２８１】

経口投与用では、適切な組成物は、本明細書で開示される化合物を、当技術分野で周知の担体などの薬学的に許容される賦形剤と組み合わせることによって、容易に剤形化することができる。そうした賦形剤及び担体は、治療される患者による経口摂取のために、本発明の化合物を、錠剤、丸剤、糖衣錠、カプセル、液剤、ゲル、シロップ、スラリー、懸濁液などとして剤形化することを可能にする。経口使用のための医薬調製物は、本明細書で開示される化合物に固体賦形剤を加え、得られた混合物を任意選択により粉砕し、必要に応じて適切な補助剤を添加した後、顆粒の混合物を処理し、錠剤又は糖衣錠のコアを得ることで得られる。適切な賦形剤には、例えば、フィラー及びセルロース調製物が含まれる。必要に応じて、崩壊剤を添加することができる。薬学的に許容される成分は、種々のタイプの製剤が周知であり、例えば、バインダー（例えば、天然又は合成ポリマー）、潤滑剤、界面活性剤、甘味料及び香味料、コーティング材料、保存料、染料、増粘剤、アジュバント、抗菌剤、抗酸化剤及び種々の製剤タイプのための担体であり得る。

【０２８２】

本明細書で開示される化合物の治療有効量が経口投与される場合、組成物は、通常、固体（例えば、錠剤、カプセル、丸剤、粉末、又はトローチ）又は液体製剤（例えば、水性懸濁液、溶液、エリキシル、又はシロップ）の形態である。

【０２８３】

錠剤形態で投与される場合、組成物は、ゼラチン又はアジュバントなどの機能性固体及び／又は固体担体をさらに含有することができる。錠剤、カプセル、及び粉末は、約１～約９５％の化合物、好ましくは約１５～約９０％の化合物を含有することができる。

【０２８４】

液体又は懸濁液の形態で投与する場合、水、石油、又は動物若しくは植物起源の油などの、機能性液体及び／又は液体担体を加えることができる。組成物の液体形態は、生理食塩水、糖アルコール溶液、デキストロース又は他の糖溶液、又はグリコールをさらに含有することができる。液体又は懸濁液の形態で投与する場合、組成物は、約０．５～約９０重量％の本明細書で開示される化合物、好ましくは約１～約５０％の本明細書で開示される化合物を含有することができる。考えられる一実施形態では、液体担体は非水性又は実質的に非水性である。液体形態での投与では、組成物は、投与の直前に溶解又は懸濁させるために、迅速に溶解する固体製剤として供給し得る。

【０２８５】

本明細書で開示される化合物の治療有効量が、静脈内、皮膚、又は皮下注射によって投与される場合、組成物は発熱物質を含まない、非経口的に許容される水溶液の形態である。ｐＨ、等張性、安定性などを十分に考慮して、そのような非経口的に許容される溶液を調製することは、当業者の範囲内である。静脈内、皮膚、又は皮下注射用として好ましい組成物は、通常、本明細書で開示される化合物に加えて、等張性ビヒクルを含有する。そのような組成物は、ヒドロキシプロピルセルロースのような界面活性剤と適切に混合された水中の、遊離塩基又は薬理学的に許容される塩の溶液として投与するように調製され得る。分散液も、グリセロール、液体ポリエチレングリコール、及びそれらの混合物、並びに油中で調製することができる。貯蔵及び使用の通常の条件下で、これらの調製物は、微生物の増殖を防ぐために、任意選択的に保存料を含有することができる。

【０２８６】

注射用組成物は、無菌注射溶液、懸濁液、又は分散液の即時調製のための無菌水溶液、懸濁液、又は分散液、及び無菌粉末を含むことができる。全ての実施形態で、この形態は、無菌でなければならず、そして注射針通過性が容易な程度に流動性がなければならない。それは、製造及び貯蔵の条件下で安定でなければならず、任意選的に保存料を含めることによって、細菌及び真菌などの微生物の汚染作用に抵抗しなければならない。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、

及び液体ポリエチレングリコールなど）、それらの適切な混合物、並びに植物油を含有する溶媒又は分散媒体とすることができる。考えられる一実施形態では、担体は非水性又は実質的に非水性である。適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティングの使用、分散体の実施形態では化合物の必要とされる粒径の維持及び界面活性剤の使用によって維持することができる。微生物作用の予防は、様々な抗菌剤及び抗真菌剤、例えばパラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸、チメロサールなどによってもたらすことができる。多くの実施形態で、等張化剤、例えば糖又は塩化ナトリウムを含むことが好ましい。注射用組成物の持続的吸収は、吸収を遅延する作用物質、例えばモノステアリン酸アルミニウム及びゼラチンを組成物中で使用することによりもたらすことができる。

【０２８７】

無菌注射溶液は、必要な量の活性な化合物を、必要であれば上で列挙した種々の他の成分と共に適当な溶媒中に組み込み、続いて濾過滅菌することによって調製される。一般的に、分散体は、上で列挙した基剤となる分散媒体及び必要な他の成分を含有する無菌ビヒクルに、滅菌された種々の活性成分を組み込むことによって調製される。無菌注射溶液を調製するための無菌粉末の実施形態では、好ましい調製方法は、活性成分及び任意の追加の所望成分の粉末を、予め滅菌濾過されたそれらの溶液から得られる、真空乾燥及びフリーズドライの手法である。

【０２８８】

放出が遅い、すなわち徐放性の製剤もまた、消化管内で体液と接触して活性化合物の制御放出を達成し、活性化合物の実質的に一定且つ有効な血漿中濃度を提供するために調製され得る。例えば、放出は、溶解、拡散、及びイオン交換のうちの１つ以上によって制御することができる。さらに、徐放アプローチは、ＧＩ管内の可飽和又は制限経路を介して吸収を増強し得る。例えば、化合物はこの目的のために、生分解性ポリマー、水溶性ポリマー、又は両混合物のマトリックス、及び任意選択選択的に適切な界面活性剤の中に埋め込まれ得る。埋め込みは、この文脈では、微粒子をポリマーマトリックス中へ組み込むことを意味する。制御放出製剤はまた、周知の分散又は乳化コーティング技術による、分散微粒子又は乳化微小液滴のカプセル化によっても得られる。

【０２８９】

吸入による投与では、本発明の化合物は、適切な噴射剤を使用して、加圧容器又はネブライザーからエアロゾルスプレーの提供形態で便利に送達される。加圧エアロゾルの実施形態では、用量単位は、計量された量を送達するためのバルブを提供することによって決定することができる。吸入器又は注入器で使用するための、例えばゼラチンのカプセル及びカートリッジは、化合物と、ラクトース又はデンプンなどの適切な粉末基剤との粉末混合物を含有させて製剤化することができる。

【０２９０】

本明細書で開示される化合物は、注射（例えば、ボーラス注射又は連続注入）による非経口投与のために製剤化することができる。注射製剤は、保存料を添加した単位用量形態（例えば、アンプル又は多数回投与容器）で提供することができる。組成物は、懸濁液、溶液、又は油性又は水性ビヒクル中のエマルジョンなどの形態をとることができ、懸濁剤、安定化剤、及び／又は分散剤などの製剤化剤を含有することができる。

【０２９１】

非経口投与用の医薬製剤は、水溶性形態化合物の水溶液を含む。さらに、化合物の懸濁液は、適切な油性注射懸濁液として調製することができる。適切な親油性溶媒又はビヒクルには、脂肪油又は合成脂肪酸エステルが含まれる。水性注射懸濁液は、懸濁液の粘度を増加させる物質を含有することができる。任意選択的に、懸濁液もまた、化合物の溶解度を増加させ、高度に濃縮された溶液の調製を可能にする、適切な安定剤又は薬剤を含有することができる。或いは、本組成物は、使用前に適切なビヒクル（例えば、無菌の発熱物質を含まない水）で構成するために、粉末形態とすることができる。

【０２９２】

本明細書で開示される化合物はまた、坐薬又は保持浣腸剤（例えば、従来の座薬基剤を

含む）などの直腸組成物に製剤化させることもできる。先に記載した製剤に加えて、化合物はデポ製剤として製剤化することもできる。そのような長期作用性製剤は埋め込み（例えば、皮下又は筋肉内）によって、又は筋肉内注射によって投与することができる。したがって、例えば、化合物は、適切なポリマー若しくは疎水性材料（例えば、許容される油中のエマルジョンとして）、又はイオン交換樹脂とともに、或いは難溶性誘導体として、例えば、難溶性の塩として製剤化することができる。

【０２９３】

特に、本明細書で開示される化合物は、デンプン又はラクトースなどの賦形剤を含有する錠剤の形態で、又はカプセル若しくはオビュールの形態で、単独で、又は賦形剤との混合物で、又は香味剤又は着色剤を含有するエリキシル剤又は懸濁液の形態で、経口、口腔内、又は舌下に投与することができる。そのような液体調製物は、懸濁剤などの薬学的に許容される添加剤とともに調製することができる。化合物はまた、非経口的に、例えば、静脈内、筋肉内、皮下、又は冠動脈内に注射することができる。非経口投与では、溶液を血液と等張にするために、化合物は他の物質、例えば、塩、又はマンニトールなどの糖アルコール、又はグルコースを含むことができる無菌水溶液の形態で最もよく使用される。

【０２９４】

獣医学的使用では、本明細書で開示される化合物は、通常の獣医学的実践に従って、適切に許容される製剤として投与される。獣医は、特定の動物に最も適切な投与計画及び投与経路を容易に決定することができる。

【０２９５】

いくつかの実施形態では、本明細書で開示される化合物を単独で使用するか、又は別の薬剤若しくはこのような疾患の治療のために伝統的に使用されるインターベンションと組み合わせて使用する、ＫＲＡＳ関連障害の治療に必要なすべての成分はキットにパッケージ化され得る。具体的には、本発明は、本明細書で開示される化合物、並びに前記薬剤を送達可能な形態に調製するための緩衝剤及び他の成分、並びに／又はそのような薬剤を送達するためのデバイス、及び／又は本明細書で開示される化合物との併用療法で使用される任意の薬剤、及び／又は薬剤とともにパッケージされた疾患治療の説明書を含むパッケージ化された薬剤セットを含む、疾患用インターベンションで使用するキットを提供する。説明書は、印刷された紙、又はコンピュータ可読磁気若しくは光学媒体などの任意の有形媒体に固定されていてよく、或いは、説明書はインターネットによりアクセス可能なワールドワイドウェブページなどのリモートコンピュータのデータソースを参照するものでもよい。

【０２９６】

「治療有効量」とは、治療される対象の現在の症状を治療するか、又は進行を抑えるか、或いは軽減するのに有効な量を意味する。有効量の決定は、特に本明細書で提供される詳細な開示に照らせば、十分に当業者の能力の範囲内である。一般に、「治療有効量」は、所望の効果の達成をもたらす化合物の量を指す。例えば、好ましい一実施形態では、本明細書で開示される化合物の治療有効量は、対照と比較して、ＫＲＡＳ活性を少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも２５％、少なくとも３０％、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、又は少なくとも９０％減少させる。

【０２９７】

投与される化合物の量は、治療される対象、対象の年齢、健康状態、性別及び体重、併用治療の種類（もしあれば）、苦痛の重症度、所望する効果の性質、治療の方法及び頻度、並びに処方医師の判断に依存し得る。投与の頻度もまた、動脈酸素圧に対する薬力学的効果に依存し得る。しかしながら、最も好ましい用量は、当業者によって理解され、決定されるように、過度の実験なしに、個々の被験者に合わせて決定することができる。これは、通常、標準用量の調節（例えば、患者体重が軽い場合の用量の減少）を含む。

【０２９８】
個々の必要性は変化するが、化合物の有効量の最適範囲の決定は、当業者の範囲内である。本明細書で同定される状態及び障害の治癒的又は予防的治療におけるヒトへの投与では、例えば、本発明の化合物の典型的な用量は、約０．０５ｍｇ／ｋｇ／日～約５０ｍｇ／ｋｇ／日、例えば、少なくとも０．０５ｍｇ／ｋｇ、少なくとも０．０８ｍｇ／ｋｇ、少なくとも０．１ｍｇ／ｋｇ、少なくとも０．２ｍｇ／ｋｇ、少なくとも０．３ｍｇ／ｋｇ、少なくとも０．４ｍｇ／ｋｇ、又は少なくとも０．５ｍｇ／ｋｇ、そして好ましくは５０ｍｇ／ｋｇ以下、４０ｍｇ／ｋｇ以下、３０ｍｇ／ｋｇ以下、２０ｍｇ／ｋｇ以下、又は１０ｍｇ／ｋｇ以下とすることができ、これは、例えば、約２．５ｍｇ／日（０．５ｍｇ／ｋｇ×５ｋｇ）～約５０００ｍｇ／日（５０ｍｇ／ｋｇ×１００ｋｇ）であり得る。例えば、化合物の用量は、約０．１ｍｇ／ｋｇ／日～約５０ｍｇ／ｋｇ／日、約０．０５ｍｇ／ｋｇ／日～約１０ｍｇ／ｋｇ／日、約０．０５ｍｇ／ｋｇ／日～約５ｍｇ／ｋｇ／日、約０．０５ｍｇ／ｋｇ／日～約３ｍｇ／ｋｇ／日、約０．０７ｍｇ／ｋｇ／日～約３ｍｇ／ｋｇ／日、約０．０９ｍｇ／ｋｇ／日～約３ｍｇ／ｋｇ／日、約０．０５ｍｇ／ｋｇ／日～約０．１ｍｇ／ｋｇ／日、約０．１ｍｇ／ｋｇ／日～約１ｍｇ／ｋｇ／日、約１ｍｇ／ｋｇ／日～約１０ｍｇ／ｋｇ／日、約１ｍｇ／ｋｇ／日～約５ｍｇ／ｋｇ／日、約１ｍｇ／ｋｇ／日～約３ｍｇ／ｋｇ／日、約１ｍｇ／日～約１０００ｍｇ／日、約２０ｍｇ／日～約７５０ｍｇ／日、約３ｍｇ／日～約５００ｍｇ／日、約５ｍｇ／日～約２５０ｍｇ／日、約１０ｍｇ／日～約１００ｍｇ／日、約３ｍｇ／日～約１０ｍｇ／日、又は約１００ｍｇ／日～約２５０ｍｇ／日とすることができる。そのような用量は、単回用量で投与され得るか、又は複数回用量に分割され得る。

【０２９９】
＜ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}阻害剤の使用方法＞
本開示は、細胞と、本明細書で開示される１種以上の化合物の有効量とを接触させることを含む、ＲＡＳ媒介細胞シグナル伝達を阻害する方法を提供する。ＲＡＳ媒介シグナル伝達の阻害は、当技術分野で周知の広範な種々の方法によって評価及び実証することができる。非限定的な例としては、（ａ）ＲＡＳのＧＴＰアーゼ活性の減少；（ｂ）ＧＴＰ結合親和性の減少又はＧＤＰ結合親和性の増加；（ｃ）ＧＴＰのＫ　ｏｆｆの増加又はＧＤＰのＫ　ｏｆｆの減少；（ｄ）ｐＭＥＫ、ｐＥＲＫ、又はｐＡＫＴレベルの減少などの、ＲＡＳ経路の下流のシグナル伝達分子のレベルの減少；及び／又は（ｅ）Ｒａｆを含むがこれに限定されない下流のシグナル伝達分子へのＲＡＳ複合体の結合の減少を示すことが挙げられる。上記の１つ以上を決定するために、キット及び市販のアッセイを利用することができる。

【０３００】
本開示はまた、Ｇ１２Ｃ　ＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳ変異に関連する状態（例えば、がん）を含むが、これらに限定されない疾患状態を治療するために、本開示の化合物又は医薬組成物を使用する方法を提供する。

【０３０１】
いくつかの実施形態では、がんの治療のための方法が提供され、その方法は、本明細書で開示される化合物を含む前述の医薬組成物のいずれかの有効量を、それを必要とする対象に投与することを含む。いくつかの実施形態では、がんはＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳのＧ１２Ｃ変異によって媒介される。種々の実施形態では、がんは膵臓がん、結腸直腸がん又は肺がんである。いくつかの実施形態では、がんは胆嚢がん、甲状腺がん、及び胆管がんである。

【０３０２】
いくつかの実施形態では、本開示は治療を必要とする対象の障害を治療する方法であって、対象がＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳのＧ１２Ｃ変異を有するかどうかを決定し、そして対象がＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳのＧ１２Ｃ変異を有すると決定されれば、本明細書で開示される少なくとも１つの化合物又はその薬学的に許容される塩の治療有効量を、対象に投与することを含む方法を提供する。

【０３０３】
開示された化合物は足場非依存性細胞増殖を阻害し、したがって腫瘍の転移を阻害する可能性を有する。したがって、別の実施形態では、本開示は腫瘍転移を阻害するための方法を提供し、その方法は本明細書で開示される化合物の有効量を投与することを含む。
【０３０４】
ＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳのＧ１２Ｃ変異はまた、血液学的悪性腫瘍（例えば、血液、骨髄及び／又はリンパ節に影響を及ぼすがん）で同定されている。したがって、特定の実施形態は、血液学的悪性腫瘍の治療を必要とする患者への、開示された化合物（例えば、医薬組成物の形態で）の投与に関する。このような悪性腫瘍には白血病及びリンパ腫が含まれるが、これらに限定されない。例えば、本開示の化合物は、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、小リンパ球性リンパ腫（ＳＬＬ）、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、急性単球性白血病（ＡＭｏＬ）及び／又は他の白血病などの疾患の治療に使用することができる。別の実施形態では、化合物はリンパ腫、例えば、ホジキンリンパ腫又は非ホジキンリンパ腫のすべてのサブタイプの治療に有用である。様々な実施形態では、化合物は、多発性骨髄腫、マントル細胞リンパ腫、及びワルデンシュトレームマクログロブリン血症などの形質細胞悪性腫瘍の治療に有用である。
【０３０５】
腫瘍又はがんがＧ１２Ｃ　ＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳ変異を含むかどうかの決定は、ＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳタンパク質をコードするヌクレオチド配列を評価することによって、ＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳタンパク質のアミノ酸配列を評価することによって、又は推定ＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳ変異体タンパク質の特性を評価することによって行うことができる。野生型ヒトＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳの配列は当該技術分野で周知である（例えば、アクセッション番号ＮＰ２０３５２４）。
【０３０６】
ＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳヌクレオチド配列の変異を検出する方法は、当業者に周知である。これらの方法には、ポリメラーゼ連鎖反応－制限酵素断片長多型（ＰＣＲ－ＲＦＬＰ）アッセイ、ポリメラーゼ連鎖反応－一本鎖立体配座多型（ＰＣＲ－ＳＳＣＰ）アッセイ、リアルタイムＰＣＲアッセイ、ＰＣＲシーケンシング、変異対立遺伝子特異的ＰＣＲ増幅（ＭＡＳＡ）アッセイ、直接配列決定、プライマー伸長反応、電気泳動、オリゴヌクレオチド連結アッセイ、ハイブリダイゼーションアッセイ、ＴａｑＭａｎアッセイ、ＳＮＰジェノタイピングアッセイ、高分解能融解アッセイ及びマイクロアレイ分析が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、試料は、リアルタイムＰＣＲによって、Ｇ１２Ｃ　ＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳの変異が評価される。リアルタイムＰＣＲでは、ＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳのＧ１２Ｃ変異に特異的な蛍光プローブが使用される。変異が存在すると、プローブは結合し、蛍光が検出される。いくつかの実施形態では、ＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳのＧ１２Ｃ変異は、ＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳ遺伝子中の特定の領域（例えば、エクソン２及び／又はエクソン３）の直接シーケンシング法を用いて同定される。この手法は、配列決定された領域の全ての可能な変異を同定する。
【０３０７】
ＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳタンパク質の変異を検出する方法は、当業者に周知である。これらの方法は、変異体タンパク質に特異的な結合剤（例えば、抗体）、タンパク質の電気泳動及びウェスタンブロット、並びにペプチドの直接シーケンシングを使用する、ＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳ変異体の検出を含むが、これらに限定されない。
【０３０８】
腫瘍又はがんがＧ１２Ｃ　ＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳ変異を含むかどうかを決定する方法には、様々な試料を使用することができる。いくつかの実施形態では、試料は腫瘍又はがんを有する対象から採取される。いくつかの実施形態では、試料は新鮮な腫瘍／がん試料である。いくつかの実施形態では、試料は冷凍された腫瘍／がん試料である。い

くつかの実施形態では、試料はホルマリン固定パラフィン包埋試料である。いくつかの実施形態では、試料は循環腫瘍細胞（ＣＴＣ）試料である。いくつかの実施形態では、試料は、細胞溶解物へと処理される。いくつかの実施形態では、試料は、ＤＮＡ又はＲＮＡへと処理される。

【０３０９】

本開示はまた、哺乳動物の過剰増殖性障害の治療方法であって、本明細書で開示される化合物、又はその薬学的に許容される塩の治療有効量を、前記哺乳動物に投与することを含む方法に関する。いくつかの実施形態では、前記方法は、急性骨髄性白血病、青年期のがん、小児副腎皮質がん、ＡＩＤＳ関連がん（例えば、リンパ腫とカポジ肉腫）、肛門がん、虫垂がん、星状細胞腫、非定型奇形、基底細胞がん、胆管がん、膀胱がん、骨がん、脳幹グリオーマ、脳腫瘍、乳がん、気管支腫瘍、バーキットリンパ腫、カルチノイド腫瘍、非定型奇形、胚芽腫、胚細胞腫瘍、原発性リンパ腫、子宮頸がん、小児がん、脊索腫、心臓腫瘍、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性骨髄増殖性疾患、結腸がん、結腸直腸がん、頭蓋咽頭腫、皮膚Ｔ細胞リンパ腫、肝外非浸潤性乳管がん（ＤＣＩＳ）、胚芽腫、ＣＮＳがん、子宮内膜がん、上衣腫、食道がん、鼻腔神経芽細胞腫、ユーイング肉腫、頭蓋外胚細胞腫瘍、性腺外胚細胞腫瘍、眼がん、骨の線維性組織球腫、胆嚢がん、胃がん、消化管カルチノイド腫瘍、消化管間質腫瘍（ＧＩＳＴ）、胚細胞腫瘍、妊娠性絨毛腫瘍、有毛細胞白血病、頭頸部がん、心臓がん、肝がん、ホジキンリンパ腫、下咽頭がん、眼内黒色腫、膵島細胞腫瘍、膵神経内分泌腫瘍、腎臓がん、喉頭がん、口唇及び口腔がん、肝臓がん、上皮内小葉がん（ＬＣＩＳ）、肺がん、リンパ腫、再発した原発不明の転移性頸部扁平上皮がん、正中線がん、口腔がん、多発性内分泌腫瘍症候群、多発性骨髄腫／形質細胞腫瘍、菌状息肉腫、骨髄異形成症候群、骨髄異形成／骨髄増殖性腫瘍、多発性骨髄腫、メルケル細胞がん、悪性中皮腫、骨の悪性線維性組織球腫及び骨肉腫、鼻腔及び副鼻腔がん、鼻咽頭がん、神経芽細胞腫、非ホジキンリンパ腫、非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）、口腔がん、口唇及び口腔がん、中咽頭がん、卵巣がん、膵臓がん、乳頭腫症、傍神経節腫、副鼻腔及び鼻腔がん、副甲状腺がん、陰茎がん、咽頭がん、胸膜肺芽腫、原発性中枢神経系（ＣＮＳ）リンパ腫、前立腺がん、直腸がん、移行上皮がん、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、唾液腺がん、皮膚がん、胃（胃の）がん、小細胞肺がん、小腸がん、軟部組織肉腫、Ｔ細胞リンパ腫、精巣がん、咽頭がん、胸腺腫及び胸腺がん、甲状腺がん、腎盂及び尿管の移行上皮がん、絨毛性腫瘍、小児の異常がん、尿道がん、子宮肉腫、膣がん、外陰がん、又はウイルス誘発がんなどのがんに罹患した対象の治療に関する。いくつかの実施形態では、前記方法は、皮膚の良性過形成（例えば、乾癬）、再狭窄、又は前立腺（例えば、良性前立腺肥大（ＢＰＨ））などの非がん性過剰増殖性障害の治療に関する。

【０３１０】

いくつかの実施形態では、治療の方法は肺がんの治療に関し、この方法は上記化合物（又はそれを含む医薬組成物）のいずれかの有効量を、それを必要とする対象に投与することを含む。特定の実施形態では、肺がんは非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）、例えば、腺がん、扁平上皮肺がん又は大細胞肺がんである。いくつかの実施形態では、肺がんは小細胞肺がんである。開示された化合物で治療可能な他の肺がんには、腺がん、カルチノイド腫瘍、及び未分化がん腫が含まれるが、これらに限定されない。

【０３１１】

本開示はさらに、Ｇ１２Ｃ変異体ＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳタンパク質活性を調節する方法であって、このタンパク質を本開示の化合物の有効量と接触させる方法を提供する。調節は、タンパク質の活性を阻害又は活性化することであり得る。いくつかの実施形態では、本開示は、Ｇ１２Ｃ変異体ＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳタンパク質を、本開示の化合物の有効量と溶液中で接触させることにより、タンパク質活性を阻害する方法を提供する。いくつかの実施形態では、本開示は、Ｇ１２Ｃ変異体ＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ、又はＮＲＡＳタンパク質の活性を阻害する方法であって、目的のタンパク質を発現する細胞、組織、又は器官を接触させる方法を提供する。いくつかの実施形態では、本開示は、

本開示の化合物の有効量を対象に投与することによって、げっ歯類及び哺乳動物（例えば、ヒト）を含む（これらに限定されない）対象内のタンパク質の活性を阻害する方法を提供する。いくつかの実施形態では、調節のパーセンテージは２５％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、又は９０％を超える。いくつかの実施形態では、阻害のパーセンテージは２５％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、又は９０％を超える。

【０３１２】

いくつかの実施形態では、本開示は、細胞中のＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳのＧ１２Ｃ活性を、前記細胞と、前記細胞中のＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳのＧ１２Ｃ活性を阻害するのに十分な量の本開示の化合物とを接触させることによって阻害する方法を提供する。いくつかの実施形態では、本開示は、組織内のＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳのＧ１２Ｃ活性を、前記組織と、前記組織中におけるＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳのＧ１２Ｃ活性を阻害するのに十分な量の本開示の化合物とを接触させることによって阻害する方法を提供する。いくつかの実施形態では、本開示は、生物内部のＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳのＧ１２Ｃ活性を、前記生物と、前記生物内部におけるＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳのＧ１２Ｃ活性を阻害するのに十分な量の本開示の化合物とを接触させることによって阻害する方法を提供する。いくつかの実施形態では、本開示は、動物内部のＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳのＧ１２Ｃ活性を、前記動物と、前記動物内部におけるＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳのＧ１２Ｃ活性を阻害するのに十分な量の本開示の化合物とを接触させることによって阻害する方法を提供する。いくつかの実施形態では、本開示は、哺乳動物内部のＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳのＧ１２Ｃ活性を、前記哺乳動物と、前記哺乳動物内部におけるＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳのＧ１２Ｃ活性を阻害するのに十分な量の本開示の化合物とを接触させることによって阻害する方法を提供する。いくつかの実施形態では、本開示は、ヒト内部でのＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳのＧ１２Ｃ活性を、前記ヒトと、前記ヒト内部におけるＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳのＧ１２Ｃ活性を阻害するのに十分な量の本開示の化合物と接触させることによって阻害する方法を提供する。本開示は、ＫＲＡＳ、ＨＲＡＳ又はＮＲＡＳのＧ１２Ｃ活性により媒介された疾患の治療方法であって、そのような治療を必要とする対象を治療する方法を提供する。

【０３１３】

＜併用療法＞

本開示はまた、他の経路を調節する、若しくは同じ経路の他の成分を調節することが知られている薬剤、又は重複する標的酵素のセットも、本開示の化合物、又はその薬学的に許容される塩と組み合わせて使用される併用治療の方法を提供する。１つの態様では、このような治療は、相乗的又は相加的な治療効果を提供するために、本開示の１つ以上の化合物と、化学療法薬、治療抗体、及び放射線治療との併用を含むが、これらに限定されない。

【０３１４】

現在、多くの化学療法薬が当技術分野で周知であり、本開示の化合物と併用することができる。本開示の化合物又は医薬組成物は、少なくとも１種以上の化学療法薬と組み合わせて使用することができる。いくつかの実施形態では、化学療法薬は、有糸分裂阻害剤、アルキル化剤、代謝拮抗剤、インターカレート抗生物質、増殖因子阻害剤、細胞周期阻害剤、酵素、トポイソメラーゼ阻害剤、生物学的応答調節物質、抗ホルモン、血管新生阻害剤、及び抗アンドロゲンからなる群から選択される。非限定的な例は、化学療法薬、細胞毒性剤、及びＧｌｅｅｖｅｃ（登録商標）（イマチニブメシレート）、Ｋｙｐｒｏｌｉｓ（登録商標）（カルフィルゾミブ）、Ｖｅｌｃａｄｅ（登録商標）（ボルテゾミブ）、Ｃａｓｏｄｅｘ（ビカルタミド）、Ｉｒｅｓｓａ（登録商標）（ゲフィチニブ）、Ｖｅｎｃｌｅｘｔａ（商標）（ベネトクラクス）及びＡｄｒｉａｍｙｃｉｎ（商標）（ドキソルビシン）などの非ペプチド小分子、並びに化学療法薬のホストである。化学療法薬の非限定的な例には、チオテパ及びシクロホスファミド（Ｃｙｔｏｘａｎ（商標））などのアルキ

ル化剤；ブスルファン、インプロスルファン及びピポスルファンなどのアルキルスルホネート；ベンゾドーパ、カルボコン、メツレドーパ、及びウレドーパなどのアジリジン；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホラミド、トリエチレンチオホスホラミド及びトリメチルオロメラミンを含むエチレンイミン及びメチラメラミン；クロラムブシル、クロルナファジン、クロロシクロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシド塩酸塩、メルファラン、ノベムビシン、フェネステリン、プレドニムスチン、トロフォスファミド、ウラシルマスタードなどのナイトロジェンマスタード；カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、ラニムスチンなどのニトロソ尿素；アクラシノマイシン、アクチノマイシン、オースラマイシン（アンスラマイシン）、アザセリン、ブレオマイシン、カクチノマイシン、カリケアマイシン、カラビシン、カルミノマイシン、カルジノフィリン、Ｃａｓｏｄｅｘ（商標）、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルビシン、６－ジアゾ－５－オキソ－Ｌ－ノルロイシン、ドキソルビシン、エピルビシン、エソルビシン、イダルビシン、マルセロマイシン、マイトマイシン、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポトロフィロマイシン、ピューロマイシン、ケラマイシン、ロドルビシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルビシンなどの抗生物質；メトトレキサート及び５－フルオロウラシル（５－ＦＵ）などの代謝拮抗剤；デノプテリン、メトトレキサート、プテロプテリン、トリメトレキサートなどの葉酸類似体；フルダラビン、６－メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニンなどのプリン類似体；アンシタビン、アザシチジン、６－アザウリジン、カルモフール、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクスリジン、カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトンなどのアンドロゲン；；アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタンなどの抗アドレナル；フロリン酸などの葉酸補給剤；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレブリン酸；アムサクリン；ベストラブシル；ビサントレン；エダトラキサート；デフォファミン；デメコルシン；ジアジクオン；エルフォミチン；酢酸エリプチニウム；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシ尿素；レンチナン；ロニダミン；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダモール；ニトラクリン；ペントスタチン；フェナメット；ピラルビシン；ポドフィリン酸；２－エチルヒドラジド；プロカルバジン；ＰＳＫ；ラゾキサン；シゾフィラン；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジクオン；２，２’，２’’－トリクロロトリエチルアミン；ウレタン；ビンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトブロニトール；ミトラクトール；ピポブロマン；ガシトシン；アラビノシド（「Ａｒａ－Ｃ」）；シクロホスファミド；チオテパ；タキサン、例えば、パクリタキセル及びドセタキセル；レチノイン酸；エスペラマイシン；カペシタビン；並びに上記のいずれかの薬学的に許容される塩、酸又は誘導体が含まれる。

【０３１５】

適切な化学療法細胞コンディショナーとして、例えば、タモキシフェン（Ｎｏｌｖａｄｅｘ（商標））、ラロキシフェン、アロマターゼ阻害４（５）イミダゾール、４－ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、ＬＹ１１７０１８、オナプリストン、及びトレミフェン（Ｆａｒｅｓｔｏｎ））を含む抗エストロゲン；フルタミド、ニルタミド、ビカルタミド、ロイプロリド及びゴセレリンなどの抗アンドロゲン；クロラムブシル；ゲムシタビン；６－チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキサート；シスプラチン及びカルボプラチンなどの白金類似体；ビンブラスチン；プラチナ；エトポシド（ＶＰ－１６）；イホスファミド；マイトマイシンＣ；ミトキサントロン；ビンクリスチン；ビノレルビン；ナベルビン；ノバントロン；テニポシド；ダウノマイシン；アミノプテリン；ゼローダ；イバンドロネート；カンプトテシン－１１（ＣＰＴ－１１）；トポイソメラーゼ阻害剤ＲＦＳ　２０００；ジフルオロメチルオルニチン（ＤＭＦＯ）などの、腫瘍に対するホルモン作用を調節又は阻害する抗ホルモン剤も含まれる。

【０３１６】

所望であれば、本開示の化合物又は医薬組成物は、Ｈｅｒｃｅｐｔｉｎ（登録商標）、Ａｖａｓｔｉｎ（登録商標）、Ｅｒｂｉｔｕｘ（登録商標）、Ｒｉｔｕｘａｎ（登録商標）、Ｔａｘｏｌ（登録商標）、Ａｒｉｍｉｄｅｘ（登録商標）、Ｔａｘｏｔｅｒｅ（登録商標）、ＡＢＶＤ、ＡＶＩＣＩＮＥ、アバゴボマブ、アクリジンカルボキサミド、アデカツムマブ、１７－Ｎ－アリルアミノ－１７－デメトキシゲルダナマイシン、アルファラジン、アルボシジブ、３－アミノピリジン－２－カルボキシアルデヒドチオセミカルバゾン、アモナフィド、アントラセンジオン、抗－ＣＤ２２免疫毒素、抗腫瘍薬、抗腫瘍形成性ハーブ、アパジコン、アチプリモド、アザチオプリン、ベンダムスチン、ＢＩＢＷ２９９２、ビリコダール、ブロスタリシン、ブリオスタチン、ブチオニンスルホキシミン、ＣＢＶ（化学療法）、カリクリン、細胞周期非特異的抗腫瘍剤、ジクロロ酢酸、ジスコデルモリド、エルサミトルシン、エノシタビン、エポチロン、エリブリン、エベロリムス、エクサテカン、エクシスリンド、フェルギノール、フォロデシン、ホスフェストロール、ＩＣＥ化学療法レジメン、ＩＴ－１０１、イメキソン、イミキモド、インドロカルバゾール、イロフルベン、ラニキダール、ラロタキセル、ルルトテカン、マホスファミド、ミトゾロミド、ナホキシジン、ネダプラチン、オラパリブ、オルタキセル、ＰＡＣ－１、ポーポー、ピキサントロン、プロテアソーム阻害剤、レベカマイシン、レシキモド、ルビテカン、ＳＮ－３８、サリノスポラミドＡ、サパシタビン、スタンフォードＶ、スワインソニン、タラポルフィン、タリキダール、テガフール－ウラシル、テモダール、テセタキセル、四硝酸トリプラチン、トリス（２－クロロエチル）アミン、トロキサシタビン、ウラムスチン、バジメザン、ビンフルニン、ＺＤ６１２６、又はゾスキダルなどの一般に処方されている抗がん剤と併用することができる。

【０３１７】

本開示はさらに、哺乳動物の異常な細胞増殖を阻害するために、又は過剰増殖障害を治療するために、本明細書で提供される化合物又は医薬組成物と放射線療法とを併用する方法に関する。放射線療法を施すための手法は、当技術分野で周知であり、それらの手法は、本明細書に記載の併用療法で使用することができる。この併用療法における本開示の化合物の投与は、本明細書に記載のようにして決定することができる。

【０３１８】

放射線療法は、外部ビーム療法、内部放射線療法、組織内照射、定位放射線手術、全身放射線療法、放射線療法、及び永続的又は一時的な組織内小線源療法を含む、いくつかの方法のうちの１つ、又はこれらの方法の組合せによって施すことができるが、これらに限定されない。本明細書では、「小線源療法」という用語は、腫瘍又は他の増殖性組織疾患部位の、又はその付近の身体に挿入された、空間的に限られた放射性物質によって送達される放射線療法を指す。この用語は放射性同位体（例えば、Ａｔ－２１１、Ｉ－１３１、Ｉ－１２５、Ｙ－９０、Ｒｅ－１８６、Ｒｅ－１８８、Ｓｍ－１５３、Ｂｉ－２１２、Ｐ－３２、及びＬｕ放射性同位体）への曝露を含むことが意図されるが、これらに限定されない。本開示の細胞コンディショナーとして使用する適切な放射線源には、固体及び液体の両方が含まれる。非限定的な例として、放射線源は、固体源としてのＩ－１２５、Ｉ－１３１、Ｙｂ－１６９、Ｉｒ－１９２、固体源としてのＩ－１２５、又は光子、ベータ粒子、ガンマ線、又は他の治療用光線を放出する他の放射性核種などの放射性核種とすることができる。放射性物質はまた、放射性核種の任意の溶液、例えば、Ｉ－１２５又はＩ－１３１の溶液から生成する流体とすることができ、又は放射性流体は、Ａｕ－１９８、Ｙ－９０などの固体放射性核種の微小粒子を含む適切な流体のスラリーを使用して生成することができる。さらに、放射性核種は、ゲル又は放射性微小球の形態で具体化することができる。

【０３１９】

本開示の化合物又は医薬組成物は、化学療法薬、抗血管新生薬、シグナル伝達阻害剤、抗増殖薬、解糖阻害剤、又はオートファジー阻害剤から選択される１種以上の、ある量の物質の量と併用することができる。

【０３２０】

ＭＭＰ－２（マトリックス－メタロプロテイナーゼ２）阻害剤、ＭＭＰ－９（マトリックス－メタロプロテイナーゼ９）阻害剤、及びＣＯＸ－１１（シクロオキシゲナーゼ１１）阻害剤などの抗血管新生薬は、本開示の化合物及び本明細書に記載の医薬組成物と併用することができる。抗血管新生薬には、例えば、ラパマイシン、テムシロリムス（ＣＣＩ－７７９）、エベロリムス（ＲＡＤ００１）、ソラフェニブ、スニチニブ、及びベバシズマブが含まれる。有用なＣＯＸ－ＩＩ阻害剤の例には、アレコキシブ、バルデコキシブ、及びロフェコキシブが含まれる。有用なマトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤の例は、国際公開第９６／３３１７２号パンフレット、国際公開第９６／２７５８３号パンフレット、欧州特許出願公開第０８１８４４２号明細書、欧州特許出願公開第１００４５７８号明細書、国際公開第９８／０７６９７号パンフレット、国際公開第９８／０３５１６号パンフレット、国際公開第９８／３４９１８号パンフレット、国際公開第９８／３４９１５号パンフレット、国際公開第９８／３３７６８号パンフレット、国際公開第９８／３０５６６号パンフレット、欧州特許出願公開第０６０６０４６号明細書、欧州特許出願公開第０９３１７８８号明細書、国際公開第９０／０５７１９号パンフレット、国際公開第９９／５２９１０号パンフレット、国際公開第９９／５２８８９号パンフレット、国際公開第９９／２９６６７号パンフレット、国際公開第１９９９／００７６７５号パンフレット、欧州特許出願公開第１７８６７８５号明細書、欧州特許出願公開第１１８１０１７号明細書、米国特許出願公開第２００９／００１２０８５号明細書、米国特許第５８６３９４９号明細書、米国特許第５８６１５１０号明細書、及び欧州特許出願公開第０７８０３８６号明細書に記載されており、これらの全ては、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。好ましいＭＭＰ－２及びＭＭＰ－９阻害剤は、ＭＭＰ－１を阻害する活性をほとんど又は全く有さないものである。より好ましくは、他のマトリックスメタロプロテイナーゼ（すなわち、ＭＡＰ－１、ＭＭＰ－３、ＭＭＰ－４、ＭＭＰ－５、ＭＭＰ－６、ＭＭＰ７、ＭＭＰ８、ＭＭＰ－１０、ＭＭＰ－１１、ＭＭＰ－１２、及びＭＭＰ－１３）と比較してＭＭＰ－２及び／又はＡＭＰ－９を選択的に阻害するものである。本開示で有用なＭＭＰ阻害剤のいくつかの特定の例は、ＡＧ－３３４０、ＲＯ３２－３５５５、及びＲＳ１３－０８３０である。

【０３２１】

また、本化合物は、エースマンナン、アクラルビシン、アルデスロイキン、アレムツズマブ、アリトレチノイン、アルトレタミン、アミホスチン、アミノレブリン酸、アムルビシン、アムサクリン、アナグレライド、アナストロゾール、ＡＮＣＥＲ、アンセスチム、ＡＲＧＬＡＢＩＮ、三酸化ヒ素、ＢＡＭ００２（Ｎｏｖｅｌｏｓ）、ベキサロテン、ビカルタミド、ブロクスウリジン、カペシタビン、セルモロイキン、セトロレリクス、クラドリビン、クロトリマゾール、シタラビンオクホスファート、ＤＡ３０３０（Ｄｏｎｇ－Ａ）、ダシリツマブ、デニロイキンジフチトクス、デスロレリン、デクスラゾキサン、ジラゼプ、ドセタキセル、ドコサノール、ドキセルカルシフェロール、ドキシフルリジン、ドキソルビシン、ブロモクリプチン、カルムスチン、シタラビン、フルオロウラシル、ＨＩＴジクロフェナク、インターフェロンアルファ、ダウノルビシン、ドキソルビシン、トレチノイン、エデルフォシン、エドレコロマブ、エフロールニチン、エミテフール、エピルビシン、エポエチンベータ、リン酸エトポシド、エキセメスタン、エクシスリンド、ファドロゾール、フィルグラスチム、フィナステリド、リン酸フルダラビン、フォルメスタン、フォテムスチン、硝酸ガリウム、ゲムシタビン、ゲムツズマブオゾガマイシン、ギメラシル／オテラシル／テガフール配合剤、グリコピン（ｇｌｙｃｏｐｉｎｅ）、ゴセレリン、ヘプタプラチン、ヒト絨毛性ゴナドトロピン、ヒト胎児性アルファ－フェトプロテイン、イバンドロン酸、イダルビシン、（イミキモド、インターフェロンアルファ、インターフェロンアルファ、天然型、インターフェロンアルファ－２、インターフェロンアルファ－２ａ、インターフェロンアルファ－２ｂ、インターフェロンアルファ－Ｎ１、インターフェロンアルファ－$_{n3}$、インターフェロンアルファコン－１、インターフェロンアルファ、天然型、インターフェロンベータ、インターフェロンベータ－１ａ、インターフェロンベータ－１ｂ、インターフェロンガンマ、天然型インターフェロンガンマ－１ａ、イン

ターフェロンガンマ－１ｂ、インターロイキン－１ベータ、イオベングアン、イリノテカン、イルソグラジン、ランレオチド、ＬＣ９０１８（Ｙａｋｕｌｔ）、レフルノミド、レノグラスチム、硫酸レンチナン、レトロゾール、白血球アルファインターフェロン、リュープロレリン、レバミソール＋フルオロウラシル、リアロゾール、ロバプラチン、ロニダミン、ロバスタチン、マソプロコル、メラルソプロール、メトクロプラミド、ミフェプリストン、ミルテフォシン、ミリモスチム、ミスマッチ二本鎖ＲＮＡ、ミトグアゾン、ミトラクトール、ミトキサントロン、モルグラモスチム、ナファレリン、ナロキソン＋ペンタゾシン、ナルトグラスチム、ネダプラチン、ニルタミド、ノスカピン、新規赤血球産生刺激タンパク質製剤、ＮＳＣ６３１５７０オクトレオチド、オプレルベキン、オサテロン、オキサリプラチン、パクリタキセル、パミドロン酸、ペグアスパラガーゼ、ペグインターフェロンアルファ－２ｂ、ポリ硫酸ペントサンナトリウム、ペントスタチン、ピシバニル、ピラルビシン、ウサギの抗胸腺細胞ポリクローナル抗体、ポリエチレングリコールインターフェロンアルファ－２ａ、ポルフィマーナトリウム、ラロキシフェン、ラルチトレキセド、ラスブリエンボディメント（ｒａｓｂｕｒｉｅｍｂｏｄｉｍｅｎｔ）、エチドロン酸レニウムＲｅ１８６、ＲＩＩレチンアミド、リツキシマブ、ロムルチド、サマリウム（１５３Ｓｍ）レキシドロナム、サルグラモスチム、シゾフィラン、ソブゾキサン、ソネルミン、塩化ストロンチウム８９、スラミン、タソネルミン、タザロテン、テガフール、テモポルフィン、テモゾロミド、テニポシド、テトラクロロデカオキシド、サリドマイド、チマルファシン、チロトロピンアルファ、トポテカン、トレミフェン、トシツモマブ－ヨウ素１３１、トラスツズマブ、トレオサルファン、トレチノイン、トリロスタン、トリメトレキセート、トリプトレリン、腫瘍壊死因子アルファ、天然型、ウベニメクス、膀胱がんワクチン、丸山ワクチン、メラノーマ溶解液ワクチン、バルルビシン、ベルテポルフィン、ビノレルビン、ＶＩＲＵＬＩＺＩＮ、ジノスタチンスチマラマー、又はゾレドロン酸；アバレリクス；ＡＥ９４１（Ａｅｔｅｒｎａ）、アンバムスチン、アンチセンスオリゴヌクレオチド、ｂｃｌ－２（Ｇｅｎｔａ）、ＡＰＣ８０１５（Ｄｅｎｄｒｅｏｎ）、セツキシマブ、デシタビン、デクスアミノグルテチミド、ジアジクオン、ＥＬ５３２（Ｅｌａｎ）、ＥＭ８００（Ｅｎｄｏｒｅｃｈｅｒｃｈｅ）、エニルウラシル、エタニダゾール、フェンレチニド、フィルグラスチムＳＤ０１（Ａｍｇｅｎ）、フルベストラント、ガロシタビン、ガストリン１７免疫抗原、ＨＬＡ－Ｂ７遺伝子治療薬（Ｖｉｃａｌ）、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子、ヒスタミン二塩酸塩、イブリツモマブチウキセタン、イロマスタット、ＩＭ８６２（Ｃｙｔｒａｎ）、インターロイキン２、イプロキシフェン、ＬＤＩ２００（Ｍｉｌｋｈａｕｓ）、レリジスチム、リンツズマブ、ＣＡ１２５ＭＡｂ（Ｂｉｏｍｉｒａ）、ｃａｎｃｅｒ ＭＡｂ（Ｊａｐａｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ）、ＨＥＲ－２及びＦｃＭＡｂ（Ｍｅｄａｒｅｘ）、イディオタイプ１０５ＡＤ７ ＭＡｂ（ＣＲＣ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ）、イディオタイプＣＥＡ ＭＡｂ（Ｔｒｉｌｅｘ）、ＬＹＭ－１－ｉｏｄｉｎｅ １３１ ＭＡｂ（Ｔｅｃｈｎｉｃｌｏｎｅ）、多型性上皮ムチン－イットリウム９０ ＭＡｂ（Ａｎｔｉｓｏｍａ）、マリマスタット、メノガリル、ミツモマブ、モテキサフィンガドリニウム、ＭＸ６（Ｇａｌｄｅｒｍａ）、ネララビン、ノラトレキセド、Ｐ３０タンパク質、ペグビソマント、ペメトレキセド、ポルフィロマイシン、プリノマスタット、ＲＬ０９０３（Ｓｈｉｒｅ）、ルビテカン、サトラプラチン、フェニル酢酸ナトリウム、スパルホス酸、ＳＲＬ１７２（ＳＲＰｈａｒｍａ）、ＳＵ５４１６（ＳＵＧＥＮ）、ＴＡ０７７（Ｔａｎａｂｅ）、テトラチオモリブデート、タリブラスチン、トロンボポエチン、スズエチルエチオプルプリン、チラパザミン、がんワクチン（Ｂｉｏｍｉｒａ）、メラノーマワクチン（Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ）、メラノーマワクチン（Ｓｌｏａｎ Ｋｅｔｔｅｒｉｎｇ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ）、メラノーマ腫瘍縮退性ワクチン（Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ Ｍｅｄｉｃａｌ Ｃｏｌｌｅｇｅ）、ウイルス性メラノーマ細胞溶解物ワクチン（Ｒｏｙａｌ Ｎｅｗｃａｓｔｌｅ Ｈｏｓｐｉｔａｌ）、又はバルスポダールなどの、他の抗腫瘍薬との併用療法で使用してもよい。

【０３２２】

本発明の化合物は、ＶＥＧＦＲ阻害剤と共にさらに使用し得る。併用療法では、以下の特許及び特許出願に記載されている他の化合物を使用することができる：　米国特許第６，２５８，８１２号明細書、米国特許出願公開第２００３／０１０５０９１号明細書、国際公開第０１／３７８２０号パンフレット、米国特許第６，２３５，７６４号明細書、国際公開第０１／３２６５１号パンフレット、米国特許第６，６３０，５００号明細書、米国特許第６，５１５，００４号明細書、米国特許第６，７１３，４８５号明細書、米国特許第５，５２１，１８４号明細書、米国特許第５，７７０，５９９号明細書、米国特許第５，７４７，４９８号明細書、国際公開第０２／６８４０６号パンフレット、国際公開第０２／６６４７０号パンフレット、国際公開第０２／５５５０１号パンフレット、国際公開第０４／０５２７９号パンフレット、国際公開第０４／０７４８１号パンフレット、国際公開第０４／０７４５８号パンフレット、国際公開第０４／０９７８４号パンフレット、国際公開第０２／５９１１０号パンフレット、国際公開第９９／４５００９号パンフレット、国際公開第００／５９５０９号パンフレット、国際公開第９９／６１４２２号パンフレット、米国特許第５，９９０，１４１号明細書、国際公開第００／１２０８９号パンフレット、及び国際公開第００／０２８７１号パンフレット。

【０３２３】

いくつかの実施形態では、併用薬は少なくとも１種の抗血管新生薬と組み合わせた本発明の組成物を含む。薬剤はインビトロで合成により調製された化学組成物、抗体、抗原結合領域、放射性核種、並びにこれらの組み合わせ及び結合体を含むが、これらに限定されない。薬剤はアゴニスト、アンタゴニスト、アロステリック調節剤、毒素であり得、又はより一般的には、それは、その標的を阻害又は刺激し（例えば、受容体又は酵素の活性化又は抑止）、それによって細胞死を促進又は細胞増殖を阻むように作用し得る。

【０３２４】

集合的に、抗体は免疫グロブリンとして知られる血漿タンパク質のファミリーを形成し、免疫グロブリンドメインを含む。（Ｊａｎｅｗａｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｉｍｍｕｎｏｂｉｏｌｏｇｙ：Ｔｈｅ　Ｉｍｍｕｎｅ　Ｓｙｓｔｅｍ　ｉｎ　Ｈｅａｌｔｈ　ａｎｄ　Ｄｉｓｅａｓｅ，４^{ｔｈ}　ｅｄ．，Ｅｌｓｅｖｉｅｒ　Ｓｃｉｅｎｃｅ　Ｌｔｄ．／Ｇａｒｌａｎｄ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ，１９９９。本明細書では、「抗体」という用語は、重鎖及び軽鎖を含み、且つ可変領域及び定常領域を含む、従来の免疫グロブリン形式を有するタンパク質を指す。例えば、抗体は、ポリペプチド鎖の、２つの同一対の「Ｙ形」構造であるＩｇＧであり、各対は、１つの「軽」鎖（典型的には約２５ｋＤａの分子量を有する）及び１つの「重」鎖（典型的には約５０～７０ｋＤａの分子量を有する）を有し得る。抗体は、可変領域及び定常領域を有する。ＩｇＧ形式では、可変領域のアミノ酸は一般に約１００～１１０以上であり、３つの相補性決定領域（ＣＤＲ）を含み、主に抗原認識に関与し、異なる抗原に結合する他の抗体の中では相当に変化する。定常領域は、抗体が免疫系の細胞及び分子を動員することを可能にする。可変領域は、軽鎖及び重鎖それぞれのＮ末端領域から、定常領域は重鎖及び軽鎖のそれぞれのＣ末端部分から作製される。（Ｊａｎｅｗａｙ　ｅｔ　ａｌ．，「Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ　ｏｆ　ｔｈｅ　Ａｎｔｉｂｏｄｙ　Ｍｏｌｅｃｕｌｅ　ａｎｄ　ｔｈｅ　Ｉｍｍｕｎｏｇｌｏｂｕｌｉｎ　Ｇｅｎｅｓ」，Ｉｍｍｕｎｏｂｉｏｌｏｇｙ：　Ｔｈｅ　Ｉｍｍｕｎｅ　Ｓｙｓｔｅｍ　ｉｎ　Ｈｅａｌｔｈ　ａｎｄ　Ｄｉｓｅａｓｅ，４^{ｔｈ}　ｅｄ．Ｅｌｓｅｖｉｅｒ　Ｓｃｉｅｎｃｅ　Ｌｔｄ．／Ｇａｒｌａｎｄ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ，（１９９９））。

