

(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2005-507410**(P2005-507410A)**

(43) 公表日 平成17年3月17日(2005.3.17)

(51) Int.Cl.⁷

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K 31/275

A 6 1 K 31/275

4 C 0 8 4

A 6 1 K 31/245

A 6 1 K 31/245

4 C 0 8 6

A 6 1 K 31/498

A 6 1 K 31/498

4 C 2 0 6

A 6 1 K 31/505

A 6 1 K 31/505

A 6 1 K 31/506

A 6 1 K 31/506

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 43 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2003-539666 (P2003-539666)

(86) (22) 出願日 平成14年10月25日 (2002.10.25)

(85) 翻訳文提出日 平成16年3月29日 (2004.3.29)

(86) 国際出願番号 PCT/IB2002/004430

(87) 国際公開番号 W02003/037322

(87) 国際公開日 平成15年5月8日 (2003.5.8)

(31) 優先権主張番号 60/339, 032

(32) 優先日 平成13年10月30日 (2001.10.30)

(33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 501083115

メイヨ・ファウンデーション・フォー・メ
ディカル・エデュケーション・アンド・リ
サーチアメリカ合衆国、ミネソタ州 55905
、ロチェスター、ファースト・ストリート
・サウスウエスト 200

(74) 代理人 100062144

弁理士 青山 稔

(74) 代理人 100067035

弁理士 岩崎 光隆

(74) 代理人 100064610

弁理士 中嶋 正二

(74) 代理人 100072730

弁理士 小島 一晃

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 B c r / a b l キナーゼ活性の A T P 競合的阻害剤とチロホスチンアナログとの組合せ剤

(57) 【要約】

本発明は (a) b c r / a b l キナーゼ活性の A T P - 競合的阻害剤と (b) チロホスチンアナログとの組合せ剤 ; および b c r / a b l 関連疾患を処置するためのこの組合せ剤または製品の使用 ; に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(a) b c r / a b l キナーゼ活性の A T P - 競合的阻害剤と (b) チロホスチンアナログとの組合せ剤。

【請求項 2】

b c r / a b l キナーゼ活性の A T P - 競合的阻害剤 (a) が低分子量 ($M_r < 1500$) の b c r / a b l キナーゼの阻害剤、特に p 2 1 0^{b c r / a b l}、2 1 0 k D a 融合プロテイン、特に 2 - フェニルアミノピリミジン類またはその医薬的に許容される塩である請求項 1 に記載の組合せ剤。

【請求項 3】

b c r / a b l キナーゼ活性の A T P - 競合的阻害剤 (a) が 2 - フェニルアミノピリミジン類または 2 - チオフェン - キノキサリン類の化合物またはその医薬的に許容される塩から選択される請求項 1 に記載の組合せ剤。

【請求項 4】

b c r / a b l キナーゼ活性の A T P - 競合的阻害剤 (a) が (N - (5 - [4 - (4 - メチル - ピペラジノ - メチル) - ベンゾイルアミド] - 2 - メチルフェニル) - 4 - (3 - ピリジル) - 2 - ピリミジン - アミン、特にメタンスルホン酸塩型、または 6, 7 - ジメトキシ - 2 - チオフェン - 3 - イル - キノキサリン、特に塩酸塩型、または他の医薬的に許容される塩から選択される請求項 1 に記載の組合せ剤。

【請求項 5】

チロホスチンアナログがベンジリデンマロンニトリル類または S - アリールベンゼンマロンニトリルまたはビスブストレートキノリン類の化合物から選択される好ましくは低分子量 ($M_r < 1500$) 化合物またはその医薬的に許容される塩である請求項 1 に記載の組合せ剤。

【請求項 6】

チロホスチンアナログがチロホスチン A 2 3 / R G - 5 0 8 1 0 ; チロホスチン A G 9 9 ; チロホスチン A G 2 1 3 ; チロホスチン A G 1 7 4 8 ; チロホスチン A G 4 9 0 ; チロホスチン B 4 4 ; チロホスチン B 4 4 (+) エナンチオマー ; チロホスチン A G 5 5 5 ; チロホスチン A G 4 9 4 ; チロホスチン A G 5 5 6 ; チロホスチン、A G 9 5 7 およびアダホスチン ; またはその医薬的に許容される塩からなる群から選択される請求項 1 に記載の組合せ剤。

【請求項 7】

b c r / a b l キナーゼ活性の A T P - 競合的阻害剤 (a) が好ましくは (N - (5 - [4 - (4 - メチル - ピペラジノ - メチル) - ベンゾイルアミド] - 2 - メチルフェニル) - 4 - (3 - ピリジル) - 2 - ピリミジン - アミンであり、およびチロホスチンアナログ (b) がアダホスチンであるか、または成分 (a) または (b) に塩形成基が存在すればそのいずれかの医薬的に許容される塩ある請求項 1 に記載の組合せ剤。

【請求項 8】

請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載の (a) および (b) を含有する医薬調製物。

【請求項 9】

同時的な、時間をずらして、および / または個別的な、またはそのいずれかの組合せによる使用のための請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載の (a) および (b) および所望により医薬的に許容される担体材料を含んでなる製品。

【請求項 10】

b c r / a b l 関連疾患を処置するために請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載する (a) および (b) の組合せ剤または (a) および (b) を含んでなる請求項 9 に記載の製品を、かかる処置を必要とする温血動物、ヒトに投与する方法。

【請求項 11】

成分 (a)、特に N - { 5 - [4 - (4 - メチル - ピペラジノ - メチル) - ベンゾイルアミド] - 2 - メチルフェニル } - 4 - (3 - ピリジル) - 2 - ピリミジン - アミンおよび

10

20

30

40

50

成分 (b)、特にアダホスチンを、b c r / a b l 関連疾患に対して治療的に有効な量で含み、各成分が医薬的に許容される塩でも存在できる組合せ剤を動物に投与することを含んでなる、b c r / a b l 関連疾患、特に前記の疾患、に罹患した温血動物を処置する方法。

【請求項 12】

b c r / a b l 関連疾患を処置する薬剤を製造するための、請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載の組合せ剤の使用または請求項 10 に記載の製品の使用。

【請求項 13】

b c r / a b l 関連疾患を処置するための、請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載の組合せ剤の使用または請求項 10 に記載の製品の使用。

10

【請求項 14】

b c r / a b l 関連疾患の処置において同時的または時間をずらした様式で使用するのための、請求項 1 または請求項 5 ~ 7 に記載の成分 (b) との組合せ剤における使用のための請求項 1 ~ 4 または請求項 7 のいずれかに記載の成分 (a) ; またはその逆に本明細書に定義する成分 (a) との組合せ剤における使用のための成分 (b) ; 特に、両成分のそのような組合せ剤を示唆または記載する文書 (たとえば中入れ説明書) を入れた包装品中にある両成分。

【発明の詳細な説明】

【0001】

本発明は ; (a) b c r / a b l キナーゼ活性の A T P - 競合的阻害剤および (b) チロホスチン (tyrphostin) アナログの組合せ剤 ; 医薬的に許容される担体材料とともに (a) および (b) を含む医薬調製物 ; 同時的、時間をずらして、および / または個別的またはそのいずれかの組合せ、による使用またはその組合せのいずれかのために前記定義の (a) および (b) および所望により医薬的に許容される担体材料を含む製品 ; b c r / a b l - 関連疾患を処置するための組合せ剤または製品の投与または使用 ; および / または b c r / a b l 関連疾患処置用の薬剤を製造するための組合せ剤または製品の使用 ; に関する。

20

【0002】

本発明の背景

米国では毎年 C M L の新症例が約 4 5 0 0 も報告されている。この症例のほとんど大部分では特性的な t (9 ; 2 2) 転座は b c r 遺伝子の 5 ' 末端を a b l 遺伝子の 3 ' 末端に近接させ、独特な 2 1 0 k D a の融合プロテイン p 2 1 0 ^{b c r / a b l 2 - 5} を与える。この構成的に活性な細胞キナーゼはマウスの線維芽細胞および造血細胞系統を形質転換できるのみならず、マウス骨髄に形質導入すると C M L に類似の慢性骨髄増殖性疾患も起こす。この p 2 1 0 ^{b c r / a b l} 誘導形質導入は R a s - R a f 経路およびホスファチジルイノシトール - 3 キナーゼ / A k t 経路を含む多重シグナル伝達経路、ならびに転写 5 の (S t a t 5) および核ファクター B のシグナルトランスデュースおよびアクティベータによって媒介される転写の活性化を包含すると思われる。結論として、これらのシグナルトランスダクション事象は B c l - X_L、アポトーシス蛋白質の X - 結合阻害剤 (X I A P) およびサーバイビン (survivin) を含む、各種アポトーシス刺激に対する p 2 1 0 ^{b c r / a b l} 発現細胞の抵抗性に寄与する抗アポトーシス蛋白質の上方制御を起こす。

30

40

【0003】

最近までシタラピン存在下または不存在下におけるヒドロキシ尿素、インターフェロンの使用または幹細胞移植を含む C M L に対する処理選択は、患者の非耐容性またはこの疾患の自然史上に効果がない故に不満足なものであった。C M L 症例の大部分における p 2 1 0 ^{b c r / a b l} キナーゼの存在と C M L の病因にこのキナーゼが関与する事実との組合せはこの融合プロテインを C M L 指向性治療法の興味ある標的とした。以前の研究で多くの p 2 1 0 ^{b c r / a b l} キナーゼ阻害剤が確認されている。

【0004】

50

最も広範に研究された $p210^{bcr/abl}$ 阻害剤は STI571 (旧名 CGP57148) である。この ATP 結合部位指向性薬剤 STI571 はたとえば米国では Gleevec (登録商標) の商品名で既に市販されている。この薬剤は $p210^{bcr/abl}$ の ATP 結合ポケットを占拠し、不活性なコンホメーションにあるキナーゼを安定化する可逆的阻害剤である。前臨床試験で STI571 はまた $c-abl$ 、血小板由来増殖因子受容体、および $c-kit$ 受容体のキナーゼ活性を阻害することが証明された。第 I 相試験で、STI571 は慢性期の CML には見事な活性を示すが、 $p190^{bcr/abl}$ を発現する急性リンパ球性白血病および CML のブラストクライシス期に対しては活性が弱いことが示された。STI571 を単独でまたは通常の細胞傷害性薬剤および組合せで用いる追加的前臨床試験および臨床試験が現在進行中である。

10

【0005】

プロテインキナーゼを阻害する別な手法には、ATP ではなくペプチド基質の結合を変える低分子の使用を含む。一般的にチロホスチンと命名される、化学的には多様な群に属する薬剤が合成され、様々なチロシンキナーゼの阻害剤候補として評価された (Levitski, FASEB J. 6: 3275-3282 (1992) 参照)。以前にチロホスチン AG957 が免疫コンプレックスキナーゼ検定法で $p210^{bcr/abl}$ 活性を阻害し、および未処置細胞では $p210^{bcr/abl}$ の自己リン酸化の減少を起こし、続いて bcr/abl が分解することが発見されている。

【0006】

AG957 もアダプタープロテイン $c-cbl$ の T 細胞受容体媒介リン酸化も阻害することが発見されており、 bcr/abl 以外のキナーゼも影響されているかもしれないことが示唆されている。 bcr/abl 形質転換細胞系統に対する絶対的特異性の欠如に拘らず、AG957 は正常骨髄前駆細胞と比べて CML 前駆細胞の増殖を選択的に阻害することが観察されている (Carlo-Stella et al., Blood 93: 3973-3982 (1999) および Svingen et al., Clin. Cancer Res. 6: 237-49 (2000) 参照)。後続する動物試験から AG957 の血中半減期が非常に短いことが判明した (S. Stinson, V.L. Narayanan and E. A. Sausville 未公表)。一連の AG957 アナログの試験からアダマンチルエステルであるアダホスチン (adaphostin) (NSC680410) がインビトロでの高力価 (Svingen et al., loc. cit. 参照) およびインビボで血中半減期が長い (S. Stinson, V.L. Narayanan and E. A. Sausville 未公表) ことが確認された。アダホスチンは bcr/abl キナーゼ阻

20

30

【0007】

いずれかの活性成分に対する耐性発生の可能性を考慮すれば、未だに患者の最適な処置を可能にする新処置計画の確認ならびに新処置法の確認は主目標である。

【0008】

本発明の一般的記載

驚くべきことに (a) bcr/abl キナーゼ活性の ATP 競合的阻害剤と (b) チロホスチンアナログとの組合せ剤は、各々が相互に効果に対する影響が可能な短い時間間隔内に投与すれば、 bcr/abl 関連疾患の処置では相乗的および/または非交差耐性的効果さえも可能であることが発見された。

