

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6855243号
(P6855243)

(45) 発行日 令和3年4月7日(2021.4.7)

(24) 登録日 令和3年3月19日(2021.3.19)

(51) Int.Cl.	F 1
A 61 K 31/5377 (2006.01)	A 61 K 31/5377
A 61 P 35/00 (2006.01)	A 61 P 35/00
A 61 P 43/00 (2006.01)	A 61 P 43/00 121
A 61 K 31/519 (2006.01)	A 61 K 31/519
A 61 K 31/65 (2006.01)	A 61 K 31/65

請求項の数 18 (全 45 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2016-548172 (P2016-548172)
(86) (22) 出願日	平成27年1月23日 (2015.1.23)
(65) 公表番号	特表2017-503842 (P2017-503842A)
(43) 公表日	平成29年2月2日 (2017.2.2)
(86) 國際出願番号	PCT/US2015/012733
(87) 國際公開番号	W02015/112888
(87) 國際公開日	平成27年7月30日 (2015.7.30)
審査請求日	平成30年1月22日 (2018.1.22)
(31) 優先権主張番号	62/077, 127
(32) 優先日	平成26年11月7日 (2014.11.7)
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)
(31) 優先権主張番号	61/931, 075
(32) 優先日	平成26年1月24日 (2014.1.24)
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)

(73) 特許権者	519060232 エイアイ・セラピューティクス・インコーポレーテッド アメリカ合衆国コネチカット州O 6 4 3 7 , ギルフォード, オールド・ウィットフィールド・ストリート 5 3 0
(74) 代理人	100118902 弁理士 山本 修
(74) 代理人	100106208 弁理士 宮前 徹
(74) 代理人	100198508 弁理士 松尾 淳一
(74) 代理人	100129458 弁理士 梶田 剛

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】癌治療のためのアピリモド (a p i l i m o d) 組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

療法的有効量のアピリモドまたはその薬学的に許容されうる塩を含む、難治性または再発性の非ホジキンB細胞リンパ腫を治療する方法における使用のための医薬組成物であって、当該非ホジキンB細胞リンパ腫が、胚中心B細胞サブタイプのびまん性大細胞型B細胞リンパ腫 (D L B C L - G C B) である、前記医薬組成物。

【請求項 2】

医薬組成物が経口剤形である、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項 3】

請求項1に記載の医薬組成物であって、前記方法が、当該アピリモド又はその薬学的に許容されうる塩との組み合わせで、少なくとも1つのさらなる活性剤を投与することをさらに含む、前記医薬組成物。

【請求項 4】

前記少なくとも1つのさらなる活性剤を、当該アピリモド又はその薬学的に許容されうる塩と同一の剤形で、または別個の剤形で投与する、請求項3に記載の医薬組成物。

【請求項 5】

前記少なくとも1つのさらなる活性剤が、アルキル化剤、挿入剤 (intercalating agent) 、チューブリン結合剤、コルチコステロイド、およびその組み合わせからなる群より選択される、請求項4に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

10

20

前記少なくとも 1 つのさらなる活性剤が、イブルチニブ、リツキシマブ、ドキソルビシン、プレドニゾロン、ビンクリスチン、ベルケード、およびエベロリムス、ならびにその組み合わせからなる群より選択される、請求項 4 に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

前記少なくとも 1 つのさらなる活性剤が、シクロホスファミド、ヒドロキシダウノルビシン（ドキソルビシンまたはアドリアマイシン^{T M}とも称される）、ビンクリスチン（オンコビン^{T M}とも称される）、プレドニゾン、プレドニゾロン、およびその組み合わせより選択される、請求項 4 に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

前記少なくとも 1 つのさらなる活性剤がリツキシマブである、請求項 6 に記載の医薬組成物。 10

【請求項 9】

前記少なくとも 1 つのさらなる活性剤がイブルチニブである、請求項 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 10】

療法的有効量が 100 ~ 300 mg / 日の量である、請求項 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 11】

療法的有効量が 250 mg / 日の量である、請求項 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 12】

療法的有効量が 200 mg / 日の量である、請求項 2 に記載の医薬組成物。 20

【請求項 13】

療法的有効量が 100 mg / 日の量である、請求項 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 14】

薬学的に許容されうる塩が、硫酸塩、クエン酸塩、酢酸塩、シュウ酸塩、塩化物、臭化物、ヨウ化物、硝酸塩、重硫酸塩、リン酸塩、酸性リン酸塩、イソニコチン酸塩、乳酸塩、サリチル酸塩、酸性クエン酸塩、酒石酸塩、オレイン酸塩、タンニン酸塩、パントテン酸塩、重酒石酸塩、アスコルビン酸塩、コハク酸塩、マレイン酸塩、ベシル酸塩、ゲンチシネート (gentisinate)、フマル酸塩、グルコン酸塩、グルカルネート (glucaronate)、サッカレート、ギ酸塩、安息香酸塩、グルタミン酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p - トルエンスルホン酸塩、およびパモ酸塩（例えば 1 , 1' - メチレン - ビス - (2 - ヒドロキシ - 3 - ナフトエート) ）から選択される、請求項 1 に記載の医薬組成物。 30

【請求項 15】

薬学的に許容されうる塩が、塩化物、メタンスルホン酸塩、フマル酸塩、乳酸塩、マレイン酸塩、パモ酸塩、リン酸塩、及び酒石酸塩から選択される、請求項 14 に記載の医薬組成物。

【請求項 16】

薬学的に許容されうる塩が、メタンスルホン酸塩である、請求項 15 に記載の医薬組成物。

【請求項 17】

薬学的に許容されうる塩が、ジメシレートである、請求項 16 に記載の医薬組成物。 40

【請求項 18】

被験体がヒトである、請求項 1 ~ 17 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

[01] 本発明は、アピリモド (apili mod) を含む組成物および該組成物を用いる方法に関する。

【背景技術】

【0002】

[02]アピリモドはまた、STA-5326とも称され、以後「アピリモド」とするが、IL-12およびIL-23の強力な転写阻害剤として認識される。例えば、Wadaら、Blood 109(2007):1156-1164を参照されたい。IL-12およびIL-23は、抗原性刺激に反応して、免疫細胞、例えばB細胞およびマクロファージによって通常産生される炎症性サイトカインである。自己免疫障害および慢性炎症によって特徴付けられる他の障害は、部分的に、これらのサイトカインの不適切な産生によって特徴付けられる。免疫細胞において、アピリモドによるIL-12/IL-23転写の選択的阻害は、アピリモドがホスファチジルイノシトール-3-リン酸5-キナーゼ(PIKfyve)に直接結合することによって仲介されることが、最近示された。例えば、Caiら Chemistry and Biol. 20(2013):912-921を参照されたい。PIKfyveは、自然免疫に重要であるToll様受容体シグナル伝達において役割を果たす。10

【0003】

[03]免疫調節剤およびIL-12/IL-23の特異的阻害剤としての活性に基づき、アピリモドは自己免疫および炎症性疾患および障害を治療する際に有用と提唱されてきている。例えば、US6,858,606および6,660,733(関節リウマチ、敗血症、クローン病、多発性硬化症、乾癬、またはインスリン依存性糖尿病などの、IL-12またはIL-23過剰産生によって特徴付けられる疾患および障害を治療するために有用とされる、アピリモドを含むピリミジン化合物ファミリーを記載する)を参照されたい。同様に、アピリモドは、c-Re1またはIL-12/23を阻害する活性に基づいて、特定の癌を治療するために、特にこれらのサイトカインが異常な細胞増殖を促進する際に役割を果たすと考えられる癌において、有用であると示唆された。例えばWO 2006/128129およびBairdら、Frontiers in Oncology 3:1(2013、それぞれ)を参照されたい。20

【0004】

[04]アピリモドの3つの臨床試験は各々、自己免疫および炎症性疾患におけるその潜在的有効性に焦点を置いていた。乾癬、関節リウマチ、およびクローン病を有する患者において試験が行われた。乾癬患者における非盲検臨床研究は、アピリモドの経口投与が免疫調節活性を示すことを結論づけ、TH1およびTH17仲介性炎症性疾患の治療にIL-12/IL-23合成の阻害が役立つことが裏付けられた。Wadaら、PLoSOne 7:e35069(2012年4月)。しかし、関節リウマチおよびクローン病における対照試験の結果は、アピリモドによるIL-12/IL-23阻害がこれらの適応症のいずれにおいても臨床的改善につながるという知見を裏付けなかった。関節リウマチ患者におけるアピリモドのランダム化二重盲検プラセボ対照第I相臨床試験において、アピリモドは、滑液IL-12およびIL-23発現を改変できなかった。Krauzら、Arthritis & Rheumatism 64:1750-1755(2012)。著者らは、「結果は、アピリモドによるIL-12/IL-23阻害が、RAにおいて、ロバストな臨床的改善を誘導できるという知見を裏付けない」と結論づけた。同様に、活発なクローン病の治療のためのアピリモドのランダム化二重盲検プラセボ対照試験は、アピリモドはよく許容されるが、プラセボに勝る有効性を示さないと結論づけた。Sandsら、Inflamm Bowel Dis. 2010 Jul;16(7):1209-18。30

【0005】

[05]ラパマイシン(mTOR)経路の哺乳動物ターゲットは、細胞成長、細胞増殖、代謝、タンパク質合成、および自己貪食を含む多数の生理学的機能に関する、重要な細胞シグナル伝達経路である(La Planteら、Cell 2012, (149)(2), pp.274-293)。mTORは、アミノ酸、ストレス、酸素、エネルギー、および増殖因子のレベルをシグナル伝達する細胞内および細胞外の合図を統合して、そしてこれらの環境的な合図に対する細胞反応を制御するキナーゼである。mTOR制御解除は、癌、肥満、糖尿病、および神経変性を含む、広い範囲の障害および疾患に関連づけられてきている。mTOR経路の特定の構成要素は、これらの疾患のいくつかを治療するための薬剤ターゲットとして研究されてきている。しかし、療法有効性は、例えはいくつかの癌の治療において限界があり、そしてmTOR阻害剤のあるものは、代謝に対して副作用を有することが示されている。結節4050

性硬化症複合体腫瘍抑制遺伝子 TSC1 および TSC2 は、mTOR の負の制御因子である。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【特許文献1】US6,858,606

【特許文献2】US6,660,733

【特許文献3】WO 2006/128129

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】Wadaら、Blood 109(2007):1156-1164

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

【非特許文献3】Bairdら、Frontiers in Oncology 3:1(2013)

【非特許文献4】Wadaら、PLoSOne 7:e35069(2012年4月)

【非特許文献5】Krauzら、Arthritis & Rheumatism 64:1750-1755(2012)

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

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

【発明の概要】

【0008】

[06] 本発明は、部分的に、アピリモドがTSCヌル(null)細胞において非常に細胞傷害性の剤であるという驚くべき発見に基づく。これらの細胞において、mTOR経路は、恒常に活性である。mTOR経路は多くの癌において活性化され、そして100を超える癌細胞株のさらなるスクリーニングにおいて、アピリモドは、多様な癌由来の細胞株において、抗増殖活性を示した。アピリモド感受性癌細胞株のうち、B細胞リンパ腫は、最も感受性であった。しかし、予期せぬことに、アピリモドに対するB細胞リンパ腫の示差的感受性は、これらの細胞における、c-Re1発現、IL-12発現、またはIL-23発現と相關しなかった。初期の研究は、異常な細胞増殖を促進する際に、c-Re1および/またはIL-12/23発現が非常に重要である癌に対して、アピリモドが有用であろうと示唆していたため、これは驚くべきことであった。その代わり、本発明者らは、癌細胞におけるアピリモドの細胞傷害活性が、細胞内輸送の阻害、そしてそれに対応するアポトーシスの増加のためであることを立証した。この活性は、IL-12/23産生の阻害を通じた、アピリモドの免疫調節活性に基づいては予測されなかった。さらに、450を超えるキナーゼのスクリーニングは、PIKfyveを、ヒト癌細胞株におけるアピリモドの唯一の高アフィニティ結合ターゲット(Kd = 75 pM)と同定した。本発明は、アピリモドの療法的使用、特に癌を治療する際の、そして特にB細胞リンパ腫、そして特に標準的な化学療法レジメンに対して耐性であるかまたは抵抗性であるものを治療する際の使用のための新規方法を提供する。

【0009】

[07] 1つの側面において、本発明は、癌を治療する必要がある被験体において、癌を治療するための方法であって、療法的有効量の本発明のアピリモド組成物を被験体に投与する工程を含み、前記組成物が、アピリモド、あるいはその薬学的に許容されうる塩、溶媒和物、包接体、水和物、多形体(polymorph)、プロドラッグ、類似体または誘導体を含む、前記方法を提供する。1つの態様において、アピリモド組成物は、アピリモド遊離塩基またはジメシル酸アピリモドを含む。1つの態様において、方法はさらに、少なくとも1つのさらなる活性剤を被験体に投与する工程をさらに含む。少なくとも1つのさらなる活性剤は、療法剤または非療法剤であってもよい。少なくとも1つのさらなる活性剤を、アピリモド組成物とともに単一剤形で、またはアピリモド組成物とは別個の剤形で投与してもよい。1つの態様において、少なくとも1つのさらなる活性剤は、アルキル化剤、挿入剤(intercalating agent)、チュープリン結合剤、コルチコステロイド、およびその組み合わせからなる群より選択される。1つの態様において、少なくとも1つのさらなる

10

20

30

40

50

活性剤は、イブルチニブ、リツキシマブ、ドキソルビシン、プレドニゾロン、ビンクリスチン、ベルケード、およびエベロリムス、ならびにその組み合わせからなる群より選択される療法剤である。1つの態様において、少なくとも1つのさらなる活性剤は、シクロホスファミド、ヒドロキシダウノルビシン（ドキソルビシンまたはアドリアマイシン^{T M}とも称される）、ビンクリスチン（オンコピン^{T M}とも称される）、プレドニゾン、プレドニゾロン、およびその組み合わせより選択される療法剤である。1つの態様において、少なくとも1つのさらなる活性剤は、アピリモド組成物の1またはそれより多い副作用を改善するように選択される、非療法剤である。1つの態様において、非療法剤は、オンドンセトロン、グラニセトロン、ドラセトロンおよびパロノセトロンからなる群より選択される。1つの態様において、非療法剤は、ピンドロールおよびリスペリドンからなる群より選択される。

10

【0010】

[08] 1つの態様において、アピリモド組成物の剤形は、経口剤形である。別の態様において、アピリモド組成物の剤形は、静脈内投与に適している。1つの態様において、剤形が静脈内投与に適している場合、投与は単回注射によるかまたはドリップバッグによる。

【0011】

[09] 1つの態様において、被験体はヒト癌患者である。1つの態様において、本発明のアピリモド組成物での治療が必要なヒト癌患者は、その癌が標準化学療法レジメンに抵抗性である患者である。1つの態様において、アピリモド組成物での治療が必要なヒト癌患者は、その癌が標準化学療法レジメンでの治療後再発している患者である。1つの態様において、癌はリンパ腫である。1つの態様において、癌はB細胞リンパ腫である。1つの態様において、B細胞リンパ腫は非ホジキンB細胞リンパ腫である。1つの態様において、非ホジキンB細胞リンパ腫は、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（D L B C L）、バーキットリンパ腫、縦隔B細胞リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、および濾胞性リンパ腫より選択される。1つの態様において、非ホジキンB細胞リンパ腫はD L B C Lである。1つの態様において、D L B C LはG C Bサブタイプである。

20

【0012】

[10] 1つの態様において、標準化学療法レジメンは、イブルチニブ、リツキシマブ、ドキソルビシン、プレドニゾロン、ビンクリスチン、ベルケード、シクロホスファミド、デキサメタゾンおよびエベロリムスからなる群より選択される、1またはそれより多くの療法剤を含む。1つの態様において、標準化学療法レジメンは、C H O P（シクロホスファミド、ヒドロキシダウノルビシン、オンコピン^{T M}（ビンクリスチン）、およびプレドニゾンまたはプレドニゾロン）、C O O P（シクロホスファミド、硫酸ビンクリスチン、塩酸プロカルバジン、プレドニゾン）、C V P（シクロホスファミド、硫酸ビンクリスチン、プレドニゾン）、E P O C H（エトポシド、プレドニゾン、硫酸ビンクリスチン、シクロホスファミド、塩酸ドキソルビシン）、ハイパー-C V A D（シクロホスファミド、硫酸ビンクリスチン、塩酸ドキソルビシン、デキサメタゾン）、I C E（イフオスファミド、カルボプラチナ、エトポシド）、R - C H O P（リツキシマブ、シクロホスファミド、硫酸ビンクリスチン、塩酸プロカルバジン、プレドニゾン）およびR - C V P（リツキシマブ、シクロホスファミド、硫酸ビンクリスチン、プレドニゾン）より選択される。

30

【0013】

[11] 1つの態様において、方法は、アピリモド組成物およびリンパ腫治療のための化学療法レジメンを含む組み合わせ療法を用いて、リンパ腫を治療する方法である。1つの態様において、化学療法レジメンはC H O Pレジメンである。別の態様において、化学療法レジメンは、C O O P、C V P、E P O C H、ハイパー-C V A D、I C E、R - C H O P、およびR - C V Pより選択される。

40

【0014】

[12] いくつかの態様において、T S C不全および/またはm T O R活性化と関連する癌を治療するために有用なアピリモド組成物を本明細書に提供する。いくつかの態様において、アピリモド組成物を用いてT S C 1またはT S C 2不全癌を治療するための方法を本

50

明細書に提供する。いくつかの態様において、アピリモド組成物を用いて、mTOR関連癌を治療するための方法を提供する。いくつかの態様において、mTOR関連癌は欠失、機能喪失型突然変異、低発現、あるいは他のTSC1またはTSC2不全と関連する。いくつかの態様において、mTOR関連癌は、癌の細胞において、mTOR経路活性の活性化（例えば恒常的活性化）を生じる機能獲得型突然変異と関連する。いくつかの態様において、被験体のTSC1、TSC2および/またはmTOR状態に基づいて、癌を有する被験体がアピリモド組成物での治療の候補であるかどうかを決定する工程をさらに含む方法を、本明細書に提供する。例えば、いくつかの態様において、TSC1またはTSC2不全（例えばTSC1またはTSC2における不活性化突然変異）または恒常に活性であるmTORシグナル伝達を有する被験体は、アピリモド組成物での治療の候補である。

10

【図面の簡単な説明】

【0015】

【図1】図1：TSC2不全細胞は、アピリモドに非常に感受性である（IC₅₀ = 20 nM）。

【図2A】図2A：アピリモドに対する癌細胞株の感受性（500nM未満のIC₅₀を持つ細胞株の割合）。

【図2B】図2B：NHL細胞株は、アピリモドに特に感受性である（500nM未満のIC₅₀を持つ細胞株の割合）。

【図2C】図2C：アピリモドの細胞傷害活性は、正常細胞よりも癌細胞に関して選択性である。正常肺線維芽細胞は、10マイクロモルという非常に高い濃度でも、アピリモド誘導性細胞傷害性に非感受性であった。

20

【図3】図3：びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、SUDHL-4は50nMのIC₅₀を示した。

【図4】図4：NHL細胞におけるアピリモドの細胞傷害活性は、アポトーシス増加の結果であった。培地にアピリモドを添加した48時間後、アピリモド処理したびまん性大細胞型B細胞リンパ腫細胞における、アポトーシス（カスパーゼ-3/7、中央のバー）および壊死（ビス-AAF-R110、右のバー）マーカー；左のバーは生存度マーカー（GF-AFC）を示す。

