

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2020-512977

(P2020-512977A)

(43) 公表日 令和2年4月30日(2020.4.30)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/497 (2006.01)	A 6 1 K 31/497	4 C 0 8 4
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	Z N A 4 C 0 8 6
A 6 1 P 35/04 (2006.01)	A 6 1 P 35/04	
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 35/02	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 45 頁) 最終頁に続く		
(21) 出願番号	特願2019-553068 (P2019-553068)	(71) 出願人 505314468 シアトル ジェネティックス, インコーポレイテッド アメリカ合衆国 ワシントン 98021 , ボセル, エス. イー., 30ティーエイチ ドライブ - 21823
(86) (22) 出願日	平成30年3月30日 (2018.3.30)	(74) 代理人 100078282 弁理士 山本 秀策
(85) 翻訳文提出日	令和1年11月21日 (2019.11.21)	(74) 代理人 100113413 弁理士 森下 夏樹
(86) 国際出願番号	PCT/US2018/025464	
(87) 国際公開番号	W02018/183891	
(87) 国際公開日	平成30年10月4日 (2018.10.4)	
(31) 優先権主張番号	62/480,101	
(32) 優先日	平成29年3月31日 (2017.3.31)	
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	

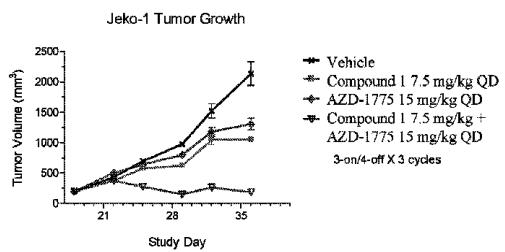
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 C H K 1 阻害剤とW E E 1 阻害剤との組み合わせ

(57) 【要約】

一態様では、本発明は、対象におけるがんを予防または処置するための方法を提供する。一部の実施形態では、方法は、C h k 1 阻害剤である化合物1の治療有効量を投与することを含む。他の実施形態では、方法は、W e e 1 阻害剤の治療有効量を投与することをさらに含む。医薬組成物およびキットも本明細書において提供される。対象におけるがんを予防または処置するための方法であって、(i) 化合物1または薬学的に許容されるその塩；および(i i) W e e 1 阻害剤または薬学的に許容されるその塩の治療有効量を前記対象に投与することを含む、方法。

FIG. 14A



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

対象におけるがんを予防または処置するための方法であって、(i) 化合物1または薬学的に許容されるその塩；および(ii) W ee 1阻害剤または薬学的に許容されるその塩の治療有効量を前記対象に投与することを含む、方法。

【請求項 2】

前記W ee 1阻害剤がAZD-1775である、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

前記がんが、急性骨髄性白血病、食道がん、胃がん、マントル細胞リンパ腫、非小細胞肺がん(N S C L C)、卵巣がん、頭頸部がん、肝臓がん、脾臓がん、前立腺がんおよび中枢神経系がんからなる群から選択される、請求項1または2に記載の方法。
10

【請求項 4】

前記がんが転移性がんである、請求項1から3のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記がんが多剤耐性がんである、請求項1から4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

化合物1の用量が、前記対象の体重1kgあたり約1mgから100mgの間である、請求項1から5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記化合物1の用量が、前記対象の体重1kgあたり約12.5mgである、請求項6に記載の方法。
20

【請求項 8】

前記化合物1の用量が、前記対象の体重1kgあたり約25mgである、請求項6に記載の方法。

【請求項 9】

前記化合物1の用量が、前記対象の体重1kgあたり約50mgである、請求項6に記載の方法。

【請求項 10】

前記AZD-1775の用量が前記対象の体重1kgあたり約30mgである、請求項2から9のいずれか一項に記載の方法。
30

【請求項 11】

前記化合物1の用量が前記対象の体重1kgあたり約25mgであり、前記AZD-1775の用量が前記対象の体重1kgあたり約30mgである、請求項6から10のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

化合物1および前記W ee 1阻害剤が共投与される、請求項1から11のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

化合物1および前記W ee 1阻害剤が同時にまたは連続的に共投与される、請求項12に記載の方法。
40

【請求項 14】

化合物1または前記W ee 1阻害剤が経口、静脈内、筋肉内、皮下または腫瘍内に投与される、請求項1から13のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

前記対象を処置することが、腫瘍体積の低減をもたらす、請求項1から14のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 16】

前記対象を処置することが、がんの1つまたは複数の徵候または症状の減少または除去をもたらす、請求項1から15のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 17】

10

20

30

40

50

前記対象を処置することが、生存時間の増加をもたらす、請求項 1 から 1 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 8】

前記対象ががんを有さない、請求項 1 から 1 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 9】

D N A 損傷剤を投与することをさらに含む、請求項 1 から 1 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 0】

(i) 化合物 1 または薬学的に許容されるその塩；

(i i) W e e 1 阻害剤または薬学的に許容されるその塩；および

(i i i) 薬学的に許容される担体

を含む、医薬組成物。

【請求項 2 1】

前記W e e 1 阻害剤が A Z D - 1 7 7 5 である、請求項 1 9 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 2】

化合物 1 が約 0 . 1 n M から 2 , 0 0 0 n M の間の濃度で存在する、請求項 2 0 または 2 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 3】

A Z D - 1 7 7 5 が約 0 . 1 n M から 1 , 0 0 0 n M の間の濃度で存在する、請求項 2 1 または 2 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 4】

D N A 損傷剤を含む、請求項 1 9 から 2 2 のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項 2 5】

請求項 2 0 から 2 3 のいずれか一項に記載の医薬組成物を含む、対象におけるがんを予防または処置するためのキット。

【請求項 2 6】

使用のための指示をさらに含む、請求項 2 5 に記載のキット。

【請求項 2 7】

1 つまたは複数の試薬をさらに含む、請求項 2 5 または 2 6 に記載のキット。

【請求項 2 8】

前記組成物が D N A 損傷剤を含む、請求項 2 5 から 2 7 のいずれかに記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

関連出願の引用

本願は、米国仮出願第 6 2 / 4 8 0 , 1 0 1 号（2 0 1 7 年 3 月 3 1 日提出）の利益を主張する。本願は、すべての目的のためにその全体が参考として援用される。

【0 0 0 2】

発明の分野

本発明は、がんの処置に関する組成物、方法および使用を対象とする。種々の態様および実施形態は、一般に、C h k 1 阻害剤、例えば、W e e 1 阻害剤とのその組合せ、ならびにがんの処置においてそのような化合物および組合せを調製または使用する方法に関する。

【背景技術】

【0 0 0 3】

発明の背景

がんは、合衆国および世界中で医療に相当な負荷を負わせ、社会に大きな影響を及ぼす疾患である。合衆国だけでも、2 0 1 6 年に 1 6 0 万人を超える人々が新たにがんを有すると診断され、約 6 0 万人ががんで死亡したと推定されている。がんは、身体における実質的にすべての細胞型から生じる腫瘍を含む非常に不均一な疾患であり、広範な環境的お

10

20

30

40

50

より遺伝的危険因子と関連している。さらに、がんは、すべての年齢、すべての民族、文化および社会経済学的群を襲う。

【0004】

*Chk1*は、セリン／スレオニンキナーゼであり、DNA損傷および複製ストレスへの応答における細胞周期チェックポイントの誘導に関与している。*Chk1*阻害は、内部SおよびG2/Mチェックポイントを抑止し、腫瘍細胞を周知のDNA損傷剤に選択的に感受性にすることが示されている（例えば、McNeely, S.ら、*Pharmacology & Therapeutics* 2014年（dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.10.005）を参照されたい）。

【0005】

化学療法および放射線治療への耐性、従来の治療に関する臨床的課題は、*Chk1*が関連付けられているDNA損傷応答の活性化と関連しており（Nature 2006年；444巻（7号）：756～760頁）、*Chk1*の阻害は、肺がん脳転移を放射線治療に感受性にする（Biochem. Biophys. Res. Commun. 2011年；406巻（1号）：53～8頁）。

*Chk1*阻害剤は、単剤（single agent）としてまたは組合せ物でのいずれでも、例としてDNA損傷およびチェックポイント経路の構成的活性化が遺伝的不安定性を駆動している腫瘍細胞を処置することにおいて、有用である。種々の試みが、*Chk1*キナーゼの阻害剤を開発するために行われている。例えば、PCT出願公開第WO2003/010444号および第WO2005/072733号は、*Chk1*キナーゼ阻害剤としてアリール／ヘテロアリールウレア化合物を開示している。米国特許出願公開第2005/0215556号は、キナーゼ阻害剤として大環状ウレアを開示している。PCT出願公開第WO2002/070494号、第WO2006/014359号および第WO2006/021002号は、*Chk1*阻害剤としてアリールおよびヘテロアリールウレアを開示している。PCT出願公開第WO2011/141716号および第WO2013/072502号は、両方とも*Chk1*阻害剤として置換ピラジニルフェニルウレアを開示している。PCT出願公開第WO2005/009435号および第WO2010/077758号は、*Chk1*キナーゼ阻害剤としてアミノピラゾールを開示している。

前述の努力にも関わらず、がん細胞をDNA損傷およびアポトーシス経路の活性化にさらに感受性にするため、ならびにがん細胞が他の化学療法および放射線治療による処置に耐性になりにくくするための治療剤として使用され得る、細胞周期チェックポイント阻害剤に対する必要は残ったままである。本発明は、これらの必要を満たし、関連する有利点をさらに提供する。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【特許文献1】国際公開第2003/010444号

【特許文献2】国際公開第2005/072733号

【特許文献3】米国特許出願公開第2005/0215556号明細書

【特許文献4】国際公開第2002/070494号

【特許文献5】国際公開第2006/014359号

【特許文献6】国際公開第2006/021002号

【特許文献7】国際公開第2011/141716号

【特許文献8】国際公開第2013/072502号

【特許文献9】国際公開第2005/009435号

【特許文献10】国際公開第2010/077758号

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】McNeely, S.ら、*Pharmacology & Therapeutics* 2014年（dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.10.005）

【非特許文献2】Nature 2006年；444巻（7号）：756～760頁）

10

20

30

40

50

【非特許文献 3】Biochem. Biophys. Res. Commun. 2011年；406巻(1号)
：53～8頁

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0008】

発明の簡単な概要

一部の態様では、本開示は、対象におけるがんを予防または処置するための方法であって、化合物1の治療有効量およびWEE1阻害剤の治療有効量を対象に投与することを含む、方法を提供する。一部の実施形態では、WEE1阻害剤は、アダボセルチブ(adavosertib)（すなわち、AZD-1775）である。

10

【0009】

一部の実施形態では、がんは、急性骨髓性白血病、食道がん、胃がん、マントル細胞リンパ腫、非小細胞肺がん(NSCLC)、卵巣がん、頭頸部がん、肝臓がん、脾臓がん、前立腺がんおよび中枢神経系がんからなる群から選択される。他の実施形態では、がんは、転移性がんである。一部の他の実施形態では、がんは、多剤耐性がんである。

【0010】

一部の実施形態では、化合物1の用量は、対象の体重1kgあたり約1mgから100mgの間である。一部の実施形態では、化合物1の用量は、対象の体重1kgあたり約12.5mgである。他の実施形態では、化合物1の用量は、対象の体重1kgあたり約25mgである。一部の他の実施形態では、化合物1の用量は、対象の体重1kgあたり約50mgである。他の実施形態では、AZD-1775の用量は対象の体重1kgあたり約30mgである。特定の実施形態では、化合物1の用量は対象の体重1kgあたり約25mgであり、AZD-1775の用量は対象の体重1kgあたり約30mgである。

20

【0011】

一部の実施形態では、化合物1およびWEE1阻害剤は、共投与される。他の実施形態では、化合物1およびWEE1阻害剤は、同時にまたは連続的に共投与される。特定の実施形態では、化合物1またはWEE1阻害剤は経口、静脈内、筋肉内、皮下または腫瘍内に投与される。

【0012】

一部の実施形態では、対象を処置することは、腫瘍体積の低減をもたらす。他の実施形態では、対象を処置することは、がんの1つまたは複数の徵候または症状の減少または除去をもたらす。一部の他の実施形態では、対象を処置することは、生存時間の増加をもたらす。特定の実施形態では、投与は予防のためであり、対象はがんを有さない。

30

【0013】

他の態様では、本発明は、化合物1および薬学的に許容される担体を含む医薬組成物を提供する。一部の実施形態では、医薬組成物は、WEE1阻害剤をさらに含む。一部の実施形態では、WEE1阻害剤は、AZD-1775である。

【0014】

一部の実施形態では、化合物1は、約0.1nMから2,000nMの間の濃度で存在する。一部の実施形態では、WEE1阻害剤（例えば、AZD-1775）は、約0.1nMから1,000nMの間の濃度で存在する。

40

【0015】

さらに他の態様では、本発明は、本発明の医薬組成物を含む、対象におけるがんを予防または処置するためのキットを提供する。一部の実施形態では、キットは、使用のための指示をさらに含む。一部の実施形態では、キットは、1つまたは複数の試薬をさらに含む。

【0016】

本発明の他の目的、特性および有利点は、続く詳細な記載および図面から当業者に明らかである。

【図面の簡単な説明】

50

【0017】

【図1】図1は、がんにおけるDNA損傷応答および細胞周期調節系（cell cycle control axis）を示す。

【0018】

【図2】図2は、化合物1の種々の薬物特性を示す。

【0019】

【図3A - B】図3A～3Dは、化合物1が、Chk1の強力で選択的な阻害剤であることを示す。図3Aは、さまざまなキナーゼファミリーを示す。図3Bは、化合物1の酵素選択性を示す。「TBD」は、値が決定されること意味する。図3Cは、酵素に対する化合物1の効力を示す。図3Dは、細胞に対する化合物1の効力を示す。

10

【図3C - D】図3A～3Dは、化合物1が、Chk1の強力で選択的な阻害剤であることを示す。図3Aは、さまざまなキナーゼファミリーを示す。図3Bは、化合物1の酵素選択性を示す。「TBD」は、値が決定されること意味する。図3Cは、酵素に対する化合物1の効力を示す。図3Dは、細胞に対する化合物1の効力を示す。

【0020】

【図4】図4は、化合物1が、多様な組織学的起源由来である癌細胞株において活性であったことを示す。横軸は、総癌集団についてIC₅₀値の中央値で交差する。IC₅₀値は、癌パネルについての中央値IC₅₀に対してプロットされている。

【0021】

【図5A - B】図5A～5Dは、化合物1が、非小細胞肺癌（NSCLC）異種移植モデルにおいて活性であったことを示す。データは、群平均+/-S.E.Mを表す。図5Aは、SK-MES NSCLC腫瘍モデルでの腫瘍体積への化合物1の効果を示す。図5Bは、NCI-H727 NSCLC腫瘍モデルでの腫瘍体積への化合物1の効果を示す。図5Cは、SK-MES NSCLC腫瘍モデルでの体重への化合物1の効果を示す。図5Dは、NCI-H727 NSCLC腫瘍モデルでの体重への化合物1の効果を示す。

20

【図5C - D】図5A～5Dは、化合物1が、非小細胞肺癌（NSCLC）異種移植モデルにおいて活性であったことを示す。データは、群平均+/-S.E.Mを表す。図5Aは、SK-MES NSCLC腫瘍モデルでの腫瘍体積への化合物1の効果を示す。図5Bは、NCI-H727 NSCLC腫瘍モデルでの腫瘍体積への化合物1の効果を示す。図5Cは、SK-MES NSCLC腫瘍モデルでの体重への化合物1の効果を示す。図5Dは、NCI-H727 NSCLC腫瘍モデルでの体重への化合物1の効果を示す。

30

【0022】

【図6A - B】図6A～6Cは、化合物1およびAZD-1775が相乗的であり、単剤として細胞活性の特有のパターンを示したことを示す。データは、群平均+/-S.E.Mを表す。黒矢印は、開始細胞数（細胞増殖抑制限度（cytostatic limit））に対応するシグナルを表す。図6Aは、SK-MES NSCLC腫瘍モデルでの細胞生存率における化合物1とAZD-1775との種々の組合せの効果を示す。図6Bは、NCI-H727 NSCLC腫瘍モデルでの細胞生存率における化合物1とAZD-1775との種々の組合せの効果を示す。図6Cは、化合物1とAZD-1775との比較を示し、種々のがん細胞株におけるIC₅₀値を示す。

40

【図6C】図6A～6Cは、化合物1およびAZD-1775が相乗的であり、単剤として細胞活性の特有のパターンを示したことを示す。データは、群平均+/-S.E.Mを表す。黒矢印は、開始細胞数（細胞増殖抑制限度（cytostatic limit））に対応するシグナルを表す。図6Aは、SK-MES NSCLC腫瘍モデルでの細胞生存率における化合物1とAZD-1775との種々の組合せの効果を示す。図6Bは、NCI-H727 NSCLC腫瘍モデルでの細胞生存率における化合物1とAZD-1775との種々の組合せの効果を示す。図6Cは、化合物1とAZD-1775との比較を示し、種々のがん細胞株におけるIC₅₀値を示す。

50

【0023】

【図7A - B】図7Aおよび7Bは、化合物1およびAZD-1775がNCI-H727 NSCLC異種移植腫瘍モデルにおいて活性であったことを示す。データは、群平均+/-S.E.Mを表す。図7Aは、化合物1およびAZD-1775、単独および組合せの、腫瘍体積への効果を示す。図7Bは、化合物1およびAZD-1775、単独および組合せの、体重への効果を示す。

【0024】

【図8】図8は、化合物1への感受性についての造血細胞株のスクリーニングの結果を示す。

【0025】

【図9A - B】図9Aおよび9Bは、化合物1が、マントル細胞リンパ腫細胞株において単剤抗増殖活性を実証したことを示す。図9Aは、増殖アッセイの結果を示す。図9Bは、図9Aに示す細胞株についてのIC₅₀値を示す。

10

【0026】

【図10A - B】図10A～10Dは、化合物1が、マントル細胞リンパ腫腫瘍異種移植モデルにおいて単剤として活性であり、耐容性が良好であったことを示す。図10Aは、Je k o - 1腫瘍成長への化合物1の効果を示す。図10Bは、Je k o - 1腫瘍モデルにおける体重への化合物1の効果を示す。図10Cは、Maver - 1腫瘍成長への化合物1の効果を示す。図10Dは、Maver - 1腫瘍モデルにおける体重への化合物1の効果を示す。

20

【図10C - D】図10A～10Dは、化合物1が、マントル細胞リンパ腫腫瘍異種移植モデルにおいて単剤として活性であり、耐容性が良好であったことを示す。図10Aは、Je k o - 1腫瘍成長への化合物1の効果を示す。図10Bは、Je k o - 1腫瘍モデルにおける体重への化合物1の効果を示す。図10Cは、Maver - 1腫瘍成長への化合物1の効果を示す。図10Dは、Maver - 1腫瘍モデルにおける体重への化合物1の効果を示す。

