

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7113826号

(P7113826)

(45)発行日 令和4年8月5日(2022.8.5)

(24)登録日 令和4年7月28日(2022.7.28)

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K 31/5377(2006.01)

A 6 1 K

31/5377

Z M D

A 6 1 K 31/7048(2006.01)

A 6 1 K

31/7048

A 6 1 K 33/243(2019.01)

A 6 1 K

33/243

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P

35/00

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P

43/00

1 1 1

請求項の数 2 (全50頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2019-532927(P2019-532927)

(86)(22)出願日 平成29年12月18日(2017.12.18)

(65)公表番号 特表2020-502182(P2020-502182
A)

(43)公表日 令和2年1月23日(2020.1.23)

(86)国際出願番号 PCT/EP2017/083272

(87)国際公開番号 WO2018/114776

(87)国際公開日 平成30年6月28日(2018.6.28)

審査請求日 令和2年12月17日(2020.12.17)

(31)優先権主張番号 62/436,046

(32)優先日 平成28年12月19日(2016.12.19)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(73)特許権者 591032596

メルク パテント ゲゼルシャフト ミット

ベシュレンクテル ハフツング

Merck Patent Gesell

schaft mit beschrä

nkter Haftung

ドイツ連邦共和国 デー - 6 4 2 9 3 ダ

ルムシュタット フランクフルター シュ

トラーセ 2 5 0

Frankfurter Str. 2 5

0, D - 6 4 2 9 3 Darmstad

t, Federal Republic

of Germany

(74)代理人 100102842

弁理士 葛和 清司

最終頁に続く

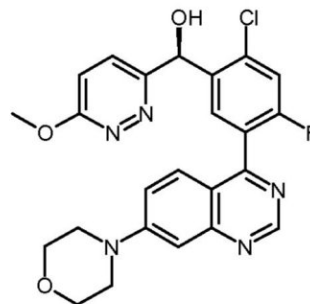
(54)【発明の名称】 プロテインキナーゼ阻害剤および追加的化学療法剤の組み合わせ

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

肺がんの処置における使用のための、化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩：

【化 1】



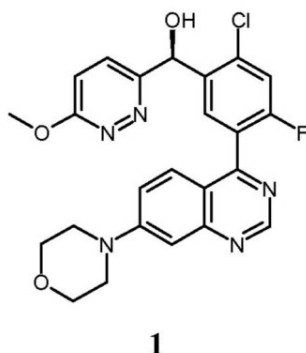
1

を含む医薬組成物であって、処置が、化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩を、エト
ポシドおよびシスプラチンの両方と共に投与することを含む、前記医薬組成物。

【請求項 2】

肺がんの処置において、エトポシドおよびシスプラチンの両方と組み合わせて使用するた
めの、化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩：

【化 2】



10

を含む医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

発明の背景

新しい治療剤の探索は、近年、疾患に関連する酵素の構造および他の生体分子のより良い理解によって大いに助けられてきた。広範な試験の対象となってきた1つの重要なクラスの酵素は、プロテインキナーゼである。

【0002】

20

プロテインキナーゼは、細胞内の種々のシグナル伝達プロセスの制御の責任を負う構造的に関連した酵素の大きなファミリーを構成する。プロテインキナーゼは、それらの構造および触媒機能の保存のために共通の祖先遺伝子から進化してきたと考えられている。ほとんどすべてのキナーゼは、同様の250 - 300個のアミノ酸触媒ドメインを含有する。キナーゼは、それらがリン酸化する基質（例えば、タンパク質 - チロシン、タンパク質 - セリン/トレオニン、脂質等）によってファミリーに分類されてもよい。

【0003】

DNA依存性プロテインキナーゼ（DNA-PK）は、DNAと連動して活性化されるセリン/トレオニンプロテインキナーゼである。生化学的および遺伝的データは、DNA-PKが(a) DNA-PKcと呼ばれる触媒サブユニット、および(b) 2つの制御性要素（Ku70およびKu80）からなることを示す。機能的には、DNA-PKは、一方ではDNA二本鎖切断（DSB）の修復、そして他方では体細胞性またはV(D)J組換えの重要な構成である。さらに、DNA-PKおよびその要素は、クロマチン構造の調節およびテロメア維持を含む多数のさらなる生理学的プロセスとつながっている（Smith & Jackson (1999) Genes and Dev 13: 916; Goytisolo et al. (2001) Mol. Cell. Biol. 21: 3642; Williams et al. (2009) Cancer Res. 69: 2100）。

30

【0004】

DNAの形態のヒト遺伝物質は常に、主に酸化的代謝の副産物として形成される活性酸素種（ROS）による攻撃の対象である。ROSは、一本鎖切断の形態でDNA損傷を引き起こすことができる。事前の一本鎖切断がごく接近して起こると、二本鎖切断が起こり得る。また、DNA複製フォークが損傷した塩基パターンに遭遇すると、一本鎖および二本鎖切断が引き起こされることがある。さらに、電離放射線（例えば、ガンマ線または粒子線）、および特定の抗がん医薬（例えば、プレオマイシン）などの外因性の影響は、DNA二本鎖切断を引き起こすことができる。DSBはさらに、すべての脊椎動物の機能的免疫系の形成に重要なプロセスである体細胞組換えの中間体としても起こることがある。DNA二本鎖切断が修復されないまたは誤って修復された場合、突然変異および/または染色体異常が発生することがあり、その結果として細胞死を招くことがある。DNA二本鎖切断から生じる深刻な危険に対抗するために、真核細胞はそれらを修復するための多数のメカニズムを進化させてきた。高等真核生物は、DNA依存性プロテインキナーゼが重要な役割を担う、いわゆる非相同末端結合を主に用いる。生化学的調査は、DNA-PKがDNA-DSBの発生によって

40

50

最も効果的に活性化されることを示してきた。そのDNA-PK要素が変異しかつ非機能的である細胞株は、放射線に敏感であることが証明されている(Smith and Jackson, 1999)。

【 0 0 0 5 】

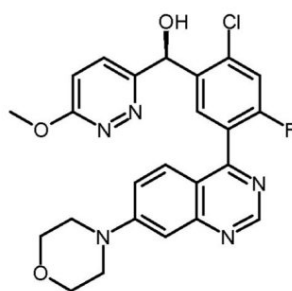
多くの疾患は、上記および本明細書で記載されたとおり、プロテインキナーゼ媒介事象によって引き金を引かれる異常な細胞応答、増殖およびプログラム細胞死の回避に関連している。治療剤として有用なプロテインキナーゼ阻害剤の開発におけるかなりの進歩が今日までなされているが、どの特定の処置および状態がプロテインキナーゼ阻害剤の可能性の有益な拡大を可能にし得るかを同定する必要がある。

【発明の概要】

【 0 0 0 6 】

いくつかの態様において、本発明は、DNA-PKと関連する1以上の疾患または障害を処置する、安定化させるまたはその重症度もしくは進行を緩和する方法であって、DNA-PKの阻害剤を、これを必要とする患者へ、追加的化学療法剤と組み合わせて投与することを含む、前記方法を提供する。いくつかの側面において、DNA-PKの阻害剤は、以下の構造化合物1：

【化1】



1

を有する(S)-[2-クロロ-4-フルオロ-5-(7-モルホリン-4-イル-キナゾリン-4-イル)-フェニル]-(6-メトキシ-ピリダジン-3-イル)-メタノールである。

【 0 0 0 7 】

化合物1は、2016年3月24日に公開された米国公開の特許出願US 2016/0083401 (本明細書において「401公報」と称される)において詳細に記載され、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。化合物1は、「401公報の表4における化合物136として示される。化合物1は、DNA-PKの阻害を実証する種々のアッセイや治療モデルにおいて活性である(例えば、「401公報の表4参照)。したがって、化合物1またはその薬学的に許容し得る塩は、本願明細書において以下詳細に記載するとおり、DNA-PKの活性に関連する1以上の障害を処置するために有用である。

【 0 0 0 8 】

本発明は、とくに、以下の側面および態様に関する。

【 0 0 0 9 】

第一に、がんの処置をこれを必要とする患者においてする方法であって、当該患者へ化合物1またはその薬学的に許容し得る塩を、エトポシドおよびプラチンから選択される少なくとも1つの追加的化学療法剤と組み合わせて投与することを含む、前記方法に関する。

【 0 0 1 0 】

好ましい態様において、がんは、結腸、肺、頭頸部、膵臓およびそれらの組織学的サブタイプのがんから選択される。

【 0 0 1 1 】

いくつかの好ましい態様において、化合物1はエトポシドと共に投与される。

【 0 0 1 2 】

代替的な好ましい態様において、化合物1はシスプラチンと共に投与される。

【 0 0 1 3 】

他の好ましい態様において、化合物 1 はエトポシドおよびシスプラチンの両方と共に投与される。

【0014】

上記の処置方法は、患者へ放射線療法を施す工程をさらに含んでもよい。

【0015】

好ましい態様のいずれかにおいて、化合物 1 は約 1 ~ 約 800 mg の量で、例えば、約 10 ~ 約 800 mg の量で投与されてもよい。

【0016】

エトポシドは、約 100 mg/m² の量で静脈内投与されてもよい。

【0017】

例えば、エトポシドは約 1 時間かけて静脈内注入を介して投与されてもよい。

【0018】

シスプラチンは、約 75 mg/m² の量で静脈内投与されてもよい。

【0019】

例えば、シスプラチンは約 1 時間かけて静脈内注入を介して投与されてもよい。

【0020】

がんの処置をこれを必要とする患者においてする方法であって、当該患者へ化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩を、エトポシドと組み合わせて投与することを含む前記方法において、エトポシドと組み合わせる化合物 1 の効果は相乗的であり、ここで、エトポシド誘発性の骨髄およびリンパ球減少は、化合物 1 によってさらに増加されない。

【0021】

さらに、本発明は、エトポシドおよびプラチンから選択される少なくとも 1 つの追加的治療剤と組み合わせて、がんの処置において使用するための化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩を提供する。好ましい態様は処置方法に関連して上記するとおりであり、下記するとおりである。

【0022】

したがって、本発明は、当該患者へ化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩をエトポシドおよびプラチンから選択される少なくとも 1 つの追加的治療剤と組み合わせて投与することを含むがんの処置において、使用するための化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩を提供する。好ましい態様は処置方法に関連して上記するとおりであり、下記するとおりである。

【0023】

本発明はまた、がんの処置において使用するための、化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩の、エトポシドおよびプラチンから選択される少なくとも 1 つの追加的治療剤との組み合わせを提供する。好ましい態様は処置方法に関連して上記するとおりであり、下記するとおりである。

【0024】

本発明はまた、患者へ化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩をエトポシドおよびプラチンから選択される少なくとも 1 つの追加的治療剤と組み合わせて投与することを含む、がんの処置を必要とする患者における当該処置において使用するためのエトポシドを提供する。好ましい態様は処置方法に関連して上記するとおりであり、下記するとおりである。

【0025】

本発明はまた、化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩ならびにエトポシドおよびプラチンから選択される少なくとも 1 つの追加的治療剤の組み合わせの、患者におけるがんの処置のための医薬の製造における使用を提供する。好ましい態様は処置方法に関連して上記するとおりである。好ましい態様は処置方法に関連して上記するとおりであり、下記するとおりである。

【0026】

とくに好ましいものは、シスプラチンなどのプラチンと任意にさらに組み合わせる、化

10

20

30

40

50

合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩およびエトポシドの組み合わせである。

【 0 0 2 7 】

本発明によるそれぞれの処置方法の組み合わせがとくに有益であるがんは、例示態様に記したところ、当該例示態様は、適用した特定の実験条件以外やこれを超えたところでも関連性がある。相乗作用スコアが高いほど、有益な効果大きい。もちろん、化合物 1 は DNA-PK の阻害剤であることから、本明細書で示される実験データによって確認されたとおり、DNA-PK 欠損がん細胞 / 型において効能は期待されないだろう。

【 0 0 2 8 】

提供された組み合わせを利用する方法を記載する追加的な態様は、本明細書で以下に詳細に記載される。

【 0 0 2 9 】

理論に束縛されることを望むものではないが、以下のものは、さらに下で提示された例から導き出され得る：本明細書で示される実験データは、広い活性範囲における、化合物 1 によるエトポシドの強化を実証する。単剤と比較した活性範囲の拡大は、化合物 1 がエトポシド作用の特異性を増大させ、よって、その臨床用途を広げること示唆する。実験結果は、エトポシドの化合物 1 との組み合わせから生じる合成致死機構のための強力な証拠を、さらに提供する。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 3 0 】

【図 1】図 1 は、ヒトのがんの 6 つのマウス異種移植モデルにおいて、放射線と組み合わせた化合物 1 の効能を示す。

【 0 0 3 1 】

【図 2】図 2 は、FaDu 異種移植モデルにおいて、6 週の処置計画での IR と組み合わせた化合物 1 の効能を示す。

【 0 0 3 2 】

【図 3】図 3 は、NCI-H460 異種移植モデルにおいて、6 週の処置計画での IR と組み合わせた化合物 1 の効能を示す。

【 0 0 3 3 】

【図 4 A】図 4 a は、NCI-H526 異種移植モデルにおいて、エトポシド / シスプラチンと組み合わせた化合物 1 の効能を示す。

【図 4 B】図 4 b は、化合物 1 を試験の間に毎日投与することが、SoC と化合物 1 処置とを 7h または数日離すことよりも良い効能をもたらしたことを示す。

【 0 0 3 4 】

【図 5】図 5 は、エトポシド / シスプラチン処置および化合物 1 との組み合わせに際するマウスにおける体重変化を示す。

【 0 0 3 5 】

【図 6】図 6 は、エトポシド / シスプラチンおよび化合物 1 との組み合わせでの処置下およびこれらからの回復下での網状赤血球およびリンパ球数を示す。

【 0 0 3 6 】

【図 7】図 7 は、ATM 経路欠損 LoVo 異種移植モデルにおける化合物 1 の単剤効能を示す。

【 0 0 3 7 】

【図 8】図 8 は、化合物 1 が、WM164 異種移植腫瘍において、DNA-PK 自己リン酸化 (p-Ser2056) を阻害することを示す。

【 0 0 3 8 】

【図 9】図 9 は、NCI-H460 生存率アッセイ (72h の化合物 インキュベーション) における、化合物 1 のエトポシドとの組み合わせの結果を示す。

【 0 0 3 9 】

【図 10】図 10 は、NCI-H460 生存率アッセイ (168h の化合物 インキュベーション) における、化合物 1 のエトポシドとの組み合わせの結果を示す。

【 0 0 4 0 】

10

20

30

40

50

【図 1 1】図 1 1 は、MO59K (DNA-PK野生型) 生存率アッセイ (72hの化合物インキュベーション) における、化合物 1 のエトポシドとの組み合わせの結果を示す。

【0 0 4 1】

【図 1 2】図 1 2 は、MO59K (DNA-PK野生型) 生存率アッセイ (168hの化合物インキュベーション) における、化合物 1 のエトポシドとの組み合わせの結果を示す。

【0 0 4 2】

【図 1 3】図 1 3 は、MO59J (DNA-PK欠損) 生存率アッセイ (168hの化合物インキュベーション) における、化合物 1 のエトポシドとの組み合わせの結果を示す。

【0 0 4 3】

【図 1 4】図 1 4 は、インビトロのがん細胞株パネルにおける、化合物 1 のエトポシドとの組み合わせの結果を示す。

10

【0 0 4 4】

【図 1 5】図 1 5 は、インビトロのがん細胞株パネルにおける、化合物 1 のエトポシドとの組み合わせの結果を示す。

【0 0 4 5】

【図 1 6】図 1 6 は、化合物 1 のエトポシドとの組み合わせの相乗作用の結果を示す。

【0 0 4 6】

【図 1 7】図 1 7 は、MO59K (DNA-PK野生型) 生存率アッセイ (72hの化合物インキュベーション) における、VX-984と比較した化合物 1 のエトポシドとの組み合わせの結果を示す。

20

【0 0 4 7】

発明の特定の態様の詳細な説明

本明細書に記載されるとおり、いくつかの態様において、本発明は、DNA-PKと関連する 1 以上の疾患または障害を処置する、安定化させるまたはその重症度もしくは進行を緩和する方法であって、DNA-PKの阻害剤を、これを必要とする患者へ追加的化学療法剤と組み合わせて投与することを含む前記方法を提供する。本明細書にまた記載されるとおり、いくつかの態様において、本発明は、がんを処置する方法であって、DNA-PKの阻害剤を、これを必要とする患者へ追加的化学療法剤と組み合わせて投与することを含む前記方法を提供する。いくつかの態様において、DNA-PK阻害剤は、化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩である。