【０３２５】

抗体ＣＤＲの一般的な構造及び特性は、当技術分野で記述されてきた。簡潔には、ＣＤＲは、抗体足場で重鎖及び軽鎖可変領域のフレームワーク内に埋め込まれ、抗原との結合及び抗原の認識に大きく関与する領域を構成する。可変領域は、通常、フレームワーク領域内（指定されたフレームワーク領域１－４、ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３及びＦＲ４、Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．，１９９１による；Ｃｈｏｔｈｉａ　ａｎｄ　Ｌｅｓｋ，１９８７、前掲も参照されたい）に少なくとも３つの重鎖又は軽鎖ＣＤＲを含む（Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．，１９９１，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕ

ｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ Ｎ．Ｉ．Ｈ．，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，Ｍｄ．；Ｃｈｏｔｈｉａ ａｎｄ Ｌｅｓｋ，１９８７，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１－９１７；Ｃｈｏｔｈｉａ ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ｎａｔｕｒｅ ３４２：８７７－８８３も参照されたい）。

【０３２６】

抗体は、当技術分野で周知の任意の定常領域を含むことができる。ヒト軽鎖は、カッパ及びラムダ軽鎖に分類される。重鎖は、ミュー、デルタ、ガンマ、アルファ又はイプシロンに分類され、抗体のアイソタイプを、それぞれＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＧ、ＩｇＡ及びＩｇＥとして定義する。ＩｇＧは、いくつかのサブクラス、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３及びＩｇＧ４を有するが、これらに限定されない。ＩｇＭは、ＩｇＭ１及びＩｇＭ２を含むサブクラスを有するが、これらに限定されない。本開示の実施形態は、抗体のそのようなクラス又はアイソタイプの全てを含む。軽鎖定常領域は、例えば、カッパ型又はラムダ型軽鎖定常領域、例えば、ヒトカッパ型又はラムダ型軽鎖定常領域であり得る。重鎖定常領域は、例えば、アルファ、デルタ、イプシロン、ガンマ、又はミュー型重鎖定常領域、例えば、ヒトアルファ、デルタ、イプシロン、ガンマ、又はミュー型重鎖定常領域であり得る。したがって、例示的な実施形態では、抗体はＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３又はＩｇＧ４のいずれか１つを含む、アイソタイプＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ又はＩｇＭの抗体である。

【０３２７】

抗体は、モノクローナル抗体又はポリクローナル抗体であり得る。いくつかの実施形態では、抗体は、哺乳動物、例えば、マウス、ウサギ、ヤギ、ウマ、ニワトリ、ハムスター、ヒトなどによって産生される天然抗体に実質的に類似する配列を含む。この点で、抗体は、哺乳動物抗体、例えば、マウス抗体、ウサギ抗体、ヤギ抗体、ウマ抗体、ニワトリ抗体、ハムスター抗体、ヒト抗体などと考えることができる。特定の態様では、抗体はヒト抗体である。特定の態様では、抗体は、キメラ抗体又はヒト化抗体である。「キメラ抗体」という用語は、２つ以上の異なる抗体由来のドメインを含む抗体を指す。キメラ抗体は、例えば、１つの種由来の定常ドメインを含み得、そして第２の種由来の可変ドメインを含むことができるが、より一般的には、少なくとも２つの種由来のアミノ酸配列のストレッチを含むことができる。キメラ抗体はまた、同じ種内の２つ以上の異なる抗体のドメインを含むことができる。「ヒト化」という用語は、抗体に関して使用される場合、元の供給源抗体よりも真のヒト抗体により類似した構造及び免疫機能を有するように操作された、非ヒト供給源由来の少なくともＣＤＲ領域を有する抗体を指す。例えば、ヒト化は、マウス抗体などの非ヒト抗体からヒト抗体へのＣＤＲの移植を含むことができる。ヒト化はまた、非ヒト配列をヒト配列により類似させるために、選択アミノ酸置換を含むことができる。

【０３２８】

抗体は、例えば、パパイン及びペプシンなどの酵素によって、フラグメントに切断することができる。パパインは抗体を切断し、２つのＦａｂフラグメント及び単一のＦｃフラグメントを産生する。ペプシンは、抗体を切断し、Ｆ（ａｂ’）２フラグメント及びｐＦｃ’フラグメントを産生する。本明細書では、「抗原結合抗体フラグメント」という用語は、抗体の、抗原に結合することができる抗体分子の部分を指し、「抗原結合性フラグメント」又は「抗原結合性部分」としても知られている。例示的な例では、抗原結合抗体フラグメントは、Ｆａｂフラグメント又はＦ（ａｂ’）２フラグメントである。

【０３２９】

抗体の構造は、広い範囲の代替的フォーマットを作り出すために利用されてきており、その代替的フォーマットは、少なくとも約１２～１５０ｋＤａの分子量範囲にわたり、単量体（ｎ＝１）から二量体（ｎ＝２）まで、三量体（ｎ＝３）まで、四量体（ｎ＝４）まで、及び潜在的により高い結合価（ｎ）範囲を有し、このような代替的フォーマットは、本明細書では「抗体タンパク質生成物」と呼ばれる。抗体タンパク質生成物には、完全な抗体構造に基づくもの、及び完全な抗原結合能を保持する抗体フラグメントを模倣するも

の、例えば、ｓｃＦｖ、Ｆａｂ及びＶＨＨ／ＶＨ（以下に考察する）が含まれる。完全な抗原結合部位を保持する最小の抗原結合抗体フラグメントは、専ら可変（Ｖ）領域からなるＦｖフラグメントである。可溶性の柔軟なアミノ酸ペプチドリンカーは、分子を安定化させるために、Ｖ領域をｓｃＦｖ（一本鎖フラグメント可変）フラグメントに結合されるか、又は定常（Ｃ）ドメインは、Ｖ領域に付加されてＦａｂフラグメント［フラグメント、抗原結合］が生成される。ｓｃＦｖフラグメント及びＦａｂフラグメントの両者は、宿主細胞、例えば、原核生物宿主細胞中で容易に産生することができる。別の抗体タンパク質生成物には、ジスルフィド結合安定化ｓｃＦｖ（ｄｓ－ｓｃＦｖ）、一本鎖Ｆａｂ（ｓｃＦａｂ）、並びにオリゴマー化ドメインに連結されたｓｃＦｖからなる異なるフォーマットを含む、ダイア、トリア及びテトラボディ、又はミニボディ（ミニＡｂ）のような二量体及び多量体抗体フォーマットが含まれる。最小のフラグメントは、ラクダ類重鎖Ａｂ及び単一ドメインＡｂ（ｓｄＡｂ）のＶＨＨ／ＶＨである。新規な抗体形式を作製するために最も頻繁に使用される構築ブロックは、約１５アミノ酸残基のペプチドリンカーによって連結された重鎖及び軽鎖（ＶＨ及びＶＬドメイン）由来のＶドメインを含む、一本鎖可変（Ｖ）－ドメイン抗体フラグメント（ｓｃＦｖ）である。ペプチボディ又はペプチド－Ｆｃ融合体は、さらに別の抗体タンパク質生成物である。ペプチボディの構造は、Ｆｃドメイン上に移植された生物学的に活性なペプチドからなる。ペプチボディは、当該技術分野において十分に記述されている。例えば、Ｓｈｉｍａｍｏｔｏ ｅｔ ａｌ．，ｍＡｂｓ ４（５）：５８６－５９１（２０１２）を参照されたい。

【０３３０】

他の抗体タンパク質生成物には、一本鎖抗体（ＳＣＡ）；ダイアボディ；トリアボディ；テトラボディ；二重特異性又は三重特異性抗体などが含まれる。二重特異性抗体は、以下の５つの主要なクラスに分けることができる： ＢｓＩｇＧ、付加ＩｇＧ、ＢｓＡｂフラグメント、二重特異性融合タンパク質及びＢｓＡｂ複合体。例えば、Ｓｐｉｅｓｓ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ６７（２）Ｐａｒｔ Ａ：９７－１０６（２０１５）を参照されたい。

【０３３１】

例示的な抗血管新生薬には、ＥＲＢＩＴＵＸ（商標）（ＩＭＣ－Ｃ２２５）、ＫＤＲ（キナーゼドメイン受容体）阻害剤（例えば、キナーゼドメイン受容体に特異的に結合する抗体及び抗原結合領域）、ＡＶＡＳＴＩＮ（商標）又はＶＥＧＦ－ＴＲＡＰ（商標）などの抗ＶＥＧＦ薬（例えば、ＶＥＧＦ若しくは可溶性ＶＥＧＦ受容体又はそのリガンド結合領域に特異的に結合する抗体又は抗原結合領域）、及び抗ＶＥＧＦ受容体薬（例えば、それに特異的に結合する抗体又は抗原結合領域）、Ｖｅｃｔｉｂｉｘ（パニツムマブ）、ＩＲＥＳＳＡ（商標）（ゲフィチニブ）、ＴＡＲＣＥＶＡ（商標）（エルロチニブ）、抗Ａｎｇ１及び抗Ａｎｇ２薬（例えば、それ又はそれらの受容体、例えばＴｉｅ２／Ｔｅｋに特異的に結合する抗体又は抗原結合領域）並びに抗Ｔｉｅ２キナーゼ阻害剤（例えば、それに特異的に結合する抗体又は抗原結合領域）などのＥＧＦＲ阻害剤（例えば、それに特異的に結合する抗体又は抗原結合領域）が含まれる。本発明の医薬組成物はまた、特異的に結合し、増殖因子の活性を阻害する、肝細胞増殖因子（ＨＧＦ、散乱因子としても知られる）のアンタゴニストなどの１種以上の薬剤（例えば、抗体、抗原結合領域、又は可溶性受容体）、及びその受容体「ｃ－ｍｅｔ」に特異的に結合する抗体又は抗原結合領域を含むことができる。

【０３３２】

他の抗血管新生薬には、Ｃａｍｐａｔｈ、ＩＬ－８、Ｂ－ＦＧＦ、Ｔｅｋアンタゴニスト（Ｃｅｒｅｔｔｉら、米国特許出願公開第２００３／０１６２７１２号明細書；米国特許第６，４１３，９３２号明細書）、抗ＴＷＥＡＫ剤（例えば、特異的に結合する抗体若しくは抗原結合領域；又は可溶性ＴＷＥＡＫ受容体アンタゴニスト；Ｗｉｌｅｙ、米国特許第６，７２７，２２５号明細書を参照されたい）、インテグリンのそのリガンドへの結合に拮抗するＡＤＡＭジスインテグリンドメイン（Ｆａｎｓｌｏｗら、米国特許出願公開第２００２／００４２３６８号明細書）、特異的に結合する抗ｅｐｈ受容体抗体及び／若

しくは抗ｅｐｈｒｉｎ抗体又は抗原結合領域（米国特許第５，９８１，２４５号明細書；同第５，７２８，８１３号明細書；同第５，９６９，１１０号明細書；同第６，５９６，８５２号明細書；同第６，２３２，４４７号明細書；同第６，０５７，１２４号明細書及びその特許ファミリーのメンバー）、及び抗ＰＤＧＦ－ＢＢアンタゴニスト（例えば、特異的に結合する抗体又は抗原結合領域）並びにＰＤＧＦ－ＢＢリガンドに特異的に結合する抗体又は抗原結合領域、及びＰＤＧＦＲキナーゼ阻害剤（例えば、抗体）それに特異的に結合する抗体又は抗原結合領域）が含まれる。

【０３３３】

さらなる抗血管新生／抗腫瘍剤には、以下のものが含まれる：ＳＤ－７７８４（Ｐｆｉｚｅｒ、ＵＳＡ）；シレンジタイド.（Ｍｅｒｃｋ ＫＧａＡ、Ｇｅｒｍａｎｙ、欧州特許第７７０６２２号明細書）；ペガプタニブ八ナトリウム、（Ｇｉｌｅａｄ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、ＵＳＡ）；アルファスタチン、（ＢｉｏＡｃｔａ、ＵＫ）；Ｍ－ＰＧＡ、（Ｃｅｌｇｅｎｅ、ＵＳＡ、米国特許第５７１２２９１号明細書）；イロマスタット、（Ａｒｒｉｖａ、ＵＳＡ、米国特許第５８９２１１２号明細書）；エマキサニブ、（Ｐｆｉｚｅｒ、ＵＳＡ、米国特許第５７９２７８３号明細書）；バタラニブ、（Ｎｏｖａｒｔｉｓ、Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）；２－メトキシエストラジオール、（ＥｎｔｒｅＭｅｄ、ＵＳＡ）；ＴＬＣ ＥＬＬ－１２、（Ｅｌａｎ、Ｉｒｅｌａｎｄ）；酢酸アネコルタブ、（Ａｌｃｏｎ、ＵＳＡ）；アルファ－Ｄ１４８Ｍａｂ、（Ａｍｇｅｎ、ＵＳＡ）；ＣＥＰ－７０５５、（Ｃｅｐｈａｌｏｎ、ＵＳＡ）；ａｎｔｉ－Ｖｎ Ｍａｂ、（Ｃｒｕｃｅｌｌ、Ｎｅｔｈｅｒｌａｎｄｓ）ＤＡＣ：抗血管新生薬、（ＣｏｎｊｕＣｈｅｍ、Ｃａｎａｄａ）；アンギオシジン、（ＩｎＫｉｎｅ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ、ＵＳＡ）；ＫＭ－２５５０、（Ｋｙｏｗａ Ｈａｋｋｏ、Ｊａｐａｎ）；ＳＵ－０８７９、（Ｐｆｉｚｅｒ、ＵＳＡ）；ＣＧＰ－７９７８７、（Ｎｏｖａｒｔｉｓ、Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ、欧州特許第９７００７０号明細書）；ＡＲＧＥＮＴ ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、（Ａｒｉａｄ、ＵＳＡ）；ＹＩＧＳＲ－Ｓｔｅａｌｔｈ、（Ｊｏｈｎｓｏｎ＆Ｊｏｈｎｓｏｎ、ＵＳＡ）；フィブリノーゲン－Ｅフラグメント、（ＢｉｏＡｃｔａ、ＵＫ）；血管新生阻害剤、（Ｔｒｉｇｅｎ、ＵＫ）；ＴＢＣ－１６３５、（Ｅｎｃｙｓｉｖｅ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ、ＵＳＡ）；ＳＣ－２３６、（Ｐｆｉｚｅｒ、ＵＳＡ）；ＡＢＴ－５６７、（Ａｂｂｏｔｔ、ＵＳＡ）；メタスタチン、（ＥｎｔｒｅＭｅｄ、ＵＳＡ）；血管新生阻害剤、（Ｔｒｉｐｅｐ、Ｓｗｅｄｅｎ）；マスピン、（そーせいグループ株式会社、日本国）；２－メトキシエストラジオール、（Ｏｎｃｏｌｏｇｙ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ、ＵＳＡ）；ＥＲ－６８２０３－００、（ＩＶＡＸ、ＵＳＡ）；ベネフィン、（Ｌａｎｅ Ｌａｂｓ、ＵＳＡ）；Ｔｚ－９３、（株式会社ツムラ、日本国）；ＴＡＮ－１１２０、（武田薬品工業株式会社、日本国）；ＦＲ－１１１１４２、（藤沢薬品工業株式会社）、日本国、特開平０２－２３３６１０号公報）；血小板第４因子、（ＲｅｌｉＧｅｎ、ＵＳＡ、欧州特許第４０７１２２号明細書）；血管内皮増殖因子アンタゴニスト、（Ｂｏｒｅａｎ、Ｄｅｎｍａｒｋ）；ベバシズマブ（ｐＩＮＮ）、（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ、ＵＳＡ）；血管新生阻害剤、（ＳＵＧＥＮ、ＵＳＡ）；ＸＬ ７８４、（Ｅｘｅｌｉｘｉｓ、ＵＳＡ）；ＸＬ ６４７、（Ｅｘｅｌｉｘｉｓ、ＵＳＡ）；ＭＡｂ、アルファ５ベータ３インテグリン、第２世代、（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｅｖｏｌｕｔｉｏｎ、ＵＳＡ及びＭｅｄＩｍｍｕｎｅ、ＵＳＡ）；遺伝子療法、網膜症、（Ｏｘｆｏｒｄ ＢｉｏＭｅｄｉｃａ、ＵＫ）；エンザスタウリン塩酸塩（ＵＳＡＮ）、（Ｌｉｌｌｙ、ＵＳＡ）；ＣＥＰ ７０５５、（Ｃｅｐｈａｌｏｎ、ＵＳＡ及びＳａｎｏｆｉ－Ｓｙｎｔｈｅｌａｂｏ、Ｆｒａｎｃｅ）；ＢＣ １、（Ｇｅｎｏａ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ ｏｆ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ、Ｉｔａｌｙ）；血管新生阻害剤、（Ａｌｃｈｅｍｉａ、Ａｕｓｔｒａｌｉａ）；ＶＥＧＦアンタゴニスト、（Ｒｅｇｅｎｅｒｏｎ、ＵＳＡ）；ｒＢＰＩ ２１及びＢＰＩ－誘導抗血管新生薬、（ＸＯＭＡ、ＵＳＡ）；ＰＩ ８８、（Ｐｒｏｇｅｎ、Ａｕｓｔｒａｌｉａ）；シレンジタイド（ｐＩＮＮ）、（Ｍｅｒｃｋ ＫＧａＡ、Ｇｅｒｍａｎ；Ｍｕｎｉｃｈ Ｔｅｃｈｎｉｃａｌ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ、Ｇｅｒｍａｎｙ、Ｓｃｒｉｐｐｓ Ｃｌｉｎｉｃ及びＲｅｓｅａｒｃｈ Ｆｏｕｎ

dation、USA）；セツキシマブ（INN）、（Aventis、France）；AVE 8062、（味の素株式会社、日本国）；AS 1404、（Cancer Research Laboratory、New Zealand）；SG 292、（Telios、USA）；エンドスタチン、（Boston Childrens Hospital、USA）；ATN 161、（Attenuon、USA）；ANGIOSTATIN、（Boston Childrens Hospital、USA）；2－メトキシエストラジオール、（Boston Childrens Hospital、USA）；ZD 6474、（AstraZeneca、UK）；ZD 6126、（Angiogene Pharmaceuticals、UK）；PPI 2458、（Praecis、USA）；AZD 9935、（AstraZeneca、UK）；AZD 2171、（AstraZeneca、UK）；vatalanib（pINN）、（Novartis、Switzerland及びSchering AG、Germany）；組織因子経路阻害剤、（EntreMed、USA）；ペガプタニブ（Pinn）、（Gilead Sciences、USA）；キサントリゾール、（Yonsei University、South Korea）；ワクチン、遺伝子ベース、VEGF－2、（Scripps Clinic and Research Foundation、USA）；SPV5.2、（Supratek、Canada）；SDX 103、（University of California at San Diego、USA）；PX 478、（ProlX、USA）；METASTATIN、（EntreMed、USA）；トロポニンI、（Harvard University、USA）；SU 6668、（SUGEN、USA）；OXI 4503、（OXiGENE、USA）；o－グアニジン、（Dimensional Pharmaceuticals、USA）；モツポラミンC、（British Columbia University、Canada）；CDP 791、（Celltech Group、UK）；アチプリモド（pINN）、（GlaxoSmithKline、UK）；E 7820、エーザイ株式会社、日本国）；CYC 381、（Harvard University、USA）；AE 941、（Aeterna、Canada）；ワクチン、血管新生薬、（EntreMed、USA）；ウロキナーゼ型プラスミノゲン活性化因子阻害剤、（Dendreon、USA）；オグルファニド（pINN）、（Melmotte、USA）；HIF－1アルファ阻害剤、（Xenova、UK）；CEP 5214、（Cephalon、USA）；BAY RES 2622、（Bayer、Germany）；アンジオシジン、（InKine、USA）；A6、（Angstrom、USA）；KR31372、（Korea Research Institute of Chemical Technology、South Korea）；GW 2286、（GlaxoSmithKline、UK）；EHT 0101、（ExonHit、France）；CP 868596、（Pfizer、USA）；CP 564959、（OSI、USA）；CP 547632、（Pfizer、USA）；786034、（GlaxoSmithKline、UK）；KRN 633、（麒麟麦酒株式会社、日本国）；薬物送達システム、眼内薬、2－メトキシエストラジオール、（EntreMed、USA）；アンジネクス、（Maastricht University、Netherlands、and Minnesota University、USA）；ABT 510、（Abbott、USA）；AAL 993、（Novartis、Switzerland）；VEGI、（ProteomTech、USA）；腫瘍壊死因子－アルファ阻害剤、（National Institute on Aging、USA）；SU 11248、（Pfizer、USA and SUGEN USA）；ABT 518、（Abbott、USA）；YH16、（Yantai Rongchang、China）；S－3APG、（Boston Childrens Hospital、USA及びEntreMed、USA）；MAb、KDR、（ImClone Systems、USA）；MAb、アルファ5ベータ1、（Protein Design、USA）；KDR キナーゼ阻害剤、（Celltech Group、U

Ｋ、及びＪｏｈｎｓｏｎ＆Ｊｏｈｎｓｏｎ、ＵＳＡ）；ＧＦＢ １１６、（Ｓｏｕｔｈ Ｆｌｏｒｉｄａ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ、ＵＳＡ 及びＹａｌｅ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ、ＵＳＡ）；ＣＳ ７０６、（三共株式会社、日本国）；コンブレタスタチンＡ４プロドラッグ、（Ａｒｉｚｏｎａ Ｓｔａｔｅ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ、ＵＳＡ）；コンドロイチナーゼＡＣ、（ＩＢＥＸ、Ｃａｎａｄａ）；ＢＡＹ ＲＥＳ ２６９０、（Ｂａｙｅｒ、Ｇｅｒｍａｎｙ）；ＡＧＭ １４７０、（Ｈａｒｖａｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ、ＵＳＡ、武田薬品工業株式会社、日本国、及びＴＡＰ、ＵＳＡ）；ＡＧ １３９２５、（Ａｇｏｕｒｏｎ、ＵＳＡ）；テトラチオモリブデート、（Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ ｏｆ Ｍｉｃｈｉｇａｎ、ＵＳＡ）；ＧＣＳ １００、（Ｗａｙｎｅ Ｓｔａｔｅ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ、ＵＳＡ）ＣＶ ２４７、（Ｉｖｙ Ｍｅｄｉｃａｌ、ＵＫ）；ＣＫＤ ７３２、（Ｃｈｏｎｇ Ｋｕｎ Ｄａｎｇ、Ｓｏｕｔｈ Ｋｏｒｅａ）；ＭＡｂ、血管内皮増殖因子、（Ｘｅｎｏｖａ、ＵＫ）；イルソグランジン（ＩＮＮ）、（日本新薬株式会社、日本国）；ＲＧ １３５７７、（Ａｖｅｎｔｉｓ、Ｆｒａｎｃｅ）；ＷＸ ３６０、（Ｗｉｌｅｘ、Ｇｅｒｍａｎｙ）；スクアラミン（ｐＩＮＮ）、（Ｇｅｎａｅｒａ、ＵＳＡ）；ＲＰＩ ４６１０、（Ｓｉｒｎａ、ＵＳＡ）；がん治療、（Ｍａｒｉｎｏｖａ、Ａｕｓｔｒａｌｉａ）；ヘパラナーゼ阻害剤、（ＩｎＳｉｇｈｔ、Ｉｓｒａｅｌ）；ＫＬ ３１０６、（Ｋｏｌｏｎ、Ｓｏｕｔｈ Ｋｏｒｅａ）；ホノキオール、（Ｅｍｏｒｙ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ、ＵＳＡ）；ＺＫ ＣＤＫ、（Ｓｃｈｅｒｉｎｇ ＡＧ、Ｇｅｒｍａｎｙ）；ＺＫ Ａｎｇｉｏ、（Ｓｃｈｅｒｉｎｇ ＡＧ、Ｇｅｒｍａｎｙ）；ＺＫ ２２９５６１、（Ｎｏｖａｒｔｉｓ、Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ、及び Ｓｃｈｅｒｉｎｇ ＡＧ、Ｇｅｒｍａｎｙ）；ＸＭＰ ３００、（ＸＯＭＡ、ＵＳＡ）；ＶＧＡ １１０２、（大正製薬株式会社、日本国）；ＶＥＧＦ受容体調節因子、（Ｐｈａｒｍａｃｏｐｅｉａ、ＵＳＡ）；ＶＥ－カドヘリン－２アンタゴニスト、（ＩｍＣｌｏｎｅ Ｓｙｓｔｅｍｓ、ＵＳＡ）；バソスタチン、（Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ、ＵＳＡ）；ワクチン、Ｆｌｋ－１、（ＩｍＣｌｏｎｅ Ｓｙｓｔｅｍｓ、ＵＳＡ）；ＴＺ ９３、（株式会社ツムラ、日本国）；ツムスタチン、（Ｂｅｔｈ Ｉｓｒａｅｌ Ｈｏｓｐｉｔａｌ、ＵＳＡ）；切断型可溶性ＦＬＴ １（血管内皮増殖因子受容体１）、（Ｍｅｒｃｋ＆Ｃｏ、ＵＳＡ）；Ｔｉｅ－２リガンド、（Ｒｅｇｅｎｅｒｏｎ、ＵＳＡ）；及びトロンボスポンジン１阻害剤、（Ａｌｌｅｇｈｅｎｙ Ｈｅａｌｔｈ、Ｅｄｕｃａｔｉｏｎ ａｎｄ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｆｏｕｎｄａｔｉｏｎ、ＵＳＡ）。

【０３３４】

オートファジー阻害剤にはクロロキン、３－メチルアデニン、ヒドロキシクロロキン（Ｐｌａｑｕｅｎｉｌ（商標））、バフィロマイシンＡ１、５－アミノ－４イミダゾールカルボキサミドリボシド（ＡＩＣＡＲ）、オカダ酸、２Ａ型又は１型のタンパク質ホスファターゼを阻害するオートファジー抑制藻類毒素、ｃＡＭＰの類似体、及びアデノシン、ＬＹ２０４００２、Ｎ６－メルカプトプリンリボシド、及びビンブラスチンなどのｃＡＭＰレベルを上昇させる薬剤が含まれるが、これらに限定されない。さらに、ＡＴＧ５（オートファジーに関与する）（これに限定されない）を含むタンパク質の発現を阻害するアンチセンス又はｓｉＲＮＡもまた使用し得る。

【０３３５】

がんの治療に使用でき、且つ本発明の１種以上の化合物と併用できるさらなる薬学的に活性な化合物／薬剤には、エポエチンアルファ、ダルベポエチンアルファ、パニツムマブ、ペグフィルグラスチム、パリフェルミン、フィルグラスチム、デノスマブ、アンセスチム、ＡＭＧ１０２、ＡＭＧ１７６、ＡＭＧ３８６、ＡＭＧ４７９、ＡＭＧ６５５、ＡＭＧ７４５、ＡＭＧ９５１、ＡＭＧ７０６、又はその薬学的に許容される塩が含まれる。

【０３３６】

特定の実施形態では、本明細書で提供される組成物は化学療法薬と一緒に投与される。適切な化学療法薬には、ビンカアルカロイド（例えば、ビンブラスチン、ビンクリスチン、及びビノレルビン）、パクリタキセル、エピジポドフィロトキシン（例えば、エトポシド及びテニポシド）、抗生物質（例えば、ダクチノマイシン（アクチノマイシンＤ）、ダ

ウノルビシン、ドキソルビシン、及びイダルビシン）、アントラサイクリン、ミトキサントロン、ブレオマイシン、プリカマイシン（ミトラマイシン）マイトマイシン、酵素（例えば、Ｌ－アスパラギンを全身的に代謝し、それら自体のアスパラギンを合成する能力を有さない細胞を奪うＬ－アスパラギナーゼ）、抗血小板薬、ナイトロジェンマスタードなどの抗増殖性／抗有糸分裂性アルキル化剤（例えば、メクロレタミン、シクロホスファミド及び類似体、メルファラン並びにクロラムブシル）、エチレンイミン及びメチルメラミン（例えば、ヘキサメチルメラミン及びチオテパ）、ＣＤＫ阻害剤（例えば、セリシクリブ、ＵＣＮ－０１、Ｐ１４４６Ａ－０５、ＰＤ－０３３２９９１、ジナシクリブ、Ｐ２７－００、ＡＴ－７５１９、ＲＧＢ２８６６３８、及びＳＣＨ７２７９６５）、アルキルスルホネート（例えば、ブスルファン）、ニトロソウレア（例えば、カルムスチン（ＢＣＮＵ）及び類似体、並びにストレプトゾシン）、トラゼン－ダカルバジニン（ＤＴＩＣ）、葉酸類似体（例えば、メトトレキサート）などの抗増殖性／抗有糸分裂性代謝拮抗剤、ピリミジン類似体（例えば、フルオロウラシル、フロキシウリジン及びシタラビン）プリン類似体及び関連阻害剤（例えば、メルカプトプリン、チオグアニン、ペントスタチン、２－クロロデオキシアデノシン）、アロマターゼ阻害剤（例えば、アナストロゾール、エキセメスタン、レトロゾール）及び白金配位錯体（例えば、シスプラチン及びカルボプラチン）、プロカルバジン、ヒドロキシ尿素、ミトタン、アミノグルテチミド、ヒストンデアセチラーゼ（ＨＤＡＣ）阻害剤（例えば、トリコスタチン、酪酸ナトリウム、アピシダン、スベロイルアニリドヒドロキサム酸、ボリノスタット、ＬＢＨ５８９、ロミデプシン、ＡＣＹ－１２１５、及びパノビノスタット）、ｍＴｏｒ阻害剤（例えば、テムシロリムス、エベロリムス、リダフォロリムス、及びシロリムス）、ＫＳＰ（Ｅｇ５）阻害剤（例えば、Ａｒｒａｙ５２０）、ＤＮＡ結合剤（例えば、Ｚａｌｙｐｓｉｓ）、ＰＩ３Ｋデルタ阻害剤（例えば、ＧＳ－１１０１及びＴＧＲ－１２０２）、ＰＩ３Ｋデルタ及びガンマ阻害剤（例えば、ＣＡＬ－１３０）、マルチキナーゼ阻害剤（例えば、ＴＧ０２及びソラフェニブ）、ホルモン（例えば、エストロゲン）及びロイチン化ホルモン放出ホルモン（ＬＨＲＨ）アゴニスト（例えば、ゴセレリン、ロイプロリド及びトリプトレリン）などのホルモンアゴニスト、ＢＡＦＦ中和抗体（例えば、ＬＹ２１２７３９９）、ＩＫＫ阻害剤、ｐ３８ＭＡＰＫ阻害剤、抗ＩＬ－６（例えば、ＣＮＴＯ３２８）、テロメラーゼ阻害剤（例えば、ＧＲＮ１６３Ｌ）、オーロラキナーゼ阻害剤（例えば、ＭＬＮ８２３７）、細胞表面モノクローナル抗体（例えば、抗ＣＤ３８（ＨＵＭＡＸ－ＣＤ３８）、抗ＣＳ１（例えば、エロツズマブ）、ＨＳＰ９０阻害剤（例えば、１７ＡＡＧ及びＫＯＳ９５３）、Ｐ１３Ｋ／Ａｋｔ阻害剤（例えば、ペリフォシン）、Ａｋｔ阻害剤（例えば、ＧＳＫ－２１４１７９５）、ＰＫＣ阻害剤（例えば、エンザスタウリン）、ＦＴＩ（例えば、Ｚａｒｎｅｓｔｒａ（商標））、抗ＣＤ１３８（例えば、ＢＴ０６２）、Ｔｏｒｃ１／２特異的キナーゼ阻害剤（例えば、ＩＮＫ１２８）、キナーゼ阻害剤（例えば、ＧＳ－１１０１）、ＥＲ／ＵＰＲ標的化剤（例えば、ＭＫＣ－３９４６）、ｃＦＭＳ阻害剤（例えば、ＡＲＲＹ－３８２）、ＪＡＫ１／２阻害剤（例えば、ＣＹＴ３８７）、ＰＡＲＰ阻害剤（例えば、オラパリブ及びベリパリブ（ＡＢＴ－８８８））、ＢＣＬ－２アンタゴニストなどの天然生成物が含まれる。他の化学療法薬としては、メクロレタミン、カンプトテシン、イホスファミド、タモキシフェン、ラロキシフェン、ゲムシタビン、ナベルビン、ソラフェニブ、又は上記の任意の類似体若しくは誘導変異体が含まれ得る。

【０３３７】

本発明の化合物はまた、放射線療法、ホルモン療法、手術及び免疫療法と組み合わせて使用し得、これらの療法は、当業者に周知である。

【０３３８】

特定の実施形態では、本明細書で提供される医薬組成物は、ステロイドと一緒に投与される。適切なステロイドには２１－アセトキシプレグネノロン、アルクロメタゾン、アルゲストン、アムシノニド、ベクロメタゾン、ベタメタゾン、ブデソニド、クロロプレドニソン、クロベタゾール、クロコルトロン、クロプレドノール、コルチコステロン、コルチゾン、コルチバゾール、デフラザコルト、デソニド、デスオキシメタゾン、デキサメタゾ

ン、ジフロラソン、ジフルコルトロン、ジフルプレドナート、エノキソロン、フルアザコルト、フルクロロニド、フルメタゾン、フルニソリド、フルオシノロンアセトニド、フルオシノニド、フルオコルチンブチル、フルオコルトロン、フルオロメトロン、フルペロロンアセタート、フルプレドニデンアセテート、フルプレドニゾロン、フルランドレノリド、フルチカゾンプロピオネート、ホルモコルタール、ハルシノニド、ハロベタゾールプロピオネート、ハロメタゾン、ヒドロコルチゾン、ロテプレドノールエタボネート、マジプレドン、メドリゾン、メプレドニゾン、メチルプレドニゾロン、モメタゾンフロエート、パラメタゾン、プレドニカルベート、プレドニゾロン、プレドニゾロン２５－ジエチルアミノアセテート、リン酸プレドニゾロンナトリウム、プレドニゾン、プレドニバル、プレドニリデン、リメキソロン、チクソコルトール、トリアムシノロン、トリアムシノロンアセトニド、トリアムシノロンベネトニド、トリアムシノロンヘキサセトニド、及び／又はそれらの塩及び誘導体が含まれるが、これらに限定されない。特定の実施形態では、本発明の化合物はまた、薬学的に活性な、悪心を治療するさらなる薬剤と併用することができる。悪心を治療するために使用できる薬剤の例には、ドロナビノール；グラニセトロン；メトクロプラミド；オンダンセトロン；及びプロクロルペラジン；又はその薬学的に許容される塩が含まれる。

【０３３９】

本発明のＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤は、国際公開第２０１１／０３１８４２号パンフレットに見出されるものなどの、オーロラキナーゼ阻害剤と併用することができる。具体的な化合物は、ＡＭＧ９００（国際公開第２０１１／０３１８４２号パンフレットの実施例１、全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる）である。

【０３４０】

本発明のＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤は、ＭＡＰキナーゼ経路阻害剤と併用することができる。阻害され得るＭＡＰキナーゼ経路中のタンパク質、及びＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤と併用されるそのようなタンパク質の阻害剤の例としては、ＢＲＡＦ阻害剤、Ｐａｎ－ＲＡＦ阻害剤、及びＭＥＫ阻害剤が挙げられる。３つの主要なＲＡＦアイソフォームがある：ＡＲＡＦ、ＢＲＡＦ、及びＣＲＡＦ。ｐａｎ－ＲＡＦ阻害剤は、１つより多くのＲＡＦアイソフォームに対して阻害活性を示す。対照的に、ＢＲＡＦ阻害剤は、他のＲＡＦタンパク質よりもＢＲＡＦに対してより大きな阻害剤活性（又は選択性）を示す。

【０３４１】

本発明の化合物はまた、ＲＡＳ－ＲＡＦ－ＥＲＫ又はＰＩ３Ｋ－ＡＫＴ－ＴＯＲシグナル伝達経路を攪乱又は阻害する、薬学的に活性なさらなる化合物と併用し得る。他のそのような併用では、薬学的に活性なさらなる化合物は、ＰＤ－１及びＰＤ－Ｌ１アンタゴニストである。本開示の化合物又は医薬組成物はまた、ＥＧＦＲ阻害剤、ＭＥＫ阻害剤、ＰＩ３Ｋ阻害剤、ＡＫＴ阻害剤、ＴＯＲ阻害剤、Ｍｃｌ－１阻害剤、ＢＣＬ－２阻害剤、ＳＨＰ２阻害剤、プロテアソーム阻害剤及び免疫療法剤（例えば、モノクローナル抗体、免疫調節薬イミド（ＩＭｉＤ）、抗ＰＤ－１（又は代わりにＰＤ－１阻害剤）、抗ＰＤＬ－１、抗ＣＴＬＡ４、抗ＬＡＧ１及び抗ＯＸ４０剤、ＧＩＴＲアゴニスト、ＣＡＲ－Ｔ細胞及びＢｉＴＥを含む）から選択される１つ以上の物質のある量と併用することができる。

【０３４２】

ＥＧＦＲ阻害剤には、小分子アンタゴニスト、抗体阻害剤、又は特異的アンチセンスヌクレオチド若しくはｓｉＲＮＡが含まれるが、これらに限定されない。本発明の併用で使用することができるＥＧＦＲ阻害剤には、アファチニブ（商品名：Ｇｉｌｏｔｒｉｆ（登録商標）、Ｂｏｅｈｒｉｎｇｅｒ　Ｉｎｇｅｌｈｅｉｍから市販されている）、エルロチニブ（商品名：Ｔａｒｃｅｖａ（登録商標）、Ｇｅｎｅｔｅｃｈ／Ａｓｔｅｌｌａｓから市販されている）、及びラパチニブ（商品名：Ｔｙｋｅｒｂ（登録商標）、Ｎｏｖａｒｔｉｓから市販されている）が含まれるが、これらに限定されない。ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤はまた、本発明でＥＧＦＲ抗体と併用することができる。本発明の併用で使用することができるＥＧＦＲ抗体には、セツキシマブ（商品名：Ｅｒｂｉｔｕｘ（登録商標）（Ｌｉｌｌｙ製）が含まれるが、これに限定されない。ＥＧＦＲの有用な抗体阻害剤には、パニ

ツムマブ（Ｖｅｃｔｉｂｉｘ）、ザルツムマブ、ニモツズマブ、及びマツズマブが含まれる。

【０３４３】

小分子ＥＧＦＲ阻害剤の非限定的な例としては、以下の特許公報に記載されている任意のＥＧＦＲ阻害剤、並びに前記ＥＧＦＲ阻害剤の薬学的に許容される塩及び溶媒和物のすべてが挙げられる：１９９２年１２月３０日に公開された欧州特許出願公開第５２０７２２号明細書；１９９３年１０月２０日に公開された欧州特許出願公開第５６６２２６号明細書；１９９６年１０月３１日に公開された国際公開第９６／３３９８０号パンフレット；１９９８年５月５日に発行された米国特許第５，７４７，４９８号明細書；１９９６年１０月３日に公開された国際公開第９６／３０３４７号パンフレット；１９９７年８月６日に公開された欧州特許出願公開第７８７７７２号明細書；１９９７年８月２１日に公開された国際公開第９７／３００３４号パンフレット；１９９７年８月２１日に公開された国際公開第９７／３００４４号パンフレット；１９９７年１０月２３日に公開された国際公開第９７／３８９９４号パンフレット；１９９７年１２月３１日に公開された国際公開第９７／４９６８８号パンフレット；１９９８年４月２２日に公開された欧州特許出願公開第８３７０６３号明細書；１９９８年１月２２日に公開された国際公開第９８／０２４３４号パンフレット；１９９７年１０月２３日に公開された国際公開第９７／３８９８３号パンフレット；１９９５年７月２７日に公開された国際公開第９５／１９７７４号パンフレット；１９９５年７月２７日に公開された国際公開第９５／１９９７０号パンフレット；１９９７年４月１７日に公開された国際公開第９７／１３７７１号パンフレット；１９９８年１月２２日に公開された国際公開第９８／０２４３７号パンフレット；１９９８年１月２２日に公開された国際公開第９８／０２４３８号パンフレット；１９９７年９月１２日に公開された国際公開第９７／３２８８１号パンフレット；１９９８年１月２９日に公開された独国特許出願公開第１９６２９６５２号明細書；１９９８年８月６日に公開された国際公開第９８／３３７９８号パンフレット；１９９７年９月１２日に公開された国際公開第９７／３２８８０号パンフレット；１９９７年９月１２日に公開された国際公開第９７／３２８８０号パンフレット；１９９５年１１月１５日に公開された欧州特許出願公開第６８２０２７号明細書；１９９７年１月２３日に公開された国際公開第９７／０２２６６号パンフレット；１９９７年７月３１日に公開された国際公開第９７／２７１９９号パンフレット；１９９８年２月２６日に公開された国際公開第９８／０７７２６号パンフレット；１９９７年９月２５日に公開された国際公開第９７／３４８９５号パンフレット；１９９６年１０月１０日に公開された国際公開第９６／３１５１０号パンフレット；１９９８年４月９日に公開された国際公開第９８／１４４４９号パンフレット；１９９８年４月９日に公開された国際公開第９８／１４４５０号パンフレット；１９９８年４月９日に公開された国際公開第９８／１４４５１号パンフレット；１９９５年４月１３日に公開された国際公開第９５／０９８４７号パンフレット；１９９７年５月２９日に公開された国際公開第９７／１９０６５号パンフレット；１９９８年４月３０日に公開された国際公開第９８／１７６６２号パンフレット；１９９８年８月４日に発行された米国特許第５，７８９，４２７号明細書；１９９７年７月２２日に発行された米国特許第５，６５０，４１５号明細書；１９９７年８月１２日に発行された米国特許第５，６５６，６４３号明細書；１９９９年７月１５日に公開された国際公開第９９／３５１４６号パンフレット；１９９９年７月１５日に公開された国際公開第９９／３５１３２号パンフレット；１９９９年２月１８日に公開された国際公開第９９／０７７０１号パンフレット；及び１９９２年１１月２６に公開された国際公開第９２／２０６４２号パンフレット。小分子ＥＧＦＲ阻害剤のさらなる非限定的な例には、Ｔｒａｘｌｅｒ，Ｐ．，１９９８，Ｅｘｐ．Ｏｐｉｎ．Ｔｈｅｒ．Ｐａｔｅｎｔｓ８（１２）：１５９９－１６２５に記載されているＥＧＦＲ阻害剤の全てが含まれる。

【０３４４】

抗体ベースのＥＧＦＲ阻害剤には、その天然リガンドによるＥＧＦＲ活性化を部分的又は完全に阻止することができる、全ての抗ＥＧＦＲ抗体又は抗体断片が含まれる。抗体べ

ースのＥＧＦＲ阻害剤の非限定的な例としては、Ｍｏｄｊｔａｈｅｄｉ，Ｈ．，ｅｔ ａｌ．，１９９３，Ｂｒ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ ６７：２４７－２５３；Ｔｅｒａｍｏｔｏ，Ｔ．，ｅｔ ａｌ．，１９９６，Ｃａｎｃｅｒ ７７：６３９－６４５；Ｇｏｌｄｓｔｅｉｎ ｅｔ ａｌ．，１９９５，Ｃｌｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．１：１３１１－１３１８；Ｈｕａｎｇ，Ｓ．Ｍ．，ｅｔ ａｌ．，１９９９，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．１５：５９（８）：１９３５－４０；ａｎｄ Ｙａｎｇ，Ｘ．，ｅｔ ａｌ．，１９９９，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５９：１２３６－１２４３に記載されているものが挙げられる。従って、ＥＧＦＲ阻害剤は、モノクローナル抗体Ｍａｂ Ｅ７．６．３（Ｙａｎｇ，１９９９、前掲）、又はＭａｂ Ｃ２２５（ＡＴＣＣアクセッション番号ＨＢ－８５０８）、又はその結合特異性を有する抗体若しくは抗体フラグメントであり得る。

【０３４５】

本発明のＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}阻害剤は、国際公開第２００２／００６２１３号パンフレットに見出されるものなどの、ＭＥＫ阻害剤と併用することができる。具体的な化合物は、Ｎ－（（（２Ｒ）－２，３－ジヒドロキシプロピル）オキシ）－３，４－ジフルオロ－２－（（２－フルオロ－４－ヨードフェニル）アミノ）ベンズアミドであり、ＡＭＧ１００９０８９又は１００９０８９としても知られている（実施例３９）。

【０３４６】

本発明のＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}阻害剤は、国際公開第２００８／１５３，９４７号パンフレットに見出されるものなどの、ＢＲＡＦ阻害剤と併用することができる。具体的な化合物は、ＡＭＧ２１１２８１９（２１１２８１９としても知られている）である（実施例５６）。本発明の併用で使用することができる、別の具体的なＢＲＡＦ阻害剤はダブラフェニブである。本発明の併用で使用することができる別のＢＲＡＦ阻害剤は、ベムラフェニブである。

【０３４７】

本発明の併用で、Ｐａｎ－ＲＡＦ阻害剤もＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}阻害剤と共に使用することができる。具体的なＰａｎ－Ｒａｆ阻害剤には、ＲＡＦ２６５及びＭＬＮ－２４８０が含まれる。

【０３４８】

本発明のＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}阻害剤は、ＭＥＫ阻害剤と併用することができる。本発明の併用で使用することができる具体的なＭＥＫ阻害剤には、ＰＤ－３２５９０１、トラメチニブ、ピマセルチブ、ＭＥＫ１６２［ビニメチニブとしても知られている］、ＴＡＫ－７３３、ＧＤＣ－０９７３及びＡＺＤ８３３０が含まれる。本発明の併用で、ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}阻害剤と一緒に使用することができる具体的なＭＥＫ阻害剤は、トラメチニブ（商品名：Ｍｅｋｉｎｉｓｔ（登録商標）、Ｎｏｖａｒｔｉｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ Ｃｏｒｐ．から市販されている）。別の具体的なＭＥＫ阻害剤は、Ｎ－（（（２Ｒ）－２，３－ジヒドロキシプロピル）オキシ）－３，４－ジフルオロ－２－（（２－フルオロ－４－ヨードフェニル）アミノ）ベンズアミドであり、ＡＭＧ１００９０８９、１００９０８９又はＰＤ－３２５９０１としても知られている。本発明の併用で使用することができる、別の具体的なＭＥＫ阻害剤には、コビメチニブが含まれる。

【０３４９】

ＭＥＫ阻害剤には、ＣＩ－１０４０、ＡＺＤ６２４４、ＰＤ３１８０８８、ＰＤ９８０５９、ＰＤ３３４５８１、ＲＤＥＡ１１９、ＡＲＲＹ－１４２８８６、及びＡＲＲＹ－４３８１６２が含まれるが、これらに限定されない。

【０３５０】

別の態様では、本発明は、ホスファチジルイノシトール３－キナーゼ（ＰＩ３Ｋ）経路における、タンパク質阻害剤である薬剤の１種以上と併用する、本発明の化合物の使用に関する。ＰＩ３Ｋ経路におけるタンパク質の例には、ＰＩ３Ｋ、ｍＴＯＲ及びＰＫＢ（Ａｋｔ又はＡＫＴとしても知られる）が含まれる。ＰＩ３Ｋタンパク質は、αβ、δ又はγを含むいくつかのアイソフォームで存在する。本発明において使用され得るＰＩ３Ｋ阻害剤は、１種以上のアイソフォームに対して選択的であり得ることが意図される。選択的と

は、化合物が１つ以上のアイソフォームを、他のアイソフォームよりも阻害することを意味する。選択性は当業者に周知の概念であり、よく知られているインビトロ又は細胞ベースの活性アッセイを用いて測定することができる。好ましい選択性には、１種以上のアイソフォームについて、他のアイソフォームよりも２倍より大きい、好ましくは１０倍、又はより好ましくは１００倍大きい選択性が含まれる。１つの態様にでは、本発明の化合物と併用することができるＰＩ３Ｋ阻害剤は、ＰＩ３Ｋα選択的阻害剤である。別の態様では、化合物はＰＩ３Ｋδ選択的阻害剤である。さらに別の態様では、化合物はＰＩ３Ｋβ選択的阻害剤である。

【０３５１】

本発明の１種以上の化合物と併用することができるＰＩ３Ｋ阻害剤の例は、以下に開示されているものを含む：国際公開第２０１０／１５１７９１号パンフレット；国際公開第２０１０／１５１７３７号パンフレット；国際公開第２０１０／１５１７３５号パンフレット；国際公開第２０１０１５１７４０号パンフレット；国際公開第２００８／１１８４５５号パンフレット；国際公開第２００８／１１８４５４号パンフレット；国際公開第２００８／１１８４６８号パンフレット；米国特許出願公開第２０１００３３１２９３号明細書；米国特許出願公開第２０１００３３１３０６号明細書；米国特許出願公開第２００９００２３７６１号明細書；米国特許出願公開第２００９００３０００２号明細書；米国特許出願公開第２００９０１３７５８１号明細書；米国特許出願公開第２００９／００５４４０５号明細書；米国特許出願公開第２００９／０１６３４８９号明細書；米国特許出願公開第２０１０／０２７３７６４号明細書；米国特許出願公開第２０１１／００９２５０４号明細書；又は国際公開第２０１０／１０８０７４号パンフレット。ＰＩ３Ｋ阻害剤には、国際公開第０６／０４４４５３号パンフレットに記載があるウォルトマンニン、１７－ヒドロキシウォルトマンニン類似体、４－［２－（１Ｈ－インダゾール－４－イル）－６－［［４－（メチルスルホニル）ピペラジン－１－イル］メチル］チエノ［３，２－ｄ］ピリミジン－４－イル］モルホリン（ＧＤＣ　０９４１としても知られ、国際公開第０９／０３６，０８２号パンフレット及び国際公開第０９／０５５，７３０号パンフレットに記載がある）、２－メチル－２－［４－［３－メチル－２－オキソ－８－（キノリン－３－イル）－２，３－ジヒドロイミダゾ［４，５－ｃ］キノリン－１－イル］フェニル］プロピオニトリル（ＢＥＺ２３５又はＮＶＰ－ＢＥＺ２３５としても知られ、国際公開第０６／１２２８０６号パンフレットに記載がある）、（Ｓ）－１－（４－（（２－（２－アミノピリミジン－５－イル）－７－メチル－４－モルホリノチエノ［３，２－ｄ］ピリミジン－６－イル）メチル）ピペラジン－１－イル）－２－ヒドロキシプロパン－１－オン（国際公開第２００８／０７０７４０号パンフレットに記載がある）、ＬＹ２９４００２（２－（４－モルホリニル）－８－フェニル－４Ｈ－１－ベンゾピラン－４－オン、Ａｘｏｎ　Ｍｅｄｃｈｅｍから入手可能）、ＰＩ１０３塩酸塩（３－［４－（４－モルホリニルピリド－［３’，２’：４，５］フロ［３，２－ｄ］ピリミジン－２－イル］フェノールヒドロクロリド、Ａｘｏｎ　Ｍｅｄｃｈｅｍから入手可能）、ＰＩＫ　７５（Ｎ’－［（１Ｅ）－（６－ブロモイミダゾ［１，２－ａ］ピリジン－３－イル）メチレン］－Ｎ，２－ジメチル－５－ニトロベンゼンスルホノヒドラジドハイドロクロリド、Ａｘｏｎ　Ｍｅｄｃｈｅｍから入手可能）、ＰＩＫ９０（Ｎ－（７，８－ジメトキシ－２，３－ジヒドロ－イミダゾ［１，２－ｃ］キナゾリン－５－イル）－ニコチンアミド、Ａｘｏｎ　Ｍｅｄｃｈｅｍから入手可能）、ＧＤＣ－０９４１ビスメシレート（２－（１Ｈ－インダゾール－４－イル）－６－（４－メタンスルホニル－ピペラジン－１－イルメチル）－４－モルホリン－４－イル－チエノ［３，２－ｄ］ピリミジンビスメシレート、Ａｘｏｎ　Ｍｅｄｃｈｅｍから入手可能）、ＡＳ－２５２４２４（５－［１－［５－（４－フルオロ－２－ヒドロキシ－フェニル）－フラン－２－イル］－メト－（Ｚ）－イリデン］－チアゾリジン－２，４－ジオン、Ａｘｏｎ　Ｍｅｄｃｈｅｍから入手可能）、並びにＴＧＸ－２２１（７－メチル－２－（４－モルホリニル）－９－［１－（フェニルアミノ）エチル］－４Ｈ－ピリド－［１，２－ａ］ピリミジン－４－オン、Ａｘｏｎ　Ｍｅｄｃｈｅｍから入手可能）、ＸＬ－７６５及びＸＬ－１４７が含まれるが、これらに限定されない。

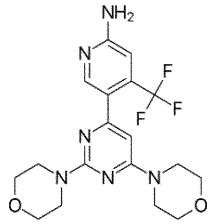
他のＰＩ３Ｋ阻害剤には、デメトキシビリジン、ペリフォシン、ＣＡＬ１０１、ＰＸ－８６６、ＢＥＺ２３５、ＳＦ１１２６、ＩＮＫ１１１７、ＩＰＩ－１４５、ＢＫＭ１２０、ＸＬ１４７、ＸＬ７６５、Ｐａｌｏｍｉｄ５２９、ＧＳＫ１０５９６１５、ＺＳＴＫ４７４、ＰＷＴ３３５９７、ＩＣ８７１１４、ＴＧ１００－１１５、ＣＡＬ２６３、ＰＩ－１０３、ＧＮＥ－４７７、ＣＵＤＣ－９０７及びＡＥＺＳ－１３６が含まれる。

【０３５２】

本発明の化合物と併用するのに好ましいＰＩ３Ｋ阻害剤には、以下のものが含まれる：ブパルリシブとしても知られている、Ｎｏｖａｒｔｉｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓの治験用小分子である：