【図5】図5：アピリモドは用量依存方式で自己貪食を誘導する。

【図6】図6：最適化された捕捉条件下で、0.1 μM濃度のCT-689を適用した、有意に捕捉されたヒットのVolancプロット。

30

【図7】図7：アピリモドは、PIKfyveに高アフィニティで結合する（Kd = 75 pM）。

【図8】図8：アピリモド感受性（株1～13）および非感受性（株14～22）B細胞リンパ腫株におけるREL-CCL-E発現。

【図9】図9：アピリモド感受性（株1～23）および非感受性（株24～75）癌細胞株におけるIL12A-CCL-E発現。

【図10】図10：アピリモド感受性（株1～23）および非感受性（株24～75）癌細胞株におけるIL12B-CCL-E発現。

【図11】図11：アピリモド感受性（株1～23）および非感受性（株24～75）癌細胞株におけるIL12RB1-CCL-E発現。

40

【図12】図12：アピリモド感受性（株1～23）および非感受性（株24～75）癌細胞株におけるIL12RB2-CCL-E発現。

【図13】図13：アピリモド感受性（株1～23）および非感受性（株24～75）癌細胞株におけるIL23R-CCL-E発現。

【図14】図14：アピリモド感受性（株1～23）および非感受性（株24～75）癌細胞株におけるIL23A-CCL-E発現。

【図15】図15：IL-23A発現は非ホジキンB細胞リンパ腫における感受性の統計的に有意な予測因子ではない。示されているのは、アピリモド感受性NHB細胞株（下部、暗色）および非感受性NHB細胞株（上部、明色）である。

50

【図16】図16：アピリモドは、S U - D H L - 6 D L B C L 異種移植片腫瘍の増殖を阻害する；上部線は、ビヒクル生理食塩水（菱形、明灰色の実線）、Q D × 5、2日間休薬、Q D × 5 i . v . ; 0 . 5 % メチルセルロース（三角形、暗灰色の実線）、Q D × 5、2日間休薬、Q D × 5 p . o . ; ジメシル酸アピリモド（正方形、点線）67.5 mg / kg (47 mg / kg 遊離塩基) Q D × 5 i . v . 、2日間休薬、Q D × 5 ; アピリモド遊離塩基（正方形、明灰色の実線）150 mg / kg Q D × 5、2日間休薬、Q D × 5 p . o . ; アピリモド遊離塩基（十字、実線）、75 mg / kg B I D × 5、2日間休薬、B I D × 5 p . o . を示す。

【図17】図17：in vivoでのD L B C L 腫瘍に対する、イブルチニブと組み合わせたアピリモドの抗腫瘍活性；上部線は、ビヒクル（菱形、明灰色の実線）、Q D × 5 10、2日間休薬、Q D × 5 p . o . + i . v . ; イブルチニブ（三角形、暗灰色の実線）10 mg / kg、Q D × 12 i . v . ; アピリモド遊離塩基（正方形、点線）75 mg / kg Q D × 5、2日間休薬、Q D × 5 p . o . ; イブルチニブ（十字、暗色の実線）20 mg / kg Q D × 12 i . v . ; アピリモド遊離塩基、75 mg / kg Q D × 5、2日間休薬、Q D × 5 p . o . + イブルチニブ10 mg / kg Q D × 12 i . v . (正方形、明灰色の実線)；アピリモド遊離塩基75 mg / kg Q D × 5、2日間休薬、Q D × 5 p . o . + イブルチニブ10 mg / kg Q D × 12 i . v . (円、中程度の灰色の実線)を示す。

【図18】図18：アピリモド(10 nM)を含むおよび含まない93の薬剤の人為選別した(manually curated)ライプラリーでのS U - D H L - 4 細胞のスクリーニングによって、アピリモドと組み合わせた際に、相乗的活性を示す薬剤と同定された。 20

【図19】図19：アピリモドは、代表的な癌細胞株の液胞化を誘導する。左：未処理細胞。右：500 nMのアピリモドで24時間処理した。

【発明を実施するための形態】

【0016】

[34]本発明は、癌の治療が必要な被験体、好ましくはヒト被験体において、癌を治療するためのアピリモドの使用に関する組成物および方法を提供する。本発明は、一般的に、リンパおよび非リンパ起源の両方のある範囲の癌細胞に対する、アピリモドの細胞傷害活性の驚くべき発見に基づく、アピリモドの新規使用に関し、該活性は、アピリモドの既知の免疫調節およびI L - 12 / 23 阻害活性とは明らかには関連せず、またはそこから予測可能でもない。さらに、本発明は、アピリモドおよび少なくとも1つのさらなる療法剤を利用する組み合わせ療法に基づく癌治療に対する新規療法アプローチを提供する。本明細書に記載する組み合わせ療法は、例えば抗癌剤を含む他の療法剤と組み合わせた際、相乗効果を提供することが示されている、アピリモドのユニークな細胞傷害活性を利用する。 30

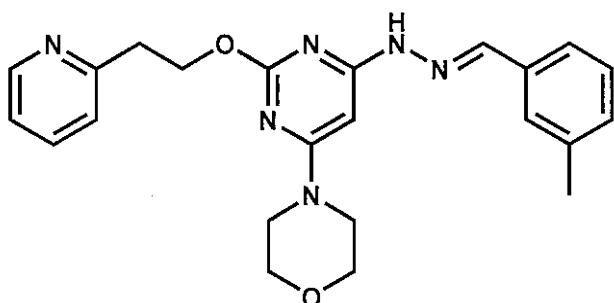
【0017】

[35]本明細書において、用語「アピリモド組成物」は、アピリモド自体（遊離塩基）を含む組成物を指すことも可能であり、あるいは以下に記載するような、アピリモドの薬学的に許容されうる塩、溶媒和物、包接体、水和物、多形体、プロドラッグ、類似体または誘導体を含むことも可能である。アピリモドの構造を式I： 40

【0018】

【化1】

【化1】



(I)

【0019】

に示す。

[36]アピリモドの化学名は、2-[2-[2-ピリジン-2-イル)-エトキシ]-4-N'-
-(3-メチル-ベンジリデン)-ヒドラジノ]-6-(モルホリン-4-イル)-ピリ
ミジン(IUPAC名:(E)-4-(6-(2-(3-メチルベンジリデン)ヒドラジ
ニル)-2-(2-(ピリジン-2-イル)エトキシ)ピリミジン-4-イル)モルホリ
ン)であり、そしてCAS番号は541550-19-0である。

【0020】

[37]アピリモドは、例えば、U.S特許第7,923,557号、および第7,863,
270号、ならびにWO2006/128129に記載される方法にしたがって調製可能
である。

【0021】

[38]本明細書において、用語「薬学的に許容されうる塩」は、例えば、アピリモド組成物の酸性および塩基性基から形成される塩である。例示的な塩には、限定されるわけではないが、硫酸塩、クエン酸塩、酢酸塩、シュウ酸塩、塩化物、臭化物、ヨウ化物、硝酸塩、重硫酸塩、リン酸塩、酸性リン酸塩、イソニコチン酸塩、乳酸塩、サリチル酸塩、酸性クエン酸塩、酒石酸塩、オレイン酸塩、タンニン酸塩、パントテン酸塩、重酒石酸塩、アスコルビン酸塩、コハク酸塩、マレイン酸塩、ベシリ酸塩、ゲンチシネート(gentisinate)、フマル酸塩、グルコン酸塩、グルカロネート(glucuronate)、サッカレート、ギ酸塩、安息香酸塩、グルタミン酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、およびパモ酸塩(例えば1,1'-メチレン-ビス-(2-ヒドロキシ-3-ナフトエート))塩が含まれる。好ましい態様において、アピリモドの塩はメタンスルホン酸塩を含む。

【0022】

[39]用語「薬学的に許容されうる塩」はまた、酸性官能基、例えばカルボン酸官能基を有するアピリモド組成物、および薬学的に許容されうる無機塩基または有機塩基より調製される塩も指す。

【0023】

[40]用語「薬学的に許容されうる塩」はまた、塩基性官能基、例えばアミノ官能基を有するアピリモド組成物、および薬学的に許容されうる無機酸または有機酸より調製される塩も指す。

【0024】

[41]本明細書記載の化合物の塩は、Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, P. Hemrich Stalil(監修), Camille G. Wermuth(監修), ISBN: 3-90639-02-6-8, 2002年8月、に記載される方法などの慣用的な化学的方法によって、親化合物から合成可能である。一般的に、こうした塩は、親化合物を、水中または有機溶媒中、ま

10

20

30

40

50

たは2つの混合物中で、適切な酸と反応させることによって調製可能である。

【0025】

[42]本明細書記載の化合物の1つの塩型を、当業者に周知の方法によって、遊離塩基に、そして場合によって別の塩に変換することも可能である。例えば、遊離塩基は、アミン固定相を含有するカラム（例えばStrata-NH₂カラム）を通じて塩溶液を通過させることによって形成可能である。あるいは、水中の塩溶液を重炭酸ナトリウムで処理して、塩を分解し、そして遊離塩基を沈殿させることも可能である。次いで、ルーチンの方法を用いて、遊離塩基を別の酸と組み合わせることも可能である。

【0026】

[43]本明細書において、用語「多形体」は、本発明の化合物（例えば、2-[2-ピリジン-2-イル]-エトキシ]-4-N'--(3-メチル-ベンジリデン)-ヒドラジノ]-6-(モルホリン-4-イル)-ピリミジン）またはその複合体の固形結晶型を意味する。同じ化合物の異なる多形型は、異なる物理的、化学的および/または分光特性を示すことも可能である。異なる物理的特性には、限定されるわけではないが、安定性（例えば熱または光に対するもの）、圧縮率および密度（配合および製品製造に重要）、および溶解率（生物学的利用能に影響を及ぼしうる）が含まれる。安定性の相違は、化学的反応性（例えば別の多形体で構成された際よりも、1つの多形体で構成された際に、より迅速に剤形が変色するような、示差的酸化）または機械的特性（例えば動力学的に好ましい多形体が熱力学的により安定な多形体に変換するにつれて、保存中に崩壊する錠剤）または両方（例えば1つの多形体の錠剤は、高い湿度での分解により感受性である）の変化から生じることも可能である。多形体の異なる物理的特性は、そのプロセッシングに影響を及ぼしうる。例えば、1つの多形体は、溶媒和物を形成する可能性がより高いか、あるいは例えば、その粒子の形状またはサイズ分布のため、不純物を含まず、濾過または洗浄することが別なものよりもより困難である可能性もある。

【0027】

[44]本明細書において、用語「水和物」は、本発明の化合物（例えば、2-[2-ピリジン-2-イル]-エトキシ]-4-N'--(3-メチル-ベンジリデン)-ヒドラジノ]-6-(モルホリン-4-イル)-ピリミジン）またはその塩を意味し、これにはさらに、非共有分子間力によって結合する水の化学量論または非化学量論量が含まれる。

【0028】

[45]本明細書において、用語「包接体」は、ゲスト分子（例えば溶媒または水）が内部に捕捉されている空間（例えばチャネル）を含有する結晶格子の形の、本発明の化合物（例えば、2-[2-ピリジン-2-イル]-エトキシ]-4-N'--(3-メチル-ベンジリデン)-ヒドラジノ]-6-(モルホリン-4-イル)-ピリミジン）またはその塩を意味する。

【0029】

[46]本明細書において、用語「プロドラッグ」は、生物学的条件下（in vitroまたはin vivo）、加水分解、酸化、または別的方式で反応して、本発明の化合物を提供することも可能な、本明細書記載の化合物（例えば、2-[2-ピリジン-2-イル]-エトキシ]-4-N'--(3-メチル-ベンジリデン)-ヒドラジノ]-6-(モルホリン-4-イル)-ピリミジン）の誘導体を意味する。プロドラッグは生物学的条件下でのこうした反応に際してのみ、活性となることも可能であるし、またはこれらは、未反応型で活性を有することも可能である。本発明において意図されるプロドラッグの例には、限定されるわけではないが、生物加水分解可能アミド、生物加水分解可能エステル、生物加水分解可能カルバメート、生物加水分解可能カーボネート、生物加水分解可能ウレイド、および生物加水分解可能リン酸塩類似体などの生物加水分解部分を含む、本明細書記載の化合物（例えば、2-[2-ピリジン-2-イル]-エトキシ]-4-N'--(3-メチル-ベンジリデン)-ヒドラジノ]-6-(モルホリン-4-イル)-ピリミジン）の類似体または誘導体が含まれる。プロドラッグの他の例には、-NO、-NO₂、-ONO、または-ONO₂部分を含む、本明細書に開示する配合物の任意の1つの化合

10

20

30

40

50

物の誘導体が含まれる。プロドラッグは、典型的には、周知の方法、例えばBurger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery (1995) 172-178, 949-982 (Manfred E. Wolff監修、第5版)に記載されるものを用いて、調製可能である。

【0030】

[47]本明細書において、用語「溶媒和物」または「薬学的に許容されうる溶媒和物」は、本明細書開示の化合物（例えば、2-[2-ピリジン-2-イル]-エトキシ]-4-N'-(3-メチル-ベンジリデン)-ヒドラジノ]-6-(モルホリン-4-イル)-ピリミジン）の1つへの、1またはそれより多い溶媒分子の会合から形成される溶媒和物である。用語、溶媒和物には、水和物（例えば半水和物、一水和物、二水和物、三水和物、四水和物等）が含まれる。10

【0031】

[48]本明細書において、用語「類似体」は、別のものと構造的に類似であるが、組成がわずかに異なる化学的化合物（1つの原子の、異なる元素の原子による、または特定の官能基の存在下での置換、あるいは1つの官能基の別の官能基による置換）を指す。したがって、類似体は、機能および外見が類似であるかまたは匹敵するが、構造または参照化合物に対する起源が異なる化合物である。本明細書において、用語「誘導体」は、共通のコア構造を有し、そして本明細書に記載するような多様な基で置換されている化合物を指す。20

【0032】

治療法

[49]本発明は、本発明のアピリモド組成物の療法的有効量を被験体に投与することによる、治療の必要がある被験体において、癌を治療するための方法であって、前記組成物がアピリモド、あるいはその薬学的に許容されうる塩、溶媒和物、包接体、水和物、多形体、プロドラッグ、類似体または誘導体を含む、前記方法を提供する。1つの態様において、アピリモド組成物は、アピリモド遊離塩基またはジメシリ酸アピリモドを含む。本発明はさらに、癌治療のために有用な薬剤の調製のためのアピリモド組成物の使用を提供する。30

【0033】

[50]1つの態様において、癌は脳癌、神経膠腫、肉腫、乳癌、肺癌、非小細胞肺癌、中皮腫、虫垂癌、泌尿生殖器癌、腎細胞癌腫、前立腺癌、膀胱癌、精巣癌、陰茎癌、子宮頸癌、卵巣癌、フォンヒッペル・リンダウ病、頭頸部癌、胃腸癌、肝細胞癌腫、胆嚢癌、食道癌、胃癌、結腸直腸癌、肺腺癌、神経内分泌腫瘍、甲状腺腫瘍、下垂体腫瘍、副腎腫瘍、血液学的悪性腫瘍、または白血病である。30

【0034】

[51]1つの態様において、癌はリンパ腫である。1つの態様において、リンパ腫はB細胞リンパ腫である。1つの態様において、B細胞リンパ腫は、ホジキンB細胞リンパ腫および非ホジキンB細胞リンパ腫からなる群より選択される。1つの態様において、B細胞リンパ腫は、D L B C L、濾胞性リンパ腫、辺縁帯リンパ腫（M Z L）または粘膜関連シンパ組織リンパ腫（M A L T）、小細胞リンパ球性リンパ腫（慢性リンパ球性白血病と重複する）およびマントル細胞リンパ腫からなる群より選択される非ホジキンB細胞リンパ腫である。40 1つの態様において、B細胞リンパ腫は、バーキットリンパ腫、バーキットリンパ腫、縦隔原発（胸腺性）大細胞型B細胞リンパ腫、ワルデンストレーム高ガンマグロブリン血症として顕在化しうるリンパ形質細胞性リンパ腫、節性辺縁帯B細胞リンパ腫（N M Z L）、脾性辺縁帯リンパ腫（S M Z L）、血管内大細胞型B細胞リンパ腫、原発性滲出性リンパ腫、リンパ腫様肉芽腫症、T細胞/組織球リッチ大細胞型B細胞リンパ腫、原発性中枢神経系リンパ腫、原発性皮膚びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、脚型（原発性皮膚D L B C L、脚型）、高齢者E B V陽性びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、炎症関連びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、血管内大細胞型B細胞リンパ腫、A L K陽性大細胞型B細胞リンパ腫、および形質芽球性リンパ腫からなる群より選択される非ホジキンB細胞リンパ腫である。50

【0035】

組み合わせ療法

[52]本発明はまた、組み合わせ療法を含む方法も提供する。本明細書において、「組み合わせ療法」または「共療法」には、アピリモド組成物およびさらなる活性剤の共作用から、有益な効果を提供するように意図される特異的治療レジメンの一部として、少なくとも1つのさらなる活性剤を伴う、療法的有効量のアピリモド組成物の投与が含まれる。「組み合わせ療法」は、意図されないまたは予期されない有益な効果を偶発的にそして任意に生じる別個の単一療法レジメンの一部として、2またはそれより多い療法化合物の投与を含むとは意図されない。

【0036】

10

[53]1つの態様において、方法は、アピリモド組成物および癌治療のための化学療法レジメンを含む組み合わせ療法を用いて、癌を治療する方法である。1つの態様において、化学療法レジメンはCHOPレジメンである。CHOPは、以下の活性剤：DNAに結合し、そして架橋形成を引き起こすことによって、DNAを損傷するアルキル化剤、シクロホスファミド((C)cyclophosphamide)；DNA塩基の間に自身を挿入することによって、DNAを損傷する挿入剤、ヒドロキシダウノルビシン((H)hydroxydaunorubicin)（ドキソルビシンまたはアドリアマイシンとも称される）；タンパク質、チューブリンに結合することによって細胞が複製することを防止する、オンコビン((O)ncovin)（ピンクリスピチン）；およびコルチコステロイドであるプレドニゾン((P)rednisone)またはプレドニゾロン((P)rednisolone)からなる、非ホジキンリンパ腫の治療において一般的に用いられる措置を指す。別の態様において、化学療法は、COOP（シクロホスファミド、硫酸ビンクリスチン、塩酸プロカルバジン、プレドニゾン）、CVP（シクロホスファミド、硫酸ビンクリスチン、プレドニゾン）、EPOCH（エトポシド、プレドニゾン、硫酸ビンクリスチン、シクロホスファミド、塩酸ドキソルビシン）、ハイパー-CVAD（シクロホスファミド、硫酸ビンクリスチン、塩酸ドキソルビシン、デキサメタゾン）、ICE（イフオスマミド、カルボプラチン、エトポシド）、R-CHOP（リツキシマブ、シクロホスファミド、硫酸ビンクリスチン、塩酸プロカルバジン、プレドニゾン）、およびR-CVP（リツキシマブ、シクロホスファミド、硫酸ビンクリスチン、プレドニゾン）より選択される。

20

【0037】

30

[54]少なくとも1つのさらなる活性剤は、療法剤、例えば抗癌剤または癌化学療法剤、または非療法剤、およびその組み合わせであってもよい。療法剤に関して、組み合わせの有益な効果には、限定されるわけではないが、療法的活性化合物の組み合わせから生じる、薬物動態学的または薬力学的共作用が含まれる。非療法剤に関して、組み合わせの有益な効果は、組み合わせ中の療法的活性剤に関連する毒性、副作用、または不都合な事象の軽減に関連することも可能である。

【0038】

40

[55]1つの態様において、少なくとも1つのさらなる剤は、アピリモド組成物の1またはそれより多い副作用、吐き気、嘔吐、頭痛、めまい、意識朦朧、眠気およびストレスのいずれかより選択される1またはそれより多い副作用を軽減する非療法剤である。この態様の1つの側面において、非療法剤は、5-ヒドロキシトリプタミン受容体または5-HT受容体としても知られるセロトニン受容体のアンタゴニストである。1つの側面において、非療法剤は、5-HT₃または5-HT_{1a}受容体のアンタゴニストである。1つの側面において、非療法剤は、オンドンセトロン、グラニセトロン、ドラセトロンおよびパロノセトロンからなる群より選択される。別の側面において、非療法剤は、ピンドロールおよびリスペリドンからなる群より選択される。

【0039】

[56]1つの態様において、少なくとも1つのさらなる剤は療法剤である。1つの態様において、療法剤は抗癌剤である。1つの態様において、抗癌剤はイブルチニブである。1つの態様において、アピリモド組成物を、イブルチニブとともに単一剤形で、または別個