30

【0 0 4 8】

用語「含む (comprising)」および「含む (including)」は、特に明記しない限り、本明細書ではそれらのオープンエンドおよび非限定的な意味で用いられる。

【0 0 4 9】

発明を記載する文脈における (特に以下の特許請求の範囲の文脈における) 用語「a」および「an」および「the」および同様の言及は、本明細書で断りがないまたは文脈から明らかに矛盾しない限り、単数および複数の両方を網羅すると解釈されるべきである。化合物や塩などに複数形が用いられた場合、これは単数の化合物や塩などもまた意味するものと解される。

【0 0 5 0】

40

本明細書で用いられるとおり、化合物 1 および追加的化学療法剤の投与に関する用語「組み合わせて」は、化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩および追加的化学療法剤の各々が患者へ任意の順番で (すなわち、同時にまたは連続的に)、または単一の組成物、処方物または単位剤形において一緒に投与されることを意味する。いくつかの態様において、用語「組み合わせ」は、化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩および追加的治療剤が同時にまたは連続的に投与されることを意味する。特定の態様において、化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩および追加的治療剤は、化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩および追加的治療剤を含む同一の組成物において同時に投与される。特定の態様において、化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩および追加的治療剤は、別個の組成物において同時に投与される (すなわち、ここで、化合物 1 またはその薬学的に許容し得

50

る塩および追加的治療剤は、各々個別の単位剤形において同時に投与される。化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩および追加的化学療法剤は、適切な投薬プロトコールに従って、同じ日または任意の順番で異なる日に投与されることが理解されるだろう。

【0051】

用語「約」または「およそ」は、与えられた値や範囲の10%、例えば5%以内の意味を有してよい。

【0052】

本明細書で用いられるとおり、「治療的有効量」は、所望の生物学的反応を誘起する物質（例、治療剤、組成物および/または処方物）の量を意味する。いくつかの態様において、物質の治療的有効量は、疾患、状態、または障害に苦しむまたはこれの感受性が高い対象に投与レジメンの一部として投与される場合、疾患、状態、または障害を処置する、診断する、予防するおよび/またはその発症を遅らせるために十分な量である。当業者から理解されるように、物質の有効量は、所望の生物学的エンドポイント、送達されるべき物質、標的細胞または組織等などの要因に依存して異なってもよい。例えば、処方物における化合物の、疾患、状態または障害を処置するための有効量は、疾患、状態または障害の1以上の症状または特徴を軽減する、寛解させる、緩和する、阻止する、予防する、その発症を遅らせる、その重症度を下げるおよび/またはその発生度を下げる量である。いくつかの態様において、「治療的有効量」は、少なくとも、DNA-PKに関連する疾患または症状の1以上の症状を処置するために十分なものである、化合物、または化合物を含有する組成物の最低量である。

【0053】

本明細書で用いられる用語「処置する（treat）」または「処置すること（treating）」は、疾患もしくは障害、または疾患もしくは障害の1以上の症状を部分的または完全に軽減すること、阻止すること、その発症を遅らせること、予防すること、寛解させることおよび/または緩和することを指す。本明細書で用いられるとおり、用語「処置（treatment）」、「処置する（treat）」、および「処置すること（treating）」は、本明細書に記載されたとおり、疾患もしくは障害、または疾患もしくは障害の1以上の症状を部分的または完全に軽減すること、阻止すること、その発症を遅らせること、予防すること、寛解させることおよび/または緩和することを指す。いくつかの態様において、処置は、1以上の症状が発達した後に施されてもよい。いくつかの態様において、用語「処置すること（treating）」は、疾患または障害を予防することまたはその進行を止めることを含む。他の態様において、処置は、症状の無いなかで施されてもよい。例えば、処置は、（例、症状歴に照らして、および/または遺伝もしくは他の感受性要因に照らして）症状の発症に先立って感受性が高い個体に施されてもよい。処置はまた、例えばそれらの再発を予防するまたは遅らせるために、症状が解決したあとも続けてもよい。よって、いくつかの態様において、用語「処置すること（treating）」は、疾患または障害の再燃または再発を予防することを含む。

【0054】

本明細書で用いられる表現「単位剤形」は、処置される対象にとって適切な治療用処方物の物理的に分離した単位を指す。しかしながら、本発明の組成物の一日の総使用量は、健全な医学的判断の範囲内で主治医によって決定されることが理解されるだろう。任意の特定の対象または生物のための特効用量レベルは、処置された障害および障害の重症度；使用された特定の活性剤の活性；使用された特定の組成物；年齢；体重；一般的な健康、対象の性別および食習慣；使用された特定の活性剤の投与時間および排出率；処置の期間；使用された特定の化合物（単数または複数）と組み合わせるまたは同時に用いられた薬物および/または追加的治療、ならびに医学分野で公知の同様の要因を含む種々の要因に依存するだろう。

【0055】

一般的に上記するとおり、本発明は、DNA-PKに関連する1以上の疾患または障害を処置する、安定化させるまたはその重症度もしくは進行を少なくする方法であって、DNA-P

10

20

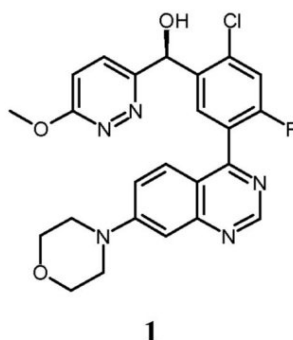
30

40

50

Kの阻害剤を、これを必要とする患者へ追加的化学療法剤と組み合わせて投与することを含む前記方法を提供する。いくつかの側面において、DNA-PKの阻害剤は、以下の構造化合物 1:

【化 2】



を有する、(S)-[2-クロロ-4-フルオロ-5-(7-モルホリン-4-イル-キナゾリン-4-イル)-フェニル]-(6-メトキシ-ピリダジン-3-イル)-メタノールまたはその薬学的に許容し得る塩である。

【0056】

本明細書で記載された方法が化合物 1 の処方物、投与量および投与レジメン / 計画を指してもよいが、かかる処方物、投与量および / または投与レジメン / 計画は、化合物 1 の任意の薬学的に許容し得る塩に同等に適用可能であることが理解される。したがって、いくつかの態様において、化合物 1 の薬学的に許容し得る塩、またはその薬学的に許容し得る塩のための投与量または投与レジメンは、本明細書で記載されるとおり、化合物 1 のための任意の投与量または投与レジメンから選択される。

【0057】

追加的化学療法剤

一般的に上記するとおり、提供される方法は、化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩、および化学療法剤を利用する組み合わせ療法を含む。特定の態様において、追加的化学療法剤はエトポシドである。特定の態様において、追加的化学療法剤はプラチンである。特定の態様において、追加的化学療法剤はカルボプラチンである。いくつかの態様において、追加的化学療法は、エトポシドおよびプラチンの両方の組み合わせである。いくつかの態様において、追加的化学療法は、エトポシドおよびカルボプラチンの両方の組み合わせである。

【0058】

エトポシドは、DNAおよび、複製の間のDNA巻き戻しを助けるトポイソメラーゼII酵素と三元複合体を形成する。これは、DNA鎖の再ライゲーションを予防し、DNA鎖を切断する要因となる。がん細胞は、より急速に分裂するため、健康な細胞よりこの酵素を頼りにする。したがって、エトポシド処置は、DNA合成におけるエラーの要因となり、がん細胞のアポトーシスを促進する。特定の理論に縛られることを望むことなく、DNA-PK阻害剤は、DNAにおけるDSBの修復のための主要経路の一つを遮断し、よって修復プロセスを遅らせ、エトポシドの抗腫瘍活性の増強をもたらすことが信じられている。

【0059】

プラチンは、プラチナベースの化学療法剤である。本明細書で用いられるとおり、用語「プラチン」は、用語「プラチナ化剤」と互換的に用いられる。プラチナ化剤は、本分野において公知である。いくつかの態様において、プラチン（またはプラチナ化剤）は、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン、ネダプラチン、およびサトラプラチンから選択される。

【0060】

10

20

30

40

50

シスプラチンは、有糸分裂による細胞分裂を干渉するいくつかの異なる方法で、細胞DNAを架橋する。DNAにおける変化のうち特筆すべきは、プリン基との鎖内架橋である。これらの架橋は、主にヌクレオチド除去修復によって修復される。損傷DNAは、チェックポイント機構を活性化し、これは次いで、修復が不可能と判明した場合にアポトーシスを活性化する。

【0061】

特定の態様において、化合物1またはその薬学的に許容し得る塩は、放射線療法と組み合わせて投与される。特定の態様において、提供される方法は、エトポシドおよびシスプラチンの1つまたは両方と組み合わせる、化合物1またはその薬学的に許容し得る塩の投与を含み、ここで、該方法は、患者へ放射線療法を施すことをさらに含む。

10

【0062】

処置の方法

化合物1は、結晶学的および酵素動態試験によって実証されたとおり、DNA-PKの強力な選択的なATP競合阻害剤である。DNA-PKは、5つの追加的なタンパク質因子(Ku70、Ku80、XRCC4、Ligase IVおよびArtemis)とともに、NHEJを介したDSBの修復に重要な役割を果たす。DNA-PKのキナーゼ活性は、適切かつタイムリーなDNA修復とがん細胞の長期生存力のために不可欠である(Salles et al., 2006; Dobbs et al., 2011)。特定の理論に縛られることを望むことなく、化合物1の主要な効果は、DNA-PK活性の抑制およびDNA二本鎖切断(DSB)修復であり、DNAの変更された修復およびDNA損傷剤の抗腫瘍活性の強化をもたらすことが信じられている。

20

【0063】

インビトロデータは、エトポシド単独に対して、エトポシドと組み合わせた化合物1の相乗作用を実証した。よって、いくつかの態様において、化合物1またはその薬学的に許容し得る塩のエトポシドとの提供された組み合わせは相乗的である。とくに、本明細書で提示された実験結果はエトポシドの、とくに化合物1またはその薬学的に許容し得る塩による強化のための強力な証拠を提供する。

【0064】

特定の態様において、本発明は、がんの処置をこれを必要とする患者においてする方法であって、当該患者へ化合物1またはその薬学的に許容し得る塩を、エトポシドおよびプラチンから選択される少なくとも1つの追加的治療剤と組み合わせて投与することを含む前記方法を提供する。

30

【0065】

特定の態様において、本発明は、結腸、肺、頭頸部、膵臓およびそれらの組織学的サブタイプ(例、アデノ、扁平、大細胞)から選択されるがんの処置をこれを必要とする患者においてする方法であって、当該患者へ化合物1またはその薬学的に許容し得る塩を、エトポシドおよびプラチンから選択される少なくとも1つの追加的治療剤と組み合わせて投与することを含む前記方法を提供する。いくつかの態様において、プラチン(またはプラチナ化剤)は、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン、ネダプラチン、およびサトラプラチンから選択される。特定の態様において、プラチンはシスプラチンである。特定の態様において、提供された方法は、患者へ放射線療法を施すことをさらに含む。

40

【0066】

特定の態様において、本発明は、結腸、肺、頭頸部、膵臓およびそれらの組織学的サブタイプ(例、アデノ、扁平、大細胞)から選択されるがんの処置をこれを必要とする患者においてする方法であって、当該患者へ、化合物1またはその薬学的に許容し得る塩をエトポシドおよびプラチンと組み合わせて投与することを含む前記方法を提供する。特定の態様において、提供された方法は、患者へ放射線療法を施すことをさらに含む。

【0067】

本発明の方法による化合物1またはその薬学的に許容し得る塩、およびその組成物は、上で挙げた障害を処置するまたはその重症度を少なくするために有効な任意の量および任意の投与経路を用いて投与される。必要とされる正確な量は、対象の種、年齢および一般

50

的な状態、感染の重症度、特定の剤、その投与モードなどに依存して、対象ごとに異なるだろう。

【0068】

いくつかの態様において、本発明は、結腸、肺、頭頸部、膵臓およびそれらの組織学的サブタイプ（例、アデノ、扁平、大細胞）から選択されるがんの処置をこれを必要とする患者においてする方法であって、当該患者へ、化合物1またはその薬学的に許容し得る塩を、約1～約800 mgの量で、プラチンおよびエトポシドから選択される少なくとも1つの追加的治療剤と組み合わせて投与することを含む前記方法を提供する。

【0069】

いくつかの態様において、本発明は、結腸、肺、頭頸部、膵臓およびそれらの組織学的サブタイプ（例、アデノ、扁平、大細胞）から選択されるがんの処置をこれを必要とする患者においてする方法であって、当該患者へ化合物1またはその薬学的に許容し得る塩を、約10～約800 mgの量で、現地の臨床標準医療ガイドラインに従った量のプラチンおよびエトポシドから選択される少なくとも1つの追加的治療剤と組み合わせて投与することを含む、前記方法を提供する。特定の態様において、シスプラチンは、約50～約75 mg/m²の量で静脈内投与される。いくつかの態様において、エトポシドは、約50～約100 mg/m²の量で静脈内投与される。最も一般的に、シスプラチンは75 mg/m²で、およびエトポシドは100 mg/m²で投与される。

10

【0070】

特定の態様において、本発明は、結腸、肺、頭頸部、膵臓およびそれらの組織学的サブタイプ（例、アデノ、扁平、大細胞）から選択されるがんの処置をこれを必要とする患者においてする方法であって、当該患者へ、化合物1またはその薬学的に許容し得る塩を、エトポシドおよびシスプラチンから選択される少なくとも1つの追加的治療剤と組み合わせて投与することを含み、ここで、化合物1またはその薬学的に許容し得る塩、および追加的治療剤は同じ組成物中で提供される、前記方法を提供する。特定の態様において、提供された方法は、患者へ放射線療法を施すことをさらに含む。

20

【0071】

特定の態様において、本発明は、結腸、肺、頭頸部、膵臓およびそれらの組織学的サブタイプ（例、アデノ、扁平、大細胞）から選択されるがんの処置をこれを必要とする患者においてする方法であって、当該患者へ化合物1またはその薬学的に許容し得る塩を、エトポシドおよびシスプラチンから選択される少なくとも1つの追加的治療剤と組み合わせて投与することを含み、ここで、化合物1またはその薬学的に許容し得る塩および追加的治療剤は、当該患者への同時または連続的投与のために別々の組成物で提供される、前記方法を提供する。特定の態様において、提供された方法は、患者へ放射線療法を施すことをさらに含む。

30

【0072】

いくつかの態様において、本発明は、がんの処置をこれを必要とする患者においてする方法であって、当該患者へ化合物1またはその薬学的に許容し得る塩を投与し、続いてシスプラチンを投与し、次いでエトポシドを投与することを含む前記方法を提供する。特定の態様において、化合物1は、シスプラチンの投与の約1～2、好ましくは約1.5時間前に投与される。いくつかの態様において、化合物1は、当該患者へQDで投与される。特定の態様において、化合物1は5日間投与される。いくつかの態様において、化合物1は、約4日から約3週間、約5日間、約1週間、または約2週間投与される。

40

【0073】

特定の態様において、シスプラチンは静脈内注入を介して投与される。特定の態様において、シスプラチンは、静脈内注入を介して60分かけて約75 mg/m²で投与される。いくつかの態様において、エトポシドは静脈内注入を介して投与される。特定の態様において、エトポシドは、静脈内注入を介して60分かけて約100 mg/m²で投与される。

【0074】

特定の態様において、エトポシドは、1日目に静脈内注入を介して、次いで2日および

50

3 日目に静脈内注入または経口投与を介して、投与される。

【 0 0 7 5 】

いくつかの態様において、提供された方法は、化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩を含む薬学的に許容し得る組成物を、一日に 1 回、2 回、3 回または 4 回投与することを含む。

【 0 0 7 6 】

いくつかの態様において、化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩を含む薬学的に許容し得る組成物は、毎日投与される。

【 0 0 7 7 】

いくつかの態様において、化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩を含む薬学的に許容し得る組成物は、毎日 1 回投与される（「QD」）。 10

【 0 0 7 8 】

いくつかの態様において、化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩を含む薬学的に許容し得る組成物は、毎日 2 回投与される。いくつかの態様において、毎日 2 回投与は、「BID」で投与される、または 2 つの同一投与量が 1 日で 2 回の異なる時間に投与される、化合物または組成物を指す。

【 0 0 7 9 】

いくつかの態様において、化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩を含む薬学的に許容し得る組成物は、1 日に 3 回投与される。いくつかの態様において、化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩を含む薬学的に許容し得る組成物は、「TID」で投与される、または 3 つの同一投与量が 1 日で 3 回の異なる時間に投与される。 20