【０３５３】

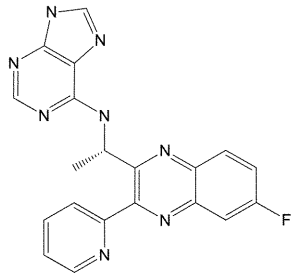
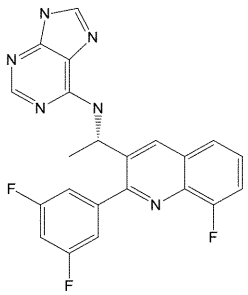
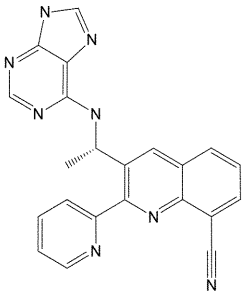
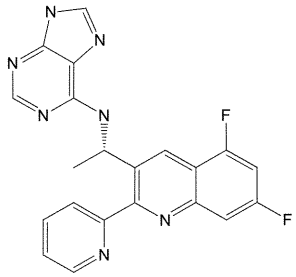
【化２５】



、

【０３５４】

【化２６】


；

；

；又は


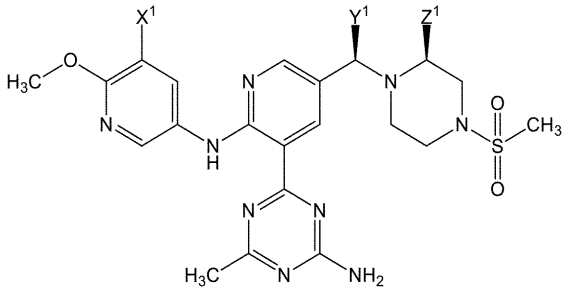
、又はその薬学的に許容される塩。

【０３５５】

以下の式ＩＩａの化合物、又はその薬学的に許容される塩も好ましい：

【０３５６】

【化２７】



IIa

式中、X^1はフッ素又は水素であり、Y^1は水素又はメチルであり、Z^1は水素又はメチルである。本発明の併用で使用することができる、具体的なＰＩ３Ｋ阻害剤は、ＡＭＧ５１１（ＡＭＧ２５３９９６５又は２５３９９６５としても知られている）であり、これは、国際公開第２０１０／１２６８９５号パンフレットの実施例１４８である。

【０３５７】

本発明の併用で、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤と併用することができる、他のＰＩ３Ｋ阻害剤には、ＢＫＭ１２０及びＧＤＣ－０９４１などのＰａｎ－ＰＩ３Ｋ阻害剤；ＢＹＬ７１９などのＰＩ３Ｋα選択的阻害剤；及びＧＳＫ－２６３６７７１などのＰＩ３Ｋβ選択的阻害剤が含まれる。

【０３５８】

ＰＩ３Ｋ及びｍＴＯＲの両方を阻害する（二重阻害剤）化合物が知られている。さらに別の態様では、本発明は、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤と併用するためのＰＩ３Ｋ及びｍＴＯＲ二重阻害剤の使用を提供する。具体的な二重阻害剤の例は、ＧＤＣ－０９８０である。

【０３５９】

ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤はまた、本発明でＳＨＰ２阻害剤と併用することができる。本発明の併用で使用することができるＳＨＰ２阻害剤には、ＳＨＰ０９９、及びＣＡ、Ｒｅｄｗｏｏｄ ＣｉｔｙのＲｅｖｏｌｕｔｉｏｎｓ Ｍｅｄｉｃｉｎｅｓ社のＲＭＣ－４５５０又はＲＭＣ－４６３０が含まれるが、これらに限定されない。

【０３６０】

ｍＴＯＲは、ＰＩ３Ｋ経路のタンパク質である。本発明の別の態様では、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤とｍＴＯＲ阻害剤を併用する。本発明の化合物と併用することができるｍＴＯＲ阻害剤には、以下の文献に開示されているものが含まれる：国際公開第２０１０／１３２５９８号パンフレット及び国際公開第２０１０／０９６３１４号パンフレット。本発明の併用で、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤と併用することができるｍＴＯＲ阻害剤には、ＡＺＤ２０１４及びＭＬＮ０１２８が含まれる。

【０３６１】

ＴＯＲ阻害剤には、ＡＰ－２３５７３、ＣＣＩ－７７９、エベロリムス、ＲＡＤ－００１、ラパマイシン、テムシロリムス、ＡＴＰ競合ＴＯＲＣ１／ＴＯＲＣ２阻害剤（ＰＩ－１０３、ＰＰ２４２、ＰＰ３０及びＴｏｒｉｎ１を含む）が含まれるが、これらに限定されない。他のＴＯＲ阻害剤には、ＦＫＢＰ１２エンハンサー；ラパマイシン及びその誘導体（以下を含む：ＣＣＩ－７７９（テムシロリムス）、ＲＡＤ００１（エベロリムス）；国際公開第９４０９０１０）及びＡＰ２３５７３；例えば、国際公開第９８／０２４４１号パンフレット及び国際公開第０１／１４３８７号パンフレットに開示されているラパログ、例えば、ＡＰ２３５７３、ＡＰ２３４６４、又はＡＰ２３８４１；４０－（２－ヒドロキシエチル）ラパマイシン、４０－［３－ヒドロキシ（ヒドロキシメチル）メチルプロパノエート］－ラパマイシン（ＣＣ１７７９とも呼ばれる）、４０－エピ－（テトラゾリル）－ラパマイシン（ＡＢＴ５７８とも呼ばれる）、３２－デオキソラパマイシン、１６－ペンチニルオキシ－３２（Ｓ）－ジヒドロラパマイシン、及び国際公開第０５００５４３４号パンフレットに開示されている他の誘導体）；米国特許第５，２５８，３８９号明

細書、国際公開第９４／０９０１０１号パンフレット、国際公開第９２／０５１７９号パンフレット、米国特許第５，１１８，６７７号明細書、米国特許第５，１１８，６７８号明細書、米国特許第５，１００，８８３号明細書、米国特許第５，１５１，４１３号明細書、米国特許第５，１２０，８４２号明細書、国際公開第９３／１１１１３０号パンフレット、国際公開第９４／０２１３６号パンフレット、国際公開第９４／０２４８５号パンフレット、国際公開第９５／１４０２３号パンフレット、国際公開第９４／０２１３６号パンフレット、国際公開第９５／１６６９１号パンフレット、国際公開第９６／４１８０７号パンフレット、国際公開第９６／４１８０７号パンフレット及び米国特許第５，２５６，７９０号明細書に開示されている誘導体；リン含有ラパマイシン誘導体（例えば、国際公開第０５０１６２５２号パンフレット）；４Ｈ－１－ベンゾピラン－４－オン誘導体（例えば米国仮特許出願第６０／５２８，３４０号明細書）が含まれる。

【０３６２】

ＰＫＢ（ＡＫＴ）もまた、ＰＩ３Ｋ経路のタンパク質である。本発明の別の態様では、ＡＫＴ阻害剤をＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}阻害剤と併用する。本発明の化合物と併用することができるＡＫＴ阻害剤には、以下の文献に開示されているものが含まれる：米国特許第７，３５４，９４４号明細書、米国特許第７，７００，６３６号明細書、米国特許第７，９１９，５１４号明細書、米国特許第７，５１４，５６６号明細書、米国特許出願公開第２００９／０２７０４４５Ａ１号明細書、米国特許第７，９１９，５０４号明細書、米国特許第７，８９７，６１９号明細書、又は国際公開第２０１０／０８３２４６Ａ１号パンフレット。本発明の併用でＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}阻害剤と併用することができる、具体的なＡＫＴ阻害剤には、ＭＫ－２２０６、ＧＤＣ－００６８及びＡＺＤ５３６３が含まれる。

【０３６３】

ＡＫＴ阻害剤には、Ａｋｔ－１－１（Ａｋｔ１を阻害する）（Ｂａｒｎｅｔｔ ｅｔ ａｌ．（２００５）Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｊ．，３８５（Ｐｔ．２），３９９－４０８）；Ａｋｔ－１－１，２（Ａｋ１及び２を阻害する）（Ｂａｒｎｅｔｔ ｅｔ ａｌ．（２００５）Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｊ．３８５（Ｐｔ．２），３９９－４０８）；ＡＰＩ－５９ＣＪ－Ｏｍｅ（ｅ．ｇ．，Ｊｉｎ ｅｔ ａｌ．（２００４）Ｂｒ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ９１，１８０８－１２）；１－Ｈ－イミダゾ［４，５－ｃ］ピリジニル化合物（例えば、国際公開第０５０１１７００号パンフレット）；インドール－３－カルビノール及びその誘導体（例えば、米国特許第６，６５６，９６３号明細書；Ｓａｒｋａｒ ａｎｄ Ｌｉ（２００４）Ｊ Ｎｕｔｒ．１３４（１２ Ｓｕｐｐｌ），３４９３Ｓ－３４９８Ｓ）；ペリフォシン（例えば、Ａｋｔの膜局在化を妨げる；Ｄａｓｍａｈａｐａｔｒａ ｅｔ ａｌ．（２００４）Ｃｌｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．１０（１５），５２４２－５２，２００４）；ホスファチジルイノシトールエーテル脂質類似体（例えば、Ｇｉｌｌｓ ａｎｄ Ｄｅｎｎｉｓ（２００４）Ｅｘｐｅｒｔ．Ｏｐｉｎ．Ｉｎｖｅｓｔｉｇ．Ｄｒｕｇｓ１３，７８７－９７）；及びトリシリビン（ＴＣＮ若しくはＡＰＩ－２又はＮＣＩ識別番号：ＮＳＣ１５４０２０；Ｙａｎｇ ｅｔ ａｌ．（２００４）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．６４：４３９４－９が含まれるが、これに限定されない。

【０３６４】

ＭＣｌ－１阻害剤には、ＡＭＧ－１７６、ＭＩＫ６６５、及びＳ６３８４５が含まれるが、これらに限定されない。骨髄性細胞白血病－１（ＭＣＬ－１）タンパク質は、Ｂ細胞リンパ腫－２（ＢＣＬ－２）タンパク質ファミリーの重要な抗アポトーシスメンバーの１つである。ＭＣＬ－１の過剰発現は、伝統的な化学療法だけでなく、ＡＢＴ－２６３などのＢＣＬ－２阻害剤を含む標的治療に対する、腫瘍の進行並びに耐性に密接に関連してきた。

【０３６５】

プロテアソーム阻害剤には、Ｋｙｐｒｏｌｉｓ（登録商標）（カルフィルゾミブ）、Ｖｅｌｃａｄｅ（登録商標）（ボルテゾミブ）、及びオプロゾミブが含まれるが、これらに限定されない。

【０３６６】

免疫療法には、抗ＰＤ－１薬、抗ＰＤＬ－１薬、抗ＣＴＬＡ－４薬、抗ＬＡＧ１薬、及び抗ＯＸ４０薬が含まれるが、これらに限定されない。

【０３６７】

モノクローナル抗体には、Ｄａｒｚａｌｅｘ（登録商標）（ダラツムマブ）、Ｈｅｒｃｅｐｔｉｎ（登録商標）（トラスツズマブ）、Ａｖａｓｔｉｎ（登録商標）（ベバシズマブ）、Ｒｉｔｕｘａｎ（登録商標）（リツキシマブ）、Ｌｕｃｅｎｔｉｓ（登録商標）（ラニビズマブ）、及びＥｙｌｅａ（登録商標）（アフリベルセプト）などが含まれるが、これらに限定されない。

【０３６８】

免疫調節剤（ＩＭｉＤ）は、イミド基を含有する免疫調節薬（免疫応答を調節する薬剤）の一クラスである。ＩＭｉＤクラスには、サリドミド及びその類似体（レナリドミド、ポマリドミド、及びアプレミラスト）が含まれる。

【０３６９】

抗体を含むがこれに限定されない抗ＰＤ－１阻害剤には、ペムブロリズマブ（Ｋｅｙｔｒｕｄａ（登録商標））及びニボルマブ（Ｏｐｄｉｖｏ（登録商標））が含まれるが、これらに限定されない。例示的な抗ＰＤ－１抗体及びそれらの使用方法は、Ｇｏｌｄｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ １１０（１）：１８６－１９２（２００７）、Ｔｈｏｍｐｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｃｌｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．１３（６）：１７５７－１７６１（２００７）及びＫｏｒｍａｎ ｅｔ ａｌ．，国際出願第ＰＣＴ／ＪＰ２００６／３０９６０６号明細書（国際公開第２００６／１２１１６８ Ａ１号パンフレット）に記載されており、これらのそれぞれは、参照により本明細書に明示的に組み込まれる。含まれるもの：Ｙｅｒｖｏｙ（商標）（イピリムマブ）又はトレメリムマブ（ＣＴＬＡ－４に）、ガリキシマブ（Ｂ７．１に）、ＢＭＳ－９３６５５８（ＰＤ－１に）、ＭＫ－３４７５（ＰＤ－１に）、ＡＭＰ２２４（Ｂ７ＤＣに）、ＢＭＳ－９３６５５９（Ｂ７－Ｈ１に）、ＭＰＤＬ３２８０Ａ（Ｂ７－Ｈ１に）、ＭＥＤＩ－５７０（ＩＣＯＳに）、ＡＭＧ５５７（Ｂ７Ｈ２に）、ＭＧＡ２７１（Ｂ７Ｈ３に）、ＩＭＰ３２１（ＬＡＧ－３に）、ＢＭＳ－６６３５１３（ＣＤ１３７に）、ＰＦ－０５０８２５６６（ＣＤ１３７に）、ＣＤＸ－１１２７（ＣＤ２７に）、ａｎｔｉ－ＯＸ４０（Ｐｒｏｖｉｄｅｎｃｅ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ）、ｈｕＭＡｂＯＸ４０Ｌ（ＯＸ４０Ｌに）、アタシセプト（ＴＡＣＩに）、ＣＰ－８７０８９３（ＣＤ４０に）、ルカツムマブ（ＣＤ４０に）、ダセツズマブ（ＣＤ４０に）、ムロモナブ－ＣＤ３（ＣＤ３に）、イピリムマブ（ＣＴＬＡ－４に）。免疫療法はまた、遺伝子操作されたＴ細胞（例えば、ＣＡＲ－Ｔ細胞）及び二重特異性抗体（例えば、ＢｉＴＥ）を含む。

【０３７０】

特定の実施形態では、本発明の化合物は、ＡＭＧ４０４などの抗ＰＤ－１抗体と併用される。特定の実施形態では、抗ＰＤ－１抗体（又はその抗原結合抗体フラグメント）は、配列番号１～６（順に、ＨＣ ＣＤＲ１、ＨＣ ＣＤＲ２、ＨＣ ＣＤＲ３、ＬＣ ＣＤＲ１、ＬＣ ＣＤＲ２及びＬＣ ＣＤＲ３を表す）の１、２、３、４、５、又は６個全てのＣＤＲアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、抗ＰＤ－１抗体（又はその抗原結合抗体フラグメント）は、配列番号１～６のＣＤＲアミノ酸配列の６個全てを含む。他の実施形態では、抗ＰＤ－１抗体（又はその抗原結合抗体フラグメント）は（ａ）配列番号７の重鎖可変領域アミノ酸配列、或いは、１つ若しくは２つのアミノ酸のみが異なるか、又は、少なくとも、若しくは約７０％の配列同一性を有するその変異体配列、或いは（ｂ）配列番号８の軽鎖可変領域アミノ酸配列、或いは、１つ若しくは２つのアミノ酸のみが異なるか、又は、少なくとも、若しくは約７０％の配列同一性を有するその変異体配列を含む。例示的な実施形態では、抗ＰＤ－１抗体（又はその抗原結合抗体フラグメント）は、配列番号７の重鎖可変領域アミノ酸配列、及び配列番号８の軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む。他の実施形態では、抗ＰＤ－１抗体（又はその抗原結合抗体フラグメント）は（ａ）配列番号９の重鎖アミノ酸配列、或いは、１つ若しくは２つのアミノ酸のみが異なるか、又は、少なくとも、若しくは約７０％の配列同一性を有するその変異体配列、或いは（

ｂ）配列番号１０の軽鎖アミノ酸配列、或いは、１つ若しくは２つのアミノ酸のみが異なるか、又は、少なくとも、若しくは約７０％の配列同一性を有するその変異体配列を含む。例示的な実施形態では、抗ＰＤ－１抗体（又はその抗原結合抗体フラグメント）は、配列番号９の重鎖アミノ酸配列、及び配列番号１０の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【０３７１】

本開示は、抗ＰＤ－１抗体（又はその抗原結合部分）をコードする核酸配列をさらに提供する。例示的な態様では、抗体は、配列番号１１～１６（順に、ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２、ＨＣ　ＣＤＲ３、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３を表す）の核酸によってコードされる１、２、３、４、５、又は６個全てのＣＤＲを含む。別の例示的な態様では、抗体は、配列番号１１～１６の核酸によってコードされる６つのＣＤＲ全てを含む。いくつかの実施形態では、抗ＰＤ－１抗体（又はその抗原結合部分）は、（ａ）配列番号１７によってコードされた重鎖可変領域、或いは、１、２、３、４、５若しくは６つの核酸のみが異なるか、又は、少なくとも、若しくは約７０％、８５％、９０％若しくは９５％の配列同一性を有するその変異体配列、或いは（ｂ）配列番号１８によってコードされた軽鎖可変領域、或いは、１、２、３、４、５若しくは６つの核酸のみが異なるか、又は、少なくとも、若しくは約７０％、８５％、９０％、若しくは９５％の配列同一性を有するその変異体配列を含む。例示的な実施形態では、抗ＰＤ－１抗体（又はその抗原結合部分）は、配列番号１７によってコードされた重鎖可変領域、及び配列番号１８によってコードされた軽鎖可変領域を含む。別の実施形態では、抗ＰＤ－１抗体（又はその抗原結合部分）は、（ａ）配列番号１９によってコードされた重鎖、或いは、１、２、３、４、５若しくは６つの核酸のみが異なるか、又は、少なくとも、若しくは約７０％、８５％、９０％若しくは９５％の配列同一性を有するその変異体配列、或いは（ｂ）配列番号２０によってコードされた軽鎖、或いは、１、２、３、４、５若しくは６つの核酸のみが異なるか、又は、少なくとも、若しくは約７０％、８５％、９０％、若しくは９５％の配列同一性を有するその変異体配列を含む。例示的な実施形態では、抗ＰＤ－１抗体（又はその抗原結合部分）は、配列番号１９によってコードされた重鎖、及び配列番号２０によってコードされた軽鎖を含む。ＣＲＩＳＰＲ技術を用いて、マウスＴ－２６結腸直腸株（ＡＴＣＣ）からＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ細胞を作製し、ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｄの両方の対立遺伝子を、配列番号２１によりコードされた、ｐ．Ｇ１２Ｃ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）で置換した。

【０３７２】

【表１】

配列番号	配列の種類	配列
1	PRT	Ser Tyr Asp Met Ser
2	PRT	Leu Ile Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys
3	PRT	Pro Ser Gly His Tyr Phe Tyr Ala Met Asp Val
4	PRT	Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp Leu Ala
5	PRT	Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
6	PRT	Gln Gln Ala Glu Ser Phe Pro His Thr
7	PRT	Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Leu Ile Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Ser Pro Ser Gly His Tyr Phe Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
8	PRT	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Phe Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Glu Ser Phe Pro His Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

9	PRT	Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Arg Gly Ala Arg Cys Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Leu Ile Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Ser Pro Ser Gly His Tyr Phe Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

10	PRT	Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Phe Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Glu Ser Phe Pro His Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
11	DNA	agctatgaca tgagc
12	DNA	cttattagtg gtggtggtag tcaaacatac tacgcagaat ccgtgaaggg c
13	DNA	cccagtggcc actacttcta cgctatggac gtc
14	DNA	cgggcgagtc agggtattag caactggtta gcc
15	DNA	gctgcatcca gtttgcaaag t
16	DNA	caacaggctg aaagtttccc tcacact
17	DNA	gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgaca tgagctgggt ccgccaggct ccagggaagg ggctggaatg ggtctcactt attagtggtg gtggtagtca aacatactac gcagaatccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat atttctgtgc gtcccccagt ggccactact tctacgctat ggacgtctgg ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca

18	DNA	gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgttggaga cagagtcacc atcacttgtc gggcgagtca gggtattagc aactggttag cctggtatca gcagaaacca gggaaagccc ctaagctcct gatctttgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcaccctca ccatcagcag cctgcagcct gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctgaaagtt tccctcacac tttcggcgga gggaccaagg tggagatcaa a
19	DNA	atggacatga gggtgcccgc tcagctcctg gggctcctgc tgctgtggct gagaggtgcg cgctgtgagg tgcagctgtt ggagtctggg ggaggcttgg tacagcctgg ggggtccctg agactctcct gtgcagcctc tggattcacc tttagcagct atgacatgag ctgggtccgc caggctccag ggaaggggct ggaatgggtc tcacttatta gtggtggtgg tagtcaaaca tactacgcag aatccgtgaa gggccggttc accatctcca gagacaattc caagaacacg ctgtatctgc aaatgaacag cctgagagcc gaggacacgg ccgtatattt ctgtgcgtcc cccagtggcc actacttcta cgctatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc tcctcagcct ccaccaaggg cccatcggtc ttcccctgg caccctcctc caagagcacc tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagtt gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg gggggaccgt cagtcttcct cttccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgtg cgaggagcag tacggcagca cgtaccgttg cgtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtgtccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctatagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaa

20	DNA	atggacatga gggtgcccgc tcagctcctg gggctcctgc tgctgtggct gagaggtgcg cgctgtgaca tccagatgac ccagtctcca tcttccgtgt ctgcatctgt tggagacaga gtcaccatca cttgtcgggc gagtcagggt attagcaact ggttagcctg gtatcagcag aaaccaggga aagcccctaa gctcctgatc tttgctgcat ccagtttgca aagtggggtc ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg acagatttca ccctcaccat cagcagcctg cagcctgaag attttgcaac ttactattgt caacaggctg aaagtttccc tcacactttc ggcggaggga ccaaggtgga gatcaaacga acggtggctg caccatctgt cttcatcttc ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aaggtggata acgccctcca atcgggtaac tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat cagggcctga gctcgcccgt cacaaagagc ttcaacaggg gagagtgt
21	PRT	Cys Thr Thr Gly Thr Gly Ala Thr Gly Gly Thr Thr Gly Gly Ala Gly Cys Thr Gly Ala

【０３７３】

ＧＩＴＲアゴニストには、米国特許第６，１１１，０９０ｂｏｘ．ｃ号明細書、欧州特許第０９０５０５Ｂ１号明細書、米国特許第８，５８６，０２３号明細書、国際公開第２０１０／００３１１８号パンフレット及び同第２０１１／０９０７５４号パンフレットに記載があるＧＩＴＲ融合タンパク質、又は、例えば、米国特許第７，０２５，９６２号明細書、欧州特許第１９４７１８３Ｂ１号明細書、米国特許第７，８１２，１３５号明細書、米国特許第８，３８８，９６７号明細書、米国特許第８，５９１，８８６号明細書、欧州特許第１８６６３３９号明細書、国際公開第２０１１／０２８６８３号パンフレット、国際公開第２０１３／０３９９５４号パンフレット、国際公開第２００５／００７１９０号パンフレット、国際公開第２００７／１３３８２２号パンフレット、国際公開第２００５／０５５８０８号パンフレット、国際公開第９９／４０１９６号パンフレット、国際公開第２００１／０３７２０号パンフレット、国際公開第９９／２０７５８号パンフレット、国際公開第２００６／０８３２８９号パンフレット、国際公開第２００５／１１５４５１号パンフレット、米国特許第７，６１８，６３２号明細書、及び国際公開第２０１１／０５１７２６号パンフレットに記載がある抗ＧＩＴＲ抗体などの、ＧＩＴＲ融合タンパク質及び抗ＧＩＴＲ抗体（例えば、二価抗ＧＩＴＲ抗体）が含まれるが、これらに限定されない。

【０３７４】

本発明で、ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}阻害剤はまた、ＣＤＫ４及び／又は６阻害剤と併用することができる。本発明の併用で使用することができる、ＣＤＫ４及び／又は６阻害剤は、以下の文献で開示されたものを含むが、これらに限定されない：国際公開第２００９／０８５１８５、又は米国特許出願公開第２０１１／００９７３０５号明細書。

【０３７５】

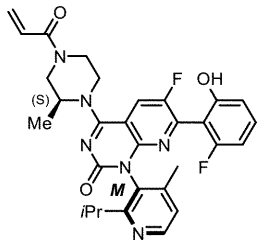
本発明の併用で、ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}阻害剤と併用することができる他の化合物には、内因性アポトーシス経路の、一部のタンパク質を阻害する化合物が含まれる。そのような化合物の例には、ナビトクラクスなどのＢｃｌ２／ＢｃｌｘＬ阻害剤及びＡＢＴ－１９９などのＢｃｌ２阻害剤が含まれるが、これらに限定されない。

【０３７６】

本発明の併用で、ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}阻害剤と併用することができる他の化合物には、限定されないが、ダサチニブなどのＢＣＲ－ＡＢＬ阻害剤、及びパノビノスタットなどのＨＤＡＣ阻害剤が含まれる。

【０３７７】
本発明の併用で、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤と併用することができる他の化合物には、シスプラチン、カルボプラチン及びオキサリプラチンなどの白金；トポイソメラーゼＩＩ阻害剤、典型的には、ドキソルビシン、ダウノルビシン、イダルビシン、エピルビシン、ペグ化リポソームドキソルビシン塩酸塩、ミオセット及びエトポシドなどのアントラサイクリンクラスのもの；イリノテカン（ＣＰＴ－１１）などのトポイソメラーゼＩ阻害剤；テモゾロミドなどのＤＮＡアルキル化剤；並びにシタラビン及びデシタビンなどのヌクレオシド類似体が含まれる。
【０３７８】
本発明の併用で、ＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤と併用することができる他の化合物には、チロシンキナーゼ阻害剤を含む受容体及び非受容体キナーゼ阻害剤が含まれる。そのような化合物の例には、イマチニブ、ダサチニブ、ポナチニブ、ボスチニブ、ニロチニブ、キザルチニブ、ミドスタウリン、エルロチニブ及びラパチニブが含まれる。
【０３７９】
本明細書に記載の化合物は、治療される状態に依存して、本明細書で開示した薬剤又は他の適切な薬剤と併用することができる。従って、いくつかの実施形態では、本開示の１種以上の化合物は、上記の他の薬剤と同時投与されよう。併用療法で使用される場合、本明細書に記載の化合物は、第２の薬剤と同時に又は別々に投与される。この併用投与は、同じ投薬形態の２つの薬剤の同時投与、別々の投薬形態の同時投与、及び別々の投与を含むことができる。すなわち、本明細書に記載の化合物及び上記の薬剤のいずれもは、同じ投薬形態で一緒に剤形化し、同時に投与することができる。或いは本開示の化合物及び上記の薬剤のいずれもは、同時に投与することができ、ここで、両薬剤は別々の剤形中に存在する。別の代替法では、本開示の化合物は、上記薬剤のいずれかの直前に投与するか、又はその逆とすることができる。別々に投与するプロトコルのいくつかの実施形態では、本開示の化合物及び上記の薬剤のいずれかを、数分間離して、又は数時間離して、又は数日間離して投与する。
【０３８０】
本発明の１つの態様は、別々に投与され得る薬学的に活性な化合物の組み合わせによる、疾患／状態の治療を意図しているので、本発明はさらに、別々の薬学的組成物をキット形態に組み合わせることに関する。キットは、２つの別々の医薬組成物：本発明の化合物、及び第２の医薬化合物を含む。キットは、分割されたボトル又は分割された箔パケットなどの、別々の組成物を収容する容器を含む。容器のさらなる例には、注射器、箱、及びバッグが含まれる。いくつかの実施形態では、キットは別々の成分の使用に関する説明書を含む。キット形態は、好ましくは別々の成分が異なる投薬形態（例えば、経口及び非経口）で投与される場合、異なる投薬間隔で投与される場合、又は、処方する医療専門家が組み合わせの個々の成分の用量設定を望む場合に特に有利である。
【０３８１】
＜ＡＭＧ５１０の合成＞
【０３８２】
本発明のＫＲＡＳ^{G12C}阻害剤には、国際公開第２０１８／１１９１８３号パンフレットに開示されているものが含まれる。
【０３８３】

【化２８】



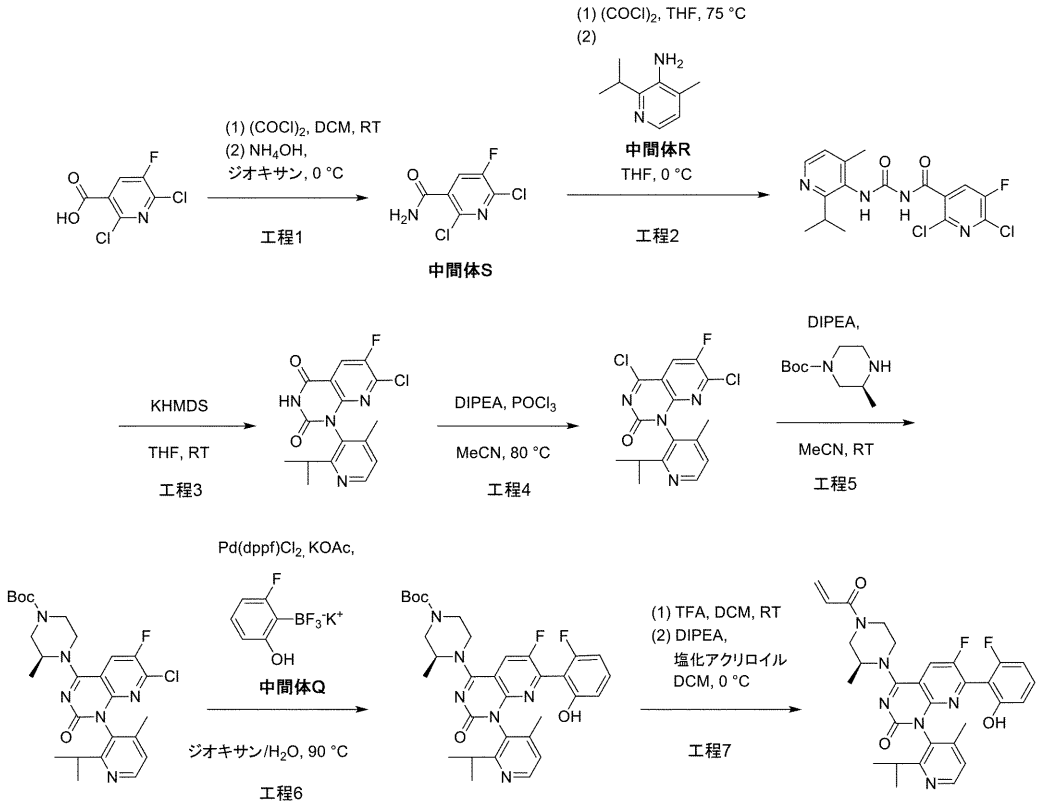
の構造を有するＡＭＧ５１０の合成は、２０１８年５月２１日に出願された米国特許出願第１５／９８４，８５５号明細書に記載があり、これは、２０１７年５月２２日に出願された米国仮特許出願第６２／５０９，６２９号明細書の優先権及び利益を主張するものであり、以下のとおりである。

【０３８４】

６－フルオロ－７－（２－フルオロ－６－ヒドロキシフェニル）－１－（４－メチル－２－（２－プロパニル）－３－ピリジニル）－４－（（２Ｓ）－２－メチル－４－（２－プロペノイル）－１－ピペラジニル）ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－２（１Ｈ）－オンを、最終生成物を分離してＭ－アトロプ異性体を単離する以下のプロセスを用いて調製した。

【０３８５】

【化２９】



【０３８６】

＜工程１：２，６－ジクロロ－５－フルオロニコチンアミド（中間体Ｓ）＞ジクロロメタン（４８ｍＬ）中の２，６－ジクロロ－５－フルオロ－ニコチン酸（４．０ｇ、１９．１ｍｍｏｌ、ＡｓｔａＴｅｃｈ　Ｉｎｃ、Ｂｒｉｓｔｏｌ、ＰＡ）の混合物に、塩化オキサリル（ＤＣＭ中の２Ｍ溶液、１１．９ｍＬ、２３．８ｍｍｏｌ）、続いて触媒量のＤＭＦ（０．０５ｍＬ）を加えた。反応物を室温で終夜撹拌し、その後、濃縮した。残渣を１

，４－ジオキサン（４８ｍＬ）に溶解し、０℃に冷却した。水酸化アンモニウム溶液（２８．０～３０％ＮＨ３ベース、３．６ｍＬ、２８．６ｍｍｏｌ）を、注射器からゆっくりと加えた。得られた混合物を０℃で３０分間撹拌し、次いで濃縮した。ＥｔＯＡｃ／ヘプタンの１：１混合物で残渣を希釈し、５分間撹拌し、その後、濾過した。濾過した固体は廃棄し、残りの母液を半分の体積まで部分的に濃縮し、濾過した。濾過した固体をヘプタンで洗浄し、減圧オーブン（４５℃）中で終夜乾燥させて、２，６－ジクロロ－５－フルオロニコチンアミドを得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_{6}$）δ　ｐｐｍ　８．２３（ｄ，Ｊ＝７．９Ｈｚ，１Ｈ）８．０９（ｂｒ　ｓ，１Ｈ）７．９３（ｂｒ　ｓ，１Ｈ）．ｍ／ｚ（ＥＳＩ，＋ｖｅ　イオン）：２１０．９（Ｍ＋Ｈ）．

【０３８７】

＜工程２：２，６－ジクロロ－５－フルオロ－Ｎ－（（２－イソプロピル－４－メチルピリジン－３－イル）カルバモイル）ニコチンアミド＞ＴＨＦ（２０ｍＬ）中の２，６－ジクロロ－５－フルオロニコチンアミド（中間体Ｓ、５．０ｇ、２３．９ｍｍｏｌ）の氷冷スラリーに、塩化オキサリル（ＤＣＭ中の２Ｍ溶液、１４．４ｍＬ、２８．８ｍｍｏｌ）を注射器によりゆっくりと加えた。得られた混合物を７５℃で１時間加熱し、その後、加熱を停止し、反応物を半分の体積にまで濃縮した。０℃に冷却した後、ＴＨＦ（２０ｍＬ）を加え、その後、２－イソプロピル－４－メチルピリジン－３－アミン（中間体Ｒ、３．５９ｇ、２３．９２ｍｍｏｌ）のＴＨＦ（１０ｍＬ）溶液を、カニューレにより滴下した。得られた混合物を０℃で１時間撹拌し、その後、塩水と塩化アンモニウム飽和水溶液の１：１混合物で反応を停止させた。混合物をＥｔＯＡｃ（３×）で抽出し、一緒にした有機層を無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濃縮して、２，６－ジクロロ－５－フルオロ－Ｎ－（（２－イソプロピル－４－メチルピリジン－３－イル）カルバモイル）ニコチンアミドを得た。この物質は、さらに精製することなく次の工程で使用した。ｍ／ｚ（ＥＳＩ、＋ｖｅ　イオン）：３８５．１（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$．

【０３８８】

＜工程３：７－クロロ－６－フルオロ－１－（２－イソプロピル－４－メチルピリジン－３－イル）ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－２，４（１Ｈ，３Ｈ）－ジオン＞２，６－ジクロロ－５－フルオロ－Ｎ－（（２－イソプロピル－４－メチルピリジン－３－イル）カルバモイル）ニコチンアミド（９．２ｇ、２４．０ｍｍｏｌ）の氷冷ＴＨＦ（４０ｍＬ）溶液に、ＫＨＭＤＳ（１ＭのＴＨＦ溶液、５０．２ｍＬ、５０．２ｍｍｏｌ）を注射器からゆっくりと加えた。氷浴を除去し、得られた混合物を室温で４０分間撹拌した。反応物を塩化アンモニウム飽和水溶液で停止させ、ＥｔＯＡｃで抽出した（３×）。一緒にした有機層を無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィー（溶離剤：０～５０％の３：１のＥｔＯＡｃ－ＥｔＯＨ／ヘプタン）により精製して、７－クロロ－６－フルオロ－１－（２－イソプロピル－４－メチルピリジン－３－イル）ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－２，４（１Ｈ，３Ｈ）－ジオンを得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_{6}$）δ　ｐｐｍ　１２．２７（ｂｒ　ｓ，１Ｈ），８．４８－８．５５（ｍ，２Ｈ），７．２９（ｄ，Ｊ＝４．８Ｈｚ，１Ｈ），２．８７（五重項，Ｊ＝６．６Ｈｚ，１Ｈ），１．９９－２．０６（ｍ，３Ｈ），１．０９（ｄ，Ｊ＝６．６Ｈｚ，３Ｈ），１．０１（ｄ，Ｊ＝６．６Ｈｚ，３Ｈ）．^{19}Ｆ　ＮＭＲ（３７６ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_{6}$）δ：－１２６．９０（ｓ，１　Ｆ）．ｍ／ｚ（ＥＳＩ，＋ｖｅ　イオン）：３４９．１（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$．

【０３８９】

＜工程４：４，７－ジクロロ－６－フルオロ－１－（２－イソプロピル－４－メチルピリジン－３－イル）ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－２（１Ｈ）－オン＞７－クロロ－６－フルオロ－１－（２－イソプロピル－４－メチルピリジン－３－イル）ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－２，４（１Ｈ，３Ｈ）－ジオン（４．７ｇ、１３．５ｍｍｏｌ）及びＤＩＰＥＡ（３．５ｍＬ、２０．２ｍｍｏｌ）のアセトニトリル（２０ｍＬ）溶液に、オキシ塩化リン（１．６３ｍＬ、１７．５ｍｍｏｌ）をシリンジから滴下した。得られた混合物を８０℃で１時間加熱し、その後、室温に冷却し、濃縮して、４，７－ジクロロ－

６－フルオロ－１－（２－イソプロピル－４－メチルピリジン－３－イル）ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－２（１Ｈ）－オンを得た。この物質は、さらに精製することなく次の工程で使用した。ｍ／ｚ（ＥＳＩ、＋ｖｅ　イオン）：３６７．１（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$．

【０３９０】

＜工程５：（Ｓ）－ｔｅｒｔ－ブチル４－（７－クロロ－６－フルオロ－１－（２－イソプロピル－４－メチルピリジン－３－イル）－２－オキソ－１，２－ジヒドロピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－４－イル）－３－メチルピペラジン－１－カルボキシレート＞４，７－ジクロロ－６－フルオロ－１－（２－イソプロピル－４－メチルピリジン－３－イル）ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－２（１Ｈ）－オン（１３．５ｍｍｏｌ）の氷冷アセトニトリル（２０ｍＬ）溶液に、ＤＩＰＥＡ（７．１ｍＬ、４０．３ｍｍｏｌ）、続いて（Ｓ）－４－Ｎ－Ｂｏｃ－２－メチルピペラジン（３．２３ｇ、１６．１ｍｍｏｌ、Ｃｏｍｂｉ－Ｂｌｏｃｋｓ、Ｉｎｃ．、Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ、ＵＳＡ）を加えた。得られた混合物を室温にまで温め、１時間撹拌し、その後、炭酸水素ナトリウム冷飽和水溶液（２００ｍＬ）及びＥｔＯＡｃ（３００ｍＬ）で希釈した。混合物をさらに５分間撹拌し、層を分離し、水層をさらなるＥｔＯＡｃ（１×）で抽出した。一緒にした有機層を無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィー（溶離剤：０～５０％のＥｔＯＡｃ／ヘプタン）により精製し、（Ｓ）－ｔｅｒｔ－ブチル４－（７－クロロ－６－フルオロ－１－（２－イソプロピル－４－メチルピリジン－３－イル）－２－オキソ－１，２－ジヒドロピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－４－イル）－３－メチルピペラジン－１－カルボキシレートを得た。ｍ／ｚ（ＥＳＩ、＋ｖｅ　イオン）：５３１．２（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$．

【０３９１】

＜工程６：（３Ｓ）－ｔｅｒｔ－ブチル４－（６－フルオロ－７－（２－フルオロ－６－ヒドロキシフェニル）－１－（２－イソプロピル－４－メチルピリジン－３－イル）－２－オキソ－１，２－ジヒドロピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－４－イル）－３－メチルピペラジン－１－カルボキシレート＞１，４－ジオキサン（８０ｍＬ）中の（Ｓ）－ｔｅｒｔ－ブチル４－（７－クロロ－６－フルオロ－１－（２－イソプロピル－４－メチルピリジン－３－イル）－２－オキソ－１，２－ジヒドロピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－４－イル）－３－メチルピペラジン－１－カルボキシレート（４．３ｇ、８．１ｍｍｏｌ）、トリフルオロ（２－フルオロ－６－ヒドロキシフェニル）ホウ酸カリウム（中間体Ｑ、２．９ｇ、１０．５ｍｍｏｌ）、酢酸カリウム（３．２ｇ、３２．４ｍｍｏｌ）及び［１，１’－ビス（ジフェニルホスフィノ）フェロセン］ジクロロパラジウム（ＩＩ）、ジクロロメタンとの錯体（６６１ｍｇ、０．８１ｍｍｏｌ）の混合物を窒素で１分間脱気した。脱酸素水（１４ｍＬ）を加え、得られた混合物を９０℃で１時間加熱した。反応物を室温にまで冷却し、炭酸水素ナトリウム半飽和水溶液で反応を停止させ、ＥｔＯＡｃ（２×）及びＤＣＭ（１×）で抽出した。一緒にした有機層を無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィー（溶離剤：０～６０％の３：１のＥｔＯＡｃ－ＥｔＯＨ／ヘプタン）により精製し、（３Ｓ）－ｔｅｒｔ－ブチル４－（６－フルオロ－７－（２－フルオロ－６－ヒドロキシフェニル）－１－（２－イソプロピル－４－メチルピリジン－３－イル）－２－オキソ－１，２－ジヒドロピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－４－イル）－３－メチルピペラジン－１－カルボキシレートを得た。^{1}ＨＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_{6}$）δ　ｐｐｍ　１０．１９（ｂｒ　ｓ，１Ｈ），８．３８（ｄ，Ｊ＝５．０Ｈｚ，１Ｈ），８．２６（ｄｄ，Ｊ＝１２．５，９．２Ｈｚ，１Ｈ），７．２３－７．２８（ｍ，１Ｈ），７．１８（ｄ，Ｊ＝５．０Ｈｚ，１Ｈ），６．７２（ｄ，Ｊ＝８．０Ｈｚ，１Ｈ），６．６８（ｔ，Ｊ＝８．９Ｈｚ，１Ｈ），４．７７－４．９８（ｍ，１Ｈ），４．２４（ｂｒ　ｔ，Ｊ＝１４．２Ｈｚ，１Ｈ），３．９３－４．０８（ｍ，１Ｈ），３．８４（ｂｒ　ｄ，Ｊ＝１２．９Ｈｚ，１Ｈ），３．５２－３．７５（ｍ，１Ｈ），３．０７－３．２８（ｍ，１Ｈ），２．６２－２．７４（ｍ，１Ｈ），１．８６－１．９３（ｍ，３Ｈ），１．４３－１．４８（ｍ，９Ｈ），１．３５（ｄｄ，Ｊ＝１０．８，６．８Ｈｚ，３Ｈ），１．２６－１．３２（ｍ，１Ｈ），１．０

７（ｄｄ，Ｊ＝６．６，１．７Ｈｚ，３Ｈ），０．９３（ｄｄ，Ｊ＝６．６，２．１Ｈｚ，３Ｈ）．^{19}Ｆ　ＮＭＲ（３７６ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_6$）δ：－１１５．６５（ｓ，１　Ｆ），－１２８．６２（ｓ，１　Ｆ）．ｍ／ｚ（ＥＳＩ，＋ｖｅ　イオン）：６０７．３（Ｍ＋Ｈ）．

【０３９２】

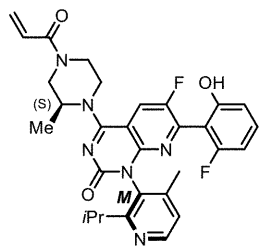
＜工程７：６－フルオロ－７－（２－フルオロ－６－ヒドロキシフェニル）－１－（４－メチル－２－（２－プロパニル）－３－ピリジニル）－４－（（２Ｓ）－２－メチル－４－（２－プロペノイル）－１－ピペラジニル）ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－２（１Ｈ）－オン＞トリフルオロ酢酸（２５ｍＬ、３２４ｍｍｏｌ）を、（３Ｓ）－ｔｅｒｔ－ブチル４－（６－フルオロ－７－（２－フルオロ－６－ヒドロキシフェニル）－１－（２－イソプロピル－４－メチルピリジン－３－イル）－２－オキソ－１，２－ジヒドロピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－４－イル）－３－メチルピペラジン－１－カルボキシレート（６．３ｇ、１０．４ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（３０ｍＬ）溶液に加えた。得られた混合物を室温で１時間撹拌し、その後、濃縮した。残渣をＤＣＭ（３０ｍＬ）に溶解し、０℃に冷却し、ＤＩＰＥＡ（７．３ｍＬ、４１．７ｍｍｏｌ）及び塩化アクリロイル（０．８４９ｍＬ、１０．４ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（３ｍＬ；シリンジから滴下）溶液で順次処理した。反応物を０℃で１０分間撹拌し、その後、炭酸水素ナトリウム半飽和水溶液で反応を停止させ、ＤＣＭで抽出した（２×）。一緒にした有機層を無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濃縮した。残渣のクロマトグラフィー精製（シリカゲル；溶離剤：０～１００％のＥｔＯＡｃ－ＥｔＯＨ（３：１）／ヘプタン）、続く超臨界流体クロマトグラフィー（Ｃｈｉｒａｌｐａｋ　ＩＣ、３０×２５０ｍｍ、５μｍ、５５％ＭｅＯＨ／ＣＯ$_2$、１２０ｍＬ／分、１０２ｂａｒ；最初に溶出するピークを回収）を使用したキラル分離により、ＡＭＧ５１０（２．２５ｇ、収率４３％）を得た。６－フルオロ－７－（２－フルオロ－６－ヒドロキシフェニル）－１－（４－メチル－２－（２－プロパニル）－３－ピリジニル）－４－（（２Ｓ）－２－メチル－４－（２－プロペノイル）－１－ピペラジニル）ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－２（１Ｈ）－オン。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_6$）δ　ｐｐｍ　１０．２０（ｓ，１Ｈ），８．３９（ｄ，Ｊ＝４．８Ｈｚ，１Ｈ），８．２４－８．３４（ｍ，１Ｈ），７．２３－７．３２（ｍ，１Ｈ），７．１９（ｄ，Ｊ＝５．０Ｈｚ，１Ｈ），６．８７（ｔｄ，Ｊ＝１６．３，１１．０Ｈｚ，１Ｈ），６．７４（ｄ，Ｊ＝８．６Ｈｚ，１Ｈ），６．６９（ｔ，Ｊ＝８．６Ｈｚ，１Ｈ），６．２１（ｂｒ　ｄ，Ｊ＝１６．２Ｈｚ，１Ｈ），５．７４－５．８０（ｍ，１Ｈ），４．９１（ｂｒ　ｓ，１Ｈ），４．２３－４．４５（ｍ，２Ｈ），３．９７－４．２１（ｍ，１Ｈ），３．４４－３．７９（ｍ，２Ｈ），３．１１－３．３１（ｍ，１Ｈ），２．６７－２．７７（ｍ，１Ｈ），１．９１（ｓ，３Ｈ），１．３５（ｄ，Ｊ＝６．８Ｈｚ，３Ｈ），１．０８（ｄ，Ｊ＝６．６Ｈｚ，３Ｈ），０．９４（ｄ，Ｊ＝６．８Ｈｚ，３Ｈ）．^{19}Ｆ　ＮＭＲ（３７６ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_6$）δ　ｐｐｍ　－１１５．６４（ｓ，１Ｆ），　－１２８．６３（ｓ，１　Ｆ）．ｍ／ｚ（ＥＳＩ，＋ｖｅ　イオン）：５６１．２（Ｍ＋Ｈ）$^+$．

【０３９３】

本明細書では、ＡＭＧ５１０は、

【０３９４】

【化３０】



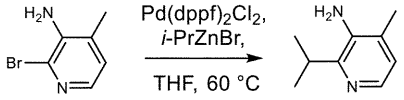
の式を有する、６－フルオロ－７－（２－フルオロ－６－ヒドロキシフェニル）－１－（４－メチル－２－（２－プロパニル）－３－ピリジニル）－４－（（２Ｓ）－２－メチル－４－（２－プロペノイル）－１－ピペラジニル）ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－２（１Ｈ）－オンのＭアトロプ異性体、又は薬学的に許容されるその塩である。

【０３９５】

＜中間体の合成＞

【０３９６】

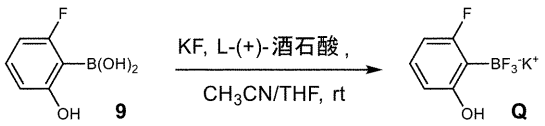
【化３１】



3 R

＜２－イソプロピル－４－メチルピリジン－３－アミン（Ｒ）＞［１，１’－ビス（ジフェニルホスフィノ）フェロセン］ジクロロパラジウム（ＩＩ）、ジクロロメタンとの錯体（７９ｍｇ、０．１０ｍｍｏｌ）を、３－アミノ－２－ブロモ－４－ピコリン（３；３６０ｍｇ、１．９ｍｍｏｌ，Ｃｏｍｂｉ－Ｂｌｏｃｋｓ，Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）のＴＨＦ（４ｍＬ）中スラリーに加え、得られた混合物にアルゴンを２分間注入した。２－プロピル亜鉛ブロミド（ＴＨＦ溶液中０．５Ｍ、５．４０ｍＬ、２．７ｍｍｏｌ）を加え、得られた溶液を６０℃で１７時間加熱し、その後、室温にまで冷却した。水（１０ｍＬ）及び１ＮのＮａＯＨ水溶液（２０ｍＬ）を加え、得られた混合物をＥｔＯＡｃで抽出した（２×）。一緒にした有機層を無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空濃縮した。残渣のクロマトグラフィー精製（シリカゲル；溶離剤：０～１５％ＭｅＯＨ／ＤＣＭ）により、Ｒ（２８４ｍｇ、収率９８％）を得た。^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_{6}$）：δ　７．６６　ｐ．ｐ．ｍ．（ｄ，Ｊ＝４．６Ｈｚ，１Ｈ），６．７８（ｄ，Ｊ＝４．８Ｈｚ，１Ｈ），４．７２（ｂｒ　ｓ，２Ｈ），３．１４－３．２５（ｍ，１Ｈ），２．０８（ｓ，３Ｈ），１．１４（ｄ，Ｊ　＝　６．８Ｈｚ，６Ｈ）；ｍ／ｚ（ＥＳＩ，＋ｖｅ　イオン）：１５１．１（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$．