50

の剤形で投与する。1つの態様において、剤形は経口剤形である。別の態様において、剤形は静脈内投与に適している。

【0040】

[57] 1つの態様において、抗癌剤は、リンパ腫を治療する際に使用するために認可されている薬剤である。こうした薬剤の限定されない例には、アビトレキセート（メトトレキセート）、アドセトリス（ブレンツキシマブ・ベドチン）、アンボクロリン（クロラムブシル）、アンボクロリン（クロラムブシル）、アラノン（ネララビン）、ベセヌム（カルムスチン）、ベレオダック（ベリノstatt）、ベリノstatt、塩酸ベンダムスチン、ベキサザール（トシツモマブおよびヨウ素I 131トシツモマブ）、BiCNU（カルムスチン）、ブレノキサン（ブレオマイシン）、ブレオマイシン、ボルテゾミブ、ブレンツキシマブ・ベドチン、カルムブリス（カルムスチン）、カルムスチン、クロラムブシル、クラフェン（シクロホスファミド）、シクロホスファミド、シトキサン（シクロホスファミド）、デニロイキン・ディフティトックス、デポロシット（リポソーム・シタラビン）、塩酸ドキソルビシン、フォレックス（メトトレキセート）、フォロチン（プララトレキセート）、イブリツモマブ・チウキセタン、イブルチニブ、イデラリシブ、イムブルビカ（イブトルチニブ）、イントロンA（組換えインターフェロン・アルファ-2b）、イストダックス（ロミデプシン）、レナリドミド、ロイケラン（クロラムブシル）、リンフォリジン（クロラムブシル）、リポソーム・シタラビン、塩酸メクロレタミン、メトトレキセート、メトトレキセートLPF（メトトレキセート）、メキセート（メトトレキセート）、メキセート-AQ（メトトレキセート）、モゾビル（ペリキサフォール）、マスター
ジエン（塩酸メクロレタミン）、ネララビン、ネオサール（シクロホスファミド）、オンタック（デニフロイキン・ディフティトックス）、ペリキサフォール、プララトレキセート、プレドニゾン、組換えインターフェロン・アルファ-2b、レブリミド（レナリドミド）、リツキサン（リツキシマブ）、リツキシマブ、ロミデプシン、トシツモマブおよびヨウ素I 131トシツモマブ、トレンダ（塩酸ベンダムスチン）、ベルバン（硫酸ビンプラスチン）、ベルケード（ボルテゾミブ）、ベルサール（硫酸ビンプラスチン）、硫酸ビンプラスチン、ビンカサールPFS（硫酸ビンクリスチン）、硫酸ビンクリスチン、ボリノstatt、ゼバリン（イブリツモマブ・チウキセタン）、ゾリンザ（ボリノstatt）
、およびザイデリグ（イデラリシブ）が含まれる。
10

【0041】

[58] 1つの態様において、抗癌剤は、EZH2、例えばEPZ-6438の阻害剤より選択される。1つの態様において、抗癌剤は、タキソール、ビンクリスチン、ドキソルビシン、テムシロリムス、カルボプラチニン、オファツムマブ、リツキシマブ、およびその組み合わせより選択される。
20

【0042】

[59] 1つの態様において、少なくとも1つのさらなる剤はB細胞受容体経路阻害剤である。いくつかの態様において、B細胞受容体経路阻害剤は、CD79A阻害剤、CD79B阻害剤、CD19阻害剤、LyN阻害剤、Syk阻害剤、PI3K阻害剤、B1nk阻害剤、PLCγ阻害剤、PKCP阻害剤、またはその組み合わせである。いくつかの態様において、少なくとも1つのさらなる剤は、抗体、B細胞受容体シグナル伝達阻害剤、PI3K阻害剤、IAP阻害剤、mTOR阻害剤、放射免疫療法剤、DNA損傷剤、プロテオソーム阻害剤、ヒストン・デアセチラーゼ阻害剤、プロテインキナーゼ阻害剤、ヘッジホッグ阻害剤、Hsp90阻害剤、テロメラーゼ阻害剤、JAK1/2阻害剤、プロテアーゼ阻害剤、PKC阻害剤、PARP阻害剤またはその組み合わせである。
40

【0043】

[60] 1つの態様において、少なくとも1つのさらなる剤は、クロラムブシル、イフオスファミド、ドキソルビシン、メサラジン、サリドマイド、レナリドミド、テムシロリムス、エベロリムス、フルダラビン、フォスタマチニブ、パクリタキセル、ドセタキセル、オファツムマブ、リツキシマブ、デキサメタゾン、プレドニゾン、CAL-101、イブリツモマブ、トシツモマブ、ボルテゾミブ、ペントスタチン、エンドスタチン、またはその
50

組み合わせより選択される。

【0044】

[61] 1つの態様において、少なくとも1つのさらなる剤は、モノクローナル抗体、例えばアレムツズマブ、ベバシズマブ、カツマキソマブ、セツキシマブ、エドレコロマブ、ゲムツズマブ、オファツムマブ、パニツムマブ、リツキシマブ、トラスツズマブ、エクリズマブ、エファリズマブ、ムロマブ - C D 3、ナタリズマブ、アダリムマブ、アフェリモマブ、セルトリズマブ・ペゴル、ゴリムマブ、インフリキシマブ、バシリキシマブ、カナキヌマブ、ダクリズマブ、メポリズマブ、トシリズマブ、ウステキヌマブ、イブリツモマブ・チウキセタン、トシツモマブ、アバゴボマブ、アデカツムマブ、アレムツズマブ、抗C D 3 0 モノクローナル抗体 X m a b 2 5 1 3、抗M E T モノクローナル抗体 M e t M a b 10 、アポリズマブ、アポマブ、アルシツモマブ、バシリキシマブ、二重特異性抗体 2 B 1、ブリナツモマブ、ブレンツキシマブ・ベドチン、カプロマブ・ペンデチド、シクスツムマブ、クラウディキシマブ、コナツムマブ、ダセツズマブ、デノスマブ、エクリズマブ、エプラツズマブ、エルツマキソマブ、エタラシズマブ、フィジツムマブ、フレソリムマブ、ガリキシマブ、ガニツマブ、ゲムツズマブ・オゾガマイシン、グレムバツムマブ、イブリツモマブ、イノツズマブ・オゾガマイシン、イピリムマブ、レキサツムマブ、リンツズマブ、リンツズマブ、ルカツムマブ、マパツムマブ、マツズマブ、ミラツズマブ、モノクローナル抗体 C C 4 9、ネシツムマブ、ニモツズマブ、オファツムマブ、オレゴボマブ、ペルツズマブ、ラマクリマブ、ラニビズマブ、シプリズマブ、ソネプシズマブ、タネズマブ、トシツモマブ、トラスツズマブ、トレメリムマブ、ツコツズマブ・セルモロイキン、ペルツズマブ、ビシリズマブ、ボロシキシマブ、およびザルツムマブである。 20

【0045】

[62]組み合わせ療法の背景において、アピリモド組成物の投与は、1またはそれより多いさらなる活性剤の投与と同時であってもまたは連続していてもよい。別の態様において、組み合わせ療法の異なる構成要素の投与は、異なる頻度であってもよい。1またはそれより多いさらなる剤を、本発明の化合物の投与の前（例えば5分、15分、30分、45分、1時間、2時間、4時間、6時間、12時間、24時間、48時間、72時間、96時間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、8週間、または12週間前）、投与と同時に、または投与に続いて（例えば5分、15分、30分、45分、1時間、2時間、4時間、6時間、12時間、24時間、48時間、72時間、96時間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、8週間、または12週間後）に投与してもよい。 30

【0046】

[63]1またはそれより多いさらなる活性剤を、本明細書にさらに詳細に記載するように、単一剤形で、アピリモド組成物と同時投与するために配合することも可能である。1またはそれより多いさらなる活性剤を、本発明の化合物を含む剤形と別個に投与してもよい。さらなる活性剤をアピリモド組成物と別個に投与する場合、アピリモド組成物と同じまたは異なる投与経路によってもよい。

【0047】

[64]好ましくは、1またはそれより多いさらなる剤と組み合わせたアピリモド組成物の投与は、治療されている被験体において相乗反応を提供する。この背景において、用語「相乗」は、いずれかの単一療法単独の付加的効果よりもより有効である組み合わせの有効性を指す。本発明記載の組み合わせ療法の相乗効果は、組み合わせではない用量および/または頻度に比較して、組み合わせ中の少なくとも1つの剤のより低い投薬量および/またはより頻繁でない投与の使用を可能にしうる。組み合わせのさらなる有益な効果は、組み合わせ中のいずれかの療法単独（単一療法とも称される）の使用と関連する、不都合なまたは望ましくない副作用の回避または減少という形で現れることも可能である。 40

【0048】

[65]「組み合わせ療法」はまた、非薬剤療法（例えば手術または放射線治療）とさらに組み合わせた、本発明の化合物の投与も含む。組み合わせ療法がさらに非薬剤治療を含む 50

場合、療法化合物および非薬剤治療の組み合わせの共作用による有益な効果が達成される限り、非薬剤治療は、任意の適切な時に行つてもよい。例えば、適切な場合、非薬剤治療が、おそらく数日またはさらに数週間、療法化合物の投与から一時的に除去されても、有益な影響はなお達成される。

【0049】

[66]非薬剤治療は、化学療法、放射線療法、ホルモン療法、抗エストロゲン療法、遺伝子療法、および手術より選択されることも可能である。例えば、非薬剤療法は、卵巣切除（例えば体内のエストロゲンレベルを減少させる）、胸腔穿刺（例えば胸部から液体を除去する）、穿刺（例えば腹部から液体を除去する）、血管筋脂肪腫を除去するかまたは収縮させる手術、肺移植（および場合によって移植による感染を防止するための抗生物質を伴う）、または酸素療法（例えば両方の鼻孔中に配置される2つの小さいプラスチックチューブまたはプロングを含有する鼻カニューレを通じて、鼻および口の上にフィットするフェースマスクを通じて、あるいは経気管酸素療法とも呼ばれる首正面を通じて気管内に挿入される小さいチューブを通じて）である。10

【0050】

[67]本発明はまた、被験体に、本発明のアピリモド組成物の療法的有効量を投与することによって、治療が必要な被験体において、mTOR関連疾患、障害、および状態を治療する方法も提供する。こうした疾患および障害には、例えば、mTORが調節不全となっている癌が含まれる。mTOR調節不全は、すべての癌の70%に関連づけられてきている。例えば、Menonら Oncogene 27 (2009):S43-S51を参照されたい。mTOR調節不全の構成要素を有する特定の癌には、脳腫瘍、例えば神経膠腫（例えば多形神経膠芽腫）、肉腫、乳癌、肺癌（例えば非小細胞肺癌）、中皮腫、虫垂癌、泌尿生殖器癌（例えば腎細胞癌腫、前立腺、膀胱、精巣、陰茎、子宮頸癌、卵巣癌、ファンヒッペル・リンダウ病）、頭頸部癌、胃腸腫瘍（例えば、肝細胞癌腫、胆嚢癌、食道癌、胃癌、結腸直腸癌、または脾臓癌）、神経内分泌腫瘍（NET）、甲状腺腫瘍、下垂体腫瘍、副腎腫瘍、血液学的悪性腫瘍（例えば非ホジキンリンパ腫、マントル細胞リンパ腫、骨髄腫、B細胞リンパ腫、白血病、ホジキンリンパ腫）、あるいは本明細書に記載する癌の1つまたはそれより多くの転移型が含まれる。例えば、Laplanteら Cell 149 (2012):274-293を参照されたい。20

【0051】

[68]本明細書に記載する方法の文脈において、被験体に投与するアピリモド組成物の量は、療法的有効量である。用語「療法的有効量」は、治療しようとする疾患または障害を治療するか、その症状を改善させるか、その重症度を減少させるか、あるいはその期間を減少させるか、あるいは別の療法の療法効果を増進させるかまたは改善するか、あるいは被験体において検出可能な療法効果を示すために十分である。1つの態様において、アピリモド組成物の療法的有効量は、PIKfyveキナーゼ活性を阻害するために有効な量である。30

【0052】

[69]アピリモド組成物の有効量は、約0.001mg/kg～約1000mg/kg、約0.01mg/kg～約100mg/kg、約10mg/kg～約250mg/kg、約0.1mg/kg～約15mg/kgの範囲であってもよいし；または範囲の下端が0.001mg/kg～900mg/kgの間の任意の量であり、そして範囲の上端が0.1mg/kg～1000mg/kgの間の任意の量である、任意の範囲であってもよい（例えば0.005mg/kg～200mg/kg、0.5mg/kg～20mg/kg）。有効用量はまた、治療する疾患、投与経路、賦形剤使用、および他の剤の使用などの他の療法的治療との共使用の可能性に応じて、当業者に認識されるように多様であろう。例えば、本明細書に援用される米国特許第7,863,270号を参照されたい。40

【0053】

[70]より特定の側面において、アピリモド組成物を30～1000mg/日（例えば30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、125、150、175、200、225、250、275、または300m50

g / 日) の投薬レジメンで、少なくとも 1 週間(例えば 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、36、48、またはそれより多い週数)投与する。好ましくは、アピリモド組成物を 10 ~ 1000 mg / 日の投薬レジメンで 4 または 16 週間投与する。あるいはまたは続いて、アピリモド組成物を、100 mg ~ 300 mg の投薬レジメンで、1 日 2 回 8 週間、または場合によって 5 週間投与する。あるいはまたは続いて、アピリモド組成物を、50 mg ~ 1000 mg の投薬レジメンで、1 日 2 回 8 週間、または場合によって 5 週間投与する。

【 0 0 5 4 】

[71]アピリモド組成物の有効量を、1 日 1 回、毎日 2 ~ 5 回、1 日最大 2 回または最大 3 回、または 1 日最大 8 回投与することも可能である。1 つの態様において、アピリモド組成物を、1 日 3 回、1 日 2 回、1 日 1 回、3 週間サイクルで 14 日間投与(1 日 4 回、1 日 3 回または 1 日 2 回、または 1 日 1 回)および 7 日間休薬で、3 週間サイクルで最長 5 または 7 日投与(1 日 4 回、1 日 3 回または 1 日 2 回、または 1 日 1 回)および 14 から 16 日休薬で、あるいは 2 日ごとに 1 回、あるいは週 1 回、あるいは 2 週に 1 回、あるいは 3 週に 1 回投与する。10

【 0 0 5 5 】

[72]本明細書記載の方法にしたがって、「必要がある被験体」は、疾患、障害または状態を有する被験体、あるいは大部分の集団に比較して、疾患、障害または状態を発展させるリスクが増加している被験体である。必要な被験体は、疾患または障害、例えば癌に関して、現在利用可能な療法に対して「非反応性」または「抵抗性」であるものであってもよい。この背景において、用語「非反応性」および「抵抗性」は、疾患または障害と関連する 1 またはそれより多い症状を軽減するために臨床的に適切でないような、療法に対する被験体の反応を指す。本明細書記載の方法の 1 つの側面において、必要な被験体は、その癌が標準療法に対して抵抗性であるか、またはその癌が標準治療後に再発している癌を有する被験体である。20

【 0 0 5 6 】

[73]「被験体」には哺乳動物が含まれる。哺乳動物は、例えば、任意の哺乳動物、例えばヒト、靈長類、脊椎動物、鳥類、マウス、ラット、家禽、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ヤギ、ラクダ、ヒツジまたはブタであってもよい。好ましくは、哺乳動物はヒトである。用語「患者」は、ヒト被験体を指す。30

【 0 0 5 7 】

[74]本発明はまた、本明細書に記載するような疾患、障害または状態の治療のための単一療法も提供する。本明細書において、「単一療法」は、必要な被験体への、単一の活性または療法化合物の投与を指す。

【 0 0 5 8 】

[75]本明細書において、「治療」、「治療すること」または「治療する」は、疾患、状態、または障害と闘う目的のための患者の管理およびケアを記載し、そして疾患、状態または障害の症状または合併症を軽減するため、あるいは疾患、状態または障害を排除するための投与を含む。

【 0 0 5 9 】

[76]本明細書において、「防止」、「防止すること」または「防止する」は、疾患、状態または障害の症状または合併症の開始を減少させるかまたは排除することを記載し、そして疾患、状態または障害の症状の開始、発展または再発を減少させるため、アピリモド組成物の投与を含む。40

【 0 0 6 0 】

[77]1 つの態様において、アピリモド組成物の投与は、治療しようとする疾患または障害の症状または合併症の排除を導くが、排除は必要ではない。1 つの態様において、症状の重症度が減少する。癌の背景において、こうした症状には、腫瘍が増殖因子を分泌し、細胞外マトリックスを分解し、血管形成され、隣接する組織への付着を喪失し、または転移する度合い、ならびに転移の数を含む、重症度または進行の臨床的マーカーが含まれる50

ことも可能である。

【0061】

[78]本明細書記載の方法にしたがった癌の治療は、腫瘍サイズの減少を生じることも可能である。腫瘍サイズの減少はまた、「腫瘍退行」と称されることも可能である。好ましくは、治療後、腫瘍サイズは、治療前のサイズに比較して、5%またはそれより多く減少し；より好ましくは、腫瘍サイズは、10%またはそれより多く減少し；より好ましくは、20%またはそれより多く減少し；より好ましくは、30%またはそれより多く減少し；より好ましくは、40%またはそれより多く減少し；さらにより好ましくは、50%またはそれより多く減少し；そして最も好ましくは、75%またはそれより多く減少する。腫瘍サイズは、測定の任意の再現可能な手段によって測定されてもよい。腫瘍サイズを腫瘍直径として測定してもよい。10

【0062】

[79]本明細書記載の方法にしたがった癌の治療は、腫瘍体積の減少を生じることも可能である。好ましくは、治療後、腫瘍体積は、治療前のサイズに比較して、5%またはそれより多く減少し；より好ましくは、腫瘍体積は、10%またはそれより多く減少し；より好ましくは、20%またはそれより多く減少し；より好ましくは、30%またはそれより多く減少し；より好ましくは、40%またはそれより多く減少し；さらにより好ましくは、50%またはそれより多く減少し；そして最も好ましくは、75%またはそれより多く減少する。腫瘍体積は、測定の任意の再現可能な手段によって測定されてもよい。20

【0063】

[80]本明細書記載の方法にしたがった癌の治療は、腫瘍数の減少を生じることも可能である。好ましくは、治療後、腫瘍数は、治療前の数に比較して、5%またはそれより多く減少し；より好ましくは、腫瘍数は、10%またはそれより多く減少し；より好ましくは、20%またはそれより多く減少し；より好ましくは、30%またはそれより多く減少し；より好ましくは、40%またはそれより多く減少し；さらにより好ましくは、50%またはそれより多く減少し；そして最も好ましくは、75%より多く減少する。腫瘍数は、測定の任意の再現可能な手段によって測定されてもよい。腫瘍数は、裸眼で、または特定の倍率で、可視である腫瘍を計数することによって測定可能である。好ましくは、特定の倍率は、2x、3x、4x、5x、10x、または50xである。30

【0064】

[81]本明細書記載の方法にしたがった癌の治療は、原発性腫瘍部位とは離れた他の組織または臓器における転移病変の数の減少を生じることも可能である。好ましくは、治療後、転移病変の数は、治療前の数に比較して、5%またはそれより多く減少し；より好ましくは、転移病変の数は、10%またはそれより多く減少し；より好ましくは、20%またはそれより多く減少し；より好ましくは、30%またはそれより多く減少し；より好ましくは、40%またはそれより多く減少し；さらにより好ましくは、50%またはそれより多く減少し；そして最も好ましくは、75%より多く減少する。転移病変の数は、測定の任意の再現可能な手段によって測定されてもよい。転移病変の数は、裸眼で、または特定の倍率で、可視である転移病変を計数することによって測定可能である。好ましくは、特定の倍率は、2x、3x、4x、5x、10x、または50xである。40

【0065】

[82]本明細書記載の方法にしたがった障害、疾患または状態の治療は、キャリアーのみを投与された集団に比較して、治療被験体集団の平均生存時間の増加を生じることも可能である。好ましくは、平均生存時間は、30日より長く；より好ましくは60日より長く；より好ましくは90日より長く；そして最も好ましくは120日より長く増加する。集団の平均生存時間の増加は、任意の再現可能な手段によって測定されてもよい。集団の平均生存時間の増加は、例えば、活性化合物での治療の開始後、生存の平均の長さを集団に関して計算することによって、測定可能である。集団の平均生存時間の増加はまた、活性化合物での治療の最初の周期の完了後、生存の平均の長さを集団に関して計算することによって、測定可能である。50