【 0 0 8 0 】

いくつかの態様において、化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩を含む薬学的に許容し得る組成物は、1 日に 4 回投与される。いくつかの態様において、化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩を含む薬学的に許容し得る組成物は、「QID」で投与される、または 4 つの同一投与量が 1 日で 4 回の異なる時間に投与される。

【 0 0 8 1 】

いくつかの態様において、化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩は、絶食状態の患者へ投与され、1 日の総投与量は、上記および本明細書で企図されるもののいずれかである。 30

【 0 0 8 2 】

いくつかの態様において、化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩は、摂食状態の患者へ投与され、1 日の総投与量は、上記および本明細書で企図されるもののいずれかである。

【 0 0 8 3 】

いくつかの態様において、化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩は、経口投与される。

【 0 0 8 4 】

エトポシドおよび化合物 1 またはその薬学的に許容し得る塩を投与する好ましい態様において、化合物 1 は、同じ日の、例えば、エトポシドの約 2 時間前、またはエトポシドとほぼ同じ時間に、またはエトポシド後 7 時間未満、例えば、エトポシド後の 5、3 または 1 時間未満に投与される。 40

【 0 0 8 5 】

追加的化学療法剤の投与

いくつかの態様において、提供された方法は、化学療法剤を含む薬学的に許容し得る組成物を、1 日に 1 回、2 回、3 回または 4 回投与することを含む。

【 0 0 8 6 】

いくつかの態様において、化学療法剤を含む薬学的に許容し得る組成物は、毎日 1 回投与される（「QD」）。 50

【 0 0 8 7 】

いくつかの態様において、化学療法剤を含む薬学的に許容し得る組成物は毎日2回投与される。いくつかの態様において、毎日2回投与は、「BID」で投与される、または2つの同一投与量が1日で2回の異なる時間に投与される、化合物または組成物を指す。

【0088】

いくつかの態様において、化学療法剤を含む薬学的に許容し得る組成物は、1日に3回投与される。いくつかの態様において、化学療法剤を含む薬学的に許容し得る組成物は、「TID」で投与される、または3つの同一投与量が1日で3回の異なる時間に投与される。

【0089】

いくつかの態様において、化学療法剤を含む薬学的に許容し得る組成物は、1日に4回投与される。いくつかの態様において、化学療法剤を含む薬学的に許容し得る組成物は、「QID」で投与される、または4つの同一投与量が1日で4回の異なる時間に投与される。いくつかの態様において、化学療法剤を含む薬学的に許容し得る組成物は、種々の日数（0、14、21、28）の処置間隔で、種々の日数の期間（例えば14、21、28）投与される。

【0090】

いくつかの態様において、化学療法剤は、絶食状態の患者へ投与され、1日の総投与量は、上記および本明細書で企図されるもののいずれかである。

【0091】

いくつかの態様において、化学療法剤は、摂食状態の患者へ投与され、1日の総投与量は、上記および本明細書で企図されるもののいずれかである。

【0092】

いくつかの態様において、化学療法剤は、便宜上の理由で経口投与される。いくつかの態様において、経口投与される場合、化学療法剤は食事および水とともに投与される。別の態様において、化学療法剤は、水またはジュース（例、リンゴジュースまたはオレンジジュース）に分散され、懸濁液として経口投与される。いくつかの態様において、経口投与される場合、化学療法剤は絶食状態で投与される。

【0093】

化学療法剤はまた、皮内、筋肉内、腹腔内、経皮（percutaneously）、静脈内、皮下、鼻腔内、硬膜外、舌下、脳内、腔内、経皮（transdermally）、直腸内、粘膜内、吸入によって、または耳、鼻、目もしくは皮膚に局所的に、投与され得る。投与のモードは医療従事者の裁量に任されており、病状の部位に部分的に依存し得る。

【0094】

化合物1および/または化学療法剤の薬学的に許容し得る組成物

いくつかの態様において、本発明は、化合物1またはその薬学的に許容し得る塩を含む薬学的に許容し得る組成物を提供する。いくつかの態様において、本発明は、化学療法剤の薬学的に許容し得る組成物を提供する。いくつかの態様において、化合物1またはその薬学的に許容し得る塩を含む組成物は、化学療法剤を含む組成物とは別個である。いくつかの態様において、化合物1またはその薬学的に許容し得る塩、および化学療法剤は、同じ組成物中に存在する。

【0095】

特定の態様において、本発明は、化合物1またはその薬学的に許容し得る塩、ならびにエトポシドおよびシスプラチンの少なくとも1つを含む組成物を提供する。いくつかの態様において、化合物1またはその薬学的に許容し得る塩、ならびにエトポシドおよびシスプラチンの少なくとも1つを含む提供された組成物は、経口投与のために処方される。

【0096】

かかる薬学的に許容し得る組成物の例示は、さらに以下および本明細書にて記載される。

【0097】

経口投与のための液体剤形は、薬学的に許容し得るエマルジョン、マイクロエマルジョン、溶液、懸濁液、シロップおよびエリキシル剤を含むが、これらに限定されない。化合物1もしくはその薬学的に許容し得る塩、および/または化学療法剤に加え、液体剤形は

10

20

30

40

50

、例えば、水または他の溶剤などの当該分野で一般的に用いられる不活性希釈剤、エチルアルコール、イソプロピルアルコール、エチルカーボネート、エチルアセタート、ベンジルアルコール、ベンジルベンゾエート、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、油（とくに、綿実油、落花生油、トウモロコシ油、原油、オリーブ油、ひまし油およびゴマ油）、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およびソルビタンの脂肪酸エステルなどの可溶化剤および乳化剤、ならびにそれらの混合物を含有してもよい。不活性希釈剤以外に、経口組成物はまた、湿潤剤、乳化剤および懸濁剤、甘味剤、香味剤および芳香剤などの補助剤を含み得る。

【0098】

注射用製剤、例えば、滅菌注射用水性または油性懸濁液は、適切な分散剤または湿潤剤および懸濁剤を用いて既知の技術に従って処方されてもよい。滅菌注射用製剤はまた、例えば1,3-ブタンジオール中の溶液として、無毒の非経口的に許容し得る希釈剤または溶剤中の滅菌注射用溶液、懸濁液またはエマルジョンであってもよい。使用されてもよい許容し得るビヒクルおよび溶剤としては、水、リンゲル液、U.S.P.および生理食塩水が挙げられる。また、滅菌の不揮発性油が、溶剤または懸濁媒体として従来から使用されている。この目的のために、合成モノグリセリドまたはジグリセリドを含む任意の無菌の不揮発性油が使用され得る。また、オレイン酸などの脂肪酸が注射剤の調製に用いられる。

【0099】

注射用処方物は、例えば、細菌保持フィルターを通す濾過によって、または使用前に滅菌水または他の滅菌注射用媒体に溶解または分散され得る滅菌固体組成物の形態で滅菌剤を組み込むことによって滅菌され得る。

【0100】

化合物1および/または追加的薬療法剤の効果を長引かせるために、皮下または筋肉内注射からの吸収を遅くすることがしばしば望ましい。これは、低い水溶性を有する結晶質または非晶質材料の液体懸濁液の使用によって達成されてもよい。そして吸収速度はその溶解速度に依存し、溶解速度は次に結晶サイズおよび結晶質形態に依存してもよい。代替的に、非経口投与された化合物1もしくはその薬学的に許容し得る塩、および/または薬療法剤の遅い吸収は、油ビヒクル中で化合物を溶解または懸濁することによって達成される。注射用デポー形態は、ポリラクチド-ポリグリコリドなどの生分解性ポリマー中に、化合物1もしくはその薬学的に許容し得る塩、および/または薬療法剤のマイクロカプセルマトリックスを形成することによって製造される。ポリマーに対する化合物の比率および使用される特定のポリマーの性質に応じて、化合物の放出速度が制御され得る。他の生分解性ポリマーの例には、ポリ（オルトエステル）およびポリ（無水物）が含まれる。デポー注射用処方物はまた、体組織と適合性のあるリポソームまたはマイクロエマルジョン中に化合物を封入することによっても調製される。

【0101】

直腸または腔内投与のための組成物は、好ましくは、本発明の化合物を、周囲温度では固体であるが体温では液体であるから直腸または腔腔で溶かされて活性化合物を放出する、ココアバター、ポリエチレングリコールまたは坐剤ワックスなどの適切な非刺激性賦形剤または担体と混合することによって調製され得る坐剤である。

【0102】

経口投与のための固体剤形は、カプセル、錠剤、ピル、散剤、および顆粒を含む。かかる固体剤形において、活性化合物は、クエン酸ナトリウムまたはリン酸二カルシウムなどの少なくとも1つの不活性の薬学的に許容し得る賦形剤または担体、および/またはa)デンプン、ラクトース、スクロース、グルコース、マンニトールおよびケイ酸などのフィラーまたはもしくは増量剤、b)例えば、カルボキシメチルセルロース、アルギネート、ゼラチン、ポリビニルピロリジノン、スクロース、およびアラビアゴムなどの結合剤、c)グリセロールなどの保水剤、d)寒天、カルシウムカーボネート、イモまたはタピオカデンプン、アルギン酸、特定のケイ酸塩、および炭酸ナトリウムなどの崩壊剤、e)パラフィンなどの溶液遅延剤、f)第4級アンモニウム化合物などの吸収促進剤、g)例えば

10

20

30

40

50

、セチルアルコールおよびグリセロールモノステアレートなどの湿潤剤、h) カオリンおよびベントナイト粘土などの吸収剤、ならびにi) 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、およびそれらの混合物などの潤滑剤と混合される。カプセル、錠剤およびピルの場合、剤形はまたバッファー剤を含んでもよい。

【0103】

同様の種類の固体組成物は、ラクトースまたは乳糖および高分子量ポリエチレングリコール等などの賦形剤を用いて、軟および硬ゼラチンカプセル (soft and hard-filled gelatin capsules) 中のフィラーとして使用されてもよい。錠剤、糖衣錠、カプセル、ピルおよび顆粒の固体剤形は、腸溶コーティングおよび医薬製剤分野で公知の他のコーティングなどのコーティングおよびシェルとともに調製され得る。それらは乳白剤を任意に含有してもよく、そしてそれらが活性成分 (単数または複数) のみを、または優先的に腸管の特定の部分に、任意に遅延様式で、放出する組成物であり得る。用いられ得る包埋組成物の例は、ポリマー物質およびワックスを含む。

10

【0104】

同様の種類の固体組成物は、ラクトースまたは乳糖および高分子量ポリエチレングリコール等などの賦形剤を用いて、軟および硬ゼラチンカプセル中のフィラーとして使用されてもよい。

【0105】

化合物 1 もしくはその薬学的に許容し得る塩、および / または化学療法剤はまた、上記のような 1 つ以上の賦形剤と共にマイクロカプセル化形態であり得る。錠剤、糖衣錠、カプセル、ピル、および顆粒の固体剤形は、腸溶コーティング、放出制御コーティング、および医薬製剤分野で公知の他のコーティングなどのコーティングおよびシェルとともに調製され得る。かかる固体剤形において、化合物 1 もしくはその薬学的に許容し得る塩、および / または化学療法剤は、スクロース、ラクトースまたはデンプンなどの少なくとも 1 つの不活性希釈剤と混合されてもよい。かかる剤形はまた、通常の慣例のように、不活性希釈剤以外の追加的物質、例えば、ステアリン酸マグネシウムおよび微結晶セルロースなどの錠剤化潤滑剤および他の錠剤化助剤を含んでもよい。カプセル、錠剤およびピルの場合、剤形はまたバッファー剤を含んでもよい。それらは乳白剤を任意に含有してもよく、そしてそれらが活性成分 (単数または複数) のみを、または優先的に腸管の特定の部分に、任意に遅延様式で、放出する組成物であり得る。用いられ得る包埋組成物の例は、ポリマー物質およびワックスを含む。

20

30

【0106】

化合物 1 もしくはその薬学的に許容し得る塩、および / または化学療法剤の局所または経皮投与のための剤形は、軟膏剤、ペースト、クリーム、ローション、ゲル、散剤、溶液、スプレー、吸入剤またはパッチを含む。活性要素は、滅菌状態で、薬学的に許容し得る担体および必要に応じて任意の必要な保存剤またはバッファーと混合される。眼科処方物、点耳剤、および点眼剤もまた、本発明の範囲内であると企図される。さらに、本発明は、身体への化合物の制御送達を提供するというさらなる利点を有する経皮パッチの使用を企図する。かかる剤形は、化合物を適切な媒体に溶解または分注させることによって製造され得る。吸収増強剤もまた、皮膚を横切る化合物の流動を増加させるために使用され得る。速度は、速度制御膜を設けることによって、または化合物をポリマーマトリックスもしくはゲルに分散させることのいずれかによって、制御され得る。

40

【0107】

例証

以下の例は、上記の本発明を説明するものである ; しかしながら、それらは決して発明の範囲を限定することを意図するものではない。本発明の医薬化合物、組み合わせ、および組成物の有益な効果はまた、それ自体当業者に知られている他のテストモデルによって決定され得る。

【0108】

50

例 1

放射線療法と組み合わせた化合物 1 の効能

化合物 1 による DNA-PK 阻害の治療的関連性が、臨床的に確立された DSB 誘発処置である電離放射線 (IR) と組み合わせて、インビボで調査された。化合物 1 は、ヒトのがんの 6 つの異種移植マウスモデルにおける活性についてテストされた。モデルは、異なるがんの適応症 (結腸、肺、頭頸部、膵臓)、および組織学的サブタイプ (アデノ、扁平、大細胞) から選択された。5 日間連続して投与される 1 日当たり 2 Gy の分画計画を用いて、電離放射線が投与された (総放射線量 = 10 Gy)。化合物 1 は、各放射線分画の 10 分前に、経口的に与えられた (ONC397-1-2AZ、ONC397-1-3AZ、ONC397-1-4AZ、ONC397-1-5AZ、ONC397-1-8AZ)。

10

【 0 1 0 9 】

全てのモデルにおいて、化合物 1 の経口投与は、放射線効果の強力な増強をもたらした (図 1 - ヒトのがんの 6 つのマウス異種移植モデルにおける放射線と組み合わせた化合物 1 の効能)。化合物 1 の放射線療法増強効果が、150 mg/kg の試験群で初期体積の 400 % に達するまでの時間までに、テストされたモデルにわたって定量された。得られた Kaplan-Meier プロットは、log ランクテストにより比較された。この処置設定における増強比は、1.5 (A549、HCT116) および 2.6 (NCI - H460) の間であることが見出された (表 1)。

【 0 1 1 0 】

表 1 . 放射線単独または放射線プラス化合物 1 に曝露された異種移植モデルからの開始腫瘍体積の 400 % に達するまでの時間 (TV 400 %) を用いた log ランクテスト結果の要約

20

【 表 1 】

モデル	TV _{400%} までの 時間の中央値 [日数]		増強比 [組み合わせ/IRのみ] (95% CI)	P 値 (log ランク テスト)	参考のための 試験番号
	IRのみ	組み合わせ			
NCI-H460 (肺、大細胞)	17	45	2.6 (2.2 - 3)	<0.0001	ONC397-1-5AZ
A549 (肺、アデノ)	28.5	42	1.5 (1.1 - 1.9)	0.0003	ONC397-1-8AZ
BxPC3 (膵臓、アデノ)	36	73.5	2 (1.6 - 2.4)	<0.0001	ONC397-1-4AZ
Capan-1 (膵臓、アデノ)	64.5	132	2 (1.7 - 2.3)	0.027	ONC397-1-7AZ
FaDu (H&N、扁平)	21.5	46	2.1 (1.8 - 2.5)	<0.0001	ONC397-1-2AZ
HCT116 (結腸、アデノ)	30	46	1.5 (1.2 - 1.9)	0.001	ONC397-1-3AZ

30

【 0 1 1 1 】

その結果が以下の表 2 に要約される FaDu 異種移植モデルにおいて実証されたように、これらの効果は、より高い投与量の化合物 1 またはより高い投与量の放射線のいずれかを適用することによって増大された。例えば、4 Gy の一日投与量 (20 Gy の総投与量) と組み合わせた 100 mg/kg の化合物 1 は、92 日の観察期間にわたって FaDu モデルにおいて完全奏効 (CR) をもたらした (ONC397-1-11AZ)、動物が 6 Gy の一日投与量 (総投与量 30 Gy) で照射された場合、10 mg/kg の化合物 1 の投与量では 2 の増強比が観察された (ONC397-1-12AZ)。