【0027】

【図11A - C】図11A～11Dは、化合物1がWee1阻害剤との組合せで、マントル細胞リンパ腫細胞株において相乗的抗増殖作用を示したことを示す。図11Aは、Je k o - 1細胞への化合物1およびAZD-1775の効果を示す。図11Bは、Maver - 1細胞への化合物1およびAZD-1775の効果を示す。図11Cは、Z - 138細胞への化合物1およびAZD-1775の効果を示す。図11Dは、Je k o - 1、Z - 138およびMaver - 1細胞についての組合せ指数を示す。

30

【図11D】図11A～11Dは、化合物1がWee1阻害剤との組合せで、マントル細胞リンパ腫細胞株において相乗的抗増殖作用を示したことを示す。図11Aは、Je k o - 1細胞への化合物1およびAZD-1775の効果を示す。図11Bは、Maver - 1細胞への化合物1およびAZD-1775の効果を示す。図11Cは、Z - 138細胞への化合物1およびAZD-1775の効果を示す。図11Dは、Je k o - 1、Z - 138およびMaver - 1細胞についての組合せ指数を示す。

40

【0028】

【図12】図12は、Je k o - 1、Z - 138およびMaver - 1細胞におけるホスホ-H2A.Xアッセイの結果を示す。

【0029】

【図13A - C】図13A～13Cは、マントル細胞リンパ腫細胞株におけるアポトーシスの化合物1誘導が、Wee1阻害の併用で増加したことを示す。図13Aは、Je k o - 1細胞におけるカスパーゼ - 3 / 7アッセイの結果を示す。図13Bは、Maver - 1細胞におけるカスパーゼ - 3 / 7アッセイの結果を示す。図13Cは、Z - 138細胞におけるカスパーゼ - 3 / 7アッセイの結果を示す。

【0030】

【図14A - B】図14Aおよび14Bは、化合物1の抗腫瘍活性が、Je k o - 1マン

50

トル細胞リンパ腫腫瘍モデルにおいてWee1阻害剤と組み合わされた場合に増強されたことを示す。図14Aは、腫瘍成長への化合物1およびAZD-1775の効果を示す。図14Bは、体重への化合物1およびAZD-1775の効果を示す。

【0031】

【図15A-C】図15A～15Cは、化合物1が、AML細胞株において抗増殖活性を実証し、DNA損傷を誘導したことを示す。図15Aは、複数の細胞株における増殖アッセイの結果を示す。図15Bは、図15Aにおいて示された細胞株における化合物1 IC₅₀値を示す。図15Cは、ホスホ-H2A.X(S139)アッセイの結果を示す。

【0032】

【図16A-B】図16Aおよび16Bは、化合物1が、MV-411 AML腫瘍異種移植モデルにおいて単剤として活性であり、耐容性が良好であったことを示す。図16Aは、MV-411腫瘍成長への化合物1の効果を示す。図16Bは、MV-411腫瘍モデルにおける体重への化合物1の効果を示す。

【発明を実施するための形態】

【0033】

発明の詳細な説明

I. 序論

チェックポイントキナーゼ1(Chk1)は、SおよびG2相において細胞周期進行を停止することによって遺伝毒性ストレスに応答して細胞分裂を制御する、セリン／スレオニンタンパク質キナーゼである。Chk1の薬理学的阻害は、増加したDNA複製ストレスを有する腫瘍細胞を標的とし、DNA複製チェックポイント機能の解放(uncoupling)ならびにDNA損傷および細胞死の誘導をもたらす。これらの特性は、発がん性シグナル伝達および並行するDNA損傷応答経路機能の喪失によって駆動される高い複製ストレスを有するがんにおいてChk1阻害を、単剤としての新たな治療手法にする。

【0034】

細胞周期制御およびDNA損傷応答(DDR)シグナル伝達を標的化することは、がん治療のための臨床的に検証された手法である。図1に示すとおり、Chk1は、細胞分裂周期および細胞性DDRシグナル伝達の重要なモジュレーターである。Chk1は、DNA損傷およびDNA複製ストレスに応答して細胞分裂周期を制御する。さらに、Chk1は、他のDDRおよび細胞周期制御経路と並行して機能し、その多くは、がん細胞において制御解除されている。がんにおけるDDRおよび細胞周期制御の喪失は、Chk1阻害への感受性を増加させる。

【0035】

細胞分裂周期25(Cdc25)は、サイクリンを活性化し、サイクリン依存性キナーゼ(Cdk)活性の増加をもたらすホスファターゼである。Chk1阻害剤は、Chk1によるCdc25の調節を破壊することによって細胞周期チェックポイント活性化を遮断し、サイクリンおよびCdk活性の増加をもたらす。加えて、図1に示すとおり、Wee1は、サイクリン活性化およびCdk活性を制御するようにChk1と並行して機能する。

【0036】

本発明は、Chk1阻害剤化合物1が、多数の異なるがんに対応する広範ながん細胞株において腫瘍成長および細胞生存率を抑制するという発見に、部分的に、基づいている。本発明は、化合物1がWee1の阻害剤、細胞周期チェックポイント制御因子として機能する別のタンパク質、との組合せで与えられた場合に相乗効果を示すという発見にも部分的に基づいている。化合物1とWee1の阻害剤との組合せ処置は、1未満のChou-Talalay組合せ指標(Chou-Talalay combination index)(CI)をもたらす。Chou-Talalayは、薬物組合せにおける、相加効果(CI=1)、相乗性(CI<1)および拮抗作用(CI>1)についての定量的定義を提供する広く使用されている方法である。例えば、Chou, T. C., Cancer Res. 2010年、70巻(2号)、440～6頁を参照されたい。

10

20

30

40

50

【0037】

I I . 定義

他を具体的に示す場合を除いて、本明細書で使用するすべての技術的および科学的用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般に理解されるのと同じ意味を有する。加えて、本明細書に記載される方法または材料と類似のまたは等価の任意の方法または材料は、本発明の実施において使用され得る。本発明の目的のために、次の用語は定義される。

【0038】

本明細書において使用される用語「1つの(a)」、「1つの(an)」または「その(the)」は、1つのメンバーを含む態様を含むだけでなく、1つより多いメンバーを含む態様も含む。例えば、単数形「1つの(a)」、「1つの(an)」および「その(the)」は、内容が他を明確に示す場合を除いて、複数の参照物を含む。したがって、例えば、「細胞(cell)」への言及は、複数のそのような細胞を含み、「薬剤(the agent)」への言及は、当業者に公知の1つまたは複数の薬剤への言及を含むなどである。10

【0039】

本明細書において使用される用語「約」および「およそ」は、測定の所与の性質および確度で測定された量に関する許容される誤差の程度を一般に意味するものとする。典型的、例示的な誤差の程度は、所与の値または値の範囲の20パーセント(%)以内、好ましくは10%以内、より好ましくは5%以内である。「約X」への言及は、具体的には、少なくとも値X、0.95X、0.96X、0.97X、0.98X、0.99X、1.01X、1.02X、1.03X、1.04Xおよび1.05Xを示す。したがって「約X」は、例えば「0.98X」の特許請求の範囲の限定を支持する書面による記載を教示および提供することを意図する。20

【0040】

代替的に、生物学系では用語「約」および「およそ」は、所与の値の一桁以内、好ましくは5倍以内、より好ましくは2倍以内である値を意味し得る。本明細書において示される数量は、他に述べられる場合を除いて概数であり、用語「約」または「およそ」は、明確に述べられていない場合、推定され得ることを意味する。

【0041】

「約」が数値範囲の最初に適用されている場合、それは範囲の両端に適用される。したがって「約5から20%」は、「約5%から約20%」と等価である。「約」が値のセットの最初の値に適用されている場合、それはセットにおけるすべての値に適用される。したがって、「約7、9または11mg/kg」は、「約7、約9または約11mg/kg」と等価である。30

【0042】

本明細書において使用される用語「または」は、一般に非排他的に解釈されるべきである。例えば、「AまたはBを含む組成物」への特許請求は、AおよびB両方を含む組成物を有する態様を典型的には表す。しかし「または」は、矛盾無く組み合わせられない、示された態様（例えば、9と10との間または7と8との間である組成物pH）を排除すると解釈されるべきである。40

【0043】

群「AまたはB」は、群「AおよびBからなる群から選択される」と典型的には等価である。

【0044】

本明細書において使用される用語「含む」は、追加的成分を排除しないとして一般に解釈するべきである。例えば、「Aを含む組成物」への特許請求は、AおよびB；A、BおよびC；A、B、CおよびD；A、B、C、DおよびE；などを含む組成物を網羅する。

【0045】

本明細書において使用される用語「対象」、「個体」および「患者」は、本明細書にお

10

20

30

40

50

いて脊椎動物、好ましくは哺乳動物、より好ましくはヒトを指すように互換的に用いられる。哺乳動物としては、これだけに限らないが、マウス、ラット、サル、ヒト、家畜、競技用動物およびペットが挙げられる。in vivoで得られるまたはin vitroで培養される生物学的実体の組織、細胞およびそれらの後代も包含される。

【0046】

本明細書において使用される、用語「治療有効量」は、示された障害、状態または精神状態に関して望ましい結果をもたらすために十分な投薬量を含む。望ましい結果は、投薬のレシピエントにおける主観的または客観的改善を含み得る。例えば、化合物1などのChk1阻害剤；AZD-1775などのWee1阻害剤；またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せの有効量は、がん（例えば、急性骨髓性白血病、食道がん、胃がん、マントル細胞リンパ腫、非小細胞肺がん（NSCLC）、卵巣がん、頭頸部がん、肝臓がん、脾臓がん、前立腺がんまたは中枢神経系がん）の徴候、症状または原因を軽減するために十分な量を含む。別の例として、化合物1などのChk1阻害剤；AZD-1775などのWee1阻害剤；またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せの有効量は、転移性または多剤耐性がんの徴候、症状または原因を軽減するために十分な量を含む。別の例として、化合物1などのChk1阻害剤；AZD-1775などのWee1阻害剤；またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せの有効量は、がんの発展を予防するために十分な量を含む。

10

【0047】

したがって、治療有効量は、腫瘍成長を遅くする、逆行させるもしくは予防する、生存時間を増加させるまたは腫瘍増悪もしくは転移を阻害する量であつてよい。同様に例えば、化合物1などのChk1阻害剤；AZD-1775などのWee1阻害剤；またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せの有効量は、対象に投与された場合に、がんを有する対象において実質的な改善をもたらすために十分な量を含む。有効量は、処置されるがんの種類およびステージ、投与される1つまたは複数の組成物（例えば、化合物1などのChk1阻害剤；AZD-1775などのWee1阻害剤；またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せを含む）の種類および濃度ならびに同様に投与される他の薬物の量で変動する場合がある。

20

【0048】

本明細書における目的のために、治療有効量は、当技術分野において公知であり得る考慮事項によって決定される。量は、がんに罹患している対象において望ましい治療効果を達成するために有効でなければならない。治療有効量は、処置される疾患の種類および重症度ならびに処置レジメンに特に依存する。治療有効量は、適切に設計された臨床試験（例えば、用量範囲研究）において典型的には決定され、当業者は治療有効量を判定するための治験をどのように適切に実施するかを承知している。一般に公知のとおり、治療有効量は、身体での治療薬剤（例えば、化合物1などのChk1阻害剤；AZD-1775などのWee1阻害剤；もしくはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せ）または組成物の分布プロファイル、種々の薬理学的パラメーター（例えば、身体での半減期）と望ましくない副作用との間の関係、ならびに年齢および性別などの他の要因などが挙げられる種々の要因に依存する。

30

【0049】

用語「生存期間」または「生存時間」は、疾患の診断、または疾患（例えば、がん）に対する治療の特定のコースの開始もしくは完了後の時間の長さを指す。用語「全生存期間」は、がんなどの疾患を有すると診断されたまたは処置された後に定義された期間生存している患者を記載する臨床エンドポイントを含む。用語「無病生存期間」は、患者が疾患の徴候を有さずに（例えば、既知の再発を有さずに）生存している間の、特定の疾患（例えば、がん）についての処置後の時間の長さを含む。ある特定の実施形態では、無病生存期間は、具体的な治療の有効性を評価するために使用される臨床的パラメーターであり、1または5年間の単位で通常測定される。用語「無増悪生存期間」は、患者が疾患の追加的症状を有さずに疾患を有して生存している特定の疾患（例えば、がん）について処置中

40

50

のおよび処置後の時間の長さを含む。一部の実施形態では、生存期間は、中央値または平均値として表現される。

【0050】

本明細書において使用される、用語「処置すること (treating)」としては、これだけに限らないが、レシピエントの健康状態（例えば、患者のがんの状態）に有益な変化をもたらす方法および操作が挙げられる。変化は、主観的または客観的のいずれであってもよく、処置されるがんの症状または徵候などの特性に関連していてよい。例えば、患者が疼痛の減少を述べる場合、それにより疼痛の上首尾の処置が生じている。例えば、腫脹の量が減少した場合、それにより炎症の有益な処置が生じている。同様に、臨床医が、がん細胞の数、がん細胞の増殖、がん腫瘍の大きさまたは別の抗がん薬物へのがん細胞の抵抗性の低減などの客観的变化を述べる場合、それによりがんの処置も有益であった。レシピエントの状態の悪化を予防することも、上記用語により含まれている。本明細書において使用される処置することは、化合物1などのChk1阻害剤およびAZD-1775などのWee1阻害剤；またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せを、がん（例えば、急性骨髓性白血病、食道がん、胃がん、マントル細胞リンパ腫、非小細胞肺がん（NSCLC）、卵巣がん、頭頸部がん、肝臓がん、脾臓がん、前立腺がんもしくは中枢神経系がん）を有する患者に投与することも含む。10

【0051】

用語「投与すること (administering)」および「投与 (administration)」は、対象への、経口投与、局所接触、坐薬としての投与、静脈内、腹腔内、筋肉内、病巣内、腫瘍内、髄腔内 (intrathecal)、鼻腔内（例えば、吸入、鼻用ミストもしくは滴下剤）、または皮下投与、または緩慢放出デバイス、例えばミニ浸透圧ポンプの移植を含む。投与は、非経口および経粘膜（例えば、頬側、舌下、口蓋、歯肉、鼻、膣、直腸または経皮）が挙げられる任意の経路によってである。非経口投与としては、例えば、静脈内、筋肉内、小動脈内、皮内、皮下、腹腔内、室内 (intraventricular) および頭蓋内が挙げられる。送達の他の様式としては、これだけに限らないが、リポソーム製剤、静脈内注入、経皮的パッチなどの使用が挙げられる。当業者は、がんに関連する1つまたは複数の症状を予防または緩和するために、本発明の方法により化合物1などのChk1阻害剤；AZD-1775などのWee1阻害剤；またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せの治療有効量を投与するための追加的方法を承知している。20

【0052】

本明細書において使用される、用語「共投与すること (co-administering)」は、2つまたはそれより多い構造的に異なる化合物の連続的なまたは同時の投与を含む。例えば、2つまたはそれより多い構造的に異なる薬学的に活性な化合物は、2つまたはそれより多い構造的に異なる活性な薬学的に活性な化合物を含有する経口投与用に適合された医薬組成物を投与することによって共投与され得る。別の例として、2つまたはそれより多い構造的に異なる化合物は、一方の化合物を投与し、次に他方の化合物を投与することによって共投与され得る。2つまたはそれより多い構造的に異なる化合物は、Chk1阻害剤（例えば、化合物1）およびWee1阻害剤（例えば、AZD-1775）から構成されてよい。一部の実施形態では、共投与される化合物は、同じ経路によって投与される。他の実施形態では、共投与される化合物は、異なる経路を介して投与される。例えば、一方の化合物は経口投与されてよく、他方の化合物は、例えば静脈内、筋肉内、皮下または腹腔内注射を介して連続的にまたは同時に投与されてよい。同時にまたは連続的に投与される化合物または組成物は、Chk1阻害剤およびWee1阻害剤が対象においてまたは細胞において有効な濃度で同時に存在するように投与され得る。40

【0053】

本明細書において使用される、用語「薬学的に許容される担体」は、細胞、生物または対象への活性剤の投与を補助する物質を指す。「薬学的に許容される担体」は、本発明の組成物に含まれてよく、対象に顕著な有害な毒性学的作用を生じない担体または賦形剤を指す。薬学的に許容される担体の非限定的例としては、水、NaCl、生理食塩液、乳酸50

リングル、通常のショ糖 (normal sucrose) 、通常のグルコース (normal glucose) 、結合剤、充填剤、崩壊剤、滑沢剤、コーティング剤、甘味剤、香料および着色料、リポソーム、分散媒、マイクロカプセル、カチオン性脂質担体、等張剤ならびに吸収遅延剤などが挙げられる。担体は、安定性、無菌性および等張性（例えば、抗菌保存剤、抗酸化剤、キレート剤および緩衝剤）を有する製剤を提供するため、微生物の作用を予防するため（例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸などのような抗菌剤および抗真菌剤）または食用の風味を有する製剤を提供するためなどの物質であってもよい。一部の実施形態では、担体は、標的細胞または組織へのペプチドまたはオリゴペプチドの送達を促進する剤である。当業者は、他の医薬用担体が本発明において有用であることを認識している。

10

【0054】

本明細書において使用される、用語「がん」は、異常な細胞の調節されていない成長によって特徴付けられる疾患のクラスのメンバーを含むことが意図される。用語は、進行型、再発、転移前および転移後のがんを含むすべてのステージおよびグレードのがんを含む。薬物耐性および多剤耐性がんも含まれる。本発明の方法による処置に好適ながんとしては、胃がん、肺がん（例えば、非小細胞肺がん（NSCLC））、卵巣がん、乳がん、結腸直腸がん、神経系がん（例えば、中枢神経系がん）、副腎がん、膀胱がん、血液がん（例えば、白血病、急性骨髓性白血病、マントル細胞リンパ腫、未分化大細胞リンパ腫（ALCL）、B細胞急性リンパ球性白血病、バーキットリンパ腫、慢性リンパ球性白血病、慢性骨髓性白血病、多発性骨髓腫、急性前骨髓球性白血病、T細胞急性リンパ球性白血病）、骨がん、子宮頸がん、食道がん、眼がん、腎臓がん、頭頸部がん、肝臓がん、筋肉がん、鼻がん、膵臓がん、咽頭がん、胎盤がん、前立腺がん、皮膚がん、軟部組織がん、顎下腺がん、甲状腺がん、舌がんおよび子宮がんが挙げられる。本明細書において使用される「腫瘍」は、1つまたは複数のがん性細胞を含む。がんの組合せは上記用語によって排除されない。

20

【0055】

がんの文脈では、用語「ステージ」は、がんの程度の分類を指す。がんをステージ分類する場合に考慮する要因としては、これだけに限らないが、腫瘍の大きさ、近くの組織への腫瘍侵襲、および腫瘍が他の部位に転移しているかどうかが挙げられる。あるステージを別のステージから識別するための特異的基準およびパラメーターは、がんの種類に応じて変動する場合がある。がんのステージ分類は、例えば、予後を決定したり、または最も好適な処置選択肢（複数可）を確認したりすることを支援するために使用される。