40

【0009】

本発明は最初に bcr/abl 関連疾患に関して有益な効果を起こす戦略 2 種の結合を示す。本明細書に定義する組合せ剤の効果は、ここに定義する (a) および (b) の組合せ相手単独のいずれかで達成できる効果よりも特に大きい、すなわち組合せ相手 (各成分) の一方のみを使用する単剤治療の効果よりも大きい。

【0010】

ある状況下では、作用機構が全く異なる薬剤を組合せてもよい。しかし、作用機構が異なる薬剤の組合せを考慮するだけでは必ずしも有益な効果をもつ組合せ剤が得られるとは限らない。

【0011】

50

b c r / a b l 関連疾患の処置における成分 (a) と成分 (b) との組合せ剤の効果は全く驚くべきことである。成分 (a) も成分 (b) も共に b c r / a b l キナーゼ活性の阻害剤である ; しかしながら本発明の結果は両成分が下流の異なる事象を触発することおよび両成分が組合せ剤によって相互に作用を強化する様式で作用できることを示唆する。

【 0 0 1 2 】

さらなる利点は下記本発明の組合せ剤における各活性成分が低用量で使用されることである。たとえば用量は必ずしも低いことが必要なばかりでなく、また回数が少なくてもよく、または副作用発生率を低下させるようにも適用できる。これは、処置される患者の要望と必要性に従うものである。

【 0 0 1 3 】

本発明の組合せ剤は特に相乗的治療効果 (たとえば b c r / a b l 関連疾患の形成低速化、休止または逆転、または形成期間長期化など) のみならず、本発明の組合せ剤に使用する医薬的活性成分の一方のみを使用する単剤投与と比べてさらに驚くべき有益な効果 (たとえば副作用減少、生活の質の向上および死亡率および罹病率低下など) も示す。

【 0 0 1 4 】

本発明の詳細な記載

本発明は (a) b c r / a b l キナーゼ活性の A T P - 競合的阻害剤および (b) チロホスチンアナログの組合せ剤に関する。

【 0 0 1 5 】

さらに別な側面では、本発明は直前の節に前記した (a) および (b) を医薬的に許容される担体材料と組合せて含む医薬調製物に関する。

【 0 0 1 6 】

本発明はまた、同時的、時間をずらして、および / または個別的、またはそのいずれかの組合せによる使用のための、前記 (a) および (b) ならびに所望により医薬的に許容される担体材料を含む製品 (商業的) に関する。

【 0 0 1 7 】

本発明はまた b c r / a b l 関連疾患の処置用に (a) と (b) との組合せ剤または (a) および (b) を含む前記製品の投与方法または使用方法に関し ; および / または b c r / a b l 関連疾患の処置に用いる薬剤製造のための前記組合せ剤または製品の使用 ; に関する。

【 0 0 1 8 】

これに加えて、本発明は特に b c r / a b l 関連疾患の処置において本明細書に定義する成分 (b) と同時的、時間をずらしておよび / または個別的またはそのいずれかの組合せによる使用のための本明細書に定義する成分 (a) またはその逆に本明細書に定義する成分 (a) との組合せによる使用のための成分 (b) ; 特に包装品中にある前記成分およびこのような組合せ剤を示唆する記載 (たとえば中入れ説明書) とともにある前記成分に関する。

【 0 0 1 9 】

本明細書で使用する一般的用語は、好ましくは別段の指摘がない限り、本明細書の文脈内で以下の意味を有する :

【 0 0 2 0 】

成分 (a) および (b) としては、以下は非常に好適である :

成分 (a) : b c r / a b l キナーゼ活性の A T P - 競合的阻害剤は好ましくは低分子量 ($M_r < 1500$) 阻害剤 b c r / a b l キナーゼであって、特に $p210^{bcr/abl}$ ¹ 210 kDa 融合プロテインまたはその医薬的に許容される塩、特に 2 - フェニルアミノピリミジン類、好ましくは EP0564409 に記載の化合物、好ましくは (N - (5 - [4 - (4 - メチル - ピペラジノ - メチル) - ベンゾイルアミド] - 2 - メチルフェニル) - 4 - (3 - ピリジル) - 2 - ピリミジン - アミン、特にそのメタンスルホネート (モノメシレート) 塩 (S T I 5 7 1) の型におけるもの ; または 2 - チオフェンキノキサリン類に属するもの、好ましくは 6 , 7 - ジメトキシ - 2 - チオフェン - 3 - イル - キノキサリン

10

20

30

40

50

、特に塩酸塩型（RPR 101511A）である。

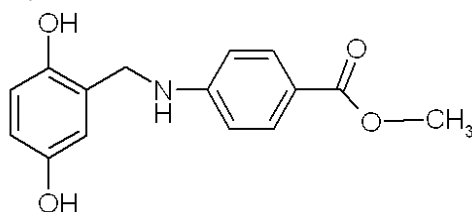
【0021】

b c r / a b l キナーゼの阻害は当業者に知られた方法に従って判定できる（たとえばNature Medicine 2: 561-566 (1996) またはGombacorti et al., Blood Cells, Molecules and Diseases 23: 380-394 (1997) 参照）。

【0022】

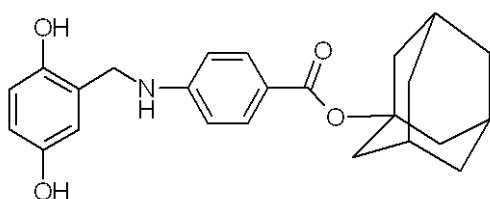
成分（b）：チロホスチンは好ましくは低分子量（ $M_r < 1500$ ）化合物またはその医薬的に許容される塩、特にベンジリデンマロンニトリル類またはS - アリールベンゼンマロンニトリルまたは二基質キノリン類の化合物から選択される化合物（Levitzki, FASEB J. 6: 3275-82 (1992)参照）であって、特にチロホスチンA 23 / R G - 50810 ; A G 99 ; チロホスチンA G 213 ; チロホスチンA G 1748 ; チロホスチンA G 490 ; チロホスチンB 44 ; チロホスチンB 44 (+) エナンチオマー ; チロホスチン A G 555 ; A G 494 ; チロホスチンA G 556 (Levitsky et al., TIPS 12: 171 (1991) ; Ohmichi, Biochem. 32: 4650 (1993) ; Gazit et al., J. Med. Chem. 32: 2344 ; Levitski et al., Science 267: 1782 (1995) ; Gazit et al., J. Med. Chem. 39: 4905 (1996) ; Gazit et al., J. Med. Chem. 34: 189 (1991) ; Wang et al., J. Immunol. 162: 3897 (1999)参照）からなる群から選択されるいずれかの化合物、および好ましくは式：

【化1】



で示されるA G 957および最も好ましくは式：

【化2】



で示されるアダホスチンすなわち4 - { [(2 , 5 - ジヒドロキシフェニル) メチル] アミノ } - 安息香酸アダマンチルエステル（NSC 680410）、またはそれらの塩（各記載化合物の場合）である。

【0023】

各成分は遊離形または塩形（好ましくは医薬的に許容される）で存在してもよく、たとえば塩基性塩形成基が存在する場合（たとえばアミノまたはイミノまたはフェノールのヒドロキシ）、たとえば有機または無機酸（たとえば塩化物またはメシレートなど）の酸付加塩として；酸性基（たとえばカルボキシまたはスルホ）が存在する場合、金属塩（たとえばアルカリ金属）または4級アンモニウム塩（たとえば4級ブチルアンモニウム塩）の形で；または塩基性と酸性基とが存在する場合、分子内塩または混合塩；を含む。なお、成分に言及する時には常に遊離型および／または塩型が意図されている。組合せ相手（a）または（b）またはその医薬的に許容される塩は、水和物の形でまたは結晶化に使用した他の溶媒を含んだ形で用いてもよい。N - (5 - 「 4 - (4 - メチル - ピペラジノ - メチル) - ベンゾイルアミド 」 - 2 - メチルフェニル) - 4 - (3 - ピリジル) - 2 - ピリミジン - アミンは、組合せ相手（a）としては本発明では、好ましくはモノメシレート塩（S T I 571）の形で使用される。

【0024】

成分（a）、特にN - { 5 - [4 - (4 - メチル - ピペラジノ - メチル) - ベンゾイルア

10

20

30

40

50

ミド] - 2 - メチルフェニル} - 4 - (3 - ピリジル) - 2 - ピリミジン - アミンおよび成分 (b)、特にアダホスチンを含み、活性成分が互いに独立に遊離型または塩 (好ましくは医薬的に許容される) の型で存在し、および所望により少なくとも一種の医薬的に許容される担体を有し、および共に組合せ調製物の一部であるかまたは別な製品 (たとえばキットの部品という意味で) の一部である組合せ剤を本明細書では「本発明の組合せ剤」と称する。

【 0 0 2 5 】

組合せ相手 (a) はEP0564409に記載のようにして製造し、投与できる。好ましくはW0 99 / 03854に記載のように特にN - (5 - [4 - (4 - メチル - ピペラジノ - メチル) - ベンゾイルアミド] - 2 - メチルフェニル) - 4 - (3 - ピリジル) - 2 - ピリミジン - アミンのモノメシレート塩はW099 / 03854の実施例 4 および 6 に記載のようにして製剤化できる。

10

【 0 0 2 6 】

成分 (a) および成分 (b) に加えて、他の抗新生物剤との組合せ剤が可能である。本明細書では用語「抗新生物剤」はこれに限定するものではないがアロマターゼ阻害剤、たとえばレトロゾール、抗エストロゲン、トポイソメラーゼ I 阻害剤、トポイソメラーゼ II 阻害剤、微小管活性化剤、たとえばパクリタキセル、タキソテル、エポチロン A または B、アルキル化剤、たとえばサイクロホスファミド、抗新生物抗代謝剤、白金化合物、プロテインキナーゼ活性低下化合物およびさらに抗血管形成化合物、ゴナドレリンアゴニスト、抗アンドロゲン、ビスホスフォネートおよびトラスツズマブ (trastuzumab) を含む。

20

【 0 0 2 7 】

成分 (a) および (b) ならびにもしも存在すればさらに抗新生物剤の同様に対応する立体異性体ならびに対応する結晶形変異体、たとえば溶媒和物および結晶多形も含める。

【 0 0 2 8 】

b c r / a b l - 関連疾患は特に b c r / a b l - 陽性の増殖性疾患、特に癌および腫瘍、特に白血病、たとえば慢性骨髄性白血病 (C M L) および急性リンパ母細胞性白血病 (A L L) であり、ここではアポトーシスに基づく影響が見られ、さらにまた神経膠腫、肉腫、卵巣腫瘍、その他、白血病幹細胞の副母集団に影響を示し、およびそのような細胞を体外に取り出した後 (たとえば骨髄除去) にインビトロで精製し、続いて癌細胞から精製した細胞を再移植 (たとえば精製骨髄細胞の再移植) する可能性を示す。

30

【 0 0 2 9 】

成分 (a) および (b) の組合せ剤には単一成分に比べて高い効率が標準的方法で観察される。

【 0 0 3 0 】

特に実施例 1 には、アポトーシス誘導の増加を判定できる方法を説明するが、ここでは単一成分に比べて組合せ剤での効率の高さを示す - これらの方法は各実施例に示すものの以外の様々な成分 (a) および (b) にも使用できる。

【 0 0 3 1 】

さらに b c r / a b l - 関連疾患、特に対応する増殖性疾患の処置における本発明の組合せ剤の効率を示すために動物 (たとえばブタ、ミニブタ、ヒヒ、ラット、ウサギおよび特にマウス) を使用できる。たとえば、本組合せ剤の抗増殖活性、特に抗腫瘍活性および抗白血病活性は下記の実験を用いて証明できる。

40

【 0 0 3 2 】

インビボ抗腫瘍活性は以下を用いて試験する : B a l b / c - A m u L V - A 6 R 1 (A T C C : T I B 9 0)、c - s i s および v - s i s 形質転換 B A L B / c 3 T 3 細胞系統またはヒトエストロゲン依存性乳癌 M C F - 7 (A T C C : H T B 2 2) または Z R - 7 5 - 1 (A T C C : C R L 1 5 0 0) ; エストロゲン非依存性乳癌 M D A - M B 4 6 8 (A T C C : H T B 1 3 2) または M D A - M B 2 3 1 (A T C C : H T B 2 6) ; 結腸癌 C o l o 2 0 5 (A T C C : C C L 2 2 2) ; 神経グリア芽細胞腫 U - 8 7 M G (A T C C : H T B 1 4) または U - 3 7 3 M G (A T C C : H T B 1 7) ; 小細胞肺癌 N C I