40

【 0 1 1 2 】

表 2 . 異なる投与量の放射線および化合物 1 に曝露後の FaDu 異種移植モデルからの TV_{400 %} を用いた log ランクテスト結果の要約

50

【表 2】

総IR投与量 (1週間で5分画)	MSC投与量 (各1R分画の10分前、 po)	TV ₄₀₀ までの 時間の中央値 [日数]		増強比 [組み合わせ/IRのみ]	P値 (logランク テスト)	参考のための 試験番号
		IRのみ	組み合わせ	(95% CI)		
10 Gy	25 mg/kg	21.5	29.5	1.4 (1 – 1.8)	0.02	ONC397-1-2AZ
	100 mg/kg	21.5	40	1.9 (1.4 – 2.3)	<0.0001	
	150 mg/kg	21.5	46	2.1 (1.8 - 2.5)	<0.0001	
	300 mg/kg	21.5	>63	60% CR (d 63)	<0.0001	
20 Gy	5 mg/kg	50	43	0.9 (0.5 – 1.2)	0.3	ONC397-1-11AZ
	10 mg/kg	50	56.5	1.13 (0.8 – 1.5)	0.75	
	100 mg/kg	50	>94	100% CR (d 94)	0.004	
30 Gy	5 mg/kg	50	69	1.4 (1 – 1.7)	0.16	ONC397-1-12AZ
	10 mg/kg	50	94	1.9 (1.6 – 2.2)	0.008	
	100 mg/kg	耐性なし				

【0113】

診療所で用いられる標準的な放射線療法レジメンは、6週間の分画処置計画（1週間当たり2 Gy IRを5分画 - 計60 Gy）である。化合物1の治療的可能性を調べるために、このレジメンがヒトのがんの2つの異種移植モデル（FaDuおよびNCI-H460）に適用された。化合物1が、FaDuにおいて投与量5、10、25、および50 mg/kg（ONC397-1-13AZ参照）、ならびに、NCI-H460試験において25および50 mg/kg（ONC398-1-5aAZ）の放射線の各分画の10分前に、経口的に与えられた。

【0114】

FaDu試験において、この組み合わせ処置は、IR単独で処置された腫瘍と比較して、腫瘍増殖の強い阻害をもたらした。10 mg/kgの化合物1で処置された動物の44%において完全な腫瘍退縮が観察され、腫瘍は試験期間(113日)の間に再成長しなかった。25および50 mg/kgの投与量では、腫瘍異種移植片は10匹すべての動物で退縮し、試験終了まで再燃しなかった（図2 - FaDu異種移植モデルにおける6週間の処置計画におけるIRと組み合わせた化合物1の効能）。

【0115】

NCI-H460は、IR処置に対して比較的鈍感なモデルとして選択された。IRのみで処置された腫瘍は、処置下で急速に進行した。しかしながら、IRおよび化合物1で処置された腫瘍は、処置および最大約90日の観察期間中に退縮した（図3 - NCI-H460異種移植モデルにおける6週間の処置計画におけるIRと組み合わせた化合物1の効能）。50 mg/kgのDNA-Pkiで処置されたマウスにおける腫瘍異種移植片は、110日目（42日間の処置プラス68日間の観察）の実験の終了まで、それらの開始体積を超えなかった。

【0116】

両方の試験において、処置は一般的に耐性が良好であった。処置期間中、すべての処置群の動物は、毎日の処置手順 - 6週間にわたる経口経管栄養、麻酔およびIRにおそらく起因して、中程度の体重減少を示した。体重減少は完全に可逆的であった。

【0117】

例2

ヒトNCI-H526 SCLC異種移植モデルにおけるエトポシドおよびシスプラチンと組み合わせた化合物1の効能

効能異種移植試験のために、1014-1-58/ BKU00105雌CD1 nu/nuマウス [内部バツ

チID 04108; Charles River Laboratories, Sulzfeld, Germany]、6 - 8週齢、が用いられた。血液学的試験のために、1015-1-3/ BKU00106免疫適格性雌CD1マウス[内部バッチID1406; Janvier Labs, Genest-Saint-Isle, France]、12週齢、が用いられた。マウスは、1週間収容状況に順応させられた。それらは、ポリスルホンケージタイプII (42.5x26.6x15.5cm; Techniplast, Hohenpeissenberg) において、10匹の群で飼育された。寝具はアスペンチップ (E. Becker, Castrop-Rauxel) からなるものであった。室温は24+/-2 であり、毎時間15回の空気交換で、相対湿度は50+/-10%であった。飲料水 (自由に与えられた) には1 mg/mLの塩素が補充され、HClでpH6.5に調整された。免疫不全マウスのための滅菌の高タンパク質維持飼料 (Ssniff、Soest、製品番号V1244-72、滅菌) もまた、自由に与えられた。光サイクルは、12時間の光および12時間の闇で設定された。試験プロトコルの詳細は、以下の通りである：

10

【0118】

効能異種移植試験のために、ヒト小細胞肺癌腫細胞1014-1-58/ BKU00105 NCI-H526細胞が、Merck KGaA中央細胞バンクから得られた (凍結保存バイアルNCI-H526/5 17.03.2011)。細胞は懸濁液中で増殖し、10% FCS (Biochromeカタログ: SO615、Lot0707W)、2mM L-グルタミン (Gibco番号25030)、1mMピルビン酸ナトリウム (Gibco 番号11360) を含むRPMI 1640増殖培地 (Gibco番号31870) で、37 °C、5%CO₂で培養され、合計で2 x 10⁸細胞を得た。次いで、細胞は、DPBSで3回洗浄され、Matrigel (BD、カタログ番号: 354234) を含むDPBS (-Mg/-Ca) (1:1/v/v) で再懸濁され、2x10⁷細胞/mlとなった。次いで、細胞懸濁液 (100 µL/動物) が、免疫不全CD1マウスの右側腹部に皮下接種された。

20

【0119】

溶液

すべての試薬およびバッファーは製造者の指示に従って保存し、バッチの有効期限前に用いられた。

【0120】

化合物1は、ドイツのMerck KGaA Darmstadtにて製造された。処方物：それぞれの化合物の量が「Precellys」チューブ [PEQ-Lab、91-PCS-CK28R] へ計量され、1mlのビヒクル (クエン酸ナトリウムバッファー300 mM pH 2.5中の0.5% Methocel (K4M Premium USP/ EP; Colorcon)、0.25% Tween20 (Merck、オーダー番号: 8170721000)) が添加された。チューブは「precellys 24」組織ホモジナイザー [Bertin technologies、Montigny le Bretonneux (FR)] に配置され、30秒間6500振盪で2回粉碎された。その後、化合物混合物は適切なガラスバイアルへ移され、ビヒクルが添加されて懸濁液をその最終容量とした。最後に、処方物 (黄色、非常に微細な懸濁液) は、40度で10分間攪拌された。新鮮な調製物は、週に1回調製された。

30

【0121】

エトポシドVP-16は、Selleck Chemicals LLC、カタログ番号SI225-07から得られた。エトポシドは以下のように処方された：2 mlのChremophorが12 mgのエトポシドに添加され、溶解させるために超音波処理された。2 mlの100%エタノールが添加され、混合された。次いで、24 mlの蒸留水が添加され、超音波処理された。VP-16の最終濃度 = 0.4 mg/ml。新鮮な調製物は、週に1回調製された。

40

【0122】

シスプラチンはMetac GmbHから得られた、注入50 mg/100 ml (0.5 mg/ml)；配達2015/2/12、ロット番号M130845B。シスプラチンは、0.9%食塩水 (Braun、Reg.-ID: 6726174.00.00) を用いて最終適用濃度に希釈された。新鮮な調製物は、週に1回調製された。

【0123】

処置の要約は以下に規定される：

【表 3】

処置群ごとに N=10 動物(雌 CD1 ノードマウス)					
群 番号	化合物	ビヒクル	投与量	経路	計画
1	ビヒクル	Methocel/ Tween/クエン 酸バッファー Cremophor/ EtOH/ H ₂ O	—	po ip	毎日 週 3 回、3 日連続
2	化合物 1	3. 1. 3 参照	50 mg/kg	po	毎日
3	エトポシド	3. 1. 3 参照	4 mg/kg	ip	週 3 回、3 日連続
4	エトポシド シスプラチン	3. 1. 3 参照	4 mg/kg 3 mg/kg	ip ip	週 3 回、3 日連続 週 1 回
5	化合物 1 エトポシド シスプラチン	3. 1. 3	50 mg/kg 4 mg/kg 3 mg/kg	po ip ip	毎日* 週 3 回、3 日連続 週 1 回 *(該当する場合にはエトポシドと一 緒に)
6	化合物 1 エトポシド シスプラチン	3. 1. 3 参照	50 mg/kg 4 mg/kg 3 mg/kg	po ip ip	毎日* 週 3 回、3 日連続 週 1 回 *(該当する場合にはエトポシドの 7 時間後に)
7	化合物 1 エトポシド シスプラチン	3. 1. 3 参照	50 mg/kg 4 mg/kg 3 mg/kg	po ip ip	週 4 回(エトポシドが与えられてい ない日) 週 3 回、3 日連続 週 1 回

【 0 1 2 4 】

試験手順

腫瘍細胞接種：ヒトNCI-H526細胞の懸濁液を、Matrigelを含む100 μLの容量のDPBS (-Mg/-Ca) (1:1/v:v)および2x10⁷細胞/mlの濃度で、CD1 nu/nuマウスの右側腹部に皮下接種された。

【 0 1 2 5 】

動物の同定：皮下にインプラントされた電子NONATECトランスポンダー（LUTRONIC、Luxemburg）を用いて、全ての動物が個々に同定された。インプラントは、70%アルコールで皮膚を殺菌した後、皮下注射針（18ゲージ）で背中に実施された。電子読取機に

より、各個別の動物を対応するコード番号で同定することができた。

【 0 1 2 6 】

腫瘍測定および計算：腫瘍が96 - 214 mm³の体積に達したとき、動物は10匹ずつの7つの処置群へと無作為に分けられた。腫瘍の長さ（L）および幅（W）は、カリパスにより週に2回測定された。腫瘍体積は、式 $L \times W^2 / 2$ を用いて計算された。データは、Study AdvantageTM（データ収集システム）に集められた。

【 0 1 2 7 】

体重：体重は、1週間に2 / 3回モニターされた。

【 0 1 2 8 】

処置：上記に従う投与および計画。化合物1が3つの異なる計画に従って投与された：

- 1) SoCと同時に、試験の間に毎日
- 2) 試験の間に毎日、SoC組み合わせの日にはSoC処置と化合物1適用との間に7時間の設定時間
- 3) エトポシド処置のない日にのみ適用

【 0 1 2 9 】

採血および血液学のための処理：血液は、Sarstedt Microvette 500 K3E（Tri-Kalium-EDTA）REF20.1341, Lot.4074501を用いて採取された：チューブは直ちにローラーミキサー（StuartローラーミキサーSRT9D）に置かれ、分析までローリングされた。血液学的分析は、A32/113にあるAnalyser Sysmex xT-2000iVを用いて実施された。

【 0 1 3 0 】

マウス血漿中の化合物1およびエトポシドの検出：血液は、それぞれ11.3 (BKU00113)および11.5 (BKU00105)に示されるように採取された。

【 0 1 3 1 】

マウス血漿中の化合物1の定量的決定は、SO-ABC-6標準操作手順80.45.16.051およびその中に提供されている参考文献に記載された手順に一般的に従ったHPLC-MS/MSアッセイを用いて実施された。

【 0 1 3 2 】

エンドポイント

T/C値：腫瘍増殖を阻害する処置の能力は、以下の式に従って% T/C値を計算することによって各試験の終了時に評価された。

【 0 1 3 3 】

% T/Cデルタ 0計算(平均): $[(\text{終了時腫瘍体積処置}-\text{開始時腫瘍体積処置})/(\text{終了時腫瘍体積対照}-\text{開始時腫瘍体積対照})] \times 100$

【 0 1 3 4 】

% T/Cデルタ 0(退縮)計算(平均): $[(\text{終了時腫瘍体積処置}-\text{開始時腫瘍体積処置})/\text{開始時腫瘍体積処置}] \times 100$

【 0 1 3 5 】

鬱滞：鬱滞は、実験終了時に処置開始時のものと比較してより小さいまたはより大きいサイズ（-50%および+25%）を示した腫瘍として定義される。

【 0 1 3 6 】

部分退縮：部分退縮は、実験終了時に処置開始時のものと比較してより小さいサイズ（50%）を示した腫瘍として定義された。

【 0 1 3 7 】

完全退縮：完全寛解は、もはや触知できなかった腫瘍として定義された。

【 0 1 3 8 】

腫瘍増殖遅延：処置された腫瘍vs.対照腫瘍が所定の体積、通常は1 cm³だがそれ未満でもあり得る、に到達するまでの日数の差

【 0 1 3 9 】

毒性：%で表した体重変化は、処置開始時と処置終了時の体重の差を表す。処置過程の体重の変化は、処置関連の毒性の有無の尺度と考えられているため、特に重要である。

10

20

30

40

50

20%の体重変化（群の平均）または 10%の薬物死をもたらす投与量は、過度に有毒な投与量と考えられた。動物の体重は、腫瘍の重量を含んでいた。

【0140】

血球数

【0141】

統計分析

効能データは、それぞれの組み合わせ群の腫瘍体積データのSoCのみ処置群の腫瘍体積データとのRM-ANCOVAおよびペアワイズ比較によって分析されてきた。

【0142】

血液学データは、それぞれの組み合わせ群の血球数をSoCのみ処置群の血球数と比較するRM-ANOVAおよびボンフェローニ多重比較事後テストによって評価された。

10

【0143】

エトポシドおよびシスプラチンの標準治療（SoC）レジメンと組み合わせた化合物1の治療効果が、ヌードマウスにおけるヒト小細胞肺癌異種移植モデルNCI-H526においてテストされた。動物は、シスプラチン（週に1回で3 mg/kg）およびエトポシド（1週間あたり3日連続で4 mg/kg）からなる3回の1週間サイクルの化学療法で処置された。化合物1（50 mg/kg）との組み合わせは3つの異なる計画におけるものであった。1）化合物1は、試験を通して毎日、それぞれの日にエトポシドと同時に適用された。2）化合物1は、試験を通して毎日、それぞれの日にエトポシド処置の7時間後に適用された。3）化合物1はエトポシド処置から分離され、エトポシドが与えられなかった日のみ適用された。試験の組み合わせ群において、化学療法に加えて化合物1が与えられた（試験期間を通して毎日50 mg/kg、3週間の化学療法を延長した。

20

【0144】

エトポシドおよびシスプラチンと組み合わせて、化合物1はヒトSCLC NCI-H526マウス異種移植モデルにおいて有意に増強された抗腫瘍活性を示す（図4a - NCI-H526異種移植モデルにおけるエトポシド/シスプラチンと組み合わせた化合物1の効能（平均腫瘍体積が左で個別腫瘍体積が右））（ONC1014-1-58AZ参照）。エトポシドおよびシスプラチンのSoCレジメンへの化合物1の添加は、SoC処置群と比較して追加的な効能をもたらした。SoC処置期間の終了時（21日目）に、組み合わせ群（n=10）の平均腫瘍体積は50 mm³（開始体積と比較して約67%の減少）であったところ、SoC群（n=10）の平均腫瘍体積は30%増加して約200 mm³だった。28日目に、組み合わせ群の9/10の動物は進行がみられず、4/10は完全な反応を示しており、そのうち3/10は安定した疾患で1/10は退縮であった。SoC群において、8/10の動物が進行性疾患を示した。図4bは、化合物1を試験を通して毎日投与することが、SoCと化合物1処置とを7hまたは数日のいずれかで分離することよりも優れた効能をもたらしたことを示す。

30

【0145】

SoC治療は、動物において体重減少を誘発した（図5 - マウスにおけるエトポシド/シスプラチン処置および化合物1との組み合わせによる体重変化）。SoCを化合物1と組み合わせると、追加的な体重減少につながった。すべての動物は、体重減少を中程度の範囲に保ちかつそれらの全体的な状態を安定させるために、試験を通して可能にされた食物供給（水と混合したDietGel（登録商標）Boost）が補給された。化学療法サイクル3（d21）の終了時でSoC処置の終わり後、動物は、連続的な化合物1投与にもかかわらず回復した。

40

【0146】

エトポシド/シスプラチン/化合物1の組み合わせの抗腫瘍効果と並行して、免疫適格性マウスにおいて骨髓性細胞およびリンパ球細胞に対する効果が調査された（ONC1015-1-3AZ参照）。動物は、抗腫瘍試験と同じ投与量および計画で、ただし2週間のみ、処置された。血球数は処置下（5および11日目）および回復中（18および24日目）に決定された。図6 - エトポシド/シスプラチンおよび化合物1との組み合わせで処置およびそれから回復下の網状赤血球数およびリンパ球数は、網状赤血球およびリンパ球がエトポシ