【化３２】

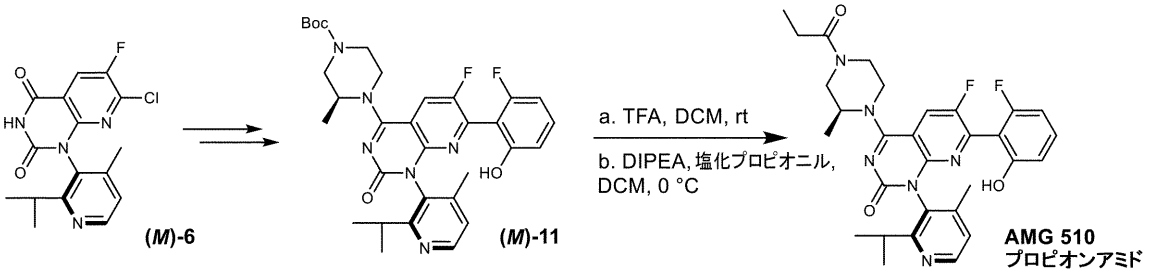


9 Q

【０３９７】

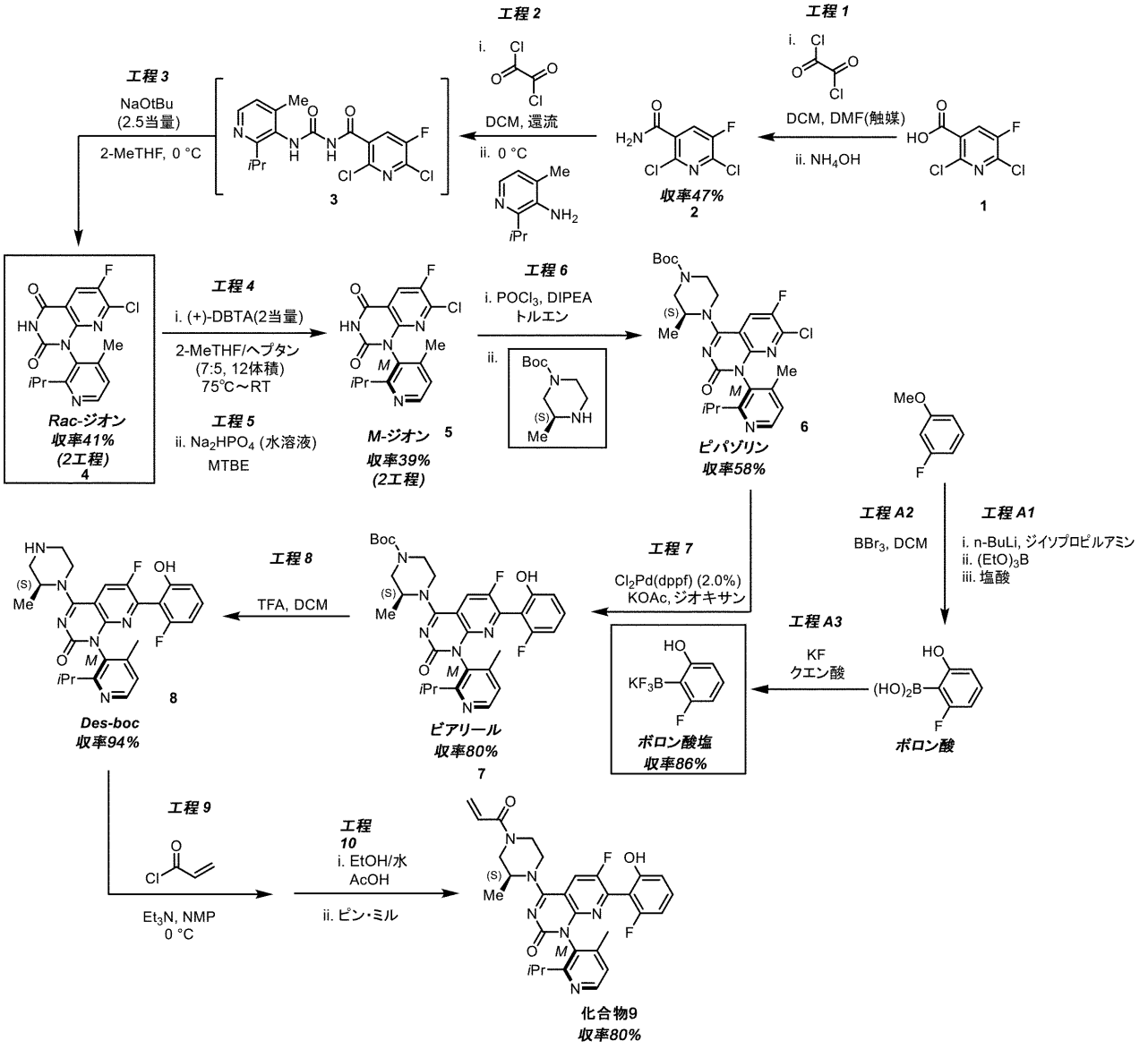
＜（２－フルオロ－６－ヒドロキシフェニル）トリフルオロホウ酸カリウム（Ｑ）＞フッ化カリウム（４４．７ｇ、７７０ｍｍｏｌ）の水（７５ｍＬ）溶液を、（２－フルオロ－６－ヒドロキシフェニル）ボロン酸（９；３０ｇ、１９２ｍｍｏｌ、Ｃｏｍｂｉ－Ｂｌｏｃｋｓ、Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ）のアセトニトリル（７５０ｍＬ）中懸濁液に加えた。２分間撹拌した後、ＴＨＦ（３７５ｍＬ）中のＬ－（＋）－酒石酸（７２．２ｇ、４８１ｍｍｏｌ）の溶液を１０分間かけて加えた。得られた混合物を１時間、機械的に撹拌した。懸濁した固体を濾過により除去し、少量のＴＨＦで洗浄した。その後、固体が沈殿し始めるまで、一緒にした濾液を真空中で部分的に濃縮した。濾液を－２０℃に冷却し、１６時間撹拌し、その後、周囲温度にまでゆっくりと温めた。２－プロパノール（２０ｍＬ）を加え、沈殿した固体を濾過により回収し、２－プロパノールで洗浄して、２７．５ｇの固体を得た。濾液を再び部分的に濃縮し（沈殿が観察されるまで）、－２０℃に冷却し、２０分間撹拌した。さらに２－プロパノールを加え、沈殿した固体を濾過により回収し、２－プロパノールで洗浄した。２バッチの固体を一緒にして、Ｑ（３４．６ｇ、収率８２％）を得た。^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_{6}$）：δ　８．０７　ｐ．ｐ．ｍ．（ｑ，Ｊ＝１４．７Ｈｚ，１Ｈ），６．９３（ｑ，Ｊ＝７．５Ｈｚ，１Ｈ），６

．３０－６．３８（ｍ，２Ｈ）．
【０３９８】
＜ＡＭＧ５１０プロピオンアミドの合成＞
【０３９９】
【化３３】



＜（Ｍ）－６及び（Ｍ）－１１＞ラセミ体６を超臨界流体クロマトグラフィー（Ｃｈｉｒａｌｐａｋ　ＡＤ、２１×２５０ｍｍ、５μｍ、４０％ＭｅＯＨ／CO_2、８０ｍＬ／分、１１０ｂａｒ；第２の溶出ピークを回収）により分離して（Ｍ）－６を得、これをラセミ体基質について報告された手順を用いて（Ｍ）－１１に変換した。
【０４００】
（Ｍ）－６－フルオロ－７－（２－フルオロ－６－ヒドロキシフェニル）－１－（４－メチル－２－（２－プロパニル）－３－ピリジニル）－４－（（２Ｓ）－２－メチル－４－プロパノイル－１－ピペラジニル）ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－２（１Ｈ）－オン（ＡＭＧ５１０プロピオンアミド）：トリフルオロ酢酸（４．０ｍｌ、５１．９ｍｍｏｌ）を（Ｍ）－１１（０．１９６ｇ、０．３２３ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（５ｍｌ）溶液に添加し、得られた混合物を室温で２０分間撹拌した。その後、混合物を真空中で濃縮し、残渣をＤＣＭ（１０ｍＬ）に取り、０℃に冷却し、ＤＩＰＥＡ（０．１６９ｍＬ、０．９６９ｍｍｏｌ）及び塩化プロピオニル（０．０１６ｍＬ、０．１９４ｍｍｏｌ）で順次処理した。得られた混合物を０℃で１０分間撹拌し、その後、炭酸水素ナトリウム飽和水溶液で希釈し、ＤＣＭで抽出した（２×）。一緒にした抽出物を無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空濃縮した。残渣のクロマトグラフィー精製（シリカゲル；溶離剤：０～７０％のＥｔＯＡｃ－ＥｔＯＨ（３：１）／ヘプタン）により、ＡＭＧ５１０プロピオンアミド（０．１８０ｇ、収率９９％）を得た。^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－d_6）：δ　１０．２０　ｐ．ｐ．ｍ（ｓ，１Ｈ），８．４０（ｄ，Ｊ＝５．０Ｈｚ，１Ｈ），８．２７（ｂｒ　ｄｄ，Ｊ＝１５．１，９．３Ｈｚ，１Ｈ），７．２７（ｍ，１Ｈ），７．２１（ｂｒ　ｄ，Ｊ＝４．８Ｈｚ，１Ｈ），６．７３（ｄ，Ｊ＝８．３Ｈｚ，１Ｈ），６．６９（ｔ，Ｊ＝８．９Ｈｚ，１Ｈ），４．８７（ｂｒ　ｓ，１Ｈ），４．３１（ｍ，１．５Ｈ），４．２１（ｂｒ　ｄ，Ｊ＝１３．５Ｈｚ，０．５Ｈ），３．９４（ｂｒ　ｄ，Ｊ＝１２．２Ｈｚ，０．５Ｈ），３．８２（ｂｒ　ｄ，Ｊ＝１３．３Ｈｚ，０．５Ｈ），３．６２－３．７６（ｍ，１Ｈ），３．５２－３．６２（ｍ，０．５Ｈ），３．４３－３．５１（ｍ，０．５Ｈ），３．１８（ｂｒ　ｄｄ，Ｊ＝１３．３，３．３Ｈｚ，０．５Ｈ），３．０６（ｂｒ　ｔ，Ｊ＝１０．７Ｈｚ，０．５Ｈ），２．７３（ｂｒ　ｄｄ，Ｊ＝１０．５，６．１Ｈｚ，１Ｈ），２．３３－２．４８（ｍ，２Ｈ），１．９１（ｓ，３Ｈ），１．２９－１．４２（ｍ，３Ｈ），０．９８－１．１２（ｍ，６Ｈ），０．９４（ｄ，Ｊ＝６．６Ｈｚ，３Ｈ）；ｍ／ｚ（ＥＳＩ，＋ｖｅ　イオン）：５６３．２（Ｍ＋Ｈ）$^+$．
【０４０１】
ＡＭＧ５１０は別の方法で合成され、関連する中間体は、２０１８年１１月１６日出願の米国仮特許出願第６２／７６８，８０２号に記載された。別の方法は、以下の工程を含み、工程４及び５のｒａｃ－ジオンの分離が、アトロプ異性体の分離の成功を促進する：
【０４０２】

【化３４】



【０４０３】

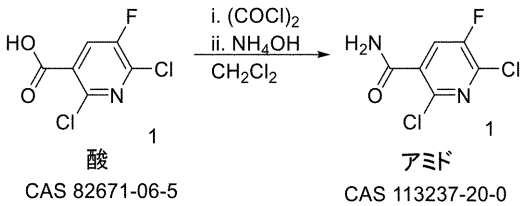
＜プロセスの説明＞

【０４０４】

＜工程１＞：

【０４０５】

【化３５】



【０４０６】

【表２】

材料	CAS 番号	MW (g/mol)	当量/体積	モル	理論量
2,6-ジクロロ-5-フルオロ-3-ピリジンカルボン酸	82671-06-5	209.99	1.0 当量	119.1	25kg
DCM	74-09-2	84.93	16.51 当量	2354.9	200kg
DMF	68-12-2	73.09	0.068 当量	8.1	592g (627 mL)
塩化オキサリル	79-37-8	126.93	1.25 当量	148.9	18.9kg
水酸化アンモニウム	1336-21-6	35.05	5 当量	595.5	40.2L
水	7732-18-5	18.02	該当なし	該当なし	261L

【０４０７】

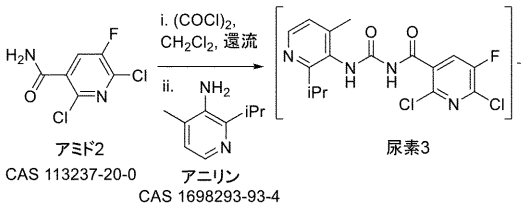
ジクロロメタン（１６７ｋｇ）及びＤＭＦ（５９２ｇ）中の２，６－ジクロロ－５－フルオロ－３－ピリジンカルボン酸（化合物１）（２５ｋｇ；１１９．１ｍｏｌ）の溶液に、内部温度を１５～２０℃の間に維持しながら、塩化オキサリル（１８．９ｋｇ；１４８．９ｍｏｌ）を加えた。追加のジクロロメタン（３３ｋｇ）を濯ぎとして加え、反応混合物を２時間撹拌した。反応混合物を冷却し、その後、内部温度を０±１０℃に維持しながら、水酸化アンモニウム（４０．２Ｌ；５９５．５ｍｏｌ）により反応を停止させた。得られたスラリーを９０分間撹拌し、その後、濾過により生成物を回収した。濾過した固体をＤＩ水で洗浄（３×８７Ｌ）し、乾燥させて、２，６－ジクロロ－５－フルオロニコチンアミド（化合物２）を得た。

【０４０８】

＜工程２＞：

【０４０９】

【化３６】



【０４１０】

【表３】

材料	CAS 番号	MW (g/mol)	当量/体積	モル	理論量
アミド (2,6-ジクロロ-5-フルオロニコチンアミド)	113237-20-0	209.99	1.0 当量	77.8	16.27kg
塩化オキサリル	79-37-8	126.93	1.2 当量	93.8	11.9kg (7.9L)
ジクロロメタン	75-09-2	84.93	該当なし	該当なし	730.7kg (551.5L)
アニリン DCM 溶液 2-イソプロピル-4-メチルピリジン-3-アミン	1698293-93-4	150.22	1.1 当量	85.9	12.9kg (アニリン含有重量)

【０４１１】

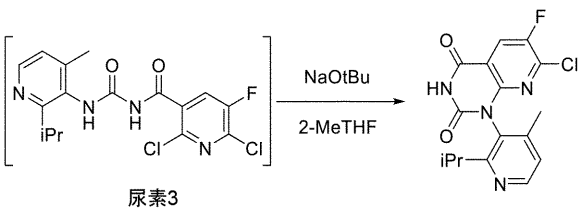
反応器Ａ内で、２，６－ジクロロ－５－フルオロニコチンアミド（化合物２）（１６．２７ｋｇ；７７．８ｍｏｌ）のジクロロメタン（３５９．５ｋｇ）溶液に、温度≦２５℃を７５分間維持しながら、塩化オキサリル（１１．９ｋｇ；９３．８ｍｏｌ）を加えた。その後、得られた溶液を４０℃±３℃に加熱し、３時間エージングした。真空を使用して、溶液を蒸留し、溶液が撹拌機の下になるまでジクロロメタンを除去した。その後、ジクロロメタン（３００ｋｇ）を加え、混合物を０±５℃に冷却した。清浄な乾燥した反応器（反応器Ｂ）に、２－イソプロピル－４－メチルピリジン－３－アミン（ＡＮＩＬＩＮＥ）（１２．９ｋｇ；８５．９ｍｏｌ）、続いてジクロロメタン（１０２．６ｋｇ）を加えた。内部温度を２０～２５℃の間に維持しながら、ＫＦ分析で溶液が乾燥（限界≦０．０５％）するまでさらなるジクロロメタンで置き換えながら、真空蒸留によりＡＮＩＬＩＮＥ溶液を共沸乾燥した。ジクロロメタンにより、溶液の体積を約２３Ｌ体積に調節した。その後、乾燥したＡＮＩＬＩＮＥ溶液を反応器Ａに加えた（その間、０±５℃の内部温度を維持した）。その後、混合物を２３℃に加熱し、１時間エージングした。溶液を清浄な反応器中へ仕上げ濾過し、ＤＣＭ中の溶液として２，６－ジクロロ－５－フルオロ－Ｎ－（（２－イソプロピル－４－メチルピリジン－３－イル）カルバモイル）ニコチンアミド（化合物３）を得、次の工程で直接使用した。

【０４１２】

＜工程３＞：

【０４１３】

【化３７】



尿素3　　rac-ジオン4

【０４１４】
【表４】

材料	CAS 番号	MW (g/mol)	当量/体積	モル	理論量
尿素の DCM 溶液	該当なし	385.22	1.0 当量	38.9	208.3kg (15kg を含む重量)
2,6-ジクロロ-5-フルオロ-*N*-{[4-メチル-2-(プロパン-2-イル)ピリジン-3-イル]カルバモイル}ピリジン-3-カルボキサミド					
2-メチルテトラヒドロフラン	96-47-9	86.13	該当なし	該当なし	308kg (358L)
ナトリウム tert-ブトキシド	865-48-5	96.11	2.0 当量	97.8	9.4kg
塩化アンモニウム	12125-02-9	53.49	該当なし	430	23.0kg
塩酸	7467-01-0	36.46	該当なし	41	1.6kg
硫酸マグネシウム	7487-88-9	120.37	該当なし	195	23.5kg
塩化ナトリウム	7647-14-5	58.44	該当なし	282	16.5kg
ヘプタン	142-82-5	100.21	該当なし	該当なし	94L
10%クエン酸					75kg

【０４１５】
２，６－ジクロロ－５－フルオロ－Ｎ－｛［４－メチル－２－（プロパン－２－イル）ピリジン－３－イル］カルバモイル｝ピリジン－３－カルボキサミド（尿酸（化合物３））（１５ｋｇ含有；３８．９ｍｏｌ）のジクロロメタン溶液を、２０～２５℃の内部温度を維持しながら、真空蒸留を用いて２－ＭｅＴＨＦに溶媒交換した。反応器容積を４０Ｌに調節し、その後、追加の２－ＭｅＴＨＦ（１０５．４ｋｇ）を加えた。５～１０℃を維持しながら、ナトリウムｔ－ブトキシド（９．４ｋｇ；９７．８ｍｏｌ）を添加した。内容物を２３℃に温め、３時間撹拌した。その後、内容物を０～５℃に冷却し、ＤＩ水６０Ｌの溶液として塩化アンモニウム（２３．０ｋｇ；４３０ｍｏｌ）を加えた。混合物を２０℃に温め、ＤＩ水（１５Ｌ）を加え、さらに３０分間エージングした。撹拌を停止し、層を分離した。水層を除去し、有機層にＤＩ水（８１．７Ｌ）を加えた。濃ＨＣｌ（１．５ｋｇ）と水（９Ｌ）の混合物を調製し、その後、ｐＨが４～５の間と測定されるまで反応器にゆっくりと加えた。層を分離し、２－ＭｅＴＨＦ（４２．２ｋｇ）を用いて水層を逆抽出した。２つの有機層を一緒にし、１０％クエン酸溶液（７５ｋｇ）、続いて水（８１．７Ｌ）と飽和ＮａＣｌ（１９．８ｋｇ）の混合物で洗浄した。その後、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム（７５ｋｇ）で洗浄し、必要であれば洗浄を繰り返し、水性物の目標ｐＨ≧７．０を達成した。有機層を塩水（５４．７ｋｇ）で再び洗浄し、次いで硫酸マグネシウム（５ｋｇ）上で乾燥させた。混合物を濾過して硫酸マグネシウムを除去し、濾過層を２－ＭｅＴＨＦ（４９．２ｋｇ）で濯いだ。一緒にした濾液及び洗浄液を、４０Ｌの体積にまで真空蒸留した。濃縮溶液を５５℃に加熱し、ヘプタン（１０～１２ｋｇ）を曇り点までゆっくりと加えた。２時間かけて溶液を２３℃に冷却し、その後２時間かけて、ヘプタン（２７．３ｋｇ）を加えた。生成物スラリーを２０～２５℃で３時間エージングし、その後濾過し、２－ＭｅＴＨＦ（２．８ｋｇ）とヘプタン（９ｋｇ）の混合物で洗浄した。生成物を窒素及び真空を用いて乾燥させ、７－クロロ－６－フルオロ－１－（２－

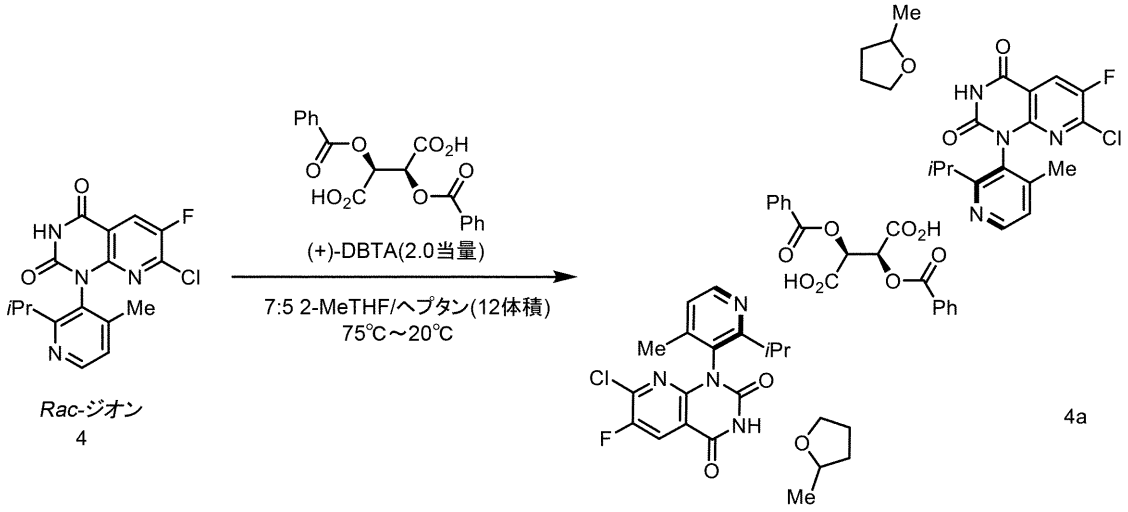
イソプロピル－４－メチルピリジン－３－イル）ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－２，４（１Ｈ，３Ｈ）－ジオン（ｒａｃ－ＤＩＯＮＥ（化合物４））の固体を得た。

【０４１６】

＜工程４＞：

【０４１７】

【化３８】



【０４１８】

【表５】

材料	CAS 番号	MW (g/mol)	当量/体積	モル	理論量
Rac-ジオン	該当なし	348.76	1.0	-	-
(+)-2,3-ジベンゾイル-D-酒石酸	17026-42-5	358.30	2.0	-	-
2-メチルテトラヒドロフラン	96-47-9	86.13	7.0	-	-
ヘプタン	142-82-5	100.21	2.0	-	-
ヘプタン	142-82-5	100.21	3.0	-	-
2-メチルテトラヒドロフラン	96-47-9	86.13	4.0	-	-
ヘプタン	142-82-5	100.21	2.0	-	-

【０４１９】

窒素雰囲気下、（＋）－２，３－ジベンゾイル－Ｄ－酒石酸（２．０当量）とともに、化合物４（１．０当量）の２－メチルテラヒドロフラン（７．０Ｌ／ｋｇ）中撹拌懸濁液を容器に加えた。２－ＭｅＴＨＦはキラルであるが、ラセミ混合物として使用される。２－ＭｅＴＨＦの異なる鏡像異性体は、共結晶中にランダムに組み込まれる。得られた懸濁液を７５℃に温め、完全な溶解が観察されるまで（≦３０分）、７５℃でエージングした。得られた溶液を７５℃で第２の容器中に仕上げ濾過した。仕上げ濾過した溶液に、内部温度を６５℃より高く維持する速度でｎ－ヘプタン（２．０Ｌ／ｋｇ）を加えた。その後

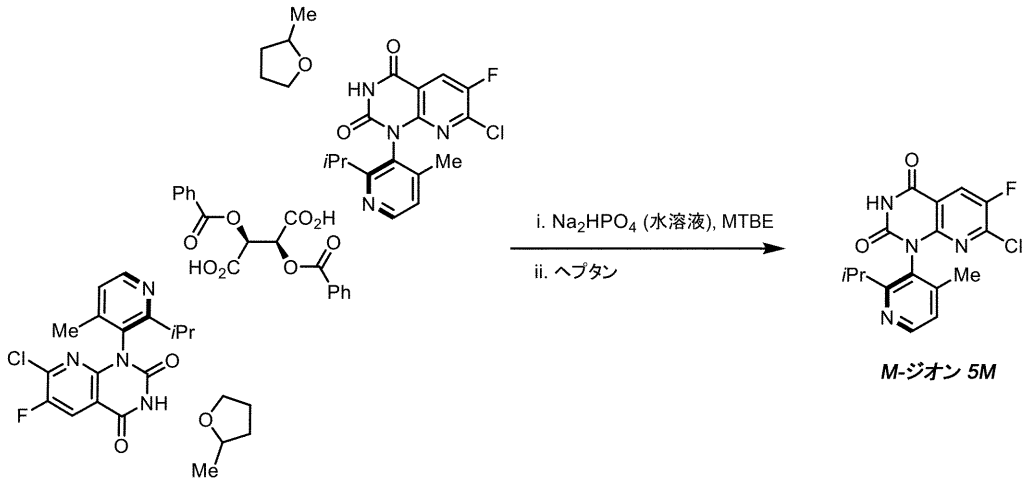
、溶液を６０℃に冷却し、種結晶（０．０１ｋｇ／ｋｇ）を加え、３０分間熟成させた。得られた懸濁液を４時間かけて２０℃に冷却し、その後、ＨＰＬＣによるキラル純度分析のためにサンプリングした。懸濁液にｎ－ヘプタン（３．０Ｌ／ｋｇ）を加え、その後、窒素雰囲気下、２０℃で４時間エージングした。懸濁液を濾過し、単離した固体を（２：１）ｎ－ヘプタン：２－メチルテトラヒドロフラン（３．０Ｌ／ｋｇ）で２回洗浄した。この物質を窒素及び真空下で乾燥させて、Ｍ－ジオン：ＤＢＴＡ：Ｍｅ－ＴＨＦ複合体（化合物４ａ）を得た。

【０４２０】

＜工程５＞：

【０４２１】

【化３９】



M-ジオン 5M

M-ジオン/DBTA/2-MeTHFの共結晶4a

【０４２２】

【表６】

材料	CAS 番号	MW (g/mol)	当量/体積	モル	理論量
M-ジオン/DBTA/Me-THF 共結晶	該当なし	1228.08	1.0	74.2	46.9kg (M-ジオンについて補正すると 25.9kg)
メチル *tert*-ブチルエーテル	1634-04-4	88.15	45.0	17593	2100L
リン酸水素二ナトリウム	7558-79-4	141.96	2.0	148.4	21.1kg
USP 精製水					必要に応じて
硫酸マグネシウム	7487-88-9	120.37	該当なし	該当なし	25kg
ヘプタン	142-82-5	100.20	60.0	19322	2835L

【０４２３】

容器Ａに向けて、リン酸水素二ナトリウム（２１．１ｋｇ、２．０当量）のＤＩ水（２９６．８Ｌ、６．３Ｌ／ｋｇ）中懸濁液を、溶解が観察されるまで（≧３０分）撹拌した。容器Ｂに向けて、Ｍ－ジオン：ＤＢＴＡ：Ｍｅ－ＴＨＦ複合体（組成物４ａ）［４６．９ｋｇ（Ｍ－ジオンについて補正して２５．９ｋｇ、１．０当量）］のメチルｔｅｒｔ－

ブチルエーテル（５１７．８Ｌ、１１．０Ｌ／ｋｇ）中懸濁液を１５～３０分間撹拌した。容器Ａから得られた溶液を容器Ｂに加え、その後、混合物を３時間超撹拌した。撹拌を停止させ、分離のために二相混合物を３０分超放置した。下部の水相を除去し、その後、メチルｔｅｒｔ－ブチルエーテル（７７．７Ｌ、１．７Ｌ／ｋｇ）で逆抽出した。有機相を容器Ｂ中で一緒にし、硫酸マグネシウム（２４．８ｋｇ、０．５２９ｋｇ／ｋｇ）で乾燥させた。容器Ｂから得られた懸濁液を３時間超撹拌し、その後、容器Ｃに濾過した。容器Ｂに、メチルｔｅｒｔ－ブチルエーテル（４６．９Ｌ、１．０Ｌ／ｋｇ）リンス液を加え、その後、容器Ｃに濾過した。容器Ｃの内容物を１０℃に冷却し、その後、真空下で３５℃までゆっくりと加温しながら蒸留した。３２０～３５０ｋｇ（６．８～７．５ｋｇ／ｋｇ）のメチルｔｅｒｔ－ブチルエーテルが回収されるまで蒸留を続けた。容器Ｃの内容物を２０℃に冷却した後、ｎ－ヘプタン（２７８．７Ｌ、５．９Ｌ／ｋｇ）を１時間かけて加え、その後、３５℃にまでゆっくりと加温しながら真空蒸留した。１９０～２００ｋｇ（４．１～４．３ｋｇ／ｋｇ）のメチルｔｅｒｔ－ブチルエーテル及びｎ－ヘプタン混合物が回収されるまで蒸留を続けた。容器Ｃの内容物を２０℃に冷却した後、２回目のｎ－ヘプタン（２７８．７Ｌ、５．９Ｌ／ｋｇ）を１時間かけて加え、その後、３５℃にまでゆっくりと加温しながら真空蒸留した。１９０～２００ｋｇ（４．１～４．３ｋｇ／ｋｇ）のメチルｔｅｒｔ－ブチルエーテル及びｎ－ヘプタン混合物が回収されるまで蒸留を続けた。容器Ｃの内容物を２０℃に冷却した後、３回目のｎ－ヘプタン（１９５．９Ｌ、４．２Ｌ／ｋｇ）を１時間かけて加え、その後、ＧＣによる溶媒組成分析用にサンプリングした。容器Ｃの懸濁液を１時間超撹拌し続けた。懸濁液を濾過し、その後、容器Ｃからのｎ－ヘプタン（６８．６Ｌ、１．５Ｌ／ｋｇ）リンス液で洗浄した。単離された固体を５０℃で乾燥させ、試料を貯蔵適合性のために提出した。７－クロロ－６－フルオロ－（１Ｍ）－１－［４－メチル－２－（プロパン－２－イル）ピリジン－３－イル］ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－２，４（１Ｈ，３Ｈ）－ジオン（Ｍ－ＤＩＯＮＥ）の化合物５Ｍを得た。

【０４２４】

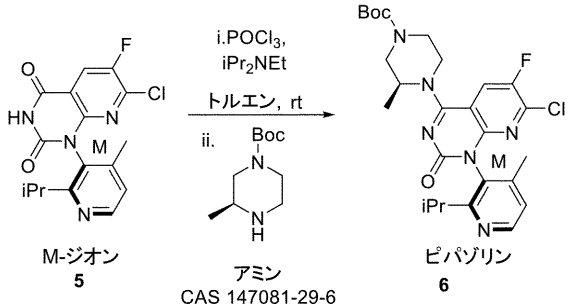
上で強調した第１世代のプロセスでは、２００＋ｋｇのｒａｃ－ジオン出発物質（化合物５）では規模の対応ができた。このプロセスでは、結晶化に熱力学的に安定なｒａｃ－ジオン結晶形態（これは低い溶解度を示す）の種を加えることは、バッチの失敗を引き起こすであろう。我々のその後の研究に基づき、我々はヘプタン添加スケジュールを調節することによる、ＤＢＴＡ当量の増加、及び種の添加温度の低下が、プロセスの頑健性を改善することを見出した。改良された方法は熱力学的に安定なｒａｃ－ジオン結晶形態の存在に対して抵抗性があり、アトロプ異性体分離の成功を促進する。その後のバッチは、大規模製造のために、改善されたプロセスを組み込むであろう。

【０４２５】

＜工程６＞：

【０４２６】

【化４０】



【０４２７】

【表７】

材料	CAS 番号	MW (g/mol)	当量/体積	モル	理論量
M-ジオン	該当なし	348.76	1 当量	9.8	3.7kg
トルエン	108-88-3	92.14	該当なし	375	34.6kg(40L)
塩化ホスホリル	10025-87-3	153.33	1.2 当量	11.7	1.8kg (1.1L)
N,N-ジイソプロピルエチルアミン	7087-68-5	129.24	3.0 当量	29.4	3.8kg (5.1L)
(s)-1-Boc-3-メチルピペラジン	147081-29-6	200.28	1.1 当量	10.8	2.214kg
炭酸水素ナトリウム	144-55-8	84.01	該当なし	該当なし	973g
ジクロロメタン	75-09-2	84.93	該当なし	871	74kg(55.6L)
塩化ナトリウム	7647-14-5	58.44	該当なし	103	6.0 kg
エチルアセテート	141-78-6	88.11	該当なし	288	25.4kg(28.2L)

【０４２８】

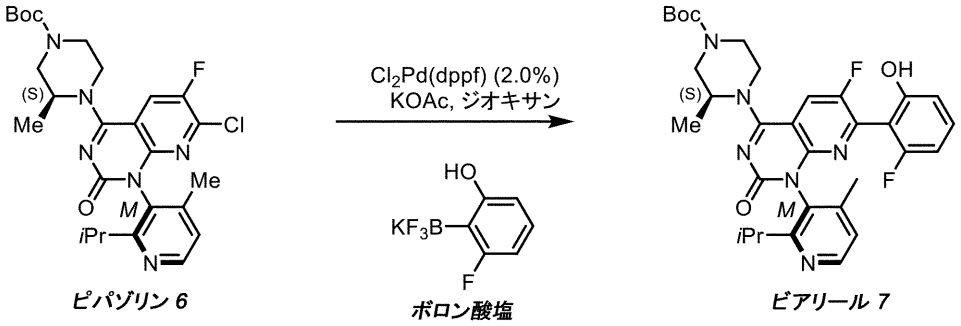
７－クロロ－６－フルオロ－（１Ｍ）－１－［４－メチル－２－（プロパン－２－イル）ピリジン－３－イル］ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－２，４（１Ｈ，３Ｈ）－ジオン（Ｍ－ＤＩＯＮＥ）（３．７ｋｇ；９．８ｍｏｌ）を１０．５ｋｇのトルエンと反応器（Ａ）中で一緒にし、設定点を４５℃に維持しながら、油状になるまで蒸留して水を除去した。トルエン（２１ｋｇ）を残渣に加え、混合物を４０～４５℃で３０分間撹拌した。内容物を２２℃に冷却し、その後、塩化ホスホリル（１．８ｋｇ；１１．７ｍｏｌ）を加えた。混合物を０～５℃に冷却した後、温度を５℃未満に維持しながら、Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミン（２．５ｋｇ；１９．３４ｍｏｌ）を加えた。溶液を２２℃で３時間エージングした。別の反応器（Ｂ）中で、（ｓ）－１－ｂｏｃ－３－メチルピペラジン（２．２１ｋｇ；１０．８ｍｏｌ）及びＮ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミン（１．２６ｋｇ；９．７５ｍｏｌ）をトルエン（６ｋｇ）中で一緒にし、＜２５℃を維持しながら反応器（Ａ）に加えた。反応混合物を２２℃で１５分間エージングし、その後、温度＜２５℃を維持しながら、水（１２．９Ｌ）中の炭酸水素ナトリウム（９７３ｇ）でクエンチした。混合物を３０分間撹拌し、その後、１時間撹拌し続けながらＤＣＭ（３６．８ｋｇ）を加えた。層を分離することが可能となり、下部の有機層を反応器（Ｃ）に排出した。反応器（Ａ）中の水層をＤＣＭ（１８．４ｋｇ）を用いて逆抽出し、一緒にした有機層を塩水溶液（６．０ｋｇのＮａＣｌ；１６．５ｋｇのＤＩ水）で洗浄した。内部温度を４５～５５℃の間に維持ながら、有機層を大気圧下で蒸留した。蒸留中にＤＣＭを交換して、溶液を共沸乾燥させる。蒸留後、ＤＣＭを用いて溶液体積を１９Ｌに調節した。溶液を３０℃に冷却し、仕上げ濾過した。濾液に酢酸エチル（８．５ｋｇ）を加え、その後、１１～１３ｋｇが受器に回収されるまで大気圧で蒸留した。溶液に３０ｇの真正生成物の種を加え、２５～３０℃で１時間エージングし、その後、大気圧下、４５～５５℃の内部温度で、８．２ｋｇの留出物が回収されるまでさらに蒸留した。スラリーを２２℃に冷却し、一晩エージングさせた後、さらに０～５℃に冷却した。生成物を濾過により回収し、酢酸エチル（各４．２ｋｇ）を用いて２回洗浄した。ケーキを窒素及び真空下で乾燥させて、ｔｅｒｔ－ブチル（３Ｓ）－４－｛７－クロロ－６－フルオロ－（１Ｍ）－１－［４－メチル－２－（プロパン－２－イル）ピリジン－３－イル］－２－オキソ－１，２－ジヒドロピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－４－イル｝－３－メチルピペラジン－１－カルボキシレート（化合物６、ＰＩＰＡＺＯＬＩＮＥ）を得た。

【０４２９】

＜工程７＞：

【０４３０】

【化４１】



ピパゾリン 6　　ボロン酸塩　　ビアリール 7

【０４３１】

【表８】

材料	CAS 番号	MW (g/mol)	当量/体積	モル	理論量
[1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロパラジウム(II)	72287-26-4	731.714	0.020	1.01	0.74kg
ジクロロメタン	75-09-2	84.93	-	該当なし	400kg
1,4-ジオキサン	123-91-1	88.1052	5.0	該当なし	168kg
エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム二水和物	6381-92-6	336.207	1.0	45.2	15.2kg
ヘプタン	142-82-5	100.21	-	-	200kg
窒素	-	-	-	-	必要に応じて
ピパゾリン	該当なし	531.0	1.0	45.2	24.0kg
酢酸カリウム	127-08-2	98.1417	5.0	225.99	22.2kg
トリフルオロ(2-フルオロ-6-ヒドロキシフェニル)ホウ酸カリウム	該当なし	233.03	1.20	54.24	12.6kg
2-プロパノール	67-63-0	66.10	-	該当なし	850kg
Si-チオール	該当なし	該当なし	-	該当なし	13.2kg
水酸化ナトリウム	1310-73-2	40.00	-	-	6.5kg
USP 精製水	-	-	-	-	必要に応じて

【０４３２】

反応器に、脱気したジオキサン（７４．２ｋｇ）、ｔｅｒｔ－ブチル（３Ｓ）－４－｛７－クロロ－６－フルオロ－（１Ｍ）－１－［４－メチル－２－（プロパン－２－イル）ピリジン－３－イル］－２－オキソ－１，２－ジヒドロピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－４－イル｝－３－メチルピペラジン－１－カルボキシレート（化合物６、ピパゾリン）（２４．０ｋｇ、４５．２ｍｏｌ）、酢酸カリウム（２２．２ｋｇ、４５．２ｍｏｌ）、

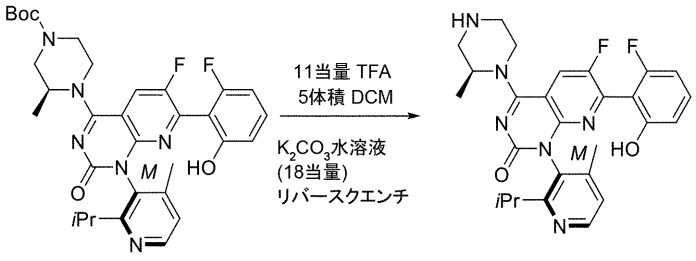
及び（ｄｐｐｆ）ＰｄＣｌ$_2$（０．７４ｋｇ、１．０１ｍｏｌ）を加えた。反応器は窒素ガスで不活性化された。酸素含有量が＜５００ｍｇ／Ｌになるまで、溶液に窒素ガスを注入した。反応物を８７．５℃に加熱した。酸素含有率＜５００ｍｇ／Ｌの、トリフルオロ（２－フルオロ－６－ヒドロキシフェニル）ホウ酸カリウム（１２．６ｋｇ、５４．３ｍｏｌ）の脱気ジオキサン（４９．４ｋｇ）及び脱気水（１４．４ｋｇ）中溶液を、８２．５℃±７．５℃の内部温度を維持しながら反応物に移した。反応物を８７．５℃±１．５℃に調節し、７５分間±１５分間撹拌した。１．０ＭのＥＤＴＡ溶液（４７．３ｋｇ）、続いて水（４０．１ｋｇ）を、８５℃±５℃の内部温度を維持しながら反応器に加えた。反応物を＞２時間かけて２０℃±３℃に冷却し、＞１６時間撹拌した。反応物を濾過し、粗固体を水（３×１２０ｋｇ）で濯いだ。固体をヘプタン（２８．８ｋｇ）と２－プロパノール（３３．１ｋｇ）の混合物で濯ぎ、その後、＜５０℃で＞１０時間乾燥させた。清浄な反応器に粗固体及びジクロロメタン（２４０ｋｇ）を加えた。内容物を２０℃±５℃で＞３０分間撹拌した。反応器に、Ｓｉ－チオール（１４４ｋｇ）及びジクロロメタン（１４．９ｋｇ）を加えた。反応物を２０℃±５℃で１８時間撹拌した。反応物を濾過し、ジクロロメタン（８４ｋｇ）で濯いだ。溶液を蒸留し、溶媒を２－プロパノールに交換した。反応物を６０℃±３℃に加熱し、反応温度を６０℃±３℃に維持しながらヘプタン（１０８ｋｇ）を加えた。反応物を４５分間撹拌し、その後冷却し、２０℃±５℃で２．５時間撹拌した。反応物を濾過し、５０％ｖ／ｖのヘプタン／２－プロパノール（６１．９ｋｇ）で濯いだ。単離した固体を＜５０℃で１２時間乾燥させ、ｔｅｒｔ－ブチル（３Ｓ）－４－｛６－フルオロ－７－（２－フルオロ－６－ヒドロキシフェニル）－（１Ｍ）－１－［４－メチル－２－（プロパン－２－イル）ピリジン－３－イル］－２－オキソ－１，２－ジヒドロピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－４－イル｝－３－メチルピペラジン－１－カルボキシレート（化合物７、ビアリール）を得た。

【０４３３】

＜工程８＞：

【０４３４】

【化４２】



ビアリール 7 *Des-BOC 8*

【０４３５】

【表９】

一般注記事項: すべての当量及び体積は、ビアリール７を基準に報告される

材料	CAS 番号	MW (g/mol)	当量/体積	モル	理論量
ビアリール７	該当なし	606.67	1.0 当量	5.27	2.75kg
TFA	76-05-1	114.02	11 当量	49.7	5.67kg
DCM	74-09-2	84.93	5 体積	該当なし	13.71L
メタノール	67-56-1	32.04	5 体積	該当なし	13.71L
水	7732-18-5	18.02	20 体積	該当なし	54.8L
炭酸カリウム	584-08-7	138.20	18 当量	94.91	11.24kg
DCM	74-09-2	84.93	1 体積	該当なし	2.75L
水	7732-18-5	18.02	10 体積	該当なし	27.5L
水	7732-18-5	18.02	10 体積	該当なし	27.5L

【０４３６】

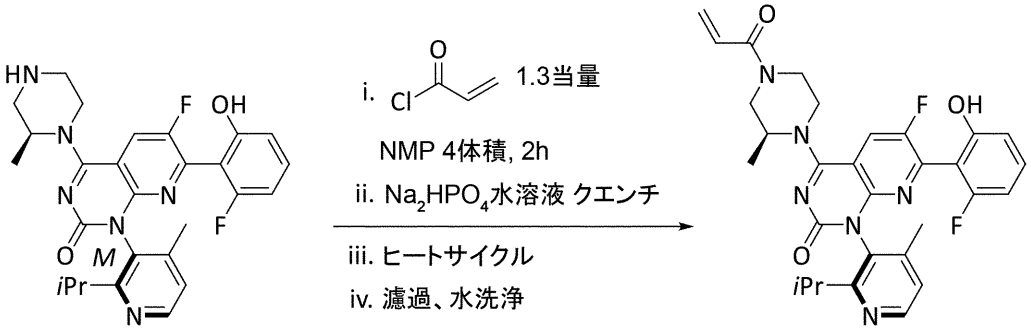
反応器にｔｅｒｔ－ブチル（３Ｓ）－４－｛６－フルオロ－７－（２－フルオロ－６－ヒドロキシフェニル）－（１Ｍ）－１－［４－メチル－２－（プロパン－２－イル）ピリジン－３－イル］－２－オキソ－１，２－ジヒドロピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－４－イル｝－３－メチルピペラジン－１－カルボキシレート（化合物７、ビアリール）（２．７５ｋｇ、５．２７ｍｏｌ）、ＤＣＭ（１３．７Ｌ）及びＴＦＡ（５．６７ｋｇ、４９．７ｍｏｌ）を加えた。反応物を２０±５℃で８～１６時間撹拌した。第２の反応器に、炭酸カリウム（１１．２４ｋｇ）、水（５４．８Ｌ）、及びメタノール（１３．７Ｌ）を加えて、均質な溶液を生成させた。反応混合物を炭酸カリウム溶液に２時間かけて加えた。混合物を２０±５℃でさらに１２時間撹拌した。得られたスラリーを濾過し、水（２×２７．５Ｌ）で濯いだ。湿潤ケーキを２４時間乾燥させて、６－フルオロ－７－（２－フルオロ－６－ヒドロキシフェニル）－４－［（２Ｓ）－２－メチルピペラジン－１－イル］－（１Ｍ）－１－［４－メチル－２－（プロパン－２－イル）ピリジン－３－イル］ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－２（１Ｈ）－オン（化合物８、ＤＥＳＢＯＣ）を得た。

【０４３７】

＜工程９＞：

【０４３８】

【化４３】



Des-BOC 8　　粗化合物9

【０４３９】

【表１０】

一般注記事項: すべての当量及び体積は、Des-BOC を基準に報告される

材料	CAS 番号	MW (g/mol)	当量/体積	mmol	質量	体積
Des-BOC	該当なし	506.56	1.0 当量	308.4	156.25g	-
塩化アクリロイル [1]	814-68-6	90.51	1.3 当量	401.0	36.29g	-
						-
NMP N-メチル ピロリドン [2]	872-50-4	99.13	4 体積	該当なし	-	625mL
水	7732-18-5	18.02	20 体積	該当なし	3125g	3125mL
Na_2HPO_4 [3]	7558-79-4	141.96	4 当量	1233.6	175.12g	-
水	7732-18-5	18.02	20 体積	該当なし	3125g	3,125mL

[1] この規模で塩化アクリロイルを 7 分かけて添加した。過冷却反応を回避すること。反応温度が低いと反応が遅くなり、出発材料が生成物と反応するので、m/z 1066 不純物の濃度が高くなる。理想的な温度範囲は 22～25℃である。

[2] 乾燥ケーキのNMP含量は通常1～2重量%である。

[3]表中のリン酸二ナトリウムは無水ベースである。水和物を使用し得るが、それに応じて質量を所望のmmol量が得られるように調節されたい。

【０４４０】

６－フルオロ－７－（２－フルオロ－６－ヒドロキシフェニル）－４－［（２Ｓ）－２－メチルピペラジン－１－イル］－（１Ｍ）－１－［４－メチル－２－（プロパン－２－イル）ピリジン－３－イル］ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－２（１Ｈ）－オン（化合物８、ＤＥＳＢＯＣ）（１５６．２５ｇ）にＮ－メチルピロリジノン（６２５ｍＬ）を加え、周囲温度で撹拌した。＜３０℃の内部温度を維持しながら、得られた溶液に塩化アク

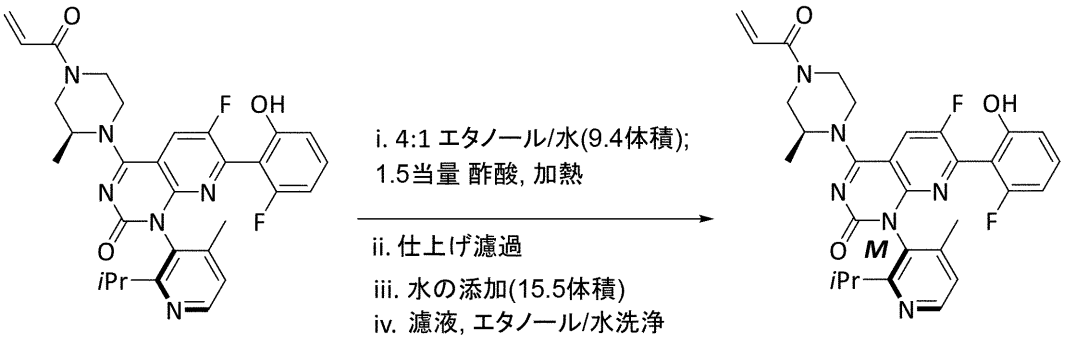
リロイル（３６．２９ｇ；４０１．０ｍｍｏｌ）を加えた。内容物を２５℃で２時間撹拌した。別の反応器に、リン酸二ナトリウム（１７５．１ｇ；１２３４ｍｍｏｌ）のＤＩ水（３．１Ｌ）溶液を調製した。その後、リン酸二ナトリウム溶液を含有する反応器に、２５℃で、＞２時間かけて粗生成物溶液を移した。添加の途中でスラリーを４５℃に加熱し、完全に加えた後、同じ温度で２時間エージングした。混合物を２５℃に冷却し、４時間エージングした後、真空濾過により固体を回収した。固体を水で２回洗浄し（各１．５Ｌ）、生成物を窒素及び真空下で乾燥させて、生成物６－フルオロ－７－（２－フルオロ－６－ヒドロキシフェニル）－（１Ｍ）－１－［４－メチル－２－（プロパン－２－イル）ピリジン－３－イル］－４－［（２Ｓ）－２－メチル－４－（プロプ－２－エノイル）ピペラジン－１－イル］ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－２（１Ｈ）－オンを得た（粗化合物９）[4]。このリードロットの結果：単離質量１５４．０６ｇ、９３重量％、補正収率８２．９％、ＮＭＰ１８，０００ｐｐｍ

【０４４１】

＜工程１０＞：

【０４４２】

【化４４】



粗化合物9　　*化合物9*

【０４４３】

【表１１】

一般注記事項:すべての当量及び体積は、粗薬剤物質を基準に報告される

材料	CAS 番号	MW (g/mol)	当量/体積	mmol	質量	体積
粗化合物 9	該当なし	560.60	1.0 当量	253.9	142.33g	-
エタノール(200 プルーフ)	64-17-5	-	7.5 体積	-	-	1067mL
USP 水	-	18.02	1.9 体積	-	-	270 mL
酢酸	64-19-7	60.05	1.5 当量	380.8	22.87g	21.82mL
WFI 水	-	18.02	15.5 体積	-	-	2200mL
エタノール (洗浄用)	64-17-5	-	2.5 体積	-	-	356 mL
WFI 水 (洗浄用)	-	-	5.0 体積	-	-	712 mL
化合物 9 シード[5]	-	560.60	0	-	0.3-0.7g	-

[5]ミルでの粉砕により、又はミルが利用できない場合に他のタイプの機械的粉砕(乳鉢/乳棒)により粒径を小さくすると、シードは最も良好に機能する。実際に使用するシードはシードアベイラビリティに基づく。目標量の 0.25～0.5%がシードである。

【０４４４】

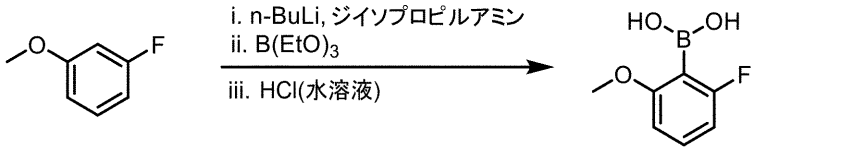
６－フルオロ－７－（２－フルオロ－６－ヒドロキシフェニル）－（１Ｍ）－１－［４－メチル－２－（プロパン－２－イル）ピリジン－３－イル］－４－［（２Ｓ）－２－メチル－４－（プロプ－２－エノイル）ピペラジン－１－イル］ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－２（１Ｈ）－オン（粗化合物９）（１４２．３３ｇ；２５３．９ｍｍｏｌ）にエタノール（９９６ｍＬ）及び水（２７０ｍＬ）を加えた。酢酸（２１．８ｍｌ；３８０．８ｍｍｏｌ）を加え、混合物を７５℃に加熱して溶液を生成し、これを清浄な反応器中に仕上げ濾過した。溶液を４５℃に冷却し、その後、内部温度を＞４０℃に維持しながら、水（１０６７ｍＬ）を加えた。溶液に真正化合物９の種を加え、得られた混合物を３０分間エージングした。その後、水（１１３８ｍＬ）を２時間かけて加えた。混合物を２５℃に冷却し、８時間エージングし、その後、固体を真空濾過によって回収し、エタノール（３５５．８ｍＬ）及び水（７１１．６ｍＬ）の混合物を使用して洗浄した。真空及び窒素を使用して固体を乾燥させ、６－フルオロ－７－（２－フルオロ－６－ヒドロキシフェニル）－（１Ｍ）－１－［４－メチル－２－（プロパン－２－イル）ピリジン－３－イル］－４－［（２Ｓ）－２－メチル－４－（プロプ－２－エノイル）ピペラジン－１－イル］ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－２（１Ｈ）－オン（化合物９）を得た。

【０４４５】

＜工程Ａ１：反応スキーム及び仕込み表＞

【０４４６】

【化４５】



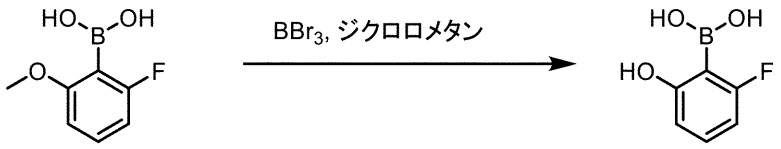
3-フルオロアニソール　　(2-フルオロ-6-メトキシフェニル)ボロン酸

【０４４７】
【表１２】

材料	CAS 番号	MW (g/mol)	当量 / 体積	mol	質量 (g)	体積 (L)
3-フルオロアニソール	456-49-5	126.13	1.0	1.19	150	0.136
n-ブチルリチウム (ヘキサン中 2.5M)	109-72-8	64.06	1.5	1.78	該当なし	0.712
ジイソプロピルアミン	108-18-9	101.19	1.4	1.66	168	0.233
ホウ酸トリエチル	150-46-9	145.99	2.0	2.38	347.5	0.405
テトラヒドロフラン	109-99-9	72.11	12 体積	該当なし	該当なし	1.8
塩酸 (2N)	7647-01-0	36.46	10 体積	該当なし	該当なし	1.5
メチル tert-ブチルエーテル	1634-04-4	88.15	12 体積	該当なし	該当なし	1.8
ヘプタン	142-82-5	100.20	10.5 体積	該当なし	該当なし	1.575

【０４４８】
反応器ＡにＴＨＦ（６体積）及びジイソプロピルアミン（１．４当量）を加えた。得られた溶液を－７０℃に冷却し、ｎ－ＢｕＬｉ（ヘキサン中２．５Ｍ、１．５当量）をゆっくりと加えた。添加完了後、３－フルオロアニソール（１．０当量）のＴＨＦ（６体積）溶液をゆっくりと加え、－７０℃で５分間保持した。Ｂ（ＥｔＯ）$_3$（２．０当量）をゆっくり加え、－７０℃で１０分間保持した。反応混合物は、２ＮのＨＣｌで反応を停止させた。停止した反応混合物をＭＴＢＥ（３×４体積）で抽出した。一緒にした有機相を１．５～３の総体積に濃縮した。ヘプタン（７～９体積）を滴下し、混合物を０～１０℃に冷却し、３時間撹拌した。混合物を濾過し、ヘプタン（１．５体積）で濯いだ。固体を窒素下、＜３０℃で乾燥させ、（２－フルオロ－６－メトキシフェニル）ボロン酸を得た。
【０４４９】
＜工程Ａ２：反応スキーム及び仕込み表＞
【０４５０】

【化４６】



(2-フルオロ-6-メトキシフェニル)ボロン酸　　(2-フルオロ-6-ヒドロキシフェニル)ボロン酸

【０４５１】

【表１３】

材料	CAS 番号	MW (g/mol)	当量 / 体積	mol	質量 (g)	体積 (L)
(2-フルオロ-6-メトキシフェニル)ボロン酸	78495-63-3	169.95	1.0	0.118	20	該当なし
三臭化ホウ素	10294-33-4	250.52	1.5	0.177	44.2	0.017
ジクロロメタン	75-09-2	84.93	4 体積	該当なし	該当なし	0.080
水	7732-18-5	18.02	13 体積	該当なし	該当なし	0.26
メチル tert-ブチルエーテル	1634-04-4	88.15	13 体積	該当なし	該当なし	0.26
ヘプタン	142-82-5	100.20	10 体積	該当なし	該当なし	0.20