【0066】

[83]本明細書記載の方法にしたがった障害、疾患または状態の治療は、未治療被験体集団に比較して、治療被験体集団の平均生存時間の増加を生じることも可能である。好ましくは、平均生存時間は、30日より長く；より好ましくは60日より長く；より好ましくは90日より長く；そして最も好ましくは120日より長く増加する。集団の平均生存時間の増加は、任意の再現可能な手段によって測定されてもよい。集団の平均生存時間の増加は、例えば、活性化合物での治療の開始後、生存の平均の長さを集団に関して計算することによって、測定可能である。集団の平均生存時間の増加はまた、活性化合物での治療の最初の周期の完了後、生存の平均の長さを集団に関して計算することによって、測定可能である。

10

【0067】

[84]本明細書記載の方法にしたがった障害、疾患または状態の治療は、本明細書記載のアピリモド組成物ではない薬剤を含む単一療法を受けた集団に比較して、治療被験体集団の平均生存時間の増加を生じることも可能である。好ましくは、平均生存時間は、30日より長く；より好ましくは60日より長く；より好ましくは90日より長く；そして最も好ましくは120日より長く増加する。集団の平均生存時間の増加は、任意の再現可能な手段によって測定されてもよい。集団の平均生存時間の増加は、例えば、活性化合物での治療の開始後、生存の平均の長さを集団に関して計算することによって、測定可能である。集団の平均生存時間の増加はまた、例えば、活性化合物での治療の最初の周期の完了後、生存の平均の長さを集団に関して計算することによって、測定可能である。

20

【0068】

[85]本明細書記載の方法にしたがった障害、疾患または状態の治療は、キャリアーのみを投与された集団に比較して、治療被験体集団の死亡率の減少を生じることも可能である。本明細書記載の方法にしたがった障害、疾患または状態の治療は、未治療集団に比較して、治療被験体集団の死亡率の減少を生じることも可能である。本明細書記載の方法にしたがった障害、疾患または状態の治療は、アピリモド組成物ではない薬剤を含む単一療法を受けた集団に比較して、治療被験体集団の死亡率の減少を生じることも可能である。好ましくは、死亡率は、2%より多く；より好ましくは、5%より多く；より好ましくは、10%より多く；そして最も好ましくは、25%より多く減少する。治療被験体集団の死亡率の減少は、任意の再現可能な手段によって測定されてもよい。集団の死亡率の減少は、例えば、活性化合物での治療開始後、単位時間あたりの疾患関連死の平均数を集団に関して計算することによって、測定可能である。集団の死亡率の減少はまた、例えば、活性化合物での治療の最初の周期の完了後、単位時間あたりの疾患関連死の平均数を集団に関して計算することによって、測定可能である。

30

【0069】

[86]本明細書記載の方法にしたがった障害、疾患または状態の治療は、腫瘍増殖速度の減少を生じることも可能である。好ましくは、治療後、腫瘍増殖速度は、治療前に比較して、少なくとも5%減少し；より好ましくは、腫瘍増殖速度は、少なくとも10%減少し；より好ましくは、少なくとも20%減少し；より好ましくは、少なくとも30%減少し；より好ましくは、少なくとも40%減少し；より好ましくは、少なくとも50%減少し；さらにより好ましくは、少なくとも50%減少し；そして最も好ましくは、少なくとも75%減少する。腫瘍増殖速度は、測定の任意の再現可能な手段によって測定されてもよい。腫瘍増殖速度は、単位時間あたりの腫瘍直径の変化にしたがって測定可能である。1つの態様において、治療後、腫瘍増殖速度は、約ゼロであってもよく、そして同じサイズを維持するよう決定され、例えば増殖を停止している。

40

【0070】

[87]本明細書記載の方法にしたがった障害、疾患または状態の治療は、腫瘍再増殖の減少を生じることも可能である。好ましくは、治療後、腫瘍再増殖は5%未満であり；より好ましくは、腫瘍再増殖は、10%未満であり；より好ましくは、20%未満であり；より好ましくは、30%未満であり；より好ましくは、40%未満であり；より好ましくは

50

、50%未満であり；さらにより好ましくは、50%未満であり；そして最も好ましくは、75%未満である。腫瘍再増殖は、測定の任意の再現可能な手段によって測定されてもよい。腫瘍増殖は、例えば、治療後、先の腫瘍収縮後の腫瘍の直径の増加を測定することによって、測定される。腫瘍再増殖の減少は、治療を停止した後、腫瘍再発生が失敗したことによって示される。

【0071】

[88]本明細書記載の方法にしたがった細胞増殖性障害の治療または防止は、細胞増殖速度の減少を生じることも可能である。好ましくは、治療後、細胞増殖速度は、少なくとも5%であり；より好ましくは、少なくとも10%であり；より好ましくは、少なくとも20%であり；より好ましくは、少なくとも30%であり；より好ましくは、少なくとも40%であり；より好ましくは、少なくとも50%であり；さらにより好ましくは、少なくとも50%であり；そして最も好ましくは、少なくとも75%である。細胞増殖速度は、測定の任意の再現可能な手段によって測定されてもよい。細胞増殖速度は、例えば、単位時間あたりの組織試料中の分裂細胞数を測定することによって、測定される。10

【0072】

[89]本明細書記載の方法にしたがった細胞増殖性障害の治療または防止は、増殖細胞の割合の減少を生じることも可能である。好ましくは、治療後、増殖細胞の割合は、少なくとも5%減少し；より好ましくは、少なくとも10%；より好ましくは、少なくとも20%；より好ましくは、少なくとも30%；より好ましくは、少なくとも40%；より好ましくは、少なくとも50%；さらにより好ましくは、少なくとも50%；そして最も好ましくは、少なくとも75%減少する。増殖細胞の割合は、測定の任意の再現可能な手段によって測定されてもよい。好ましくは、増殖細胞の割合は、例えば組織試料中の非分裂細胞の数に比較して、分裂細胞の数を定量化することによって、測定される。増殖細胞の割合は、有糸分裂指数に同等であることも可能である。20

【0073】

[90]本明細書記載の方法にしたがった細胞増殖性障害の治療または防止は、細胞増殖の面積または領域のサイズの減少を生じることも可能である。好ましくは、治療後、細胞増殖の面積または領域のサイズは、治療前のサイズに比較して、少なくとも5%減少し；より好ましくは、少なくとも10%減少し；より好ましくは、少なくとも20%減少し；より好ましくは、少なくとも30%減少し；より好ましくは、少なくとも40%減少し；より好ましくは、少なくとも50%減少し；さらにより好ましくは、少なくとも50%減少し；そして最も好ましくは、少なくとも75%減少する。細胞増殖の面積または領域のサイズは、測定の任意の再現可能な手段によって測定されてもよい。細胞増殖の面積または領域のサイズは、細胞増殖の面積または領域の直径または幅として測定されてもよい。30

【0074】

[91]本明細書記載の方法にしたがった細胞増殖性障害の治療または防止は、異常な外見または形態を有する細胞の数または割合の減少を生じることも可能である。好ましくは、治療後、異常な形態を有する細胞の数は、治療前のサイズに比較して、少なくとも5%減少し；より好ましくは、少なくとも10%減少し；より好ましくは、少なくとも20%減少し；より好ましくは、少なくとも30%減少し；より好ましくは、少なくとも40%減少し；より好ましくは、少なくとも50%減少し；そして最も好ましくは、少なくとも75%減少する。異常な細胞の外見または形態は、測定の任意の再現可能な手段によって測定されてもよい。異常な細胞の形態は、顕微鏡によって、例えば倒立組織培養顕微鏡を用いて測定可能である。異常な細胞の形態は、核多形性の形を取りうる。40

【0075】

[92]本明細書において、用語「選択的」は、別の集団におけるよりも、1つの集団において、より高い頻度で起こる傾向を意味する。比較する集団は細胞集団であってもよい。好ましくは、本明細書に記載するようなアピリモド組成物は、正常細胞に比較して、過剰増殖細胞または異常に増殖する細胞に対して選択的に作用する。本明細書において、「正50

常細胞」は、「細胞増殖性障害」の一部と分類され得ない細胞である。正常細胞は、望ましくない状態または疾患の発展を導きうる、制御されないまたは異常な増殖、あるいはその両方を欠く。好ましくは、正常細胞は、正常に機能する細胞周期チェックポイント制御機構を所持する。好ましくは、アピリモド組成物は、1つの分子ターゲット（例えばターゲット・キナーゼ）を選択的に調節するよう作用するが、別の分子ターゲット（例えば非ターゲット・キナーゼ）を有意に調節しない。本発明はまた、酵素、例えばキナーゼの活性を選択的に阻害するための方法も提供する。好ましくは、事象は、集団Bに比較した際、集団Aにおいて、2倍より高くより頻繁に起こる場合、集団Bに比較して集団Aにおいて選択的に起こる。事象は、集団Aにおいて5倍より高くより頻繁に起こる場合、選択的に起こる。事象は、集団Aにおいて10倍より高く；より好ましくは、50倍より高く；さらにより好ましくは100倍より高く；そして最も好ましくは1000倍より高くより頻繁に起こる場合、集団Bに比較して集団Aにおいて選択的に起こる。例えば、細胞死は、正常細胞に比較して、疾患または過剰増殖細胞において、2倍より高くより頻繁に起こる場合、疾患または過剰増殖細胞において、選択的に起こると言われるであろう。

【0076】

薬学的組成物および配合物

[93]本発明は、哺乳動物、好ましくはヒトにおける使用に適した、好ましくは薬学的に許容されうる組成物である、アピリモド組成物を提供する。この文脈において、組成物はさらに、その量が疾患または障害の治療に有効である、少なくとも1つの薬学的に許容されうる賦形剤またはキャリアーをさらに含むことも可能である。1つの態様において、疾患または障害は、癌、好ましくはリンパ腫、そして最も好ましくはB細胞リンパ腫である。1つの態様において、疾患または障害はmTOR疾患または障害である。

【0077】

[94]1つの態様において、アピリモド組成物は、アピリモド遊離塩基またはジメシリ酸アピリモドである。

[95]1つの態様において、アピリモド組成物を、単一剤形で、少なくとも1つのさらなる活性剤と組み合わせる。1つの態様において、組成物はさらに酸化防止剤を含む。

【0078】

[96]1つの態様において、少なくとも1つのさらなる活性剤は、アルキル化剤、挿入剤、チューブリン結合剤、コルチコステロイド、およびその組み合わせからなる群より選択される。1つの態様において、少なくとも1つのさらなる活性剤は、イブルチニブ、リツキシマブ、ドキソルビシン、プレドニゾロン、ビンクリスチン、ベルケード、およびエベロリムス、ならびにその組み合わせからなる群より選択される療法剤である。1つの態様において、少なくとも1つのさらなる活性剤は、シクロホスファミド、ヒドロキシダウノルビシン（ドキソルビシンまたはアドリアマイシン^{T M}とも称される）、ビンクリスチン（オンコピン^{T M}とも称される）、プレドニゾン、プレドニゾロン、およびその組み合わせより選択される療法剤である。1つの態様において、少なくとも1つのさらなる活性剤は、アピリモド組成物の1またはそれより多い副作用を改善するように選択される、非療法剤である。1つの態様において、非療法剤は、オンドンセトロン、グラニセトロン、ドラセトロンおよびパロノセトロンからなる群より選択される。1つの態様において、非療法剤は、ピンドロールおよびリスペリドンからなる群より選択される。

【0079】

[97]1つの態様において、少なくとも1つのさらなる活性剤は、mTOR経路の阻害剤、PI3K阻害剤、二重PI3K/mTOR阻害剤、SRC阻害剤、VEGF阻害剤、ヤヌスキナーゼ（JAK）阻害剤、Raf阻害剤、Erk阻害剤、ファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤、ヒストン・デアセチラーゼ阻害剤、抗有糸分裂剤、多剤耐性排出阻害剤、抗生物質、および療法抗体より選択される。1つの態様において、少なくとも1つのさらなる活性剤は、ファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤（例えばティピファルニブ）、抗有糸分裂剤（例えばドセタキセル）、ヒストン・デアセチラーゼ阻害剤（例えばボリノスタット）、および多剤耐性排出阻害剤より選択される。

10

20

30

40

50

【0080】

[98] 1つの態様において、mTOR阻害剤は、ラパマイシン（シロリムスとも称される）、エベロリムス、テムシロリムス、リダフォロリムス、ウミロリムス、ゾタロリムス、AZD8055、INK128、WYE-132、トリン-1、ピラゾロピリミジン類似体PP242、PP30、PP487、PP121、KU0063794、KU-BMC-L-200908069-1、ワイズ(Wyeth)-BMC-L-200910075-9b、INK-128、XL388、AZD8055、P2281、およびP529からなる群より選択される。例えば、Liuら、Drug Disc. Today Ther. Strateg., 6(2): 47-55(2009)を参照されたい。

【0081】

10

[99] 1つの態様において、mTOR阻害剤は、トランス-4-[4-アミノ-5-(7-メトキシ-1H-インドール-2-イル)イミダゾ[5,1-f][1,2,4]トリアジン-7-イル]シクロヘキサンカルボン酸(OSI-027としてもまた知られる)、ならびにその任意の塩、溶媒和物、水和物、および他の物理的型、結晶またはアモルファスである。US 2007/0112005を参照されたい。OSI-027は、本明細書に援用されるUS 2007/0112005にしたがって調製可能である。1つの態様において、mTOR阻害剤はOXA-01である。例えば、WO 2013152342 A1を参照されたい。

【0082】

20

[100] 1つの態様において、PI3K阻害剤は、GS-1101（イデラリシブ）、GDC-0941（ピクチリシブ）、LY294002、BKM120（ブルバリシブ）、PI-103、TGX-221、IC-87114、XL-147、ZSTK474、BYL719、AS-605240、PIK-75、3-メチルアデニン、A66、PIK-93、PIK-90、AZD6482、IPI-145（デュベリシブ）、TG100-115、AS-252424、PIK294、AS-604850、GSK2636771、BAY-80-6946（コパンリシブ）、CH5132799、CAY10505、PIK-293、TG100713、CZC24832およびHS-173からなる群より選択される。

【0083】

30

[101] 1つの態様において、二重PI3K/mTOR阻害剤は、GDC-094、WAY-001、WYE-354、WAY-600、WYE-687、ワイエス-BMC-L-200910075-16b、ワイエス-BMC-L-200910096-27、KU0063794およびKUBMC-L-200908069-5、NVP-BEZ235、XL-765、PF-04691502、GDC-0980（アピトリシブ）、GSK1059615、PF-05212384、BGT226、PKI-402、VS-558およびGSK2126458からなる群より選択される。例えば、本明細書に援用される、Liuら、Drug Disc. Today Ther. Strateg., 6(2): 47-55(2009)を参照されたい。

【0084】

40

[102] 1つの態様において、mTOR経路阻害剤は、mTOR経路中のタンパク質（または該タンパク質をコードする核酸）に結合し、そしてその発現レベルまたは活性を阻害する、ポリペプチド（例えば抗体またはその断片）または核酸（例えば二本鎖小分子干渉RNA、小分子ヘアピンRNA、マイクロRNA、アンチセンス・オリゴヌクレオチド、ロック核酸、またはアプタマー）である。例えば、ポリペプチドまたは核酸は、mTOR複合体1(mTORC1)、mTORの制御関連タンパク質(Raptor)、SEC13タンパク質8を含む哺乳動物致死(MLST8)、40kDaのプロリンリッチAkt基質(PRAS40)、DEPDメイン含有mTOR相互作用タンパク質(DEPTOR)、mTOR複合体2(mTORC2)、mTORのラパマイシン非感受性コンパニオン(RICTOR)、Gタンパク質ベータサブユニット様(GL)、哺乳動物ストレス活性化プロテインキナーゼ相互作用タンパク質1(mSIN1)、パキシリソ、RhoA、Ras関連C3ボツリヌス毒素基質1(Rac1)、細胞分裂制御タンパク質42相同体

50

(Cdc42)、プロテインキナーゼC (PKC)、セリン／スレオニン・プロテインキナーゼAkt、ホスホイノシチド3-キナーゼ(PI3K)、p70S6K、Ras、および／または真核生物翻訳開始因子4E(eIF4E)結合タンパク質(4EBPs)、あるいはこれらのタンパク質の1つをコードする核酸を阻害する。

【0085】

[103] 1つの態様において、SRC阻害剤は、ボスチニブ、サラカチニブ、ダサチニブ、ポナチニブ、KX2-391、XL-228、TG100435/TG100855、およびDCC2036からなる群より選択される。例えば、Pulsら、Oncologist. 2011 May; 16(5): 566-578を参照されたい。1つの態様において、SRC阻害剤は、SRCタンパク質またはSRCタンパク質をコードする核酸に結合し、そしてその発現レベルまたは活性を阻害する、ポリペプチド(例えば抗体またはその断片)または核酸(例えば二本鎖小分子干渉RNA、小分子ヘアピンRNA、マイクロRNA、アンチセンス・オリゴヌクレオチド、ロック核酸、またはアプタマー)である。10

【0086】

[104] 1つの態様において、VEGF阻害剤は、ベバシズマブ、スニチニブ、パゾパニブ、アキシチニブ、ソラフェニブ、レゴラフェニブ、レンバチニブ、およびモテサニブより選択される。1つの態様において、VEGF阻害剤は、VEGFタンパク質、VEGF受容体タンパク質、またはこれらのタンパク質の1つをコードする核酸に結合し、そしてその発現レベルまたは活性を阻害する、ポリペプチド(例えば抗体またはその断片)または核酸(例えば二本鎖小分子干渉RNA、小分子ヘアピンRNA、マイクロRNA、アンチセンス・オリゴヌクレオチド、モルホリノ、ロック核酸、またはアプタマー)である。例えばVEGF阻害剤は、可溶性VEGF受容体(例えば可溶性VEGF-C/D受容体(sVEGFR-3))である。20

【0087】

[105] 1つの態様において、JAK阻害剤は、ファシチニブ、ルキソリチニブ、バリチニブ、CYT387(CAS番号1056634-68-4)、レスタウルチニブ、パクリチニブ、およびTG101348(CAS番号936091-26-8)より選択される。1つの態様において、JAK阻害剤は、JAK(例えばJAK1、JAK2、JAK3、またはTYK2)またはJAKタンパク質をコードする核酸に結合し、そしてその発現レベルまたは活性を阻害する、ポリペプチド(例えば抗体またはその断片)または核酸(例えば二本鎖小分子干渉RNA、小分子ヘアピンRNA、マイクロRNA、アンチセンス・オリゴヌクレオチド、モルホリノ、ロック核酸、またはアプタマー)である。30

【0088】

[106] 1つの態様において、Raf阻害剤は、PLX4032(ベムラフェニブ)、ソラフェニブ、PLX-4720、GSK2118436(ダプラフェニブ)、GDC-0879、RAF265、AZ-628、NVP-BHG712、SB90885、ZM336372、GW5074、TAK-632、CEP-32496およびLGX818(エンコラフェニブ)より選択される。1つの態様において、Raf阻害剤は、Raf(例えばA-Raf、B-Raf、C-Raf)またはRafタンパク質をコードする核酸に結合し、そしてその発現レベルまたは活性を阻害する、ポリペプチド(例えば抗体またはその断片)または核酸(例えば二本鎖小分子干渉RNA、小分子ヘアピンRNA、マイクロRNA、アンチセンス・オリゴヌクレオチド、モルホリノ、ロック核酸、またはアプタマー)である。1つの態様において、MEK阻害剤は、AZD6244(セルメチニブ)、PD0325901、GSK1120212(トラメチニブ)、U0126-EtoH、PD184352、RDEA119(ラファメチニブ)、PD98059、BIX02189、MEK162(ビニメチニブ)、AS-703026(ピマセルチブ)、SL-327、BIX02188、AZD8330、TAK-733およびPD31808より選択される。1つの態様において、MEK阻害剤は、MEK(例えばMEK-1、MEK-2)またはMEKタンパク質をコードする核酸に結合し、そしてその発現レベルまたは活性を阻害する、ポリペプチド(例えば抗体またはその断片)または核酸(例えばアブタマー)である。40