50

- H 6 9 (A T C C : H T B 1 1 9) および N C I - H 2 0 9 (A T C C : H T B 1 7 2) ; 肺癌 N C I - H 5 9 6 (A T C C : H T B 1 7 8) ; メラノーマ H s 2 9 4 T (A T C C : H T B 1 4 0) または A 3 7 5 (A T C C : C R L 1 6 1 9) ; 卵巣癌 N I H - O v c a r 3 (A T C C : H T B 1 6 1) ; ならびに前立腺癌 D U 1 4 5 (A T C C : H T B 8 1) または P C - 3 (A T C C : C R L 1 4 3 5) ; 膀胱癌 T 2 4 (A T C C : H T B 4) ; 上皮癌 K B 3 1 ; または (特に白血病に関し) K 5 6 2 細胞 (アメリ칸タイブカルチャーコレクション、ATCC, Mannassas, VA) ; またはヒト C F U - G 細胞 (C F U - G は顆粒球コロニー形成単位を意味し、血流中循環する早期に係る顆粒球形成前駆体細胞または骨髓の前駆体細胞を示す) を各々雌性または雄性の B a l b / c ノードマウスに移植する。

10

【 0 0 3 3 】

腫瘍または白血病は担癌させるマウス (たとえば細胞系統当り 4 ~ 8 マウス) に細胞 (燐酸緩衝生理食塩水 1 0 0 m L 中最低 2×10^6 細胞) を皮下注射して得られる。得られる腫瘍を処置開始前に順次に少なくとも 3 回移植する。腫瘍断片 (各約 2 5 m g) を 1 3 ゲージ套管針によって Forene (Abbott, スイス) 麻酔下に動物の左脇腹部に皮下注射して移植する。これに加えてエストロゲン依存性腫瘍を移植したマウス全てにエストロゲンのペレット (エストラジオール Sigma 5 m g 入り医用 1 . 0 c m チューブ Dow Chemicals) を与える。この処置は常用的に (すなわち低いまたは中間の腫瘍大きさ) 腫瘍が平均直径 1 0 0 m m ³ に達したらすぐに開始する。腫瘍の増殖は毎週 1 回、2 回または 3 回 (細胞系統の腫瘍増殖度に依存して) および処置終了から 2 4 時間後に垂直直径を測定する。腫瘍容積は式 : $L \times D \times p / 6$ で算出する (Evans, B.D., Smith, I.E., Shorthouse, A.J. and Millar, J.J., Brit. J. Cancer, 45: 466-468, 1982 参照) 。

20

【 0 0 3 4 】

抗腫瘍活性は T / C % (処置動物の腫瘍容積増加平均に対する対象動物の腫瘍容積増加平均の商の 1 0 0 倍) で示す。腫瘍退縮 (%) は処置開始時の平均腫瘍容積に比した最小平均腫瘍容積を示す。腫瘍直径が 1 . 5 ~ 2 c m ³ 以上に達したら各動物を屠殺する。各成分は既知の計画に従って投与する。たとえば成分 (a) は 2 ~ 7 週間毎日経口的 (p . o .) または静脈内 (i . v .) に投与する。

【 0 0 3 5 】

成分 (b) の投与計画の例示 (限定目的でない) は毎日 5 日間投与および / または 1 日、4 日および 9 日目に投与し、一定期間の休薬後任意に反復するものである。あるいは、毎日数回 (たとえば 2 ~ 5 回) の処置またはたとえば前節に記載した時点での継続投与 (たとえば点滴) による処置が可能である。一般に、投与は経口的または非経口的に行う。

30

【 0 0 3 6 】

被験化合物は好ましくは水または滅菌 0 . 9 % 食塩水で希釈する。

【 0 0 3 7 】

ヒト腫瘍細胞系統は別段の指摘がない限り、全て A T C C (Rockville, MD., USA) から入手し、別段の指摘がない限り、示唆した培地に対応する添加剤 (ATCC culture conditions) を加えて培養する。c - s i s および v - s i s で形質転換した B A L B / c 3 T 3 細胞は C. Stiles 博士 (Dana Farber Cancer Institute, Boston, MA, USA) から入手した。これを「ダルベッコの修正イーグル培地 (D M E M) 」に 1 0 % ウシ血清および 0 . 2 m g / m L 濃度のハイグロマイシン B または 0 . 5 m g / m L 濃度の G 4 1 8 を添加して培養する。B A L B / c A M u L V A . 6 R . 1 細胞 (ATCC) を 1 0 % ウシ胎仔血清添加 D M E M 中に維持する。

40

【 0 0 3 8 】

担腫瘍動物の末梢白血球数と脾臓および胸腺重量とから白血病の状況を評価する。

【 0 0 3 9 】

「本発明の組合せ剤」が組合せ相手単独で観察される効果に比べてさらに効果的な b c r / a b 1 - 関連疾患の進行遅延または処置が起きることは樹立した試験モデルによっておよび特に本明細書記載の試験モデルによって証明できる。当業者は本明細書に示す治療処

50

方および有益な効果を証明するための関連試験モデルを選択できる。「本発明の組合せ剤」の薬理的活性はたとえば臨床研究または本明細書に本質的に記載する操作の試験によって証明してもよい。

【0040】

適当な臨床試験はたとえば慢性骨髄性白血病（CML）患者におけるオープンラベル、非乱数化、容量漸増試験である。特にそのような研究は「本発明の組合せ剤」の活性成分に認められる相乗性を証明できる。増殖性疾患に対する有益な効果はこれらの研究の結果によってまたはそれ自体当業者に知られている研究計画の変更によって直接判定できる。このような研究は、「本発明の組合せ剤」の活性成分を用いる単独治療の効果と比較するために特に適する。好ましくは組合せ相手（a）を固定用量で投与し、および組合せ相手（b）の用量を最大耐容用量まで増加させて行う。本研究の好適な態様では各患者に組合せ相手（a）の日用量を投薬する。腫瘍の治療効果はたとえば18週または24週間の研究では6～16週毎に腫瘍の放射線評価を行って判定できる。この処置のCMLに対する効果はそのような研究で血液学的反応、細胞遺伝学的小および分子的反応についてたとえば血液および骨髄を試験することによって判定できる。

10

【0041】

あるいは、プラセボを対照とする二重盲検を用いて本明細書に示す「本発明の組合せ剤」の有利性を証明できる。

【0042】

本明細書に使用する用語「進行の遅延」は処置すべき疾患の前段階または早期にある患者に組合せ剤を投与することを意味する。たとえば対応する疾患の前型が診断された患者に組合せ剤を投与することまたはその患者がたとえば医学的処置中の病状にあるか、または偶然にも対応する疾患の進行が疑われた患者に組合せ剤を投与することである。

20

【0043】

「本発明の組合せ剤」は、組合せ医薬調製物または医薬組成物であり得る。

【0044】

この発明の特異的態様の一つは増殖性疾患または急性または慢性の移植拒絶に対して、共同して治療的に有効な量の「本発明の組合せ剤」を含む医薬組成物によって代表される。この組成物では組合せ相手（a）および（b）は一緒に、互いに前後してまたは別々に1個の単位用量剤型または2個の別々な単位用量剤型として投与できる。これらの単位用量剤型は固定した組合せ剤であってもよい。

30

【0045】

本発明の組合せ相手（a）および（b）の個別的投与のためのおよび本発明の少なくとも2種の組合せ相手（a）および（b）（活性成分）を含む単一ガレヌス組成物の固定的組合せ剤における投与のための医薬組成物はそれ自体公知の方法で製造でき、これらは少なくとも一種の薬理学的組合せ相手単独の治療的有効量を含むか、または医薬的に許容される担体1種またはそれ以上を有する組合せ剤、特に経口的または非経口的適用に適する担体と組合せて消化管経由たとえば経口的にまたは直腸経由でおよび非経口的にヒトを含む哺乳類（温血動物）に投与される。

【0046】

新規医薬組成物は、たとえば約10%から約100%、好ましくは約20%から約60%までの活性成分を含む（「約」は本開示では好ましくは±5%、特に±0%を示す）。組合せ剤療法のための経口用または非経口投与用医薬調製物はたとえば糖衣錠、錠剤、カプセル剤または坐剤およびさらにアンプル剤のような単位用量剤型である。別段の指摘がない限り、これらはたとえば通常の混合、顆粒化、糖衣、溶解または凍結乾燥工程など公知の様式で製造できる。複数の用量単位を投与すれば必要な有効容量は達成できるので各用量剤型の個々の用量に含まれる組合せ相手の単位含有量それ自体が有効用量を構成する必要はないことは認識されるであろう。

40

【0047】

特に、「本発明の組合せ剤」において組合せ相手の各治療的に有効な量は同時的にまたは

50

逐次的におよびいかなる順序で投与してもよく、および各成分は別々にまたは固定の組合せ剤で投与してもよい。たとえば進行遅延方法または増殖疾患の処置および/または本発明による急性または慢性の移植拒絶は、(i)遊離型または医薬的に許容される塩型の組合せ相手(a)の投与;および(ii)同時的にまたはいかなる順序でもよいが逐次的に共同して治療的に有効な量、好ましくは相乗的に有効な量、たとえば前記の量に対応する日用量で遊離型または医薬的に許容される塩型の組合せ相手(b)の投与;を含んでいてもよい。「本発明の組合せ剤」の各組合せ相手は単一なまたは分割された組合せ剤として治療過程の別の時点で個別的にまたは同時に投与できる。さらに、用語「投与」はまた生体内で組合せ相手自体に変換される組合せ相手のプロドラッグの使用も含む。それ故、本発明は同時的なまたは交互的な処置の全ての投薬計画を含むと理解されるべきであり、用語「投与」はそのように解釈すべきである。

10

【0048】

「本発明の組合せ剤」に採用する各組合せ相手の有効用量は採用する特定化合物または医薬組成物、投与形態、処置する病状、処置する病状の重症度に依存することもある。そこで「本発明の組合せ剤」の用量計画は投与経路および患者の腎臓および肝臓機能を含む各種の因子に従って選択される。通常に熟練した医師、臨床医、または獣医は容易に病状を予防し、逆転し、または病状の進行を休止させるために必要な活性成分の有効量を判定し、処方できる。最適な正確さで毒性なしに有効性を得る範囲内の活性成分の濃度を達成するには、標的部位への活性成分の利用能の動力学に基づく計画が必要である。

【0049】

成分(a)、特にN-(5-[4-(4-メチル-ピペラジノ-メチル)-ベンゾイルアミド]-2-メチルフェニル)-4-(3-ピリジル)-2-ピリミジン-アミン・モノメシレートは好ましくは約2.5~850mg/日、さらに好ましくは5~600mg/日および最も好ましくは20~300mg/日の範囲内の用量で温血動物、特にヒトに投与する。本明細書に別段の記載がない限り、本化合物は好ましくは毎日1回から4回投与する。

20

【0050】

成分(b)、特にアダホスチンは、好ましくは約1~6000mg/日、さらに好ましくは25~5000mg/日および最も好ましくは50~4000mg/日の範囲内の用量で温血動物、特にヒトに投与される。本明細書に別段の記載がない限り、本化合物は好ましくは毎日1回から5回、特に1回から4回投与される。

30

【0051】

単位用量剤型は所望の担体材料のほかに成分(a)または(b)または(固定組合せ剤の場合)(a)および(b)を前二節に示した用量に等しいか、半分、三分の一、または四分の一を含む。

【0052】

さらに、本発明は好ましくは前記のようにおよび進行の遅滞のための薬剤または疾患の処置のための「本発明の組合せ剤」によるbcr/abl関連疾患の進行遅滞または処置のための使用に関する。

【0053】

これに加えて、本発明は同時的、時間をずらして、または個別的(あまり好ましくはないが)、またはそのいずれかの組合せによる使用のために活性成分として前記(a)および(b)ならびに、所望により医薬的に許容される担体材料を含む製品(商業用)を提供する。