【０４５２】

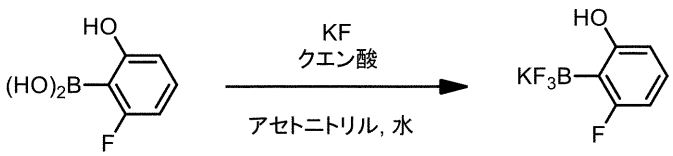
反応器Ａに、ジクロロメタン（４体積）及び２－フルオロ－６－メトキシ－４－メチルフェニルボロン酸（１当量）を加えた。反応混合物を－３０℃に冷却し、１．５ＢＢｒ$_3$（１．５当量）を滴下した。添加が完了したならば、混合物を２５℃に加温し、２時間撹拌した。反応混合物を氷冷（０～５℃）水（１０体積）に入れて反応を停止させた。ＭＴＢＥ（１０体積）を加え、混合物を２５℃に温め、１～２時間、又はすべての固体が溶解するまで撹拌した。水相を分離し、ＭＴＢＥ（３体積）で抽出した。一緒にした有機抽出物を水（３体積）で洗浄し、その後、全体が１容量になるまで濃縮した。ヘプタン（１０体積）を混合物に加え、２時間撹拌した。得られた生成物を濾過により単離し、＜３０℃で乾燥させて（２－フルオロ－６－ヒドロキシフェニル）ボロン酸を得た。

【０４５３】

＜工程Ａ３：反応スキーム及び仕込み表＞

【０４５４】

【化４７】



ボロン酸　　***ボロン酸塩***

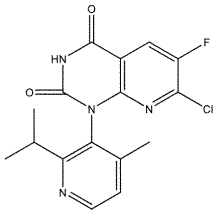
【０４５５】

【表１４】

材料	CAS 番号	MW (g/mol)	当量/体積	mol	質量 (g)	体積 (L)
(2-フルオロ-6-ヒドロキシフェニル)ボロン酸	1256345-60-4	155.92	1.0	89.79	14.00	該当なし
クエン酸一水和物	5949-29-1	210.14	1.64	147.26	30.94	該当なし
アセトニトリル	75-05-8	41.05	21 体積	該当なし	220.1	294
フッ化カリウム	7789-23-3	58.10	4.00	359.16	20.87	該当なし
USP 水	7732-18-5	18.02	2.0 体積	該当なし	28.00	28.00
Celite	該当なし	該当なし	該当なし	該当なし	7.00	該当なし
2-プロパノール	67-63-0	60.10	25 体積	該当なし	275	350

【０４５６】
＜工程Ａ３＞
【０４５７】
反応器（反応器Ａ）中で、フッ化カリウム（２１．０ｋｇ；２０．８７ｍｏｌ）に水（２８Ｌ）を加え、内容物を３０分間撹拌した。別の反応器（反応器Ｂ）に、（２－フルオロ－６－ヒドロキシフェニル）ボロン酸（１４．００ｋｇ、８９．７９ｍｏｌ）、続いてアセトニトリル（２０６．１ｋｇ）及びクエン酸（３０．９４ｋｇ；１４７．２６ｍｏｌ）を２５℃で加えた。反応器Ａの内容物を２５℃で反応器Ｂに加え、その温度で１０時間撹拌した。反応混合物を、セライト床（７．０ｋｇ）を通して濾過し、アセトニトリル（４２ｋｇ）で濯いだ。濾液にイソプロパノール（５６ｋｇ）を加え、その後、真空下、＜３５℃の温度で蒸留し、反応器への蒸留体積をイソプロパノールで置き換え、必要に応じて繰り返して、アセトニトリルからイソプロパノールへの溶媒交換を完了させた。スラリーを１５℃に冷却し、１時間エージング後、濾過し、２８ｋｇのイソプロパノールで洗浄した。ケーキを真空及び窒素を用いて乾燥させ、包装して化合物Ａ３を得た。
【０４５８】
＜Ｍ－ジオン化合物５の分離＞
【０４５９】
＜Ｍ－ジオン中間体のクロマトグラフィーによる分離＞
【０４６０】
化合物４からＭ－ジオンを単離するために、多数のキラルクロマトグラフィー技術及び方法が使用された。その技術及び固定相は当技術分野で周知であり、表１に概説されている。
【０４６１】

【化４８】



化合物4

【０４６２】
【表１５】

表1

手法	固定相	移動相	収率^
SFC	Chiralpak® AD	40% メタノール/ 60% CO2 *	約 95%
HPLC	Chiralpak® AD	90/10/0.1 エタノール/ メタノール/ トリエチルアミン	約 94%
HPLC	Chiralpak® IG	60/40/0.1 エタノール/ メタノール/ トリエチルアミン	約 92%
擬似移動床法 (SMB)	Chiralpak® IC	アセトニトリル	約 96%

^収率は、要求純度> 98% ee で回収された、利用可能な M-ジオンの%と定義される。

* この分離は複数回実施された。各ロットの材料に対して、移動相は、ロットの変動に合わせて僅かに改変されることがあり得た。精製に使用した追加の移動相には、以下が含まれた:

1) 25/75 メタノール/CO_2、

2) 30/70 メタノール/CO_2、及び

3) 50/50 メタノール/CO_2。

【０４６３】
ＳＦＣ、ＨＰＬＣ、及びＳＭＢ技術は当技術分野で周知であり、Ｃｈｉｒａｌｐａｋ（登録商標）固定相は、Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ及び株式会社ダイセルなどの商業的供給源から市販されている。
【０４６４】
しかしながら、Ｍ－ジオン（化合物５）を単離するためのより効率的な方法を開発することが望ましい。
【０４６５】
＜古典的分離＞
【０４６６】
本発明は、Ｍ／Ｐ－ジオンラセミ体（化合物４）のための実行可能な古典的分離法の開発に関する。

【０４６７】
合計１００回の共結晶スクリーニング実験を行い、３つの可能性があるジオンの共結晶を同定した。残留固体中のＭ／Ｐ－ジオンの最大面積比及び上清中の最小面積比に基づき、分離のためのキラル試薬として（＋）－２、３－ジベンゾイル－Ｄ－酒石酸（ＤＢＴＡ）を選択した。
【０４６８】
１００回の共結晶スクリーニング実験及び２０回以上の溶媒スクリーニングからの結果によれば、２－ＭｅＴＨＦ／ｎ－ヘプタンが、他の溶媒系よりも良好な分離結果を提供することが見出された。異なる比率の２－ＭｅＴＨＦ及びｎ－ヘプタン中の、Ｍ－ジオン共結晶とＰ－ジオン共結晶の溶解度の結果に基づき、分離のための最適溶媒組成として２－ＭｅＴＨＦ／ｎ－ヘプタン（１．４：１、ｖ／ｖ）を選択した。
【０４６９】
キラル分解の結晶化過程で、ジオンラセミ体又はＭ／Ｐ－ジオンへの可能な形態変換を見出すために、２－ＭｅＴＨＦ／ｎ－ヘプタン（１．４：１、体積／体積）中で、Ｍ－ジオン共結晶、Ｐ－ジオン共結晶、Ｍ＋Ｐ－ジオン共結晶混合物（１：１、重量／重量）、ジオンラセミ体及びＤＢＴＡの溶解度を異なる温度で決定した。異なる温度で７日間、Ｍ－ジオン共結晶及びＰ－ジオン共結晶について形態変化は観察されなかった。しかしながら、Ｍ＋Ｐ－ジオン共結晶混合物（１：１、重量／重量）の混合物を異なる温度で７日間撹拌した後では、ジオンラセミ体Ｃ型が得られた。ジオンラセミ体Ｄ型（２０及び３０℃）又はジオンラセミ体Ｃ型（４０、５０、６０及び６５℃）が、対応する温度で７日間、ジオンラセミ体を攪拌した後に観察された。全ての温度で、ＤＢＴＡの溶解度は、約１００ｍｇ／ｍＬであることが観察された。
【０４７０】
分離プロセスをさらに最適化するために、Ｍ／Ｐ－ジオン共結晶の３成分状態図を平衡溶解度の結果に基づいて描いたが、共晶点は得られなかった。おそらく、Ｍ－ジオン共結晶とＰ－ジオン共結晶の両方が存在する場合にラセミ体Ｃ型が結晶化できるためであろう。Ｍ／Ｐ－Ｄｉｏｎｅの別の３成分状態図を平衡溶解度の結果に基づいて描いたが、共晶点は得られなかった。おそらく、Ｍ－ジオン及びＰ－ジオンの両方が存在する場合にジオンラセミ体Ｃ型又はＤ型が結晶化できるためであろう。
【０４７１】
要約すると、ジオンラセミ体の分離用として、キラル試薬（ＤＢＴＡ）及び溶媒系（２－ＭｅＴＨＦ／ｎ－ヘプタン（１．４：１、体積／体積））を同定した。本分離試薬及び溶媒系を使用する小規模結晶化プロセスは、Ｍ－ジオンについて収率３９％及びｅｅ純度９９％を達成できた。さらに、スクリーニング実験中にジオンラセミ体の多型を観察し、調査した。
【０４７２】
本発明の化合物はまた、悪心を治療する薬学的に活性な薬剤と併用することができる。悪心を治療するのに使用できる薬剤の例には、ドロナビノール；グラニセトロン；メトクロプラミド；オンダンセトロン；及びプロクロルペラジン；又はその薬学的に許容される塩が含まれる。
【０４７３】
本発明の化合物はまた、放射線療法、ホルモン療法、手術及び免疫療法と併用し得、これらの療法は、当業者に周知である。
【０４７４】
本発明の１つの態様は、別々に投与され得る薬学的に活性な化合物の組み合わせによる、疾患／状態の治療を意図しているので、本発明はさらに、別々の薬学的組成物をキット形態に組み合わせることに関する。このキットは、２つの別々の医薬組成物：本発明の化合物、及び第２の医薬化合物を含む。キットは、分割されたボトル又は分割された箔パケットなどの、別々の組成物を収容する容器を含む。容器のさらなる例には、注射器、箱、及びバッグが含まれる。通常、キットは別々の成分の使用に関する説明書を含む。キット

形態は、好ましくは別々の成分が異なる投薬形態（例えば、経口及び非経口）で投与される場合、異なる投薬間隔で投与される場合、又は、処方医又は獣医が組み合わせの個々の成分の用量設定を望む場合に特に有利である。

【０４７５】

そうしたキットの例は、いわゆるブリスターパックである。ブリスターパックは包装産業では周知であり、医薬単位剤形（錠剤、カプセルなど）の包装に広く使用されている。ブリスターパックは、一般に、好ましくは透明なプラスチック材料の箔で覆われた比較的硬い材料のシートからなる。包装工程中に、プラスチック箔に窪みが形成される。窪みは、包装される錠剤又はカプセルのサイズ及び形状を有する。次に、錠剤又はカプセルを窪みに配置し、比較的硬い材料のシートにより、窪みが形成された方向とは反対側の箔の面でプラスチック箔をシールする。その結果、錠剤又はカプセルは、プラスチック箔とシートとの間の窪み内に密封される。好ましくは、シートの強度は、窪みに手動で圧力を加え、それによってシートの窪みの位置に開口部が形成され、錠剤又はカプセルをブリスターパックから取り出すことができるようなものである。その後、錠剤又はカプセルは前記開口部から取り出すことができる。

【０４７６】

キット上に、例えば、錠剤又はカプセルの隣に、数字の形態で記憶を補助するものを提供することが望ましい（数字は、そのように指定された錠剤又はカプセルを摂取すべきレジメンの日数に対応している）。そのような記憶補助の別の例は、例えば、次のように「第１週、月曜日、火曜日、・・・など・・・第２週、月曜日、火曜日、・・・」などと、カード上に印刷されたカレンダーである。他の記憶補助のバリエーションは容易に明らかになるであろう。「１日用量」は、単一の錠剤若しくはカプセル、又は決められた日に服用すべき複数の丸剤又はカプセルであり得る。また、本発明の化合物の１日用量は、１つの錠剤又はカプセルからなることができ、一方、第２の化合物の１日用量は複数の錠剤又はカプセルからなることができ、逆もまた同様である。記憶補助はこれを反映し、活性剤の正しい投与を補助すべきである。

【０４７７】

本発明の別の特定の実施形態では、１日用量を、それらの意図された使用の順序で一度に１つずつ分配するように設計されたディスペンサーが提供される。好ましくは、レジメンの遵守をさらに容易にするために、ディスペンサーは記憶補助物を備える。そのような記憶補助の例は、分配された１日の用量の数を示す機械的なカウンタである。そのような記憶補助装置の別の例は、例えば、最後に１日用量を服用した日付を読み取り、且つ／又は次の用量を服用すべき時を思い出させる、液晶読み出し又は可聴リマインダー信号と結合された、バッテリー駆動マイクロチップメモリである。

【０４７８】

本発明の化合物及び他の薬学的に活性な化合物は、必要に応じて、経口、直腸、非経口（例えば、静脈内、筋肉内、又は皮下）、槽内、膣内、腹腔内、膀胱内、局所投与（例えば、粉末、軟膏又は点滴）、又は口腔又は鼻腔スプレーのいずれかで患者に投与することができる。薬学的に活性な薬剤を投与するために当業者によって使用される全ての方法が考えられている。

【０４７９】

非経口注射に適した組成物は、生理学的に許容される無菌の水性若しくは非水性溶液、分散液、懸濁液、又はエマルジョン、及び無菌の注射可能な溶液又は分散液に再構成するための無菌の粉末を含み得る。適切な水性及び非水性の担体、希釈剤、溶媒、又はビヒクルの例としては、水、エタノール、ポリオール（プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、グリセロールなど）、これらの適切な混合物、植物油（オリーブ油など）、及び注射可能な有機エステル（オレイン酸エチルなど）が挙げられる。適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティングの使用、分散体の場合には必要とされる粒径の維持、及び界面活性剤の使用によって維持することができる。

【０４８０】

これらの組成物はまた、保存剤、湿潤剤、乳化剤、及び分散剤などのアジュバントを含有してもよい。微生物汚染は各種の抗菌剤及び抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸などを加えることによって防止できる。等張剤、例えば、糖、塩化ナトリウムなどを含むのも望ましいかもしれない。注射用医薬組成物の持続的吸収は、吸収を遅延する薬剤、例えばモノステアリン酸アルミニウム及びゼラチンの使用によってもたらすことができる。

【０４８１】

経口投与のための固体剤形には、カプセル、錠剤、粉末、及び顆粒が含まれる。そのような固体剤形では、活性化合物は、少なくとも１種の不活性な慣用賦形剤（又は担体）（例えば、クエン酸ナトリウム若しくはリン酸二カルシウム）、又は（ａ）フィラー又は増量剤（例えば、デンプン、ラクトース、スクロース、マンニトール、及びケイ酸）；（ｂ）バインダー（例えば、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸塩、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、スクロース、及びアカシア）；（ｃ）保湿剤（例えば、グリセロール）；（ｄ）崩壊剤（例えば、寒天、炭酸カルシウム、ジャガイモ又はタピオカデンプン、アルギン酸、特定の複合ケイ酸塩、及び炭酸ナトリウム）；（ｅ）溶解遅延剤（例えば、パラフィン）；（ｆ）吸収促進剤（例えば、第四級アンモニウム化合物）；（ｇ）湿潤剤（例えば、セチルアルコール及びモノステアリン酸グリセロール）；（ｈ）吸着剤（例えば、カオリン及びベントナイト）；並びに（ｉ）滑沢剤（例えば、タルク、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、固体ポリエチレングリコール、ラウリル硫酸ナトリウム）、又はそれらの混合物と混合される。カプセル及び錠剤の場合、剤形はまた緩衝剤を含み得る。

【０４８２】

類似型の固体組成物はまた、ラクトース又は乳糖などの賦形剤、並びに高分子量ポリエチレングリコールなどを使用して、軟質及び硬質の充填ゼラチンカプセル中でフィラーとしても使用され得る。

【０４８３】

錠剤、糖衣錠、カプセル、丸薬、及び顆粒などの固体剤形は、腸溶性コーティングなどのコーティング及びシェル、並びに当技術分野で周知の他のものを用いて調製することができる。それらはまた、乳白剤を含有してもよく、また、遅延様式で腸管の特定の部分で活性化合物を放出するような組成物であり得る。使用することができる埋め込み組成物の例は、ポリマー物質及びワックスである。活性化合物はまた、適切であれば、上記の賦形剤の１つ以上を含む、マイクロカプセル化形態であり得る。

【０４８４】

経口投与用の液体剤形は、薬学的に許容されるエマルジョン、溶液、懸濁液、シロップ、及びエリキシルを含む。活性化合物に加えて、液体剤形は、当技術分野で一般的に使われる不活性の希釈剤、例えば、水若しくは他の溶媒、可溶化剤及び乳化剤（例えば、エチルアルコール、イソプロピルアルコール、炭酸エチル、酢酸エチル、ベンジルアルコール、安息香酸ベンジル、プロピレングリコール、１，３－ブチレングリコール、ジメチルホルムアミド、オイル、特に綿実油、落花生油、トウモロコシ胚芽油、オリーブオイル、ひまし油、及びごま油、グリセロール、テトラヒドロフルフリルアルコール、ポリエチレングリコール及びソルビタンの脂肪酸エステル）、又はこれらの物質の混合物などを含有し得る。

【０４８５】

そのような不活性希釈剤に加えて、組成物はまた、湿潤剤、乳化剤及び懸濁剤、甘味料、香味料、及び香料などのアジュバントも含むことができる。活性化合物に加えて、懸濁液は、懸濁剤、例えば、エトキシル化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビトール及びソルビタンエステル、微結晶セルロース、メタ水酸化アルミニウム、ベントナイト、寒天、及びトラガカント、又はこれらの物質の混合物などを含み得る。

【０４８６】

直腸投与用の組成物は、本発明の化合物を、ココアバター、ポリエチレングリコール又

は座薬ワックスなどの適切な非刺激性賦形剤又は担体と混合することによって調製することができる好ましい座薬であり、これは通常の室温では固体であるが、体温では液体であり、したがって、直腸又は膣腔内で融解し、活性成分を放出する。

【０４８７】

本発明の化合物の局所投与用の剤形には、軟膏、粉末、スプレー及び吸入剤が含まれる。活性化合物は、無菌条件下で、生理学的に許容される担体、及び必要な任意の保存料、緩衝剤、又は噴射剤と混合される。点眼用製剤、眼軟膏、粉末、及び溶液もまた、本発明の範囲内であると考えられる。

【０４８８】

本発明の化合物は、１日当たり約０．１～約３，０００ｍｇの範囲の用量レベルで患者に投与することができる。約７０ｋｇの体重を有する正常な成人では、通常、１キログラムの体重当たり約０．０１～約１００ｍｇの範囲の用量で十分である。使用することができる具体的な用量及び用量範囲は、患者の要件、治療される状態又は疾患の重症度、及び投与される化合物の薬理学的活性を含む、多くの因子に依存する。本発明の化合物の具体的用量は、化合物が承認されている場合には、ＦＤＡ承認用量である。

【０４８９】

本発明の化合物は、薬学的に許容される塩、エステル、アミド又はプロドラッグとして投与することができる。「塩」という用語は、本発明の化合物の無機塩及び有機塩を指す。これらの塩は、化合物の最終的な単離及び精製中にインサイチュで、又は遊離塩基形態若しくは酸形態の精製された化合物を適切な有機酸若しくは無機酸と別に反応させ、こうして生成した塩を単離することによって調製することができる。代表的な塩には、臭化水素酸塩、塩酸塩、硫酸塩、硫酸水素塩、硝酸塩、酢酸塩、シュウ酸塩、パルミチン酸塩、ステアリン酸塩、ラウリン酸塩、ホウ酸塩、安息香酸塩、乳酸塩、リン酸塩、トシル酸塩、クエン酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、コハク酸塩、酒石酸塩、ナフチル酸塩、メシル酸塩、グルコヘプトン酸塩、ラクトビオン酸塩、及びラウリルスルホン酸塩などが含まれる。塩は、ナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウム、マグネシウムなどのアルカリ金属及びアルカリ土類金属に基づくカチオン、並びに、以下に限定されないが、アンモニウム、テトラメチルアンモニウム、テトラエチルアンモニウム、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、エチルアミンなどを含む、非毒性アンモニウム、第四級アンモニウム、及びアミンカチオンを含み得る。例えば、Ｓ．Ｍ．Ｂｅｒｇｅ，ｅｔ　ａｌ．，“Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓａｌｔｓ，”Ｊ　Ｐｈａｒｍ　Ｓｃｉ，６６：１－１９（１９７７）を参照されたい。

【０４９０】

本発明の化合物の薬学的に許容されるエステルの例には、C_1～C_8アルキルエステルが含まれる。許容されるエステルには、C_5～C_7シクロアルキルエステル、及びベンジルなどのアリールアルキルエステルも含まれる。C_1～C_4アルキルエステルが一般に使用される。本発明の化合物のエステルは、当技術分野で周知の方法に従って調製し得る。

【０４９１】

本発明の化合物の薬学的に許容されるアミドの例には、アンモニア、第一級C_1～C_8アルキルアミン、及び第二級C_1～C_8ジアルキルアミンから誘導されるアミドが含まれる。第二級アミンの場合、アミンはまた、少なくとも１個の窒素原子を含有する、５員又は６員のヘテロシクロアルキル基の形態であってもよい。アンモニア、C_1～C_3第一級アルキルアミン及びC_1～C_2ジアルキル第二級アミンから誘導されるアミドが一般に使用される。本発明の化合物のアミドは、当業者に周知の方法に従って調製し得る。

【０４９２】

「プロドラッグ」という用語は、インビボで変換されて本発明の化合物を生じる化合物を意味する。変換は、血液中での加水分解によるなど、様々なメカニズムによって起こり得る。プロドラッグの使用は、Ｔ．Ｈｉｇｕｃｈｉ　ａｎｄ　Ｗ．Ｓｔｅｌｌａ，”Ｐｒｏｄｒｕｇｓ　ａｓ　Ｎｏｖｅｌ　Ｄｅｌｉｖｅｒｙ　Ｓｙｓｔｅｍｓ，”Ｖｏｌ．１４　ｏｆ　ｔｈｅ　Ａ．Ｃ．Ｓ．Ｓｙｍｐｏｓｉｕｍ　Ｓｅｒｉｅｓ及びＢｉｏｒｅｖｅｒ

ｓｉｂｌｅ Ｃａｒｒｉｅｒｓ ｉｎ Ｄｒｕｇ Ｄｅｓｉｇｎ，ｅｄ．Ｅｄｗａｒｄ Ｂ．Ｒｏｃｈｅ，Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ａｓｓｏｃｉａｔｉｏｎ ａｎｄ Ｐｅｒｇａｍｏｎ Ｐｒｅｓｓ，１９８７で議論されている。

【０４９３】

例示すると、本発明の化合物はカルボン酸官能基を含有するので、プロドラッグは、酸基の水素原子を（Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキル、（Ｃ$_2$～Ｃ１$_2$））アルカノイルオキシメチル、炭素数４～９の１－（アルカノイルオキシ）エチル、炭素数５～１０の１－メチル－１－（アルカノイルオキシ）エチル、炭素数３～６のアルコキシカルボニルオキシメチル、炭素数４～７の１－（アルコキシカルボニルオキシ）エチル、炭素数５～８の１－メチル－１－（アルコキシカルボニルオキシ）エチル、炭素数３～９のＮ－（アルコキシカルボニル）アミノメチル、炭素数４～１０の１－（Ｎ－（アルコキシカルボニル）アミノメチル、３－フタリジル、４－クロトノラクトニル、ガンマ－ブチロラクトン－４－イル、ジ－Ｎ，Ｎ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_2$）アルキルアミノ（Ｃ$_2$～Ｃ$_3$）アルキル（β－ジメチルアミノエチルなど）、カルバモイル－（Ｃ$_1$～Ｃ$_2$）アルキル、Ｎ，Ｎ－ジ（Ｃ$_1$～Ｃ$_2$）アルキルカルバモイル－（Ｃ$_1$～Ｃ$_2$）アルキル及びピペリジノ－、ピロリジノ－又はモルホリノ－（Ｃ$_2$～Ｃ$_3$）アルキルなどの基で置換することによって形成されるエステルを含むことができる。

【０４９４】

本発明の化合物は、不斉中心又はキラル中心を有し得、したがって、異なる立体異性体形態で存在し得る。ラセミ混合物を含む、化合物のすべての立体異性体形態及びそれらの混合物は、本発明の一部を形成することが意図される。さらに、本発明は、全ての幾何異性体及び位置異性体が意図される。例えば、化合物が二重結合を含有する場合、シス型及びトランス型の両方（それぞれ、Ｚ及びＥで示される）、並びに混合物が意図される。

【０４９５】

ジアステレオマー混合物などの立体異性体の混合物は、クロマトグラフィー及び／又は分別結晶化のような周知の方法によって、それらの物理化学的差異に基づいて、それらの個々の立体化学成分に分離することができる。鏡像異性体はまた、適切な光学活性化合物（例えば、アルコール）との反応によって鏡像異性体混合物をジアステレオマー混合物に変換し、ジアステレオマーを分離し、そして個々のジアステレオマーを対応する純粋な鏡像異性体に変換（例えば、加水分解）することによって分離することができる。また、いくつかの化合物はアトロプ異性体（例えば、置換ビアリール）であり得る。

【０４９６】

本発明の化合物は、非溶媒和形態で、また水（水和物）、エタノールなどのような薬学的に許容される溶媒との溶媒和形態で存在し得る。本発明は、溶媒和形態及び非溶媒和形態の両方を意図し、包含する。

【０４９７】

また、本発明の化合物は、異なる互変異性体形態で存在することも可能である。本発明の化合物の全ての互変異性体が意図される。例えば、テトラゾール部分の互変異性体形態の全てが、本発明に含まれる。また、例えば、化合物の全てのケト－エノール又はイミン－エナミン形態が本発明に含まれる。

【０４９８】

当業者は、本明細書に含まれる化合物名及び構造が、化合物の特定の互変異性体に基づき得ることを認識するであろう。特定の互変異性体のみの名前又は構造を使用し得るけれど、特に断らない限り、すべての互変異性体が本発明に包含されることが意図される。

【０４９９】

本発明は、合成化学者に周知のような実験室的手法を用いてインビトロで合成されるか、又は代謝、醗酵、消化などによるインビボ手法を用いて合成される化合物を包含することも意図される。本発明の化合物は、インビボ及びインビトロ手法の組み合わせにより合成することも意図される。

【０５００】

本発明はまた、同位体標識化合物も含むが、これは１つ以上の原子が、通常、天然に見出される原子質量又は質量数と異なる原子質量又は質量数を有する原子によって置換されるということがなければ、本明細書に列挙したものと同一であるようなものである。本発明の化合物に組み込むことができる同位体の例には、水素、炭素、窒素、酸素、リン、フッ素、及び塩素の同位体、例えば、^{2}Ｈ、^{3}Ｈ、^{13}Ｃ、^{14}Ｃ、^{15}Ｎ、^{16}Ｏ、^{17}Ｏ、^{18}Ｏ、^{31}Ｐ、^{32}Ｐ、^{35}Ｓ、^{18}Ｆ、及び^{36}Ｃｌが含まれる。一態様では、本発明は、１つ以上の水素原子が重水素（^{2}Ｈ）原子で置換されている化合物に関する。

【０５０１】

前述の同位体及び／又は他の原子の他の同位体を含有する本発明の化合物は、本発明の範囲内である。本発明の特定の同位体標識化合物、例えば、^{3}Ｈ及び^{14}Ｃなどの放射性同位体が組み込まれているものは、薬物及び／又は基質組織分布アッセイに有用である。トリチウム化同位体、すなわち^{3}Ｈ同位体、及び炭素－１４同位体、すなわち^{14}Ｃ同位体は、それらの調製及び検出の容易さのために特に好ましい。重水素、すなわち^{2}Ｈなどの比較的重い同位体による置換は、より高い代謝安定性の結果としてもたらされる治療上の特定の利点、例えばインビボ半減期の増大又は投薬必要量の減少をもたらすことができ、したがって好ましい場合があり得る。本発明の同位体標識化合物は、一般に、容易に入手可能な同位体標識試薬で非同位体標識試薬を置き換えることによって調製することができる。

【０５０２】

本発明の化合物は、結晶状態及びアモルファス状態を含む様々な固体状態で存在することができる。本発明の化合物の異なる結晶状態（多形とも呼ばれる）及びアモルファス状態は、本発明の一部として意図される。

【０５０３】

本発明の化合物の合成では、特定の離脱基の使用が望ましいことがあり得る。「離脱基」（「ＬＧ」）という用語は、一般に、求核試薬によって置換可能な基を指す。そのような離脱基は、当技術分野において周知である。離脱基の例には、ハロゲン化物（例えば、Ｉ、Ｂｒ、Ｆ、Ｃｌ）、スルホン酸塩（例えば、メシル酸塩、トシル酸塩）、スルフィド（例えば、SCH_3）、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド、Ｎ－ヒドロキシベンゾトリアゾールなどが含まれるが、これらに限定されない。求核試薬の例には、アミン、チオール、アルコール、グリニャール試薬、アニオン種（例えば、アルコキシド、アミド、カルバニオン）などが挙げられるが、これらに限定されない。

【０５０４】

本明細書に列挙される全ての特許、特許出願、及び他の文献は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０５０５】

以下に示す実施例では、本発明の具体的な実施形態を説明する。これらの実施例は代表的なものであることを意味し、いかなる方法においても特許請求の範囲を限定することを意図しない。

【実施例】

【０５０６】

ＡＭＧ５１０は、強力な生化学的活性及び細胞活性、並びに頑健なインビボ効力を有するＫＲＡＳ^{G12C}の、経口的な生物学的利用が可能な共有結合阻害剤として開発された。ＡＭＧ５１０で処理したＮＣＩ－Ｈ３５８細胞のシステインプロテオーム分析は、ＫＲＡＳのＧ１２Ｃ含有ペプチドのみが共有結合的に修飾されたことを示した。ＡＭＧ５１０は、組換え変異体ＫＲＡＳ$^{G12C/C118A}$の、ＳＯＳで触媒されたヌクレオチド交換を阻害したが、１２位において野生型であるＫＲＡＳ^{C118A}に対する影響は最小であった。細胞アッセイでは、ＡＭＧ５１０は、ＫＲＡＳ^{G12C}を共有結合的に修飾し、試験した全てのＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ－変異体細胞株で、ＥＲＫ１／２のリン酸化によって測定される、ＫＲＡＳ^{G12C}シグナル伝達を阻害したが、他の様々なＫＲＡＳ変異を有する細胞株のＥＲＫ１／２リン酸化を阻害しなかった。ＡＭＧ５１０はまた、ＫＲＡ

Ｓｐ．Ｇ１２Ｃ変異体細胞株の生存率を選択的に損なったが、他のＫＲＡＳ変異を有する細胞株には影響しなかった。インビボ薬力学アッセイは、ヒト膵臓（ＭＩＡ　ＰａＣａ－２　Ｔ２）及びＮＳＣＬＣ（ＮＣＩ－Ｈ３５８）腫瘍異種移植片のＥＲＫ１／２（ｐ－ＥＲＫ）のリン酸化によって測定される、ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}シグナル伝達の用量依存的及び時間依存的阻害を示した。ＡＭＧ５１０によるＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}の共有結合修飾を質量分析によって測定し、腫瘍のｐ－ＥＲＫ阻害と相関させた。腫瘍を有するマウスの経時研究では、ＡＭＧ５１０の血漿曝露は投与後０．５時間でピークに達し、その後、腫瘍のｐ－ＥＲＫの阻害が接近して続くことが示された。ＡＭＧ５１０はＭＩＡ　ＰａＣａ－２　Ｔ２及びＮＣＩ－Ｈ３５８異種移植片の増殖を有意に阻害し、高用量では腫瘍退縮をもたらした。共有結合ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}阻害剤によるＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ株の処理は、ＨＬＡの発現を増加させた。ＡＭＧ５１０と他の細胞シグナル伝達経路の阻害剤との併用処理は、細胞生存率に対して相乗効果があるという証拠を示した。ＡＭＧ５１０と標準治療用カルボプラチンとの併用処理は、それぞれの単剤と比較して、ＮＣＩ－Ｈ３５８腫瘍増殖阻害が増強されたことを示した。同様に、ＭＥＫ阻害剤と併用したＡＭＧ５１０は、それぞれの単剤と比較して、抗腫瘍効力の増強をもたらした。

【０５０７】

インビボでの免疫サーベイランスに対するＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}阻害の影響を試験するために、チェックポイント阻害剤療法と併用してＡＭＧ５１０を試験するのに適し、したがってインビトロでキャラクタライズされる新規の同系腫瘍細胞株を作製した。ＫＲＡＳ－Ｇ１２Ｃ変異体がんの新しく開発されたモデルにおいて、ＡＭＧ５１０による治療は、腫瘍増殖を有意に阻害し、退縮を引き起こした。驚くべきことに、ＡＭＧ５１０と免疫チェックポイント阻害剤との併用は、全生存期間の著しい改善をもたらし、永続的な治癒に繋がった。マウスＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍の免疫表現型検査は、治療後のＴ細胞浸潤の有意な増加があることを明らかにし、ＡＭＧ５１０が、免疫チェックポイント阻害に対してより感受性の高い腫瘍微小環境を誘導し得ることを示唆した。

【０５０８】

＜新規な同系ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍モデル＞

【０５０９】

マウスＣＴ２６（結腸腫瘍＃２６）細胞は、１９７５年にＢＡＬＢ／ｃマウスをＮ－ニトロソ－Ｎ－メチルウレタン（ＮＭＵ）に曝露することにより開発され、容易に移植され、容易に転移する急速増殖のグレードＩＶがん腫をもたらした。５００を超える公表された研究で使用され、ＣＴ２６結腸がん腫は、薬物開発において最も一般的に使用される細胞株の１つである。特定のシグナル伝達経路を標的とする多数の細胞毒薬物並びに治療薬が、これらの細胞を用いて研究されてきた。さらに、ＢＡＬＢ／ｃマウスのＣＴ２６モデルは、同系インビボ試験システムを提供するので、免疫療法コンセプトの開発及び試験のために頻繁に使用される。ＢＭＣ　Ｇｅｎｏｍｉｃｓ．２０１４　Ｍａｒ　１３；１５：１９０．ｄｏｉ：１０．１１８６／１４７１－２１６４－１５－１９０．Ｉｍｍｕｎｏｍｉｃ，ｇｅｎｏｍｉｃ　ａｎｄ　ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｏｍｉｃ　ｃｈａｒａｃｔｅｒｉｚａｔｉｏｎ　ｏｆ　ＣＴ２６　ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ　ｃａｒｃｉｎｏｍａ．

【０５１０】

同系ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍モデルは、表Ａ及び図３、４、５、６、１８、２４、３１、３４、３８及び３９に概説されるように、細胞株と免疫療法の組み合わせ研究を可能にするために開発された。ＣＴ－２６同系腫瘍細胞株は、親株に存在するＫＲＡＳ－Ｇ１２Ｄ変異を有することに基づいて選択された。ＫＲＡＳ－Ｇ１２Ｄ変異の存在は、細胞株の増殖及び生存が構成的ＫＲＡＳシグナル伝達（Ｇ１２Ｄ）によって駆動され、ＫＲＡＳ阻害に潜在的に感受性があることを示唆した。ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ細胞は、ＣＴ－２６マウス結腸直腸腫瘍細胞株から作製した。ＣＲＩＳＰＲ技術は、Ｌｉａｎｇらにより、先行技術に記載されており、（Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　２４１（２０１７）１３６－１４６）当該技術を利用し、ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｄの両方の対立遺伝子を、配列　ＣＴＴＧＴＧＡＴＧＧＴＴＧＧＡＧＣ

ＴＧＡ（配列番号２１）を使用してＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃで置換した。クローン１０は、次世代シーケンシング（ＮＧＳ）により、ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ対立遺伝子に対してホモ接合であると決定され、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　Ｇ１２Ｃ－Ｈ１０と同定される。この新しい単離された同系腫瘍細胞株ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ（これは、ＡＭＧ５１０によりＫＲＡＳシグナル伝達が阻害される）は、すべての　ＣＴ－２６　Ｇ１２Ｃのインビボ研究（図３、４、５、及び６を参照されたい）及びインビトロ研究（図１８、２４、３１、３４、３８、及び３９を参照されたい）に使用した。

【０５１１】

本発明は、２つのＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}対立遺伝子を含む新規な単離細胞株を包含し、且つ、２つのＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}対立遺伝子を含む細胞株を作製する方法であって、

ａ）２つのＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}対立遺伝子が生成されるよう、２つのＫＲＡＳ対立遺伝子の両ヌクレオチドの置換を誘発するＣＲＩＳＰＲ構築物とともに、２つのＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｄ}対立遺伝子を含む細胞株をインキュベートする工程；及び

ｂ）２つのＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}対立遺伝子を含む細胞株の単離工程、

を含む方法を包含する。

【０５１２】

ハイスループットシーケンシングとしても知られる次世代シーケンシング（ＮＧＳ）とは、

・Ｉｌｌｕｍｉｎａ（Ｓｏｌｅｘａ）シーケンシング
・Ｒｏｃｈｅ　４５４シーケンシング
・Ｉｏｎ　ｔｏｒｒｅｎｔ：Ｐｒｏｔｏｎ／ＰＧＭシーケンシング
・ＳＯＬｉＤ（商標）シーケンシング

を含む多くの異なる現代のシーケンシング技術を記述するために使用される、包括的な用語である。

【０５１３】

本発明では、Ｔｈｅｒｍｏ－Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃから市販されているＩｏｎ　Ｔｏｒｒｅｎｔ（商標）Ｐｅｒｓｏｎａｌ　Ｇｅｎｏｍｅ　Ｍａｃｈｉｎｅ（商標）プラットフォームを使用した。これらの最近の技術は、科学者が、以前使用されたＳａｎｇｅｒシーケンシングよりもはるかに迅速且つ安価に、ＤＮＡ及びＲＮＡをシーケンシングすることを可能にする。

【０５１４】

＜インビトロ細胞ベースの併用試験＞

【０５１５】

細胞株は、Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ（ＡＴＣＣ）、Ｇｅｒｍａｎ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ　ｏｆ　Ｍｉｃｒｏｏｒｇａｎｉｓｍｓ　ａｎｄ　Ｃｅｌｌ　Ｃｕｌｔｕｒｅｓ（ＤＳＭＺ）、及びＪＣＲＢ細胞バンク（ＪＣＲＢ）から購入した。各株をその推奨増殖培地中で培養した。

【０５１６】

化合物の二元の組み合わせについては、初期密度をウェル当たり５００～２５００細胞の範囲とし、９６ウェル又は３８４ウェルの細胞培養プレートのいずれかに細胞を播種した。１６～２４時間後、マトリックス化フォーマットで化合物を培養プレートに加え、１つの薬剤をｘ軸に沿って滴定し、第２の薬剤をｙ軸に沿って滴定した。任意の所与の細胞株について試験された全ての組み合わせで、各化合物の出発高濃度及び希釈因子は、最大曲線、最小曲線、及び組み合わせスクリーニングフォーマットで選択された用量範囲での勾配を十分に定義できるよう選択された。ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ（登録商標）Ｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｔ　Ｃｅｌｌ　Ｖｉａｂｉｌｉｔｙ（Ｐｒｏｍｅｇａ）アッセイキットを使用して、生存細胞の数を決定した。

【０５１７】

発光は、各細胞株について、化合物添加前の時刻ゼロ（Ｖ０）、及び化合物処理７２時間後に、ＥｎＶｉｓｉｏｎ（登録商標）Ｍｕｌｔｉｌａｂｅｌ　Ｒｅａｄｅｒ（Ｐｅｒｋ

ｉｎ　Ｅｌｍｅｒ）により測定した。増殖阻害（ＧＩ）を、２００ポイントスケールで、次の式に従って計算した（ここで、Ｖ７２は７２時間でのＤＭＳＯ対照のルミネセンスであり、Ｔ７２は、化合物で処理した試料のルミネセンスであった）：Ｔ７２＞Ｖ０の場合、ＧＩ＝１００×（１－（（Ｔ７２－Ｖ０）／（Ｖ７２－Ｖ０））；Ｔ７２＜Ｖ０の場合、ＧＩ＝１００×（１－（（Ｔ７２－Ｖ０）／Ｖ０））。ＧＩ値が０、１００、及び２００のであることは、それぞれ、細胞増殖の不阻害（すなわち、ＤＭＳＯ対照）、細胞うっ滞、及び完全細胞殺滅を表した。４パラメータロジスティックモデルを用いると、シグモイド型の用量応答曲線がプロットされた。データは、Ｌｏｅｗｅ相加性モデルに基づき相乗作用スコアを生成する、Ｃｈａｌｉｃｅ（商標）Ａｎａｌｙｚｅｒソフトウェア（Ｚａｌｉｃｕｓ）を使用して相乗的相互作用について分析した。

【０５１８】

マトリックスの各ウェルについて増殖阻害を前述のように計算し、データは、Ｌｏｅｗｅ相加性モデル（Ｌｅｈａｒ，Ｊ．，ｅｔ　ａｌ．（２００９）．“Ｓｙｎｅｒｇｉｓｔｉｃ　ｄｒｕｇ　ｃｏｍｂｉｎａｔｉｏｎｓ　ｔｅｎｄ　ｔｏ　ｉｍｐｒｏｖｅ　ｔｈｅ　ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃａｌｌｙ　ｒｅｌｅｖａｎｔ　ｓｅｌｅｃｔｉｖｉｔｙ．”Ｎａｔ　Ｂｉｏｔｅｃｈ２７（７）：６５９－６６６）及びＲｉｃｋｌｅｓ，ｅｔ　ａｌ（２０１２）“Ａｄｅｎｏｓｉｎｅ　Ａ２Ａ　ａｎｄ　Ｂｅｔａ－２　Ａｄｒｅｎｅｒｇｉｃ　Ｒｅｃｅｐｔｏｒ　Ａｇｏｎｉｓｔｓ：Ｎｏｖｅｌ　Ｓｅｌｅｃｔｉｖｅ　ａｎｄ　Ｓｙｎｅｒｇｉｓｔｉｃ　Ｍｕｌｔｉｐｌｅ　Ｍｙｅｌｏｍａ　Ｔａｒｇｅｔｓ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｅｄ　ｔｈｒｏｕｇｈ　Ｓｙｓｔｅｍａｔｉｃ　Ｃｏｍｂｉｎａｔｉｏｎ　Ｓｃｒｅｅｎｉｎｇ”Ｍｏｌ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ　１１（７）：１４３２）に基づき相乗作用スコアを生成する、Ｃｈａｌｉｃｅ（商標）Ａｎａｌｙｚｅｒソフトウェア（Ｚａｌｉｃｕｓ；Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ、ＭＡ）を使用して相乗的相互作用について分析した。

【０５１９】

Ｌｏｅｗｅ　ＡＤＤ（相加性）モデル（図７～３７に示す）は、組合せの効果を定量化する。組み合わせは、最初、ＡＤＤ　Ｖｏｌｕｍｅ＝$\Sigma C_X, C_Y (I_{data} - I_{Loewe})$として定義されるＡｄｄｉｔｉｖｉｔｙ　Ｅｘｃｅｓｓ　Ｖｏｌｕｍｅによってランク付した（ここで、$I_{Loewe}(C_X, C_Y)$は$(C_X/EC_X)+(C_Y/EC_Y)=1$を満たす阻害であり、$EC_{X,Y}$は単剤曲線に対するI_{Loewe}での有効濃度である）。「相乗作用スコア」も使用し、ここで、相乗作用スコア$S=\log f_X \log f_Y \Sigma I_{data}(I_{data}-I_{Loewe})$は、全ての非単剤濃度対についての和であり、$\log f_{X,Y}$は、各単剤で使用した希釈因子の自然対数である。これにより、相加応答表面の測定値とＬｏｅｗｅ値との間の体積が効果的に計算され、高阻害に向けて重み付けが行われ、変化する希釈因子が補正される。I_{data}値及び標準誤差伝播について測定された誤差に基づき、各相乗作用スコアに対して不確実性σ_Sを計算した。

【０５２０】

示された実施例では、増殖阻害（％）マトリックスは、上記の式を使用して発光データから計算されるコンセンサス増殖阻害値を含み、ＡＤＤモデルの増殖阻害（％）マトリックスは、モデル化された単剤増殖阻害曲線から誘導されたＬｏｅｗｅ相加性モデルに基づく予測増殖阻害値を含み；ＡＤＤ過剰増殖阻害（％）マトリックスは相加性モデルを超える増殖阻害値を含む。相加性モデルは、「帰無仮説」として機能し、２つの薬剤間の相乗的相互作用はないと仮定される。増殖阻害用量応答マトリックスからＡＤＤモデルを減じた（＝ＡＤＤ過剰増殖阻害）後に観察される活性は相乗作用の指標である。

【０５２１】

下記表Ａは、特定のがん型のための、$KRAS^{G12C}$阻害剤と１つ以上のさらなる薬学的に活性な薬剤との特定のインビトロ併用を示す。得られたデータで、図７～３９に要約されたデータは、併用療法の個々のメンバーが単独で使用される場合に予想される活性よりも、表Ａに示された併用が、増強された抗がん活性を示すことを示す。観察される療

養の相乗作用の大きさは、治療されるがんの種類及び使用される薬剤に依存して変化し得ることに留意される。

【０５２２】

【表１６】

表A

	EGFRi			SHP2i	MEKi	PI3Ki		AKTi	EGFR Ab
	AMG 510 アファチニブ	AMG 510 エルロチニブ	AMG 510 ラパチニブ	AMG 510 RMC-4550	AMG 510 トラメチニブ	AMG 510 AMG 511	AMG 510 ブパルリシブ	AMG 510 AZD5363	AMG 510 セツキシマブ
NCI-H358 (肺)	22.3	12.4	19.7	25	17	10.5	13.5	4.53	--
MIA PaCa-2 (膵臓)	4.7	2.07	--	6.36	3.06	5.53	--	2.67	--
MIA PaCa-2 3D	2.76	--	--	--	7.46	--	--	--	--
NCI-H1373 3D (肺)	8.7*	--	--	--	11.8	--	--	--	--
CT-26 KRAS p.G12C 3D (マウス結腸)	10.8*	--	--	11.7*	2.63	10.8	--	--	--
SW837 (結腸)	--	--	--	--	--	--	--	--	2.96

- 高濃度でのオフターゲット効果は、おそらく、相乗スコアの上昇に寄与している

【０５２３】

＜インビボ腫瘍異種移植片併用試験＞

【０５２４】

インビボ腫瘍異種移植片試験は、これらの一般的な手順に従って行った：

腫瘍細胞を培養し、採取し、雌の無胸腺ヌードマウスの右の脇腹に皮下移植した。腫瘍が約２００ｍｍ^{3}に達したとき、マウスを治療群（ｎ＝１０／群）に無作為化し、治療を開始した（グラフに示す日に）。腫瘍の大きさ及び体重は、週に２～３回測定した。腫瘍体積は、デジタルキャリパーによって測定し、Ｌ×Ｗ×Ｈとして計算し、ｍｍ^{3}で表した。増殖曲線間で観察された差異の統計的有意性は、対数変換された腫瘍体積データの反復測定共分散分析（ＲＭＡＮＯＶＡ）によって評価し、ダネット調整多重比較を使用して、対照群を処置群と比較した。併用試験のために、ＲＭＡＮＯＶＡを、各単剤治療群と１対１で比較した併用群で実施した。

【０５２５】

ＢＤ Ｍａｔｒｉｇｅｌ（商標）Ｂａｓｅｍｅｎｔ Ｍｅｍｂｒａｎｅ Ｍａｔｒｉｘは、Ｅｎｇｅｌｂｒｅｔｈ－Ｈｏｌｍ－Ｓｗａｒｍ（ＥＨＳ）マウス肉腫（ＢＤ Ｂｉｏ

ｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｓａｎ　Ｊｏｓｅ、ＣＡ）から抽出された可溶化基底膜調製物である。

【０５２６】

全ての試験は、盲検様式で測定した。

【０５２７】

図３、４、５及び６において、抗マウスＰＤ－１（クローン２９Ｆ．１Ａ１２）抗体は、Ｂｉｏ　Ｘ　Ｃｅｌｌ、Ｗｅｓｔ　Ｌｅｂａｎｏｎ、Ｎｅｗ　Ｈａｍｐｓｈｉｒｅから市販されている。

【０５２８】

図１、２、３、４、５、及び６は、ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}阻害剤と、特定のがんの種類用の、１つ以上のさらなる薬学的に活性な薬剤との特定のインビボ併用を例示する。得られたデータで、図に要約されたデータは、併用療法の個々のメンバーが単独で使用される場合に予想される活性よりも、図に示された併用が、増強された抗がん活性を示すことを示す。観察される療養の相乗作用の大きさは、治療されるがんの種類及び使用される薬剤に依存して変化し得ることに留意される。

【０５２９】

図４では、ＣＴ２６－ＫＲＡＳＧ１２Ｃ同系腫瘍モデルのＡＭＧ５１０及び抗ＰＤ１抗体（クローン２９Ｆ．１Ａ１２）による併用治療は、いずれかの単剤治療と比較して、有意に改善された生存性をもたらし、永続性の治癒に繋がった。ＡＭＧ５１０単剤療法、又は抗ＰＤ１単剤療法は、対照群と比較して腫瘍増殖の遅延をもたらした。各単剤療法治療は、１／１０の完全寛解をもたらした。ＡＭＧ５１０＋抗ＰＤ１の併用治療は、９／１０の完全寛解をもたらした。これらは永続的治癒とみなされ、これらの９匹のマウスは治療を停止した後（４３日目）、試験を終了した５７日目まで、腫瘍フリーの状態であった。

【０５３０】

＜ＡＭＧ５１０の結合性及び効力の増強＞

【０５３１】

ＡＲＳ－１６２０はＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}の直接阻害のアプローチを検証したが、臨床試験に適した改善された阻害剤の同定は困難であることが実証されている。発明者らは、重要な課題は、ＡＲＳ－１６２０が占めるアロステリックポケットの体積が小さいことによる、最適以下の効力にあると考えており、これは追加のタンパク質－リガンド相互作用に対して限られた手段を提供する。これは、ＡＲＳ－１６２０とヒスチジン９５（Ｈ９５）との間の水素結合が顕著に特徴的な（破線）、ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}／ＡＲＳ－１６２０共有結合複合体（図４０（ａ））のＸ線結晶構造によって示された。発明者らのブレークスルーは、Ｈ９５の代替配向によって作られた表面溝が置換芳香族環に占有され、これがＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}との相互作用の増強を可能にするという発見であった。ＡＭＧ５１０は、改善された効力と好ましい開発特性の収束が見られたことから、Ｈ９５の溝への結合分子最適化キャンペーンからトップ候補として出現した。共有結合性ＡＭＧ５１０－ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}複合体のＸ線共結晶構造（図４０（ｂ））は、ＫＲＡＳのＰ２ポケットでのＡＭＧ５１０の結合を強調する。イソプロピル－メチルピリジン置換基は、Ｙ９６、Ｈ９５、及びＱ９９の間の溝を占め、ヘリックス２（Ｈ９５、Ｙ９６）の主鎖からフレキシブルスイッチＩＩループ（Ｅ６２、Ｅ６３）の主鎖まで延伸する、２５個のリガンド－タンパク質ファンデルワールス接触の連続ネットワークに参加する。

【０５３２】

増強された相互作用がＡＭＧ５１０の効力に及ぼす影響を評価するために、発明者らは、非Ｃ１２システインとの反応性を回避するために、残基１１８位置にシステインからアラニンへの追加の置換を有する、組換えＧＤＰ結合ＫＲＡＳ^{Ｃ１１８Ａ}又はＫＲＡＳ$^{Ｇ１２Ｃ／Ｃ１１８Ａ}$を用いた２つのアッセイを使用した。酵素ヌクレオチド交換アッセイは、ＫＲＡＳの両バージョンへのｃ－ＲＡＦのＲＡＳ結合ドメイン（ＲＢＤ）の結合を促進させるために、ＳＯＳ１で触媒されたＧＤＰ／ＧＴＰ交換を利用した。４０分間の反応で、ＡＭＧ５１０は、ＡＲＳ－１６２０より約１０倍大きい効力（平均$ＩＣ_{５０}$＝０．０９

μＭ）を示した（図４０（ｃ））。ＡＭＧ５１０はＫＲＡＳ^{Ｃ１１８Ａ}をあまり阻害せず（図４０（ｃ））、ＡＭＧ５１０の非反応性類似体はこれらのアッセイで最小の活性を有した（図４６（ａ））。擬一次条件下でのＡＭＧ５１０とＧＤＰ－ＫＲＡＳ$^{Ｇ１２Ｃ／Ｃ１１８Ａ}$との間の反応速度を質量分析（ＭＳ）により測定した。濃度－速度データの非線形フィッティング（図４０（ｄ））から、反応の最大速度k_{inact}＝０．８５±０．０８ｓ$^{－１}$及び最大値の半分の速度におけるＡＭＧ５１０の濃度K_I＝８．６Ｅ－０５±１．４Ｅ－０５Ｍが得られ、k_{inact}／K_I比は９．８Ｅ＋０３±１．８Ｅ＋０３Ｍ$^{－１}$ｓ$^{－１}$となった。ＡＭＧ５１０とＫＲＡＳ$^{Ｇ１２Ｃ／Ｃ１１８Ａ}$との間の反応速度は、ＡＲＳ－１６２０と比較して有意に改善された。臨床でのシステイン標的キナーゼ阻害剤と比較して、ＡＭＧ５１０は、有意に、より大きいk_{inact}により特徴付けられ、これはＡＲＳ－１６２０について以前に記述されているＫＲＡＳ誘導触媒機構と一致する。ＡＭＧ５１０と５ｍＭグルタチオンとの非特異的反応性は比較的遅く（ＡＭＧ５１０$t_{1/2}$＝１９６分）、臨床的共有結合性アクリルアミドの範囲内であった。