二本鎖小分子干渉RNA、小分子ヘアピンRNA、マイクロRNA、アンチセンス・オリゴヌクレオチド、モルホリノ、ロック核酸、またはアプタマー)である。

【0089】

[107] 1つの態様において、Akt阻害剤は、MK-2206、KRX-0401(ペリフォシン)、GSK690693、GDC-0068(イパタセルチブ)、AZD5363、CCT128930、A-674563、PHT-427より選択される。1つの態様において、Akt阻害剤は、Akt(例えばAkt-1、Akt-2、Akt-3)またはAktタンパク質をコードする核酸に結合し、そしてその発現レベルまたは活性を阻害する、ポリペプチド(例えば抗体またはその断片)または核酸(例えば二本鎖小分子干渉RNA、小分子ヘアピンRNA、マイクロRNA、アンチセンス・オリゴヌクレオチド、モルホリノ、ロック核酸、またはアプタマー)である。
10

【0090】

[108] 1つの態様において、ファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤は、LB42708またはティピファルニブより選択される。1つの態様において、ファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤は、ファルネシルトランスフェラーゼまたはファルネシルトランスフェラーゼタンパク質をコードする核酸に結合し、そしてその発現レベルまたは活性を阻害する、ポリペプチド(例えば抗体またはその断片)または核酸(例えば二本鎖小分子干渉RNA、小分子ヘアピンRNA、マイクロRNA、アンチセンス・オリゴヌクレオチド、モルホリノ、ロック核酸、またはアプタマー)である。1つの態様において、ヒストン調節阻害剤は、アナカルジン酸、C646、MG149(ヒストンアセチルトランスフェラーゼ)、GSK-J4-Hc1(ヒストンデメチラーゼ)、GSK343(EZH2に対して活性)、BIX-01294(ヒストンメチルトランスフェラーゼ)、MK0683(ボリノstatt)、MS275(エンチノstatt)、LBH589(パノビノstatt)、トリコスタチンA、MGCD0103(モセチノstatt)、タスキニモッド、TM-P269、ネクスツラstattA、RG2833、PDX101(ベリノstatt)より選択される。
20

【0091】

[109] 1つの態様において、抗有糸分裂剤は、グリセオフルビン、酒石酸ビノレルビン、パクリタキセル、ドセタキセル、ビンクリスチン、ビンプラスチン、エポチロンA、エポチロンB、ABT-751、CYT997(レキシブリン)、酒石酸ビンフルニン、フオスプレタブリン、GSK461364、ON-01910(リゴセルチニブ)、Ro3280、B12536、NMS-P937、B1-6727(ボラセルチブ)、HMN-214およびMLN0905より選択される。
30

【0092】

[110] 1つの態様において、ポリエーテル抗生物質は、モネンシンナトリウム、ナイジエリシン、バリノマイシン、サリノマイシンより選択される。

[111] 「薬学的組成物」は、被験体への投与に適した薬学的に許容されうる型で、本明細書記載の化合物を含有する配合物である。本明細書において、句「薬学的に許容されうる」は、適切な利益/リスク比と釣り合って、過剰な毒性、刺激、アレルギー反応、あるいは他の問題または合併症を伴わずに、ヒトおよび動物の組織と接触させて使用するために適している、正当な医学的判断の範囲内にある、化合物、材料、組成物、キャリア、および/または剤形を指す。
40

【0093】

[112] 「薬学的に許容されうる賦形剤」は、一般的に安全であり、非毒性であり、そして生物学的にまたは別の意味で望ましくないものではない薬学的組成物を調製する際に有用な賦形剤を意味し、そしてこれには、獣医学的使用ならびにヒト薬学的使用に許容されうる賦形剤が含まれる。薬学的に許容されうる賦形剤の例には、限定なしに、無菌液体、水、緩衝生理食塩水、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、液体ポリエチレングリコール等)、油、界面活性剤、懸濁剤、炭水化物(例えばグルコース、ラクトース、スクロースまたはデキストラン)、酸化防止剤(例えばアスコル
50

ピン酸またはグルタチオン)、キレート剤、低分子量タンパク質、またはその適切な混合物が含まれる。

【0094】

[113]薬学的組成物を、バルクで、または投薬単位型で提供することも可能である。投与を容易にし、そして剤形を均一にするため、薬学的組成物を投薬単位型で配合することが特に好適である。用語「投薬単位型」は、本明細書において、治療しようとする被験体のための単一剤形として適切な、物理的に別個の単位を指し；各単位は、必要な薬学的キャリアーと関連して、望ましい療法効果を生じると計算された活性化合物のあらかじめ決定された量を含有する。本発明の投薬単位型に関する明記は、活性化合物のユニークな特性および達成しようとする特定の療法効果に指示され、そして直接依存する。投薬単位型は、アンプル、バイアル、座薬、ドラジエ、錠剤、カプセル、IVバッグ、またはエアロゾル吸入器上の単一ポンプであることも可能である。10

【0095】

[114]療法適用において、投薬量 (dosage) は、選択される投薬量に影響を及ぼす他の要因の中でも、剤、レシピエント患者の年齢、体重、および臨床状態、ならびに療法を投与する臨床医または開業医の経験および判断に応じて多様である。一般的に、用量は、療法的に有効な量であるべきである。投薬量は、測定の mg / kg / 日の単位で提供される（用量は、患者の kg での体重、 m² での体表面積、および年での年齢に関して調整可能である）。薬学的組成物の有効量は、臨床医または他の認定された観察者によって記述されるように客観的に同定可能な改善を提供するものである。例えば、障害、疾患または状態の症状の軽減。本明細書において、用語「投薬量有効方式」は、被験体または細胞において、望ましい生物学的效果を產生するための薬学的組成物の量を指す。20

【0096】

[115]例えば、投薬単位型は、1ナノグラム～2ミリグラム、または0.1ミリグラム～2グラム；または10ミリグラム～1グラム、または50ミリグラム～500ミリグラムまたは1マイクログラム～20ミリグラム；または1マイクログラム～10ミリグラム；または0.1ミリグラム～2ミリグラムを含むことも可能である。

【0097】

[116]薬学的組成物は、任意の望ましい経路（例えば肺、吸入、鼻内、経口、頬、舌下、非経口、皮下、静脈内、筋内、腹腔内、胸膜内、クモ膜下腔内、経皮、経粘膜、直腸等）による投与のために適した任意の型（例えば液体、エアロゾル、溶液、吸入剤、ミスト、スプレー；または固体、粉末、軟膏、ペースト、クリーム、ローション、ジェル、パッチ等）を取ることも可能である。例えば、本発明の薬学的組成物は、吸入または吹送（口または鼻のいずれかを通じる）によるエアロゾル投与のための水溶液または粉末の形、経口投与のための錠剤またはカプセルの形；直接注射によるか、または静脈内注入のための無菌注入液体の添加による投与に適した、無菌水溶液または懸濁物の形；あるいは経皮または経粘膜投与のためのローション、クリーム、フォーム、パッチ、懸濁物、溶液、または座薬の形であることも可能である。30

【0098】

[117]薬学的組成物は、限定されるわけではないが、カプセル、錠剤、頬型 (buccal forms)、トローチ、ロゼンジ、およびエマルジョン、水溶液、分散物または溶液の形の経口液体を含む、経口的に許容されうる剤形の形であることも可能である。カプセルは、薬学的に許容されうるデンブン（例えばトウモロコシ、ジャガイモまたはタピオカデンブン）、糖、人工甘味料、粉末化セルロース、例えば結晶および微結晶性セルロース、小麦粉、ゼラチン、ゴム等の不活性充填剤および／または希釈剤と、本発明の化合物の混合物を含有することも可能である。経口使用のための錠剤の場合、一般的に用いられるキャリアーには、ラクトースおよびコーンスタークが含まれる。潤滑剤、例えばステアリン酸マグネシウムもまた添加してもよい。カプセル型の経口投与のため、有用な希釈剤には、ラクトースおよび乾燥コーンスタークが含まれる。水性懸濁物および／またはエマルジョンを経口投与する場合、本発明の化合物を、乳化剤および／または懸濁剤と組み合わせて、油4050

相中で懸濁するかまたは溶解することも可能である。望ましい場合、特定の甘味料および／またはフレーバー剤および／または着色剤を添加してもよい。

【0099】

[118]薬学的組成物は、錠剤の形であってもよい。錠剤は、不活性希釈剤またはキャリヤー、例えば糖または糖アルコール、例えばラクトース、スクロース、ソルビトールまたはマンニトールとともに、本発明の化合物の単位剤形を含むことも可能である。錠剤はさらに、非糖由来希釈剤、例えば炭酸ナトリウム、リン酸カルシウム、炭酸カルシウム、あるいはセルロースまたはその誘導体、例えばメチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、およびデンプン、例えばコーンスタークを含むことも可能である。錠剤はさらに、結合剤および顆粒化剤、例えばポリビニルピロリドン、崩壊剤（例えば膨張性架橋ポリマー、例えば架橋カルボキシメチルセルロース）、潤滑剤（例えばステアリン酸塩）、保存剤（例えばパラベン）、酸化防止剤（例えばBHT）、緩衝剤（例えばリン酸またはクエン酸緩衝剤）、および発泡剤、例えばクエン酸／重炭酸混合物を含むことも可能である。10

【0100】

[119]錠剤は、コーティング錠剤であることも可能である。コーティングは、保護フィルムコーティング（例えばワックスまたはワニス）、または活性剤の放出、例えば遅延放出（消化後、あらかじめ決定された遅延時間後に活性剤を放出する）または胃腸管の特定の位置での放出を制御するように設計されたコーティングであることも可能である。後者は、例えば、溶腸性フィルムコーティング、例えば商品名Eudragit（登録商標）の元に販売されているものを用いて達成可能である。20

【0101】

[120]錠剤配合物は、慣用的な圧縮、湿式造粒法または乾式造粒法によって作製可能であり、そして限定されるわけではないが、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、タルク、ラウリル硫酸ナトリウム、微結晶性セルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、ポリビニルピロリドン、ゼラチン、アルギン酸、アカシアゴム、キサンタンゴム、クエン酸ナトリウム、複合ケイ酸塩、炭酸カルシウム、グリシン、デキストリン、スクロース、ソルビトール、リン酸二カルシウム、硫酸カルシウム、ラクトース、カオリン、マンニトール、塩化ナトリウム、タルク、乾燥デンプンおよび粉末化糖を含む、薬学的に許容されうる希釈剤、結合剤、潤滑剤、崩壊剤、表面修飾剤（界面活性剤を含む）、懸濁剤または安定化剤を利用する。好ましい表面修飾剤には、非イオン性および陰イオン性表面修飾剤が含まれる。表面修飾剤の代表的な例には、限定されるわけではないが、ポロキサマー188、塩化ベンザルコニウム、ステアリン酸カルシウム、セトステアリルアルコール、セトマクロゴール乳化ワックス、ソルビタンエステル、コロイド状二酸化ケイ素、リン酸塩、ドデシル硫酸ナトリウム、ケイ酸マグネシウムアルミニウム、およびトリエタノールアミンが含まれる。30

【0102】

[121]薬学的組成物は、硬または軟ゼラチンカプセルの形であってもよい。この配合にしたがって、本発明の化合物は、固形、半固形、または液体型であってもよい。

[122]薬学的組成物は、非経口投与に適した無菌水溶液または水性分散物の形であってもよい。用語、非経口には、本明細書において、皮下、皮内、静脈内、筋内、関節内、動脈内、滑膜内、胸膜内、クモ膜下腔内、病変内および頭蓋内注射または注入技術が含まれる。40

【0103】

[123]薬学的組成物は、直接注射によるか、または静脈内注入用の無菌注入液を添加することによる、いずれかでの投与に適した無菌水溶液または水性分散物の形であることも可能であり、そして水、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および液体ポリエチレングリコール）、その適切な混合物、あるいは1またはそれより多い植物油を含有する溶媒または分散媒体を含む。遊離塩基または薬理学的に許容されうる塩として、本発明の化合物の溶液または懸濁物を、界面活性剤と適切に混合された50

水中で調製することも可能である。適切な界面活性剤の例を以下に提供する。分散剤はまた、グリセロール、液体ポリエチレングリコールおよび油中のこれらの混合物中で、調製することも可能である。

【0104】

[124]本発明の方法で使用するための薬学的組成物は、配合物中に存在する任意のキャリアーまたは賦形剤（例えばラクトースまたはマンニトール）に加えて、1またはそれより多い添加剤をさらに含むことも可能である。1またはそれより多い添加剤は、1またはそれより多い界面活性剤を含むかまたはこれらからなることも可能である。界面活性剤は、典型的には、1またはそれより多い長鎖脂肪族鎖、例えば細胞の液体構造内に直接これらを挿入することを可能にし、薬剤浸透および吸収を増進させる脂肪酸を有する。界面活性剤の相対親水性および疎水性を特徴付けるために、一般的に用いられる経験的なパラメータは、親水性 - 親油性バランス（「H L B」値）である。より低いH L B 値を持つ界面活性剤は、より疎水性であり、そして油中でより高い溶解度を有し、一方、より高いH L B 値を持つ界面活性剤は、より親水性であり、そして水溶液中でより高い溶解度を有する。したがって、親水性界面活性剤は、一般的に、約10より大きいH L B 値を有する化合物と見なされ、そして疎水性界面活性剤は、一般的に、約10より低いH L B 値を有するものである。しかし、これらのH L B 値は、単にガイドであり、これは、多くの界面活性剤に関して、H L B 値を決定するための選択される経験的方法に応じて、H L B 値は約8 H L B 単位もの相違がありうるためである。

【0105】

[125]本発明の組成物中で使用するための界面活性剤の中には、とりわけ、ポリエチレングリコール（P E G）- 脂肪酸およびP E G - 脂肪酸モノおよびジエステル、P E G - グリセロールエステル、アルコール - 油トランスエステル化産物、ポリグリセリル脂肪酸、プロピレングリコール脂肪酸エステル、ステロールおよびステロール誘導体、ポリエチレングリコールソルビタン脂肪酸エステル、ポリエチレングリコールアルキルエーテル、糖およびその誘導体、ポリエチレングリコールアルキルフェノール、ポリオキシエチレン - ポリオキシプロピレン（P O E - P O P）ブロックコポリマー、ソルビタン脂肪酸エステル、イオン性界面活性剤、脂溶性ビタミンおよびその塩、水溶性ビタミンおよびその両親媒性誘導体、アミノ酸およびその塩、ならびに有機酸およびそのエステルおよび無水物がある。

【0106】

[126]本発明はまた、本発明の方法において使用するための薬学的組成物を含むパッケージングおよびキットも提供する。キットは、瓶、バイアル、アンプル、ブリストーパック、およびシリングからなる群より選択される1またはそれより多い容器を含むことも可能である。キットにはさらに、本発明の疾患、状態または障害を治療そして / または防止する際に使用するための1またはそれより多い使用説明書、1またはそれより多いシリング、1またはそれより多いアプリケーター、あるいは本発明の薬学的組成物を再構成するため適した無菌溶液が含まれることも可能である。

【0107】

[127]本明細書で用いるすべての割合および比は、別に示さない限り、重量による。本発明の他の特徴および利点は、異なる実施例から明らかである。提供する実施例は、本発明を実施する際に有用な異なる構成要素および方法論を例示する。実施例は、請求する発明を制限しない。本開示に基づき、当業者は本発明を実施するために有用な他の構成要素および方法論を同定し、そして使用することも可能である。

【実施例】

【0108】

実施例1：アピリモドは、T S C 2 ヌル(null) 細胞増殖の非常に選択的な阻害剤である

[128]アピリモドはT S C 2 - / - マウス胚性線維芽（M E F - E V）細胞を用いたハイスクループット細胞生存度スクリーニングで同定された。T S C 2 ヌル細胞は、恒常的に

10

20

30

40

50

活性であるmTORを有する。簡潔には、TSC2-/-ノックアウトマウス胚由来のMEF細胞(Ondaら、J. Clin. Invest. 104(6):687-95, 1999)を、ハイグロマイシン抗生物質耐性遺伝子(MEF-EV)をコードするレトロウイルスベクター、またはTSC2(MEF-TSC2)もまたコードする同じレトロウイルスベクターに感染させた。次いで、MEF-EVおよびMEF-TSC2株を、ハイグロマイシン選択によって樹立した。

【0109】

[129] 10% FBS (Omega Scientific) および 2 mM L-グルタミンを含有するDMEM中で細胞を拡大した。HTSアッセイで直接使用するため、細胞の凍結ストックを調製した。細胞を採取し、ペレットにし、そして次いで、95% FBS および 5% DMSO中、 1×10^7 細胞 / ml の濃度で再懸濁した。1 ml のアリコットを 1 分間に 1 の速度で -80 まで速度凍結した。次いで、これらのストックを、長期保存のため、気相液体窒素に移した。

【0110】

[130] スクリーニングのため、ちょうど融解するまで、連続して攪拌しながら、バイアルを 37 で融解し、次いで室温のアッセイ培地中に再懸濁し、そして 1,000 rpm で 5 分間遠心分離した。生じたペレットを適切な体積中に再懸濁し、そして自動化細胞計数装置を用いて計数し、そして 40,000 細胞 / ml の最終カウントまで、適宜、希釈した。

【0111】

[131] 試験化合物 (5 μl ストック溶液、6 × 望ましい最終ウェル濃度) を、Biomek FX 液体取り扱い装置を用いて、384 ウェルアッセイプレート (Corning 3712) に分配した。MEF-EV 細胞 (培地 25 μL 中、ウェルあたり、1000 細胞) を、標準的な穿孔カセットヘッドを持つ非接触分配系である Thermo Wellmate を用いて、これらのあらかじめフォーマットされたプレートに添加した。プレートを 37 で 72 時間、加湿インキュベーター中、5% CO₂ の大気下で、インキュベーションした。

【0112】

[132] 製造者の指示の通りに、CellTiter-Glo (登録商標) 発光アッセイ (Promega) を用いて、細胞生存度を決定した。生存度を、未処理対照細胞の割合として表した。例えば、アピリモドに関しては、MEF-EV 細胞生存度 (平均 +/- 標準偏差、n = 3) は、0.5 μM で 2.16 +/- 0.36%、そして 5 μM で 1.94 +/- 0.07% であった。

【0113】

[133] TSC2 不全細胞に対するアピリモドの活性を、上述の MEF-EV および MEF-TSC2 株、ならびに同質遺伝子株の 3 つのさらなる対に対する 10 ポイント用量反応を実行することによって、さらに立証した：(1) (TSC2-/-、p53-/-) および (TSC2+/-、p53-/-) MEF 株を、標準法にしたがって、(TSC2-/-、p53-/-) または (TSC2+/-、p53-/-) 胚から樹立した。例えば Zhang ら、J. Clin. Invest. 112, 1223-33, 2003 を参照されたい。(2) ELT3-EV および ELT3-TSC2 株を、ELT3 ラット腫瘍細胞株から樹立した。ELT3 株は、LAM/TSC の樹立されたラット腫瘍モデルである。例えば、Howe ら、Am. J. Pathol. 146, 1568-79, 1995 を参照されたい。これらの細胞は、TSC2 中に不活性化突然変異を有し、該突然変異は、mTOR 経路の恒常的活性化を導く。細胞の同質遺伝子対を樹立するため、ELT3 細胞を、ハイグロマイシン抗生物質耐性遺伝子をコードするレトロウイルスベクター (ELT3-EV) または TSC2 もまたコードする同じレトロウイルスベクター (ELT3-TSC2) に感染させた。次いで、ハイグロマイシン選択によって、ELT3-EV および ELT3-TSC2 株を樹立した。(3) TRI-AML 10 および AML 103 株を、Elizabeth Henske 博士 (Fox Chase Cancer Center、ペンシルバニア州フィラデルフィア) によって提供される TSC2 ヌル初代ヒト AML 試料から樹立した。細胞を、HPV16-E6 および E7 オープンリーディングフレームおよびネ