30

【0056】

がんステージ分類システムの非限定の一例は、「TNM」システムと称される。TNMシステムでは、「T」は、主な腫瘍の大きさおよび程度を指し、「N」は、がんが拡がっている近くのリンパ節の数を指し、「M」は、がんが転移しているかどうかを指す。「TX」は、主な腫瘍が測定できないことを意味する。「T0」は、主な腫瘍を見出すことができないことを意味しており、「T1」、「T2」、「T3」および「T4」は、主な腫瘍の大きさおよび程度を意味しており、大きな数が大きな腫瘍または近くの組織に成長している腫瘍に対応する。「NX」は、近くのリンパ節においてがんが測定できないことを意味し、「N0」は、近くのリンパ節にがんが無いことを意味し、「N1」、「N2」、「N3」および「N4」は、がんが拡がっているリンパ節の数および位置を意味し、大きな数字は、がんを含有するリンパ節の数の多さに対応する。「MX」は、転移が測定できないことを意味しており、「M0」は、転移が生じていないことを意味し、「M1」は、がんが身体の他の部分に転移していることを意味する。

40

【0057】

がんステージ分類システムの別の非限定的例として、がんは、5つのステージ：「ステージ0」、「ステージI」、「ステージII」、「ステージIII」または「ステージIV」の1つを有するとして分類または段階分けされる。ステージ0は、異常な細胞が存在するが、近くの組織に拡がっていないことを意味する。これは、上皮内癌（CIS）とも

50

一般に呼ばれる。C I Sはがんではないが、次にがんに発展する可能性がある。ステージI、IIおよびIIIは、がんが存在することを意味する。より大きな数字は、腫瘍の大きさがより大きいことまたは近くの組織に拡がった腫瘍に対応する。ステージIVは、がんが転移していることを意味する。当業者は、さまざまがんステージ分類システムに通じており、それらを容易に応用または解釈できる。

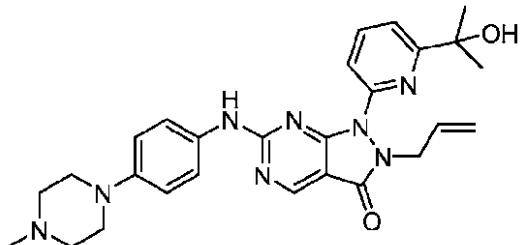
【0058】

用語「化合物1」は、Chk1の阻害剤として作用する、5-((5-(4-(4-フルオロ-1-メチルピペリジン-4-イル)-2-メトキシフェニル)-1H-ピラゾール-3-イル)アミノ)ピラジン-2-カルボニトリルを指す。

【0059】

「AZD1775」、「MK-1775」および「MK1775」としても公知の用語「AZD-1775」は、次の構造：

【化1】



を有する、2-アリル-1-((6-(2-ヒドロキシプロパン-2-イル)ピリジン-2-イル)-6-((4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)-1H-ピラゾロ[3,4-d]ピリミジン-3(2H)-オンを指す。

AZD-1775は、Wee1の高度に選択的、ATP競合的な、小分子阻害剤であり、酵素に対する約5.18nMのIC₅₀を有する。in vitroでAZD-1775は、細胞に基づくアッセイにおいて約80nMのEC₅₀を有して、Wee1活性を阻害し、DNA損傷およびG2チェックポイントエスケープを誘導する。p53-欠損細胞株において、AZD-1775は、ゲムシタビン、シスプラチン、カルボプラチンおよびトポテカンなどのDNA損傷剤との組合せで使用された場合に、細胞傷害性を増加させる。

【0060】

用語「チェックポイントキナーゼ1」または「Chk1」は、ヒトにおいてCHEK1遺伝子によってコードされている「CHEK1」としても公知のセリン/スレオニンキナーゼを指す。Chk1は、DNA損傷応答(DDR)および細胞周期チェックポイント応答を調和させる。Chk1活性化は、細胞周期チェックポイント活性化、細胞周期停止、DNA修復および細胞死を生じる。Chk1は、UV誘発損傷、DNA複製ストレスおよび鎖間架橋から生じ得る単一鎖DNAの検出によって引き起こされ得る、ATRによるリン酸化に応答して活性化される。複製タンパク質A、クラスpin、Tim-Tipin複合体、Rad17およびDNAトポイソメラーゼ2結合タンパク質1(TopBP1)などの他のタンパク質は、Chk1活性化に関与する。加えて、キナーゼPKB/AKT、MAPKAPKおよびp90/RSKなどのタンパク質は、Chk1のART非依存性活性化に関与する。

【0061】

Chk1の主な標的の1つは、Chk1によって阻害されるホスファターゼCDC25であり、細胞周期の重要なドライバーであるサイクリンおよびサイクリン依存性キナーゼ(Cdk)活性の不活性化を生じる。それによりChk1阻害は、サイクリンおよびCdk活性の活性化、最終的には細胞周期を通じた進行を促進する。

【0062】

ヒトChk1 mRNA配列の非限定的例は、GenBank参照番号NM_001114121 NP_001107593、NM_001114122 NP_001107594、NM_001244846 NP_001231775、NM_001274

10

20

30

40

50

N P _ 0 0 1 2 6 5 および N M _ 0 0 1 3 3 0 4 2 7 N P _ 0 0 1 3 1 7 3 5 6 の下、記載されている。

【 0 0 6 3 】

用語「C h k 1 阻害剤」は、C h k 1 活性を低減または除去する任意の化合物（例えば、薬学的に活性な化合物）を指す。C h k 1 阻害剤は、例えば、1つまたは複数のシグナル伝達分子、タンパク質もしくは他の化合物によってC h k 1 活性化の低減もしくは除去を生じ得る（例えば、C h k 1 阻害剤は、A T R によるリン酸化に応答してC h k 1 活性化を減少もしくは除去し得る）、またはすべてのシグナル伝達分子、タンパク質もしくは他の化合物によるC h k 1 活性化の低減もしくは除去を生じ得る。用語は、C h k 1 による1つまたは複数のタンパク質または細胞シグナル伝達構成要素の活性化または不活性化を減少または除去する化合物（例えば、C h k 1 阻害剤は、C d c 2 5 ホスファターゼ活性のC h k 1 依存性阻害を減少もしくは除去し得る）も含む。C h k 1 阻害剤は、C h k 1 発現を阻害する化合物（例えば、C h k 1 転写もしくは翻訳を阻害する化合物）も含む。

10

【 0 0 6 4 】

用語「W e e 1」は、ヒトにおいてW E E 1 遺伝子によってコードされる核セリン／スレオニンキナーゼを指す。W e e 1 は、「W e e 1 G 2 チェックポイントキナーゼ」および「W e e 1 A キナーゼ」としても公知である。W e e 1 は、リン酸化によって細胞周期チェックポイントを活性化し、それによりサイクリンおよびC d k 活性を阻害する。W e e 1 は、G 2 / M チェックポイント、細胞サイズチェックポイント、およびD N A 損傷チェックポイントの制御において機能する。さらに高度な真核生物では、W e e 1 は、リン酸化および分解によって不活性化される。S C F タンパク質複合体（E 3 ユビキチンリガーゼ）は、ユビキチン化によってW e e 1 を制御する。追加的に、S C F によるW e e 1 の認識は、ポロ様キナーゼ1（Polio-like kinase 1）（P l k 1）およびC d c 2 によるW e e 1 のリン酸化によって媒介される。W e e 1 は、クルッペル様因子2（K 1 f 2）によっても負に制御される。ヒトW e e 1 m R N A 配列の非限定的例は、G e n B a n k 参照番号N M _ 0 0 3 3 9 0 N P _ 0 0 3 3 8 1 の下、記載されている。

20

【 0 0 6 5 】

用語「W e e 1 阻害剤」は、W e e 1 活性を低減または除去する任意の化合物（例えば、薬学的に活性な化合物）を指す。W e e 1 阻害剤は、例えば、1つまたは複数のシグナル伝達分子、タンパク質もしくは他の化合物によるW e e 1 活性化の低減もしくは除去を生じ得る、またはすべてのシグナル伝達分子、タンパク質もしくは他の化合物によるW e e 1 活性化の低減もしくは除去を生じ得る。用語は、W e e 1 による1つまたは複数のタンパク質または細胞シグナル伝達構成要素の活性化または不活性化を減少もしくは除去する化合物も含む（例えば、W e e 1 阻害剤は、サイクリンおよびC d k 活性のW e e 1 依存性不活性化を減少もしくは除去し得る）。W e e 1 阻害剤は、W e e 1 発現を阻害する化合物（例えば、W e e 1 転写もしくは翻訳を阻害する化合物）も含む。

30

【 0 0 6 6 】

A Z D - 1 7 7 5 に加えて、W e e 1 阻害剤の他の例は、例えば、米国特許第7,834,019号、第7,935,708号、第8,288,396号、第8,436,004号、第8,710,065号、第8,716,297号、第8,791,125号、第8,796,289号、第9,051,327号、第9,181,239号、第9,714,244号、第9,718,821号および第9,850,247号、米国特許出願公開第2010/0113445号および第2016/0222459号ならびに国際特許出願公開第WO2002/090360号、第2015/019037号、第2017/013436号、第2017/216559号、第2018/011569号および第2018/011570号に記載されている。これらの特許および公報の開示は、参照により本明細書に組み込まれる。

40

【 0 0 6 7 】

I I I . 実施形態の記載

50

A. がんを予防または処置するための方法

一態様では、本開示は、対象におけるがん（例えば、急性骨髓性白血病、食道がん、胃がん、マントル細胞リンパ腫、非小細胞肺がん（NSCLC）、卵巣がん、頭頸部がん、肝臓がん、脾臓がん、前立腺がんまたは中枢神経系がん）を予防または処置するための方法であって、対象にチェックポイントキナーゼ1（Chk1）阻害剤の治療有効量を投与することを含む方法を提供する。

【0068】

本発明の方法によるがんの予防または処置のために好適なChk1阻害剤は、その全体がすべての目的のために参照により本明細書に組み込まれるPCT出願公開第WO2015/120390号に開示されている。特定の実施形態では、Chk1阻害剤は、化合物1または薬学的に許容されるその塩である。10

【0069】

一部の実施形態では、方法は、Wee1阻害剤の治療有効量を対象に投与することをさらに含む。一部の実施形態では、Wee1阻害剤は、ピラゾロピリミジン誘導体、ピリドピリミジン、4-(2-クロロフェニル)-9-ヒドロキシピロロ[3,4-c]カルバゾール-1,3-(2H,6H)-ジオン（「Wee1阻害剤」または「Chk1阻害剤V」としても公知（CAS番号622855-37-2）、6-ブチル-4-(2-クロロフェニル)-9-ヒドロキシピロロ[3,4-c]カルバゾール-1,3-(2H,6H)-ジオン（「Wee1阻害剤II」としても公知（CAS番号62285550-9）、4-(2-フェニル)-9-ヒドロキシピロロ[3,4-c]カルバゾール-1,3-(2H,6H)-ジオン（「Wee1阻害剤III」または「Chk1阻害剤IV」としても公知（CAS番号1177150-89-8）、抗Wee1抗体、および抗Wee1低分子干渉RNA（siRNA）分子からなる群から選択される。一部の実施形態では、ピリドピリミジンは、ピリド[2,3-d]ピリミジン（PDOI66285または6-(2,6-ジクロロフェニル)-2-[4-[2-(ジエチルアミノ)エトキシ]アニリノ]-8-メチルピリド[2,3-d]ピリミジン-7-オンとしても公知）である。一部の実施形態では、ピラゾロピリミジン誘導体は、AZD-1775である。一部の実施形態では、ピラゾロピリミジンは、メチル4-(4-((2-アリル-1-(6-(2-ヒドロキシプロパン-2-イル)ピリジン-2-イル)-3-オキソ-2,3-ジヒドロ-1H-ピラゾロ[3,4-d]ピリミジン-6-イル)アミノ)フェニル)ピペラジン-1-カルボキシレート（すなわち、CJMO61）である。一部の実施形態では、ピラゾロピリミジンは、異なるカルバメート基（例えば、エチル）を有する類似体化合物である。20

【0070】

本開示の方法は、多くのがんを予防または処置するために好適である。一部の実施形態では、予防または処置されるがんの種類は、胃がん、肺がん（例えば、非小細胞肺がん（NSCLC））、卵巣がん、乳がん、結腸直腸がん、頭頸部がん、神経系がん（例えば、中枢神経系がん）、副腎がん、膀胱がん、血液がん（例えば、白血病、急性骨髓性白血病、マントル細胞リンパ腫、未分化大細胞リンパ腫、B細胞急性リンパ芽球性白血病、バーキットリンパ腫、慢性リンパ球性白血病、慢性骨髓性白血病、多発性骨髓腫、急性前骨髓球性白血病、T細胞急性リンパ芽球性白血病）、骨がん、子宮頸がん、食道がん、眼がん、腎臓がん、肝臓がん、筋肉がん、鼻がん、脾臓がん、咽頭がん、胎盤がん、前立腺がん、皮膚がん、軟部組織がん、顎下腺がん、甲状腺がん、舌がんおよび子宮がんからなる群から選択される。特定の実施形態では、予防または処置されるがんは、急性骨髓性白血病、胃がん、食道がん、マントル細胞リンパ腫、非小細胞肺がん（NSCLC）、卵巣がん、頭頸部がん、肝臓がん、脾臓がん、前立腺がんおよび中枢神経系がんからなる群から選択される。一部の実施形態では、がんは転移性がんである。一部の実施形態では、がんは進行がんである。一部の実施形態では、がんは薬物耐性がんである。一部の実施形態では、がんは多剤耐性がんである。一部の実施形態では、がんは、進行型、転移性または薬物耐性である。一部の実施形態では、がんはマントル細胞リンパ腫である。一部の実施形態40

では、がんはマントル細胞リンパ腫であり、対象は、t(11;14)(q13;q32)の染色体転座を有する。特定の実施形態では、がんは乳がんまたは転移性乳がんである。

【0071】

一部の実施形態では、Chk1阻害剤（例えば、化合物1）の治療有効量は、対象の体重1kgあたり約0.1mgから10mgの間（例えば、対象の体重1kgあたり約0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5または10mg）である。他の実施形態では、Chk1阻害剤（例えば、化合物1）の治療有効量は、対象の体重1kgあたり約10mgから100mgの間（例えば、対象の体重1kgあたり約10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95または100mg）である。¹⁰ 一部の実施形態では、Chk1阻害剤（例えば、化合物1）の治療有効量は、対象の体重1kgあたり少なくとも約100mgから500mg（例えば、対象の体重1kgあたり少なくとも約100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475または500mg）である。²⁰ 一部の実施形態では、Chk1阻害剤（例えば、化合物1）の治療有効量は、対象の体重1kgあたり約1mgから50mgの間（例えば、対象の体重1kgあたり約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49または50mg）である。³⁰ 一部の実施形態では、Chk1阻害剤（例えば、化合物1）の治療有効量は、対象の体重1kgあたり約7.5mgである。一部の実施形態では、Chk1阻害剤（例えば、化合物1）の治療有効量は、対象の体重1kgあたり約12.5mgである。一部の他の実施形態では、Chk1阻害剤（例えば、化合物1）の治療有効量は、対象の体重1kgあたり約20mgである。他の実施形態では、Chk1阻害剤（例えば、化合物1）の治療有効量は、対象の体重1kgあたり約25mgである。一部の実施形態では、Chk1阻害剤（例えば、化合物1）の治療有効量は、対象の体重1kgあたり約50mgである。

【0072】

一部の実施形態では、Chk1阻害剤（例えば、化合物1）の用量は、約1mgから100mgの間（例えば約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95または100mg）のChk1阻害剤を含む。他の実施形態では、Chk1阻害剤（例えば、化合物1）の用量は、約100mgから1,000mgの間（例えば、約100、105、110、115、120、125、130、135、140、145、150、155、160、165、170、175、180、185、190、195、200、205、210、215、220、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、600、625、650、675、700、725、750、775、800、825、850、875、900、925、950、975または1,000mg）のChk1阻害剤を含む。⁴⁰

【0073】

一部の実施形態では、Chk1阻害剤（例えば、化合物1）の用量は、少なくとも約1,000mgから10,000mg（例えば、少なくとも約1,000、1,100、1,200、1,300、1,400、1,500、1,600、1,700、1,800、1,900、2,000、2,100、2,200、2,300、2,400、2,500）⁵⁰

0 0 、 2 , 6 0 0 、 2 , 7 0 0 、 2 , 8 0 0 、 2 , 9 0 0 、 3 , 0 0 0 、 3 , 1 0 0 、 3
, 2 0 0 、 3 , 3 0 0 、 3 , 4 0 0 、 3 , 5 0 0 、 3 , 6 0 0 、 3 , 7 0 0 、 3 , 8 0 0
、 3 , 9 0 0 、 4 , 0 0 0 、 4 , 1 0 0 、 4 , 2 0 0 、 4 , 3 0 0 、 4 , 4 0 0 、 4 , 5
0 0 、 4 , 6 0 0 、 4 , 7 0 0 、 4 , 8 0 0 、 4 , 9 0 0 、 5 , 0 0 0 、 5 , 1 0 0 、 5
, 2 0 0 、 5 , 3 0 0 、 5 , 4 0 0 、 5 , 5 0 0 、 5 , 6 0 0 、 5 , 7 0 0 、 5 , 8 0 0
、 5 , 9 0 0 、 6 , 0 0 0 、 6 , 1 0 0 、 6 , 2 0 0 、 6 , 3 0 0 、 6 , 4 0 0 、 6 , 5
0 0 、 6 , 6 0 0 、 6 , 7 0 0 、 6 , 8 0 0 、 6 , 9 0 0 、 7 , 0 0 0 、 7 , 1 0 0 、 7
, 2 0 0 、 7 , 3 0 0 、 7 , 4 0 0 、 7 , 5 0 0 、 7 , 6 0 0 、 7 , 7 0 0 、 7 , 8 0 0
、 7 , 9 0 0 、 8 , 0 0 0 、 8 , 1 0 0 、 8 , 2 0 0 、 8 , 3 0 0 、 8 , 4 0 0 、 8 , 5
0 0 、 8 , 6 0 0 、 8 , 7 0 0 、 8 , 8 0 0 、 8 , 9 0 0 、 9 , 0 0 0 、 9 , 1 0 0 、 9
, 2 0 0 、 9 , 3 0 0 、 9 , 4 0 0 、 9 , 5 0 0 、 9 , 6 0 0 、 9 , 7 0 0 、 9 , 8 0 0
、 9 , 9 0 0 、 1 0 , 0 0 0 mg またはそれより多く) の C h k 1 阻害剤である。 10