40

【0054】

「同時的」は成分(a)および(b)の双方を大体同時、好ましくは1分またはそれ以下の時間差内、特に直接的に同時に投与することを意味する。

【0055】

「時間をずらして」は好ましくは処置するヒトに未だ相互作用(好ましくは相乗的)すなわち共同して治療的に有効な作用を示せる時間間隔で両化合物を別々に与えられてもよい

50

ことを意味する。これに該当するかどうかは特に血中濃度に従って少なくとも一定時間は両化合物が処置するヒトの血中に存在することを示すことによって判定できる。

【0056】

「個別的」は好ましくは両化合物の測定可能な血中濃度の重複（同時的）が存在しないように成分（a）および（b）を投与することを意味する。

【0057】

「その組合せのいずれか」は好ましくは成分（a）および（b）を1時点で同時的に、続いて後の時点で1成分のみを投与すること、および後に別の成分または両成分の組合せ剤を、なお後の時点で、その他の時点に投与してもよいことなどを意味する。

【0058】

好適な態様では、製品（商業用）は同時的、時間をずらして、および／または個別的、またはそのいずれかの組合せによる使用に対する説明書とともに b c r / a b l 関連疾患の進行を遅滞させまたは処置するための活性成分として「本発明の組合せ剤」を含む商業用包装品である。

【0059】

本発明の方法は特に b c r / a b l - 関連疾患に罹患した温血動物、特にヒトを処置する方法、特に前記のように成分（a）特に N - (5 - [4 - (4 - メチル - ピペラジノ - メチル) - ベンゾイルアミド] - 2 - メチルフェニル) - 4 - (3 - ピリジル) - 2 - ピリミジン - アミン、および成分（b）特にアダホスチンを b c r / a b l 関連疾患に対して治療的に有効な量（特に共同して）で含み、および各成分は医薬的に許容される塩の形で存在してもよい組合せ剤を動物に投与する方法に関する。

【0060】

本明細書に参照する文献は、好ましくはその全体を、より好ましくは指摘した関連する文章に関して、参考のために引用するものである。

【実施例】

【0061】

以下の実施例は前記本発明を例示するがいかなる意味でも本発明の限定を意図するものではない。「本発明の組合せ剤」の有益な効果はまたそれ自体当業者に知られている別の試験法でも確認できる。

【0062】

実施例 1

S T I 5 7 1 とアダホスチンとの組合せ剤を用いる処理の K 5 6 2 細胞系統に対する効果

a) 材料 : アダホスチンは The Drug Synthesis and Chemistry Branch, Division of Cancer Treatment and Diagnosis, National Cancer Institute (Bethesda, MD) が合成した。S T I 5 7 1 は Novartis Pharma AG (Basel, Switzerland) (W O 99/03854 も参照) から入手した。両化合物をジメチルスルホキシドに溶解し、組織培養培地に 1 : 1 0 0 0 ま

【0063】

b) 細胞 : K 5 6 2 細胞 (ATCC, Manassas, VA) を 5 % 熱不活化ウシ胎仔血清、ペニシリン G 1 0 0 単位 / m L 、ストレプトマイシン 1 0 0 μ g / m L およびグルタチオン 2 ミリモル / L 添加 R P M I 1 6 4 0 (培地 A) で継代培養する。S T I 5 7 1 耐性 K 5 6 2 細胞 (Weisberg et al., Blood 95: 3498-3505 (2000) 参照) は 0 . 5 μ M - S T I 5 7 1 の存在または不存在下に培地 A に維持する。

【0064】

c) クロノゲニック検定 : 0.5×10^6 K 5 6 2 細胞を含む培地 A 1 m L 量を希釈剤、S T I 5 7 1 および／またはアダホスチン (下記参照) とともに指定時間インキュベーションし、1 0 0 × g で 5 分間沈殿させ、希釈し、および 0 . 3 % (w / v) Bacto agar 含有 Pike and Robinson 培地の 3 5 m m 格子付プレートに塗布する。3 7 ° C で 1 0 ~ 1 4 日間インキュベーションした後、> 5 0 細胞を有するコロニーを倒立位相差顕微鏡で計数する。

10

20

30

40

50

【 0 0 6 5 】

臨床サンプルはThe US Department of Health and Human Services の施策に従って the Institutional Review Board of the Mayo Clinicが認定したプロトコルの下に研究する。正常対 C M L C F U - G に及ぼすアダホスチンおよび S T I 5 7 1 の効果を評価するために、正常ボランティアおよび治療歴のない同意した慢性相 C M L 患者から、末梢血 1 0 m L を抗凝固剤に E D T A を用いて採取する。単核細胞 ($d = 1.077 \text{ g / cm}^3$) を ficoll-Hypaque から収集し、段階グラジエントを 2 0 % (v / v) F B S (培地 C) を加えたイスコーブ修正ダルベッコ培地中でアダホスチンまたは S T I 5 7 1 の増加する濃度を添加して $1 \times 10^6 / \text{mL}$ の密度で 2 4 時間培養する。インキュベーション完了後、サンプルを 2 0 0 × g で 1 0 分間沈降させ、 $1 \times 10^6 / \text{mL}$ の濃度で G - C S F 5 0 n g / m L 添加培地 C 中に再懸濁し、0.3 % 寒天に塗布し、7 ~ 8 日間インキュベーションする。細胞 ≥ 32 を有するコロニーを倒立位相差顕微鏡で計数する。

【 0 0 6 6 】

d) アポトーシスに関連する形態変化の判定：

形態学的分析には、細胞を 3 : 1 (v : v) メタノール：酢酸で固定し、5 0 % (v : v) グリセリン中 $1 \mu\text{g}$ Hoechst 33258 / m L で染色し、エピイルミネーションの下に Zeiss Axioplan 顕微鏡を用いて検査する。2 0 0 ~ 3 0 0 細胞 / サンプルを Svingen et al., Clin. Cancer Res. 6: 237-49 (2000) に記載のようにしてアポトーシス性変化 (末梢クロマチンの縮合または核断片化) について記録する。

【 0 0 6 7 】

e) 結果：

K 5 6 2 細胞を指定濃度のアダホスチンとともに希釈剤または $20 \mu\text{mol / L}$ の S T I 5 7 1 の存在下で 2 4 時間インキュベーションする。インキュベーション完了後、細胞を洗浄し、0.3 % 寒天に塗布し、1 0 ~ 1 4 日間インキュベーション後、コロニー形成を評価する。結果は表 (A) の (a) を参照。

【 0 0 6 8 】

別の実験では (表 (A) の (b) 参照) 細胞を指定濃度の S T I 5 7 1 とともにおよび $5 \mu\text{mol / L}$ のアダホスチンの不存在または存在下で 2 4 時間インキュベーションする。インキュベーション完了後、コロニー形成能を前節記載のようにして評価した。

【 0 0 6 9 】

表 (A) の (c) では K 5 6 2 細胞を下表に指定する濃度で希釈剤または $10 \mu\text{mol / L}$ の S T I 5 7 1 の存在下、インキュベーションし、固定し、およびアポトーシスによる形態学的変化を検査する。

【 0 0 7 0 】

表 (A) の (d) には C M L 患者から得た循環単核細胞を $20 \mu\text{mol / L}$ の S T I 5 7 1 の不存在または存在下で、指定濃度のアダホスチンで 2 4 時間処理し、洗浄し、G - C S F 5 0 n g / m L 添加 0.3 % 寒天に塗布する。8 日後、顆粒球コロニーを計数する。

【 0 0 7 1 】

表 (A) の (e) では (d) に記載の 6 個のサンプルについて実験を行った時に得られた要約を提供する。

【 0 0 7 2 】

【 表 1 】

10

20

30

40

表 (A) :

(a) STI 572 の不存在的下および存在下における K 5 6 2 細胞のコロニー形成に及ぼすアダホスチンの効果

| アダホスチン(濃度 μ モル/L) | STI571無(濃度 μ モル/L) | コロニー数 (対照の%) | STI571有(濃度 μ モル/L) | コロニー数 (対照の%) |
|-----------------------|------------------------|-----------------|------------------------|-----------------|
| 0 | 0 | 100 | 20 | 94 \pm 8 |
| 2.5 | 0 | 56 \pm 4 | 20 | 20 \pm 3 |
| 5.1 | 0 | 46 \pm 4 | 20 | 3.0 \pm 0.9 |
| 7.7 | 0 | 27 \pm 4 | 20 | 0.4 \pm 0.3 |
| 10.2 | 0 | 10 \pm 1 | 20 | 0.08 \pm 0.16 |

10

データは指定の薬剤で処理した後の 0.3 % 寒天に形成したコロニーの数と希釈剤で処理した後の 0.3 % 寒天に形成したコロニーの数の比率 $\times 100$ で示す。

【 0 0 7 3 】

【表 2】

20

(b) アダホスチンの不存在的下および存在下における K 5 6 2 細胞のコロニー形成に及ぼす STI 571 濃度の効果

| STI571(濃度 μ モル/L) | アダホスチン無(濃度 μ モル/L) | コロニー数 (対照の%) | アダホスチン有(濃度 μ モル/L) | コロニー数 (対照の%) |
|-----------------------|------------------------|-----------------|------------------------|-----------------|
| 0 | 0 | 100 | 5.2 | 35 \pm 3 |
| 1.2 | 0 | 83 \pm 1 | 5.2 | 30 \pm 7 |
| 2. | 0 | 98 \pm 8 | 5.2 | 22 \pm 2 |
| 5.0 | 0 | 85 \pm 8 | 5.2 | 16 \pm 2 |
| 10 | 0 | 72 \pm 5 | 5.2 | 9.7 \pm 1.7 |
| 20 | 0 | 76 \pm 4 | 5.2 | 4.5 \pm 1.7 |

30

データは指定の薬剤で処理した後の 0.3 % 寒天に形成したコロニーの数と希釈剤で処理した後の 0.3 % 寒天に形成したコロニーの数の比率 $\times 100$ で示す。

【 0 0 7 4 】

【表 3】

40

(c) K 5 6 2細胞のアダホスチン誘導アポトーシスに及ぼすS T I 5 7 1の効果

| アダホスチン濃度 (μ モル/L) | STI571 無(濃度 μ モル/L) | アポトーシス (全細胞の%) | STI571 有(濃度 μ モル/L) | アポトーシス (全細胞の%) |
|---------------------------|----------------------------|-------------------|----------------------------|-------------------|
| 0 | 0 | 1.2 | 10 | 12.9 |
| 0.62 | 0 | 2.1 | 10 | 24.3 |
| 1.25 | 0 | 10.9 | 10 | 52.2 |
| 2.50 | 0 | 41.8 | 10 | 85.2 |
| 3.75 | 0 | 62.8 | 10 | 96.6 |
| 5.00 | 0 | 84.1 | 10 | 97.8 |

10

データはS T I 5 7 1の不存在または存在下に指定濃度のアダホスチンで処置後24時間に観察した形態学的にアポトーシスを起したK 5 6 2細胞の百分率で示す。

【 0 0 7 5 】

【 表 4 】

(d) S T I 5 7 2の不存在下および存在下におけるP t . # 3 0 C F U - G Mのコロニー形成に及ぼすアダホスチンの効果

20

| アダホスチン濃度(μ モル/L) | STI571無(濃度 μ モル/L) | コロニー数(対照 の%) | STI571有(濃度 μ モル/L) | コロニー数(対照 の%) |
|--------------------------|---------------------------|-----------------|---------------------------|-----------------|
| 0 | 0 | 100 | 20 | 98 |
| 3.2 | 0 | 93 \pm 1.9 | 20 | 87 \pm 1.8 |
| 6.4 | 0 | 71 \pm 2.2 | 20 | 80 \pm 2.0 |
| 12.7 | 0 | 55 \pm 2.5 | 20 | 25 \pm 0.3 |
| 15.9 | 0 | 40 \pm 1.2 | 20 | 13 \pm 2.0 |
| 19.1 | 0 | 18 \pm 0.7 | 20 | 5 \pm 0.9 |

30

データは指定の薬剤で処理した後の0.3%寒天に形成する顆粒球コロニー数と希釈剤で処理した後の0.3%寒天に形成するコロニー数との比率 $\times 100$ で示す。

【 0 0 7 6 】

【 表 5 】

e) 様々な濃度のアダホスチンに接触させたCFU-GM細胞のIC₅₀に及ぼすSTI

571の効果

| STI571不存在下アダホスチンのIC ₅₀ (μ モル/L) | | 20 μ モルSTI571/L存在下アダホスチンのIC ₅₀ (μ モル/L) | |
|---|-------|---|-----|
| 患者番号 | モル/L) | | |
| 28 | 13 | | 5 |
| 29 | >20 | | 14 |
| 30 | 13.5 | | 8.5 |
| 31 | 8.5 | | 10 |
| 33 | 23 | | 16 |
| 34 | 11 | | 3.5 |