10

20

30

40

50

オマイシン耐性カセットをコードする広宿主性レトロウイルス L X S N 1 6 E 6 E 7 に感染させた。細胞を拡大し、そしてネオマイシン選択した。個々のクローンを単離し、そして凍結した。ヒト・テロメラーゼ遺伝子 (h T E R T) とハイグロマイシン耐性カセットのコード配列 (pLXSN hTERT-hyg プラスミド) を、Fugene6 トランスフェクション試薬 (Roche Applied Science、インディアナ州インディアナポリス) を用いて、T S C 2 - / - 確認 E 6 E 7 A M L クローン内で安定発現させた。対照ゼオマイシン選択プラスミド (pcDNA3.1-zeo) の安定取り込みによって、T R I - A M L 1 0 2 を生成する一方、T R I - A M L 1 0 3 は、ヒト T S C 2 c D N A p c D N A 3 . 1 - z e o プラスミドを発現する。これらの操作プロセスの結果として、T R I 1 0 2 および T R I 1 0 3 は、どちらも、ネオマイシン、ハイグロマイシン、およびゼオマイシン耐性株である。

10

【 0 1 1 4 】

[134] 10 ポイント用量反応のため、1 0 0 μ L の増殖培地 (D M E M (CellGro 10-017-CV) F B S 1 0 % (Sigma Aldrich F2442-500ML、ロット 1 2 D 3 7 0) ペニシリン / ストレプトマイシン (1 0 0 X) (CellGro Ref 30-002)) 中、7 5 0 の M E F 、2 0 0 0 の E L T 3 、または 2 0 0 0 の A M L 細胞を 9 6 ウェルプレートのウェルあたりにプレーティングした。細胞をプレーティングした 2 4 時間後、培地を取り除き、そして 1 0 0 μ L の増殖培地中のアピリモド希釈物 (1 ~ 5 0 0 n M 、2 倍希釈) を添加した (0 . 1 % 最終 D M S O 濃度) 。化合物を添加した 7 2 時間後、CellTiter-Glo (登録商標) 発光アッセイ (P r o m e g a) によって相対細胞生存度を決定し、そしてビヒクル (D M S O) 処理対照細胞に比較した割合として現した。次いで、X L F I T (I D B S) を用いて、I C ₅₀ 値を計算した。

20

【 0 1 1 5 】

[135] T S C 2 不全細胞は、アピリモドに非常に感受性であった (I C ₅₀ = 2 0 n M 、図 1) 。T S C 2 - / - p 5 3 - / - M E F は、T S C 2 + / - p 5 3 - / - M E F に比較して、1 より高い選択性比 (2 . 4 5) によって示されるように、アピリモドに対して増加した感受性を示した。

【 0 1 1 6 】

【表 1 】

表 1 : 多様な細胞種におけるアピリモドの I C ₅₀ (生存度)

30

細胞種:	MEF TSC2 -/-	MEF TSC2 -/- p53 -/-	AML TSC2 +/- p53 -/-	ELT3
I C 50 T S C 2 -/-	19.70	28.80	117.00	13.70
I C 50 T S C 2 レスキュー	20.10	70.70	132.00	16.05
選択性比	1.02	2.45	1.13	1.17

T S C 2 -/- 不全およびレスキュー株に対する 10 ポイント用量反応から計算した I C 50 (nM) 。

40

I C 50 を 2 つの実験の平均から計算する。T S C 2 -/- 株によって T S C 2 レスキュー株の I C 50 を割ることによって選択性比を計算する。

【 0 1 1 7 】

[136] さらに、より高い濃度のアピリモドは、T S C 2 レスキュー M E F - T S C 2 細胞に比較して、T S C 2 - / - M E F - E V 細胞に対してより高い強度を有した。このデータを、アピリモドが末梢血单核細胞 (Wada ら、 Blood 109, 1156-64, 2007) に対して細胞傷害性でなく、また U 9 3 7 、 H E L A 、 J u r k a t 、および T H P - 1 (P C T 公報第 W O 2 0 0 6 / 1 2 8 1 2 9 号) を含む多様な他の癌細胞株に対しても細胞傷害性でないという事実と合わせると、アピリモドでの T S C 2 - / - 癌細胞の処置に関して、

50

高い療法指數が存在すると示唆される（図2A～2C）。

【0118】

実施例2：アピリモドは、癌細胞において非常に選択的な細胞傷害性剤である [137] 製造者の指示にしたがって、標準的細胞生存度アッセイ、例えばCellTiterGlo^T M を用いて、アピリモドの細胞傷害活性を評価した。アピリモドに対する感受性に関して、122のヒト癌細胞株を評価した。IC₅₀ が 500 nM 未満である場合、細胞株をアピリモド感受性と称した。35の細胞株は、アピリモドが誘導する細胞傷害性に対して感受性であると同定された。アピリモドはまた、正常細胞に比較して、癌細胞に関して非常に選択的であり、正常細胞は、癌細胞よりも 20～200 倍高い範囲の IC₅₀ を有した（図2A～2C）。

10

【0119】

[138] 図2A は、アピリモド感受性細胞には、非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、結腸直腸癌、および肺癌を含む、いくつかの異なる癌に由来する細胞が含まれたことを示す。試験したもののうち、最も感受性であるのは、非ホジキンリンパ腫（NHL）細胞株であった。試験した NHL 細胞株のうち、ちょうど 50% 強がアピリモドに感受性であった。NHL は、重症度が多様である造血性悪性腫瘍の多様な群に相当し、サブタイプは、緩慢増殖から侵襲性の範囲に渡る。NHL のサブタイプには、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫（DLBCL）、バーキットリンパ腫、マントルリンパ腫、および濾胞性 B 細胞リンパ腫が含まれる。DLBCL は、遺伝子発現および起源の細胞に基づいて、2つのサブタイプ GCB および ABC に分割される。GCB は、胚中心 B 細胞型であり、正常胚中心 B 細胞から生じ、そして ABC は、活性化 B 細胞型であり、形質細胞に分化するプロセスにおいて、胚中心後 B 細胞から生じる。本研究において、本発明者らは、NHL の特定のサブタイプが、アピリモドに非常に感受性であり、IC₅₀ 値が 100 nM 未満であることを見出した（500 nM である、スクリーニングにおける感受性 / 非感受性カットオフと比較される）。これらには、ヒト・バーキットリンパ腫（ST486）、ヒト・マントル細胞リンパ腫（JeKo-1）およびヒトDLBCL（SUDHL-4、IC₅₀ = 50 nM）が含まれた。図2B を参照されたい。これらの結果は、しばしば標準治療に対して抵抗性であるより侵襲性のサブタイプを含む、多くの NHL 癌に対して有効である可能性があることを示す。

20

【0120】

[139] 以下の実施例 6 および 7 に詳述するように、本発明者らは、癌細胞に対するアピリモドの選択的細胞傷害性の根底にある生物学的機構を調べ、そしてこれが、これらの細胞における細胞内輸送の阻害および対応するアポトーシスの増加のためであることを見出した。

30

【0121】

実施例3：アピリモドは、CHOP の構成要素と相乗作用する

[140] 上に論じるように、NHL 細胞は、本発明者らの癌細胞株スクリーンにおいて、アピリモドに特に感受性を示した。DLBCL は、NHL の最も一般的なタイプであり、西側諸国において、リンパ腫の 30～40% を占める。DLBCL は成熟 B 細胞の侵襲性新生物である。すべての DLBCL 患者のおよそ 40% は、最初の一連の治療後に再発する。多くの難治性 DLBCL - GCB 癌は、MYC および BCL2 の単一および二重の転位置を示す。これらの遺伝子変異体を有する患者は、少なくとも部分的に、MYC および BCL2 の過剰発現のため、より劣った予後を有する傾向がある。特に、アピリモドは、これらの転位置を示す DLBCL - GCB 細胞株においてさえ有効であり（表2）、単一療法として単独で、または標準治療と組み合わせてのいずれかで、NHL の侵襲性サブタイプの治療にさえ、アピリモドが役割を果たすことが裏付けられた。

40

【0122】

【表2】

表2. B細胞リンパ腫株に関するBcl-2およびc-myc転位置状態、およびアピリモドに対するその感受性。ND=データなし

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

【0123】

[141]侵襲性NHL腫瘍に対するアピリモドの有効性をさらに評価するため、アピリモドが、多くのこうした癌に関する標準的な最初の一連の治療を構成する多くの化学療法剤のいずれかと相乗的に作用する能力を試験した。これらには、例えば、シクロホスファミド、ドキソルビシン、ピンクリスチンおよびプレドニゾン（「CHOP」化学療法レジメンと称される）、および時にCHOPと組み合わされるリツキシマブ（R-CHOP）、ならびに再発性マントル細胞リンパ腫に関して指示される化学療法剤ベルケード、およびmTOR阻害剤であるエベロリムスが含まれた。

【0124】

[142]相乗研究に関して、以下のDLBCL-GCB細胞株を用いた：WSU-DLCL2、SUDHL-4およびSUDHL-6。細胞を最適密度で96ウェルプレート中に植え付けた。細胞をアピリモドのみ（7.8～1000nM）で、ドキソルビシン（3.13～400nM）、ピンクリスチン（0.08～10nM）、プレドニゾン（19.5～2500nM）、ベルケード（0.16～20nM）、またはエベロリムス（0.23～500nM）単独で、またはアピリモドと組み合わせて処理した。各場合で、希釈は2倍であり、薬剤濃度範囲に渡って、全部で8回の希釈を行った。

【0125】

[143]細胞を72時間処理した後、CellTiterGlo（登録商標）（Promega）を用いて、増殖を評価した。相乗性の計算には、CalcuSyn（バージョン2.11、Biosoft）を用いて、Chouら、Adv. Enzyme. Regul. (1984)22:27-55によって定義されるように組み合わせ指数（CI）を決定した。したがって、1>のCI値を生じる薬剤組み合わせは拮抗性、CI=1は付加性、そしてCI<1は相乗性と定義された。

【0126】

[144]表3に示すように、アピリモドは、SUDHL-6細胞株において、試験した6つの剤のうち5つ（ドキソルビシン、プレドニゾロン、ピンクリスチン、ベルケード、およびエベロリムス）と相乗的活性を示し、そしてすべての3つの細胞株において、ピンクリスチンと相乗性であった。さらに、アピリモドは、試験した3つの細胞株のうち、少なくとも2つにおいて、プレドニゾロン、ベルケード、およびエベロリムスと相乗性であった。これらの結果は、アピリモドとの組み合わせ療法が、後に再発するか、または標準的化学療法レジメンに抵抗性である患者に有益である治療に関する、満たされていない医学的必要性に取り組むための、有望な新規アプローチに相当することを示す。

【0127】

【表3】

表3

組み合わせ治療			WSU-DLCL2	SU-DHL-4	SU-DHL-6
標準ケア	シクロホスファミド	アピリモド	ND	ND	ND
	ドキソルビシン 50-400 nM	アピリモド 125-500 nM	拮抗性	ND	相乗性
	プレドニゾロン 62-1667 nM	アピリモド 62.5-500 nM	相乗性	ND	相乗性
	ビンクリスチン 0.6-10 nM	アピリモド 62.5-1000 nM	相乗性	相乗性	相乗性
他の療法	ベルケード 1.3-5 nM	アピリモド 62.5-250 nM	付加性	相乗性	相乗性
	エベロリムス 18.5-55.6 nM	アピリモド 62.5-250 nM	相乗性	ND	相乗性

D L B C L - G C B 細胞株における、アピリモドおよびC H O P の個々の構成要素（シクロホスファミドを除く）、ベルケードまたはエベロリムスの薬剤組み合わせ効果の要約。組み合わせ指数（C I）を用いて、組み合わせ効果を決定し、ここで C I > 1 は拮抗性であり、C I = 1 は付加性であり、そして C I < 1 は相乗性である。記載する効果を生じるために、C H O P 構成要素、ベルケードまたはエベロリムスのいずれかと組み合わせられるアピリモドの濃度範囲を示す（斜字）。

【0128】

実施例4：アピリモドおよびイブルチニブの間の相乗活性

[145] S U D H L - 4 細胞における研究はまた、アピリモドと相乗的に作用しうる他の薬剤についてスクリーニングすることも試みた。F D A 認可および非認可薬剤の両方を含む 93 の薬剤の人為選別したライブラリーを、スクリーニングに用いた。薬剤の存在下、アピリモドを伴いまたは伴わず（I C₂₀ = 10 nM で）、10 ポイント濃度反応曲線（1.5 ~ 30,000 nM；3 倍希釈）で試験するライブラリーの各薬剤とともに、細胞を増殖させた。ペニシリン／ストレプトマイシン（100 X）（CellGro Ref 30-002）を含有する R P M I 培地 1640（Sigma Aldrich F2442-500ML、ロット 12D370）中で、S U D H L - 4 細胞を増殖させた。50 μL の最終体積中、ウェルあたり 19,000 細胞の密度で、96 ウェルプレート中に細胞を植え付けた。10 ポイント薬剤希釈シリーズ（2 × 50 μL を細胞に添加して、上述の最終濃度を生じた。加湿インキュベーター中、5% C O₂ の大気下で、37° でプレートをインキュベーションした。化合物添加 72 時間後、製造者の指示通りに、CellTiter-Glo（登録商標）発光アッセイ（Promega）によって、相対細胞生存度を決定し、そして値をビヒクル（D M S O）処理対照細胞（100% に設定）に比較した割合として表した。

【0129】

[146] 薬剤ライブラリー中の個々の化合物で処理した細胞の生存度を、各ライブラリー薬剤 + アピリモド（I C₂₀）で処理した細胞の生存度に比較し、そして有意な組み合わせを同定した。イブルチニブは、イブルチニブまたはアピリモド単独のいずれに比較しても、アピリモドの存在下で、S U D H L - 4 細胞生存度を有意に減少させると同定された。図 18 を参照されたい。イブルチニブは、B 細胞悪性腫瘍をターゲットとする F D A 認可薬剤であり、そしてマントル細胞リンパ腫および慢性リンパ球白血病を治療する際、単一療法に関して指示される。これはまた、P C I - 32765 としても知られ、そして商標インブルビカ™ の元で販売されている。イブルチニブは、酵素ブルトンチロシンキナーゼ（B T K）の選択的および共有結合阻害剤である。B T K は、平行して起こる、少なくとも 3 つの非常に重要な B 細胞生存促進性機構、アポトーシス制御、細胞接着ならびに細胞遊走およびホーミングの重要な仲介因子である。アピリモドとイブルチニブの相乗活性は、さらに、アピリモドが、他の化学療法剤、特に B 細胞リンパ腫をターゲティングす

10

20

30

40

50

るものとの組み合わせ療法で使用するために有望な剤であることを示す。

【0130】

実施例5：in vivoでのDLBCL腫瘍に対するイブルチニブと組み合わせたアピリモドの抗腫瘍活性

[191]アピリモドが、単独でまたはイブルチニブと組み合わされて、in vivoで腫瘍増殖を阻害する能力を次に試験した。以下に記載するように、アピリモドは、単独で、腫瘍増殖を有意に減少させ、そしてアピリモドおよびイブルチニブの組み合わせは、いずれかの剤単独の場合よりも、より高い増殖阻害を提供した。

【0131】

[192]研究目的は、単独で、そしてイブルチニブと組み合わせて、皮下SUDHL-6ヒトDLBCL癌異種移植片モデルの治療におけるアピリモドのin vivo療法有効性を前臨床的に評価することであった。

【0132】

[193]研究の最初のアームにおいて、アピリモドを単独で試験した。SUDHL-6細胞株を、10%ウシ胎児血清およびL-グルタミン(2 mM)を補充したRPMI-1640培地中、5%CO₂の大気中で37℃で維持した。腫瘍細胞を週2回継代培養し、そして腫瘍接種のため、指数関数的増殖中に採取した。接種24時間前、NOD-SCIDマウスに照射した。各マウスの右脇腹に、0.1mlのPBSとMatrigel(1:1)中のSU-DHL-6腫瘍細胞(5×10⁶)を皮下接種した。次いで、腫瘍をおよそ80~120mm³の平均サイズまで増殖させ、そして次いで、マウスを5群に分け、そして表4に詳述するように処置した。

【0133】

【表4】

表4：DLBCL腫瘍の異種移植片モデル

群	処置	用量	投薬スケジュール	投与経路	マウス数
1	ビヒクル (生理食塩水)	-	QD×5-2日間休薬-QD×5	i.v.	6
2	ジメシリ酸アピリモド	67.5mg/kg (47mg/kg 遊離塩基)	QD×5-2日間休薬-QD×5	i.v.	6
3	0.5% メチルセルロース	-	BID×5-2日間休薬 -BID×5	p.o.	6
4	アピリモド遊離塩基	75mg/kg	BID×5-2日間休薬 -BID×5	p.o.	6
5	アピリモド遊離塩基	150mg/kg	QD×5-2日間休薬 -BID×5	p.o.	6

【0134】

[195]ノギスを用いて、腫瘍サイズを二次元で週2回測定し、そして公式： $V = 0.5 a \times b^2$ 、式中、aおよびbはそれぞれ、腫瘍の長径および短径である、を用いて、体積をmm³で表す。マウスを29日間監視し、そしてすべてのアピリモド処置アームにおいて、有意な増殖阻害が観察された。静脈内投与は、腫瘍サイズを58%(47mg/kg)減少させ、そして経口投薬は、それぞれ、68%(150mg/kg、スプリット用量)または64%(150mg/kg、単回用量)増殖を減少させ、体重に対する影響は無視できる程度であった(図16を参照されたい)。したがって、アピリモドの静脈内および経口投薬は、in vivoで、SU-DHL-6腫瘍の増殖を損なう際に、類似の有効性を示した。

【0135】

10

20

30

40

50

[196] 研究の第二のアームは、上記と同じプロトコルを用いて、同じ SUDHL - 6 ヒト DLBC L 瘤異種移植片モデルにおいて、イブルチニブと組み合わせた際のアピリモドの有効性を評価した。各マウスの右脇腹に、0.1 ml の PBS と Matrigel (1 : 1) 中の SU - DHL - 6 腫瘍細胞 (5×10^6) を皮下接種した。次いで、腫瘍をおよそ $80 \sim 120 \text{ mm}^3$ の平均サイズまで増殖させ、そして次いで、マウスを 6 群に分け、そして表 5 に詳述するように処置した。

【0136】

【表 5】

表 5 : SUDHL - 6 細胞株の異種移植片実験

群	処置	用量	投薬スケジュール	投与経路	マウス数
1	ビヒクル	NA	QDx5-2 日間休薬 -QDx5	p.o. + i.v.	6
2	アピリモド遊離塩基	75 mg/kg	QDx5-2 日間休薬 -QDx5	p.o.	6
3	イブルチニブ	10 mg/kg	QDx12	i.v.	6
4	イブルチニブ	20 mg/kg	QDx12	i.v.	6
5	アピリモド 遊離塩基 + イブルチニブ	75 mg/kg + 10 mg/kg	QDx5-2 日間休薬 -QDx5 + QDx12	p.o. + i.v.	6
6	アピリモド 遊離塩基 + イブルチニブ	75 mg/kg + 20 mg/kg	QDx5-2 日間休薬 -QDx5 + QDx12	p.o. + i.v.	6

【0137】

[197] ノギスを用いて、腫瘍サイズを二次元で週 2 回測定し、そして公式 : $V = 0.5 a \times b^2$ 、式中、 a および b はそれぞれ、腫瘍の長径および短径である、を用いて、体積を mm^3 で表す。マウスを 31 日間監視し、そして 75 mg / kg アピリモド (57%) 、 10 mg / kg イブルチニブ (54%) 、および 20 mg / kg イブルチニブ (64%) 処置アームで、有意な増殖阻害が観察された。75 mg / kg アピリモドとイブルチニブの組み合わせは、さらに、用量依存方式で腫瘍増殖を減少させ； 10 mg / kg イブルチニブ (65%) および 20 mg / kg イブルチニブ (70%) であった (図 17 を参照されたい)。