【 0 0 7 4 】

一部の実施形態では、 C h k 1 阻害剤（例えば、 化合物 1 ）の用量は、 治療有効量の C h k 1 阻害剤を含有する。他の実施形態では、 C h k 1 阻害剤（例えば、 化合物 1 ）の用量は、 W e e 1 阻害剤を伴わずに投与される場合、 治療有効量未満の C h k 1 阻害剤を含有する。

【 0 0 7 5 】

一部の実施形態では、 W e e 1 阻害剤（例えば、 A Z D - 1 7 7 5 ）の治療有効量は、 対象の体重 1 kg あたり約 0 . 1 m g から 1 0 m g の間（例えば、 対象の体重 1 kg あたり約 0 . 1 、 0 . 2 、 0 . 3 、 0 . 4 、 0 . 5 、 0 . 6 、 0 . 7 、 0 . 8 、 0 . 9 、 1 、 1 . 5 、 2 、 2 . 5 、 3 、 3 . 5 、 4 、 4 . 5 、 5 、 5 . 5 、 6 、 6 . 5 、 7 、 7 . 5 、 8 、 8 . 5 、 9 、 9 . 5 または 1 0 m g ）である。他の実施形態では、 W e e 1 阻害剤（例えば、 A Z D - 1 7 7 5 ）の治療有効量は、 対象の体重 1 kg あたり約 1 0 m g から 1 0 0 m g の間（例えば、 対象の体重 1 kg あたり約 1 0 、 1 1 、 1 2 、 1 3 、 1 4 、 1 5 、 1 6 、 1 7 、 1 8 、 1 9 、 2 0 、 2 1 、 2 2 、 2 3 、 2 4 、 2 5 、 2 6 、 2 7 、 2 8 、 2 9 、 3 0 、 3 1 、 3 2 、 3 3 、 3 4 、 3 5 、 3 6 、 3 7 、 3 8 、 3 9 、 4 0 、 4 1 、 4 2 、 4 3 、 4 4 、 4 5 、 4 6 、 4 7 、 4 8 、 4 9 、 5 0 、 5 5 、 6 0 、 6 5 、 7 0 、 7 5 、 8 0 、 8 5 、 9 0 、 9 5 または 1 0 0 m g ）である。一部の実施形態では、 W e e 1 阻害剤の治療有効量は（例えば、 A Z D - 1 7 7 5 、 好ましくは最大 6 0 m g / kg 、 毎日 2 回または 1 2 0 m g / kg であるが）、 対象の体重 1 kg あたり少なくとも約 1 0 0 m g から 5 0 0 m g （例えば、 対象の体重 1 kg あたり少なくとも約 1 0 0 、 1 2 5 、 1 5 0 、 1 7 5 、 2 0 0 、 2 2 5 、 2 5 0 、 2 7 5 、 3 0 0 、 3 2 5 、 3 5 0 、 3 7 5 、 4 0 0 、 4 2 5 、 4 5 0 、 4 7 5 、 5 0 0 m g またはそれより多く）である。一部の実施形態では、 W e e 1 阻害剤（例えば、 A Z D - 1 7 7 5 ）の治療有効量は、 対象の体重 1 kg あたり約 4 m g である。一部の実施形態では、 W e e 1 阻害剤（例えば、 A Z D - 1 7 7 5 ）の治療有効量は、 対象の体重 1 kg あたり約 1 5 m g である。一部の他の実施形態では、 W e e 1 阻害剤（例えば、 A Z D - 1 7 7 5 ）の治療有効量は、 対象の体重 1 kg あたり約 3 0 m g である。 30

【 0 0 7 6 】

一部の実施形態では、 W e e 1 阻害剤（例えば、 A Z D - 1 7 7 5 ）の用量は、 約 1 m g から 1 0 0 m g の間（例えば、 約 1 、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 、 1 0 、 1 1 、 1 2 、 1 3 、 1 4 、 1 5 、 1 6 、 1 7 、 1 8 、 1 9 、 2 0 、 2 5 、 3 0 、 3 5 、 4 0 、 4 5 、 5 0 、 5 5 、 6 0 、 6 5 、 7 0 、 7 5 、 8 0 、 8 5 、 9 0 、 9 5 、 または 1 0 0 m g ）の W e e 1 阻害剤を含む。他の実施形態では、 W e e 1 阻害剤（例えば、 A Z D - 1 7 7 5 ）の用量は、 約 1 0 0 m g から 1 , 0 0 0 m g の間（例えば、 約 1 0 0 、 1 0 5 、 1 1 0 、 1 1 5 、 1 2 0 、 1 2 5 、 1 3 0 、 1 3 5 、 1 4 0 、 1 4 5 、 1 5 0 、 1 5 5 、 1 6 0 、 1 6 5 、 1 7 0 、 1 7 5 、 1 8 0 、 1 8 5 、 1 9 0 、 1 9 5 、 2 0 0 、 2 0 5 、 2 1 0 、 2 1 5 、 2 2 0 、 2 2 5 、 2 5 0 、 2 7 5 、 3 0 0 、 3 2 5 、 3 5 0 、 3 7 5 、 4 0 0 、 4 2 5 、 4 5 0 、 4 7 5 、 5 0 0 、 5 2 5 、 5 5 0 、 5 7 5 、 6 0 0 、 6 2 5 、 6 5 0 ）である。 40

50、675、700、725、750、775、800、825、850、875、900、925、950、975、または1,000mg)のWee1阻害剤を含む。

〔 0 0 7 7 〕

特定の実施形態では、Wee1阻害剤（例えば、AZD-1775）の用量は、約100mgから400mgの間（例えば、約100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375または400mg）のWee1阻害剤を含む。一部の実施形態では、Wee1阻害剤の用量は、約225mgのWee1阻害剤を含む。

【 0 0 7 8 】

一部の実施形態では、Wee1阻害剤（例えば、AZD-1775）の用量は、少なくとも約1,000mgから10,000mg（例えば、少なくとも約1,000,1,100,1,200、1,300、1,400、1,500、1,600、1,700、1,800、1,900、2,000、2,100、2,200、2,300、2,400、2,500、2,600、2,700、2,800、2,900、3,000、3,100、3,200、3,300、3,400、3,500、3,600、3,700、3,800、3,900、4,000、4,100、4,200、4,300、4,400、4,500、4,600、4,700、4,800、4,900、5,000、5,100、5,200、5,300、5,400、5,500、5,600、5,700、5,800、5,900、6,000、6,100、6,200、6,300、6,400、6,500、6,600、6,700、6,800、6,900、7,000、7,100、7,200、7,300、7,400、7,500、7,600、7,700、7,800、7,900、8,000、8,100、8,200、8,300、8,400、8,500、8,600、8,700、8,800、8,900、9,000、9,100、9,200、9,300、9,400、9,500、9,600、9,700、9,800、9,900、10,000mgまたはそれより多く）のWee1阻害剤である。

【 0 0 7 9 】

一部の実施形態では、Wee1阻害剤（例えば、AZD-1775）の用量は、治療有効量のWee1阻害剤を含有する。他の実施形態では、Wee1阻害剤（例えば、AZD-1775）の用量は、Wee1阻害剤がChk1阻害剤を伴わずに投与される場合に、治療有効量未満のWee1阻害剤を含有する。

[0 0 8 0]

一部の実施形態では、方法は、Chk1およびWee1阻害剤の有効性を増加させるために第3の、DNA損傷剤の治療有効量を対象に投与することをさらに含む。一部の実施形態では、DNA損傷剤は、代謝拮抗薬（例えば、カペシタビン、5-フルオロウラシル、ゲムシタビンもしくはペメトレキセド）、トポイソメラーゼポイズンもしくは阻害剤（例えば、カンプトテンもしくはエトボシド）、アルキル化剤（例えば、ナイトロジエンマスター、ニトロソウレア、テモゾロミドもしくはS23906）または架橋薬（例えば、シスプラチニン、カルボプラチニン、オキサリプラチニンもしくはマイトマイシンC）である。

[0 0 8 1]

一部の実施形態では、DNA損傷剤の治療有効量は、対象の体重1kgあたり約0.1mgから10mgの間（例えば、対象の体重1kgあたり約0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5または10mg）である。他の実施形態では、DNA損傷剤の治療有効量は、対象の体重1kgあたり約10mgから100mgの間（例えば、対象の体重1kgあたり約10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、55、60）である。

0、65、70、75、80、85、90、95または100mg)である。一部の実施形態では、DNA損傷剤の治療有効量は、対象の体重1kgあたり少なくとも約100mgから500mg(例えば、対象の体重1kgあたり少なくとも約100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500mgまたはそれより多く)である。

【0082】

一部の実施形態では、DNA損傷剤の用量は、約1mgから100mgの間(例えば、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95または100mg)のWee1阻害剤を含む。他の実施形態では、DNA損傷剤の用量は、約100mgから1,000mgの間(例えば、約100、105、110、115、120、125、130、135、140、145、150、155、160、165、170、175、180、185、190、195、200、205、210、215、220、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、600、625、650、675、700、725、750、775、800、825、850、875、900、925、950、975、または1,000mg)のDNA損傷剤を含む。
10

【0083】

特定の実施形態では、DNA損傷剤の用量は、約100mgから400mgの間(例えば、約100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375または400mg)の第3のDNA損傷剤を含む。
20

【0084】

一部の実施形態では、DNA損傷剤の用量は、少なくとも約1,000mgから10,000mg(例えば、少なくとも約1,000、1,100、1,200、1,300、1,400、1,500、1,600、1,700、1,800、1,900、2,000、2,100、2,200、2,300、2,400、2,500、2,600、2,700、2,800、2,900、3,000、3,100、3,200、3,300、3,400、3,500、3,600、3,700、3,800、3,900、4,000、4,100、4,200、4,300、4,400、4,500、4,600、4,700、4,800、4,900、5,000、5,100、5,200、5,300、5,400、5,500、5,600、5,700、5,800、5,900、6,000、6,100、6,200、6,300、6,400、6,500、6,600、6,700、6,800、6,900、7,000、7,100、7,200、7,300、7,400、7,500、7,600、7,700、7,800、7,900、8,000、8,100、8,200、8,300、8,400、8,500、8,600、8,700、8,800、8,900、9,000、9,100、9,200、9,300、9,400、9,500、9,600、9,700、9,800、9,900、10,000mgまたはそれより多く)のWee1阻害剤である。
30

【0085】

一部の実施形態では、DNA損傷剤の用量は、DNA損傷剤の治療有効量を含有する。他の実施形態では、DNA損傷剤の用量は、DNA損傷剤がChk1およびWee1阻害剤を伴わずに投与される場合、治療有効量未満のDNA損傷剤を含有する。
40

【0086】

例えば、動物研究(例えば、げっ歯類およびサル)から得られたデータは、ヒトにおける使用のための投薬量範囲を調合するために使用され得る。本発明の化合物の投薬量は、毒性をほとんどまたはまったく伴わないED₅₀を含む循環濃度の範囲内に好ましくはある。投薬量は、使用される投薬形態および投与の経路に応じてこの範囲内で変動し得る。本発明の方法における使用のための任意の組成物(例えば、化合物1などのChk1阻害剤; AZD-1775などのWee1阻害剤; またはChk1阻害剤とWee1阻害剤と
50

の組合せを含む)について、治療有効用量は、細胞培養アッセイから最初に概算されてよい。用量は、細胞培養において決定されたIC₅₀(症状の最大半量阻害を達成する試験化合物の濃度)を含む循環血漿濃度範囲を達成するために動物モデルにおいて調合されてよい。そのような情報は、ヒトでの有用な用量をさらに正確に決定するために使用されてよい。血漿中のレベルは、例えば高速液体クロマトグラフィー(HPLC)によって測定され得る。

【0087】

組成物(例えば、化合物1などのChk1阻害剤、AZD-1775などのWee1阻害剤、またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せを含む)の好適な用量が、達成される望ましい効果に関する組成物の効力に依存することはさらに理解される。これらの組成物の1つまたは複数が哺乳動物に投与される場合、医師、獣医師または研究者は、例えば、最初に比較的低い用量を処方し、次に好適な応答が得られるまで用量を増加させてよい。加えて、任意の具体的な哺乳動物対象のための具体的な用量レベルが、使用される具体的な組成物の活性;対象の年齢、体重、全体的健康、性別および食事;投与の時期;投与の経路;排出の速度および様式;任意の薬物組合せの効果;および調節される発現または活性の程度を含む種々の要因に依存することは理解される。

10

【0088】

ある特定の実施形態では、Chk1阻害剤(例えば、化合物1)とWee1阻害剤(例えば、AZD-1775)との組合せが、対象に投与される。Chk1阻害剤(例えば、化合物1)とWee1阻害剤(例えば、AZD-1775)とが対象に共投与される場合、Chk1阻害剤およびWee1阻害剤は、同時または連続的のいずれかで投与されてよい。

20

【0089】

ある特定の実施形態では、DNA損傷剤も対象に投与される。DNA損傷剤が対象に共投与される場合、Chk1阻害剤およびWee1阻害剤は、なお、DNA損傷剤と同時に、または連続的に、のいずれかで投与されてよい。

【0090】

一部の実施形態では、Chk1阻害剤(例えば、化合物1)およびWee1阻害剤(例えば、AZD-1775)の両方が同じときに投与される。他の実施形態では、Chk1阻害剤(例えば、化合物1)およびWee1阻害剤(例えば、AZD-1775)は、同じときには投与されないが、1日あたり同じ回数で投与される、または1週間あたり同じ回数で投与される、または1カ月あたり同じ回数で投与される(例えば、両者は、1日1回、1日2回、1週間に1回、1週間に2回投与されるなど)。一部の他の実施形態では、Chk1阻害剤(例えば、化合物1)およびWee1阻害剤(例えば、AZD-1775)は、異なる投薬スケジュールで与えられる。非限定的例として、Chk1阻害剤は1日1回投与され、Wee1阻害剤は1日2回投与される、逆も同様。別の非限定的例として、Chk1阻害剤は1日1回投与され、Wee1阻害剤(inhibitor)は、2、3、4、5、6日またはそれより多い日ごとに1回投与される、逆も同様。当業者は、これだけに限らないが、疾患または悪性状態の重症度、それまでの処置、対象の全体的健康または年齢および存在する他の疾患を含む、ある特定の要因が、対象を有効に処置するために必要な投薬量および時期に影響を与える場合があることを理解する。さらに、治療有効量の組成物(例えば、化合物1などのChk1阻害剤; AZD-1775などのWee1阻害剤; またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せを含む)を用いる対象の処置は、単一の処置を含んでよく、または好ましくは一連の処置を含んでよい。

30

【0091】

本発明の方法により投与される組成物(例えば、化合物1などのChk1阻害剤; AZD-1775などのWee1阻害剤; またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せを含む)の最適な投薬量、毒性および治療効果は、投与される組成物の相対的効力に応じて変動する場合があり、細胞培養または実験動物における標準的薬学的手順によって、例えばLD₅₀(集団の50%に致死性の用量)およびED₅₀(集団の50%に治療的に

40

50

有効な用量)を決定することによって決定され得る。毒性効果と治療効果との間の用量比は、治療指數であり、比、LD₅₀ / ED₅₀として表され得る。大きな治療指數を示す薬剤が、好ましい。毒性副作用を表す薬剤は、使用され得る一方で、正常細胞への損傷可能性を最少化し、それにより副作用を低減するために、そのような薬剤を罹患した組織部位に標的化する送達系を設計するために注意が払われるべきである。

【0092】

最適な投薬スケジュールは、対象の身体における活性成分蓄積の測定値から算出され得る。一般に、投薬量は、体重1kgあたり約1ngから約1,000mgであり、毎日、毎週、毎月または毎年1回または複数回与えられてよい。当業者は、最適な投薬量、投薬方法および反復数を容易に決定できる。当業者は、当技術分野において公知の確立されたプロトコールおよび本開示に従ってヒトへのChk1阻害剤またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せの投与のための最適な投与を決定することができる。10

【0093】

Chk1阻害剤(例えば、化合物1)およびWee1阻害剤(例えば、AZD-1775)が同時にまたは連続的に投与されるかどうかに関わらず、Chk1阻害剤およびWee1阻害剤の用量は、本明細書に記載の任意の用量であってよい。一部の実施形態では、Chk1阻害剤およびWee1阻害剤の用量は、治療有効量である。他の実施形態では、Chk1阻害剤の用量は治療有効量であり、Wee1阻害剤の用量は治療有効量未満である(すなわち、Wee1阻害剤の1回または複数回の続く用量が、対象に治療有効量が送達されるように投与される)。一部の他の実施形態では、Wee1阻害剤の用量は治療有効量であり、Chk1阻害剤の用量は治療有効量未満である(すなわち、Chk1阻害剤の1回または複数回の続く用量が、対象に治療有効量が送達されるように投与される)。一部の実施形態では、化合物1の用量は、対象の体重1kgあたり約7.5mg、12.5mg、20mg、25mgまたは50mgであり、AZD-1775の用量は、対象の体重1kgあたり約15mgまたは30mgである。20

【0094】

Chk1阻害剤(例えば、化合物1)およびWee1阻害剤(例えば、AZD-1775)が対象に同時に共投与される場合、Chk1阻害剤およびWee1阻害剤は同じ経路によって、または異なる経路によって投与されてよい。非限定的例として、Chk1阻害剤およびWee1阻害剤は、経口で同時に投与されてよい。別の非限定的例として、Chk1阻害剤は、経口で投与されてよく、Wee1阻害剤は同じときに別の経路によって(例えば、静脈内、筋肉内、皮下、腫瘍内にもしくは腹腔内に)投与されてよい。代替的にWee1阻害剤は、経口で投与されてよく、Chk1阻害剤は同じときに別の経路(例えば、静脈内、筋肉内、皮下、腫瘍内にまたは腹腔内に)によって投与されてよい。30

【0095】

連続的な共投与のために、Chk1阻害剤(例えば、化合物1)は、Wee1阻害剤(例えば、AZD-1775)の前に投与されてよい、逆も同様。一部の実施形態では、Chk1阻害剤およびWee1阻害剤の投与は、ある程度の時間量離されている。他の実施形態では、Chk1阻害剤およびWee1阻害剤は、異なる経路によって投与され、Chk1阻害剤およびWee1阻害剤の投与は、ある程度の時間量離されている。非限定的例として、Chk1阻害剤は経口で投与され、Wee1阻害剤は次にいくらか後に経口で投与される、逆も同様。別の非限定的例として、Chk1阻害剤は経口で投与され、Wee1阻害剤は次に別の経路(例えば、静脈内、筋肉内、皮下、腫瘍内にまたは腹腔内に)によっていくらか後に投与される、逆も同様。40

【0096】

連続的な共投与のために、当業者は、Chk1阻害剤(例えば、化合物1)およびWee1阻害剤(例えば、AZD-1775)の投与の間の適切な時間量を容易に決定できる。一部の実施形態では、Chk1阻害剤およびWee1阻害剤の投与は、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、150