10

顆粒球形成を50%阻害するに必要なアダホスチン濃度(IC₅₀)は線形回帰を用いて表(A)(d)に類似のデータから判定する。

【0077】

STI571とアダホスチンとの間の相乗効果：元のK562細胞を様々なアダホスチン濃度で処理すると、分析した全てのアダホスチン濃度でSTI571の添加は抗増殖効果を強化する(表(A)、(a))。この強化はSTI571濃度2.5 μ モル/L(表(A)、(b))と低濃度でも明白である。さらに試験するとコロニー形成の強化された阻害は本組合せ剤による処理はいずれかの薬剤単独による処理と比べてさらに多い百分率の細胞にアポトーシスが誘導される(表(A)、(c))ことを反映することが判明する。

20

【0078】

追加実験はアダホスチンとSTI571との組合せ剤の効果はK562細胞に限定されないことを証明した。STI571を用いる処置は循環CML骨髓前駆体に対するアダホスチンの抗増殖効果も同様に強化した(表(A)、(d))。同様な効果は試験した患者6名中5名の骨髓前駆細胞でも得られる(表(A)、(e))。

30

【0079】

要約すると、この組合せ剤はどちらの薬剤単独(表(A)、(a)、(c))よりもずっと多くのK562細胞を殺菌する。これに加えてこの組合せ剤はCML-CFU-Gの増殖をどちらの薬剤単独よりも多く阻害する(表(A)、(e)、(f))。

【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
8 May 2003 (08.05.2003)

PCT

(10) International Publication Number
WO 03/037322 A1(51) International Patent Classification: A61K 31/245,
31/495, A61P 35/02(74) Agents: HOXIE, Thomas et al.; Novartis Pharmaceu-
ticals Corporation, Patent & Trademark Dept., 564 Morris
Avenue, Summit, NJ 07901-1027 (US).

(21) International Application Number: PCT/IB02/04430

(81) Designated States (national): All, AG, AL, AM, AT, AU,
AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU,
CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,
LT, LU, LV, MA, MD, ME, MN, MX, NO, NZ, OM, PI,
PL, PT, RO, RU, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TN, TR, TT, UA,
US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZW.

(22) International Filing Date: 25 October 2002 (25.10.2002)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data: 60/339,032 30 October 2001 (30.10.2001) US

(84) Designated States (regional): Eurasian patent (AM, AZ,
BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE,
BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IT,
LI, MC, NL, PT, SE, SK, TR).(71) Applicant (for all designated States except US): MAYO
FOUNDATION FOR MEDICAL EDUCATION AND
RESEARCH [US/US], 200 First Street SW, Rochester,
MN 55905 (US).Published:
— with international search report
before the expiration of the time limit for amending the
claims and to be republished in the event of receipt of
amendments

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): KAUFMANN,
Scott, H. [US/US]; 6962 Cottonwood Ct., N.W., Rochester,
MN 55901 (US), MOW, Benjamin [MY/SG]; Block 170,
Gangsa Road, Apartment, 14-40, Singapore 670170 (SG).For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 03/037322 A1

(54) Title: COMBINATION OF AN ATP-COMPETITIVE INHIBITOR OF BCR/ABL KINASE ACTIVITY AND A
TYRPHOSTIN ANALOG(57) Abstract: The present invention relates to a combination of (a) an ATP-competitive inhibitor of Bcr/abl kinase activity and (b)
a tyrophostin analog, and the use of said combination or product for the treatment of bcr/abl-related diseases.

Combination of an ATP-competitive inhibitor of Bcr/abl kinase activity and a tyrphostin analog

The invention relates to a combination of (a) an ATP-competitive inhibitor of Bcr/abl kinase activity and (b) a tyrphostin analog, a pharmaceutical preparation comprising (a) and (b) in combination together with a pharmaceutically acceptable carrier material; a product comprising (a) and (b) as defined above and optionally a pharmaceutically acceptable carrier material, for simultaneous, chronically staggered or separate use, or any combination thereof; a method of administering or the use of said combination or product for the treatment of bcr/abl-related diseases; and/or to the use of said combination or product for the manufacture of a medicament for the treatment of bcr/abl-related diseases.

Background of the invention

Around 4500 new cases of CML are reported in the United States each year. In the vast majority of these cases, a characteristic t(9;22) translocation juxtaposes the 5' end of the bcr gene with the 3' end of the abl gene, resulting in a unique 210 kDa fusion protein p210^{bcr/abl2-5}. This constitutively active cytoplasmic kinase is capable of not only transforming murine fibroblasts and hematopoietic cell lines, but also causing a chronic myeloproliferative disorder resembling CML upon transduction into mouse marrow. This p210^{bcr/abl}-induced transformation appears to involve activation of multiple signaling pathways, including the Ras-Raf pathway and the phosphatidylinositol-3 kinase/Akt pathway, as well as transcription mediated by signal transducer and activator of transcription 5 (Stat5) and nuclear factor κB. Collectively, these signal transduction events result in upregulation of antiapoptotic proteins, including Bcl-x_L, the X-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP) and survivin, contributing to the resistance of p210^{bcr/abl}-expressing cells to a variety of apoptotic stimuli.

Until recently, treatment options for CML, which included the use of hydroxyurea, α-interferon with or without cytarabine or stem cell transplantation, were less than satisfactory because of patient intolerance or lack of effect on the natural history of this disorder. The presence of the p210^{bcr/abl} kinase in the vast majority of CML cases, coupled with evidence implicating this kinase in the pathogenesis of CML, made this fusion protein an attractive target for CML-directed therapy. Previous efforts identified multiple p210^{bcr/abl} kinase inhibitors.

The most widely studied p210^{bcr/abl} inhibitor is STI571 (formerly known as CGP 57148). The ATP-binding site-directed agent STI571 is in the meantime already being marketed, e.g. in the USA under the tradename Gleevec®. This agent is a reversible inhibitor that occupies the ATP binding pocket of p210^{bcr/abl} and stabilizes the kinase in an inactive conformation. Preclinical studies demonstrated that STI571 also inhibits the kinase activities of c-abl, platelet-derived growth factor receptor and the c-kit receptor. Phase I studies showed that STI571 has impressive activity against chronic phase CML but more limited activity against p190^{bcr/abl}-expressing acute lymphocytic leukemia and the blast crisis phase of CML. Additional preclinical and clinical studies of STI571, alone and in combination with conventional cytotoxic agents, are currently ongoing.

An alternative approach to inhibiting protein kinases involves the use of small molecules that alter the binding of peptide substrates rather than ATP. A chemically diverse group of agents generically termed tyrphostins have been synthesized and evaluated as potential inhibitors of various tyrosine kinases (see Levitski, FASEB J. 6, 3275-3282 (1992)). The tyrphostin AG957 was previously found to inhibit p210^{bcr/abl} activity in immune complex kinase assays and to cause decreased p210^{bcr/abl} autophosphorylation followed by bcr/abl degradation in intact cells.

AG957 was found to also inhibit T cell receptor-mediated phosphorylation of the adaptor protein c-bbl, suggesting that kinases other than bcr/abl might also be affected. Despite the lack of absolute specificity for bcr/abl-transformed cell lines, AG957 was observed to selectively inhibit proliferation of CML progenitors as compared to normal myeloid progenitors (see Carlo-Stella et al., Blood 93, 3973-3982 (1999) and Svingen et al., Clin. Cancer Res. 6, 237-49 (2000)). Subsequent animal testing has revealed that AG957 has a very short serum half-life (S. Stinson, V.L. Narayanan and E. A. Sausville, unpublished observations). Examination of a series of AG957 analogues has identified the adamantyl ester adaphostin (NSC680410) as a derivative with higher potency *in vitro* (see Svingen et al., *loc. cit.*) and a longer serum half-life *in vivo* (S. Stinson, V.L. Narayanan and E. A. Sausville, unpublished observations). Adaphostin is among the tyrphostin derivatives that are currently undergoing evaluation as bcr/abl kinase inhibitor.

WO 03/037322

PCT/IB02/04430

- 3 -

In view of the possibility of resistance development against any of the active ingredients, it remains a major goal to identify new treatment regimens that allow for optimal patient treatment, as well as identifying new methods of treatment.

General Description of the invention

Surprisingly, it has been found that a combination of (a) an ATP-competitive inhibitor of Bcr/abl kinase activity and (b) a tyrphostin analog each administered in sufficiently short time intervals to allow for mutual influence on efficiency are capable of even synergistic and/or non-cross-resistant effects in the treatment of bcr/abl-related diseases.

The present invention shows, for the first time, the tying together of the two strategies of causing beneficial effects with regard to bcr/abl-related diseases. The effect of a combination as defined herein is especially greater than the effects that can be achieved with either type of combination partner alone, i.e. greater than the effects of a monotherapy using only one of the combination partners (components) (a) and (b) as defined herein.

Under certain circumstances, drugs with totally different mechanisms of action may be combined. However, just considering any combination of drugs having different mode of action does not necessarily lead to combinations with advantageous effects.

All the more surprising is the effect of the combination of components (a) and (b) in the treatment of bcr/abl-related diseases. Both component (a) and (b) are inhibitors of Bcr/abl kinase activity; however, the results of the present invention suggest that they triggering different downstream events and that, in combination, they are capable of acting in a mutually enhancing way.

A further benefit is that lower doses of the active ingredients of the COMBINATION OF THE INVENTION as defined below can be used, for example, that the dosages need not only often be smaller but are also applied less frequently, or can be used in order to diminish the incidence of side-effects. This is in accordance with the desires and requirements of the patients to be treated.

The COMBINATION OF THE INVENTION especially shows a synergistic therapeutic effect, e.g. with regard to slowing down, arresting or reversing formation or a longer duration of

WO 03/037322

PCT/IB02/04430

- 4 -

bcr/abl-related diseases, but also in further surprising beneficial effects, e.g. allowing for less side-effects, an improved quality of life and a decreased mortality and morbidity, compared to a monotherapy applying only one of the pharmaceutically active ingredients used in the COMBINATION OF THE INVENTION.

Detailed description of the invention

The invention relates to a combination of (a) an ATP-competitive inhibitor of Bcr/abl kinase activity and (b) a tyrophostin analog.

In a further aspect, the invention relates to a pharmaceutical preparation comprising (a) and (b) as mentioned in the last paragraph in combination together with a pharmaceutically acceptable carrier material.

The invention also relates to a (commercial) product comprising (a) and (b) as defined above and optionally a pharmaceutically acceptable carrier material, for simultaneous, chronically staggered and/or separate use, or any combination thereof.

The invention also relates to a method of administering, or the use of, said combination of (a) and (b) or said product comprising (a) and (b) for the treatment of a bcr/abl-related disease; and/or to the use of said combination or product for the manufacture of a medicament for the treatment of a bcr/abl-related disease.

In addition, the invention relates to component (a), as defined hereinabove or hereinbelow, for use in combination, that is at the same time point or in a chronologically staggered way, with a component (b) as defined hereinabove or hereinbelow, or vice versa a component (b) for use in combination with a component (a) as defined hereinabove or hereinbelow, especially in the treatment of a bcr/abl-related disease; especially said components in a packaging and with a description (e.g. package leaflet) suggesting such combination.

The general terms used hereinbefore and hereinafter preferably have within the context of this disclosure the following meanings, unless otherwise indicated:

As components (a) and (b), the following are very preferred:

WO 03/037322

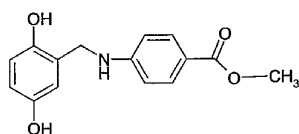
PCT/IB02/04430

- 5 -

Component (a): An ATP-competitive inhibitor of bcr/abl kinase activity is preferably a low molecular weight ($M_r < 1500$) inhibitor bcr/abl kinase, especially of the p210^{bcr/abl} 210 kDa fusion protein, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, especially of the 2-phenylaminopyrimidine class, preferably a compound as described in EP 0 564 409, preferably (N-{5-[4-(4-methyl-piperazino-methyl)-benzoylamido]-2-methylphenyl}-4-(3-pyridyl)-2-pyrimidine-amine, especially in the form of the methane sulfonate (monomesylate) salt (STI571), or the 2-thiophen-quinoxaline class, preferably 6,7-dimethoxy-2-thiophen-3-yl-quinoxaline, especially in the form of the hydrochloride salt (RPR101511A).