【０５３３】

＜腫瘍細胞のシグナル伝達及び増殖の阻害＞

【０５３４】

ＥＲＫ１／２（ｐ－ＥＲＫ）の基底リン酸化を測定することによって、またＭＳにより、ＡＭＧ５１０によるＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}との共有結合（すなわち占有）を検出して、ＡＭＧ５１０の細胞活性を評価した。２つのＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ細胞株で、ＡＭＧ５１０は、２時間処理後にｐ－ＥＲＫ（IC_{50}は、それぞれ約０．０２及び０．０３μＭ）をほぼ検出不可能なレベルにまで強力に阻害し、ＡＲＳ－１６２０より２０倍強力であった（図４０（ｅ））。この阻害は、ＡＭＧ５１０によるＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}の占有を入念に追跡し、両アッセイで約０．２μＭのときほぼ最大レベルが達成された（図４０（ｆ））。ＡＭＧ５１０はまた、両株において細胞生存率を強力に害した（IC_{50}は、約０．００６μＭ及び０．００９μＭ、ＡＲＳ－１６２０より約４０倍強力）（図４０（ｇ））。

【０５３５】

ＡＭＧ５１０によるＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}の占有を反映する、ｐ－ＥＲＫの阻害の時間依存性及び濃度依存性を用いて、２つのＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ細胞株におけるＡＭＧ５１０の細胞反応速度を決定した。ｐ－ＥＲＫ阻害の速度はＡＭＧ５１０の濃度と共に増加し、３μＭを超える濃度で飽和が起こった。ＡＭＧ５１０及びＡＲＳ－１６２０についての濃度－速度曲線のフィッティング（図４０（ｈ）及び図４６（ｂ））から、ＡＭＧ５１０によるＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}の阻害に対する細胞反応速度効率は、ＡＲＳ－１６２０よりも約２３倍大きいことが示された。ＡＭＧ５１０によるＥＲＫリン酸化の最大阻害速度（８．９Ｅ－０４ｓ$^{－１}$）は、最近の反応速度モデルで提案された律速のＧＴＰ－ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}加水分解速度（ＥＧＦＲ阻害からの推定速度＝４．２Ｅ－０４ｓ$^{－１}$；$t_{1/2}$＝２７．４分）より約２倍大きい。ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}によるＧＴＰ加水分解速度の別の推定を得るために、ＳＨＰ２阻害剤を使用して、ＫＲＡＳへの全ての上流シグナル伝達を排除した。この実験から、細胞ＧＴＰ加水分解速度として９．４Ｅ－０４ｓ$^{－１}$（$t_{1/2}$＝１２．２分；図４６（ｃ））が得られ、ＡＭＧ５１０で観察された速度と一致した。

【０５３６】

ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}阻害によるシグナル伝達の影響をより広範に評価するために、複数回用量のＡＭＧ５１０で２つの細胞株を４時間及び２４時間処理し、ウェスタンブロットを行って複数のシグナル伝達ノードを評価した（図４１（ａ））。ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}によるＡＭＧ５１０の共有結合付加物の形成は、比較的遅く移動するＫＲＡＳバンドの移動度のシフトによって検出された（上の矢印）。このシフトした種は時間及び用量の増加と共に蓄積し、両細胞株におけるＭＡＰＫ経路の下流での阻害（すなわち、ｐ－ＭＥＫ１／２及びｐ－ＥＲＫ１／２）と一致した（図４１（ａ）、（ｂ））。ＡＭＧ５１０によるＫＲＡＳ阻害はまた、活性ＥＧＦＲ（ｐ－ＥＧＦＲ　Ｙ１０６８）の蓄積に繋がった。ＡＫＴリン酸化（ｐ－ＡＫＴ）の阻害は１つの株で明らかであったが、リボソームタンパク質Ｓ６のリン酸化（ｐ－Ｓ６）の減少が両株で２４時間の場合に観察された。カスパーゼ－３の

切断も２４時間で観察され、アポトーシス誘導が示唆された。より広範囲の経過時間では、０．１μＭでのＡＭＧ５１０処理（図４１（ｂ））はＭＡＰＫ及びＥＧＦＲに対して迅速な（＜２時間）及び持続的な（＞２４時間）効果を誘発したが、ｐ－Ｓ６及びカスパーゼ切断は、両株で処理の８～１６時間後に出現した。

【０５３７】

活性及び選択性を評価するために、ヘテロ接合性か若しくはホモ接合性の、いずれかのＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ又はｐ．Ｇ１２Ｃ以外のＫＲＡＳ変異体を宿す２２の細胞株、及び野生型（ＷＴ）ＫＲＡＳ株で、ＡＭＧ５１０のプロファイリングを行った。ＡＭＧ５１０による2時間の処理は、全てのＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ細胞株で基底ｐ－ＥＲＫを阻害し、IC_{50}値は０．０１０μＭ～０．１２３μＭの範囲であった（図４１（ｃ）及び補足表１）。ＡＭＧ５１０は、いずれの非ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ株でもｐ－ＥＲＫを阻害しなかった（IC_{50}＞１０μＭ；図４１（ｃ）及び補足表１）。

【０５３８】

細胞生存率アッセイにおいて、ＡＭＧ５１０は、ＳＷ１５７３を除く全てのホモ接合性及びヘテロ接合性ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ細胞株の増殖を害し、IC_{50}値は０．００４μＭ～０．０３２μＭの範囲であった（図４１（ｄ）及び補足表１）。すべてのＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ株は、ｐ－ＥＲＫに対して同様の最大阻害を示したが、細胞生存率に対する最大効果は変化した。ｐ．Ｇ１２Ｃ以外のＫＲＡＳ変異を有する細胞株又はＫＲＡＳ以外の遺伝子に変異を有する細胞株は、ＡＭＧ５１０に対して感受性を有しなかった（IC_{50}＞７．５μＭ；図４１（ｄ）及び補足表１）。ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃのサブセット細胞株を選択して、スフェロイド生成を誘導するには低付着の条件下で、生存率を評価した。他の$KRAS^{G12C}$阻害剤で報告されているように、これらの条件は、全ての試験した株のＡＭＧ５１０に対する感受性を増強し、２０倍までの効力の増加及び２．５倍の最大阻害の増加をもたらした（図４１（ｅ）、図４６（ｄ）、及び補足表１）。ＳＷ１５７３は、おそらく共に生じたドライバー変異、ＰＩＫ３ＣＡ　ｐ．Ｋ１１１Ｅによって、最小限の感受性に留まった。

【０５３９】

ＡＭＧ５１０と$KRAS^{G12C}$との共有結合相互作用の選択性をさらに決定し、細胞中の他の潜在的な「オフターゲット」システイン含有タンパク質を同定するために、ＭＳによるシステイン－プロテオームのプロファイリングを記述のように行った。細胞をＤＭＳＯ又は１μＭのＡＭＧ５１０（＞３０倍ｐ－ＥＲＫ　IC_{50}）で４時間処理した後、システインプロテオームを富化し、ペプチドを同定した。６４５１個のユニークなシステイン含有ペプチドのうち、$KRAS^{G12C}$由来のＣｙｓ１２ペプチドが、共有結合標的関与についての基準を満たす唯一の同定されたペプチドであった（図４１（ｆ））。

【０５４０】

＜ＡＭＧ５１０は、インビボでＫＲＡＳシグナル伝達を阻害する＞

【０５４１】

$KRAS^{G12C}$シグナル伝達に対するＡＭＧ５１０の経口治療の効果を、ｐ－ＥＲＫを測定する薬力学（ＰＤ）アッセイで評価した。ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃを有するヒト腫瘍で、ＡＭＧ５１０は、治療の2時間後、用量依存的にｐ－ＥＲＫを阻害した（図４２（ａ）、（ｂ））。ＡＭＧ５１０処理（１００ｍｇ／ｋｇ）後のｐ－ＥＲＫの阻害は、対照と比較して６９％（ＭＩＡ　ＰａＣａ－２　Ｔ２）～８３％（ＮＣＩ－Ｈ３５８）の範囲で減少した。ｐ－ＥＲＫレベルに対するＡＭＧ５１０の同様の効果は、ＣＲＩＳＰＲ技術を用いて作製された、同系ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ株を用いたマウス腫瘍モデル（図４７（ａ））で観察された。経時的ＰＤアッセイは、単回投薬（１０ｍｇ／ｋｇ）の０．５時間後に、ＡＭＧ５１０の血漿及び腫瘍への曝露がピークに達することを示し、処理後２～４時間でｐ－ＥＲＫの最大阻害をもたらし、４８時間、持続し且つ有意な阻害をもたらした（図４２（ｃ）、（ｄ））。これは、$KRAS^{G12C}$タンパク質の比較的長い２０～２４時間の半減期と一致する（図４６（ｅ））。

【０５４２】

さらに、並行実験で、ＡＭＧ５１０によるＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}の占有率をＭＳによって測定したところ、最高用量（１００ｍｇ／ｋｇ）では占有率は１００％に近づき、ｐ－ＥＲＫの最大の抑制と相関があった（図４２（ｅ）及び（ｆ））。経時試験から、ＡＭＧ５１０による部分占有は０．５時間後に検出可能であり、２時間後に約１００％の占有が観察されることが示された（図４２（ｇ））。

【０５４３】

＜インビボでの変異体選択的腫瘍阻害＞

【０５４４】

マウス内で、ヒトＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ及びＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｖ（ＳＷ４８０－１ＡＣ）腫瘍異種移植片の増殖を阻害する能力について、ＡＭＧ５１０を評価した。ＡＭＧ５１０はすべての用量レベルでＭＩＡ　ＰａＣａ－２　Ｔ２及びＮＣＩ－Ｈ３５８腫瘍の増殖を有意に阻害し、より高い用量で腫瘍退縮が観察された（図４３（ａ）、（ｂ））。対照的に、ＡＭＧ５１０の処理はＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｖ腫瘍の増殖に影響を及ぼさなかった（図４７（ｂ））。ＡＭＧ５１０の血漿レベルは、全てのモデルで一貫していた（データは示さず）。免疫コンピテントマウスで増殖させたマウスＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍モデルでは、ＡＭＧ５１０は腫瘍増殖阻害をもたらし、最高用量では退縮をもたらした（図４３（ｃ））。１０匹のマウスのうち２匹（１００ｍｇ／ｋｇ群）は、試験が２９日目に終了したときに検出可能な腫瘍を有さなかった。ＡＭＧ５１０はまた、ヒトＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ変異体患者由来異種移植片（ＰＤＸ）のマウスでの増殖を有意に阻害した（図４３（ｄ）及び図４７（ｃ））。

【０５４５】

＜臨床活性の証拠＞

【０５４６】

ＡＭＧ５１０の増強された効力、頑強な有効性、及び好ましい医薬プロフィールは、臨床試験に入る最初のＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}阻害剤としての選択を促した（臨床試験．ｇｏｖ　ＮＣＴ０３６００８８３）。特に、患者の最初の２つのコホートで、ＡＭＧ５１０の治療は、ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２ＣＮＳＣＬＣを有する２人の患者で客観的部分応答（ＲＥＣＩＳＴ１．１による）をもたらした（図４３（ｅ）及び図４７（ｄ））。両患者は、病気の進行が文書化されており、それまでに、カルボプラチン、ペメトレキセド、及びニボルマブを含む複数の全身治療を受けるまでに進行していた。第１の患者は、ＡＭＧ５１０治療の６週間後に３４％の腫瘍縮小を示した。第２の応答者は、ＡＭＧ５１０治療のほんの２週間後に６７％の腫瘍減少を示した。これらの患者は、それぞれ、６ヶ月及び２ヶ月後も（この米国仮特許出願日時点）、ＡＭＧ５１０の治療を継続している。有害事象は報告されなかった。これらの患者は変異体特異的ＫＲＡＳ阻害剤に応答した最初の患者となり、ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ変異腫瘍を有するがん患者のマイルストーンを表す。

【０５４７】

＜併用時の効力の増強＞

【０５４８】

肺腺がんにおけるＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃの高い有病率を考慮し、ＡＭＧ５１０と、肺がんの標準的な化学療法薬であるカルボプラチンとの併用治療を、ＮＣＩ－Ｈ３５８モデルで検討した。単剤（ＡＭＧ５１０又はカルボプラチン）のいずれかによる治療は、有意な腫瘍増殖阻害をもたらした（図４４（ａ））。しかしながら、種々の用量での併用治療は、有意に改善された抗腫瘍効力をもたらした（図４４（ａ）及び図４７（ｅ））。我々の知る限りでは、これは変異体選択的ＫＲＡＳ阻害剤と化学療法薬との併用による増強された効力の最初の実証であり、臨床でのこのアプローチの根拠を与える。

【０５４９】

ＢＲＡＦとＭＥＫ阻害剤を併用する、臨床的に検証された戦略は、ＭＡＰＫ（及びＡＫＴ）シグナル伝達経路におけるＡＭＧ５１０と他の阻害剤との併用が、腫瘍細胞の殺滅を増強し、耐性[26]を克服し得ることを示唆する。したがって、ＡＭＧ５１０と、ＨＥＲキナーゼ、ＥＧＦＲ、ＳＨＰ２、ＰＩ３Ｋ、ＡＫＴ及びＭＥＫ阻害剤のマトリックスを用い

て、いくつかのＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ細胞株のインビトロ併用実験を行った（図４８）。ＡＭＧ５１０によるｐ－ＥＧＦＲの誘導によって示唆されるように（図４１（ａ））、ＡＭＧ５１０と複数の薬剤との併用は、ＮＣＩ－Ｈ３５８での相乗的な腫瘍細胞殺滅をもたらした（図４４（ｂ）及び図４８）。相乗作用は他の株ではより限定的であったが、ＭＥＫｉとの併用は複数の設定で相乗作用を有し、スフェロイド増殖条件下で増強された（図４４（ｂ））。有意に増強された抗腫瘍活性はまた、いずれかの単剤単独と比較したとき、ＭＥＫｉと併用したＡＭＧ５１０の最小有効用量を用いたインビボで観察された（図４４（ｃ））。これらのデータを合わせると、ＡＭＧ５１０と、ＭＡＰＫ経路中の他のノードを標的とする薬剤とを併用し、効力を制限し得るか、又は耐性を誘導し得る残留シグナル伝達若しくはバイパスシグナル伝達を消滅させる、興味深い臨床アプローチが示唆される。

【０５５０】

＜炎症誘発性腫瘍微小環境＞

【０５５１】

免疫チェックポイント、プログラム細胞死１／プログラム死リガンド１（ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１）軸の遮断は、臨床的に検証されており、特定のがん患者に対して承認される。抗ＰＤ－１療法と併用したＡＭＧ５１０の活性を、免疫コンピテント設定で、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃモデルにより評価した。この株はＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ対立遺伝子（図４９（ａ）、（ｂ））に依存し、ＡＭＧ５１０に感受性を有した（図４３（ｃ）及び図４７（ａ））。以前に示したように（図４３（ｃ））、ＡＭＧ５１０は、単剤で腫瘍退縮をもたらした（図４５（ａ））。しかしながら、時の経過と共に、１０個の腫瘍のうち１個のみが完全に退縮したままであった（図４５（ａ））。抗ＰＤ－１単剤療法は、腫瘍増殖を遅延させ、１０個の腫瘍のうち１個のみが完全な退縮を示した。驚くべきことに、併用治療は、１０匹のうち９匹の完全な応答をもたらした（図４５（ａ））。治療は４３日後に停止し、さらに１１２日間マウスのモニターを継続した。併用治療からの全ての完全な応答体は、検出可能な腫瘍がない状態を続け、ＡＭＧ５１０と抗ＰＤ－１抗体との併用は、永続性のある治癒をもたらしたことを示した。代用生存エンドポイント（腫瘍体積＞８００ｍｍ^3）を用いると、併用治療は、単剤療法と比較して生存の顕著な増加をもたらした（図４５（ｂ））。

【０５５２】

腫瘍中の免疫細胞組成に対する治療の効果を理解するために、治療後にＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍の免疫表現型を決定した。治療の４日後、ＡＭＧ５１０は、顕著に増加したＴ細胞、主にＣＤ８＋Ｔ細胞の浸潤をもたらした（図４５（ｃ）及び図５０（ａ））。ＣＤ８＋Ｔ細胞浸潤の増加は、また、抗ＰＤ－１単剤療法後には起こらないので、ＡＭＧ５１０によって主に駆動される併用群で観察された。追加の比較として示せば、ＲＡＳの下流でＭＡＰＫシグナル伝達を遮断し（図５０（ｂ））、ＡＭＧ５１０と同様のＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍増殖阻害（図５０（ｃ）、（ｄ））をもたらしたＭＥＫ阻害剤（ＭＥＫｉ）は、浸潤ＣＤ８＋Ｔ細胞の数に影響を及ぼさなかった（図４５（ｃ））。ＡＭＧ５１０治療はまた、マクロファージ及び樹状細胞の浸潤の増加をもたらし、これはＭＥＫｉでは観察されないことであった（図４５（ｃ））。ＣＤ８＋Ｔ細胞上でのＰＤ－１発現は、ＡＭＧ５１０及びＭＥＫｉの両方によって中程度に増加した（図４４（ａ））。全腫瘍ＲＮＡを治療後に精製し、免疫遺伝子パネルの転写プロファイルを評価した。わずか２日間の治療後、ＡＭＧ５１０によるＫＲＡＳ^{G12C}の阻害は、インターフェロンシグナル伝達、抗原プロセシング、細胞傷害性及びＮＫ細胞活性の増加、並びにＭＥＫ阻害によって誘導される効果と比較して有意に高い先天性免疫刺激マーカーを特徴とする炎症誘発性微小環境を誘導した（図４５（ｄ）及び図４４（ｅ））。ＡＭＧ５１０はまた、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍細胞上にＭＨＣ－Ｉタンパク質の発現を誘導した（図４５（ｅ）及び図５０（ｆ））。これらのデータは、腫瘍細胞に対するＡＭＧ５１０の治療効果は、Ｔ細胞プライミング及び抗原認識の増加をもたらし得ることを示唆した。これを試験するために、併用治療からの治癒マウス（図４５（ａ））を

、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ及び親ＣＴ－２６（ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｄ）、又はＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃの両側腫瘍並びに無関係なマウス乳房腫瘍モデル４Ｔ１で再検証した。　４Ｔ１腫瘍（４／４）はすべて増殖したが、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍のいずれも（０／８）増殖しなかった（図４５（ｆ））。特に、ＣＴ－２６親腫瘍を受けた全てのマウスは、４０日後には腫瘍が消失した（図４５（ｆ））。ナイーブマウスの別の対照群では、１５匹中１５匹（１００％生着率）で、親ＣＴ－２６及びＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍が増殖した（図５０（ｇ））。治癒したマウスから採取した脾臓細胞を、ＣＴ－２６、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ又は４Ｔ１腫瘍細胞で刺激し、分泌されたＩＦＮ－γのレベルを、腫瘍特異的Ｔ細胞プライミング及び活性のマーカーとして測定した。ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ細胞及び親ＣＴ－２６細胞は、約３倍のＩＦＮ－γの増加を引き起こしたが、これは４Ｔ１細胞では誘導されなかった（図４５（ｇ））。

【０５５３】

＜考察＞

【０５５４】

ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}のＨ９５溝との新規な相互作用の発見は、臨床活性の証拠が患者から得られた画期的な経口ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}阻害剤である、ＡＭＧ５１０の著しく増大した効力及びその同定を可能にするものである。ＡＭＧ５１０は、ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍を選択的に標的とし、細胞傷害性の標的化薬剤との併用により、腫瘍細胞を相乗的に殺滅する。ＡＭＧ５１０誘発腫瘍細胞死は、免疫チェックポイント阻害に精巧に応答する炎症性腫瘍微小環境をもたらした。抗ＰＤ－１とＭＥＫｉの併用治療はいくつかの報告で説得力のある前臨床効力を示しており、これはＴ細胞浸潤の増加と関連していた。本研究では、選択的ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}阻害後の免疫細胞浸潤は、ＭＥＫｉによって誘導されたものよりも有意に頑強であった。Ｔ細胞増殖及びプライミングを妨害する、非腫瘍選択的ＭＥＫｉの報告された効果とは対照的に、ＡＭＧ５１０によるＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}の選択的阻害は、Ｔ細胞プライミングの増加をもたらした。これらのデータは増強された抗原認識とＴ細胞記憶のモデルを支持し、それによって、ＡＭＧ５１０に誘導された腫瘍細胞死は、抗ＰＤ－１治療との併用で、非ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍が認識され、根絶されるような適応免疫応答を生じる。腫瘍内ＫＲＡＳの変異状態は、同じ腫瘍内並びに原発部位と転移部位との間の両方で不均一であり得るという十分な証拠がある。総合すると、発明者らのデータは、ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}の発現が不均一である設定においてでも、ＡＭＧ５１０は有効な抗腫瘍剤であり得ることを示唆する。

【０５５５】

＜方法＞

【０５５６】

＜リコンビナントタンパク質＞

リコンビナントＨｉｓ標識ヒトＫＲＡＳ$^{Ｇ１２Ｃ／Ｃ１１８Ａ}$（１－１６９）、ＧＳＴ－ヒトｃ－ＲＡＦ（１－１４９）、及びＨｉｓ標識ヒトＫＲＡＳ^{Ｃ１１８Ａ}（１－１６９）を大腸菌（Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ　ｃｏｌｉ）内で発現させ、アフィニティークロマトグラフィー及びサイズ排除クロマトグラフィーを用いて精製した。リコンビナントＨｉｓ標識ヒトＳＯＳ１（５６４－１０４９、昆虫コドン最適化）をトリコプルシア・ニ（Ｔｒｉｃｈｏｐｌｕｓｉａ　ｎｉ）内で発現させ、アフィニティークロマトグラフィーを用いて精製した；Ｈｉｓ標識を除去した後、サイズ排除クロマトグラフィーによってさらに精製した。Ｏｓｔｒｅｍら[15]の研究に基づき、共結晶化研究のためにシステインライト変異体構築物を使用した。リコンビナントＨｉｓ標識ヒトＫＲＡＳ$^{Ｇ１２Ｃ／Ｃ５１Ｓ／Ｃ８０Ｌ／Ｃ１１８Ｓ}$（１－１６９）を大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）内で発現させ、アフィニティークロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、及びサイズ排除クロマトグラフィーを用いて精製し、結晶化のためにＨｉｓ標識を除去した。

【０５５７】

＜化合物及び抗体＞

ＡＲＳ－１６２０、ＰＤ－０３２５９０１、トラメチニブ、アファチニブ、エルロチニブ、ＲＭＣ－４５５０及びＡＺＤ５３６３は市販品を入手した。ＡＭＧ５１１は自社で合成した。ＡＭＧ５１０及びその非反応性プロピオンアミドの合成は、本明細書に記載されている。インビトロ実験に使用するＡＭＧ５１０及び他の全ての阻害剤のストックは、１００％ジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ）の１０ｍＭ溶液として調製した。インビボ研究用に、ＡＭＧ５１０及びＭＥＫｉ（ＰＤ－０３２５９０１）は、２％ＨＰＭＣ、１％Ｔｗｅｅｎ　８０中に処方し、１０ｍＬ／ｋｇで毎日経口強制投与した。１０ｍｇ／ｍＬのカルボプラチンストック溶液を、１％ＰＢＳ中で５ｍｇ／ｍＬ又は３ｍｇ／ｍＬにさらに希釈し、週に１回腹腔内注射（ＩＰ）によって投与した。ラット抗マウスＰＤ１クローン２９Ｆ．１Ａ１２をキメラ化して、マウスＩｇＧ１バックボーンを含有させた。さらに、エフェクター機能を低下させるために、Ｆｃ受容体サイレンシング変異Ｎ２９７ＧをＩｇＧ重鎖領域に導入した。抗ＰＤ－１抗体、２９Ｆ．１Ａ１２を１×ＰＢＳ中で５００μｇ／ｍＬの濃度に希釈し、３日に１回、Ｉ．Ｐ．により合計３回の注射で投与した。ウェスタンブロッティングで使用した全ての抗体は、抗ＲＡＳ（Ａｂｃａｍ）、抗ホスホ－ＥＲＫ１／２（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）、及び抗ベーターアクチン－ＨＲＰ（Ｓｉｇｍａ）を除いて、Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇから購入した。

【０５５８】

＜細胞株＞

Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅから入手したＫＭ１２及びＮＣＩ－Ｈ３１２２を除いて、すべての細胞株はＡｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ（ＡＴＣＣ）から購入した。短いタンデム反復（ＳＴＲ）プロファイリングによって細胞株を認証した。インビボの増殖反応速度を改善するために、ＭＩＡ　ＰａＣａ－２　Ｔ２及びＳＷ４８０－１ＡＣ細胞を、それぞれＭＩＡ　ＰａＣａ－２及びＳＷ４８０細胞をマウスに継代することによって作製した。ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ細胞を、ＣＲＩＳＰＲ技術を用いてマウスＣＴ－２６結腸直腸株から作製し、ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｄの両対立遺伝子をｐ．Ｇ１２Ｃ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）で置換した。クローンＨ１０は、ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ対立遺伝子についてホモ接合と決定され、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳｐ．Ｇ１２Ｃ－Ｈ１０と同定され、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳｐ．Ｇ１２Ｃと呼ばれる。全ての細胞株を、１０％ウシ胎児血清及び１×ペニシリン／ストレプトマイシン／Ｌ－グルタミンで補強したＲＰＭＩ１６４０培地により、３７℃、５％CO_2で、加湿インキュベーター中で培養した。

【０５５９】

＜Ｘ線結晶学＞

２０ｍＭのＨＥＰＥＳ（ｐＨ７．５、１５０ｍＭ　ＮａＣｌ）中の精製無標識ＫＲＡＳ$^{G12C/C51S/C80L/C118S}$（「ＫＲＡＳ」）を４０ｍｇ／ｍＬに濃縮し、ＤＭＳＯに溶解した２倍モル過剰の固体ＡＭＧ５１０化合物に加えた。タンパク質－複合体試料を、ＲＴで１６時間、オービタルシェーカーに載せ、続いてスピン濾過した。共結晶化は、シッティングドロップ蒸気拡散法を用いて行った。「ＫＲＡＳ」－ＡＭＧ５１０タンパク質－複合体試料及び結晶化緩衝液（１ｍＭ　$MgCl_2$、０．１Ｍ　ＭＥＳ　ｐＨ６．５、３０％重量／体積のポリエチレングリコール４０００）を混合した。２０℃、１日で、扁平な棒状結晶が現れた。

【０５６０】

結晶は液体窒素中で凍結する前に、凍結保護剤として結晶化緩衝液中で平衡化した。Ａｄｖａｎｃｅｄ　Ｌｉｇｈｔ　Ｓｏｕｒｃｅ　Ｂｅａｍｌｉｎｅ　５．０．１において、波長０．９７７４１Å、温度１００Ｋで、Ｐｉｌａｔｕｓ６Ｍシリコンピクセル検出器によりデータセットを収集した。データを統合し、ＨＫＬ２０００を用いてスケーリングした。結晶は、直方晶系空間群$P2_12_12_1$に属し、ａ＝４０．９Å、ｂ＝５８．４Å、ｃ＝６５．９Å、α＝９０°、β＝９０°、γ＝９０°の単位格子寸法を有する（補足表２を参照されたい）。ＭｏｌＲｅｐを用い、アポＫＲＡＳ構造を探索モデルとして分子置換により構造を解いた。非対称単位には１つのタンパク質分子が存在する。Ｒｅｆｍａｃ

５を用いて構造を精密化し、グラフィックスプログラムＣｏｏｔを用いてモデル構築を行った。ＰＲＯＤＲＧを用いてリガンドを作成した。ＧＤＰ及びＡＭＧ５１０に結合したＫＲＡＳ$^{Ｇ１２Ｃ／Ｃ５１Ｓ／Ｃ８０Ｌ／Ｃ１１８Ｓ}$の構造は、Ｒ因子１８．１％及び$Ｒ_{ｆｒｅｅ}$２１．５％で１．６５Åに精密化された。ラマチャンドランの統計は９８．２％が好ましい領域、１．８％が許容領域にあり、許容されない領域にはなかった。アミノ酸残基１０５～１０７は、結晶構造中では未解決であった。原子座標及び構造因子は、蛋白質構造データバンク（ＰＤＢ　ＩＤコード：まだ割り当てられていない）に寄託されるであろう。

【０５６１】

＜カップリングされたヌクレオチド交換アッセイ＞

ＫＲＡＳ$^{Ｇ１２Ｃ／Ｃ１１８Ａ}$又はＫＲＡＳ^{Ｃ１１８Ａ}のＳＯＳ１で触媒されたヌクレオチド交換活性の阻害を、Ａｌｐｈａ（Ａｍｐｌｉｆｉｅｄ　Ｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｔ　Ｐｒｏｘｉｍｉｔｙ　Ｈｏｍｏｇｅｎｅｏｕｓ　Ａｓｓａｙ）技術を用いて測定した。反応緩衝液（２５ｍＭのＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．４；１０ｍＭの$ＭｇＣｌ_{２}$；０．０１％Ｔｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００）中、室温（ＲＴ）で５分間、２倍連続希釈ＡＭＧ５１０又はＤＭＳＯと共に、２０ｎＭのＧＤＰ結合ヒトＫＲＡＳ$^{Ｇ１２Ｃ／Ｃ１１８Ａ}$又はＫＲＡＳ^{Ｃ１１８Ａ}タンパク質をインキュベートした。その後の全ての工程で、１ｍＭの最終濃度でＤＴＴを反応緩衝液に加えた。次に、ＤＴＴ反応緩衝液中に、１．２５ｍＭ又は５００ｎＭの最終濃度でＧＴＰ及びＳＯＳ－１をそれぞれ加え、ＲＴで３０分間インキュベートした。最後に、ｃ－ＲＡＦ　ＲＢＤ（最終５０ｎＭ）、αグルタチオンドナービーズ（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ；最終２０μｇ／ｍＬ）、及びＡｌｐｈａＬＩＳＡ（登録商標）ニッケルキレートアクセプタービーズ（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ；最終２０μｇ／ｍＬ）（すべてＤＴＴ反応緩衝液で希釈した）を加えた。反応混合物をＲＴで５分間インキュベートし、その後、ＡｌｐｈａＳｃｒｅｅｎプロトコルを使用して、ＥｎＶｉｓｉｏｎ（登録商標）Ｍｕｌｔｉｌａｂｅｌ　Ｒｅａｄｅｒでプレートを読み取った。６８０ｎｍで１８０ｍｓ間励起した後、５７０ｎｍで発光シグナルを測定した。シグナル強度はｃ－ＲＡＦ　ＲＢＤと、ＧＴＰ結合ＫＲＡＳ$^{Ｇ１２ｃ／Ｃ１１８Ａ}$又はＫＲＡＳ^{Ｃ１１８Ａ}との会合に対応し、ＤＭＳＯ対照に対して正規化した。

【０５６２】

＜ＥＲＫ１／２リン酸化アッセイ＞

細胞アッセイ用に、ウェル当たり２．５Ｅ＋０４個の細胞を９６ウェルプレートに播種し、３７℃、５％$ＣＯ_{２}$で終夜インキュベートした。翌日、３倍連続希釈化合物又はＤＭＳＯを細胞に加え、５％$ＣＯ_{２}$、３７℃でプレートを２時間インキュベートした。処理後、細胞を氷冷ＰＢＳで洗浄し、プロテアーゼ及びホスファターゼ阻害剤を含有するＲＩＰＡ溶解緩衝液（５０ｍＭのＴｒｉｓ－ＨＣｌ、ｐＨ７．５；１％Ｉｇｅｐａｌ；０．５％デオキシコール酸ナトリウム；１５０ｍＭのＮａＣｌ；０．１％ドデシル硫酸ナトリウム）中で溶解した。ホスホ－ＥＲＫ１／２全細胞溶解キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）を製造者のプロトコルに従って使用した処理細胞溶解物中で、基底ＥＲＫ１／２リン酸化レベルを測定した。シグナル強度は、ホスホ－ＥＲＫ１／２レベルに対応し、ＤＭＳＯ対照に対して正規化した。

【０５６３】

インビボ薬力学アッセイからの腫瘍細胞溶解物については、製造業者のプロトコルに従って、ホスホ－ＥＲＫ１／２及び全ＥＲＫ１／２全細胞溶解物キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）を使用し、１試料当たり５０μｇの総タンパク質を分析した。所与の試料について、ホスホ－ＥＲＫ１／２シグナルを全ＥＲＫ１／２シグナルに対して正規化し、ＥＲＫリン酸化の％阻害をビヒクル群に対して計算した。

【０５６４】

＜細胞生存率アッセイ＞

接着生存アッセイ用に、ウェル当たり０．５～１．０Ｅ＋０３個の細胞を３８４ウェルプレート（又は９６ウェルプレートにウェル当たり２．５～４．０Ｅ＋０４個の細胞）に

播き、３７℃、５％CO_2で終夜インキュベートした。翌日、連続希釈化合物又はＤＭＳＯを細胞に加え、５％CO_2、３７℃でプレートを７２時間インキュベートした。細胞生存率は、ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ（登録商標）Ｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｔ Ｃｅｌｌ Ｖｉａｂｉｌｉｔｙ Ａｓｓａｙキット（Ｐｒｏｍｅｇａ）を製造者のプロトコルに従って使用して測定した。処理した試料の発光シグナルをＤＭＳＯ対照に対して正規化した。

【０５６５】

スフェロイド生存率アッセイ用に、ウェル当たり２．５～４．０Ｅ＋０４個の細胞を９６ウェルのスフェロイドマイクロプレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ）に播き、３７℃、５％CO_2で２４時間インキュベートした。ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ（登録商標）３Ｄ Ｃｅｌｌ Ｖｉａｂｉｌｉｔｙ Ａｓｓａｙキット（Ｐｒｏｍｅｇａ）を製造者のプロトコルに従って使用し、生存率を測定したことを除いて、上記と同じ手順に従った。

【０５６６】

＜相乗的併用試験＞

ＡＭＧ５１０と他の阻害剤との相乗的相互作用をインビトロで評価するための併用実験を、以前に記載されているように実施した（Ｓａｉｋｉ，Ａ．Ｙ．ｅｔ ａｌ．ＭＤＭ２ ａｎｔａｇｏｎｉｓｔｓ ｓｙｎｅｒｇｉｚｅ ｂｒｏａｄｌｙ ａｎｄ ｒｏｂｕｓｔｌｙ ｗｉｔｈ ｃｏｍｐｏｕｎｄｓ ｔａｒｇｅｔｉｎｇ ｆｕｎｄａｍｅｎｔａｌ ｏｎｃｏｇｅｎｉｃ ｓｉｇｎａｌｉｎｇ ｐａｔｈｗａｙｓ．Ｏｎｃｏｔａｒｇｅｔ ５，２０３０－２０４３，ｄｏｉ：１０．１８６３２／ｏｎｃｏｔａｒｇｅｔ．１９１８（２０１４））．

【０５６７】

＜速度論的解析＞

共有結合阻害剤－$KRAS^{G12C}$の付加物の形成を、先に記載したようにＭＳを用いて測定した[44]。Ｐｒｉｓｍ（ＧｒａｐｈＰａｄ Ｓｏｆｔｗａｒｅ）を使用して、種々のインキュベーション時間における、種々の阻害剤濃度についての相対％結合値を指数方程式でフィッティングし、試験した各濃度についてのk_{obs}値を生成した。次いで、得られたk_{obs}値を阻害剤濃度に対して再プロットして、k_{inact}及びK_i値を生成した。

【０５６８】

細胞内における共有結合阻害剤－$KRAS^{G12C}$付加物形成の速度論値を決定するために、種々のインキュベーション時間で種々の阻害剤濃度で処理した後に、正確に上記のようにして、基底ＥＲＫ１／２リン酸化レベルを測定し、％活性値を速度論的計算のために使用した。

【０５６９】

＜システインプロテオーム解析＞

ヒト非小細胞肺がんＮＣＩ－Ｈ３５８細胞を２．０Ｅ＋０６細胞／１０ｃｍプレートで播種し、３７℃、５％CO_2で終夜インキュベートした。翌日、細胞を１μＭのＡＭＧ５１０又はＤＭＳＯ（ｎ＝５）で処理し、３７℃、５％CO_2で４時間インキュベートした。処理後、プロテアーゼ阻害剤を含有する氷冷ＰＢＳで細胞を洗浄し、次いでプレートから取り出した。ＩＱ Ｐｒｏｔｅｏｍｉｃｓ、ＬＬＣにおいて、Ｐａｔｒｉｃｅｌｌｉらによって記載された彼らのプロトコルに従って、質量分析（ＭＳ）によりスナップ凍結細胞ペレットを処理した。簡単に述べると、細胞ペレットを溶解し、１００μＭのデスチオビオチンヨードアセトアミドで処理して、溶媒に暴露されている残りの未反応のシステインを標識した。トリプシン消化後、各試料から生成されたペプチド混合物を、（商標）Ｔ－１０ｐｌｅｘ（Ｔａｎｄｅｍ Ｍａｓｓ Ｔａｇ）同重核標識試薬（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）で標識した。標識後、試料を混合し、その後、高容量ストレプトアビジンアガロースを用いてデスチオビオチニル化ペプチドを濃縮した。濃縮されたペプチドを、Ｏｒｂｉｔｒａｐ Ｌｕｍｏｓ質量分析計（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）で3時間グラジエント及び同期式前駆体選択（ＳＰＳ）に基づくＭＳ３法を使用して、ナノＬＣ－ＭＳによって分析した。ＳＥＱＵＥＳＴを利用す

るＨａｒｖａｒｄ Ｍｅｄｉｃａｌ ＳｃｈｏｏｌのＧｙｇｉ Ｌａｂで開発された、カスタム情報パイプラインでデータベース検索を行うことにより、デスチオビオチニル化されたペプチドが同定された。変異体ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}タンパク質配列及び一般的な汚染物質を添付した、Ｈｕｍａｎ Ｕｎｉｐｒｏｔ（２０１８）タンパク質配列データベースで、すべてのスペクトルを検索した。ペプチド及びタンパク質を１％の偽発見率（ＦＤＲ）にまで濾過し、最小シグナルノイズ比が２００で、且つ単離純度が５０％を超える基準を満たすペプチドのみを定量分析に使用した。統計分析のための全てのデータ処理は、システイン含有ペプチドの正規化ピークの存在量を用いてＭｉｃｒｏｓｏｆｔ Ｅｘｃｅｌにより行った。ＤＭＳＯ対照群とＡＭＧ５１０処理試料群との間に、$ｌｏｇ_{２}$－倍の変化が計算された。各ペプチドについて、等しい分散を仮定した両側ｔ検定を行って、処理試料群とＤＭＳＯ対照試料群との間の差の統計的有意性を評価した。各デスチオビオチニル化システイン含有ペプチドについて、負の$ｌｏｇ_{１０}$ｐ－値を示すｖｏｌｃａｎｏ ｐｌｏｔを$ｌｏｇ_{２}$倍変化に対してプロットした。$ｌｏｇ_{２}$倍が２を超える存在量の減少及びｐ－値が０．０００１未満を示すペプチドを、ＡＭＧ５１０の共有結合標的として指定した（ｎ＝５のバイオロジカルレプリケート）。

【０５７０】

＜動物試験＞

すべての動物実験の手順は、Ａｍｍｇｅｎ Ａｎｉｍａｌ Ｃａｒｅ ａｎｄ Ｕｓｅ Ｃｏｍｍｉｔｔｅｅのガイドライン、及び実験動物ケア評価認証協会（ Ａｓｓｏｃｉａｔｉｏｎ ｆｏｒ Ａｓｓｅｓｓｍｅｎｔ ａｎｄ Ａｃｃｒｅｄｉｔａｔｉｏｎ ｏｆ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ａｎｉｍａｌ Ｃａｒｅ）の標準に従って行った。全ての研究は、４～７週齢の雌無胸腺ヌード又は雌Ｂａｌｂ／ｃマウス（Ｃｈａｒｌｅｓ Ｒｉｖｅｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）を使用した。無胸腺ヌードマウスは、滅菌ハウジング中でフィルターキャップ付きケージ１個当たり５匹を飼い、Ｂａｌｂ／ｃマウスは、１２時間の明／暗周期で、環境制御された（温度２３±２℃、相対湿度５０±２０％）部屋の非滅菌ハウジング中で、フィルターキャップ付きケージ１個当たり５匹を飼った。マウスには市販のげっ歯類の飼料を与えた。

【０５７１】

＜遺伝子発現解析＞

ＲＮｅａｓｙ Ｍｉｎｉキット（ＱＩＡＧＥＮ）により、ビヒクル経口、ＡＭＧ５１０経口（１００ｍｇ／ｋｇ ＱＤ）又はＭＥＫｉ経口（ＰＤ－０３２５９０１、１０ｍｇ／ｋｇ ＱＤ）で２日間治療（ｎ＝５／群）した、ＣＴ－２６ ＫＲＡＳ ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍からの全ＲＮＡを精製した。ＲＮＡは、ＤｒｏｐＳｅｎｓｅ ９６（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ Ｉｎｃ．）によって定量した。７５０個の標的遺伝子、２０個のハウスキーピング遺伝子、８個の内部陰性対照、及び６個の内部陽性対照を含むマウス汎がん免疫プロファイリングパネルを用いて、３００ｎｇのＲＮＡをｎＣｏｕｎｔｅｒ（商標）（ＮａｎｏＳｔｒｉｎｇ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）により解析した。生データは、品質を整え、正規化し、ｎＳｏｌｖｅｒソフトウェア（ＮａｎｏＳｔｒｉｎｇ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）により分析した。生データは$ｌｏｇ_{２}$変換し、統計解析を行った。経路スコア（インターフェロンスコア、抗原処理スコア、ＭＨＣスコア、ＴＬＲスコア及びＴ細胞機能スコア）及び細胞プロファイリングスコア（ＮＫ細胞スコア、細胞毒性細胞スコア及びＣＤ４５スコア）を、ｎＳｏｌｖｅｒ Ａｄｖａｎｃｅｄ Ａｎａｌｙｓｉｓ（ＮａｎｏＳｔｒｉｎｇ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）によって生成した。

【０５７２】

各スコアに含まれる遺伝子の詳細なリスト、並びに経路及び細胞プロファイリングスコアを計算するために使用したｐ値については、補足表３Ａ、表３Ｂ、表３Ｃ、表３Ｄ及び表３Ｅを参照されたい。

【０５７３】

＜腫瘍の薬力学的アッセイ＞

ＥＲＫ１／２リン酸化に対するＡＭＧ５１０の影響を、ＭＩＡ ＰａＣａ－２ Ｔ２、

ＮＣＩ－Ｈ３５８、及びＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍を有するマウスで評価した。ＭＩＡ　ＰａＣａ－２　Ｔ２又はＮＣＩ－Ｈ３５８腫瘍細胞（５．０Ｅ＋０６細胞）を、細胞対Ｍａｔｒｉｇｅｌ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ、Ｓａｎ　Ｊｏｓｅ、ＣＡ）の２：１の比で雌無胸腺ヌードマウスの脇腹に皮下注射した。平均腫瘍サイズが約３００～６００ｍｍ^3（ｎ＝３／群）に達したとき、マウスにビヒクル又はＡＭＧ５１０（０．３、１、３、１０、３０及び１００ｍｇ／ｋｇ）のいずれかを単回経口投与し、２時間後に採取した。経時研究のために、単回経口用量（１０ｍｇ／ｋｇ）のＡＭＧ５１０を使用した。雌Ｂａｌｂ／ｃマウスは、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ腫瘍細胞（３．０Ｅ＋０５個の細胞）と共に皮下注射した。腫瘍体積が平均４８６ｍｍ^{3}になった時点で、マウスを群（ｎ＝３／群）に無作為化し、ビヒクル又はＡＭＧ５１０（３、１０、３０、若しくは１００ｍｇ／ｋｇ）、又はＭＥＫｉ（ＰＤ－０３２５９０１、１０ｍｇ／ｋｇ）のいずれかを単回経口投与し、２時間後に採取した。すべての試験で、血漿及び腫瘍を分析し、試験項目濃度を決定した。腫瘍試料は、また、示された時間に収集し、液体窒素中で急速冷凍し、生体分析のために処理するか、又はｃｒｙｏＰＲＥＰ（登録商標）Ｄｒｙ　Ｉｍｐａｃｔｏｒ（Ｃｏｖａｒｉｓ）を使用して粉砕した。粉砕した試料を、プロテアーゼ及びホスファターゼ阻害剤を含有するＲＩＰＡ溶解緩衝液に再懸濁し、均質化した。その後、透明にした溶解物を、上記のようにしてＥＲＫ１／２リン酸化レベルを分析し、またＭＳによりＫＲＡＳ^{G12C}の共有結合の改変を分析した。

【０５７４】

＜異種移植及び同系試験＞

ＭＩＡ　ＰａＣａ－２　Ｔ２、ＮＣＩ－Ｈ３５８、又はＳＷ４８０－１ＡＣ細胞（５．０Ｅ＋０６個の細胞、Ｍａｔｒｉｇｅｌと２：１の比で）を、雌の無胸腺ヌードマウス（ｎ＝１０／群）の脇腹に皮下注射した。治療は、腫瘍が定着し、ＭＩＡ　ＰａＣａ－２　Ｔ２及びＮＣＩ－Ｈ３５８試験では約１７０ｍｍ^3、ＳＷ４８０－１ＡＣモデルでは約２００ｍｍ^{3}の時に開始した。用量応答試験では、マウスは、ビヒクル経口（ＱＤ）又はＡＭＧ５１０経口（３、１０、３０及び１００ｍｇ／ｋｇ　ＱＤ）のいずれかを受けた。ＡＭＧ５１０及びカルボプラチンとのＮＣＩ－Ｈ３５８併用試験では、マウスを８群（ｎ＝１０／群）に無作為化し、ビヒクル経口（ＱＤ）＋ＰＢＳ腹腔内（１×／週）、ＡＭＧ５１０経口（１０又は３０ｍｇ／ｋｇ　ＱＤ）＋ＰＢＳ腹腔内（１×／週）、ビヒクル経口（ＱＤ）＋カルボプラチン（５０又は１００ｍｇ／ｋｇ）腹腔内（１×／週）、ＡＭＧ５１０経口（１０又は３０ｍｇ／ｋｇ　ＱＤ）＋カルボプラチン（５０又は１００ｍｇ／ｋｇ）腹腔内（１×／週）のいずれかで投与した。ＡＭＧ５１０とＭＥＫｉの併用試験では、マウスを４群ｎ＝１０／群に無作為化し、ビヒクル経口（ＱＤ）；ＡＭＧ５１０経口（１０ｍｇ／ｋｇ　ＱＤ）；ＭＥＫｉ経口（１ｍｇ／ｋｇ　ＱＤ）；ＡＭＧ５１０経口（１０ｍｇ／ｋｇ　ＱＤ）＋ＭＥＫｉ経口（１ｍｇ／ｋｇ　ＱＤ）のいずれかで与えた。同系試験では、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ細胞（３．０Ｅ＋０５細胞）を、雌のＢａｌｂ／ｃマウスの脇腹に皮下注射した。治療は、腫瘍が定着し、用量応答試験では約１７０ｍｍ^3、併用試験では約１３０ｍｍ^{3}の時にｎ＝１０／群で開始したが、ＭＥＫｉ用量応答試験ではｎ＝８／群であった。用量応答試験では、マウスは、ビヒクル経口（ＱＤ）、ＡＭＧ５１０経口（３、１０、３０及び１００ｍｇ／ｋｇ　ＱＤ）又はＭＥＫｉ（ＰＤ－０３２５９０１）経口（１、３又は１０ｍｇ／ｋｇ　ＱＤ）のいずれかを受けた。併用試験では、マウスをｎ＝１０／群の４群に無作為化し、ビヒクル経口（ＱＤ）＋ＰＢＳ腹腔内（Ｑ３Ｄ×３）；ＡＭＧ５１０経口（１００ｍｇ／ｋｇ　ＱＤ）＋ＰＢＳ腹腔内（Ｑ３Ｄ×３）；ビヒクル経口（ＱＤ）＋抗ＰＤ－１抗体（２９Ｆ．１Ａ１２；１００μｇ／用量、Ｑ３Ｄ×３）腹腔内；ＡＭＧ５１０経口（１００ｍｇ／ｋｇ　ＱＤ）＋抗ＰＤ－１抗体（２９Ｆ．１Ａ１２；１００μｇ／用量、Ｑ３Ｄ×３）腹腔内のいずれかで１５日目から４３日目まで投与した。併用治療試験は盲検様式で実施した。Ｐｒｏ－Ｍａｘ電子デジタルキャリパー（Ｊａｐａｎ　Ｍｉｃｒｏｍｅｔｅｒ　Ｍｆｇ．Ｃｏ．ＬＴＤ）を用いて、毎週２回腫瘍の大きさを評価し、長さ×幅×高さの式を用いて腫瘍体積を計算し、ｍｍ^{3}として表した。ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ肺ＰＤＸモデルでは、約７０ｍｇの大き

さの腫瘍塊をマウスの皮下に移植した。腫瘍体積が約１６０～２００mm^{3}になったとき、マウスを無作為化し、無作為化の翌日に、ビヒクル経口（ＱＤ）又はＡＭＧ５１０経口（１００ｍｇ／ｋｇ　ＱＤ）のいずれかを与えた。幅^2×長さ×０．５２の式を使用して、毎週２回腫瘍の大きさを収集し、mm^{3}として表した。データは、平均±ＳＥＭとして表される。

【０５７５】

＜ＡＭＧ５１０－ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}複合体の検出＞

抗ヒトＲＡＳ（抗ＲＡＳ）抗体をＡｂｃａｍから購入し、販売会社により記載されたプロトコルを用いて、ＥＺ－Ｌｉｎｋ　ＮＨＳ－ＰＥＧ４－ビオチン（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）でビオチン化した。残留ビオチンを除去し、得られたビオチン－抗ＲＡＳを、Ｄｙｎａｂｅａｄｓ（登録商標）ＭｙＯｎｅ（商標）Ｓｔｒｅｐｔａｖｉｄｉｎ　Ｃ１ビーズ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）に、１：１の比で、ＲＴで１時間、振盪しながら加えた。以前に記載した、インビトロで処理した細胞又はインビボで治療した腫瘍細胞の溶解物を、ビオチン化抗ＲＡＳビーズと共に、振盪しながらＲＴで３時間インキュベートした。磁石を用いて、ビーズをＰＢＳＴ（３×）、続いてＰＢＳ（１×）、次いで水（１×）で洗浄した。試料を、２％ギ酸水溶液／１０％アセトニトリル水溶液を用いてビーズから溶出させ、続いてＲＴで１０分間振盪しながらインキュベートした。上清を９６ウェルプレートに移し、乾燥させた。試料を変性緩衝液（１０ｍＭのＴＣＥＰ、８Ｍ尿素）に再懸濁し、６５℃で１５分間振盪しながらインキュベートした。ヨードアセトアミド（４０ｍＭ）を加え、３７℃で３０分間インキュベートし、光から保護した。５０ｍＭのNH_4HCO_3及びトリプシン（０．０１μｇ／μＬ）を加え、試料を３７℃で終夜、約１６～２０時間消化させ、最後にギ酸で反応を停止させ、１％（体積：体積）の最終濃度を得た。その後Ａｃｑｕｉｔｙ　ＵＰＬＣ（Ｗａｔｅｒｓ）に連結した６５００ＱＴＲＡＰ（ＡＢ　ＳＣＩＥＸ）を使用した陽イオンエレクトロスプレーモードでの、多重反応モニタリング（ＭＲＭ）により、液体クロマトグラフィー－タンデム質量分析（ＬＣ－ＭＳ／ＭＳ）によって試料を分析した。試料を、Ａｃｑｕｉｔｙ　ＵＰＬＣ　ＢＥＨ　Ｃ８　１．７μｍ、２．１×１００ｍｍカラム（Ｗａｔｅｒｓ）に注入した。移動相は、移動相Ａ（水＋０．１％ギ酸）及び移動相Ｂ（アセトニトリル＋０．１％ギ酸）からなった。ＬＣグラジエントは、５分で５～５０％Ｂ、０．５分で５０～９５％Ｂ、１分で９５％Ｂであった。以下のペプチドＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}ＬＶＶＶＧＡＣ（ＣＡＭ）ＧＶＧＫ（５２９．８→８４６．３）及びＡＭＧ５１０改変－ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}ＡＭＧ５１０－ＬＶＶＶＧＡＣ（ＣＡＭ）ＧＶＧＫ（５２１．４→６７５．２）をモニターした。占有率は、未改変及び改変－ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}ペプチドの合計に対して正規化した、ＡＭＧ５１０改変－ＫＲＡＳ^{Ｇ１２Ｃ}ペプチドのパーセンテージとして計算した。