9、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60分間またはそれより長く離されている。他の実施形態では、Chk1阻害剤およびWee1阻害剤の投与は、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24時間またはそれより長く離されている。一部の他の実施形態では、Chk1阻害剤およびWee1阻害剤の投与は、約1、2、3、4、5、6、7日間またはそれより長く離されている。さらに他の実施形態では、Chk1阻害剤およびWee1阻害剤の投与は、約1、2、3、4、5、6、7週間またはそれより長く離されている。一部の実施形態では、Chk1阻害剤およびWee1阻害剤の投与は、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12週間またはそれより長く離されている。一部の他の実施形態では、Chk1阻害剤、Wee1阻害剤、またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せは、1日に1、2、3、4、5回またはそれより多く投与される。10

【0097】

一部の実施形態では、Chk1阻害剤、Wee1阻害剤またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せは、1日に1、2、3、4、5回またはそれより多く投与される。他の実施形態では、Chk1阻害剤、Wee1阻害剤、またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せは、1週間に1、2、3、4、5、6、7回またはそれより多く投与される。一部の他の実施形態では、Chk1阻害剤、Wee1阻害剤、またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せは、1カ月に1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30回またはそれより多く投与される。20

【0098】

一部の実施形態では、Chk1阻害剤、Wee1阻害剤、またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せは、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10日間またはそれより長い日ごとに投与される。他の実施形態では、Chk1阻害剤、Wee1阻害剤、またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せは、約1、2、3、4週間またはそれより長い週ごとに投与される。一部の他の実施形態では、Chk1阻害剤、Wee1阻害剤、またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せは、約1、2、3、4、5、6、7、8、8、10、11、12カ月またはそれより長い月ごとに投与される。30

【0099】

上首尾の処置に続いて、がん（例えば、急性骨髄性白血病、食道がん、胃がん、マントル細胞リンパ腫、非小細胞肺がん（NSCLC）、卵巣がん、頭頸部がん、肝臓がん、脾臓がん、前立腺がんまたは中枢神経系がん）の再発を予防するための維持療法を対象が受けることは望ましい場合がある。

【0100】

有効量の決定は、特に本明細書で提供する詳細な開示に照らして、十分に当業者の能力の範囲内である。一般に、組成物（例えば、Chk1阻害剤、Wee1阻害剤またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せを含む）の効果的なまたは有効な量は、低用量または少量の組成物を最初に投与し、次に、最小限の毒性副作用を伴ってまたはまったく伴わずに望ましい効果が処置された対象において観察されるまで、投与される用量または投薬量を徐々に増加させることによって決定される。40

【0101】

組成物（例えば、化合物1などのChk1阻害剤；AZD-1775などのWee1阻害剤；またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せを含む）の1回または複数回の投与は、患者によって必要とされ、耐容性である投薬量および頻度に応じて投与される。任意の事象において、組成物は、患者を有効に処置するために十分な量の組成物を提供するべきである。一般に、用量は、患者に許容されない毒性をもたらすことなく、疾患の症状または徵候を予防、処置または回復させるために十分である。

【0102】

10

20

30

40

50

一部の実施形態では、対象を処置することは、がん（例えば、急性骨髓性白血病、食道がん、胃がん、マントル細胞リンパ腫、非小細胞肺がん（NSCLC）、卵巣がん、頭頸部がん、肝臓がん、脾臓がん、前立腺がんもしくは中枢神経系がん）細胞成長を阻害すること、がん細胞増殖を阻害すること、がん細胞遊走を阻害すること、がん細胞浸潤を阻害すること、がんの1つまたは複数の徵候もしくは症状を減少させることもしくは除去すること、がん腫瘍の大きさ（例えば、体積）を低減すること、がん腫瘍の数を低減すること、がん細胞の数を低減すること、がん細胞壊死、ピロトーシス、腫瘍症（oncosis）、アポトーシス、オートファジーもしくは他の細胞死を誘導すること、対象の生存時間を増加させることまたは、別の薬物もしくは療法の治療効果を増強することを含む。特定の実施形態では、対象はがんを有さない。

10

B . 医薬組成物

【0103】

別の態様では、本開示は、Chk1阻害剤および薬学的に許容される担体を含む医薬組成物を提供する。一部の実施形態では、Chk1阻害剤は、PCT出願公開第WO2015/120390号に開示されているChk1阻害剤である。一部の実施形態では、Chk1阻害剤は化合物1である。

20

【0104】

一部の実施形態では、医薬組成物は、Wee1阻害剤をさらに含む。特定の実施形態では、Wee1阻害剤は、ピラゾロピリミジン誘導体、ピリドピリミジン、4-(2-クロロフェニル)-9-ヒドロキシピロロ[3,4-c]カルバゾール-1,3-(2H,6H)-ジオン、6-ブチル-4-(2-クロロフェニル)-9-ヒドロキシピロロ[3,4-c]カルバゾール-1,3-(2H,6H)-ジオン、4-(2-フェニル)-9-ヒドロキシピロロ[3,4-c]カルバゾール-1,3-(2H,6H)-ジオン、抗Wee1抗体および抗Wee1低分子干渉RNA（siRNA）分子からなる群から選択される。一部の実施形態では、ピリドピリミジンはピリド[2,3-d]ピリミジンである。特定の実施形態では、ピラゾロピリミジン誘導体はAZD-1775である。

20

【0105】

一部の実施形態では、Chk1阻害剤（例えば、化合物1）は、約0.1nMから10nMの間の濃度（例えば、約0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5または10nM）で存在する。他の実施形態では、Chk1阻害剤は、約10nMから100nMの間の濃度（例えば、約10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95または100nM）で存在する。一部の他の実施形態では、Chk1阻害剤は、約100nMから1,000nMの間の濃度（例えば、約100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950または1,000nM）で存在する。さらに他の実施形態では、Chk1阻害剤は、少なくとも約1,000nMから10,000nMの濃度（例えば、少なくとも約1,000、1,100、1,200、1,300、1,400、1,500、1,600、1,700、1,800、1,900、2,000、2,100、2,200、2,300、2,400、2,500、2,600、2,700、2,800、2,900、3,000、3,100、3,200、3,300、3,400、3,500、3,600、3,700、3,800、3,900、4,000、4,100、4,200、4,300、4,400、4,500、4,600、4,700、4,800、4,900、5,000、5,100、5,200、5,300、5,400、5,500、5,600、5,700、5,800、5,900、6,000、6,100、6,200、6,300、6,400、6,500、6,600、6,700、6,800、6,900、7,000、7,100、7,200、7,300、7,400、7,500、7,600、7,700、7,800、7,900、8,000、8,100、8,200、8,300、8,400、8,500、8,600）で存在する。

30

40

40

50

0、8、700、8、800、8、900、9、000、9、100、9、200、9、
300、9、400、9、500、9、600、9、700、9、800、9、900、
10,000 nMまたはそれより多く)で存在する。

【0106】

一部の実施形態では、Wee1阻害剤(例えば、AZD-1775)は、約0.1 nMから10 nMの間の濃度(例えば、約0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5または10 nM)で存在する。他の実施形態では、Wee1阻害剤は、約10 nMから100 nMの間の濃度(例えば、約10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95または100 nM)で存在する。一部の他の実施形態では、Wee1阻害剤は、約100 nMから1,000 nMの間の濃度(例えば、約100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950または1,000 nM)で存在する。さらに他の実施形態では、Wee1阻害剤は、少なくとも約1,000 nMから10,000 nMの濃度(例えば、少なくとも約1,000、1,100、1,200、1,300、1,400、1,500、1,600、1,700、1,800、1,900、2,000、2,100、2,200、2,300、2,400、2,500、2,600、2,700、2,800、2,900、3,000、3,100、3,200、3,300、3,400、3,500、3,600、3,700、3,800、3,900、4,000、4,100、4,200、4,300、4,400、4,500、4,600、4,700、4,800、4,900、5,000、5,100、5,200、5,300、5,400、5,500、5,600、5,700、5,800、5,900、6,000、6,100、6,200、6,300、6,400、6,500、6,600、6,700、6,800、6,900、7,000、7,100、7,200、7,300、7,400、7,500、7,600、7,700、7,800、7,900、8,000、8,100、8,200、8,300、8,400、8,500、8,600、8,700、8,800、8,900、9,000、9,100、9,200、9,300、9,400、9,500、9,600、9,700、9,800、9,900、10,000 nMまたはそれより多く)で存在する。

【0107】

一部の実施形態では、DNA損傷剤は、約0.1 nMから10 nMの間の濃度(例えば、約0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5または10 nM)で存在する。他の実施形態では、DNA損傷剤は、約10 nMから100 nMの間の濃度(例えば、約10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95または100 nM)で存在する。一部の他の実施形態では、DNA損傷剤は、約100 nMから1,000 nMの間の濃度(例えば、約100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950または1,000 nM)で存在する。さらに他の実施形態では、DNA損傷剤は、少なくとも約1,000 nMから10,000 nMの濃度(例えば、少なくとも約1,000、1,100、1,200、1,300、1,400、1,500、1,600、1,700、1,800、1,900、2,000、2,100、2,200、2,300、2,400、2,500、2,600、2,700、2,800、2,900、3,000、3,100、3,200、3,300、3,400、3,500、3,600、3,700、3,800、3,900、4,000、4,100、4,200、4,300、4,400、4,500、4,600、4,700、4,800、4,900、5,000、5,100、5,200、5,300、5,400、5,500、5,600、5,700、5,800、5,900、6,000、6,100、6,200、6,300、6,400、6,500、6,600、6,700、6,800、6,900、7,000、7,100、7,200、7,300、7,400、7,500、7,600、7,700、7,800、7,900、8,000、8,100、8,200、8,300、8,400、8,500、8,600、8,700、8,800、8,900、9,000、9,100、9,200、9,300、9,400、9,500、9,600、9,700、9,800、9,900、10,000 nMまたはそれより多く)で存在する。

200、6,300、6,400、6,500、6,600、6,700、6,800、
 6,900、7,000、7,100、7,200、7,300、7,400、7,500、
 7,600、7,700、7,800、7,900、8,000、8,100、8,
 200、8,300、8,400、8,500、8,600、8,700、8,800、
 8,900、9,000、9,100、9,200、9,300、9,400、9,500、
 9,600、9,700、9,800、9,900、10,000nMまたはそれより多く)で存在する。

【0108】

本発明の医薬組成物は、薬学の技術分野において周知の任意の方法によって調製され得る。本発明での使用のために好適な薬学的に許容される担体としては、リン酸緩衝食塩水、水および乳液(油/水もしくは水/油乳液など)が挙げられる任意の標準的な医薬用担体、緩衝剤および賦形剤、ならびに種々の種類の湿潤剤またはアジュバントが挙げられる。好適な医薬用担体およびそれらの製剤は、Remington's Pharmaceutical Sciences(Mack Publishing Co.、Easton、第19版、1995年)に記載されている。好ましい医薬用担体は、活性剤の意図される投与様式に依存する。

10

【0109】

本発明の医薬組成物は、活性成分として化合物1などのChk1阻害剤; AZD-1775などのWee1阻害剤; もしくはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せ、または任意の薬学的に許容されるその塩、および薬学的に許容される担体または賦形剤または希釈剤を含み得る。医薬組成物は、他の治療用成分を必要に応じて含有してよい。

20

【0110】

組成物(例えば、化合物1などのChk1阻害剤; AZD-1775などのWee1阻害剤; またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せ)は、活性成分として、従来の薬学的化合技術に従って好適な薬学的担体または賦形剤と密接に混合して組み合わされてよい。投与のために望ましい調製物の形態のために好適な任意の担体または賦形剤は、本明細書において開示される化合物との使用が想定されている。

30

【0111】

医薬組成物は経口、局所、非経口、肺、鼻または直腸への投与のために好適なものを含む。任意の所与の症例における投与の最も好適な経路は、がん状態の性質および重症度に、ならびに必要に応じてがんのステージにも部分的に依存する。

【0112】

他の医薬組成物は全身(例えば、経腸的または非経口)投与のために好適なものを含む。全身投与としては、経口、直腸、舌下または唇下投与が挙げられる。非経口投与としては、例えば、静脈内、筋肉内、小動脈内、皮内、皮下、腹腔内、室内および頭蓋内が挙げられる。送達の他の様式としては、これだけに限らないが、リポソーム製剤、静脈内注入、経皮的パッチなどの使用が挙げられる。特定の実施形態では、本発明の医薬組成物は、腫瘍内に投与され得る。

30

【0113】

肺への投与のための組成物としては、これだけに限らないが、本明細書に記載の化合物(例えば、化合物1などのChk1阻害剤; AZD-1775などのWee1阻害剤; もしくはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せ)またはその塩の粉末、および好適な担体もしくは潤滑剤の粉末から構成される乾燥粉末組成物が挙げられる。肺への投与のための組成物は、当業者に公知の任意の好適な乾燥粉末吸入器デバイスから吸入されてよい。

40

【0114】

全身投与のための組成物としては、これだけに限らないが、本明細書に記載される組成物(例えば、化合物1などのChk1阻害剤; AZD-1775などのWee1阻害剤; またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せ)および好適な担体または賦形剤の粉末からなる乾燥粉末組成物が挙げられる。全身投与のための組成物は、これだけに限らないが、錠剤、カプセル剤、丸剤、シロップ剤、液剤および懸濁剤によって表され得る。

50

【0115】

一部の実施形態では、組成物（例えば、化合物1などのChk1阻害剤；AZD-1775などのWee1阻害剤；またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せ）は、薬学的界面活性剤をさらに含む。他の実施形態では、組成物は、凍結保護物質をさらに含む。一部の実施形態では、凍結保護物質は、グルコース、ショ糖、トレハロース、乳糖、グルタミン酸ナトリウム、PVP、HP-CD、CD、グリセロール、マルトース、マンニトールおよびサッカロースからなる群から選択される。

【0116】

本発明における使用のための医薬組成物または医薬は、1つまたは複数の生理学的に許容される担体または賦形剤を使用して標準的な技術によって製剤化されてよい。好適な医薬用担体は、本明細書およびRemington: The Science and Practice of Pharmacy、第21版、University of the Sciences in Philadelphia、Lippencott William s & Wilkins（2005年）に記載されている。10

【0117】

組成物（例えば、化合物1などのChk1阻害剤；AZD-1775などのWee1阻害剤；またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せ）の放出調節非経口製剤は、インプラント、油性注射剤（oily injection）としてまたは粒子システムとして作製されてよい。送達システムの概説について、参照により本明細書に組み込まれるBanga, A.J.、THERAPEUTIC PEPTIDES AND PROTEINS: FORMULATION, PROCESSING, AND DELIVERY SYSTEMS、Technomic Publishing Company, Inc.、Lancaster、PA、（1995年）20を参照されたい。粒子システムとしては、ミクロスフェア、微小粒子、マイクロカプセル、ナノカプセル、ナノスフェアおよびナノ粒子が挙げられる。

【0118】

ポリマーは、本発明の組成物のイオン放出調節のために使用され得る。制御された薬物送達における使用のための種々の分解性および非分解性ポリマーマトリクスは、当技術分野において公知である（Langer R.、Accounts Chem. Res.、26巻：537～542頁（1993年））。例えば、ブロックコポリマー、ポロキサマー（poloxamer）407は、低温では粘稠の流動性の液体として存在するが、体温では半固体のゲルを形成する。それは、組換えインターロイキン2およびウレアーゼの製剤化および持続送達のための有効なビヒクルであると示されている（Johnstonら、Pharm. Res.、9巻：425～434頁（1992年）およびPecら、J. Parent. Sci. Tech.、44巻（2号）：58～65頁（1990年））。代替的にヒドロキシアパタイトは、タンパク質の放出調節のためのマイクロキャリアとして使用されている（IJntemaら、Int. J. Pharm.、112巻：215～224頁（1994年））。さらに別の態様では、リポソームは、脂質カプセル化薬の放出調節および薬物標的化のために使用される（Betageriら、LIPOSOME DRUG DELIVERY SYSTEMS、Technomic Publishing Co., Inc.、Lancaster、PA（1993年））。治療用タンパク質の制御された送達のための多数の追加のシステムは、公知である。例えば、それぞれが参照により本明細書に組み込まれる米国特許第5,055,303号、第5,188,837号、第4,235,871号、第4,501,728号、第4,837,028号、第4,957,735号および第5,019,369号、第5,055,303号、第5,514,670号、第5,413,797号、第5,268,164号、第5,004,697号、第4,902,505号、第5,506,206号、第5,271,961号、第5,254,342号および第5,534,496号を参照されたい。30

【0119】

Chk1阻害剤（例えば、化合物1）、Wee1阻害剤（例えば、AZD-1775）またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せの経口投与のために、医薬組成物または医薬は、薬学的に許容される賦形剤を用いる従来の手段によって調製される例えば錠剤またはカプセル剤の形態であってよい。本発明は、Chk1阻害剤、Wee1阻害剤もしくはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せ、またはこれらの薬物の乾燥固体粉末を4050

、(a) 希釈剤または充填剤、例えば、乳糖、ブドウ糖、ショ糖、マンニトール、ソルビトール、セルロース(例えば、エチルセルロース、微結晶セルロース)、グリシン、ペクチン、ポリアクリレートまたはリン酸水素カルシウム、硫酸カルシウム、(b) 滑沢剤、例えば、シリカ、滑石、ステアリン酸、マグネシウム塩もしくはカルシウム塩、ステアリン酸金属塩(metallic stearate)、コロイド状二酸化ケイ素、水素添加植物油、トウモロコシデンプン、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウムもしくはポリエチレングリコール；錠剤のために(c) 結合剤、例えば、ケイ酸マグネシウムアルミニウム、デンプンペースト、ゼラチン、トラガント、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリビニルピロリドンもしくはヒドロキシプロピルメチルセルロース；所望により(d) 崩壊剤、例えば、デンプン(例えば、ジャガイモデンプンもしくはデンプンナトリウム)、グリコレート、アガー、アルギン酸もしくはそのナトリウム塩、または発泡性混合物；(e) 湿潤剤、例えば、ラウリル硫酸ナトリウム、または(f) 吸収剤、着色剤、香料および甘味剤、と共に含む錠剤およびゼラチンカプセル剤を提供する。

10

【0120】

錠剤は、当技術分野において公知の方法によりフィルムコートまたは腸溶コートのいずれかをされていてよい。経口投与のための液体調製物は、例えば、液剤、シロップ剤もしくは懸濁剤の形態をとってよく、または使用前に水または他の好適なビヒクルを用いて構成するための乾燥産物として提供してよい。そのような液体調製物は、薬学的に許容される添加物、例えば、懸濁化剤、例えばソルビトールシロップ、セルロース誘導体もしくは水素化食用脂；乳化剤、例えば、レシチンもしくはアラビアゴム；非水性ビヒクル、例えばアーモンド油、油性エステル、エチルアルコールもしくは分別植物油(fractionated vegetable oil)；および保存剤、例えば、メチルもしくはプロピル-p-ヒドロキシベンゾエートまたはソルビン酸を用いて従来の手段によって調製され得る。調製物は、適宜緩衝塩、香料、着色剤または甘味剤も含有してよい。所望により、経口投与のための調製物は、活性化合物(複数可)の放出調節をもたらすように適切に製剤化されてよい。