The inhibition of bcr/abl kinase can be determined according to methods known in the art (see, e.g., Nature Medicine **2**, 561-566 (1996), or Gombacorti et al., Blood Cells, Molecules and Diseases **23**, 380-394 (1997)).

Component (b): A tyrphostin is preferably a low molecular weight ($M_r < 1500$) compound, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, especially a compound selected from the benzylidenemalonitrile class or the S-arylbenzenemalonitrile or bisubstrate quinoline class of compounds (see Levitzki, FASEB J. **6**, 3275-82 (1992)), more especially any compound selected from the group consisting of Tyrphostin A23/RG-50810; AG 99; Tyrphostin AG 213; Tyrphostin AG 1748; Tyrphostin AG 490; Tyrphostin B44; Tyrphostin B44 (+) enantiomer; Tyrphostin AG 555; AG 494; Tyrphostin AG 556 (see Levitsky et al., TIPS **12**, 171 (1991); Ohmichi, Biochem. **32**, 4650 (1993); Gazit et al., J. Med. Chem. **32**, 2344; Levitski et al., Science **267**, 1782 (1995); Gazit et al., J. Med. Chem. **39**, 4905 (1996); Gazit et al., J. Med. Chem. **34**, 189 (1991); Wang et al., J. Immunol. **162**, 3897 (1999)), and especially AG957 of the formula

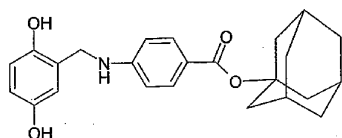


and most especially adaphostin (4-[[[(2,5-dihydroxyphenyl)methyl]amino]-benzoic acid adamantyl ester; NSC 680410) of the formula

WO 03/037322

PCT/IB02/04430

- 6 -



or (in case of each of the mentioned compounds) a salt thereof.

The components each may be present in free form or in the form of (preferably pharmaceutically acceptable) salts, e.g. in the case of basic salt-forming groups, such as amino or imino or the hydroxy of a phenol, as acid addition salts, e.g. with organic or inorganic acids, for example chloride or mesylate salts, in case of presence of acidic groups (e.g. carboxy or sulfo) in the form of metal, e.g. alkaline metal, or quaternary ammonium salts, e.g. tert-butylammonium salts, or in case that basic and acidic groups are present in the form of inner or mixed salts, and reference to the components is always intended to mean the components in free and/or in salt form. The combination partner (a) or (b) or a pharmaceutically acceptable salt thereof may also be used in form of a hydrate or include other solvents used for crystallization. N-{5-[4-(4-methyl-piperazino-methyl)-benzoylamido]-2-methylphenyl}-4-(3-pyridyl)-2-pyrimidine-amine, as combination partner (a), is preferably used in the present invention in the form of its monomesylate salt (STI571).

A combination which comprises component (a), especially N-{5-[4-(4-methyl-piperazino-methyl)-benzoylamido]-2-methylphenyl}-4-(3-pyridyl)-2-pyrimidine-amine, and a component (b), especially adaphostin, in which the active ingredients are present independently of each other in free form or in the form of a (preferably pharmaceutically acceptable) salt and optionally at least one pharmaceutically acceptable carrier, and are together part of a combination preparation or part of a product with separate preparations (e.g. in the sense of a kit of parts) will be referred to herein as a COMBINATION OF THE INVENTION.

The combination partner (a) can be prepared and administered as described in EP 0 564 409, preferably as described in WO 99/03854, especially the monomesylate salt of N-{5-[4-(4-methyl-piperazino-methyl)-benzoylamido]-2-methylphenyl}-4-(3-pyridyl)-2-pyrimidine-amine can be formulated as described in Examples 4 and 6 of WO 99/03854.

WO 03/037322

PCT/IB02/04430

- 7 -

In addition to components (a) and (b), combination with further antineoplastic agents is possible. The term "antineoplastic agents" as used herein includes, but is not limited to aromatase inhibitors, e.g. letrozole, antiestrogens, topoisomerase I inhibitors, topoisomerase II inhibitors, microtubule active agents, e.g. paclitaxel, taxotere or epothilone A or B, alkylating agents, e.g. cyclophosphamide, antineoplastic antimetabolites, platinum compounds, compounds decreasing the protein kinase activity and further anti-angiogenic compounds, gonadorelin agonists, anti-androgens, bisphosphonates and trastuzumab.

Comprised are likewise the corresponding stereoisomers as well as the corresponding crystal modifications, e.g. solvates and polymorphs, of components (a) and (b), as well as further antineoplastic agents if present.

Bcr/abl-related diseases are especially bcr/abl-positive proliferative, especially cancer and tumor, diseases, especially leukemias, such as chronic-myelogenous leukemia (CML) and acute lymphoblastic leukemia (ALL), where especially an effect due to apoptosis is found, but also further gliomas, sarcomas, ovarian tumors, and the like, also showing effects on the subgroup of leukemic stem cells and potential for the purification of such cells *in vitro* after removal from the body (for example, removal of bone marrow) and subsequent re-implantation of cells purified from cancer cell (e.g. re-implantation of purified bone marrow cells).

The increase in efficiency of a combination of components (a) and (b) over the single components can be observed using standard procedures.

Especially in Example 1, methods are shown that allow the determination of the increase in apoptosis induction showing the increase in efficiency of the combination when compared with the single components – these methods can also be used for different components (a) and (b) than those given in the Examples.

Furthermore, animals can be used (e.g. pigs, minipigs, baboons, rats, rabbits and especially mice) to show the efficiency of the combination according to the invention in the treatment of bcr/abl-related diseases, especially corresponding proliferative diseases. For example, the antiproliferative, especially antitumor and anti-leukemia, activity of the combinations can be demonstrated using the following experiments:

The *in-vivo* antitumor activity is tested using the Balb/c AmuLV A6R1 (ATCC: TIB90), c-sis and v-sis transformed BALB/c 3T3 cell lines or the human estrogen dependent breast carcinoma MCF-7 (ATCC: HTB22) or ZR-75-1 (ATCC: CRL1500); the estrogen-independent breast carcinomas MDA-MB468 (ATCC: HTB132) or MDA-MB231 (ATCC: HTB26); the colon-carcinoma Colo 205 (ATCC: CCL222); the glioblastomas U-87MG (ATCC: HTB14) or U-373MG (ATCC: HTB17); the "small cell lung carcinomas" NCI-H69 (ATCC: HTB119) and NCI-H209 (ATCC: HTB172); the lung carcinoma NCI-H596 (ATCC: HTB178); the melanomas Hs294T (ATCC: HTB140) or A375 (ATCC: CRL1619); the ovarian carcinoma NIH-Ovcar3 (ATCC: HTB161); as well as the prostate carcinomas DU145 (ATCC: HTB81) or PC-3 (ATCC: CRL1435); the bladder carcinoma T24 (ATCC: HTB4); the epithelial carcinoma KB31; or (especially with regard to leukemias) K562 cells (American Type Culture Collection, Manassas, VA) or human CFU-G cells (CFU-G stands for granulocyte colony forming unit, and it represents an early but committed granulocyte forming precursor cell that circulates in the blood stream or bone marrow) each of which is transplanted into female or male Balb/c nude mice.

Tumors or leukemias are obtained after subcutaneous injection of cells (minimum 2×10^6 cells in 100 ml phosphate buffered physiological saline) into the carrier mice (e.g. 4-8 mice per cell line). The resulting tumors are passed serially through at least three subsequent transplantations before treatment is started. Tumor fragments (about 25 mg each) are injected s.c. into the left flank of the animals using a 13-gauge Trocar needle under Forene narcosis (Abbott, Switzerland) for implantation. All mice transplanted with estrogen-dependent tumor are, in addition, supplied with an estrogen pellet (1.0 cm of a tube with a quality appropriate for medical purposes, Dow Chemicals, with 5 mg estradiol, Sigma). The treatment is started routinely (that is at low or intermediate tumor burden), as soon as the tumor has reached an average diameter of 100 mm³. Tumor growth is determined once, twice or thrice weekly (depending on tumor growth of the cell line) and 24 h after the last treatment by measurement of the perpendicular diameter. The tumor volumes are determined according to the formula $L \times D \times p/6$ (see Evans, B.D., Smith, I.E., Shorthouse, A.J. and Millar, J.J., Brit. J. Cancer, 45: 466-468, 1982). The antitumor activity is expressed as T/C% (average increase of the tumor volume of treated animals divided by the average increase of tumor volume in control animals multiplied by 100). Tumor regression (%) represents the smallest mean tumor volume compared to the mean tumor volume at the beginning of the

WO 03/037322

PCT/IB02/04430

- 9 -

treatment. Each animal in which the tumor reaches a diameter of more than 1,5 to 2 cm³ is sacrificed.

The components are administered according to known schedules. For example, component (a) is administered daily during 2 to 7 subsequent weeks either orally (p.o.) or intravenously (i.v.).

An exemplary (though not limiting) schedule for administration of component (b) is daily administration, e.g. for 5 days, and/or administration at days 1, 4 and 9, with eventual repetition after a certain time without treatment. Alternatively, treatment several times a day (e.g. 2 to 5 times) or treatment by continuous administration (e.g. infusion), e.g. at the time points indicated in the last sentence, are possible. Generally, administration is orally or parenterally.

The test compounds are preferably diluted in water or in sterile 0.9% saline.

All human tumor cell lines are obtained from the American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD., USA) if not indicated otherwise and are cultivated in the suggested media with the corresponding additives (ATCC culture conditions), if not mentioned otherwise. The c-sis- and v-sis- transformed BALB/c 3T3 cells are obtained from Dr. C. Stiles (Dana Farber Cancer Institute, Boston, MA, USA). They are cultured in "Dulbecco's modified Eagle's medium" (DMEM), that is supplemented with 10 % calf serum and Hygromycin B in a concentration of 0.2 mg/ml or G418 in a concentration of 0.5mg/ml. BALB/c AMuLV A.6R.1 cells (ATCC) are kept in DMEM, supplemented with 10% fetal calf serum.

Leukemia burden is assessed by examining both peripheral white blood count and weight of spleen and thymus in tumored animals.

It can be shown by established test models and in particular those test models described herein that a COMBINATION OF THE INVENTION results in a more effective delay of progression or treatment of a bcr/abl-related disease compared to the effects observed with the single combination partners. The person skilled in the pertinent art is fully enabled to select a relevant test model to prove the hereinbefore and hereinafter mentioned therapeutic indications and beneficial effects. The pharmacological activity of a COMBINATION OF THE IN-

WO 03/037322

PCT/IB02/04430

- 10 -

VENTION may, for example, be demonstrated in a clinical study or in a test procedure as essentially described hereinafter.

Suitable clinical studies are, for example, open label non-randomized, dose escalation studies in patients with chronic myelogenous leukemia (CML). Such studies particularly are capable of demonstrating the synergism of the active ingredients of the COMBINATIONS OF THE INVENTION. The beneficial effects on proliferative diseases can be determined directly through the results of these studies or by changes in the study design which are known as such to a person skilled in the art. Such studies are, in particular, suitable to compare the effects of a monotherapy using the active ingredients and a COMBINATION OF THE INVENTION. Preferably, the combination partner (a) is administered with a fixed dose and the dose of the combination partner (b) is escalated until the Maximum Tolerated Dosage is reached. In a preferred embodiment of the study, each patient receives daily doses of the combination partner (a). The efficacy of the treatment for tumors can be determined in such studies, e.g., after 18 or 24 weeks by regular radiologic evaluation of the tumors every 6-16 weeks. For CML efficacy of the treatment can be determined in such studies, e.g. by testing blood and bone marrow for hematologic response, cytogenetic, and molecular response.

Alternatively, a placebo-controlled, double blind study can be used in order to prove the benefits of the COMBINATION OF THE INVENTION mentioned herein.

The term "delay of progression" as used herein means administration of the combination to patients being in a pre-stage or in an early phase of the disease to be treated, in which patients for example a pre-form of the corresponding disease is diagnosed or which patients are in a condition, e.g. during a medical treatment or a condition resulting from an accident, under which it is likely that a corresponding disease will develop.

The COMBINATION OF THE INVENTION can be a combined pharmaceutical preparation or a pharmaceutical composition.