50

ドおよびシスプラチンでの処置に際し有意に減少されたことを示す。化合物 1 の添加は、血球減少にも回復期にも有意に影響を及ぼさなかった。好酸球についても同様の効果が見られ、好中球および血小板についても有意な効果は観察されなかった。骨髄性およびリンパ球の抑制は、患者におけるエトポシド/シスプラチンレジメンの投与量制限毒性の 1 つであるため、いかなる有意な追加的毒性も存在しないことが実証されていることは、肯定的な成果である。

【 0 1 4 7 】

実施例 3

単剤化合物 1 処置はLoVo異種移植片増殖を阻害する

機能不全DNA修復経路要素を伴う腫瘍細胞はDNA-PKに対して中毒になり得ることが最近報告されてきており、これはDNA-PK阻害剤がDNA修復欠損腫瘍において単剤活性を有してもよいことを示唆する (Riabinska et al., 2013, Dietlein et al., 2014)。我々は、MRE11タンパク質における突然変異のためにATM経路機能が欠損していることが知られている確立されたLoVo結腸癌腫異種移植片の増殖に対する化合物 1 の効果をテストした。腫瘍保持マウスへのDNA-PK阻害剤の3週間投与は、150 mg/kgでほぼ完全な増殖抑制を伴う用量依存的な腫瘍増殖阻害をもたらした (図 7 - ATM経路欠損LoVo異種移植モデルにおける化合物 1 の単剤効能) (ONCEFF-14-001AZ参照)。

【 0 1 4 8 】

実施例 4

化合物 1 のインビボでの薬力学的効果

放射線療法または他のDNA損傷剤によるDSBの誘発に続いて、DNA-PKの触媒サブユニット (DNA-PKc) はいくつかのセリンおよびトレオニン残基で自己リン酸化される。Ser 2056は最も顕著で最も試験されている自己リン酸化部位の 1 つである。Ser2056リン酸化 (p-Ser2056) はDNA-PK活性化状態とよく相関を示したので、それが薬力学 (PD) バイオマーカーとして選択された。2つの異なるアッセイフォーマットが、腫瘍組織におけるp-Ser2056を測定するために確立された: ELISAおよびMSDフォーマット。配列信頼性シグナルを検出するために、ELISAアッセイには50 Gyで、より高感度のMSDアッセイには10 GyでIRが用いられた。化合物 1 によるIR誘発DNA-PKリン酸化 (Ser2056) の用量依存的阻害は、ヒト異種移植モデルFaDuおよびHCT116においてELISAによって (ONC101305BCS参照)、WM164においてMSDアッセイによって実証された。確立されたWM164腫瘍を伴うマウスに、10 GyのIRの10分前に化合物 1 が与えられ、腫瘍組織中のDNA-PK (p-Ser2056) レベル (PD) はいくつかの時点で測定され、化合物 1 の血漿濃度 (PK) と相関を示した。IR後にDNA-PK自己リン酸化は増大され、1~2時間の間に最大の刺激を示した。IRおよび化合物 1 (25 mg/kg) の同時投与は、化合物 1 の高い血漿曝露に対応する最も強力な効果を伴って、腫瘍組織におけるDNA-PK自己リン酸化の阻害をもたらした。阻害されたレベルは、DNA-PKリン酸化の基礎レベル (p-Ser2056) の阻害に起因して、ビヒクル処置動物におけるそれよりも低かった (図 8 - 化合物 1 は、WM164異種移植腫瘍においてDNA-PK自己リン酸化 (p-Ser2056) を阻害する) (ONC20140508CS参照)。

【 0 1 4 9 】

例 5

エトポシドまたはシスプラチンと組み合わせた化合物 1 が、以下のがん細胞株において腫瘍細胞の阻害についてテストされた: ヒト肺癌腫 (NCI-H460)、ヒト膠芽腫 (MO59KおよびMO59J)、ならびにヒト扁平細胞癌腫咽頭 (FaDu)。アッセイプロトコールおよび利用した材料の詳細は以下に記載される。

【 0 1 5 0 】

材料および提供元

Nuncon表面96ウェルプレート (細胞培養) Nunc

DMEM Pan Biotech GmbH

RPMI Gibco

10

20

30

40

50

HAM F12 Pan Biotech GmbH
 ピルビン酸ナトリウム Gibco
 L-グルタミン Gibco
 非必須アミノ酸 SIGMA
 PBS (10x) Dulbecco Gibco
 96ウェルマイクロタイタープレート (ポリプロピレン) Nunc
 AlamarBlue Serotec
 FCS (ウシ胎児血清) Biochrom
 トリプシン/EDTA溶液10x Biochrom AG
 75cm培養フラスコ DB Falcon
 エトポシド SIGMA
 シスプラチン SIGMA
 DMEM/F12 (1:1) Gibco
 Alamar blue Serotec
 NCI-H460 肺癌腫ヒト ; ATCC HTB177
 MO59K ヒト膠芽腫 : ATCC CRL-2365
 MO59J ヒト膠芽腫 ATCC CRL-2366
 FaDu ヒト扁平細胞癌腫咽頭 ; ATCC HTB43

10

【 0 1 5 1 】

装置

20

【表 4】

装置	提供元
インキュベーターHeracell150i	Heraeus
フロー	Herasafe
Tecan Reader Connect	Tecan
HP D300 デジタルディスペンサー	HP//Tecan

30

【 0 1 5 2 】

テスト物品濃度

40

50

【表 5】

テスト材料	μM/nM での濃度	期間	ビヒクル
化合物 1	30μM; 10μM; 3.3μM; 1.1μM; 370nM; 120nM; 41nM; 14nM	72h	DMSO
化合物 1	30μM; 10μM; 3.3μM; 1.1μM; 370nM; 120nM; 41nM; 14nM	168h	DMSO
エトポシド	10μM; 3.3μM; 1.1μM; 370nM; 120nM; 41nM; 14nM; 4.7nM	72h	DMSO
エトポシド	10μM; 3.3μM; 1.1μM; 370nM; 120nM; 41nM; 14nM; 4.7nM	168h	DMSO
エトポシド	10μM; 2μM; 400nM; 80nM; 16nM; 3.2nM; 0.64nM; 0.13nM	168h	DMSO
シスプラチン	10μM; 3.3μM; 1.1μM; 370nM; 120nM; 41nM; 14nM; 4.7nM	72h	DMSO

【 0 1 5 3 】

細胞は、96ウェルプレートに180 μl / ウェルの容量で蒔かれ：（FaDu：1000細胞 / ウェル（168時間）；NCI-H460 3000細胞 / ウェル（72時間）および1000細胞 / ウェル（168時間）；MO59J：5000細胞 / ウェル（72時間）および2000細胞 / ウェル（168時間）；MO59K：2000細胞 / ウェル（72時間）および1000細胞 / ウェル（168時間））、37 °C および適切なCO₂で24時間インキュベートされた。化合物 1 および / またはエトポシドもしくはシスプラチンの段階希釈物を含むウェル当たり20 μlの培地が培養プレートに添加され、インキュベーションが37 °C および適切なCO₂でさらに3日間（72時間）または7日間（168時間）続けられた。エトポシドまたはシスプラチンが添加される前に、化合物 1 は30分間プレインキュベートされた。

【 0 1 5 4 】

細胞は、ウェル当たり200 μlの容量で蒔かれた（FaDu：1000細胞 / ウェル（168時間）；NCI-H460 3000細胞 / ウェル（72時間）および1000細胞 / ウェル（168時間）；MO59J：5000細胞 / ウェル（72時間）および2000細胞 / ウェル（168時間）；MO59K：2000細胞 / ウェル（72時間）および1000細胞 / ウェル（168時間））。37 °C で24時間のインキュベート後、化合物 1、エトポシドまたはシスプラチンは、Digital HP Dispenser D300（および付属の分配ソフトウェア）を用いて分配された。プレートは、37 °C および適切なCO₂で3日間（72時間）または7日間（168時間）、さらにインキュベートされた。

【 0 1 5 5 】

化合物インキュベーション期間の終了時に、ウェルあたり20 μlのAlamarBlue試薬が添加され、96ウェルプレートはさらに最大7時間インキュベートされた。吸収は、Tecan Reader ConnectおよびMagelan 7を用いて、540nmで決定された。

0%効果 = DMSOで処理された細胞；-100%効果 = 細胞なし

【数 1】

$$\% \text{効果} = \left[\frac{100 * (\text{化合物を伴う細胞の値} - \text{細胞なしの値})}{(\text{化合物なしの細胞の値} - \text{細胞なしの値})} \right] - 100$$

【0156】

結果

化合物 1 は、エトポシドとの組み合わせを用いることにより、インビトロでNCI-H460、FaDuおよびMO59K (DNA-PK野生型) 細胞の生存率の増強された阻害を示した (図 9、11 および 12)。

10

【0157】

化合物 1 は、図 17 に示されるとおり、同じ%効果に達するためにより高濃度のエトポシドを必要とする別のDNA-PK阻害剤であるVX984と比較して有利である。VX-984は、例えばWO 2013/163190に開示されるとおり、化合物8-[(1S)-2-[[6-(4,6-ジデウテリオ-2-メチルピリミジン-5-イル)ピリミジン-4-イル]アミノ]-1-メチルエチル]キノリン-4-カルボキサミドを表す。

【0158】

DNA-PK欠損であるMO59J細胞 (1) は、比較可能条件下で、エトポシドとの化合物 1 のかかる組み合わせ効果を示さなかった (図 13)。NCI-H460の生存率に対する、シスプラチンと一緒に化合物 1 の有意な組み合わせ効果は観察されなかった (図 10)。

20

【0159】

例 6

化合物 1 と組み合わせたエトポシド処置の細胞増殖に対する効果は、以下の細胞株のパネルにおいて分析された：A110L、A-427、A529L、A549、BEN、CACO2、CALU-1、Calu-3、CALU6、COLO205、COLO-677、COLO678、COLO-699、COR-L311、COR-L88、DLD1、DMS 114、DMS 153、DMS 454、DMS 53、DV-90、EBC-1、EPLC-272H、H-2171、H69V、HCC-15、HCC2935、HCC-366、HCC-44、HCC-827、HCT116、HCT15、HLC-1、HLF-a、H-MESO-1、HT29、IA-LM、IMR90、JU77、LC-2/ad、LK-2、LO68、LOVO、LS123、LS411N、LU65、Lu99B、LUDLU-1、LXF-289、MIAPACA2、MS-1、MSTO-211H、NCI-H1048、NCI-H1105、NCI-H1299、NCI-H146、NCI-H1563、NCI-H1568、NCI-H1573、NCI-H1581、NCI-H1651、NCI-H1694、NCI-H1734、NCI-H1755、NCI-H1792、NCI-H1838、NCI-H1869、NCI-H1876、NCI-H1882、NCI-H1915、NCI-H196、NCI-H1975、NCI-H2029、NCI-H2030、NCI-H2066、NCI-H2073、NCI-H2081、NCI-H2085、NCI-H211、NCI-H2110、NCI-H2122、NCI-H2126、NCI-H2141、NCI-H2170、NCI-H2172、NCI-H2196、NCI-H226、NCI-H2286、NCI-H2291、NCI-H23、NCI-H2342、NCI-H2347、NCI-H2405、NCI-H2444、NCIH292、NCIH358M、NCI-H446、NCIH460、NCI-H508、NCI-H520、NCI-H522、NCI-H524、NCI-H596、NCI-H647、NCI-H661、NCI-H69、NCI-H774、NCIH82、NCI-H841、NGP、PC-9、RKO、SCLC-21h、SHP-77、SK-CO-1、SK-MES-1、SNU-C1、SW1116、SW1417、SW1463、SW48、SW620、SW837、SW 900、SW948、T3M-11、T3M-12、T84、A110L、A-427、A529L、A549、BEN、CACO2、CALU-1、Calu-3、CALU6、COLO205、COLO-677、COLO678、COLO-699、COR-L311、COR-L88、DLD1、DMS 114、DMS 153、DMS 454、DMS 53、DV-90、EBC-1、EPLC-272H、H-2171、H69V、HCC-15、HCC2935、HCC-366、HCC-44、HCC-827、HCT116、HCT15、HLC-1、HLF-a、H-MESO-1、HT29、IA-LM、IMR90、JU77、LC-2/ad、LK-2、LO68、LOVO、LS123、LS411N、LU65、Lu99B、LUDLU-1、LXF-289、MIAPACA2、MS-1、MSTO-211H、NCI-H1048、NCI-H1105、NCI-H1299、NCI-H146、NCI-H1563、NCI-H1568、NCI-H1573、NCI-H1581、NCI-H1651、NCI-H1694、NCI-H1734、NCI-H1755、

30

40

50

NCI-H1792、NCI-H1838、NCI-H1869、NCI-H1876、NCI-H1882、NCI-H1915、NCI-H196、NCI-H1975、NCI-H2029、NCI-H2030、NCI-H2066、NCI-H2073、NCI-H2081、NCI-H2085、NCI-H211、NCI-H2110、NCI-H2122、NCI-H2126、NCI-H2141、NCI-H2170、NCI-H2172、NCI-H2196、NCI-H226、NCI-H2286、NCI-H2291、NCI-H23、NCI-H2342、NCI-H2347、NCI-H2405、NCI-H2444、NCI-H292、NCI-H358M、NCI-H446、NCI-H460、NCI-H508、NCI-H520、NCI-H522、NCI-H524、NCI-H596、NCI-H647、NCI-H661、NCI-H69、NCI-H774、NCI-H82、NCI-H841、NGP、PC-9、RKO、SCLC-21h、SHP-77、SK-CO-1、SK-MES-1、SNU-C1、SW1116、SW1417、SW1463、SW48、SW620、SW837、SW900、SW948、T3M-11、T3M-12、およびT84。

10

【0160】

組み合わせおよび単独療法処置の効果は、結腸および肺の2つの主要起源組織について比較されたが、いくつかの側面については、4つの胸膜由来細胞株のデータもまた考慮される。

【0161】

エトポシドの化合物1とのすべての組み合わせにわたって、分析された細胞株について増殖阻害の増加が実証された。組み合わせ効果は、化合物1との組み合わせにおけるほとんどの細胞株にとって相乗的である。

【0162】

アッセイプロトコルの詳細が以下に記載される。

20

【0163】

128個の細胞株は、可変投与量のエトポシド ($2.44 \times 10^{-9} \text{M}$ 、 $9.77 \times 10^{-9} \text{M}$ 、 $3.91 \times 10^{-8} \text{M}$ 、 $1.56 \times 10^{-7} \text{M}$ 、 $6.25 \times 10^{-7} \text{M}$ 、 $2.50 \times 10^{-6} \text{M}$ 、 $1.00 \times 10^{-5} \text{M}$) および固定投与量の化合物1 ($0.3 \mu \text{M}$) でスクリーニングされた。単剤および組み合わせ処置の増殖阻害効果は、ONCOLEADによって測定された。

【0164】

未処置対照と比較する増殖阻害データは、個々の測定値として受け取られ、R(1)のDRCパッケージを用いて4パラメーター用量反応曲線としてモデル化されている。50%増殖阻害 (GI50) での阻害剤濃度は、用量反応曲線の50%増殖阻害レベルとの交点を用いて得られた。

30

【0165】

用量反応曲線 (relAOCまたはAOC) より上の相対面積は、 $1 \times 10^{-3} \text{M}$ および $1 \times 10^{-10} \text{M}$ の間の投与量範囲における用量反応曲線より上の面積として得られた。

【0166】

エトポシドの化合物1との組み合わせ効果は、組み合わせパートナーの独立した作用機序の推定下で計算された。処置効果の相乗作用は、BLISS独立性モデル (2) を用いて、測定された異なるデータポイントでの単独療法処置効果の線型結合に対する平均過剰量として、評価された。相乗作用スコアは、ONCOLEADによって提供された。

【0167】

処置効果は、用量反応曲線より上の面積 (AOC) として、または対照細胞と比較して50%増殖阻害に達するために必要とされる濃度 (GI50) として、要約される。AOC値は、3つの主要起源組織である結腸、肺および胸膜の122個の細胞株について得られた。組み合わせ処置に対する敏感度は、ほぼ全ての (120/122) 症例においてより高く、それは図14 (インビトロでの肺および結腸がん細胞株パネルにおける、エトポシドと組み合わせた化合物1の抗腫瘍効果) におけるAOC比例プロットのより長い赤いバーによって示される。図15は、インビトロでの肺および結腸がん細胞株パネルにおける、エトポシドと組み合わせた化合物1の抗腫瘍効果を示す。