【0138】

実施例 6 : アピリモドは、PIKfyve キナーゼの非常に選択性的な結合剤である

[198] 癌細胞におけるアピリモドの細胞ターゲットを同定するため、ヒト神経膠腫細胞から調製した全細胞溶解物を用いて、化学捕捉質量分析 (CCMS) を用い、結合パートナーを同定した。この研究は、Caprotec Bioanalytics GmbH、ドイツ・ベルリンで行われた。Michaelisら、J. Med. Chem., 55 3934-44(2012) および該文献に引用される参考文献を参照されたい。簡潔には、アピリモドを単一の配向で付着された選択性的官能として使用する 2 つの捕捉化合物変異体を合成し、そして LC - MS および 1H - NMR によって分析して、同一性および純度を保証した。捕捉条件を全細胞溶解物において最適化し、例えばタンパク質と捕捉化合物の非特異的相互作用を最小限にし、タンパク質および捕捉化合物の最大結合が得られるような試薬およびタンパク質濃度を設定するなどした。1 つの捕捉化合物を選択して、競合剤リガンドとしてアピリモドを用いて、CCMS 実験において、特異的タンパク質結合剤を同定した。捕捉アッセイにおいて LC - S によって検出され

10

20

30

40

50

、そして競合対照実験において、有意に減少しているタンパク質を、特異的結合剤と見なした。これらの特異的結合剤を、ストリンジエントなデータ分析基準にさらに供して、非偏向データ評価後の特異性を決定した。捕捉実験において、倍変化(FC)値にしたがって、特異的タンパク質結合剤をランク付けした。2つのタンパク質: P I K f y v e および V a c 1 4 のみが、アピリモドの非常に可能性が高い候補ターゲットタンパク質として同定された。4つの異なる捕捉化合物濃度実験において、これらのタンパク質に関するFCおよびp値を表6に示す。

【0139】

【表6】

表6

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

10

20

【0140】

[199]別個の研究において、アピリモドのプロテインキナーゼ・プロファイリングを行って、キナーゼ・ターゲットを同定した(DiscoveRx、カリフォルニア州フレモント)。増加する濃度(0.05~3000 nM)のアピリモドを用いて、アピリモドの既知のターゲットであるP I K f y v eに対して、解離定数(K_d)研究を行った。実験を2つ組で行い、そして K_d は、0.075 nM(範囲0.069~0.081 nM)と決定された(図7)。

【0141】

30

[200]次に、キナーゼの包括的パネル(P I K f y v eは含まれない)に対してアピリモドをスクリーニングした。疾患関連キナーゼを含む、総数456のキナーゼを、アピリモドに結合する能力に関してアッセイした。アピリモドのスクリーニング濃度は1 μMであり、これは、P I K f y v eに対するアピリモドに関する K_d よりも>10,000倍高い濃度であった。スクリーンからの結果は、アピリモドが、試験した456のキナーゼのいずれにも結合しないことを示した。

【0142】

[201]総合すると、これらの結果は、アピリモドが、癌細胞において、単一の細胞キナーゼ、P I K f y v eに対して非常に選択的に結合することを示す。P I K f y v eは、P I (3)Pに結合し、そして脂質である第二メッセンジャーP I (3,5)P₂およびP I (5)Pの形成を触媒し、そして他の研究者らは、アピリモドがまた、正常細胞において、このキナーゼP I K f y v eの強力でそして特異的な阻害剤であることを示している。Cai Xら、Chem Biol. 2013 Jul 25;20(7):912-21。以下により詳細に論じるように、癌細胞に対するアピリモドの選択的細胞傷害性の機構を理解するため、本発明者らは、癌細胞におけるその生物学的活性を解明することを目的とする一連の実験を行った。

40

【0143】

実施例7：アピリモドの抗癌活性の機構

[202]アピリモドは、炎症性サイトカインIL-12およびIL-23の強力な阻害剤であることが知られる。アピリモドが疾患または障害を治療するために示されるという点で、この活性が前提とされた。アピリモドの臨床試験は、乾癬、関節リウマチ、およびク

50

ローン病などの自己免疫および炎症性疾患におけるその強力な有効性に焦点を当てているが、アピリモドが癌に対して有用である可能性があり、そして特に、c - r e 1 または I L - 1 2 / 2 3 が増殖促進性因子として作用している癌に対して、有用であるという公開された示唆はほとんどない。例えば、それぞれ、W O 2 0 0 6 / 1 2 8 1 2 9 およびBairdら、*Frontiers in Oncology* 3:1(2013)を参照されたい。驚くべきことに、そしてアピリモドのI L - 1 2 / 2 3 阻害活性に基づくこれらの期待とは対照的に、本発明者らは、試験した細胞株において、c - R e 1 発現 (c - R e 1 は I L - 1 2 / 2 3 遺伝子の転写因子である)、I L - 1 2 、または I L - 2 3 発現のいずれかおよびアピリモドに対する感受性の間に相関をまったく見出さなかった (図 8 ~ 1 4 を参照されたい)。

【 0 1 4 4 】

10

[203]簡潔には、癌細胞株エンサイクロペディア (C C L E) 由来の遺伝子発現データを、22のB細胞リンパ腫株に関して分析し、これらに関して、本発明者らはアピリモドに対する用量反応曲線を得た (表 7 を参照されたい)。

【 0 1 4 5 】

【表 7】

表 7. 遺伝子発現およびアピリモドに対する反応に関して分析した22のB細胞リンパ腫株。エプスタイン・バー状態および核 c R E L 状態を示す。ND=データなし。

番号	B 細胞リンパ腫モデル	細胞株	IC50 (nM)	EBV	核 REL
1	ヒト・バーキットリンパ腫	ST486	25	なし	ND
2	ヒト・バーキットリンパ腫	Daudi	200	あり	あり
3	ヒト・バーキットリンパ腫	EB1	174	あり	ND
4	ヒト・バーキットリンパ腫	GA-10	382	なし	ND
5	ヒト・マントル細胞リンパ腫	Rec-1	300	なし	ND
6	ヒト・マントル細胞リンパ腫	JeKo-1	70	なし	ND
7	ヒトびまん性大細胞型B細胞リンパ腫-GCB	SUDHL-4	25	なし	あり
8	ヒトびまん性大細胞型B細胞リンパ腫-GCB	SUDHL-6	80	なし	ND
9	ヒトびまん性大細胞型B細胞リンパ腫-GCB	DB	150	なし	ND
10	ヒトびまん性大細胞型B細胞リンパ腫-GCB	Toledo	270	なし	ND
11	ヒトびまん性大細胞型B細胞リンパ腫-GCB	SUDHL-10	20	なし	ND
12	ヒトびまん性大細胞型B細胞リンパ腫-GCB	WSU-DLCL2	160	なし	ND
13	ヒトびまん性大細胞型B細胞リンパ腫-GCB	OCI-Ly19	380	あり	ND
14	ヒト・バーキットリンパ腫	Namalwa	600	あり	ND
15	ヒト・バーキットリンパ腫	CA46	>10,000	なし	ND
16	ヒト・バーキットリンパ腫	Raji	>10,000	あり	あり
17	ヒト・マントル細胞リンパ腫	GRANTA-519	>10,000	あり	ND
18	ヒト濾胞性B細胞リンパ腫	RL	>10,000	ND	ND
19	ヒト濾胞性リンパ腫-DLBCL-GCB	DOHH-2	700	なし	ND
20	ヒトびまん性大細胞型B細胞リンパ腫-GCB	HT	642	なし	ND
21	ヒトびまん性大細胞型B細胞リンパ腫-GCB	Pfeiffer	2,620	ND	ND
22	ヒトびまん性大細胞型B細胞リンパ腫-GCB	KARPAS-422	>10,000	なし	ND

20

30

40

【 0 1 4 6 】

[204]不対 t 検定によって、感受性 (5 0 0 n M 未満の I C 5 0) および非感受性 (5 0 0 n M を超える I C 5 0) 株において、c - R E L の発現を比較した。c - R E L 発現および感受性の間に統計的に有意な関係は見られなかった (p = 0 . 9 7) 。さらに、データが公開されている、アピリモドに対する感受性および細胞株における恒常性核 c - R E L の存在またはエプスタイン・バーウイルスの感染いずれの間にも有意な関係が検出されないことがわかった。試験した細胞株には、以下のアピリモド感受性 (# 1 ~ 1 3) および非感受性 (# 1 4 ~ 2 2) B 細胞リンパ腫株が含まれた：ヒト・バーキットリンパ腫

50

細胞株 1 ~ 4 (S T 4 8 6、D a u d i、E B 1、G A - 1 0)、ヒト・マントル細胞リンパ腫 5 ~ 6 (R e c - 1、J e K o - 1)、ヒトびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 - G C B 7 ~ 1 3 (S U D H L - 4、S U D H L - 6、D B、T o l e d o、S U D H L - 1 0、W S U - D L C L 2、O C 1 - L y 1 9)、ヒト・バーキットリンパ腫 1 4 ~ 1 6 (N a m a l w a、C A 4 6、R a j i)、ヒト・マントル細胞リンパ腫 1 7 (G R A N T A - 5 1 9)、ヒト濾胞性 B 細胞リンパ腫 1 8 (R L)、ヒト濾胞性リンパ腫 - D L B C L - G C B 1 9 (D O H H - 2)、ヒトびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 - G C B (H T 、P f e i f f e r、K A R P A S - 4 2 2)。

【 0 1 4 7 】

[205]前述の 2 2 リンパ腫株を含む、7 5 の癌細胞株の多様な群において、I L - 1 2 10
A、I L - 1 2 R B 1、I L - 1 2 R B 2、I L - 1 2 B、I L - 2 3 A および I L - 2
3 R の発現をさらに分析した(表 8 を参照されたい)。

【 0 1 4 8 】

【表8-1】

表8. 多様な癌細胞株

番号	癌モデル	細胞株	IC50 (nM)
1	ヒト・バーキットリンパ腫	ST486	25
2	ヒト・マントル細胞リンパ腫	JeKo-1	70
3	ヒトびまん性大細胞型B細胞リンパ腫-GCB	SUDHL-4	25
4	ヒトびまん性大細胞型B細胞リンパ腫-GCB	SUDHL-6	80
5	ヒト・バーキットリンパ腫	Daudi	200
6	ヒト組織球性リンパ腫	U937	106
7	ヒト肺癌腫	A549	110
8	ヒト結腸直腸癌	HCT116	125
9	ヒトB細胞リンパ腫	DB	150
10	ヒトびまん性大細胞型B細胞リンパ腫-GCB	WSU-DLCL2	160
11	ヒト結腸直腸	HCT-15	200
12	ヒト結腸直腸	SW480	90
13	ヒト結腸直腸	COLO-205	380
14	ヒト結腸直腸	SW620	90
15	ヒトT細胞白血病	Jurkat	200
16	ヒト神経芽腫	H4	250
17	ヒトびまん性大細胞型B細胞リンパ腫-GCB	Toledo	270
18	ヒトB細胞非ホジキンリンパ腫	Rec-1	300
19	ヒト・ホジキンリンパ腫	KMH-2	181
20	ヒト・バーキットリンパ腫	EB1	174
21	ヒトびまん性大細胞型B細胞リンパ腫-GCB	SUDHL-10	20
22	ヒト・バーキットリンパ腫	GA-10	382
23	ヒトびまん性大細胞型B細胞リンパ腫-GCB	OCI-Ly19	380
24	ヒトびまん性大細胞型B細胞リンパ腫-GCB	HT	642
25	ヒトびまん性大細胞型B細胞リンパ腫-GCB	Pfeiffer	2,620
26	ヒト・バーキットリンパ腫	Namalwa	600
27	ヒト濾胞性B細胞リンパ腫-GCB	DOHH-2	700
28	ヒト膀胱癌腫 (GATOR -/-)	SW780	1000
29	ヒト結腸直腸癌	MDST8	1000
30	ヒト・バーキットリンパ腫	Raji	10,000
31	ヒト・ホジキンリンパ腫	HD-MyZ	>1000
32	ヒト・ホジキンリンパ腫	L540	>1000
33	ヒト・ホジキンリンパ腫	HDLM-2	>1000
34	ヒト・バーキットリンパ腫	CA46	>10,000
35	ヒト未分化大細胞リンパ腫	SUDHL-1	590
36	ヒト肺癌腫	H1734	1500
37	ヒト結腸直腸癌	SW1116	1500
38	ヒト結腸直腸	COLO-320DM	2,060
39	ヒト神経芽腫	A172	2000
40	ヒト肺癌腫	H1693	2000
41	ヒト肺癌腫	H460	>2000
42	ヒト肺癌腫	H358	>2000

【表 8 - 2】

43	ヒト肺臓癌	CAPAN2	>2000
44	ヒト肺臓癌	PANC1	>2000
45	ヒト肺臓癌	MiaPaCa-2	>2000
46	ヒト肺臓癌	AsPC1	>2000
47	ヒト前立腺癌	DU145	>2000
48	ヒト急性骨髓性白血病	KG-1	>2500
49	ヒト前立腺癌	LnCap	3000
50	ヒト T 細胞リンパ腫	HH	3,300
51	ヒト T 細胞白血病	MOLT-4	3,300
52	ヒト前立腺癌	22RV1	>5000
53	ヒト結腸直腸癌	DLD-1	>5000
54	ヒト骨髓性白血病	K562	>5000
55	ヒト結腸直腸癌	RKO	>5000
56	ヒト卵巣	TOV-21G	7000
57	ヒト前立腺癌	PC-3	10,000
58	ヒト・ホジキンリンパ腫	L428	10,000
59	ヒト形質細胞腫	RPMI-8226	>10,000
60	ヒト肺癌腫	NCI-1975	>10,000
61	ヒト乳癌	CAMA1	>10,000
62	ヒト神経芽腫	SW1088	>10,000
63	ヒト神経芽腫	M0591K	>10,000
64	ヒト神経芽腫	U-118 MG	>10,000
65	ヒト神経芽腫	U-87 MG	>10,000
66	ヒト急性单球性白血病	THP1	>10,000
67	ヒトびまん性大細胞型B細胞リンパ腫-GCB	KARPAS-422	>10,000
68	ヒト濾胞性B細胞リンパ腫	RL	>10,000
69	ヒト・マントル細胞リンパ腫	GRANTA-519	>10,000
70	ヒト気管支肺胞上皮	NCI-H1650	>20,000
71	ヒト気管支肺胞上皮	SW1573	>20,000
72	ヒト気管支肺胞上皮	NCI-H1781	>20,000
73	ヒト気管支肺胞上皮	NCI-H1666	20,000
74	ヒト結腸直腸	LOVO	>10,000
75	ヒト結腸直腸	HT-29	>10,000

【0150】

[206]簡潔には、CCL E由来の遺伝子発現データを、アピリモドに対する用量反応曲線を得た75の癌細胞株に関して分析した。各インターロイキン遺伝子の発現を、不対t検定によって、感受性(500nM未満のIC₅₀)および非感受性(500nMを超えるIC₅₀)株において、比較した。IL-23Aを唯一例外として(p = 0.022)、統計的に有意でない関係であることがわかった。IL-23Aは、以前、アピリモド感受性非小細胞肺癌株において上昇していることが示され、そして組換えIL-23Aは、非小細胞肺癌株の増殖を増加させることが注目された(Bairdら、2013、上記を参照されたい)。重要なことに、感受性癌細胞株におけるIL-23A発現の統計的有意性は、完全にわずか2つの結腸癌細胞株によって駆動されているようである。さらに、IL-23A発現は、非ホジキンB細胞リンパ腫において、感受性の統計的に有意な予測因子ではない(図15)。CCL Eデータベース由来の全般的な遺伝子発現データを、22のB

10

20

30

40

50

細胞リンパ腫株において、アピリモド感受性について、信頼性がある2つの遺伝子バイオマーカーに関して分析した。

【0151】

[207]さらなる実験によって、アピリモドの細胞傷害活性は、細胞アポトーシス誘導に少なくとも部分的に基づいた。製造者の指示にしたがって、Apotox-Glo三重アッセイ(Proomega, Inc.)を用いて、アポトーシスを定量化し、そして壊死と区別した。このアッセイにおいて、生存度、アポトーシス、および壊死を、3つの異なるマーカー(それぞれ、G F - A F C、カスパーゼ-3/7、およびビス-A A F - R 110)を同時に用いて評価する。図4は、培地にアピリモドを添加した48時間後、アピリモド処理びまん性大細胞型B細胞リンパ腫細胞における、アポトーシス(中央のバー)および壊死(右のバー)マーカーを示す。左のバーは生存度マーカーを示す。

10

【0152】

[208]H4神経膠腫細胞株(IC_{50} 250~300nM)における処理72時間後の自己貪食液胞に関してアッセイすることによって、アピリモド細胞傷害活性の機構をさらに調べた。製造者の指示にしたがって、Cytoto-ID自己貪食検出キット(Enzo)を用いて、自己貪食を定量化した。図5は、アピリモドが用量依存性方式で自己貪食を誘導したこと示す。

【0153】

[209]PIKfyveは、初期エンドソームの細胞質ゾル小葉と関連し、そしてその活性は、内膜ホメオスタシス、リソソーム内機能およびエンドソームからトランスゴルジネットワークへの適切な逆行性輸送に必要である。キナーゼ死亡突然変異体を細胞に導入すると、膨張した液胞表現型が誘導され、これは、PI(3,5)P2の注射によってレスキューポ可能である。薬理学的方法ならびにRNAiによるPIKfyveの阻害もまた膨張した液胞および内膜動力学の破壊を生じる。図21に示すように、アピリモドでのPIKfyveの薬理学的破壊は、細胞内輸送の破壊を通じて、特定の癌細胞株の選択的致死性を誘導する。

20

一態様において、本発明は以下であってよい。

[1] 癌を治療する必要がある被験体において、癌を治療するための方法であって、単独で、あるいは1またはそれより多いさらなる活性剤と組み合わせて、療法的有効量のアピリモド(apilimod)組成物を被験体に投与する工程を含む、前記方法。

30

[2] アピリモド組成物がアピリモド遊離塩基またはジメシリ酸アピリモドを含む、[1]の方法。

[3] アピリモド組成物が経口剤形または静脈内投与に適した剤形である、[1]または[2]の方法。

[4] 癌がリンパ腫、好ましくはB細胞リンパ腫、最も好ましくは非ホジキンB細胞リンパ腫である、[1]~[3]のいずれか一項の方法。

[5] 非ホジキンB細胞リンパ腫が、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)、バーキットリンパ腫、縦隔B細胞リンパ腫、およびマントル細胞リンパ腫より選択される、[4]の方法。

[6] 非ホジキンB細胞リンパ腫がDLBCLである、[4]の方法。

40

[7] DLBCLがDLBCL-GCBである、[6]の方法。

[8] 少なくとも1つのさらなる活性剤と組み合わせてアピリモドを投与する工程を含む、[1]~[7]のいずれかの方法。

[9] 少なくとも1つのさらなる活性剤が、療法剤または非療法剤、あるいはその組み合わせである、[8]の方法。

[10] 少なくとも1つのさらなる活性剤を、アピリモド組成物とともに単一剤形で、またはアピリモド組成物とは別個の剤形で投与する、[8]の方法。

[11] 少なくとも1つのさらなる活性剤が、アルキル化剤、挿入剤(intercalating agent)、チューブリン結合剤、コルチコステロイド、およびその組み合わせからなる群より選択される、[9]または[10]の方法。

50

[12] 少なくとも 1 つのさらなる活性剤が、イブルチニブ、リツキシマブ、ドキソルビシン、プレドニゾロン、ビンクリスチン、ベルケード、およびエベロリムス、ならびにその組み合わせからなる群より選択される療法剤である、[9] または [10] の方法。

[13] 少なくとも 1 つのさらなる活性剤が、シクロホスファミド、ヒドロキシダウノルビシン（ドキソルビシンまたはアドリアマイシンTMとも称される）、ビンクリスチン（オンコピンTMとも称される）、プレドニゾン、プレドニゾロン、およびその組み合わせより選択される療法剤である、[9] または [10] の方法。

[14] 少なくとも 1 つのさらなる活性剤が、アピリモド組成物の 1 またはそれより多い副作用を改善するように選択される、非療法剤である、[9] または [10] の方法。

[15] 非療法剤が、オンダンセトロン、グラニセトロン、ドラセトロンおよびパロノセトロンからなる群より選択される、[14] の方法。 10

[16] 非療法剤が、ピンドロールおよびリスペリドンからなる群より選択される、[14] の方法。

[17] 被験体において、癌を治療するためのアピリモド組成物であって、アルキル化剤、挿入剤、チューブリン結合剤、およびコルチコステロイドの 1 またはそれより多くと組み合わせて、アピリモド遊離塩基またはジメシル酸アピリモドを含む、前記組成物。