An especial embodiment of this invention is represented by a pharmaceutical composition comprising a quantity, which is jointly therapeutically effective against a proliferative disease or acute or chronic transplant rejection comprising the COMBINATION OF THE INVENTION. In this composition, the combination partners (a) and (b) can be administered to-

WO 03/037322

PCT/IB02/04430

- 11 -

gether, one after the other or separately in one combined unit dosage form or in two separate unit dosage forms. The unit dosage form may also be a fixed combination.

The pharmaceutical compositions for separate administration of the combination partners (a) and (b) and for the administration in a fixed combination, i.e. a single galenical compositions comprising at least two combination partners (a) and (b) (active ingredients), according to the invention can be prepared in a manner known per se and are those suitable for enteral, such as oral or rectal, and parenteral administration to mammals (warm-blooded animals), including man, comprising a therapeutically effective amount of at least one pharmacologically active combination partner alone or in combination with one or more pharmaceutically acceptable carries, especially suitable for enteral or parenteral application.

Novel pharmaceutical composition contain, for example, from about 10 % to about 100 %, preferably from about 20 % to about 60 %, of the active ingredients (about, wherever used in the present disclosure, preferably meaning ± 5 %, especially ± 0 %). Pharmaceutical preparations for the combination therapy for enteral or parenteral administration are, for example, those in unit dosage forms, such as sugar-coated tablets, tablets, capsules or suppositories, and furthermore ampoules. If not indicated otherwise, these are prepared in a manner known per se, for example by means of conventional mixing, granulating, sugar-coating, dissolving or lyophilizing processes. It will be appreciated that the unit content of a combination partner contained in an individual dose of each dosage form need not in itself constitute an effective amount since the necessary effective amount can be reached by administration of a plurality of dosage units.

In particular, a therapeutically effective amount of each of the combination partners of the COMBINATION OF THE INVENTION may be administered simultaneously or sequentially and in any order, and the components may be administered separately or as a fixed combination. For example, the method of delay of progression or treatment of a proliferative disease and/or acute or chronic transplant rejection according to the invention may comprise (i) administration of the combination partner (a) in free or pharmaceutically acceptable salt form and (ii) administration of a combination partner (b) in free or pharmaceutically acceptable salt form, simultaneously or sequentially in any order, in jointly therapeutically effective amounts, preferably in synergistically effective amounts, e.g. in daily dosages corresponding to the amounts described herein. The individual combination partners of the COMBINATION OF

WO 03/037322

PCT/IB02/04430

- 12 -

THE INVENTION can be administered separately at different times during the course of therapy or concurrently in divided or single combination forms. Furthermore, the term administering also encompasses the use of a pro-drug of a combination partner that convert *in vivo* to the combination partner as such. The instant invention is therefore to be understood as embracing all such regimes of simultaneous or alternating treatment and the term administering is to be interpreted accordingly.

The effective dosage of each of the combination partners employed in the COMBINATION OF THE INVENTION may vary depending on the particular compound or pharmaceutical composition employed, the mode of administration, the condition being treated, the severity of the condition being treated. Thus, the dosage regimen the COMBINATION OF THE INVENTION is selected in accordance with a variety of factors including the route of administration and the renal and hepatic function of the patient. A physician, clinician or veterinarian of ordinary skill can readily determine and prescribe the effective amount of the single active ingredients required to prevent, counter or arrest the progress of the condition. Optimal precision in achieving concentration of the active ingredients within the range that yields efficacy without toxicity requires a regimen based on the kinetics of the active ingredients' availability to target sites.

Component (a), especially N-{5-[4-(4-methyl-piperazino-methyl)-benzoylamido]-2-methyl-phenyl}-4-(3-pyridyl)-2-pyrimidine-amine monomesylate, is preferably administered to a warm-blooded animal, especially a human, in a dosage in the range of about 2.5 to 850 mg/day, more preferably 5 to 600 mg/day and most preferably 20 to 300 mg/day. Unless stated otherwise herein, the compound is preferably administered from one to four times per day.

Component (b), especially Adaphostin, is preferably administered to a warm-blooded animal, especially a human in a dosage in the range of about 1 to 6000 mg/day, more preferably 25 to 5000 mg/day, most preferably 50 to 4000 mg/day. Unless stated otherwise herein, the compound is preferably administered from one to 5, especially from 1 to 4 times per day.

Unit dosage forms contain, in addition to possible carrier materials, components (a) or (b) or (in the case of fixed combinations) (a) and (b) in amounts equal to, half, a third or a quarter of the amounts given in the last two paragraphs.

WO 03/037322

PCT/IB02/04430

- 13 -

Furthermore, the present invention pertains to the use of a COMBINATION OF THE INVENTION for the delay of progression or treatment of a bcr/abl-related disease, preferably as defined above, and for the preparation of a medicament for the delay of progression or treatment of said disease.

In addition, the present invention provides a (commercial) product comprising (a) and (b) as defined above as active ingredients and optionally a pharmaceutically acceptable carrier material for simultaneous, chronically staggered or (less preferably) separate use, or any combination thereof.

Simultaneous means that both component (a) and (b) are administered at approximately the same time, preferably within less than a minute of time difference, especially directly at the same time.

Chronically staggered means that the compounds may be given separately in such time intervals that they preferably, in the human to be treated, still show a (preferably synergistic) interaction, that is, are jointly therapeutically effective. Whether this is the case, can inter alia be determined by following the blood levels, showing that both compounds are present in the blood of the human to be treated at least during certain time intervals.

Separate preferably means that the components (a) and (b) are administered such that no overlap of measurable blood levels of both compounds are present in an overlapping manner (at the same time).

Any combination thereof preferably means that the components (a) and (b) may be administered at one time point simultaneously, followed by administration of only one component at a later time point and subsequently the other component or the combination of both components at a still later time point, and the like.

In a preferred embodiment, the (commercial) product is a commercial package comprising as active ingredients COMBINATION OF THE INVENTION, together with instructions for its simultaneous, separate or sequential use, or any combination thereof, in the delay of progression or treatment of a bcr/abl-related disease.

WO 03/037322

PCT/IB02/04430

- 14 -

The method according to the invention specifically relates to a method of treating a warm-blooded animal, especially a human, having a bcr/abl-related disease, especially as defined above, comprising administering to the animal a combination which comprises component (a), especially N-[5-[4-(4-methyl-piperazino-methyl)-benzoylamido]-2-methylphenyl]-4-(3-pyridyl)-2-pyrimidine-amine, and component (b), especially Adaphostin, in a quantity which is (especially jointly) therapeutically effective against said bcr/abl-related disease and in which the components can also be present in the form of their pharmaceutically acceptable salts.

Where references are mentioned herein, these are preferably incorporated by reference herein in their entirety, more preferably with regard to those passages that are relevant where the references are mentioned.

Examples:

The following Example illustrates the invention described above, but is not intended to limit the scope of the invention in any way. The beneficial effects of the COMBINATION OF THE INVENTION can also be determined by other test models known as such to the person skilled in the pertinent art.

Example 1: Effect of combination treatment with adaphostin and STI571 on K562 cell line

a) Material: Adaphostin is obtained as synthesized by the Drug Synthesis and Chemistry Branch, Division of Cancer Treatment and Diagnosis, National Cancer Institute (Bethesda, MD). STI571 is from Novartis Pharma AG (Basel, Switzerland) (see also WO 99/03854). The compounds are dissolved in dimethylsulfoxide and diluted 1:1000 into tissue culture medium.

b) Cells: K562 cells (American Type Culture Collection, Manassas, VA) are passaged in RPMI 1640 containing 5% heat-inactivated fetal bovine serum, 100 units/mL penicillin G, 100 µg/mL streptomycin and 2 mmol/L glutamine (medium A). STI571-resistant K562 cells (see Weisberg et al., Blood 95, 3498-3505 (2000)) are maintained in medium A containing or lacking 0.5 µM STI571.

c) Clonogenic Assays: Aliquots containing 0.5×10^6 K562 cells in 1 mL medium A are incubated with diluent, STI571 and/or adaphostin (see below) for the indicated lengths of time, sedimented at 100 x g for 5 min, diluted and plated in gridded 35-mm plates in the medium

WO 03/037322

PCT/IB02/04430

- 15 -

of Pike and Robinson containing 0.3% (w/v) Bacto agar. After incubation for 10-14 days at 37°C, colonies containing ≥ 50 cells are counted on an inverted phase contrast microscope.

Clinical samples are studied under the aegis of a protocol approved by the Institutional Review Board of the Mayo Clinic in accordance with the policies of the US Department of Health and Human Services. To evaluate the effects of adaphostin and STI571 on normal vs. CML CFU-G, 10 mL of peripheral blood is drawn from normal volunteers and consenting patients with previously untreated chronic phase CML using EDTA as an anticoagulant. Mononuclear cells ($d = 1.077 \text{ gm/cm}^3$) harvested from ficoll-Hypaque step gradients are cultured for 24 h at a density of $1 \times 10^5/\text{mL}$ in Iscove's modified Dulbecco's medium containing 20% (v/v) FBS (medium C) supplemented with increasing concentrations of adaphostin or STI571. At the completion of the incubation, samples are sedimented at $200 \times g$ for 10 min, resuspended at a concentration of $1 \times 10^5/\text{mL}$ in medium C containing 50 ng/mL G-CSF, plated in 0.3% agar, and incubated for 7-8 d. Colonies containing ≥ 82 cells are counted on an inverted phase contrast microscope.

d) Determination of Morphologic Changes Associated with Apoptosis:

For morphological analysis, cells are fixed in 3:1 (v:v) methanol:acetic acid, stained with 1 $\mu\text{g/mL}$ Hoechst 33258 in 50 % (v:v) glycerol and examined under epi-illumination using a Zeiss Axioplan microscope. Two hundred to 300 cells/sample are scored for apoptotic changes (peripheral chromatin condensed or nuclear fragmentation) as described in Svingen et al., Clin. Cancer Res. 6, 237-49 (2000).

e) Results:

K562 cells are incubated for 24 h with the indicated concentration of adaphostin in the presence of a diluent or 20 $\mu\text{mol/l}$ STI571. At the completion of the incubation, cells are washed, plated in 0.3 % agar and incubated for 10-14 days before colony formation is assessed. For results see under (a) in Table (A).

In an alternative experiment (see under (b) in Table (A)), cells are incubated 24 h with the indicated concentration of STI571 in the absence or presence of 5 $\mu\text{mol/l}$ adaphostin. At the completion of the incubation, colony formation ability is assessed as described in the last paragraph.

WO 03/037322

PCT/IB02/04430

- 16 -

Under (c) in Table (A), K562 cells are incubated with the concentration indicated in the subsequent table in the presence of diluent or 10 $\mu\text{mol/l}$ STI 571, fixed, and examined for apoptotic morphological changes.

Under (d) in Table (A), circulating mononuclear cells from a CML patient are treated for 24 h with the indicated concentrations of adaphostin in the absence or presence of 20 $\mu\text{mol/l}$ STI571, washed and plated in 0.3 % agar containing 50 ng/ml G-CSF. After 8 days, granulocyte colonies are counted.

Under (e) in Table (A), a summary of the results obtained when the experiment depicted under (d) is performed on six samples is presented.

Table (A):

(a) Effect of Adaphostin on Colony Formation of K562 Cells in the Absence and Presence of STI 572

| Adaphostin concentration ($\mu\text{mol/l}$) | without STI571 (concentration in $\mu\text{mol/l}$) | Number of colonies (% of control) | plus STI 571 (concentration in $\mu\text{mol/l}$) | Number of colonies (% of control) |
|--|--|-----------------------------------|--|-----------------------------------|
| 0 | 0 | 100 | 20 | 94 \pm 8 |
| 2.5 | 0 | 56 \pm 4 | 20 | 20 \pm 3 |
| 5.1 | 0 | 46 \pm 4 | 20 | 3.0 \pm 0.9 |
| 7.7 | 0 | 27 \pm 4 | 20 | 0.4 \pm 0.3 |
| 10.2 | 0 | 10 \pm 1 | 20 | 0.08 \pm 0.16 |

Data are expressed as 100 x the ratio of the number of colonies that form in 0.3 % agar after treatment with the indicated drugs to the number of colonies that form in 0.3 % agar after treatment with the diluent.