【０５７６】

＜フローサイトメトリー＞

ＭＨＣクラスＩの抗原発現に対するＡＭＧ５１０の影響をインビトロで分析するために、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ細胞（５．０Ｅ＋０４細胞／ウェル）を９６ウェルプレートに播種し、ＩＦＮγの非存在下、又は最終濃度が２５又は２５０ｐｇ／ｍＬのＩＦＮγの存在下、ＡＭＧ５１０の３倍連続希釈で処理した。プレートを３７℃、５％CO_2で２４時間インキュベートした。細胞をウェルから非酵素的に剥がし、染色緩衝液（ＰＢＳ／０．５％ＢＳＡ）で洗浄し、その後、ＰＥ共役Ｈ－２Ｄ^d、Ｈ－２Ｋ^d、又はＨ－２Ｌ^{d}抗体（ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ）と共に氷上で３０分間インキュベートした。洗浄後、ＳＹＴＯＸ　Ｂｌｕｅ　Ｄｅａｄ　Ｃｅｌｌ　Ｓｔａｉｎ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を含有する染色緩衝液に細胞を再懸濁し、その後フローサイトメトリーによって分析した。ＢＤ　ＦＡＣＳＤｉｖａソフトウェアを使用して、ＢＤ　ＬＳＲＦｏｒｔｅｓｓａフローサイトメーターで収集及び分析を行った。

【０５７７】

インビボ試験では、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ細胞を、約６週齢のＢａｌｂ

／ｃ雌マウスに移植した。移植後２２日目に、マウスを、ビヒクル経口（ＱＤ）＋ＰＢＳ腹腔内（Ｑ３Ｄ×２）；ＡＭＧ５１０経口（１００ｍｇ／ｋｇ　ＱＤ）＋ＰＢＳ腹腔内（Ｑ３Ｄ×２）；ビヒクル経口（ＱＤ）＋抗ＰＤ－１抗体（２９Ｆ．１Ａ１２；１００μｇ／用量、Ｑ３Ｄ×２）腹腔内；ＡＭＧ５１０経口（１００ｍｇ／ｋｇ　ＱＤ）＋抗ＰＤ－１抗体（２９Ｆ．１Ａ１２；１００μｇ／用量、Ｑ３Ｄ×２）腹腔内；又はＭＥＫｉ経口（１０ｍｇ／ｋｇ、ＱＤ）＋ＰＢＳ腹腔内（Ｑ３Ｄ×２）のいずれかで投与を受ける、ｎ＝８／群の５群からなる４日間投与コホートにランダム化した。投与の４日後、腫瘍を採取し、周囲の筋膜から切開し、秤量し、機械的に細かく刻み、Ｌｉｂｅｒａｓｅ　ＴＬ（０．２ｍｇ／ｍｌ、Ｒｏｃｈｅ）及びＤＮａｓｅ　Ｉ（２０μｇ／ｍｌ、Ａｍｂｉｏｎ）に入れた。その後、腫瘍溶液を、穏やかなＭＡＣＳ　Ｄｉｓｓｏｃｉａｔｏｒ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃｈ）を使用して機械的に均質化し、ＭＡＣＳｍｉｘ　Ｔｕｂｅ　Ｒｏｔａｔｏｒ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃｈ）上、３７℃で１５分間インキュベートした。次に、０．０２％ＥＤＴＡ（Ｓｉｇｍａ）及び熱不活性化ＦＢＳ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）で細胞を処理し、７０μｍフィルターに通して凝集物を除去した。その後、細胞を遠心分離し、上清を廃棄し、次いで、細胞ペレットをＬＩＶＥ／ＤＥＡＤ　Ｆｉｘａｂｌｅ　Ｂｌｕｅ　Ｄｅａｄ　Ｃｅｌｌ　Ｓｔａｉｎ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）中に３０分間再懸濁させた。その後、細胞内染色のための細胞の固定化及び透過化（Ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒ　Ｆｉｘａｔｉｏｎ＆Ｐｅｒｍｅａｂｉｌｉｚａｔｉｏｎ　Ｂｕｆｆｅｒ　Ｓｅｔ、ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を行う前に、示されている抗体（補足表４）で細胞表面を染色した。ＣｏｕｎｔＢｒｉｇｈｔ（商標）Ａｂｓｏｌｕｔｅ　Ｃｏｕｎｔｉｎｇ　Ｂｅａｄｓ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を各試料ウェルに加えて、ＬＳＲ　ＩＩフローサイトメーター（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）での分析前に細胞の計数を可能にした。全ての分析は、ＦｌｏｗＪｏソフトウェアｖ１０（ＦｌｏｗＪｏ）を用いて行った。記録されたビーズに対して細胞数を正規化し、分析された腫瘍アリコートの体積で割り、腫瘍の質量で割ることによって、絶対細胞数を決定した。

【０５７８】

＜酵素免疫スポット（ＥＬＩＳｐｏｔ）アッセイ＞

ＩＦＮ－γ　ＥＬＩＳｐｏｔアッセイ（Ｃｅｌｌｕｌａｒ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　Ｌｔｄ．）を用いて、抗原特異的Ｔ細胞応答を評価した。脾臓細胞を採取し（ｎ＝４～５／群）、全細胞ＥＬＩＳｐｏｔアッセイに使用した。簡単に述べると、２．５Ｅ＋０５個の脾臓細胞を２．５Ｅ＋０４個のＣＴ－２６、ＣＴ－２６　ＫＲＡＳ　ｐ．Ｇ１２Ｃ又は４Ｔ１腫瘍細胞と混合し、３７℃で２０時間インキュベートした。ＣＴＬＳ６フルオロスポットアナライザー（Ｃｅｌｌｕｌａｒ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　Ｌｔｄ．）を用いてスポットを数えた。

【０５７９】

＜統計解析＞

一元配置ＡＮＯＶＡ、続いてＤｕｎｎｅｔｔの事後検定により薬力学的実験を分析した。効力試験のために、反復測定分散分析（ＲＭＡＮＯＶＡ）を行い、続いてＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ７．０４を用いてＤｕｎｎｅｔｔの事後検定を行った。回帰分析は、対応のあるｔ検定によって行った。生存の統計分析は、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ７．０４を使用して、Ｋａｐｌａｎ－Ｍｅｉｅｒ推定量により決定し、Ｍａｎｔｅｌ－Ｃｏｘログーランクにより曲線を比較した。フローサイトメトリーデータは、二元配置ＡＮＯＶＡ多重比較、続いてテューキーの事後検定によって分析した。ＮａｎｏＳｔｒｉｎｇデータは、一元配置ＡＮＯＶＡ多重比較、続いてテューキーの事後検定によって分析した。ＥＬＩＳｐｏｔデータ比較は、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍを用いて対応のないｔ検定によって行った。

【０５８０】

＜ＡＭＧ５１０のＬＣ－ＭＳ／ＭＳ生体分析法＞

ＴｉｓｓｕｅＬｙｚｅｒ（Ｑｉａｇｅｎ）中で、組織に水（４：１　ｍＬ：ｇ）を加え

、タングステンカーバイドビーズを使用して、腫瘍組織の粉砕物を調製した。２０μＬの試料（血漿又は腫瘍組織粉砕物）に、ＩＳ（２００ｎｇ／ｍＬトルブタミド）を含有する１００μＬのアセトニトリルを加え、試料を１０分間ボルテックスし、３５００ｇで１０分間遠心分離し、９０μＬの上清を収集した。回収した上清に水（０．１％ギ酸を含む）１００μＬを加え、得られた溶液５μＬをＬＣ－ＭＳ／ＭＳシステムに注入した。クロマトグラフィー分離は、５０℃に維持されたＰｈｅｎｏｍｅｎｅｘ　Ｋｉｎｅｔｅｘ　Ｃ１８　５０×２．１ｍｍ、２．７μｍを使用し、H_2O中０．１％ギ酸（移動相Ａ）及びアセトニトリル中０．１％ギ酸（移動相Ｂ）を使用して実施した。クロマトグラフィー勾配は、０分～０．１分は１０％移動相Ｂの無勾配、０．１～０．８５分は移動相Ｂの９５％への直線的増加、０．８５～１．１０分は９５％移動相Ｂの無勾配を保持、１．１０～１．１１分は移動相Ｂの１０％への直線的減少、１．１１～１．４０分は１０％移動相Ｂの無勾配保持とした。通常、ＡＰＩ４０００質量分析計を分析に使用し、５６１．１７９＞１３４．１００（ＡＭＧ５１０）及び２７１．１００＞１３４．１００（トルブタミド）のＭＳ／ＭＳ転移に続いてポジティブモードＥＳＩで実施した。Ａｎａｌｙｓｔ（登録商標）（Ｓｃｉｅｘ）を用いてピーク面積を積分した。ピーク面積積分後、データをＷａｔｓｏｎ　ＬＩＭＳ（商標）（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）にエクスポートし、ピーク面積比（ＡＭＧ５１０のピーク面積／ＩＳのピーク面積）対血漿較正標準の公称濃度に対して加重（$1/x^2$）線形回帰を行って濃度を決定した。血漿中のＡＭＧ５１０の較正範囲は、１．０～１０，０００ｎｇ／ｍＬ（ＬＬＯＱ　１．０ｎｇ／ｍＬ）であった。腫瘍組織粉砕物中のＡＭＧ５１０の較正範囲は、５．０～５０，０００ｎｇ／ｍＬ（ＬＬＯＱ　５．０ｎｇ／ｍＬ）であった。

【０５８１】

＜細胞培養物のアミノ酸による安定同位体標識（ＳＩＬＡＣ）＞

軽質培地（ＬＭ）は、１Ｌの最終容量に以下の成分を添加することによって調製した：１００ｍＬの透析したＦＢＳ、１０．４ｇの粉末ＲＰＭＩ－１６４０培地、２ｇの炭酸水素ナトリウム、２００ｍｇのＬ－アルギニン、４８ｍｇのＬ－リジン、１００ｍｇのＬ－ロイシン、及び１×Ｐｅｎ－Ｓｔｒｅｐ（これは０．２２μｍフィルターシステムで濾過された）。ＬＭと同様に重質培地（ＨＭ）を調製したが、１００ｍｇ［$^{13}C_6$］－Ｌ－ロイシン（Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ　Ｉｓｏｔｏｐｅ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）を非同位体濃縮Ｌ－ロイシンの代わりに使用した。ＭＩＡ　ＰａＣａ－２及びＮＣＩ－Ｈ３５８細胞を、ＬＭを有するＴ７５フラスコに播種した（３Ｅ＋０５個の細胞）；ＬＭは毎日交換した。４８時間後、細胞を１×ＰＢＳで洗浄し、培地をＨＭに切り替えた；ＨＭは４日間毎日交換した。６日目に、細胞を１×ＰＢＳで洗浄し、培地をＬＭに切り替えた；ＬＭは毎日交換した。６日目に開始して、ＭＩＡ　ＰａＣａ－２試料を、０、１、３、６、９、１２、１５、１８、２１、２４、３０、３６、４８、及び７２時間で収集した。６日目に開始して、ＮＣＩ－Ｈ３５８試料を、０、３、６、９、１２、２４、３６、４８、７２、及び９６時間で収集した。３重に調製した別々のＴ７５フラスコを各時点で回収し、溶解物へと処理した。

【０５８２】

＜ＳＩＬＡＣ試料の収集及び溶解物タンパク質の調製＞

Ｔ７５フラスコを１×ＰＢＳで洗浄し、トリプシンで処理し、２分間インキュベートした後、１０％の透析済ＦＢＳを含有する氷冷ＰＢＳを加えた。細胞を十分に混合し、収集し、その後Ｖｉ－ＣＥＬＬ　ＸＲを使用して細胞を計数した。残留細胞を遠心分離し、氷冷ＰＢＳ（Mg^{+2}含まず、Ca^{+2}含まず）で洗浄した。細胞を再び遠心分離し、ＰＢＳを除去し、ホスファターゼ（ＰｈｏｓＳＴＯＰ、Ｒｏｃｈｅ）及びプロテアーゼ（ｃＯｍｐｌｅｔｅ　ＥＤＴＡ－ｆｒｅｅ、Ｒｏｃｈｅ）阻害剤を含有する少量の氷冷ＲＩＰＡ中で細胞を溶解した。得られた溶解物をボルテックスし、氷上に１０分間置き、遠心分離して不溶性破片を除去し、その後、さらなる処理まで－８０℃で保存した。

【０５８３】

＜ＳＩＬＡＣ　$KRAS^{G12C}$標的の半減期決定＞

抗ヒトＲＡＳ（抗ＲＡＳ）抗体をＡｂｃａｍから購入し、販売会社により記載されたプロトコルを用いて、ＥＺ－Ｌｉｎｋ　ＮＨＳ－ＰＥＧ４－ビオチン（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）でビオチン化した。残留ビオチンを除去し、得られたビオチン－抗ＲＡＳを、Ｄｙｎａｂｅａｄｓ（登録商標）ＭｙＯｎｅ（商標）Ｓｔｒｅｐｔａｖｉｄｉｎ　Ｃ１ビーズ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）にＲＴで１．５時間振盪しながら加えた。細胞溶解物（上記）を、ビオチン化抗ＲＡＳビーズと共に、振盪しながら室温で２時間インキュベートした。磁石を用いて、ビーズをＰＢＳＴ（３×）、続いてＰＢＳ（１×）で洗浄した。３％ギ酸水溶液／３０％ＡＣＮ水溶液を用いて試料をビーズから溶出し、続いて振盪しながら室温で１０分間インキュベートした。上清を９６ウェルプレートに移し、乾燥させた。試料を変性緩衝液（１０ｍＭ　ＴＣＥＰ、８Ｍ尿素）に再懸濁させ、水浴を用いて３７℃で１時間インキュベートした。ヨードアセトアミド（４０ｍＭ）を加え、２５℃で１時間インキュベートし、光から保護した。５０ｍＭのNH_4HCO_3及びトリプシン（０．１μｇ／μＬ）を加え、試料を３７℃で２４時間消化させ、その後ギ酸で反応を停止させ、１％（体積：体積）の最終濃度を得た。質量分析による分析の前に、試料を約８０μＬに濃縮した。Ａｃｑｕｉｔｙ　ＵＰＬＣ（Ｗａｔｅｒｓ）に連結した６５００ＱＴＲＡＰ（ＡＢ　ＳＣＩＥＸ）を使用した陽イオンエレクトロスプレーモードでの、多重反応モニタリング（ＭＲＭ）により、液体クロマトグラフィー－タンデム質量分析（ＬＣ－ＭＳ／ＭＳ）によって試料を分析した。試料を、Ａｃｑｕｉｔｙ　ＵＰＬＣ　ＢＥＨ　Ｃ８　１．７μｍ、２．１×１００ｍｍカラム（Ｗａｔｅｒｓ）に注入した。移動相は、移動相Ａ（水＋０．１％ギ酸）及び移動相Ｂ（アセトニトリル＋０．１％ギ酸）からなった。ＬＣ勾配は、５分で５～５０％Ｂ、０．５分で５０～９５％Ｂ、１分で９５％Ｂであった。$KRAS^{G12C}$についての以下のペプチド（ＬＶＶＶＧＡＣ（ＣＡＭ）ＧＶＧＫ（５２９．８→８４６．３）＆１３Ｃ－ＬＶＶＶＧＡＣ（ＣＡＭ）ＧＶＧＫ（５３２．８→８４６．３））及び　ＲＡＳ　ＷＴ（ＬＶＶＶＧＡＧＧＶＧＫ（４７８．３→７４３．２）＆１３Ｃ－ＬＶＶＶＧＡＧＧＶＧＫ（４８１．３→７４３．２））を使用して、重い標識から軽い標識への移行をモニターした。相対的同位体存在量（ＲＩＡ）は、以下の式を用いて決定した：

【数１】

$$RIA = \frac{A_{重い}}{A_{軽い} + A_{重い}}$$

【０５８４】

＜$KRAS^{G12C}$半減期のＳＩＬＡＣ決定＞

タンパク質半減期の決定に対する細胞増殖の影響を説明するために、各時点に関連する細胞数及びＲＩＡデータを一連の式に同時に当てはめて、ＭＩＡ　ＰａＣａ－２及びＮＣＩ－Ｈ３５８細胞中の$KRAS^{G12C}$の半減期を決定した。以下の式を使用した：

重いペプチドの一次方程式：

【数２】

$$\frac{d\,Hv}{dt} = -k_{dec}\,Hv$$

軽いペプチドの一次方程式：

【数３】

$$\frac{d\,lt}{dt} = k_{dec}\,(Hv_0 + lt_0) - k_{dec}\,lt + \frac{細胞_{新しい}}{細胞_{(0)}}(Hv_0 + lt_0)\,k_{dec} - k_{dec}\,\frac{細胞_{新しい}}{細胞_{(0)}}\,lt$$

細胞増殖の一次方程式：

【数４】

$$\frac{\mathrm{d細胞_{新しい}}}{\mathrm{dt}} = -\mathrm{k_{dil}}(\mathrm{細胞_{(0)}} + \mathrm{細胞_{新しい}})$$

追加の式：

【数５】

$$\mathrm{k_{syn}} = \mathrm{k_{dec}}(\mathrm{Hv_0} + \mathrm{lt_0})$$

$$\text{半減期} = \frac{0.693}{\mathrm{k_{dec}}}$$

【０５８５】

時間０はＨＭがＬＭに交換された時間として定義され、Ｈｖは重いペプチドの濃度、ｌｔは軽いペプチドの濃度、$\mathrm{cell_{new}}$は新しい細胞の数、$\mathrm{k_{dec}}$は分解の一次速度定数、$\mathrm{k_{syn}}$は合成のゼロ次速度定数、$\mathrm{k_{dil}}$は一次の細胞増殖定数、$\mathrm{cell_{(0)}}$は時間０における細胞の数、$\mathrm{Hv_{(0)}}$は時間０における重いペプチドの濃度、$\mathrm{lt_{(0)}}$は時間０における軽いペプチドの濃度である。モデリングには段階的アプローチが使用され、第１の工程では、$\mathrm{k_{dil}}$はセル数から推定され、第２の工程では、$\mathrm{k_{dec}}$は上記の式を使用して推定される。

【０５８６】

ＬＭへの交換後の細胞数を定量化し、以下の式を適用することによって、$\mathrm{k_{dil}}$を推定した：$\mathrm{A = A_0 exp(-kdilt)}$、ここでＡ及び$\mathrm{A_0}$は、それぞれ時間ｔ及び０での細胞数を表す。

【０５８７】

【表１７】

補足表 1. 細胞アッセイのデータ

変異	細胞株	由来組織	基底 p-ERK1/2 IC_{50} (μM)	細胞生存率 IC_{50} (μM)	スフェロイド細胞生存率 IC_{50} (μM)
KRAS p.G12C ホモ接合	MIA PaCa-2	膵臓	0.036 ± 0.002	0.005 ± 0.001	0.001 ± 0.001
	NCI-H1373	肺	0.010 ± 0.0001	0.020 ± 0.006	0.005 ± 0.002
	NCI-H2030	肺	0.040 ± 0.020	0.006 ± 0.003	ND
	NCI-H2122	肺	0.123 ± 0.006	0.032 ± 0.005	0.009 ± 0.002
	SW1463	結腸	0.033 ± 0.004	0.015 ± 0.007	ND
	SW1573	肺	0.027 ± 0.001	> 7.5	>10
	UM-UC-3	膀胱	0.029 ± 0.016	0.005 ± 0.001	ND
KRAS p.G12C ヘテロ接合	Calu-1	肺	0.013 ± 0.004	0.004 ± 0.001	ND
	NCI-H1792	肺	0.045 ± 0.023	0.011 ± 0.008	ND
	NCI-H23	肺	0.090 ± 0.017	0.006 ± 0.001	ND
	NCI-H358	肺	0.035 ± 0.003	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.002
	SW837	結腸	0.018 ± 0.002	0.009 ± 0.006	ND
KRAS p.G12D ホモ接合	AsPC-1	膵臓	> 10	> 7.5	ND
KRAS p.G12D ヘテロ接合	A-427	肺	> 10	> 7.5	ND
	LS 174T	結腸	> 10	> 7.5	ND

変異	細胞株	由来組織	基底 p-ERK1/2 IC_{50} (μM)	細胞生存率 IC_{50} (μM)	スフェロイド細胞生存率 IC_{50} (μM)
KRAS p.G12V ホモ接合	SW480	結腸	> 10	> 7.5	ND
KRAS p.G12S ホモ接合	A549	肺	> 10	> 7.5	ND
KRAS p.G13C ヘテロ接合	NCI-H1355	肺	> 10	> 7.5	ND
KRAS WT *EGFR p.E746_A750del*	HCC-827	肺	> 10	> 7.5	ND
KRAS WT *EML4-ALK* 融合体	NCI-H1322	肺	> 10	> 7.5	ND
KRAS WT *TPM3-NTRK* 融合体	KM12	結腸	> 10	> 7.5	ND
KRAS WT *BRAF p.V600E*	COLO-205	結腸	> 10	> 7.5	ND

変異アノテーションは、Catalogue of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC)[1]、又は Misale et al. 2019[2] から得た。基底 ERK1/2 リン酸化及び細胞生存率アッセイの平均 IC_{50} 値は、少なくとも n=2 の実験から得た。ND=決定されず

【０５８８】

【表１８】

補足表 2. データ収集及び精密化の統計値(分子置換)

	$KRAS^{G12C/C51S/C80L/C118S}$ AMG 510
データ収集	
空間群	P 21 21 21
格子寸法	
a, *b*, *c* (Å)	40.87, 58.42, 65.89
α, β, γ (°)	90, 90, 90
分解能 (Å)	30.0-1.65 (1.71-1.65)
R_{sym}	0.162 (0.521)
$I / \sigma I$	6.9 (2.5)
完全性 (%)	97.0 (96.3)
冗長性	4.4 (4.2)
精密化	
分解能 (Å)	30.00 - 1.65
無反射	18077
R_{work} / R_{free}	0.1809 / 0.2152
原子数	1613
タンパク質	1336
リガンド/イオン	70
水	207
B-**ファクター**	24.8
タンパク質	24.3
リガンド/イオン	24.1
水	34.1
R.m.s.**偏差**	
結合長 (Å)	0.005
結合角 (°)	1.08

1 **組の結晶データセットがこの構造用に収集された**

*カッコ内の値は最大分解能のシェルについてのものである。

【０５８９】

【表１９】

補足表 3. 遺伝子発現経路のスコア分析

補足表 3A

T 細胞機能経路のスコアの計算に関与する遺伝子	P 値	T 細胞機能経路のスコアの計算に関与する遺伝子	P 値
STAT1	1.72E-09	LCP1	1.20E-04
H2-T23	2.70E-09	IKZF2	1.46E-04
ADA	5.22E-09	SOCS1	1.63E-04
EGR1	7.09E-09	TCF7	2.02E-04
TGFB3	1.22E-08	CEBPB	2.26E-04
TLR6	1.24E-08	IL1R1	5.42E-04
ITGA1	1.40E-08	JAK3	6.60E-04
THY1	1.65E-08	PVRL2	6.90E-04
NFATC2	2.31E-08	CD1D1	8.57E-04
H2-AB1	3.62E-08	CD274	8.63E-04
H2-AA	4.93E-08	ICOS	9.52E-04
CTSH	5.80E-08	TNFSF13B	9.63E-04
CD48	6.78E-08	IL4RA	1.02E-03
ITGAL	6.82E-08	STAT4	1.07E-03
CD74	7.35E-08	FAS	1.09E-03
ITGAM	8.78E-08	LGALS3	1.18E-03
IL2RG	8.97E-08	IL13RA1	1.28E-03
H2-DMA	1.33E-07	IFNG	1.29E-03
CD83	1.41E-07	FASL	1.39E-03
TNFRSF14	1.48E-07	IRF4	1.47E-03
MAF	1.60E-07	TRAF6	1.63E-03
CD247	1.66E-07	CD2	1.65E-03
PTPRC	1.70E-07	TIGIT	1.65E-03
TAP1	2.32E-07	TLR4	1.69E-03
CD3G	2.80E-07	CD47	2.26E-03
MILL2	3.39E-07	VEGFA	2.31E-03
CD27	3.64E-07	PDCD1LG2	2.47E-03
LCK	4.04E-07	BCL6	2.48E-03
CD3E	4.62E-07	IL12RB1	3.49E-03
SPP1	5.19E-07	RORA	3.60E-03
IKZF1	5.24E-07	NFKB1	3.96E-03
CCR2	7.34E-07	CXCL12	4.63E-03

T細胞機能経路のスコアの計算に関与する遺伝子	P値	T細胞機能経路のスコアの計算に関与する遺伝子	P値
ZAP70	7.73E-07	RIPK2	4.83E-03
NFATC1	8.07E-07	GFI1	4.88E-03
LAG3	8.54E-07	IL15	5.01E-03
IRF1	8.95E-07	IL12B	5.09E-03
SYK	9.31E-07	IL2RA	5.56E-03
IRF8	1.17E-06	CD276	6.24E-03
PSMB10	1.17E-06	BTLA	6.27E-03
XCL1	1.36E-06	FOXP3	6.70E-03
PVR	1.54E-06	ANXA1	7.25E-03
CXCR3	1.54E-06	SOCS3	7.29E-03
CD3D	1.56E-06	CD40	7.52E-03
IL18R1	1.93E-06	CD80	1.21E-02
EOMES	1.95E-06	MAPK1	1.22E-02
PSEN2	2.40E-06	MAP3K7	1.43E-02
CCL5	3.67E-06	TRP53	1.46E-02
IFNAR1	3.85E-06	TRAF2	1.59E-02
JAK1	4.90E-06	IL12RB2	1.78E-02
CXCR4	4.94E-06	NOS2	1.79E-02
CARD11	6.83E-06	TGFB1	2.02E-02
ICAM1	6.84E-06	JAK2	2.46E-02
FCGR4	6.94E-06	SPN	2.48E-02
IL1B	7.10E-06	YY1	2.53E-02
CCL2	7.33E-06	STAT6	2.90E-02
CMA1	7.69E-06	CCL3	2.97E-02
H2-K1	9.48E-06	MAPK8	3.73E-02
VCAM1	1.03E-05	IL7R	5.28E-02
IL6ST	1.16E-05	TNFSF11	5.45E-02
BCL2	1.21E-05	CCND3	6.50E-02
ICOSL	1.35E-05	TNF	1.23E-01
TYK2	1.57E-05	CSF2	1.54E-01
ITGB2	1.62E-05	RELB	1.55E-01
CD86	1.68E-05	CCL11	1.73E-01
IL18RAP	1.72E-05	SELL	1.91E-01
CCR5	1.74E-05	ITGAX	2.11E-01
ITK	1.84E-05	CCR7	2.17E-01
ITCH	1.94E-05	TNFRSF4	2.31E-01

T細胞機能経路のスコアの計算に関与する遺伝子	P値	T細胞機能経路のスコアの計算に関与する遺伝子	P値
IL18	2.01E-05	RPS6	2.43E-01
CD8A	2.41E-05	HAVCR2	3.03E-01
REL	2.69E-05	TNFSF18	3.43E-01
CD8B1	3.06E-05	FLT3	3.64E-01
CD5	3.39E-05	GZMB	3.89E-01
H2-D1	3.80E-05	FUT7	4.36E-01
STAT5B	3.93E-05	IDO1	4.69E-01
PDCD1	5.10E-05	CASP3	4.78E-01
CCL7	5.31E-05	CCR6	5.02E-01
CREBBP	5.39E-05	TMED1	5.07E-01
H2-M3	5.67E-05	BCL10	5.21E-01
CD4	5.83E-05	CXCL13	6.89E-01
TBX21	7.14E-05	CD28	7.48E-01
PSEN1	7.20E-05	TNFSF14	7.51E-01
GATA3	7.48E-05	CTLA4	7.97E-01
POU2F2	7.52E-05	CD40LG	8.17E-01
TXK	8.94E-05	IL7	8.86E-01
DPP4	9.70E-05	RORC	1.00E+00

【０５９０】

【表２０】

補足表 3B

インターフェロン経路のスコアの計算に関与する遺伝子	P 値	インターフェロン経路のスコアの計算に関与する遺伝子	P 値
GBP5	7.49E-09	DDX58	1.73E-05
IFIT3	2.66E-08	IFIT2	5.17E-05
H2-AB1	3.62E-08	TBK1	5.83E-05
H2-AA	4.93E-08	IFI35	7.52E-05
IFI44L	8.05E-08	SH2D1B1	4.08E-04
IFNAR2	1.13E-07	IFITM2	5.30E-04
IRGM2	1.18E-07	IFI27	6.90E-04
CIITA	1.68E-07	ULBP1	9.81E-04
CD3E	4.62E-07	TMEM173	1.10E-03
IFNGR1	5.77E-07	H60A	2.91E-03
IFIH1	7.59E-07	IFIT1	3.52E-03
IRF8	1.17E-06	IL12RB2	1.78E-02
IRF7	1.19E-06	NOS2	1.79E-02
NLRC5	1.46E-06	RUNX3	9.02E-02
EOMES	1.95E-06	CCR7	2.17E-01
IFNAR1	3.85E-06	FADD	2.37E-01
CXCL16	6.82E-06	IFITM1	6.10E-01
IFI44	8.06E-06	MAVS	8.59E-01

【０５９１】

【表２１】

補足表 3C

MHC 経路のスコアの計算に関与する遺伝子	P 値
H2-T23	2.70E-09
KLRK1	3.47E-08
H2-AB1	3.62E-08
H2-EB1	4.45E-08
H2-AA	4.93E-08
CTSH	5.80E-08
CD74	7.35E-08
MR1	9.98E-08
H2-DMA	1.33E-07
CIITA	1.68E-07
TAP1	2.32E-07
FCER1G	2.41E-07
LAG3	8.54E-07
CD160	1.02E-06
FCGR3	1.13E-06
NLRC5	1.46E-06
FCGR1	1.50E-06
TAPBP	1.53E-06
H2-K1	9.48E-06
H2-D1	3.80E-05
TAP2	4.89E-05
PML	5.37E-05
H2-M3	5.67E-05
FCGR2B	6.05E-05
H2-DMB1	1.80E-04
CD1D1	8.57E-04
H2-DMB2	1.17E-02
H2-Q2	4.41E-02
H2-OB	1.92E-01
CD40LG	8.17E-01

【０５９２】

【表２２】

補足表 3D

抗原プロセシング経路のスコアの計算に関与する遺伝子	P 値
H2-T23	2.70E-09
H2-AB1	3.62E-08
H2-EB1	4.45E-08
H2-AA	4.93E-08
H2-EA-P	4.94E-08
NOD1	4.97E-08
CD74	7.35E-08
MR1	9.98E-08
H2-DMA	1.33E-07
PSMB8	2.03E-07
TAP1	2.32E-07
FCER1G	2.41E-07
FCGR3	1.13E-06
FCGR1	1.50E-06
TAPBP	1.53E-06
PSMB9	2.02E-06
SLC11A1	2.53E-06
ICAM1	6.84E-06
H2-K1	9.48E-06
H2-D1	3.80E-05
TAP2	4.89E-05
H2-M3	5.67E-05
FCGR2B	6.05E-05
H2-DMB1	1.80E-04
CD1D1	8.57E-04
H2-DMB2	1.17E-02
H2-Q2	4.41E-02
RELB	1.55E-01
H2-OB	1.92E-01
CCR7	2.17E-01
NOD2	2.69E-01

【０５９３】

【表２３】

補足表 3E

TLR 経路のスコアの計算に関与する遺伝子	P 値
TLR6	1.24E-08
TICAM2	1.88E-08
TLR7	4.46E-08
TLR8	9.04E-08
TLR9	1.23E-07
TLR1	2.11E-07
TLR2	3.63E-06
CD86	1.68E-05
TLR3	2.63E-05
TBK1	5.83E-05
IRAK2	1.44E-04
PRKCE	3.72E-04
TICAM1	8.09E-04
IRF4	1.47E-03
TRAF6	1.63E-03
TLR4	1.69E-03
TLR5	1.90E-03
MYD88	4.49E-03
GFI1	4.88E-03
MAP3K7	1.43E-02
IRF3	3.71E-02
MAPKAPK2	1.16E-01
IRAK1	1.39E-01
NFKBIA	1.62E-01
TRAF3	6.07E-01
TIRAP	9.18E-01

【０５９４】

【表２４】

補足表 4. フローサイトメトリー抗体

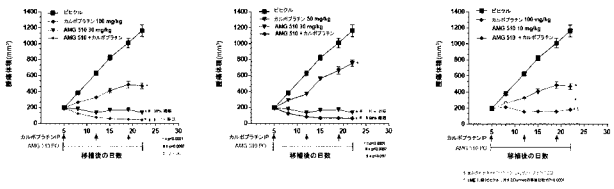
抗体	クローン	カタログ番号	供給者
BUV73 ラット抗マウス CD4	RM4-5	564933	BD Biosciences
BV421 ラット抗マウス CD8a	53-6.7	563898	BD Biosciences
BV510 ラット抗-CD11b	M1/70	562950	BD Biosciences
BUV737 ラット抗-CD11b	M1/70	564443	BD Biosciences
BV421 ハムスター抗マウス CD11c	HL3	562782	BD Biosciences
BB700 ラット抗マウス CD19	1D3	566411	BD Biosciences
FITC ラット抗マウス CD24	M1/69	11-0242-81	ThermoFisher Scientific
BV650 ラット抗マウス CD25	PC61	564021	BD Biosciences
BV786 マウス抗マウス CD45.2	104	563686	BD Biosciences
APC/Cy7 ラット抗マウス CD90.2	30-H12	105328	BioLegend
APC ハムスター抗マウス CD103	2E7	17-1031-80	ThermoFisher Scientific
PE ラット抗マウス CD274	MIH5	558091	BD Biosciences
PE ハムスター抗マウス CD279 (PD-1)	J43	12-9985-82	ThermoFisher Scientific
FITC ラット抗マウス CD335 (NKp46)	29A1.4	560756	BD Biosciences
BV650 ラット抗マウス F4/80	BM8	123149	BioLegend
APC ラット抗マウス FOXP3	FJK-16s	17-5773	ThermoFisher Scientific
BV711 ラット抗マウス Ly-6C	HK1.4	128037	BioLegend
APC-H7 ラット抗マウス Ly-6G	1A8	565369	BD Biosciences
BV510 ラット抗マウス I-A/I-E (MHCII)	M5/114.15.2	107635	BioLegend
BV711 ハムスター抗マウス TCR β 鎖	H57-597	563135	BD Biosciences

【０５９５】

本発明は、好ましい実施形態に関連して記載される。しかし、本発明は、開示された実施形態には限定されないことを理解すべきである。本発明の実施形態が本明細書に記載されれば、当業者によって様々な修正が行われ得ることは理解される。そのような修正は、以下の特許請求の範囲に包含される。

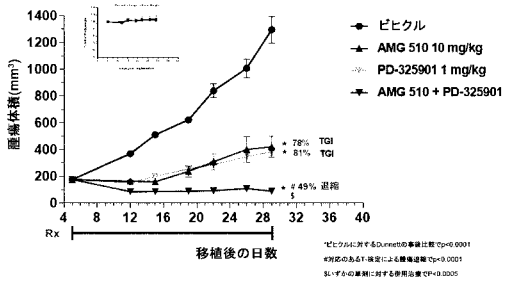
【図１】

図1



【図２】

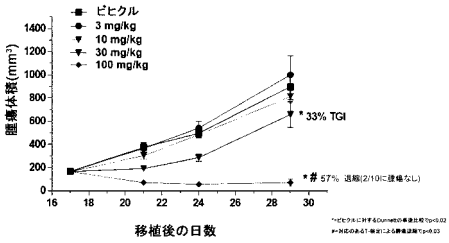
図2



AMG 510およびPD-325901を投与されたPO、QD
TGI: 腫瘍増殖阻害

【図３】

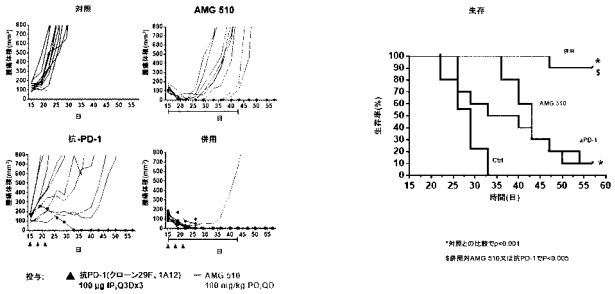
図3



AMG 510を投与されたPO、QD
TGI: 腫瘍増殖阻害

【図４】

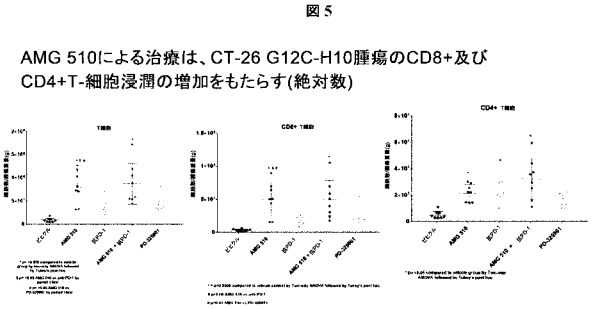
図4



直腸結腸腫瘍のCT-26 G12Cモデル
生存は、腫瘍サイズが>800mm³に達する時間と定義された代用エンドポイントである

【図５】

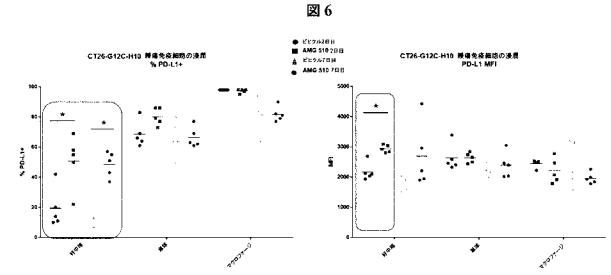
図5



AMG 510 (100 mg/kg)、抗-PD1抗体(100μg)、併用の 510 + 抗-PD1又はビヒクル対照を4日間投与し、免疫表現型決定のために腫瘍を採取した。PD-325901はMEK阻害剤である。

【図６】

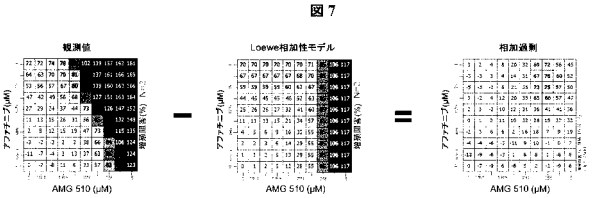
図6



AMG 510 (30 mg/kg)又はビヒクル対照を2日間又は7日間投与し、免疫表現型決定のために腫瘍を採取した
*対応のある検定でp<0.01

【図７】

図7

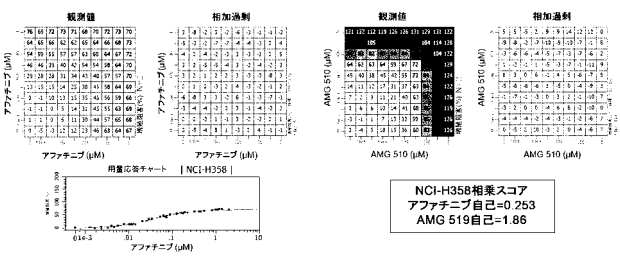


相加過剰体積=Σ(観測値-Loewe相加性)
相乗スコア=重みづけ相加過剰体積
•高活性レベルでの相乗相互作用に重み付け
•効果のないレベルでの負の値を除去
*実験機断的に巻数倍率に対して正規化