[18] イブルチニブ、リツキシマブ、ドキソルビシン、プレドニゾロン、ビンクリスチン、ベルケード、およびエベロリムスの 1 またはそれより多くを含む、[17] の組成物。

[19] プレドニゾロン、ベルケード、およびエベロリムスの 1 またはそれより多くを含む、[18] の組成物。 20

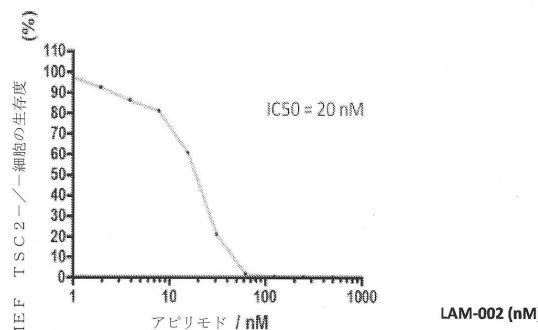
[20] イブルチニブを含む、[18] の組成物。

[21] ビンクリスチンを含む、[18] の組成物。

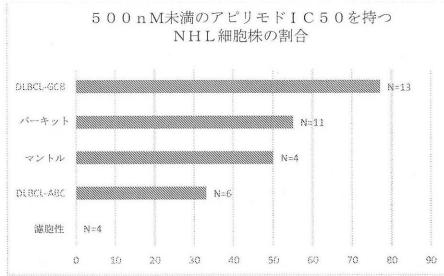
[22] オンダンセトロン、グラニセトロン、ドラセトロン、パロノセトロン、ピンドロールおよびリスペリドンの 1 またはそれより多くをさらに含む、[18] ~ [21] のいずれかの組成物。

[23] 被験体が難治性であるかまたは再発性である癌を有する、[1] ~ [16] のいずれかの方法、または請求項 [17] ~ [22] のいずれかの組成物。

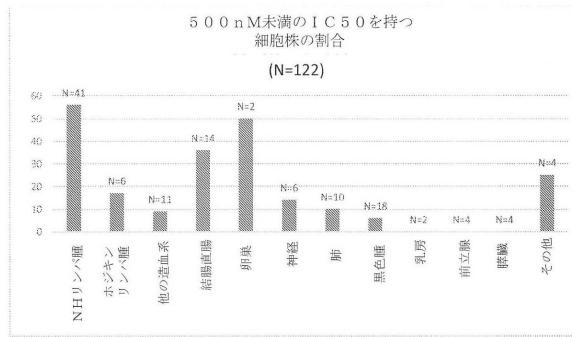
【図1】



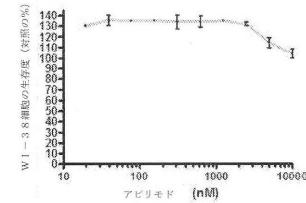
【図2B】



【図2A】

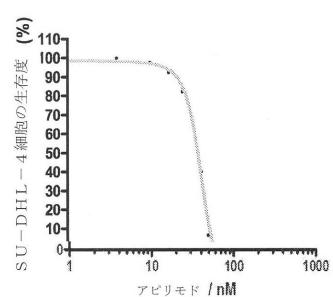


【図2C】

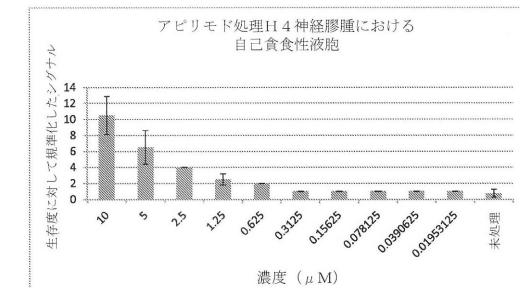


正常胎盤織芽細胞(WI-38)を96ウェルプレート内に植え付け。24時間後、細胞を増加する濃度のアビリモド(19, 5~10000 nM)で処理し、そしてさらに72時間培養した。CellTiter-Glo(登録商標)を用いて細胞生存度を決定し、そして細胞生存度を対照(DMSO)の割合で表した。

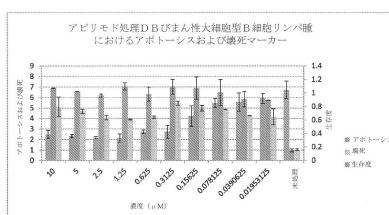
【図3】



【図5】



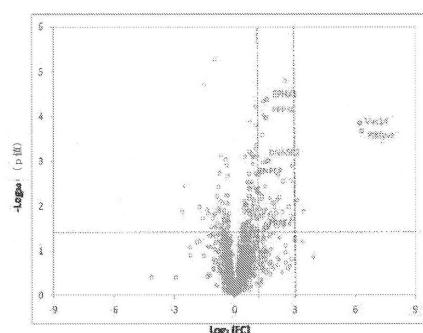
【図4】



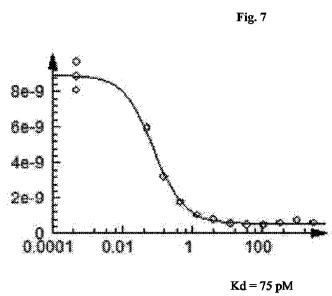
- 生存度(GF-AFC), アボトーシス(カスバーゼ-3/7)および致死マーカー
- 4時間処理後に明らかな光電子のアボトーシスおよび二重染色の説得

- 72時間処理後、自己食性液胞の染色
- 用量依存方式で、強い染色が明らか

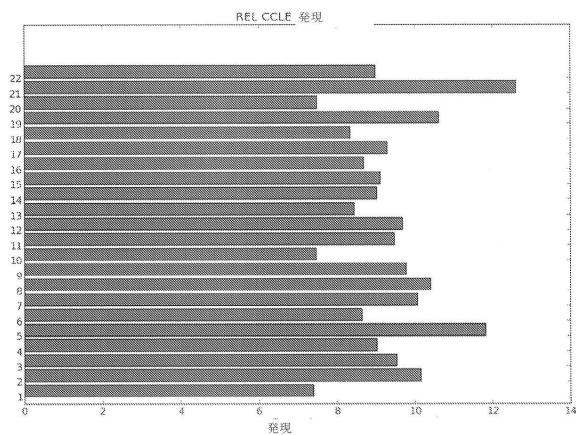
【図6】



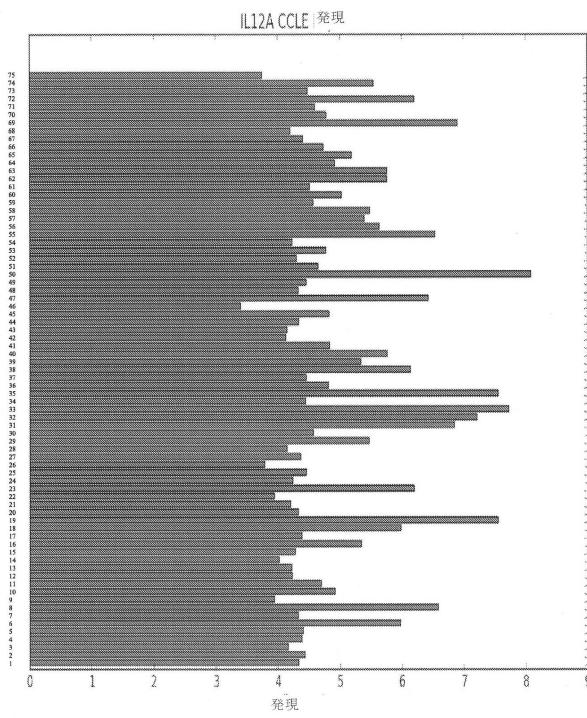
【図7】



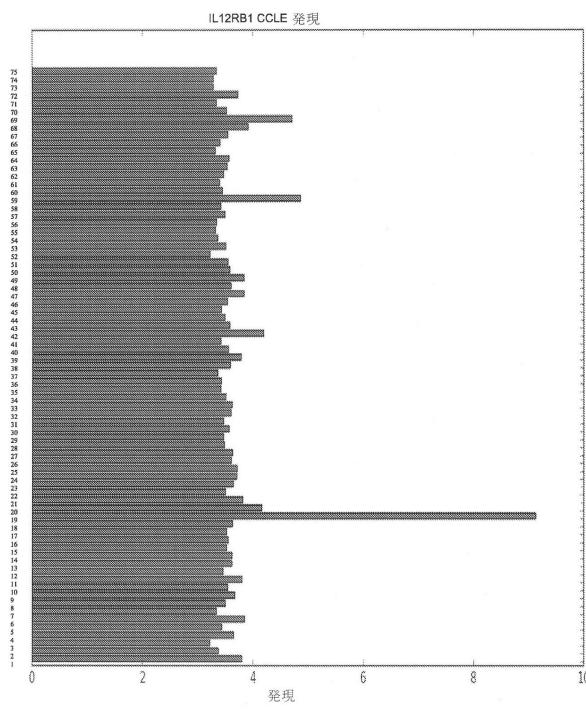
【図8】



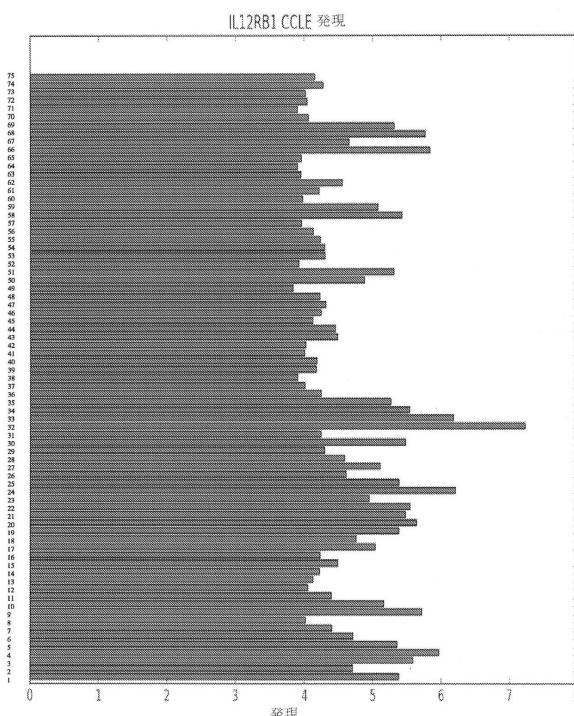
【図9】



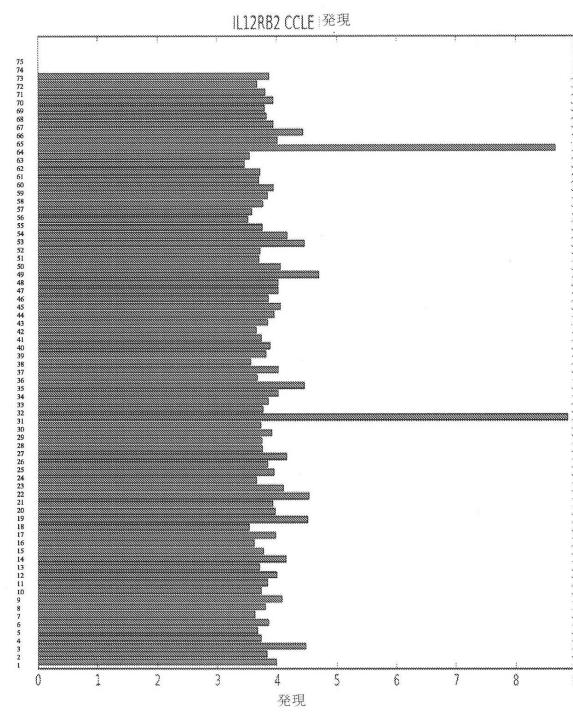
【図10】



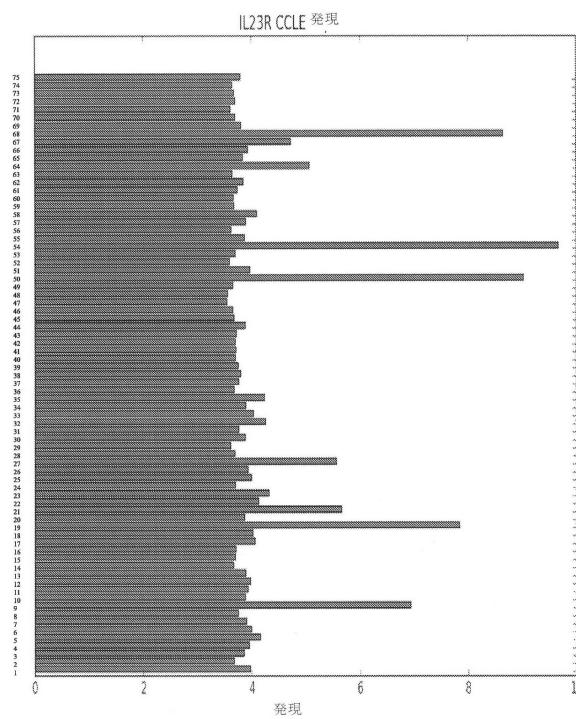
【図11】



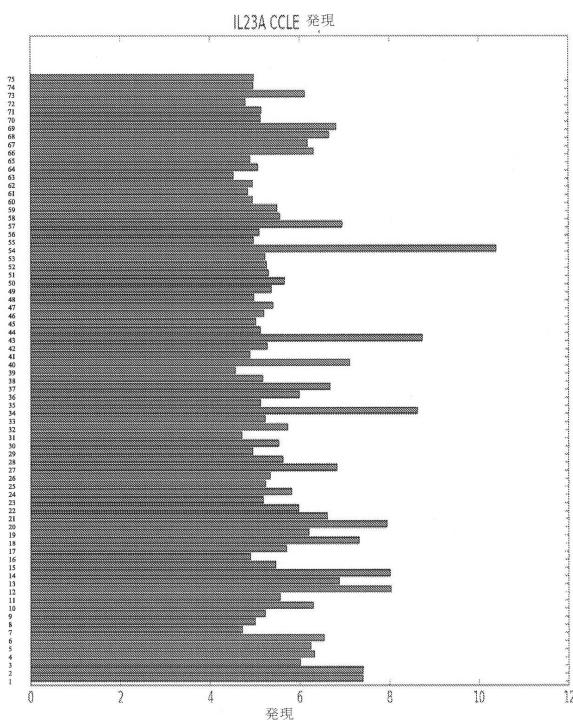
【図12】



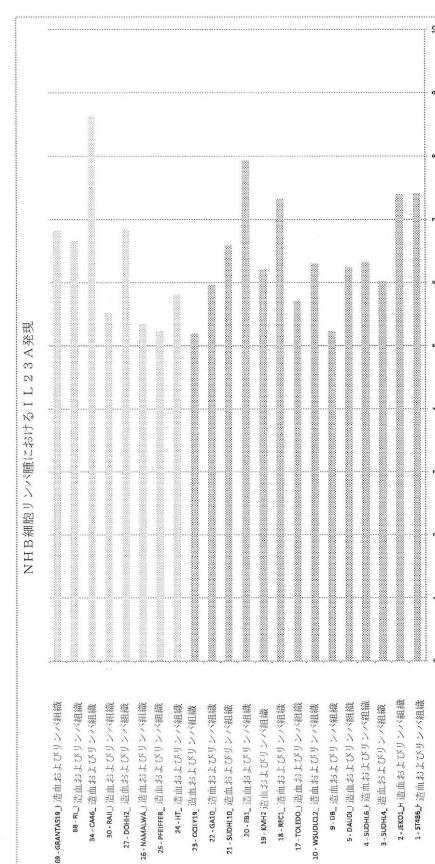
【図13】



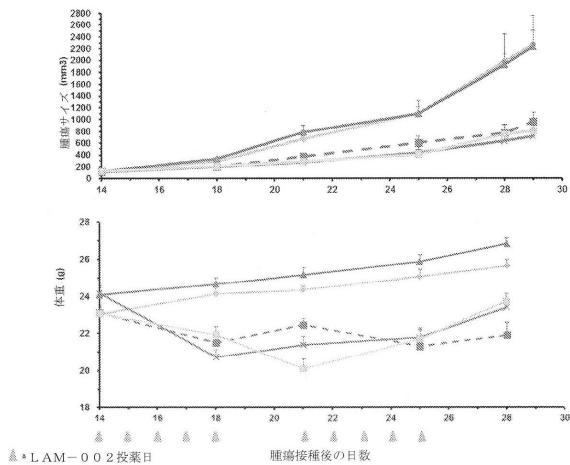
【図14】



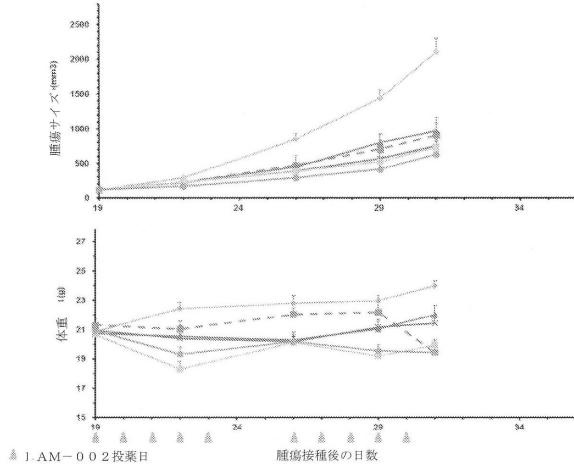
【図15】



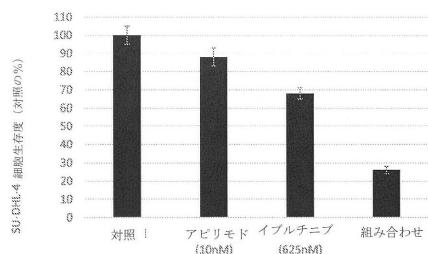
【図16】



【図17】

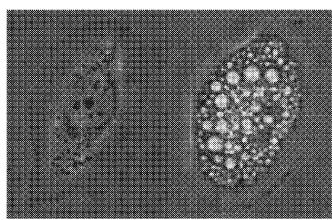


【図18】



【図19】

Fig. 19



フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I
A 61 K 31/4353 (2006.01)	A 61 K 31/4353
A 61 K 31/4965 (2006.01)	A 61 K 31/4965
A 61 K 31/573 (2006.01)	A 61 K 31/573
A 61 K 31/404 (2006.01)	A 61 K 31/404
A 61 K 31/664 (2006.01)	A 61 K 31/664
A 61 K 31/439 (2006.01)	A 61 K 31/439
A 61 K 31/4178 (2006.01)	A 61 K 31/4178
A 61 K 39/395 (2006.01)	A 61 K 39/395 T

(31)優先権主張番号 61/931,078

(32)優先日 平成26年1月24日(2014.1.24)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

前置審査

(72)発明者 リチェンステイン , ヘンリ

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

(72)発明者 ロスバーグ , ジョナサン・エム

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

(72)発明者 ゲイル , ソフィア

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

(72)発明者 ピーハリー , ニール

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

(72)発明者 ベケット , ポール

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

(72)発明者 ランドレット , ショーン

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

(72)発明者 コンラッド , ク里斯

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

(72)発明者 ダイアー , マット

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

(72)発明者 シュイ , ティエン

アメリカ合衆国コネチカット州 06437 , ギルフォード , フラッグマーシュ・ロード 149

審査官 金子 亜希

(56)参考文献 国際公開第2006 / 128129 (WO , A1)

特表2007 - 532667 (JP , A)

特開2009-209069 (JP, A)
特表2013-522212 (JP, A)
特表2013-542980 (JP, A)
高橋 嘉輝, 第7章 薬物の溶解性と吸収改善, 経口投与製剤の設計と評価, 1995年, 第1
67-168頁
臨床血液, 1991年, 32(5), 453-460
別冊・医学のあゆみ 乳癌治療Update - 最新診療コンセンサス, 2010年, 37-4
4

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 61K 31/5377
A 61K 31/404
A 61K 31/4178
A 61K 31/4353
A 61K 31/439
A 61K 31/4965
A 61K 31/519
A 61K 31/573
A 61K 31/65
A 61K 31/664
A 61K 39/395
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)
Caplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)