20

【0121】

C h k 1 阻害剤、*W e e 1* 阻害剤または*C h k 1* 阻害剤と*W e e 1* 阻害剤との組合せの局所投与のための典型的な製剤としては、クリーム剤、軟膏剤、スプレー剤、ローション剤およびパッチ剤が挙げられる。しかし医薬組成物は、任意の種類の投与、例えば、シリンジもしくは他のデバイスを用いる、皮内、真皮下、静脈内、筋肉内、鼻腔内、脳内、気管内、動脈内、腹腔内、膀胱内(*intravesical*)、胸膜内、冠動脈内(*intracoronary*)または腫瘍内注射のために製剤化されてよい。吸入による投与(例えば、エアロゾル)のため、または経口もしくは直腸投与のための製剤も想定される。

30

【0122】

経皮適用のために好適な製剤は、明細書に記載の1つまたは複数の化合物の有効量を、必要に応じて担体と共に含む。好ましい担体は、宿主の皮膚を通じた通過を補助するために吸収性の薬理学的に許容される溶媒を含む。例えば、経皮デバイスは、裏打ち部材(*backing member*)、化合物を必要に応じて担体と共に含有するリザーバー、必要に応じて調節された所定の速度で長期間にわたって化合物を宿主の皮膚に送達するための速度調節用バリアー、およびデバイスを皮膚に固定するための手段を含む帶具の形態である。マトリクス経皮製剤も使用され得る。

40

【0123】

本明細書に記載される組成物および製剤(例えば、*C h k 1* 阻害剤、*W e e 1* 阻害剤、または*C h k 1* 阻害剤と*W e e 1* 阻害剤との組合せを含む)は、注射による、例えばボラス注射または持続注入による非経口投与のために製剤化され得る。注射のための製剤は、単位投与形態、例えば保存剤を添加されたアンプル中もしくは多用量容器中であってよい。注射可能な組成物は、好ましくは水性等張液剤または懸濁剤であり、坐薬は、脂肪性の乳液または懸濁物から好ましくは調製される。組成物は、滅菌されていてよい、または保存剤、安定剤、湿潤剤もしくは乳化剤、溶解促進剤(solution promoter)、浸透圧制御用の塩または緩衝剤、などのアジュvantを含有してよい。代替的に、活性成分(複数

50

可)は、使用前の好適なビヒクル、例えば、無菌発熱物質不含有水を用いて構成するための粉末形態であつてよい。加えて、それらは、他の治療に有益な物質も含有してよい。組成物は、それぞれ従来の混合、造粒またはコーティング方法により調製される。

【0124】

吸入による投与のために、好適な噴霧剤、例えば、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素または他の好適な気体の使用を伴つて、組成物(例えば、Chk1阻害剤、Wee1阻害剤、またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せを含む)は、加圧されたパックまたはネプライザーからのエアロゾルスプレー提示(presentation)の形態で都合よく送達され得る。加圧されたエアロゾルの場合、投薬単位は、計量された量を送達するためにバルブを用意することによって決定され得る。吸入またはインサフレーターにおける使用のための例えばゼラチンのカプセルおよびカートリッジは、化合物(複数可)および好適な粉末基剤、例えば乳糖またはデンブンの粉末混合物を含有して製剤化されてよい。

10

【0125】

組成物(例えば、Chk1阻害剤、Wee1阻害剤、またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せを含む)は、直腸組成物、例えば従来の坐薬基剤、例えばココアバターもしくは他のグリセリドを含有する、例えば坐薬または停留浣腸に製剤化されてもよい。

20

【0126】

さらに、活性成分(複数可)は、デポ製剤として製剤化されてよい。そのような長時間作用型製剤は、埋め込み(例えば、皮下にもしくは筋肉内に)または筋肉内注射によって投与されてよい。したがつて、例えば、本明細書に記載の1つまたは複数の化合物は、好適なポリマー材料または疎水性材料(例えば許容される油中の乳液として)またはイオン交換樹脂を用いて、または難溶性誘導体として、例えば難溶性塩として、製剤化されてよい。

30

C. キット

【0127】

別の態様では、本発明は、対象におけるがんを予防または処置するためのキットを提供し、キットは、本発明の医薬組成物(例えば、Chk1阻害剤(例えば、化合物1もしくは本明細書に記載の別のChk1阻害剤)、本明細書に記載のWee1阻害剤を含む医薬組成物、またはChk1阻害剤およびWee1阻害剤(例えば、AZD-1775もしくは本明細書に記載の別のWee1阻害剤)を含む医薬組成物を含む。

30

【0128】

キットは、多数のがんを予防または処置するために好適である。一部の実施形態では、予防されるまたは処置されるがんの種類は、胃がん、頭頸部がん、肺がん(例えば、非小細胞肺がん(NSCLC))、卵巣がん、乳がん、結腸直腸がん、神経系がん(例えば、中枢神経系がん)、副腎がん、膀胱がん、血液がん(例えば、白血病、急性骨髓性白血病、マントル細胞リンパ腫、未分化大細胞リンパ腫、B細胞急性リンパ芽球性白血病、バーキットリンパ腫、慢性リンパ球性白血病、慢性骨髓性白血病、多発性骨髓腫、急性前骨髓球性白血病、T細胞急性リンパ芽球性白血病)、骨がん、子宮頸がん、食道がん、眼がん、腎臓がん、肝臓がん、筋肉がん、鼻がん、脾臓がん、咽頭がん、胎盤がん、前立腺がん、皮膚がん、軟部組織がん、顎下腺がん、甲状腺がん、舌がんおよび子宮がんからなる群から選択される。特定の実施形態では、予防されるまたは処置されるがんは、急性骨髓性白血病、食道がん、胃がん、マントル細胞リンパ腫、非小細胞肺がん(NSCLC)、卵巣がん、頭頸部がん、肝臓がん、脾臓がん、前立腺がんおよび中枢神経系がん、からなる群から選択される。一部の実施形態では、がんは転移性がんである。他の実施形態では、がんは進行がんである。一部の他の実施形態では、がんは薬物耐性がんである。一部の実施形態では、がんは多剤耐性がんである。一部の実施形態では、がんは進行型、転移性または薬物耐性である。一部の実施形態では、がんはマントル細胞リンパ腫である。一部の実施形態では、がんはマントル細胞リンパ腫であり、対象は、t(11;14)(q13;q32)の染色体転座を有する。特定の実施形態では、がんは乳がんまたは転移性乳が

40

50

んである。

【0129】

本発明の種々の方法を実行するための材料および試薬は、方法の遂行を促進するためにキットで提供されてよい。本明細書において使用される、用語「キット」は、プロセス、アッセイ、分析または操作を促進する物品の組合せを含む。特に本発明のキットは、例えば、診断、予後、治療などを含む広範な応用において有用性を見出す。

【0130】

キットは、化学試薬および他の構成要素を含有してよい。加えて、本発明のキットは、非限定的にキット使用者のための指示、Chk1阻害剤（例えば、化合物1）、Wee1阻害剤（例えば、AZD-1775）もしくはその医薬組成物またはChk1阻害剤とWee1阻害剤との組合せまたはその医薬組成物を投与するための器具（apparatus）および試薬、試料チューブ、ホルダー、トレー、ラック、ディッシュ、プレート、溶液、バッファまたは他の化学試薬を含んでよい。本発明のキットは、簡便な保存および安全な輸送のために、例えば蓋を有する箱の中に、包装されてもよい。10

【実施例】

【0131】

I V . 実施例

本発明は、具体的な実施例の方法によってさらに詳細に記載される。続く実施例は、例示的目的のためだけに提供され、いかなる様式でも本発明を限定することを意図されない。当業者は、本質的に同じ結果を得るために変更または改変され得る種々の重要でないパラメーターを容易に認識する。20

【0132】

本明細書で提供する実施例は、経口で生体利用可能な、選択的小分子Chk1阻害剤化合物1の固形および血液系腫瘍由来細胞株における活性を強調する。化合物1は、タンパク質キナーゼのパネルに対して限定的なオフターゲット活性を有するChk1に対するサブナノモル濃度酵素阻害剤である。in vitroで大細胞株パネルについて評価する場合、化合物1は、固形および血液系腫瘍由来細胞株において単剤として広範な効力範囲を、30nMから50μMを超える範囲のIC₅₀値を有して実証した。

【0133】

胃がん、非小細胞肺がんおよび卵巣がんが挙げられるいくつかの固形腫瘍型は、in vitroで化合物1に対して感受性が高まったことが実証された。化合物1を用いた感受性細胞株の処置は、リン酸化ヒストンH2AXによって測定されるDNA損傷の誘導および細胞死の誘導を生じた。化合物1は、SK-MES-1およびNCI-H727 NSCLC腫瘍異種移植モデルにおいてin vivoで単剤として活性であり、処置マウスの体重に対する影響は最小限であった。化合物1の強力な単剤活性に加えて、Wee1阻害剤AZD-1775との組合せは、複数の固形腫瘍細胞株においてin vitroで高度に相乗的であり、組合せは、NSCLC腫瘍異種移植モデルにおいていずれの薬剤単独よりもさらに効果的であった。30

【0134】

加えて、いくつかの血液系腫瘍型は、in vitroおよびin vivoで化合物1に対して感受性が高まったことが実証された。化合物1は、Jekko-1異種移植モデルにおける完全な腫瘍退縮を含んで、in vitroおよびin vivoで、マントル細胞リンパ腫(MCL)および急性骨髓性白血病(AML)細胞株への注目すべき単剤活性を実証した。さらに、化合物1は、AML-由来細胞株において強い抗増殖活性およびDNA損傷の誘導、ならびにMV-411腫瘍異種移植モデルにおける単剤活性を示した。40

【0135】

これらの実施例において示された実験結果は、化合物1が高度に強力で選択的なChk1阻害剤であることを実証する。特に化合物1は、Chk1に対してサブナノモル濃度の効力を示し、オフターゲットキナーゼ活性は限定的であった（すなわち、Chk2に対し

10

20

30

40

50

てよりも C h k 1 に対して 1 , 0 0 0 倍を超えて選択性である）。さらに、化合物 1 は、経口生体利用能および低い流出比（柔軟な投薬スケジュールおよび多剤耐性および C N S 転移がんの処置を可能にする）、良好な代謝安定性、 C Y P 阻害傾向がない、優れた h E R G 阻害指数および、心臓毒性のリスクが低いこと（カニクイザルサル安全性薬理学的研究結果に基づく）などの魅力的な薬学的特性を実証した。加えて、化合物 1 は、複数の腫瘍モデルにおいて単剤として強力な活性を実証しただけでなく、相乗活性が W e e 1 阻害剤との組合せで観察された。相乗効果は、 D N A 損傷、アポトーシスおよび腫瘍調節の誘導において観察された。これらのデータは、化合物 1 が、 固形および血液系腫瘍疾患の処置のための臨床的有用性を有することを示す。

【 0 1 3 6 】

10

（実施例 1 ）

化合物 1 、新規、経口で利用可能なチェックポイントキナーゼ 1 阻害剤の薬物特性

化合物 1 は、その一部が図 2 に示されている多数の優れた薬物特性を示す C h k 1 阻害剤である。特に化合物 1 は、限定的なオフターゲット活性を有して C h k 1 に対してサブナノモル濃度の効力を示す。加えて、化合物 1 は、好ましい吸収、分布、代謝および排出（ A D M E ）特性、薬物動態ならびに経口生体利用能を示す。7 日間反復用量耐容性研究は、マウス、ラットおよびカニクイザルにおいて完了しており、カニクイザルサル G L P 心血管系安全性研究（補正 Q T (Q T c) 間隔、左室圧（ L V P ）および収縮エンドポイントを含む）において所見はなかった。化合物 1 は、単剤として活性であるが、化学療法剤および W e e 1 阻害剤との組合せでも活性である。

20

【 0 1 3 7 】

30

（実施例 2 ）

化合物 1 の選択性および効力

化合物 1 の酵素選択性

化合物 1 を、図 3 A に示すものを含む 1 2 0 個のキナーゼのパネルに対して 1 μ M A T P 濃度を使用してスクリーニングした。80 % を超えて阻害されたすべてのキナーゼおよび C h k 2 を図 3 B に示す。各キナーゼについて A T P K_m で測定した I C₅₀ 値を、図 3 B に C h k 1 と比較して示す。細胞 I C₅₀ 値を関連細胞株においてホスホエピトープ特異的抗体（ phosphor-epitope-specific antibody ）を使用するシグナル伝達アッセイから得た。

【 0 1 3 8 】

30

酵素および細胞に対する化合物 1 の効力

酵素アッセイを、10 μ M の [- 3 3 P] - A T P および、 R e a c t i o n B i o l o g y C o r p . から得た 2 0 μ M のペプチド基質 K K K V S R S G L Y R S P S M P E N L N R P R (配列番号 1) を使用して実施した。図 3 C に見られるとおり、 I C₅₀ は 0 . 1 2 4 n M であった。

【 0 1 3 9 】

40

細胞 C h k 1 を、ウサギ抗 C h k 1 セリン 2 9 6 ホスホエピトープ抗体（ C e l l S i g n a l i n g T e c h n o l o g y I n c . から得た）を用いる免疫プロット法によって、18 時間アッセイにおいて、 H T - 2 9 結腸癌細胞を使用してアッセイした。このアッセイの結果を図 3 D に示す。 I C₅₀ は 0 . 5 1 0 9 n M であった。

【 0 1 4 0 】

40

（実施例 3 ）

i n v i t r o スクリーニング

多様ながん細胞株に対する詳細なスクリーニングを、単剤としての化合物 1 に感受性を示す腫瘍型を同定するために実施した。2 3 2 個の癌由来細胞株のパネルを化合物 1 またはシスプラチニンの希釈物を使用してハイスループット増殖アッセイにおいてスクリーニングした。細胞株を、3 0 μ M の開始濃度を使用して 9 つの用量レベルを達成した化合物 1 またはシスプラチニンの h a l f - l o g 希釈物段階で処置し、7 2 時間後に C e l l T i t e r - G l o (登録商標) アッセイ (P r o m e g a) を使用して増殖についてアッセ

50

イした。IC₅₀(EC₅₀)値を非線形回帰モデルを使用して用量応答データをフィッティングすることによって算出した。

【0141】

図4は、化合物1が多様な組織学的起源由来の癌細胞株で成長を阻害することに有効であったことを示す。さらに、固有の活性パターンが、化合物1をシスプラチンと比較した場合に観察された。化合物1に特に感受性であった腫瘍型としては、食道がん、胃がん、非小細胞肺がん(NSCLC)、卵巣がんおよび白血病が挙げられる。

【0142】

(実施例4)

NSCLC異種移植モデルにおけるin vivoスクリーニング

10

化合物1のin vivo有効性を評価するために、2つの異なるNSCLC異種移植モデルを使用した。SK-MES-1またはNCI-H727腫瘍細胞を胸腺欠損ヌードマウスの側腹部に皮下接種した。腫瘍が体積約200mm³に達したら、マウスを研究群(1群あたりn=10匹)に無作為化した。マウスを化合物1を1日あたり1回12.5、25または50mg/kgの用量で用いて経口経管栄養によって処置した。動物がビヒクルだけを投与された陰性対照群も含めた。

【0143】

SK-MES-1腫瘍への効果を図5Aおよび5Cに示し、NCI-H727腫瘍への効果を図5Bおよび5Dに示す)。図5A~5Dにおいて見られるとおり、化合物1は、両方の異種移植モデルにおいて腫瘍成長を用量依存的様式で阻害した。

20

【0144】

(実施例5)

Wee1阻害剤との組合せでの化合物1の細胞スクリーニングおよび特徴付け

単剤としての化合物1の有効性を試験することに加えて、化合物1をWee1阻害剤AZD-1775との組合せで検査した。SK-MES-1およびNCI-H727腫瘍細胞を、用量設定した化合物1またはWee-1阻害剤AZD-1775の単独および組合せの両方を用いて処置した。細胞増殖をCellTiter-Glo(登録商標)アッセイ(Promega)を使用して薬物添加72時間後に測定した。図6A~6Cに見られるとおり、化合物1とAZD-1775との組合せは、相乗効果を示した。さらに、活性の固有のパターンが薬物を単剤として検査した場合に観察された。

30

【0145】

図6Aは、SK-MES NSCLCがん細胞を抑制するように化合物1とAZD-1775との種々の組合せを使用して実施した細胞生存率アッセイの結果を示す。細胞生存率は、用量依存的様式で抑制された。同様に、化合物1とAZD-1775との種々の組合せをNCI-H727 NSCLC細胞に対して検査した場合、生存率の用量依存的抑制が観察された(図6B)。両薬物のIC₅₀値を複数の細胞株で検査し、その比較を図6Cに示す。

【0146】

(実施例6)

Wee1阻害剤との組合せでの化合物1のin vivo活性

40

NCI-H727 NSCLC腫瘍異種移植モデルを使用して、化合物1(1日1回25mg/kg)およびAZD-11775(1日1回30mg/kg)の両方を個々および組合せで、腫瘍の大きさを抑制するそれらの能力について検査した(図7Aおよび7B)。NCI-H727腫瘍細胞を胸腺欠損ヌードマウスの側腹部に皮下接種した。腫瘍が体積約200mm³に達したら、マウスを研究群(1群あたりn=10匹)に無作為化した。化合物1およびAZD-1775を経口経管栄養によって投与した。顕著な相乗効果が、2つの薬物を組み合わせた場合に観察された。

【0147】

(実施例7)

血液系腫瘍由来細胞株のハイスループットin vitroスクリーニング

50

約70個の造血細胞株のパネルを72時間増殖アッセイ(CrownBio Omni panel)において化合物1への感受性についてスクリーニングした。スクリーニングした細胞株は、未分化大細胞リンパ腫(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、B細胞急性リンパ芽球性白血病(B-ALL)、バーキットリンパ腫、慢性リンパ球性白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、マントル細胞リンパ腫(MCL)、多発性骨髓腫(MM)、急性前骨髓球性白血病(PML)、およびT細胞急性リンパ芽球性白血病(T-ALL)を示す細胞株を含んでいた。図8に示すとおり、化合物1による抑制に特に感受性であった血液系腫瘍由来細胞株のサブセットは、MCLおよびAML細胞株を含んでいた。

【0148】

10

(実施例8)

MCL細胞株における抗増殖活性

マントル細胞リンパ腫(MCL)は、稀であり、通常は、合衆国においておよそ15,000名の患者を冒す非ホジキンリンパ腫の高悪性度形態である。大多数のMCL患者は、サイクリンD1の過剰発現をもたらすt(11;14)(q13;q32)の染色体転座を保有する。Chk1およびWee1キナーゼがCdk / サイクリン活性の制御因子であることから、MCLは、Chk1阻害剤単独にまたはWee1阻害剤との組合せに固有に感受性にされ得る。