40

【0168】

GI50に達するために必要とされる中央値エトポシド濃度は、肺がん細胞株において：単独療法のための $0.32 \mu \text{M}$ から化合物1と組み合わせた $0.04 \mu \text{M}$ にシフトされる。

50

【0169】

GI50に達するために必要とされる中央値エトポシド濃度は、結腸がん細胞株において、単剤療法のための0.7 μ Mから化合物1と組み合わせた0.12 μ Mにシフトされる。

【0170】

GI50に達するために必要とされる中央値エトポシド濃度は、中皮腫細胞株において、単剤療法のための1 μ Mから化合物1と組み合わせた0.11 μ Mにシフトされる。

【0171】

エトポシドの化合物1との組み合わせにおける4つの主要な肺腫瘍サブタイプである小細胞癌腫、アデノ癌腫、扁平細胞癌腫、および大細胞癌腫細胞癌についてのGI50シフトは、扁平および大細胞癌腫の両方が等しく、組み合わせ処置に感作される。これら2つの適応症における組み合わせは、化合物1と組み合わせて投与された場合に、GI50に達するために必要とされるエトポシドの12.8倍低い濃度をもたらす。

10

【0172】

相乗作用スコアは、ONCOLEADにより、個々の測定値に対する単剤療法効果の線型結合に対する平均過剰量として提供された。

【0173】

化合物1の組み合わせ処置についての相乗作用スコア分布は、個々の細胞株データ点の散布図として図16に示される。線型結合効果の上下10%以内の相乗作用レベルは、「線型に近い」効果としてみることができる。

【0174】

図16に示されるように、結腸の20個中15個、胸膜の4個中2個（図示せず）、および肺細胞株の97個中の58個が、エトポシドと化合物1との間の相乗効果を示す。もう一方の細胞株は、線型のまたはそれら二つの化合物の線型結合効果に近いものを示す。

20

【0175】

例7

化合物1は、複数のがん細胞株におけるエトポシドの活性のシフトを決定するために評価された。化合物1は、DMSO溶液中で以下の濃度で用いられた：150 nM、300 nM、および1 μ M。エトポシドは、DMSO溶液中で以下の濃度で用いられた：10 μ M、2.5 μ M、630 nM、156 nM、39 nM、9.8 nM、および2.4 nM。

【0176】

細胞株は、ATCC、NCI、CLSおよびDSMZ細胞株コレクションから直接購入された。マスターバンクおよび作業用アリコートが調製された。200+細胞株パネルを用いたインビトロにおける強化試験における試験に用いられた細胞は、20未満の継代を経てきた。潜在的な汚染または誤った割り当てがないことを確実にするために、すべての細胞株は、STR分析によってテストされた。マイコプラズマおよびSMRV汚染がないことが、試験で用いられたすべての細胞株について確認された。

30

【0177】

細胞株を、10% FCSを補充した100 U/mlのペニシリンGおよび100 μ g/mlのストレプトマイシンの存在下で、提供元によって推奨される培地中で増殖させた。RPMI 1640、およびDMEMに、2 mMのL-グルタミンおよび1 mMのピルビン酸Naを補充した。

40

【0178】

MEM Earleの培地はさらに1%のNEAAを有した。いくつかの細胞株は、2.5%ウマ血清、ヒドロコルチゾン、トランスフェリン、ベータ-エストラジオール、亜セレン酸および1単位/mlのインスリンなどの追加的な補充剤を必要とした。

【0179】

以下の細胞株を培養するためにRPMI培地が用いられた：5637、22RV1、786O、A2780、A431、A549、ACHN、ASPC1、BT20、BXPC3、CAKI1、CLS439、COLO205、COLO678、DLD1、DU145、EFO21、EJ28、HCT15、HS578T、IGROV1、JAR、LOVO、MCF7、MDAMB231、MDAMB435、MDAMB436、MDAMB468、MHES1、MT3、NCIH292、NCIH358M、NCIH460、NCIH82、OVCAR3、OVCAR4、PANC

50

1005 (インスリン添加)、PBMC、PC3、RDES、SF268、SF295、SKBR3、SKMEL28、SKMEL5、SKOV3、SW620、U2OS、UMUC3、UO31、GRANTA-519、SU-DHL-6、SU-DHL-10、RAMOS、MINO、HL-60、K-562、THP-1、L-363、WSU-NHL、およびMV4-11。以下の肺がんおよび大腸がん細胞株が、RPMIで培養された。

【0180】

NCI-H23 NCI-H1838 NCI-H2347 LS411N H-2171 NCI-H2122 NCI-H1915 NCI-H1299 COR-L88 COLO-677 DV-90 NCI-H69 MS-1 NCI-H211 NCI-H524 SCLC-21h COR-L311 T3M-12 NCI-H146 NCI-H2030 NCI-H1792 HCC-44 H69V NCIH292 COLO678 NCI-H508 SNU-C1

【0181】

A204、A375、A673、C33A、CASKI、HCT116、HEPG2、HS729、HT29、J82、MG63、MIAPACA2 (ウマ血清添加)、PANC1、PLCPRF5、RD、SAOS2、SKLMS1、SKNAS、SNB75、T24、およびTE671を培養するために、DMEM培地が用いられた。

【0182】

MEM Earleの培地は、CACO2、CALU6、HEK293、HELA、HT1080、IMR90、JEG3、JIMT1、SKHEP1、SKNSH、およびU87MGのために用いられた。

【0183】

DMEM/F12培地は、NCI-H2066、NCI-H2029、NCI-H2444、H-MESO-1、NCI-H2085、LC-2/ad、DMS114、NCI-H2126、SW948、T84、NCI-H2405、SW1463、SW1116、A110L、T3M-11、JU77、NCI-H596、NCI-H1048、NCI-H226、NCI-H2073、HLF-a、NCI-H2342、NCI-H1734、NCI-H2196、DMS454、NCI-H1882、NCI-H1876、HCC2935、NCI-H2286、NCI-H2110、NCI-H2291、IA-LM、NCI-H1755、NCI-H522、SW1417、SW837、SW48、NCI-H520、COLO-699、BEN、NCI-H1573、NCI-H1975、NCI-H2170、HCC-827、LO68、NCI-H841、SHP-77、SW900、LXF-289、NCI-H661、NCI-H1581、HCC-15、SK-MES-1、NCI-H647、LUDLU-1、HLC-1、EBC-1、LU65、CALU-1、PC-9、A-427、LK-2、MSTO-211H、Lu99B、NCI-H2141、NCI-H1105、NCI-H774、NCI-H1694、NCI-H2081、NCI-H1869、Calu-3、EPLC-272H、HCC-366、DMS 53、NCI-H1651、NCI-H2172、NCI-H1563、NCI-H1568、NCI-H446、A529L、NCI-H196、DMS153、およびNGPのために用いられた。

【0184】

細胞は、NB-203-XXLインキュベーター (N-Biotec、韓国) において、5% CO₂雰囲気中で増殖された。

【0185】

細胞増殖および処置は、96ウェルマイクロタイタープレートCELLSTAR (登録商標) (Greiner Bio - One、ドイツ) 中で行われた。トリプシン処理によってまたは分割 (細胞が懸濁状態で増殖している場合) によって、対数期培養物から収穫された細胞が、最適な播種密度で90 μ lの培地に蒔かれた。各細胞株についての最適播種密度は、実験期間中に対数増殖を確実にするために決定された。抗がん剤なしで増殖する全ての細胞は、目視検査によって決定されるように、処置の終了時までにはサブコンフルエントであった。

【0186】

DMSOにおける化合物希釈は、96ウェル0.5 ml MTPプレート (Greiner Bio - One、ドイツ) 中で実施された。化合物は、次いでRPMI培地で1:100に希釈された。

【0187】

90 μ lの細胞は、48時間の増殖前期間の後、10 μ lの化合物含有培地と混合することにより処置された (最終DMSO濃度が0.1%となる)。細胞は、37 °Cで72 (または120) 時間増殖させられた。

【0188】

さらに、全ての実験は、48時間の回復期間の直後に分析された細胞を伴う数枚のプレートを含む。これらのプレートは、ゼロ時 (3.5.1参照)、すなわち処理前の細胞数T_z

10

20

30

40

50

についての情報を含有し、細胞毒性を計算するのに役立った。

【0189】

組み合わせの場合、両方の剤は、DMSOの最終濃度が0.2%となるように、等容量でDM SOにおいて一緒に混合された。

【0190】

測定は、トータルプロテインステインプロトコルを用いて実施された [Vichaiおよび Kirtikara, 2006]。細胞は、10% TCA (接着性増殖細胞用) または50% TCA (半接着性増殖細胞または懸濁液中で増殖する細胞用) の添加により表面に固定された。4 で1時間インキュベートした後、プレートは200 μ lの脱イオン水で2回洗浄され、乾燥された。次に細胞は100 μ lの0.04% w/v SRBで染色された。プレートは室温で少なくとも30分間インキュベートされ、1%酢酸で6回洗浄され、未結合の汚れを除去した。プレートは室温で乾燥させられ、結合したSRBは100 μ lの10mM Tris塩基で可溶化された。Deelux - LED96プレートリーダー (Deelux Labortechnik GmbH、ドイツ) を用いて492、520、および560nmで光学密度が測定された。

10

【0191】

非線形曲線当てはめ計算は、社内で開発されたアルゴリズムおよび視覚化ツールを用いて実施された。アルゴリズムはこれまで記載されたもの [DeLean et al., 1978] と類似しており、平均二乗誤差またはMSEモデルで補完された。

【0192】

これは、商業的用途、例えば、XLfit (ID Business Solutions Ltd., Guildford、英国) アルゴリズム「205」と比較され得る。計算は、最良の近似直線である、50%効果に対する95%信頼区間を伴う用量反応曲線が含まれた (下記参照)。

20

【0193】

抗がん剤の効果を表すための一般的な一方法は、テスト剤の存在下での細胞生存率および生存力を% T/C x 100として測定することである。生存率と用量との間の関係は、用量反応曲線と呼ばれる。2つの主要な値が、曲線を示す必要なしにこの関係を説明するのに用いられる：50%の%T/C値、または50%の増殖阻害 (IC50)、および10%の%T/C値、または90%の増殖阻害 (IC90) を与えるテスト剤の濃度。

【0194】

これらの測定値を用いて、化合物活性による細胞増殖の不完全阻害 (GI)、細胞増殖の完全阻害 (TGI) および細胞の正味損失 (LC) について、細胞応答が計算され得る。50%の増殖阻害 (GI50) は、 $100 \times [(Ti - Tz)/(C - Tz)] = 50$ として計算される。これは、薬物インキュベーション期間の間に対照細胞における正味タンパク質増加と比較して50%減少を引き起こす薬物濃度である。換言すると、GI50は、ゼロ時に対して補正されたIC50である。IC90と同様、計算されたGI90値は、テストされた全ての化合物についてもまた報告されている。TGIはTi = Tzから計算された。LC50は、開始時と比較して、薬物インキュベーション期間の終了時に測定されたタンパク質の50%の減少を引き起こす薬物の濃度である。それは、 $100 \times [(Ti - Tz)/Tz] = -50$ として計算された。

30

【0195】

エトポシドおよび化合物1の活性は、影響する細胞増殖を超えた活性を検出するために用いられた、17個の腫瘍組織型を代表する81個のがん細胞株、プラス静止非増殖PBMC (計82個の細胞株) のパネルにおいて、以前に調査された。

40

【0196】

エトポシドは、JEG3細胞株における30 nMから10 μ M超の範囲の、1000倍を超える広い活性を示した、例：JIMT1およびCOLO678。3個の細胞株については、GI50値は10 μ Mを超えてしか推定することできず、14個の細胞株については、10 μ Mを超える活性は記録することができなかった (静止PBMCを含む)。

【0197】

化合物1は、狭いが20倍を超える、一組の細胞株における500 nMから10 μ M超の活性範囲を示した。いくつかの細胞株では、GI50値は10 μ Mを超えてしか推定できなかった

50

。静止PBMCにおける活性は検出できなかった。

【 0 1 9 8 】

化合物 1 とエトポシドとの組み合わせの全体的な効果は、GI50 値を単独でと組み合わせとを比較することによって評価された。化合物 1 の添加は、組み合わせたエトポシドの活性範囲および効力の両方を有意に増加させた。表 3 は、単独のおよび化合物 1 と組み合わせたエトポシド活性を要約する。*または**は最低または最高のテストされた濃度をマークする。エトポシド-化合物 1 - 150 nM およびエトポシド-化合物 1 - 1 μ M は、93 個の細胞株のパネルでテストされた。エトポシド-化合物 1-300 nM は、肺がんおよび大腸がん細胞株が濃縮された 127 個の細胞株のパネルにおいて、120 時間の処置でテストされた。[] 括弧内に、120 時間処置の結果が示される。 μ M と μ M の両方はマイクロモルを表す。

10

【 0 1 9 9 】

表 3

【表 6】

剤	μ M での平均 GI50	μ M での中央 値 GI50	最も敏感な 細胞株(GI50)	最も耐性のある 細胞株(GI50)
エトポシド	1.7 [0.7]	0.9[0.4]	MV4-11 (38 nM) [COLO-677 15 nM]	6 [5]細胞株 >10 μ M**
エトポシド- 化合物 1 -150nM	0.8	0.3	MV4-11 (5nM)	1 細胞株 >10 μ M**
エトポシド- 化合物 1 -300nM	0.17	0.04	[5 細胞株< 2nM*]	SNU-C1、4.5 μ M
エトポシド- 化合物 1 -1 μ M	0.16	0.03	25 細胞株(< 2nM*)	1 細胞株 >10 μ M**

20

【 0 2 0 0 】

表 4 は、GI50 として計算されたエトポシドおよび化合物 1 の強化を提供する（93 個の細胞株パネル）。

30

40

50

【表 7】

起源	細胞株	μM (±化合物 1)			組み合わせ	効果	
		エトボシド	+150 nM	+ 1μM		+150 nM	+ 1μM
乳房	MCF7	1.287	0.209	<0.002	-0.18	0.20	0.74
乳房	MDAMB468	1.169	0.467	0.027	-0.38	0.09	0.35
前立腺	22RV1	0.234	0.063	0.002	-0.23	0.12	0.39
膀胱	5637	0.685	0.183	0.019	-0.83	0.06	0.21
腎臓	786O	0.928	0.295	0.044	-0.38	0.05	0.27
筋肉	A204	0.286	0.019	<0.002	-0.11	0.28	0.63
卵巣	A2780	0.062	0.023	0.001	-0.33	0.09	0.45
皮膚	A375	0.378	0.083	0.012	-0.24	0.23	0.28

【 0 2 0 1 】

10

20

30

40

50

【表 8】

起源	細胞株	μM (±化合物 1)			組み合わせ	効果	
		エトポシド	+150 nM	+ 1μM		+150 nM	+ 1μM
乳房	MCF7	1.287	0.209	<0.002	-0.18	0.20	0.74
乳房	MDAMB468	1.169	0.467	0.027	-0.38	0.09	0.35
皮膚	A431	1.522	0.355	0.011	-0.36	0.11	0.40
肺	A549	0.390	0.067	0.003	-0.49	0.11	0.42
筋肉	A673	1.075	0.308	0.039	-0.75	-0.01	0.15
腎臓	ACHN	0.714	0.202	<0.002	-0.25	0.20	0.50
膵臓	ASPC1	>10	8.757	0.797	-0.09	0.10	0.33
乳房	BT20	0.073	0.052	0.017	-0.09	0.11	0.27
膵臓	BXPC3	7.144	3.797	0.363	-0.09	0.11	0.33
子宮頸部	C33A	0.393	0.126	0.022	-0.44	0.05	0.25
結腸	CACO2	3.648	2.550	0.733	-0.12	0.04	0.22
腎臓	CAKI1	0.520	0.046	0.001	-0.29	0.27	0.54
肺	CALU6	3.651	1.782	0.815	-0.38	0.00	0.12
頸部	CASKI	1.454	0.571	0.016	-0.22	0.11	0.50
膀胱	CLS439	0.965	0.403	0.007	-0.09	0.15	0.36
結腸	COLO205	1.046	0.406	0.077	-0.74	-0.04	0.13
結腸	COLO678	10.815	6.035	1.387	-0.14	0.06	0.17
結腸	DLD1	1.350	0.595	0.061	-0.36	0.04	0.23