NCI-H358
AMG 510 x アファチニブ
相乗スコア = 22.3

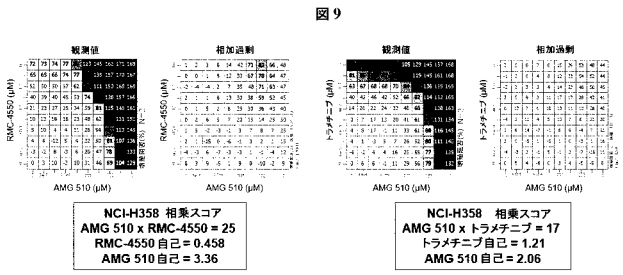
【図８】

図8

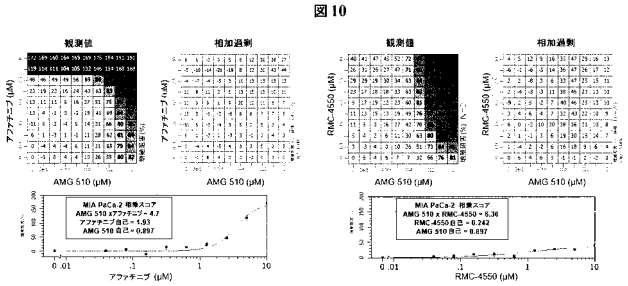


NCI-H358相乗スコア
アファチニブ自己=0.253
AMG 519自己=1.86

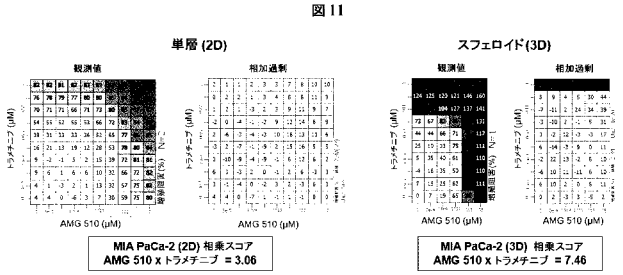
【図９】



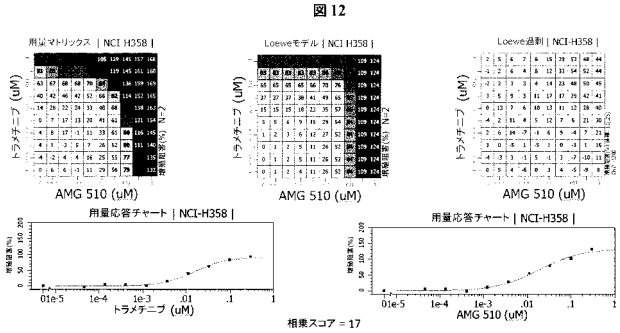
【図１０】



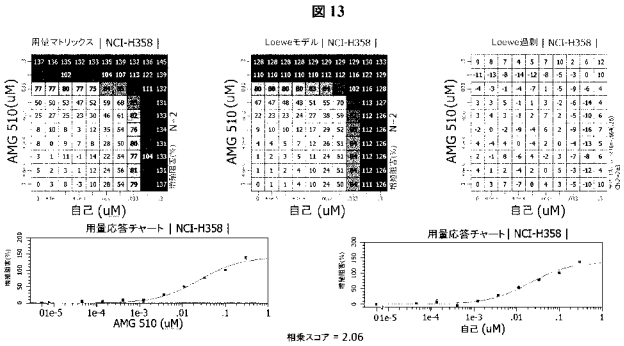
【図１１】



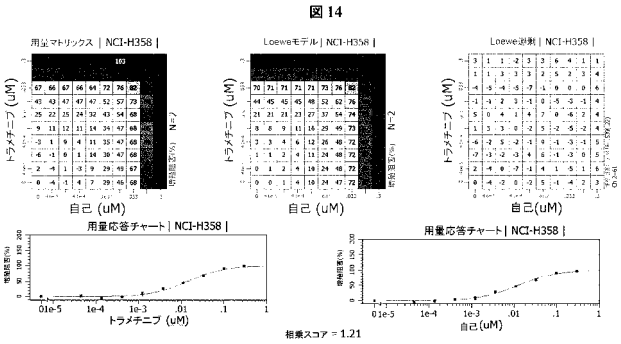
【図１２】



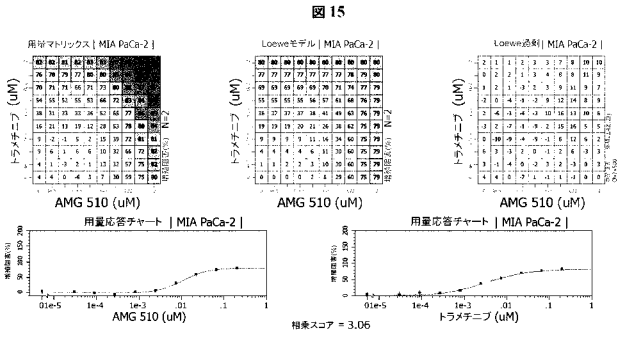
【図１３】



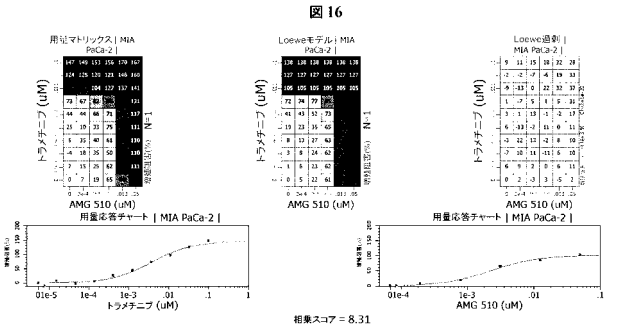
【図１４】



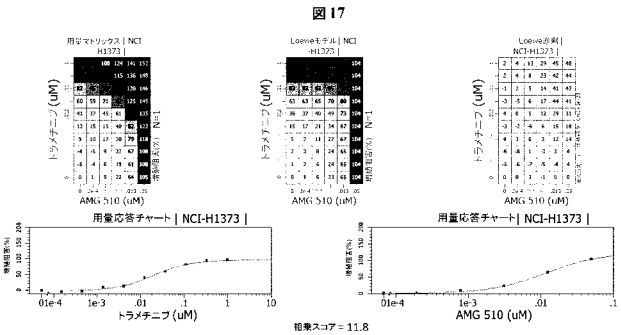
【図１５】



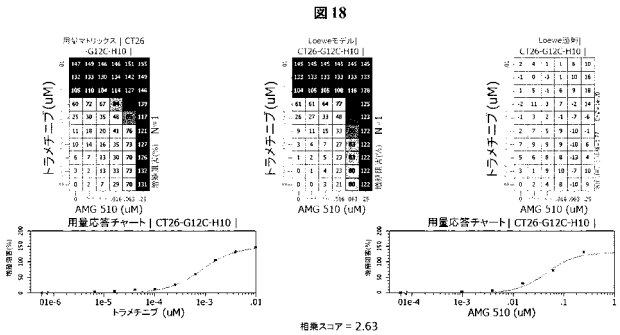
【図１６】



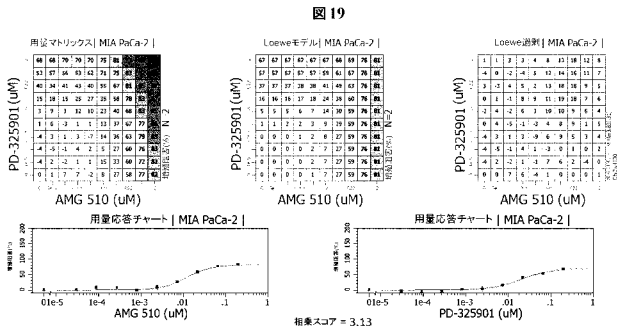
【図１７】



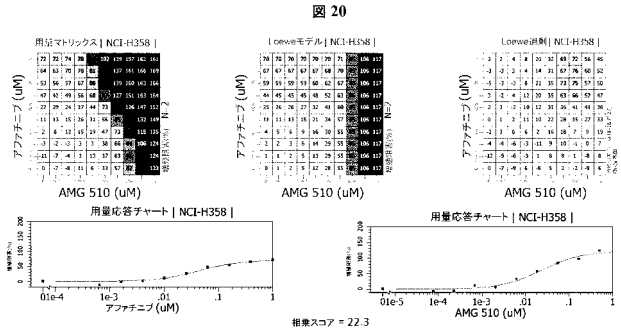
【図１８】



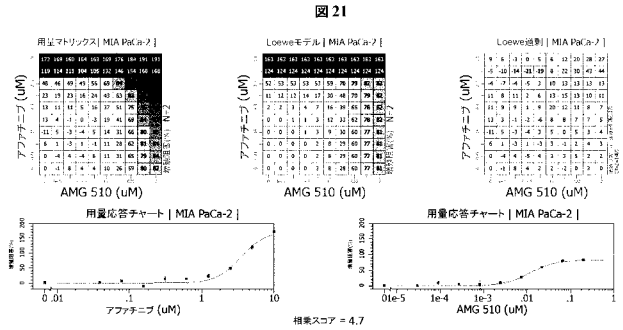
【図１９】



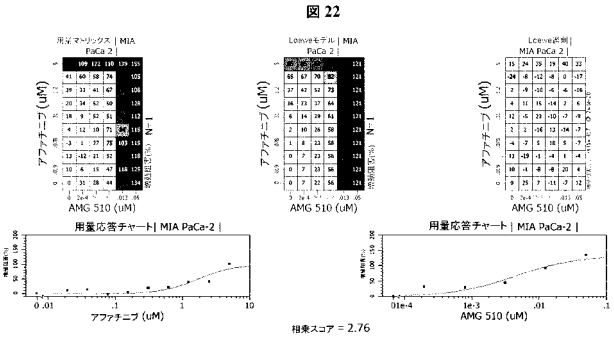
【図２０】



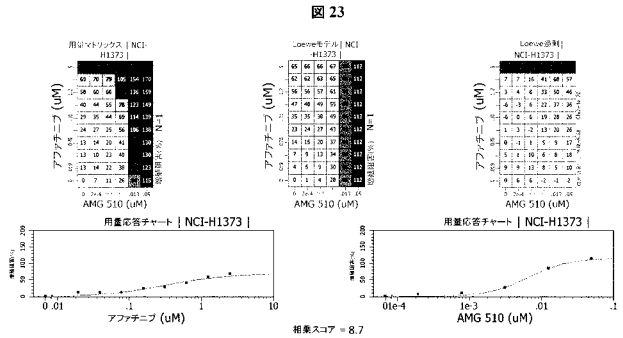
【図２１】



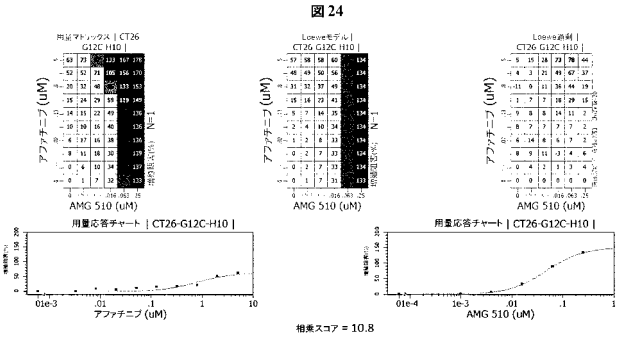
【図２２】



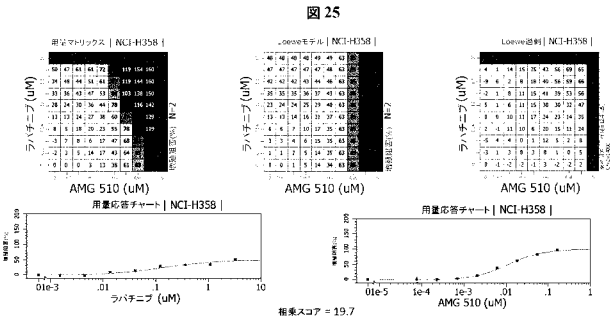
【図２３】



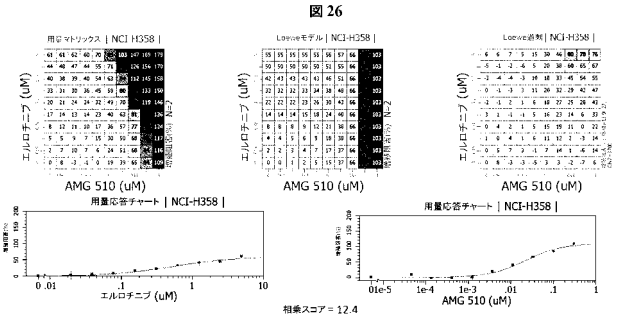
【図２４】



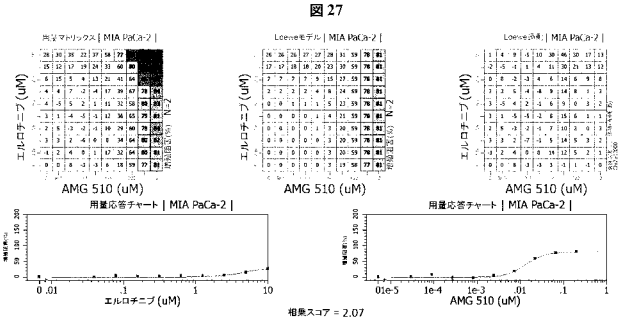
【図２５】



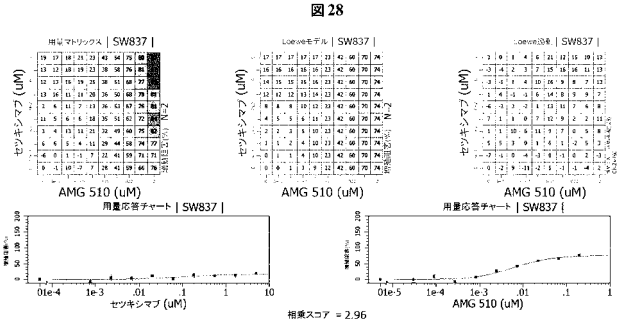
【図２６】



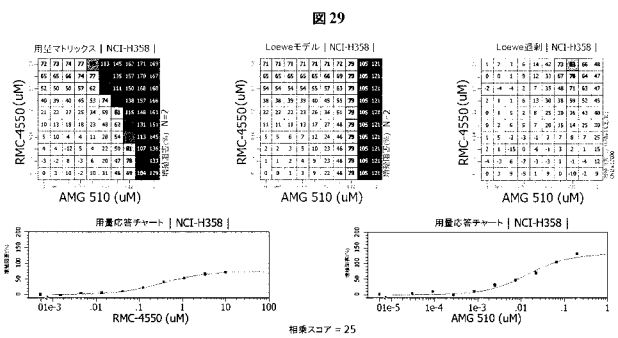
【図２７】



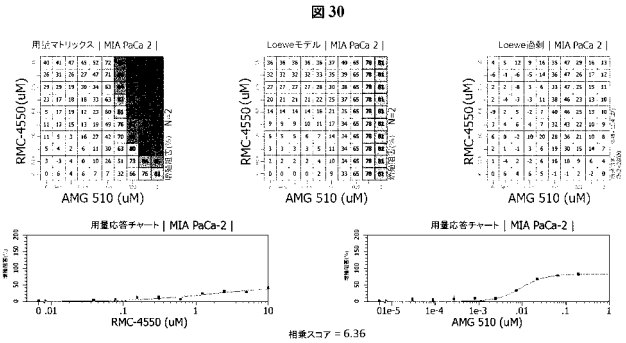
【図２８】



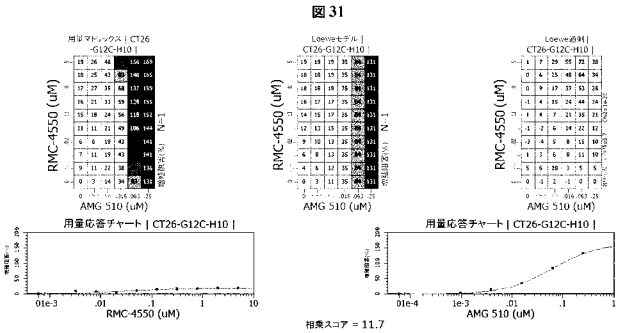
【図２９】



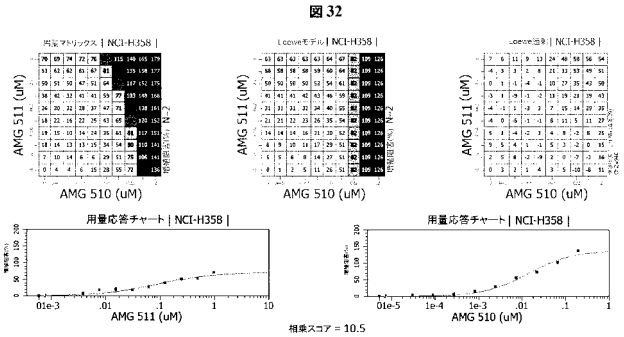
【図３０】



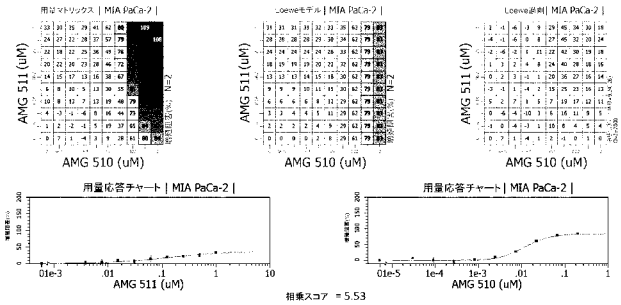
【図３１】



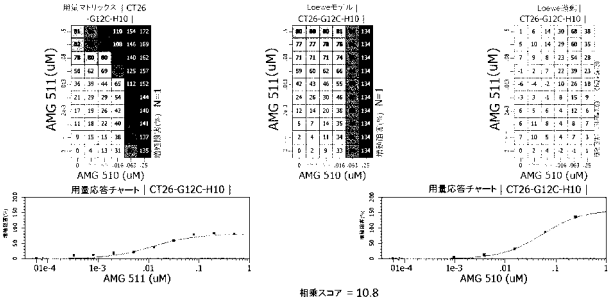
【図３２】



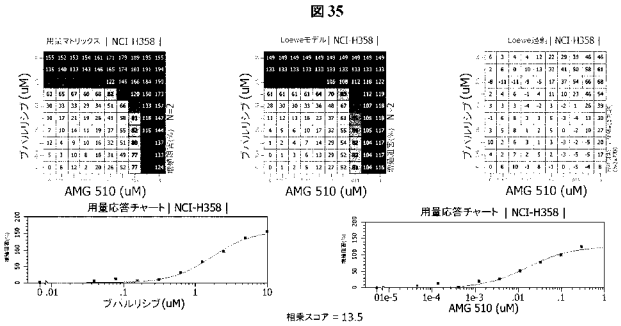
【図３３】



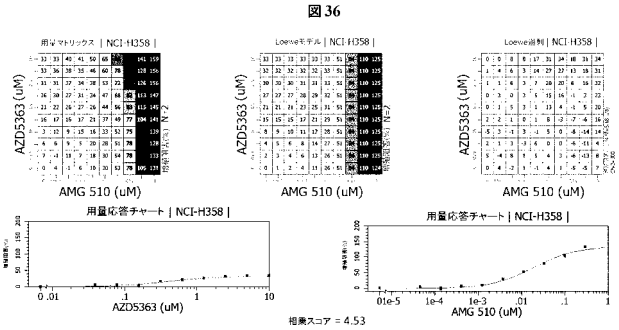
【図３４】



【図３５】

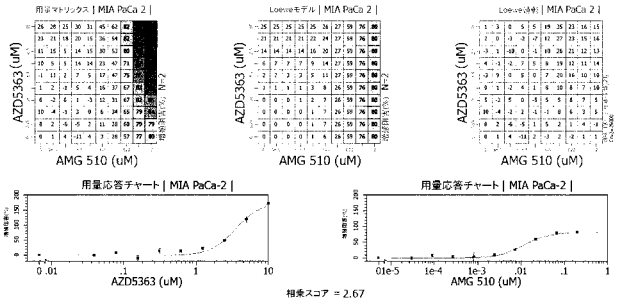


【図３６】



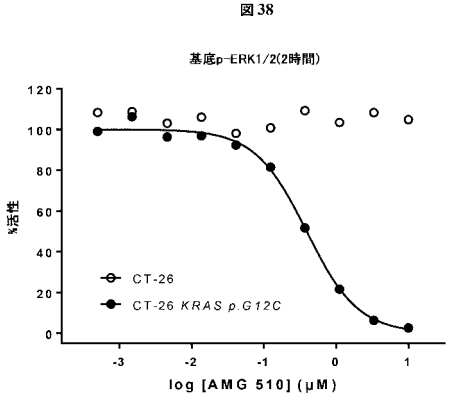
【図３７】

図37



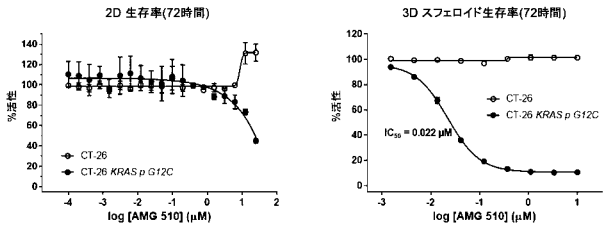
【図３８】

図38



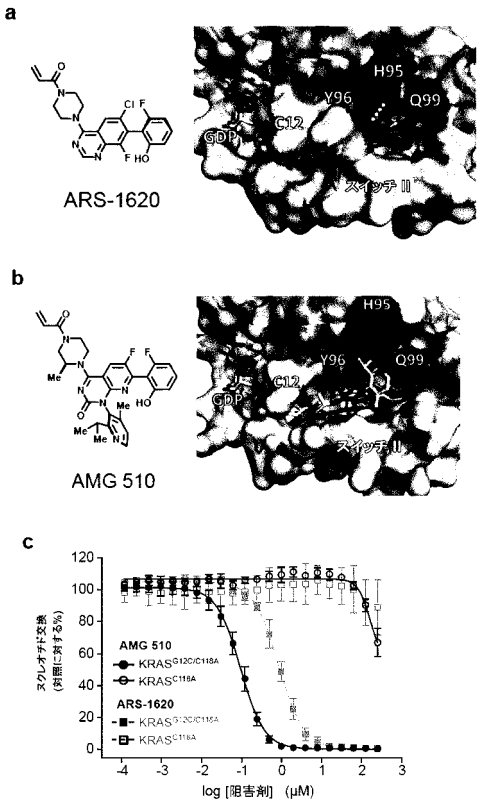
【図３９】

図39

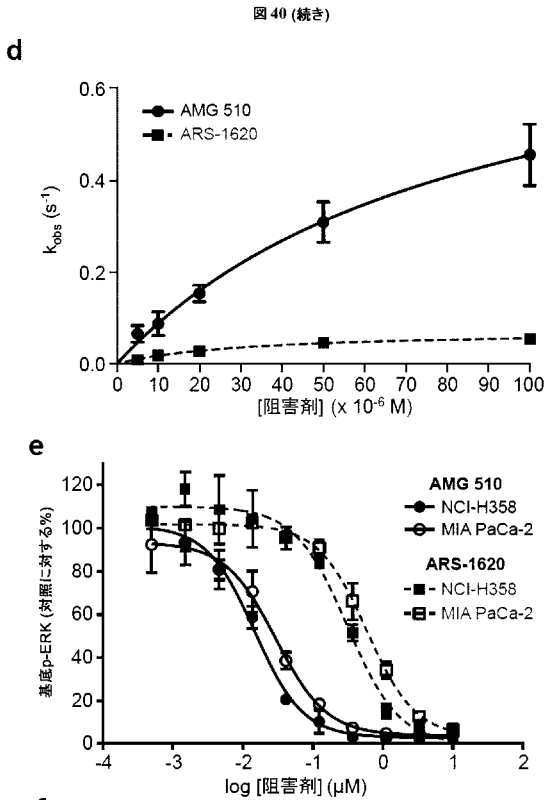


【図４０－１】

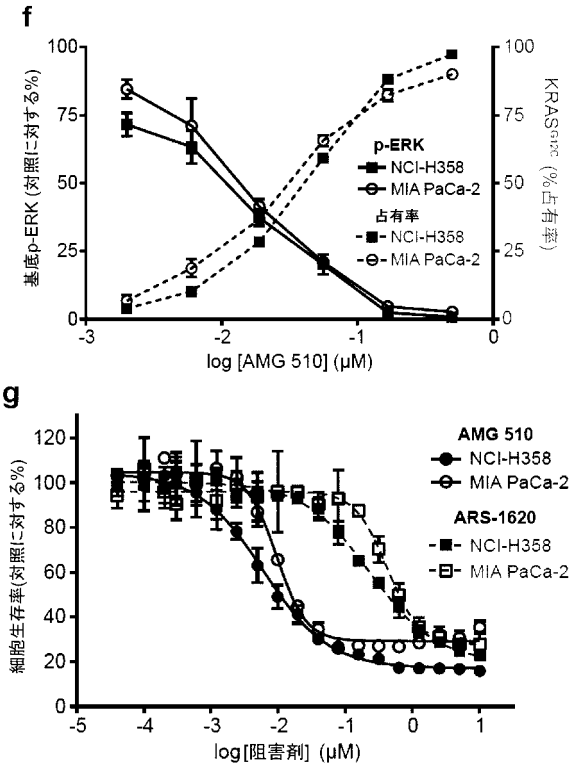
図40



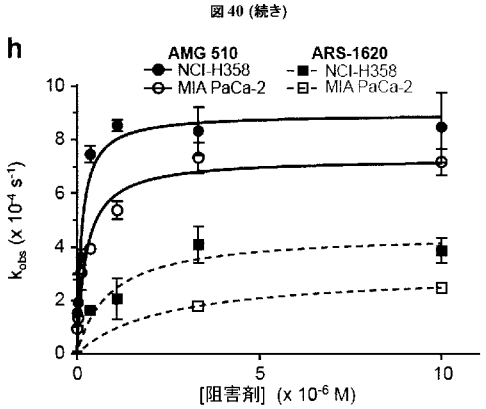
【図４０－２】



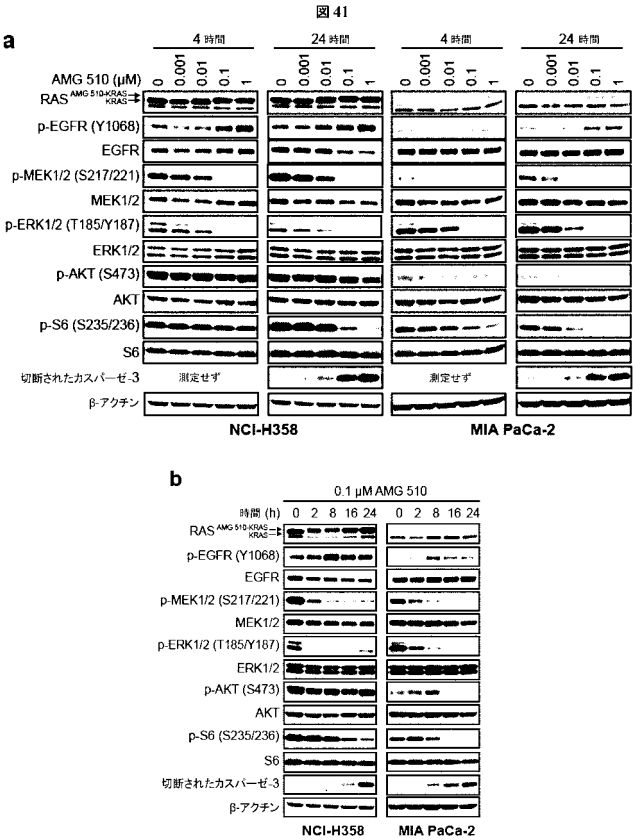
【図４０－３】



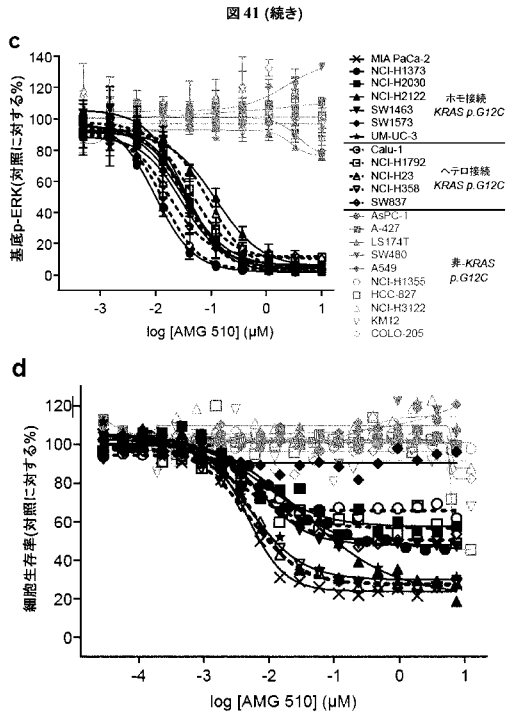
【図４０－４】



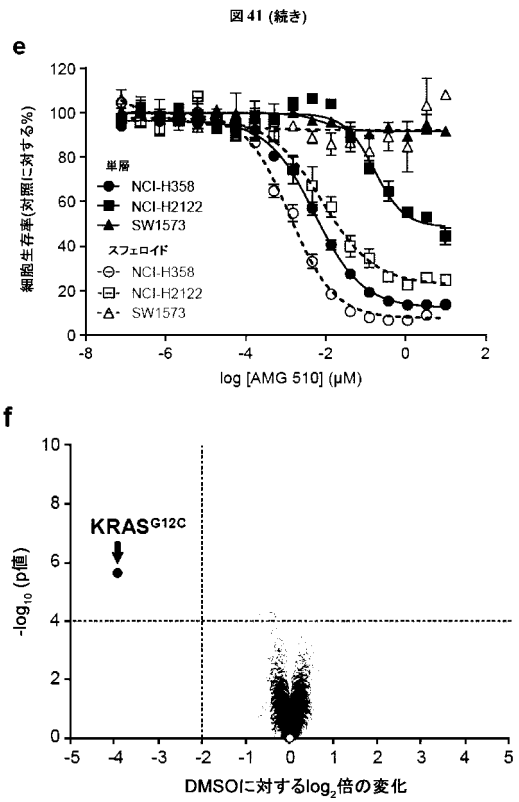
【図４１－１】



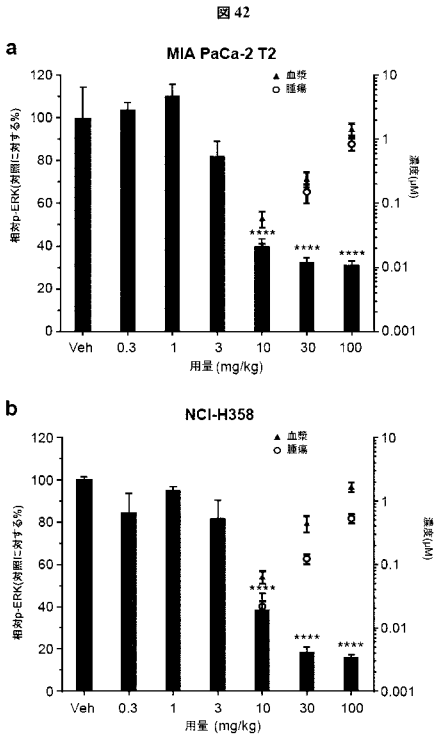
【図４１－２】



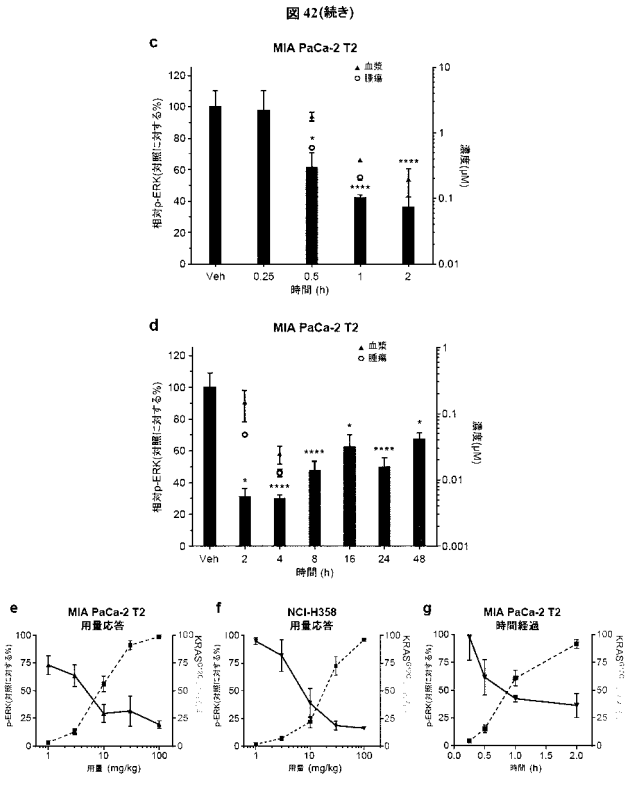
【図４１－３】



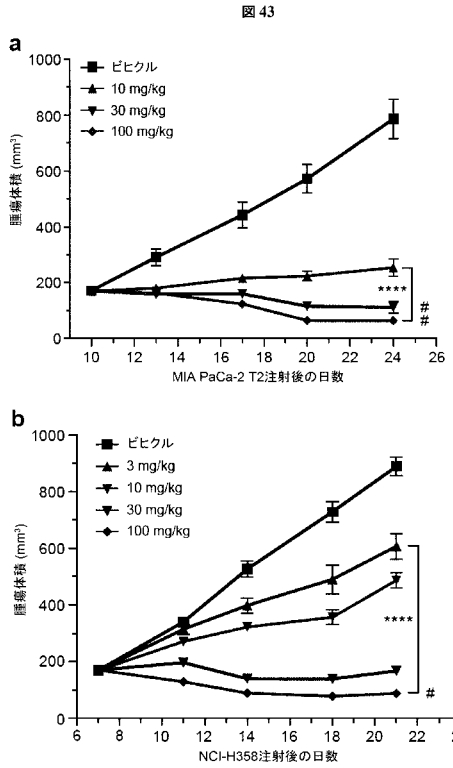
【図４２－１】



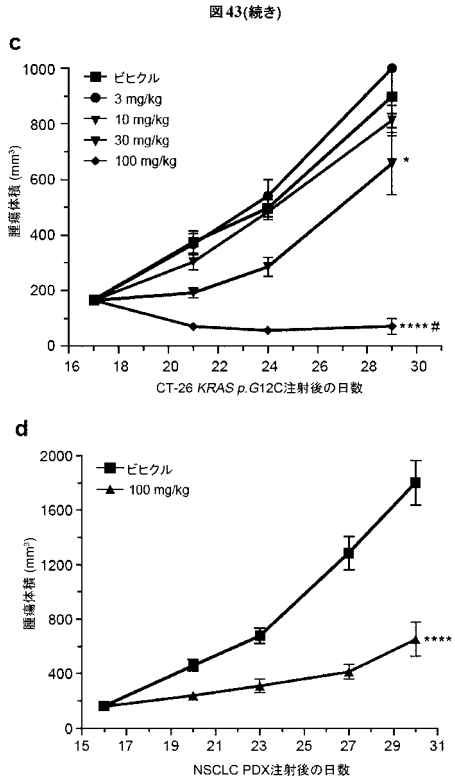
【図４２－２】



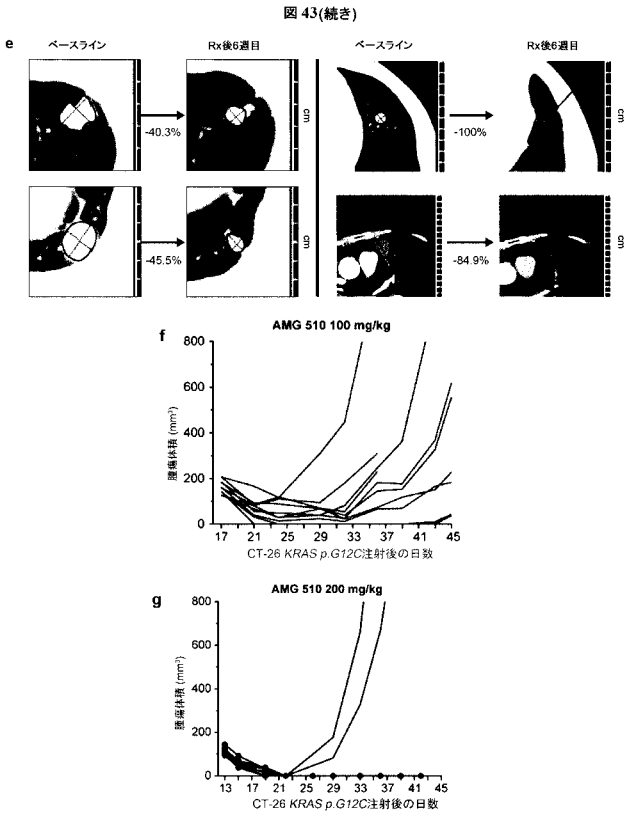
【図４３－１】



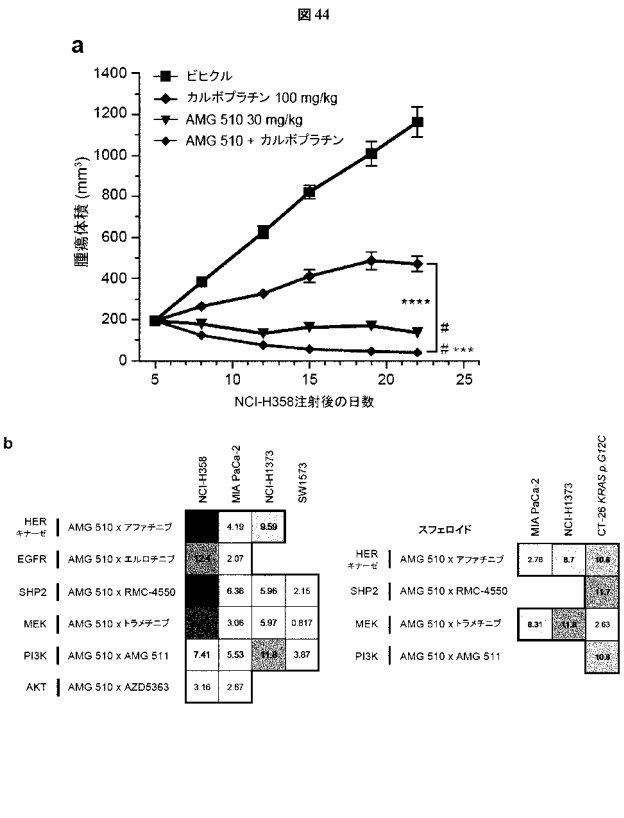
【図４３－２】



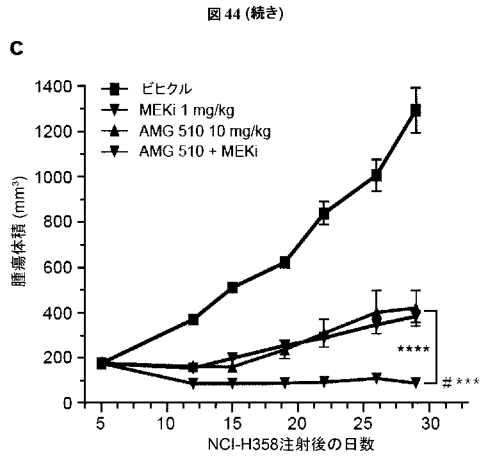
【図４３－３】



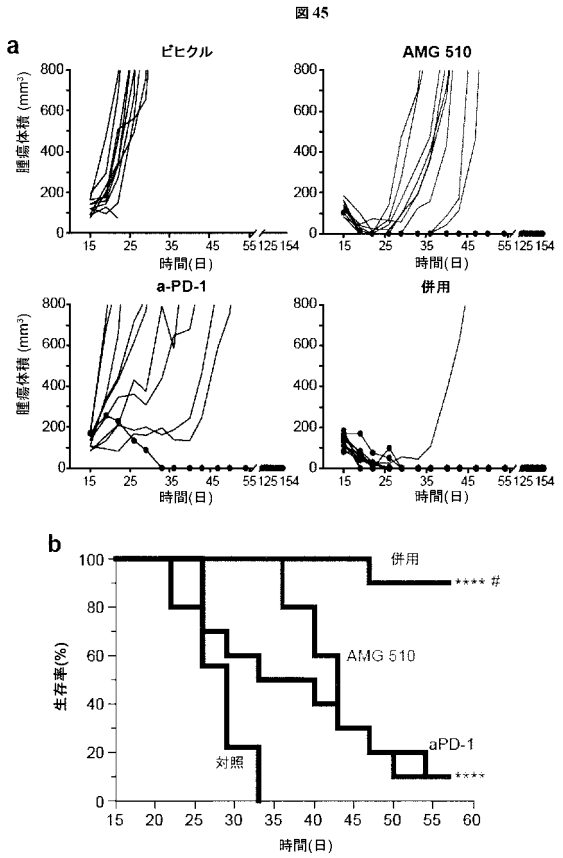
【図４４－１】



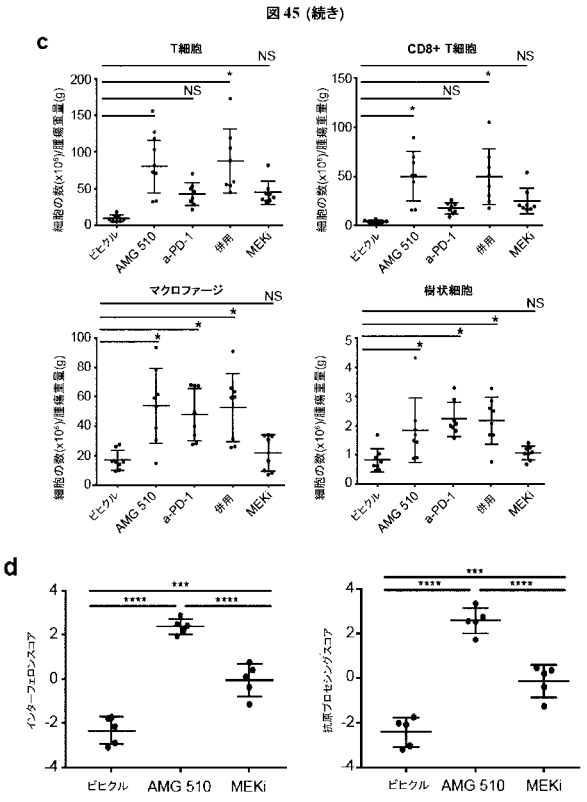
【図４４－２】



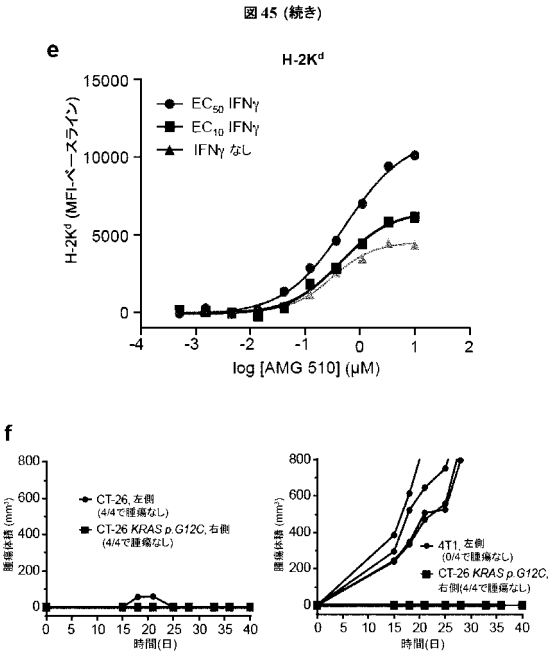
【図４５－１】



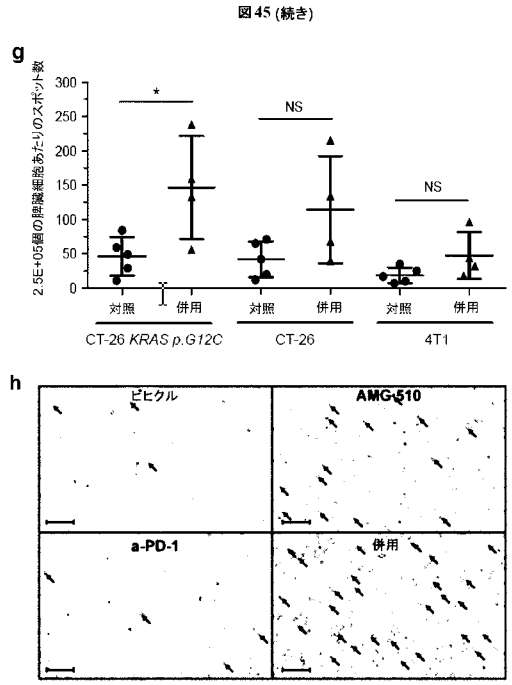
【図４５－２】



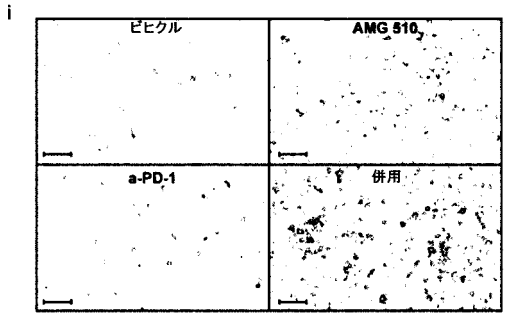
【図４５－３】



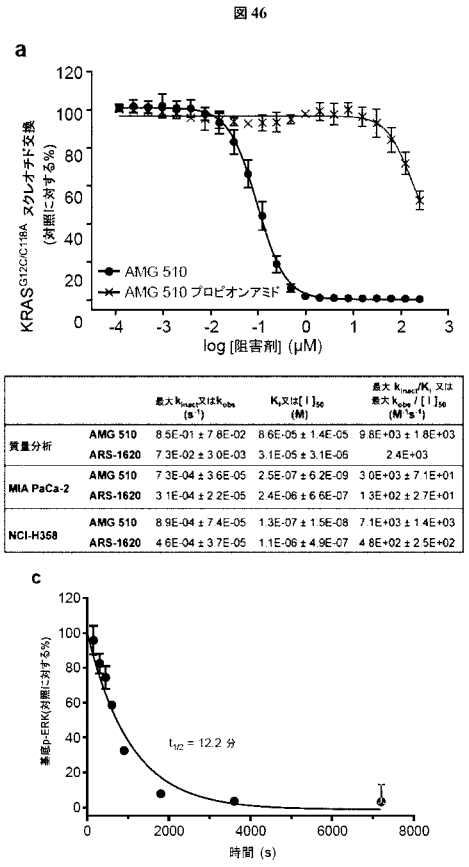
【図４５－４】



【図４５－５】

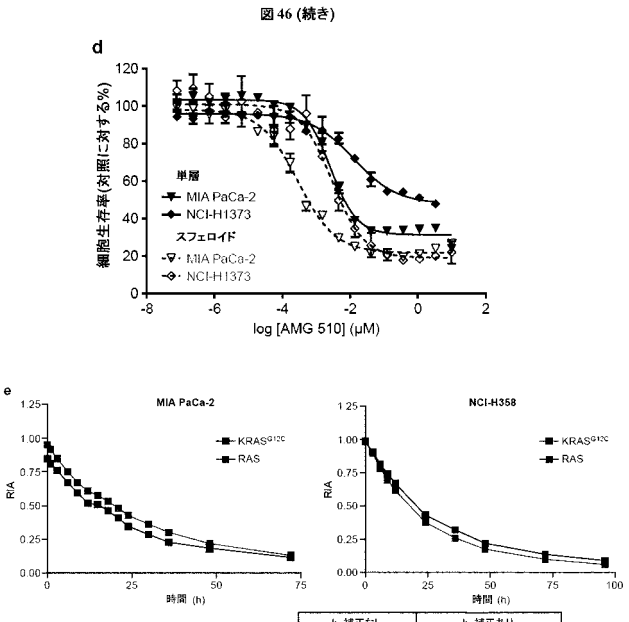


【図４６－１】



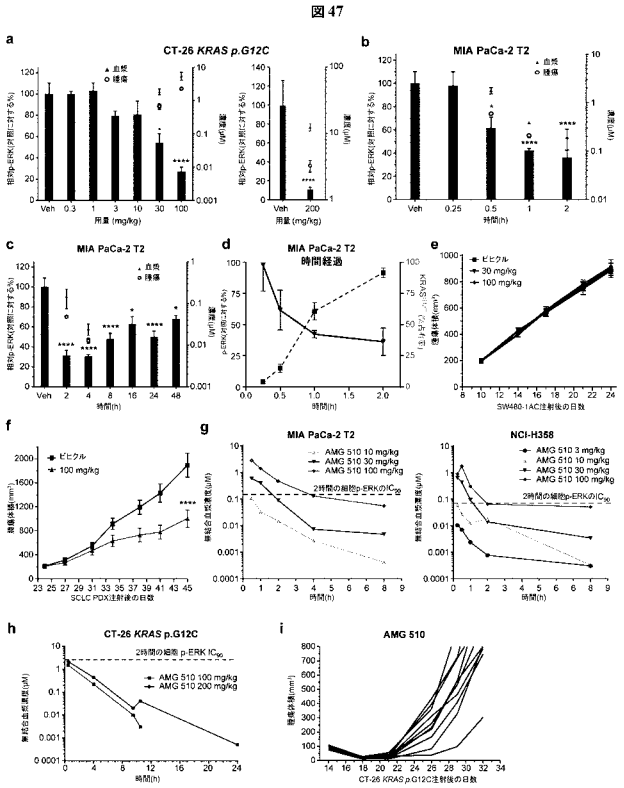
		最大 k_{inact} 又は k_{obs} (s^{-1})	K_I 又は $[I]_{50}$ (M)	最大 k_{inact}/K_I 又は 最大 $k_{obs}/[I]_{50}$ ($M^{-1}s^{-1}$)
質量分析	AMG 510	8.5E-01 ± 7.8E-02	8.6E-05 ± 1.4E-05	9.8E+03 ± 1.8E+03
	ARS-1620	7.3E-02 ± 3.0E-03	3.1E-05 ± 3.1E-06	2.4E+03
MIA PaCa-2	AMG 510	7.3E-04 ± 3.6E-05	2.5E-07 ± 6.2E-09	3.0E+03 ± 7.1E+01
	ARS-1620	3.1E-04 ± 2.2E-05	2.4E-06 ± 6.6E-07	1.3E+02 ± 2.7E+01
NCI-H358	AMG 510	8.9E-04 ± 7.4E-05	1.3E-07 ± 1.5E-08	7.1E+03 ± 1.4E+03
	ARS-1620	4.6E-04 ± 3.7E-05	1.1E-06 ± 4.9E-07	4.8E+02 ± 2.5E+02

【図４６－２】

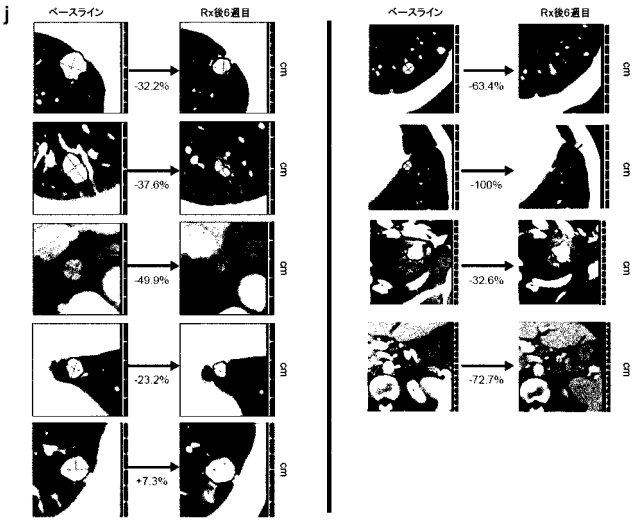


細胞	アッセイ時間 (h)	細胞倍増時間 (h)	k_g 補正なし k_{obs} (hr^{-1})	k_g 補正なし KRAS^{G12C} 半減期 (h)	k_g 補正あり k_{gr} (hr^{-1})	k_g 補正あり k_{obs} (hr^{-1})	k_g 補正あり KRAS^{G12C} 半減期 (h)
MIA PaCa-2	72	24	0.042	17	0.006	0.035	20
NCI-H358	96	36	0.037	19	0.010	0.029	24

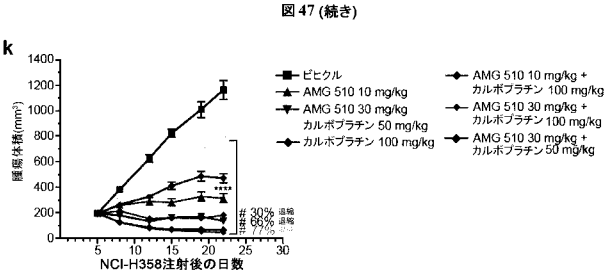
【図４７－１】



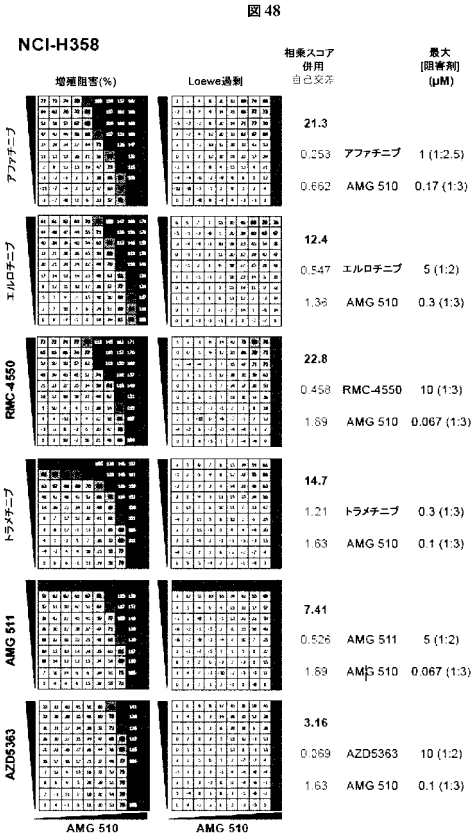
【図４７－２】



【図４７－３】

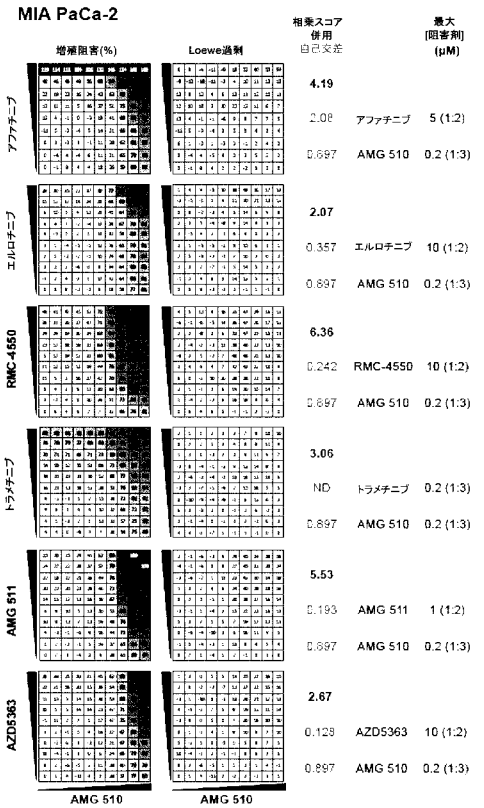


【図４８－１】



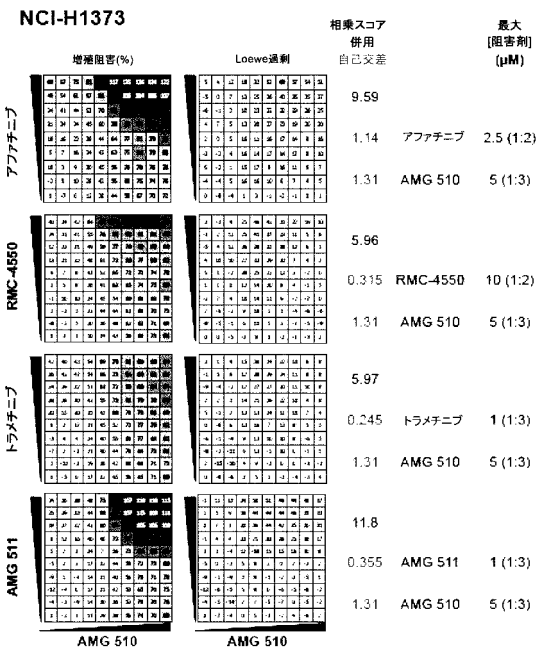
【図４８－２】

図 48 (続き)



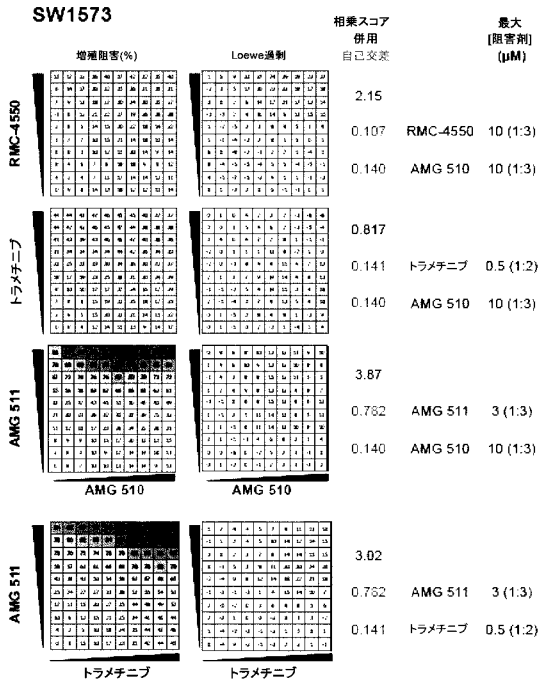
【図４８－３】

図 48 (続き)



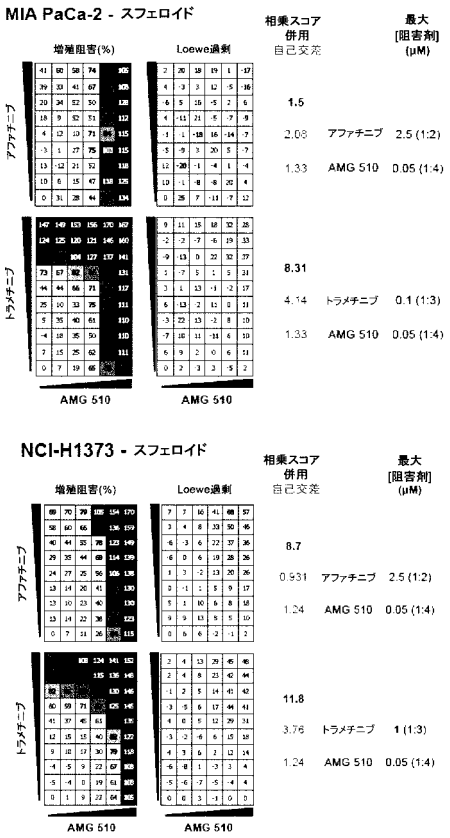
【図４８－４】

図 48 (続き)

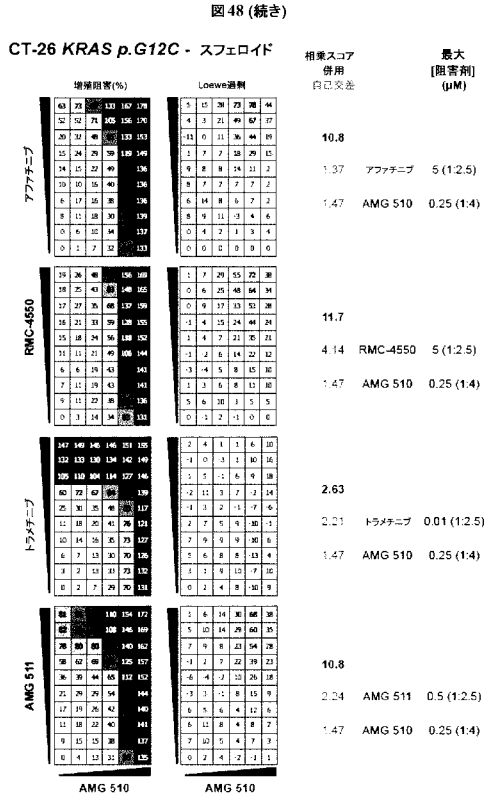


【図４８－５】

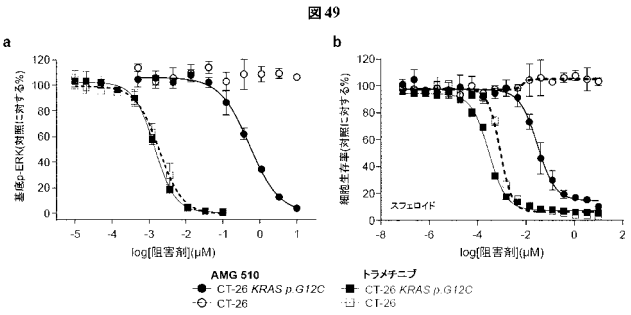
図 48 (続き)



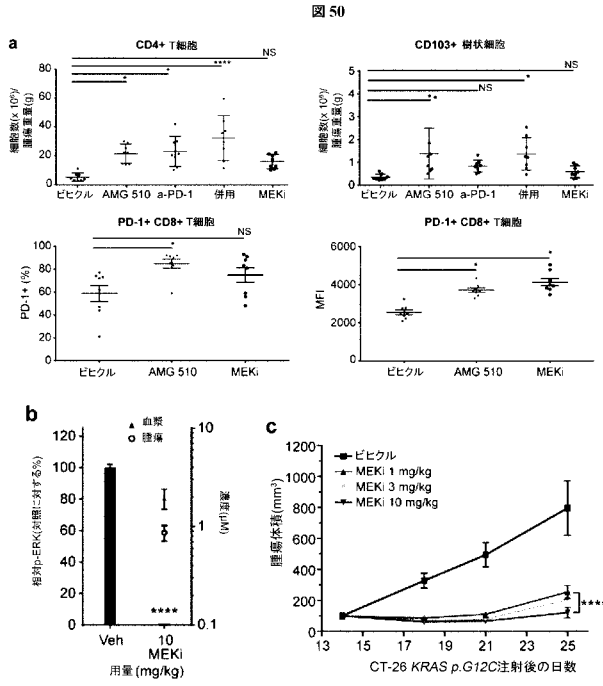
【図４８－６】



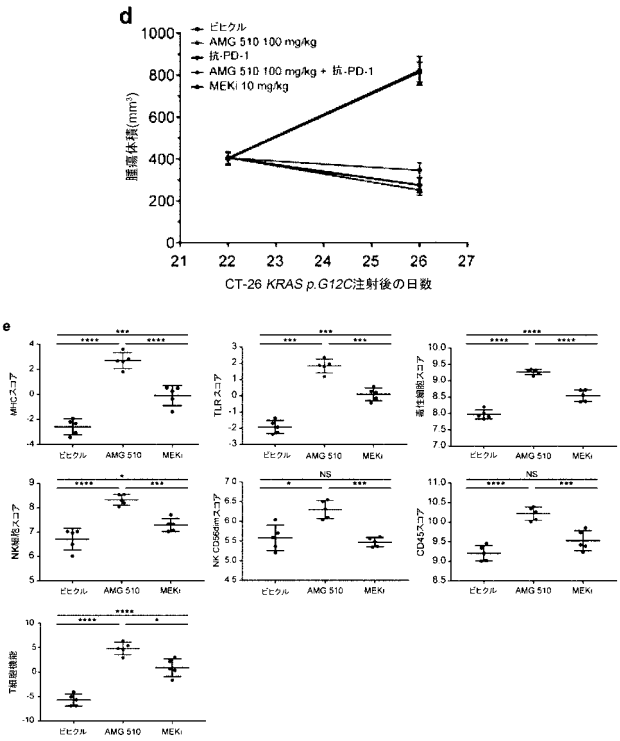
【図４９】



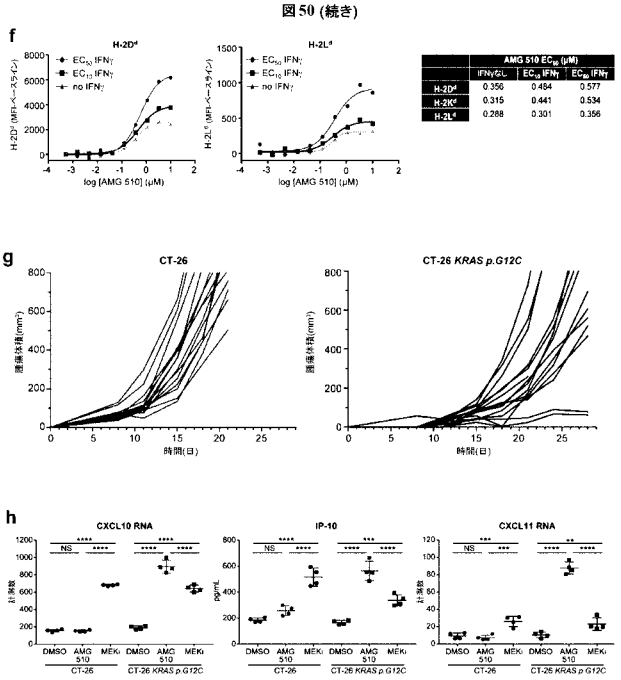
【図５０－１】



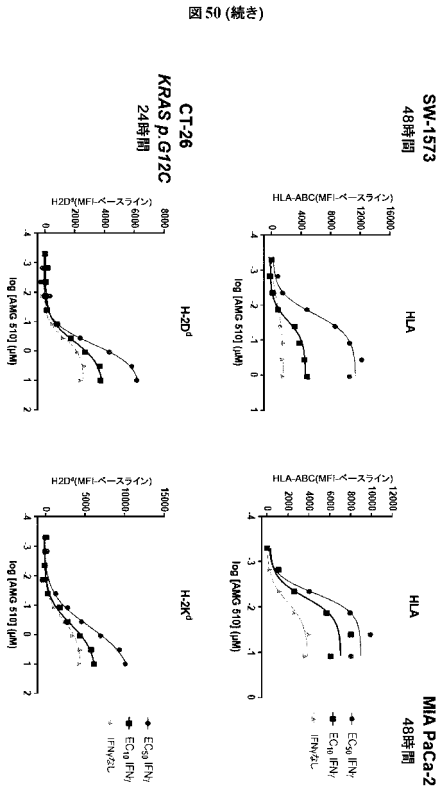
【図５０－２】



【図５０－３】



【図５０－４】



【配列表】

2020105162000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*39/395*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/282		
Ａ６１Ｋ	*31/4418*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	U	
Ａ６１Ｋ	*31/166*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/4418		
Ａ６１Ｋ	*31/4184*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/166		
Ａ６１Ｋ	*31/4523*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/4184		
Ａ６１Ｋ	*31/44*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/4523		
Ａ６１Ｋ	*31/517*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/44		
Ａ６１Ｋ	*31/506*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/517		
Ａ６１Ｋ	*31/53*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	T	
Ａ６１Ｋ	*31/5377*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/506		
			Ａ６１Ｋ	31/53		
			Ａ６１Ｋ	31/5377		

１．ＴＷＥＥＮ
２．ＴＲＩＴＯＮ

(72)発明者　アン・ワイ・サイキ
アメリカ合衆国、カリフォルニア・９１３２０－１７９９、サウザンド・オークス、ワン・アムジェン・センター・ドライブ
(72)発明者　カレン・ルイーズ・レックス
アメリカ合衆国、カリフォルニア・９１３２０－１７９９、サウザンド・オークス、ワン・アムジェン・センター・ドライブ

Ｆターム(参考)　4C084 AA20 ZB26 ZC20 ZC41 ZC75
4C085 AA14 BB31 CC23 EE03 GG01
4C086 AA01 AA02 BC17 BC21 BC39 BC42 BC46 BC63 BC73 CB05
CB09 GA07 GA09 GA16 ZB26 ZC20 ZC41 ZC75
4C206 AA01 AA02 HA16 JB16 MA02 MA04 ZB26

【外国語明細書】
2020105162000001.pdf