【0149】

20

MCL細胞増殖を阻害する化合物1の能力を評価するために、MCL細胞株を化合物1のhalf-log段階希釈物を用いて96ウェルフォーマットにおいて処置し、CellTiter-Glo(登録商標)アッセイ(Promega)を使用して72時間後にアッセイした(図9A)。Z-138、Jecko-1、Maver-1、Granta-519およびREC-1細胞株についてのIC50値を図9Bに示す。これらのデータは、化合物1が複数のMCL細胞株において強力な単剤抗増殖活性(single-agent anti-proliferative activity)を実証したことを見出す。

【0150】

30

(実施例9)

MCL異種移植モデルにおける単剤としての化合物1

化合物1の効果を2つの異なるマントル細胞リンパ腫(MCL)異種移植モデルにおいて評価した。Jecko-1およびまたはMaver-1細胞をCB17.SCIDマウス(Jecko-1細胞について)または胸腺欠損ヌードマウス(Maver-1細胞について)の側腹部に皮下接種した。腫瘍が体積約200mm³に達したら、マウスを研究群(1群あたりn=10匹)に無作為化した。マウスを経口経管栄養によって化合物1を用いて、または陰性対照としてビヒクルだけを用いて処置した。ある処置群では、化合物1を1日1回、21日間投与した。他の処置群では、化合物1を1日2回、3サイクル投与し、各サイクルは、3日間連続の処置に続く4日間連続の無処置で構成された。

【0151】

30

図10Aおよび10Cに示すとおり、両方の処置レジメンは、それぞれJecko-1およびMaver-1モデルの両方において腫瘍成長を有意に阻害した。さらに、図10Bおよび10Dは、化合物1が良好に耐容性であったことを示す。

【0152】

40

(実施例10)

MCL細胞株における化合物1とWee1阻害剤との相乗性

いくつかのマントル細胞リンパ腫(MCL)細胞株において、化合物1とWee1阻害剤とを組み合わせることの効果を試験するために、in vitroアッセイを実施した。MCL細胞を、漸増濃度の化合物1と組み合わせた、用量設定したWee1阻害剤、AZD-1775を用いて処置した。増殖を72時間で測定した。阻害がJecko-1(図11A)、Maver-1(図11B)およびZ-138(図11C)細胞株のアッセイにおいて観察された。

50

【0153】

加えて、MCL細胞を等効力の比の化合物1とAZD-1775とを用いて処置し、組合せ指数(CI)値をChou-Talalay法およびCalcuSynソフトウェア(Caner Res. 2020年1月15日; 70巻(2号): 440~6頁)を使用して算出した。Jekko-1、Z-138およびMaver-1細胞についてのCI値を図11Dに示す。これらのデータは、化合物1がWee1阻害剤との組合せでMCL細胞株において相乗的抗増殖作用を示したことを示す。

【0154】

(実施例11)

MCL細胞株におけるDNA損傷およびアポトーシス誘導

10

DNA損傷を誘導する化合物1の能力を評価するために、マントル細胞リンパ腫(MCL)細胞株を、用量設定した化合物1単独またはWee1阻害剤AZD-1775との組合せを用いて18時間処置した。細胞を溶解し、ホスホ-H2A.X(S139)レベルを免疫プロットによってアッセイし、LICOR Odyssey imagerで検出した。図12に示すとおり、化合物1は、複数のMCL細胞株(Jekko-1、Z-138およびMaver-1細胞)においてDNA損傷を誘導し、DNA損傷誘導が、Wee1が同時に阻害される場合に増強された。

【0155】

アポトーシス誘導を、用量設定した化合物1単独またはAZD-1775との組合せを用いてMCL細胞を18時間処置することによって研究した。処置に続いて、カスパーゼ-3/7誘導をCaspase-Glo(登録商標)3/7アッセイ(Promega)を使用して評価した。検査した3つのMCL株はJekko-1(図13A)、Maver-1(図13B)およびZ-138(図13C)であった。これらのデータは、複数のMCL細胞株においてアポトーシスを誘導する化合物1の能力が同時のWee1阻害によって増強されたことを示す。

20

【0156】

(実施例12)

化合物1とWee1阻害剤との組合せのin vivo研究

Jekko-1マントル細胞リンパ腫(MCL)腫瘍異種移植モデルを化合物1およびWee1阻害剤を用いたChk1阻害の組合せ効果を研究するために使用した。Jekko-1細胞をCB17.SCIDマウスの側腹部に皮下接種した。腫瘍が体積約200mm³に達したら、マウスを研究群(1群あたりn=10匹)に無作為化した。マウスを化合物1(7.5mg/kg)、AZD-1775(15mg/kg)または両方を用いて、経口経管栄養によって1日1回、3サイクル処置した(各サイクルは、3日間連続の処置に続く4日間連続の無処置で構成された)。マウスがビヒクリだけによって処置される陰性対照群を含んだ。

30

【0157】

図14Aに示すとおり、Jekko-1腫瘍成長は、両方の薬剤単独によって阻害され、腫瘍成長の阻害は、両方の薬剤が投与された場合に、有意に増強された。図14Bは、化合物1およびAZD-1775が、単独および組合せの両方で、研究動物によって良好に耐容されたことを示す。これらの結果は、化合物1の抗腫瘍活性がMCL腫瘍モデルにおいてWee1阻害剤を用いて増強されたことを示す。

40

【0158】

(実施例13)

AML細胞株における化合物1活性のin vitro研究

急性骨髓性白血病(AML)細胞への化合物1の効果を試験するために、いくつかのAML細胞株を化合物1のhalf-log段階希釈物を用いて96ウエルフォーマットにおいて処置し、CellTiter-Glo(登録商標)アッセイ(Promega)を使用して72時間後に増殖についてアッセイした。図15Aおよび15Bにおいて示されるとおり、化合物1は、複数のAML細胞株において抗増殖活性を実証した。

50

【0159】

加えて、DNA損傷を誘導する化合物1の能力をTHP-1 AML細胞においてアッセイした。これらの実験について、THP-1細胞を化合物1を用いて18時間処置し、ホスホ-H2AXをLumineXアッセイ(Millipore)を使用して測定した。図15Cに示すとおり、化合物1はTHP-1細胞においてDNA損傷を用量依存的様式で誘導できた。

【0160】

(実施例14)

AML細胞における化合物1活性のin vivo研究

MV-411腫瘍異種移植モデルを、AML腫瘍成長をin vivoで阻害する化合物1の能力を検査するために使用した。MV-411細胞をMatrigelと1:1の比で混合し、メスNOD/SCIDマウスの右側腹部に皮下注射した。腫瘍が体積約100から200mm³に達したら、マウスを研究群(1群あたりn=10匹)に無作為化し、経口経管栄養によって化合物1を投薬した。

10

【0161】

図16Aは、化合物1がMV-411腫瘍成長を用量依存的様式で阻害したことを示す。図16Bは、化合物1の研究動物の体重への効果を示す。併せて、これらの結果は、化合物1がMV-411異種移植腫瘍モデルにおいて単剤として活性であり、良好に耐容されたことを示す。

20

【0162】

本明細書に記載の実施例および実施形態が例示的目的だけのためであり、種々の改変または変更がそれらを踏まえて当業者に示唆され、本出願の精神および範囲ならびに添付の特許請求の範囲内に含まれることは理解される。本明細書において引用されるすべての公報、特許、特許出願および配列受託番号は、その全体がすべての目的のために参照により本明細書に組み込まれる。

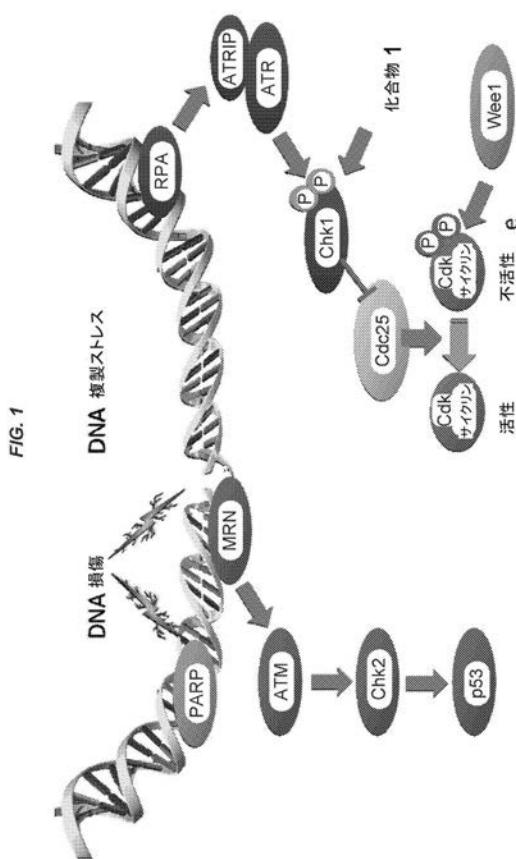
【表1】

非公式配列表

30

配列番号	配列	記述
1	KKKVSRSGLYRSPSMPENLNRPR	合成ペプチド基質

【図1】

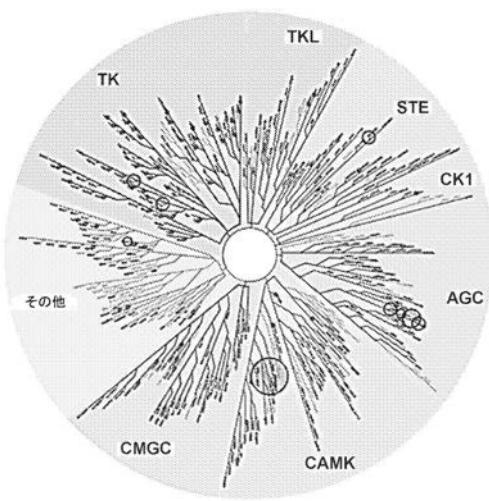


【図2】

FIG. 2

パラメーター	結果
Chk1に対する効力および選択性 Chk1酵素に対するIC50:約0.10nM、複数の受容体およびキナーゼスクリーニングにおいて他の標的との選択性 交差反応性 強力な細胞Chk1阻害(<1nM) A/B/B-A: 14/16 Efflux=1.2	Chk1に対する効力および選択性 Chk1酵素に対するIC50:約0.10nM、複数の受容体およびキナーゼスクリーニングにおいて他の標的との選択性 交差反応性 強力な細胞Chk1阻害(<1nM)
Caco2二方向浸透性 Efflux=1.2	Caco2二方向浸透性 Efflux=1.2
可逆的血漿タンパク質結合(%) 血液および血漿安定性 RBC分配 比: 2.6	可逆的血漿タンパク質結合(%) 血液および血漿において安定。T _{1/2} >120分間 RBC分配 比: 2.6
In Vitro 内在性クリアランス CYP 阻害 UGT1A1のin vitro阻害	In Vitro 内在性クリアランス ミクロソーム Clint' (ml/min/mg): 19/20/96/18/5 (ml/d/c/h) 直接: IC50 > 20 μM すべてCYPアイソフォーム TDI: TDI無し UGT1A1の基質ではない UGT1A1の阻害無し : IC50 > 100 μM
CYP3A4および1A2の誘導 (レボ-タ-細胞に基づくアッセイ) トランスポーター阻害 P-gp阻害	CYP3A4および1A2の誘導 (レボ-タ-細胞に基づくアッセイ) トランスポーター阻害 P-gp阻害はそれ4.1%および52%であった。

【図3 A - B】



ヒット	選択的 キナーゼ/Chk1 IC50	細胞 IC50 (nM)
Chk1	1	1 (HT-29 細胞)
Rsk3	36	TBD
Flt3	32	> 5000 (MV-411 細胞)
Ret	69	5000 (TT 細胞)
Rsk4	74	TBD
Map4k4/Hgk	209	TBD
Rsk2	72	TBD
Rsk1	134	TBD
Chk2	1405	TBD

【図3 C - D】

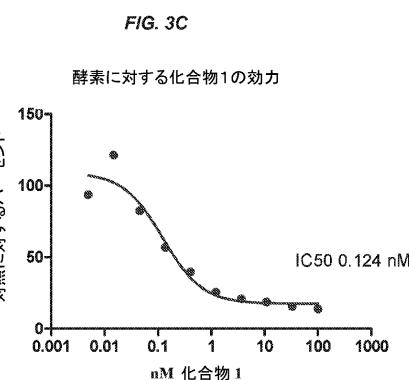
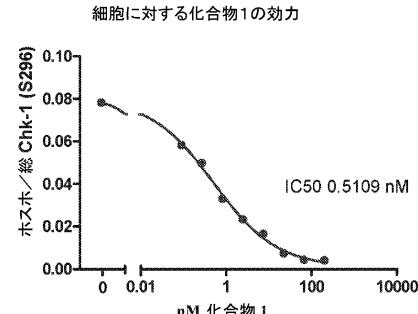
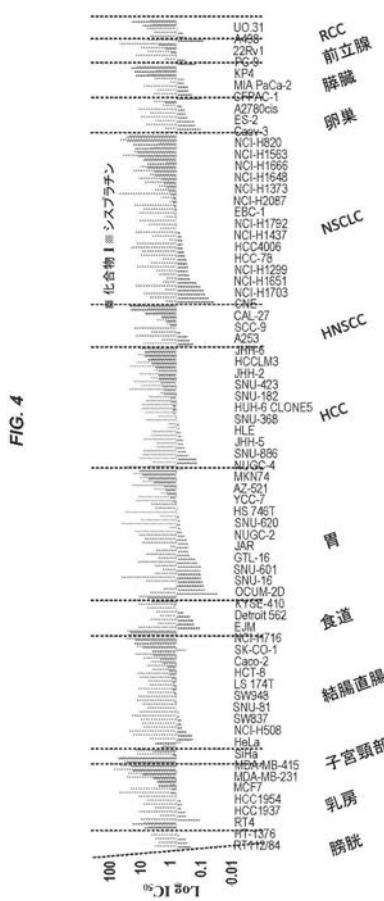


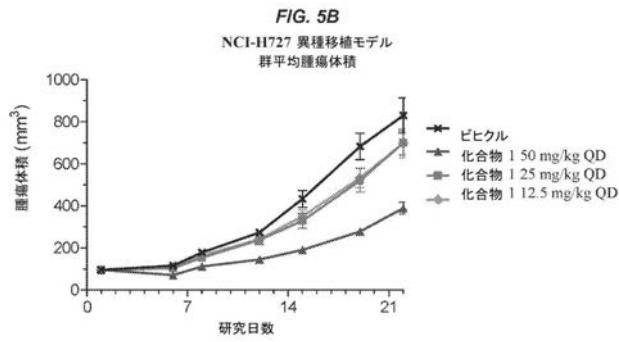
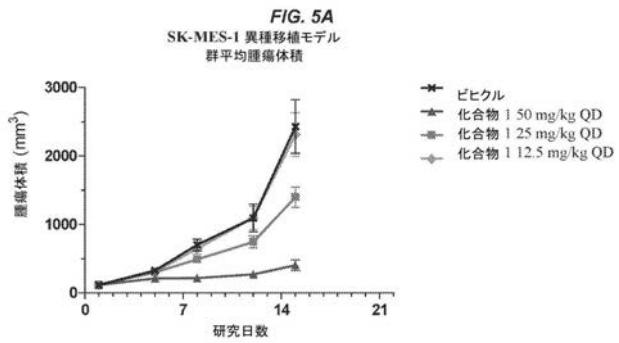
FIG. 3D



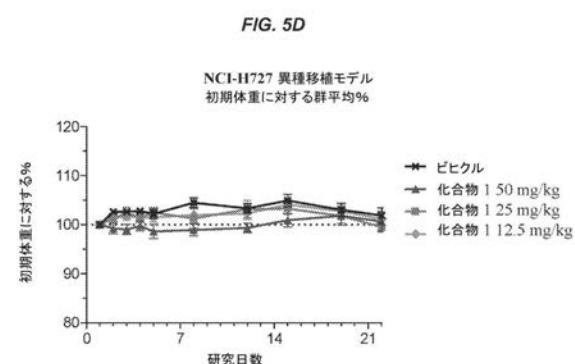
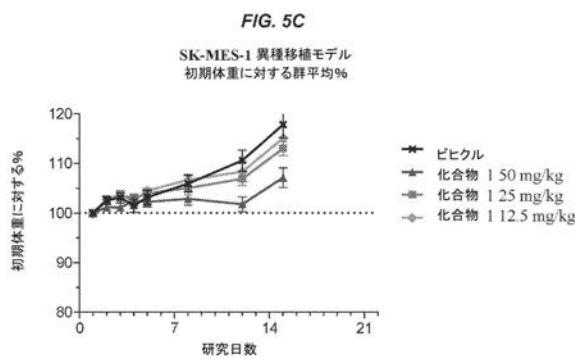
【図4】



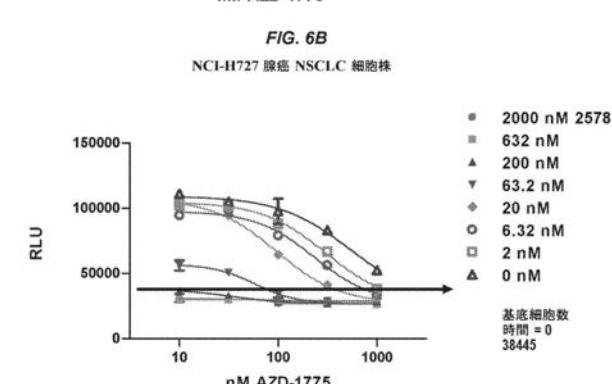
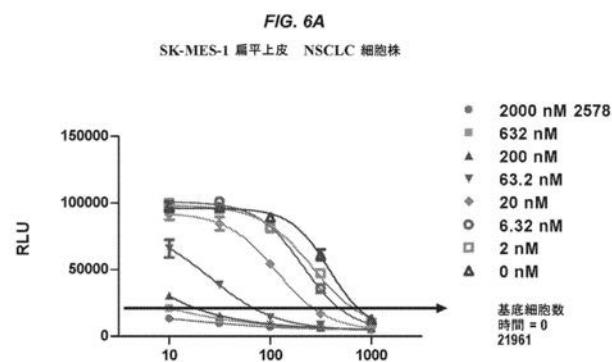
【図5 A - B】