【 0 2 0 2 】

10

20

30

40

50

【表 9】

起源	細胞株	μM (±化合物 1)			組み合わせ	効果	
		エトポシド	+150 nM	+ 1μM		+150 nM	+ 1μM
乳房	MCF7	1.287	0.209	<0.002	-0.18	0.20	0.74
乳房	MDAMB468	1.169	0.467	0.027	-0.38	0.09	0.35
前立腺	DU145	0.701	0.235	0.022	-0.33	0.07	0.31
卵巣	EFO21	8.221	4.468	<0.002	0.01	0.25	0.58
膀胱	EJ28	0.440	0.061	0.011	-1.21	0.02	0.14
血液学	GRANTA-519	0.247	0.098	0.008	-0.29	0.05	0.41
結腸	HCT116	0.770	0.328	0.048	-0.44	0.00	0.27
結腸	HCT15	1.466	0.703	0.066	-0.37	0.04	0.22
腎臓	HEK293	0.190	0.073	0.006	-0.36	0.03	0.41
子宮頸部	HELA	2.363	0.875	0.251	-0.35	0.04	0.19
肝臓	HEPG2	0.806	0.202	0.016	-0.58	-0.02	0.23
血液学	HL-60	0.120	0.056	0.005	-0.29	0.07	0.35
乳房	HS578T	0.874	0.106	0.001	-0.37	0.10	0.42
筋肉	HS729	0.730	0.521	0.095	-0.26	0.07	0.21
結合組織	HT1080	0.096	0.019	0.004	-1.12	-0.03	0.10
結腸	HT29	2.223	1.698	0.315	-0.18	0.02	0.30
卵巣	IGROV1	1.056	0.322	<0.002	-0.11	0.11	0.73
肺	IMR90	0.704	0.032	<0.002	-0.02	0.36	0.66

【 0 2 0 3 】

10

20

30

40

50

【表 1 0】

起源	細胞株	μM (±化合物 1)			組み合わせ	効果	
		エトポシド	+150 nM	+ 1μM		+150 nM	+ 1μM
乳房	MCF7	1.287	0.209	<0.002	-0.18	0.20	0.74
乳房	MDAMB468	1.169	0.467	0.027	-0.38	0.09	0.35
膀胱	J82	7.930	3.541	1.322	-0.34	-0.01	0.19
胎盤	JAR	0.116	0.017	0.001	-0.83	0.09	0.28
胎盤	JEG3	0.041	0.014	0.003	-0.61	0.08	0.20
乳房	JIMT1	17.654	1.380	0.047	-0.23	0.10	0.33
血液学	K-562	0.277	0.067	0.008	-0.75	0.05	0.20
血液学	KASUMI-1	0.494	0.170	<0.002	-0.16	0.12	0.64
血液学	L-363	0.327	0.121	0.004	-0.26	0.02	0.52
結腸	LOVO	0.606	0.105	0.001	-0.16	0.25	0.53
乳房	MDAMB231	1.941	0.480	0.135	-0.66	0.05	0.13
皮膚	MDAMB435	1.143	0.529	0.070	-0.35	0.05	0.28
乳房	MDAMB436	0.378	0.101	0.007	-0.16	0.12	0.38
骨	MG63	1.020	0.944	0.199	-0.29	-0.02	0.11
骨	MHHES1	0.227	0.053	0.006	-0.77	0.05	0.24
膵臓	MIAPACA2	0.689	0.178	0.045	-0.92	0.03	0.16
血液学	MINO	0.236	0.081	<0.002	-0.30	0.06	0.49
乳房	MT3	0.609	0.179	0.009	-0.41	0.00	0.36

【 0 2 0 4】

10

20

30

40

50

【表 1 1】

起源	細胞株	μM (±化合物 1)			組み合わせ	効果	
		エトポシド	+150 nM	+ 1μM		+150 nM	+ 1μM
乳房	MCF7	1.287	0.209	<0.002	平均	0.20	0.74
乳房	MDAMB468	1.169	0.467	0.027	-0.38	0.09	0.35
血液学	MV4-11	0.038	0.005	<0.002	-0.15	0.30	0.67
肺	NCIH292	1.650	0.131	<0.002	-0.28	0.15	0.70
肺	NCIH358M	3.331	1.168	0.001	-0.15	0.13	0.39
肺	NCIH460	0.167	0.059	0.004	-0.47	0.05	0.37
肺	NCIH82	1.150	0.503	0.075	-0.32	0.06	0.29
卵巣	OVCAR3	2.542	0.620	<0.002	-0.12	0.17	0.55
卵巣	OVCAR4	>10	>10	>10	-0.08	0.13	0.26
膵臓	PANC1	1.925	0.533	0.065	-0.23	0.12	0.15
膵臓	PANC1005	2.733	0.998	0.123	-0.22	0.08	0.24
血液学	PBMC	>10	>10	>10	-0.35	0.01	0.07
前立腺	PC3	5.235	2.163	<0.002	-0.04	0.21	0.53
肝臓	PLCPRF5	6.252	3.184	1.884	-0.22	0.01	0.16
血液学	RAMOS	0.204	0.031	<0.002	-0.24	0.20	0.63
筋肉	RD	>10	4.262	0.932	-0.29	0.01	0.15
骨	RDES	0.412	0.152	0.012	-0.52	0.06	0.34
骨	SAOS2	1.456	0.789	0.004	-0.21	0.09	0.48

【 0 2 0 5 】

10

20

30

40

50

【表 1 2】

起源	細胞株	μM (±化合物 1)			組み合わせ	効果	
		エトポシド	+150 nM	+ 1μM		+150 nM	+ 1μM
乳房	MCF7	1.287	0.209	<0.002	-0.18	0.20	0.74
乳房	MDAMB468	1.169	0.467	0.027	-0.38	0.09	0.35
脳	SF268	1.967	1.044	0.189	-0.46	0.05	0.17
脳	SF295	1.161	0.341	0.038	-0.57	0.11	0.22
乳房	SKBR3	0.432	0.224	0.055	-0.22	0.08	0.33
肝臓	SKHEP1	0.083	0.021	0.005	-0.61	0.08	0.07
子宮	SKLMS1	1.636	0.598	<0.002	-0.23	0.05	0.29
皮膚	SKMEL28	1.887	0.828	0.120	-0.19	0.15	0.30
皮膚	SKMEL5	0.558	0.123	0.009	-0.85	0.03	0.25
脳	SKNAS	2.146	0.914	0.193	-0.49	0.06	0.11
脳	SKNSH	0.265	0.099	<0.002	-0.38	0.13	0.53
卵巣	SKOV3	2.986	1.800	0.286	-0.06	0.11	0.40
脳	SNB75	3.794	2.103	0.012	-0.27	0.08	0.45
血液学	SU-DHL-6	0.665	0.089	<0.002	-0.03	0.36	0.94
結腸	SW620	0.302	0.097	0.018	-0.60	0.03	0.17
膀胱	T24	2.527	1.780	0.630	-0.31	0.04	0.04
筋肉	TE671	1.146	0.373	0.038	-0.32	0.08	0.23
血液学	THP-1	0.110	0.035	<0.002	-0.10	0.16	0.49

【 0 2 0 6 】

10

20

30

40

50

【表 1 3】

起源	細胞株	μM (\pm 化合物 1)			組み合わせ	効果	
		エトポシド	+150 nM	+1 μM		+150 nM	+1 μM
乳房	MCF7	1.287	0.209	<0.002	-0.18	0.20	0.74
乳房	MDAMB468	1.169	0.467	0.027	-0.38	0.09	0.35
骨	152OS	1.078	0.314	0.038	-0.34	0.05	0.21
脳	1587MG	2.400	0.469	0.007	-0.12	0.15	0.43
膀胱	15M15C3	0.604	0.153	0.038	-0.66	0.06	0.18
腎臓	15O31	7.911	1.174	0.050	-0.29	0.17	0.42
血液学	WS15-NHL	0.149	0.036	<0.002	-0.11	0.28	0.93

10

【 0 2 0 7 】

表 5 G150として計算されたエトポシドおよび化合物 1 の強化 (127個の細胞株パネル)

【表 1 4】

20

起源	細胞株	μM (\pm 化合物 1)		組み合わせ	効果
		エトポシド	+300 nM		
肺	L15DL15-1	1.09	0.08	-0.56	0.19
肺	MS-1	0.25	0.06	-0.20	0.08
肺	A-427	0.10	0.01	-0.47	0.29
肺	A110L	0.17	0.01	-0.99	0.12

30

【 0 2 0 8 】

40

50

【表 1 5】

起源	細胞株	μM (\pm 化合物 1)		組み合わせ	効果
		エトポシド	+300 nM	平均	+300 nM
肺	LUDLU-1	1.09	0.08	-0.56	0.19
肺	MS-1	0.25	0.06	-0.20	0.08
肺	A529L	0.47	0.09	-0.25	0.06
肺	A549	0.17	0.01	-0.47	0.30
肺	BEN	1.39	0.24	-0.11	0.23
結腸	CACO2	0.87	0.13	-0.23	0.09
肺	CALU-1	0.29	1.08	-0.31	-0.12
肺	CALU6	0.25	0.03	-0.86	0.08
肺	COLO-677	0.02	0.00	-0.52	0.13
肺	COLO-699	1.14	0.15	-0.13	0.28
結腸	COLO205	0.35	0.05	-0.64	0.04
結腸	COLO678	0.62	0.08	-0.16	0.14
肺	COR-L311	0.31	0.06	-0.30	0.10
肺	COR-L88	1.03	0.37	-0.22	0.03
肺	Calu-3	0.03	0.00	-0.60	0.06
結腸	DLD1	0.45	0.09	-0.34	0.09
肺	DMS 114	0.32	0.04	-0.39	0.13
肺	DMS 153	0.17	0.09	-0.11	0.01

【 0 2 0 9 】

10

20

30

40

50

【表 1 6】

起源	細胞株	μM (±化合物 1)		組み合わせ	効果
		エトポシド	+300 nM		
肺	LUDLU-1	1.09	0.08	-0.56	0.19
肺	MS-1	0.25	0.06	-0.20	0.08
肺	DMS 454	2.46	0.49	-0.17	0.15
肺	DMS 53	0.71	0.02	-0.13	0.34
肺	DV-90	0.22	0.03	-0.30	0.14
肺	EBC-1	1.17	0.10	-0.47	0.19
肺	EPLC-272H	0.26	0.01	-0.44	0.27
肺	H-2171	0.29	0.05	-0.25	0.11
肺	H-MESO-1	0.73	0.05	-0.40	0.19
肺	H69V	0.68	0.08	-0.58	0.09
肺	HCC-15	0.21	0.01	-0.49	0.21
肺	HCC-366	3.02	1.02	-0.09	0.12
肺	HCC-44	0.28	0.03	-0.35	0.18
肺	HCC-827	0.32	0.03	-0.35	0.17
肺	HCC2935	1.60	0.33	-0.07	0.19
結腸	HCT116	0.75	0.16	-0.43	0.04
結腸	HCT15	0.57	0.10	-0.41	0.08
肺	HLC-1	0.85	0.02	-0.13	0.43

【 0 2 1 0 】

10

20

30

40

50

【表 17】

起源	細胞株	μM (\pm 化合物 1)		組み合わせ	効果
		エトポシド	+300 nM	平均	+300 nM
肺	LUDLU-1	1.09	0.08	-0.56	0.19
肺	MS-1	0.25	0.06	-0.20	0.08
肺	HLF-a	>10	1.28	0.02	0.45
結腸	HT29	1.08	0.13	-0.70	0.09
肺	IA-LM	0.93	0.01	0.11	0.44
肺	IMR90	0.40	0.00	-0.05	0.53
肺	JU77	2.39	0.23	-0.07	0.28
肺	LC-2/ad	0.23	0.01	-0.33	0.27
肺	LK-2	0.22	0.02	-0.61	0.25
肺	LO68	1.09	0.11	-0.12	0.24
結腸	LOVO	0.36	0.04	-0.09	0.33
結腸	LS123	0.76	0.06	-0.14	0.22
結腸	LS411N	0.23	0.03	-0.62	0.09
肺	LU65	0.22	0.01	-0.94	0.06
肺	LXF-289	0.61	0.03	-1.07	0.15
肺	Lu99B	0.13	0.01	-0.71	0.23
膵臓	MIAPACA2	0.31	0.04	-0.75	0.11
肺	MSTO-211H	0.09	0.01	-0.36	0.30

【0211】

10

20

30

40

50

【表 18】

起源	細胞株	μM (\pm 化合物 1)		組み合わせ	効果
		エトポシド	+300 nM	平均	+300 nM
肺	LUDLU-1	1.09	0.08	-0.56	0.19
肺	MS-1	0.25	0.06	-0.20	0.08
肺	NCI-H1048	0.09	0.00	-0.07	0.49
肺	NCI-H1105	0.19	0.07	-0.09	0.10
肺	NCI-H1299	0.57	0.04	-0.97	0.10
肺	NCI-H146	0.08	0.02	-0.21	0.01
肺	NCI-H1563	4.46	0.00	-0.06	0.56
肺	NCI-H1568	0.08	0.00	-0.31	0.35
肺	NCI-H1573	1.13	0.47	0.07	0.16
肺	NCI-H1581	0.25	0.01	-0.31	0.28
肺	NCI-H1651	0.14	0.03	-0.04	0.23
肺	NCI-H1694	0.21	0.04	-0.42	0.04
肺	NCI-H1734	0.04	0.00	-0.29	0.35
肺	NCI-H1755	0.98	0.05	-0.17	0.38
肺	NCI-H1792	0.88	0.16	-0.54	0.06
肺	NCI-H1838	0.19	0.04	0.03	0.29
肺	NCI-H1869	0.49	0.01	-0.16	0.28
肺	NCI-H1876	0.03	0.00	-0.05	0.35

【0212】

10

20

30

40

50

【表 19】

起源	細胞株	μM (±化合物 1)		組み合わせ	効果
		エトポシド	+300 nM	平均	+300 nM
肺	LUDLU-1	1.09	0.08	-0.56	0.19
肺	MS-1	0.25	0.06	-0.20	0.08
肺	NCI-H1882	0.06	0.02	-0.03	0.23
肺	NCI-H1915	1.19	0.14	-0.62	0.07
肺	NCI-H196	1.55	0.04	0.14	0.47
肺	NCI-H1975	0.27	0.03	-0.49	0.13
肺	NCI-H2030	0.45	0.02	-0.29	0.34
肺	NCI-H2073	2.10	0.54	-0.10	0.24
肺	NCI-H2081	0.09	0.01	-0.24	0.13
肺	NCI-H2085	3.15	0.01	-0.28	0.41
肺	NCI-H211	0.14	0.04	-0.19	0.14
肺	NCI-H2110	0.21	0.02	-0.68	0.07
肺	NCI-H2122	0.33	0.04	-0.59	0.05
肺	NCI-H2126	0.27	0.02	-0.66	0.21
肺	NCI-H2141	0.51	0.13	-0.16	0.13
肺	NCI-H2170	1.17	0.13	-0.58	0.17
肺	NCI-H2172	7.92	1.82	-0.09	0.13
肺	NCI-H2196	0.80	0.09	-0.13	0.29

【0213】

10

20

30

40

50

【表 2 0】

起源	細胞株	μM (±化合物 1)		組み合わせ	効果
		エトポシド	+300 nM	平均	+300 nM
肺	LUDLU-1	1.09	0.08	-0.56	0.19
肺	MS-1	0.25	0.06	-0.20	0.08
肺	NCI-H226	0.19	0.01	-0.19	0.23
肺	NCI-H2286	0.22	0.04	-0.65	0.03
肺	NCI-H2291	0.13	0.06	0.13	0.34
肺	NCI-H23	0.16	0.02	-0.33	0.15
肺	NCI-H2342	0.52	0.19	-0.10	0.03
肺	NCI-H2347	0.40	0.03	-0.12	0.27
肺	NCI-H2405	2.03	0.47	-0.07	0.21
肺	NCI-H446	0.20	0.01	-0.10	0.33
結腸	NCI-H508	0.98	0.16	-0.20	0.26
肺	NCI-H520	1.56	0.11	-0.08	0.35
肺	NCI-H522	0.67	0.15	-0.06	0.20
肺	NCI-H524	0.29	0.03	-0.62	0.13
肺	NCI-H596	0.82	0.12	0.05	0.28
肺	NCI-H647	0.07	0.01	-0.27	0.32
肺	NCI-H661	0.23	0.04	-0.03	0.37
肺	NCI-H69	0.53	0.03	-0.76	0.11

【 0 2 1 4 】

10

20

30

40

50

【表 2 1】

起源	細胞株	μM (±化合物 1)		組み合わせ	効果
		エトポシド*	+300 nM		
肺	LUDLU-1	1.09	0.08	-0.56	0.19
肺	MS-1	0.25	0.06	-0.20	0.08
肺	NCI-H774	1.43	0.34	-0.19	0.26
肺	NCI-H841	0.23	0.04	-0.20	0.20
肺	NCIH292	0.40	0.02	-0.18	0.28
肺	NCIH358M	0.30	0.01	-0.24	0.26
肺	NCIH460	0.05	0.01	-0.19	0.33
肺	NCIH82	0.35	0.03	-0.23	0.28
肺	NGP	0.11	0.01	-0.68	0.04
肺	PC-9	1.41	0.13	-0.94	0.04
結腸	RKO	0.68	0.11	-0.45	0.05
肺	SCLC-21h	0.80	0.18	-0.25	0.09
肺	SHP-77	2.55	0.43	-0.17	0.13
結腸	SK-CO-1	0.31	0.05	-0.26	0.26
肺	SK-MES-1	0.59	0.02	-0.60	0.25
結腸	SNU-C1	>10	4.50	-0.17	0.01
肺	SW 900	0.42	0.04	-0.16	0.23
結腸	SW1116	0.89	0.26	-0.10	0.12

【 0 2 1 5 】

10

20

30

40

50

【表 2 2】

起源	細胞株	μM (\pm 化合物 1)		組み合わせ	効果
		エトポシド	+300 nM	平均	+300 nM
肺	LUDLU-1	1.09	0.08	-0.56	0.19
肺	MS-1	0.25	0.06	-0.20	0.08
結腸	SW1417	2.16	0.24	-0.14	0.26
結腸	SW48	0.04	<0.002	-1.02	0.15
結腸	SW620	0.12	0.01	-0.61	0.21
結腸	SW837	0.79	0.10	-0.55	0.05
結腸	SW948	2.35	0.20	-0.81	0.08
肺	T3M-11	0.16	0.01	-0.27	0.32
肺	T3M-12	0.40	0.17	-0.17	0.02
結腸	T84	3.04	1.10	-0.23	-0.03

【0 2 1 6】

実施例 8

第Ib相：対象は、指定された投与量レベルで化合物 1 を投与されるであろう。各サイクルの1日目に、化合物 1 を経口摂取した後、シスプラチンが最初に、続いてエトポシドが投与されるであろう。全ての場合において、化合物 1 は化学療法のおよそ1.5時間前に投与されるべきである。各サイクルの2日目および3日目に、化合物 1 が、好ましくは午前中に経口摂取QDされるべきである。化合物 1 の投与量は、このプロトコールに記載されている用量漸増規則に従って変更されるであろう。

【0 2 1 7】

シスプラチンおよびエトポシドは、現地の指針に従って投与されるであろう。最も一般的には、シスプラチンは、1日目に60分間の静脈内注入で75 mg/m²で投与され、続いてエトポシドが60分間の静脈内注入で100 mg/m²で投与される。各サイクルの2日目および3日目に、エトポシドは、現地の指針に従い、静脈内注入としてまたは経口的にのいずれかで与えられ得る。

【0 2 1 8】

第II相：対象は、試験の第Ib部で同定されたRP2Dで、プラセボまたは化合物 1 と組み合わせてシスプラチンおよびエトポシドを受け取るように無作為化されるであろう。各サイクルの1日目に、化合物 1 / プラセボの経口摂取後、シスプラチンが最初に、続いてエトポシドが投与されるだろう。全ての場合において、化合物 1 は化学療法のおよそ1.5時間前に投与されるべきである。各サイクルの2日目および3日目に、化合物 1 は、好ましくは午前中に経口摂取QDされるべきである。シスプラチンおよびエトポシドは、現地の指針に従って投与されるだろう。最も一般的には、シスプラチンは1日目に60分間の静脈内注入で75 mg/m²で投与され、続いてエトポシドが60分間の静脈内注入で100 mg/m²で投与される。各サイクルの2日目と3日目に、エトポシドは、現地の指針に従い、静脈内注入としてまたは経口的にのいずれかで与えられ得る。

10

20

30

40

50

【図面】

【図 1】

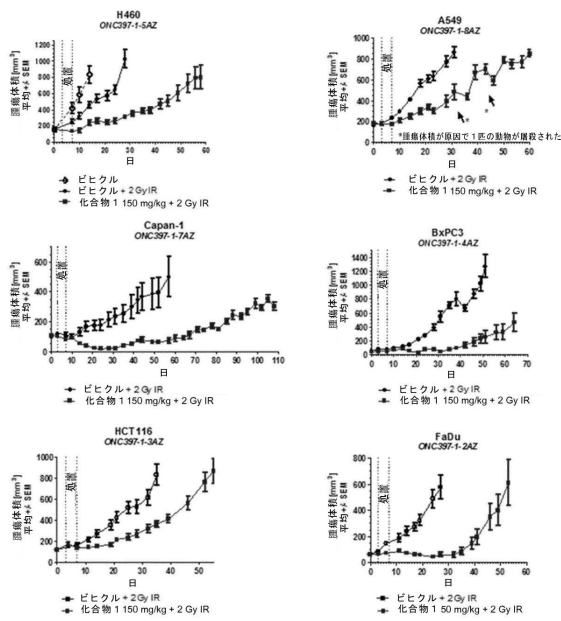


図 1

【図 3】

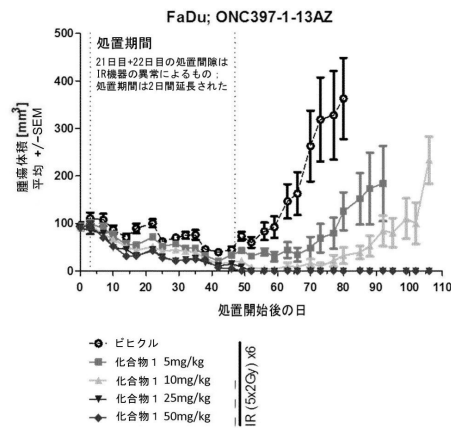


図 2

【図 4】

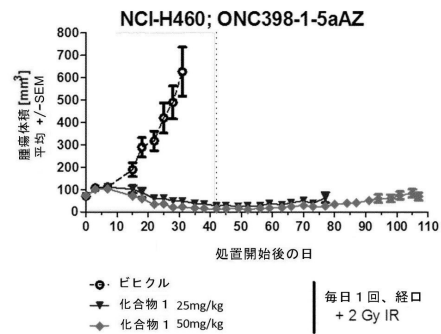


図 3

10

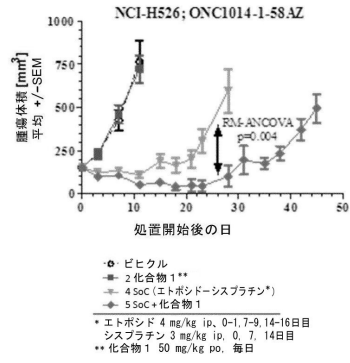
20

30

40

50

【図 5】



【図 6】

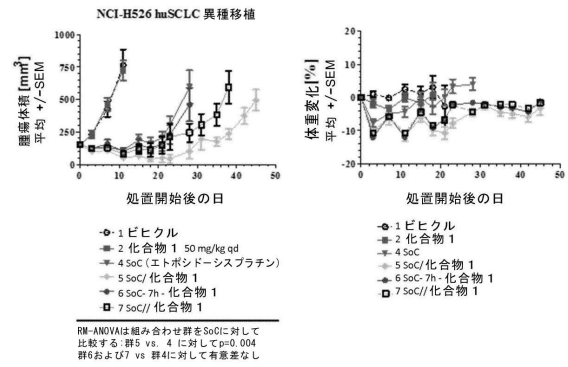


図 4 B

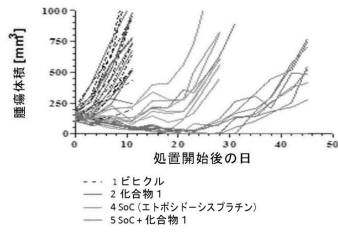


図 4 A

【図 7】

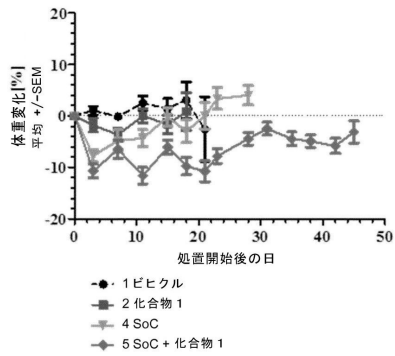


図 5

【図 8】

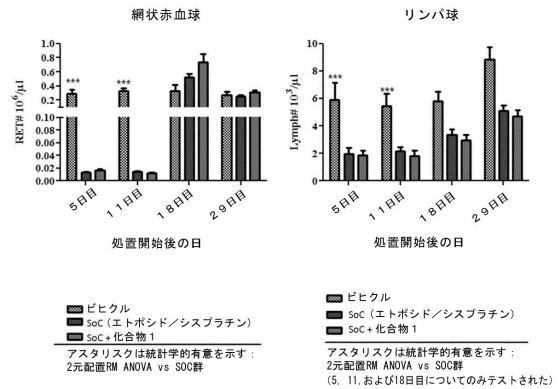


図 6

10

20

30

40

50

【 図 9 】

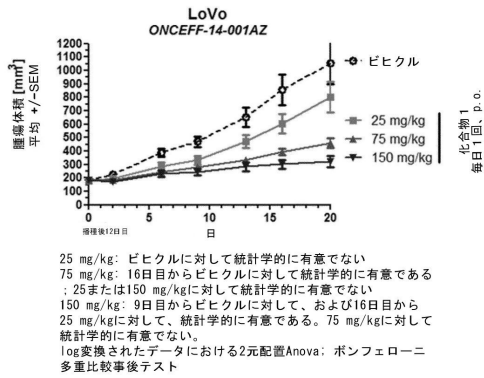


図 7

【 図 1 0 】

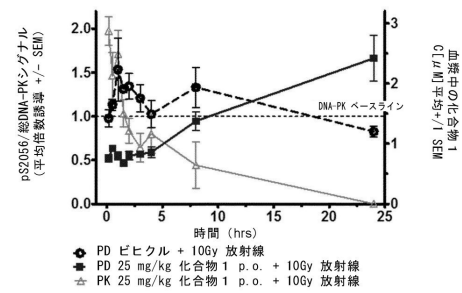


図 8

10

【 図 1 1 】

インビトロでのNCI-H460生存率アッセイにおける化合物 1のエトポシドとの組み合わせ（化合物のインキュベートは72時間）

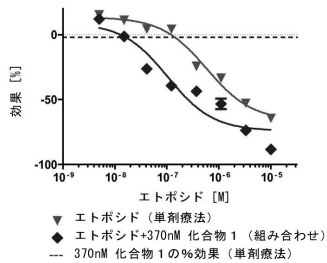


図 9

【 図 1 2 】

インビトロでのNCI-H460生存率アッセイにおける化合物 1のシスプラチンとの組み合わせ（化合物のインキュベートは72時間）

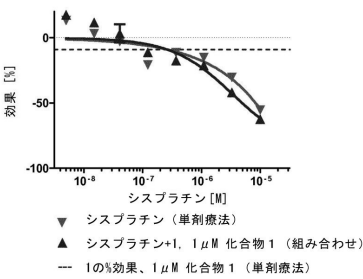


図 1 0

20

30

40

50

【 図 1 3 】

FaDu生存率アッセイにおける化合物1のエトボシドとの組み合わせ
(化合物のインキュベートは168時間)

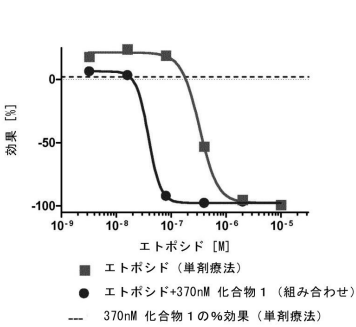


図 1 1

【 図 1 4 】

M059K (DNA-PK野生型)生存率アッセイにおける化合物1のエトボシドとの組み合わせ
(化合物のインキュベートは168時間)

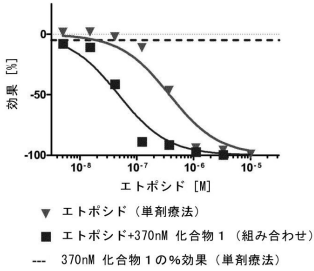


図 1 2

10

【 図 1 5 】

M059J (DNA-PK欠損)生存率アッセイにおける化合物1のエトボシドとの組み合わせ
(化合物のインキュベートは168時間)

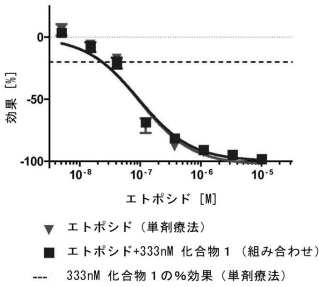


図 1 3

【 図 1 6 】

インビトロでの肺および結腸がん細胞株パネルにおけるエトボシドとの組合せの
化合物1の抗腫瘍効果

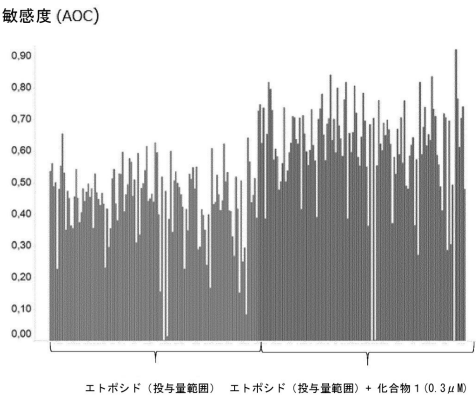


図 1 4

20

30

40

50

【 図 1 7 】

インビトロでの肺および結腸がん細胞株パネルにおけるエトボシドとの組合せの化合物 1 の抗腫瘍効果

エトボシド（投与量範囲）：2つのペアの左
エトボシド（投与量範囲）+ 化合物 1 (0.3 μM)：2つのペアの右

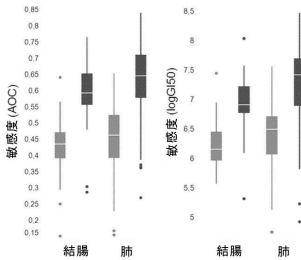


図 1 5

【 図 1 8 】

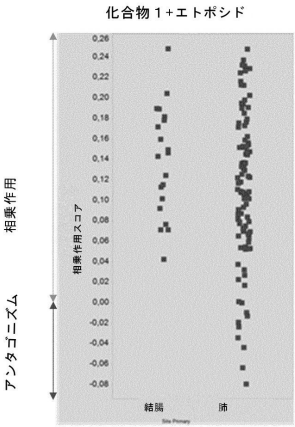
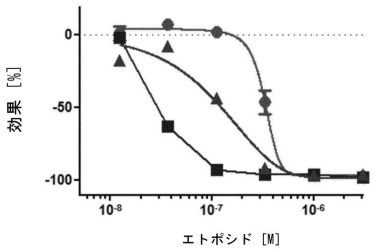


図 1 6

【 図 1 9 】

FaDu生存率アッセイにおけるエトボシド（滴定）のDNA-PK阻害剤（固定の濃度）との組み合わせ（化合物のインキュベートは168時間）



- エトボシド（単剤療法）
- ▲ エトボシド+VX984 370nM（組み合わせ）
- エトボシド+化合物 1：370nM（組み合わせ）

図 1 7

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I
A 6 1 P 43/00 1 2 1

(72)発明者 ダムシュトルップ, ラーズ

デンマーク国 3 4 0 0 ヒレズ、イエスペルヴェイ 1 0 0

(72)発明者 グロムバック, トマス

ドイツ連邦共和国 6 4 3 5 4 ラインハイム、ヴィーラントシュトラッセ 1 8

(72)発明者 シレンベルク, クリスティアン

ドイツ連邦共和国 6 4 2 8 5 ダルムシュタット、ヤーンシュトラッセ 1 2 5

(72)発明者 ヴァッシレフ, リュボミール

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 1 7 3 0、ベッドフォード、ページ ロード 1 2

(72)発明者 ジンマーマン, アストリッド

ドイツ連邦共和国 6 4 3 6 7 ミュールタル、プファッフェンガッセ 1 2

審査官 梅田 隆志

(56)参考文献 特表 2 0 1 6 - 5 2 2 1 9 0 (J P , A)

特表 2 0 1 6 - 5 3 3 3 7 0 (J P , A)

中国特許出願公開第 1 8 6 1 0 5 0 (C N , A)

特表 2 0 0 5 - 5 2 5 4 0 9 (J P , A)

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)

A 6 1 K 3 1 / 5 3 7 7

A 6 1 K 3 1 / 7 0 4 8

A 6 1 K 3 3 / 2 4 3

A 6 1 P 3 5 / 0 0

A 6 1 P 4 3 / 0 0

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T
N)