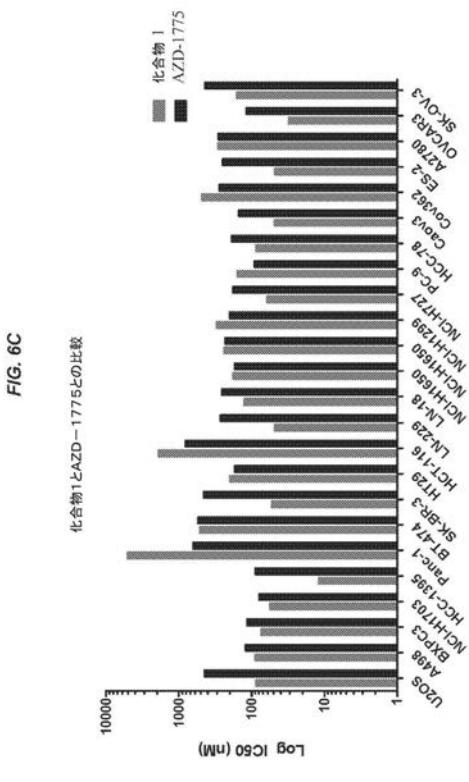
【図5 C - D】



【図6 A - B】



【図 6 C】



【 四 8 】



【 図 7 A - B 】

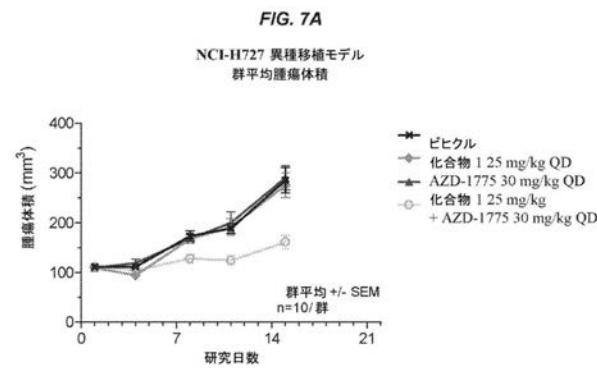
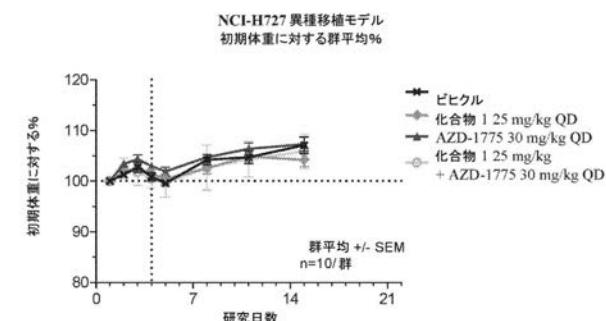


FIG. 7B



【図9A-B】

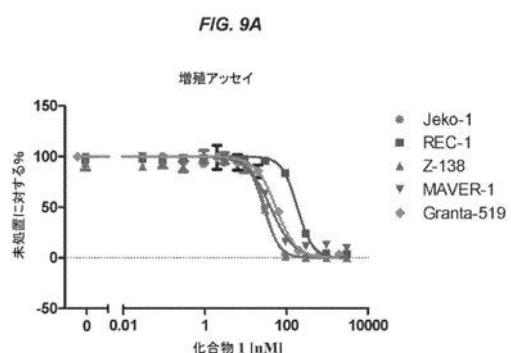
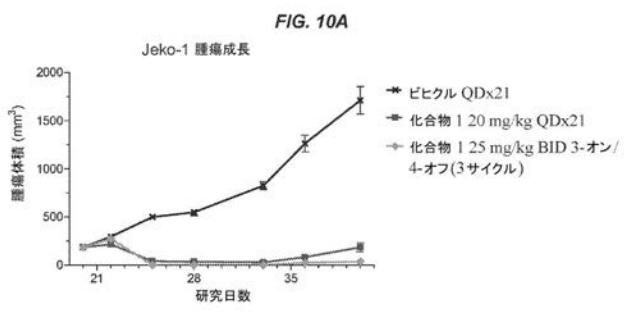


FIG. 9B

細胞株	化合物 1 IC_{50} (nM)
Z-138	28
Jeko-1	30
MAVER-1	41
Granta-519	55
REC-1	185
MEAN	67

【 図 1 0 A - B 】



【図 1 0 C - D】

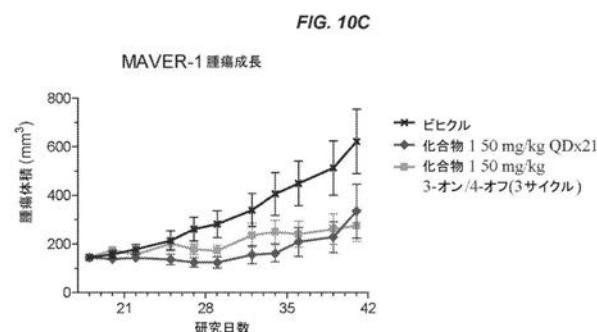


FIG. 10B

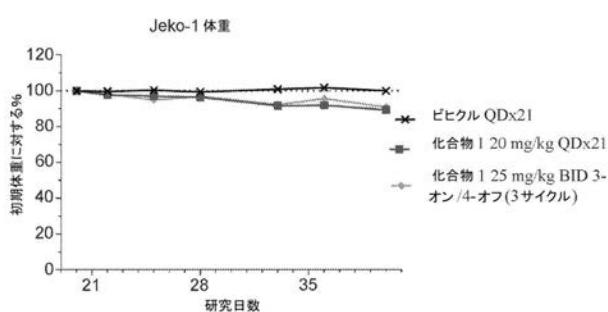
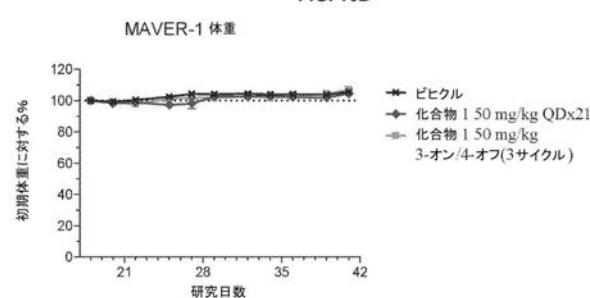
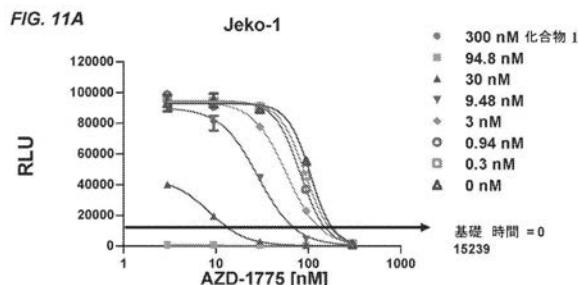


FIG. 10D



【図11A-C】



【 図 1 1 D 】

FIG. 11D

細胞株	組合せ指數
Jeko-1	0.231
Z-138	0.542
Maver-1	0.573

FIG. 11B

Maver-1

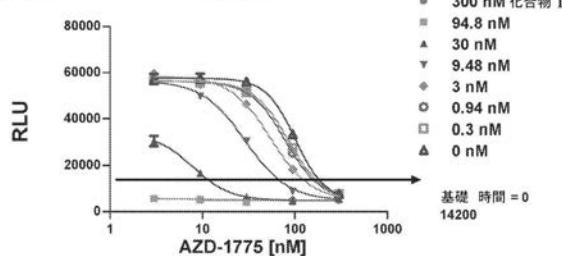
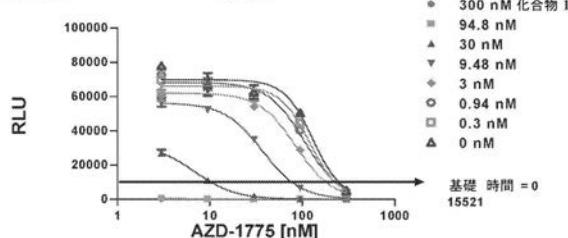
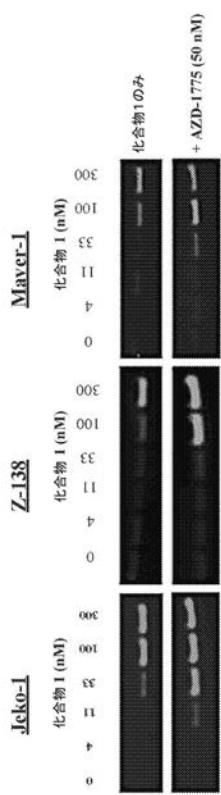


FIG. 11C Z-138

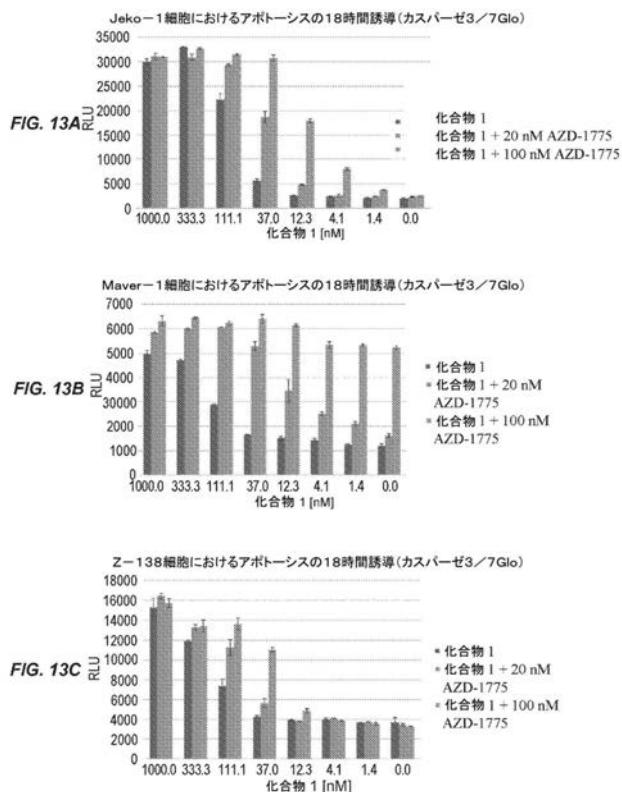


【図 1 2】

FIG. 12



【図 1 3 A - C】



【図 1 4 A - B】

FIG. 14A

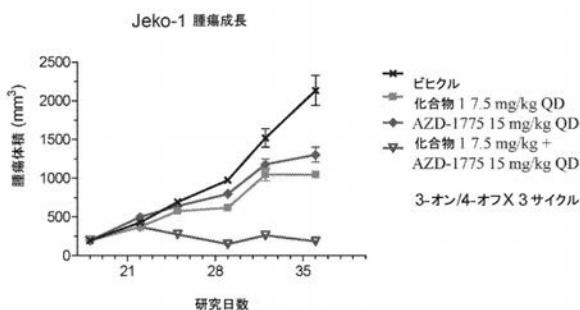
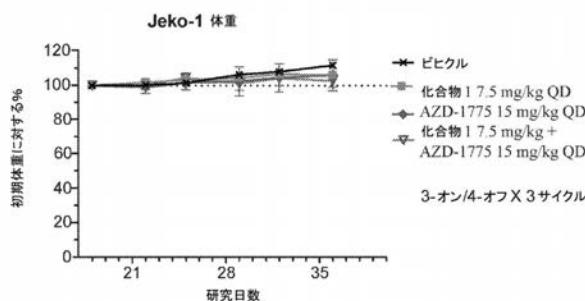


FIG. 14B



【図 1 5 A - C】

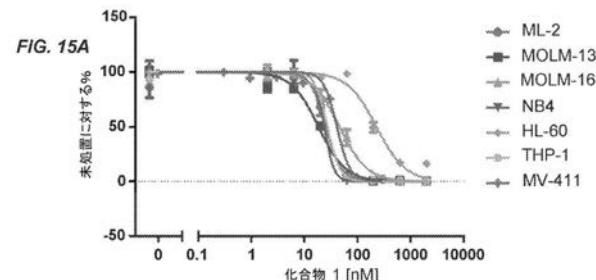
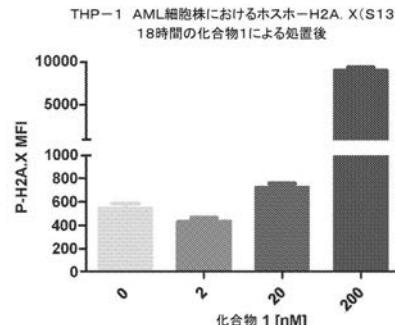


FIG. 15B

細胞株	化合物 1 IC ₅₀ (nM)
ML-2	26
MOLM-13	18
MOLM-16	46
NB4	24
HL-60	228
THP-1	27
MV-411	41

FIG. 15C



【図 1 6 A - B】

FIG. 16A

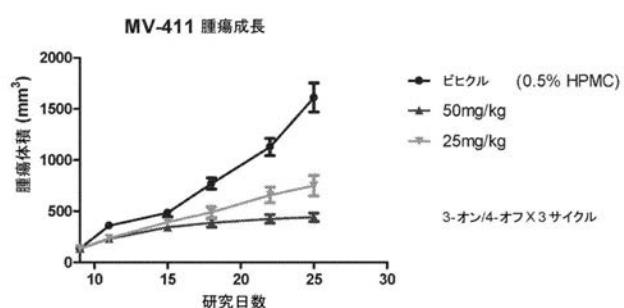
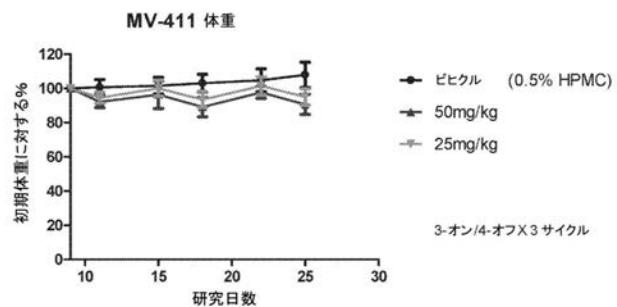


FIG. 16B



【配列表】

2020512977000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT				
				International application No PCT/US2018/025464
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K9/00 A61K45/06 A61K31/497 A61K31/519 A61P35/00 A61P35/02 A61P35/04				
ADD. <small>According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC</small>				
B. FIELDS SEARCHED <small>Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)</small> A61K				
<small>Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched</small>				
<small>Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)</small> EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE, WPI Data				
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT				
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages			Relevant to claim No.
Y	WO 2013/039854 A1 (MERCK SHARP & DOHME [US]; SHUMWAY STUART DENHAM [US]; TONIATTI CARLO []) 21 March 2013 (2013-03-21) abstract page 2, line 17 - line 30 page 6, line 1 - line 13 examples 1-5 figures 1-4 claims 1-10 ----- - / --			1-28
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
<small>* Special categories of cited documents :</small>				
<small>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</small>		<small>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</small>		
<small>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date</small>		<small>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</small>		
<small>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</small>		<small>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</small>		
<small>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</small>		<small>"&" document member of the same patent family</small>		
<small>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</small>				
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report		
25 June 2018		29/06/2018		
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Taylor, Mark		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2018/025464

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2015/120390 A1 (ONCOTHYREON INC [US]) 13 August 2015 (2015-08-13) cited in the application abstract page 1, line 2 - line 4 page 2, line 4 - line 6 page 40, line 27 - line 28 page 53, line 20 - page 54, line 3 page 66, line 3 - page 69, line 4 example 64 page 180, line 209 - page 185, line 1 claims 1-18 -----	1-28
Y	WENXIU QI ET AL: "Synergistic anti-leukemic interactions between panobinostat and MK-1775 in acute myeloid leukemia ex vivo", CANCER BIOLOGY & THERAPY, vol. 16, no. 12, 3 November 2015 (2015-11-03), pages 1784-1793, XP055453339, US ISSN: 1538-4047, DOI: 10.1080/15384047.2015.1095406 the whole document -----	1-28
Y	L. CHAUDHURI ET AL: "CHK1 and WEE1 inhibition combine synergistically to enhance therapeutic efficacy in acute myeloid leukemia ex vivo", HAEMATOLOGICA, THE HEMATOLOGY JOURNAL : OFFICIAL ORGAN OF THE EUROPEAN HEMATOLOGY ASSOCIATION, vol. 99, no. 4, 1 April 2014 (2014-04-01), pages 688-696, XP055486531, IT ISSN: 0390-6078, DOI: 10.3324/haematol.2013.093187 the whole document -----	1-28
Y	M. R. RUSSELL ET AL: "Combination Therapy Targeting the Chk1 and Wee1 Kinases Shows Therapeutic Efficacy in Neuroblastoma", CANCER RESEARCH, vol. 73, no. 2, 7 November 2012 (2012-11-07), pages 776-784, XP055486536, US ISSN: 0008-5472, DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2669 the whole document ----- -/-	1-28

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2018/025464

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	GRY IRENE MAGNUSEN ET AL: "Combined inhibition of the cell cycle related proteins Wee1 and Chk1/2 induces synergistic anti-cancer effect in melanoma", BMC CANCER, vol. 15, no. 1, 10 June 2015 (2015-06-10), XP055486528, DOI: 10.1186/s12885-015-1474-8 the whole document -----	1-28

INTERNATIONAL SEARCH REPORT				International application No	
Information on patent family members				PCT/US2018/025464	
Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date	
WO 2013039854	A1 21-03-2013	EP US WO	2755482 A1 2014343071 A1 2013039854 A1	23-07-2014 20-11-2014 21-03-2013	
WO 2015120390	A1 13-08-2015	AU CA CN EP JP KR PH RU SG US WO	2015213679 A1 2939333 A1 106170288 A 3104860 A1 2017508787 A 20160125991 A 12016501578 A1 2016136116 A 11201606553X A 2016361310 A1 2015120390 A1	25-08-2016 13-08-2015 30-11-2016 21-12-2016 30-03-2017 01-11-2016 06-02-2017 15-03-2018 29-09-2016 15-12-2016 13-08-2015	

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 K 31/519 (2006.01)	A 6 1 K 31/519	
A 6 1 K 45/06 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 0 5	
	A 6 1 P 43/00 1 1 1	
	A 6 1 K 45/06	

(81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,R0,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT

(72)発明者 ヴォ, アレックス

アメリカ合衆国 ワシントン 9 8 0 2 1 , ボセル, 3 0 ティーエイチ ドライブ エス . イ
ー . 2 1 8 2 3 , シアトル ジェネティックス , インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 クルカー, ケビン

アメリカ合衆国 ワシントン 9 8 0 2 1 , ボセル, 3 0 ティーエイチ ドライブ エス . イ
ー . 2 1 8 2 3 , シアトル ジェネティックス , インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 ピーターソン, スコット

アメリカ合衆国 ワシントン 9 8 0 2 1 , ボセル, 3 0 ティーエイチ ドライブ エス . イ
ー . 2 1 8 2 3 , シアトル ジェネティックス , インコーポレイテッド 気付

F ターム(参考) 4C084 AA19 AA22 AA23 MA52 MA66 NA05 ZB212 ZB261 ZB262 ZB271

ZC202 ZC751

4C086 AA01 AA02 BC48 CB06 GA07 MA02 MA03 MA04 MA52 MA66
NA05 ZB26 ZB27 ZC20 ZC75