(b) Effect of Various STI571 Concentrations on Colony Formation of K562 Cells in the Absence and Presence of Adaphostin

| STI571 | without | Number of | plus | Number of |
|--------|---------|-----------|------|-----------|
|--------|---------|-----------|------|-----------|

WO 03/037322

PCT/IB02/04430

- 17 -

| concentration ($\mu\text{mol/l}$) | Adaphostin (concentration in $\mu\text{mol/l}$) | colonies (% of control) | Adaphostin (concentration in $\mu\text{mol/l}$) | colonies (% of control) |
|--|--|----------------------------|--|----------------------------|
| 0 | 0 | 100 | 5.2 | 35 \pm 3 |
| 1.2 | 0 | 83 \pm 1 | 5.2 | 30 \pm 7 |
| 2. | 0 | 98 \pm 8 | 5.2 | 22 \pm 2 |
| 5.0 | 0 | 85 \pm 8 | 5.2 | 16 \pm 2 |
| 10 | 0 | 72 \pm 5 | 5.2 | 9.7 \pm 1.7 |
| 20 | 0 | 76 \pm 4 | 5.2 | 4.5 \pm 1.7 |

Data are expressed as 100 x the ratio of the number of colonies that form in 0.3 % agar after treatment with the indicated drugs to the number of colonies that form in 0.3 % agar after treatment with the diluent.

(c) Effect of STI571 on Adaphostin-induced Apoptosis in K562 Cells

| Adaphostin concentration ($\mu\text{mol/l}$) | without STI571 (concentration in $\mu\text{mol/l}$) | Apoptosis (% of total cells) | plus STI 571 (concentration in $\mu\text{mol/l}$) | Apoptosis (% of total cells) |
|--|--|------------------------------------|--|---------------------------------|
| 0 | 0 | 1.2 | 10 | 12.9 |
| 0.62 | 0 | 2.1 | 10 | 24.3 |
| 1.25 | 0 | 10.9 | 10 | 52.2 |
| 2.50 | 0 | 41.8 | 10 | 85.2 |
| 3.75 | 0 | 62.8 | 10 | 96.6 |
| 5.00 | 0 | 84.1 | 10 | 97.8 |

Data are expressed as percentage of morphologically apoptotic K562 cells observed after a 24 h treatment with the indicated concentration of adaphostin in the absence or presence of STI571.

(d) Effect of Adaphostin on Colony Formation of Pt. # 30 CFU-GM in the Absence and Presence of STI571

WO 03/037322

PCT/IB02/04430

- 18 -

| Adaphostin concentration ($\mu\text{mol/l}$) | without STI571 (concentration in $\mu\text{mol/l}$) | Number of colonies (% of control) | plus STI 571 (concentration in $\mu\text{mol/l}$) | Number of colonies (% of control) |
|--|--|-----------------------------------|--|-----------------------------------|
| 0 | 0 | 100 | 20 | 98 |
| 3.2 | 0 | 93 \pm 1.9 | 20 | 87 \pm 1.8 |
| 6.4 | 0 | 71 \pm 2.2 | 20 | 80 \pm 2.0 |
| 12.7 | 0 | 55 \pm 2.5 | 20 | 25 \pm 0.3 |
| 15.9 | 0 | 40 \pm 1.2 | 20 | 13 \pm 2.0 |
| 19.1 | 0 | 18 \pm 0.7 | 20 | 5 \pm 0.9 |

Data are expressed as 100 x the ratio of the number of granulocyte colonies that form in 0.3 % agar after treatment with the indicated drugs to the number of colonies that form in 0.3 % agar after treatment with the diluent.

e) Effect of STI 71 on IC_{50} of CFU-GM Exposed to Various Adaphostin Concentrations

| Patient number | IC_{50} for Adaphostin without STI571 ($\mu\text{mol/l}$) | IC_{50} for Adaphostin in presence of 20 $\mu\text{mol/l}$ STI571 ($\mu\text{mol/l}$) |
|----------------|--|--|
| 28 | 13 | 5 |
| 29 | >20 | 14 |
| 30 | 13.5 | 8.5 |
| 31 | 8.5 | 10 |
| 33 | 23 | 16 |
| 34 | 11 | 3.5 |

The adaphostin concentration required to inhibit granulocyte formation by 50 % (IC_{50}) is determined from data similar to that in Table (A), (d) using linear regression.

Synergy between adaphostin and STI571: When parental K562 cells are treated with increasing concentrations of adaphostin, the addition of STI571 enhances the antiproliferative effects at all adaphostin concentrations analyzed (Table (A), (a)). This enhancement is evi-

WO 03/037322

PCT/IB02/04430

- 19 -

dent at STI571 concentrations as low as 2.5 $\mu\text{mol/l}$ (Table (A), (b)). Further examination reveals that the enhanced inhibition of colony formation reflects induction of apoptosis in greater percentage of cells treated with combination as compared to cells treated with either drug alone (Table (A), (c)).

Additional experiments reveal that the effects of combining adaphostin and STI571 are not limited to K562 cells. Treatment with STI571 enhanced the antiproliferative effects of adaphostin on circulating CML myeloid precursors as well (Table (A), (d)). Similar effects are obtained in myeloid progenitors of 5 of 6 patients examined (Table (A), (e)).

In summary, the combination kills many more K562 cells than either agent alone (Table (A), (a), (c)). In addition, the combination inhibits outgrowth of CML CFU-G more than either agent alone (Table (A), (e), (f)).

WO 03/037322

PCT/IB02/04430

- 20 -

Patent Claims:

1. A combination of (a) an ATP-competitive inhibitor of Bcr/abl kinase activity and (b) a tyrphostin analog.
2. A combination according to claim 1 wherein the ATP-competitive inhibitor of bcr/abl kinase activity (a) is a low molecular weight ($M_r < 1500$) inhibitor of bcr/abl kinase, especially of the p210^{bcr/abl} 210 kDa fusion protein, especially of the 2-phenylamino-pyrimidine class, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.
3. A combination according to claim 1 wherein the ATP-competitive inhibitor of bcr/abl kinase activity (a) is selected from compounds of the 2-phenylaminopyrimidine class or of the 2-thiophen-quinoxaline class, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.
4. A combination according to claim 1 wherein the ATP-competitive inhibitor of bcr/abl kinase activity (a) is selected from (N-{5-[4-(4-methyl-piperazino-methyl)-benzoylamido]-2-methylphenyl}-4-(3-pyridyl)-2-pyrimidine-amine, especially in the form of the methane sulfonate salt, or 6,7-dimethoxy-2-thiophen-3-yl-quinoxaline, especially in the form of the hydrochloride salt, or any other pharmaceutically acceptable salt thereof.
5. A combination according to claim 1 wherein the tyrphostin analog is preferably a low molecular weight ($M_r < 1500$) compound, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, selected from the benzylidenemalonitrile class or the S-arylbenzenemalonitrile or bisubstrate quinoline class of compounds.
6. A combination according to claim 1 wherein the tyrphostin analog is selected from the group consisting of Tyrphostin A23/RG-50810; Tyrphostin AG 99; Tyrphostin AG 213; Tyrphostin AG 1748; Tyrphostin AG 490; Tyrphostin B44; Tyrphostin B44 (+) enantiomer; Tyrphostin AG 555; Tyrphostin AG 494; Tyrphostin AG 556; tyrphostin AG957 and Adaphostin; or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

WO 03/037322

PCT/IB02/04430

- 21 -

7. A combination according to claim 1 wherein the ATP-competitive inhibitor of bcr/abl kinase activity (a) is preferably N-{5-[4-(4-methyl-piperazino-methyl)-benzoylamido]-2-methylphenyl}-4-(3-pyridyl)-2-pyrimidine-amine, and the tyrophostin analog (b) is Adaphostin, or a pharmaceutically acceptable salt of any one of components (a) or (b) where salt-forming groups are present.
8. A pharmaceutical preparation comprising (a) and (b) as mentioned in any one of claims 1 to 7.
9. A product comprising (a) and (b) as defined in any one of claims 1 to 7 and optionally a pharmaceutically acceptable carrier material, for simultaneous, chronically staggered and/or separate use, or any combination thereof.
10. A method of administering a combination of (a) and (b) as defined in any one of claims 1 to 7 or a product according to claim 9 comprising (a) and (b) for the treatment of a bcr/abl-related disease to a warm-blooded animal human in need of such treatment.
11. The method of treating a warm-blooded animal having a bcr/abl-related disease, especially as defined above, comprising administering to the animal a combination which comprises component (a), especially N-{5-[4-(4-methyl-piperazino-methyl)-benzoylamido]-2-methylphenyl}-4-(3-pyridyl)-2-pyrimidine-amine, and component (b), especially Adaphostin, in a quantity which is therapeutically effective against said bcr/abl-related disease and in which the components can also be present in the form of their pharmaceutically acceptable salts.
12. The use of a combination according to any one of claims 1 to 7 or a product according to claim 10 for the manufacture of a medicament for the treatment of a bcr/abl-related disease.
13. The use of a combination according to any one of claims 1 to 7 or a product according to claim 10 for the treatment of a bcr/abl-related disease.
14. A component (a), as defined in any one of claims 1 to 4 or 7, for use in combination, that is at the same time point or in a chronologically staggered way, with a component

WO 03/037322

PCT/IB02/04430

- 22 -

(b) as defined in any one of claims 1 or 5 to 7, or vice versa a component (b) for use in combination with a component (a) as defined hereinabove or hereinbelow, in the treatment of a bcr/abl-related disease; especially said components in a packaging and with a description (e.g. package leaflet) suggesting or describing such combination.

【 国際調査報告 】

| INTERNATIONAL SEARCH REPORT | | International application No PCT/JP 02/04430 | | |
|--|--|--|---|--|
| A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 A61K31/245 A61K31/495 A61P35/02 | | | | |
| According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC | | | | |
| B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 A61K A61P | | | | |
| Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched | | | | |
| Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) | | | | |
| BIOSIS, EP0-Internal, EMBASE, WPI Data, PAJ | | | | |
| C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | | | |
| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. | | |
| Y | CARLO-STELLA CARMELO ET AL: "Effects of the tyrosine kinase inhibitor AG957 and an anti-Fas receptor antibody on CD34+ chronic myelogenous leukemia progenitor cells." BLOOD, vol. 93, no. 11, 1 June 1999 (1999-06-01), pages 3973-3982, XP002231135 ISSN: 0006-4971 cited in the application * abstract * --- -/- | 1-14 | | |
| <input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex. | | | | |
| * Special categories of cited documents: <table border="0"> <tr> <td> *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *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) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed </td> <td> *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 *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 *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 *Z* document member of the same patent family </td> </tr> </table> | | | *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *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) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed | *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 *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 *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 *Z* document member of the same patent family |
| *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *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) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed | *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 *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 *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 *Z* document member of the same patent family | | | |
| Date of the actual completion of the international search | | Date of mailing of the international search report | | |
| 14 February 2003 | | 05/03/2003 | | |
| Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Palantian 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2940, Tx: 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016 | | Authorized officer: Büttner, U | | |

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

| INTERNATIONAL SEARCH REPORT | | International Application No PCT/JP 02/04430 |
|--|---|---|
| C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| Y | <p>DRUKER B J ET AL: "LESSONS LEARNED FROM THE DEVELOPMENT OF AN ABL TYROSINE KINASE INHIBITOR FOR CHRONIC MYELOGENOUS LEUKEMIA"</p> <p>JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION, NEW YORK, NY, US,</p> <p>vol. 105, no. 1, January 2000 (2000-01), pages 3-7, XP001014734</p> <p>ISSN: 0021-9738</p> <p>* abstract; table 1 *</p> | 1-14 |
| A | <p>AKIN C ET AL: "EFFECTS OF THE TYROSINE-KINASE INHIBITOR STI571 ON MUTATED KIT AND NEOPLASTIC MAST CELLS"</p> <p>BLOOD, W.B.SAUNDERS COMPAGNY, ORLANDO, FL, US,</p> <p>vol. 96, no. 11, PART 1,</p> <p>16 November 2000 (2000-11-16), page 747A</p> <p>XP001098218</p> <p>ISSN: 0006-4971</p> <p>* whole document *</p> | 1-14 |

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

| INTERNATIONAL SEARCH REPORT | | International application No. PCT/JP 02/04430 |
|--|---|--|
| Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet) | | |
| This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons: | | |
| 1. | <input type="checkbox"/> Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely: | |
| 2. | <input checked="" type="checkbox"/> Claims Nos.: 1, 2, 5, 6, 8-10, 12, 13, 14 (all in part) because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically: see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210 | |
| 3. | <input type="checkbox"/> Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a). | |
| Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet) | | |
| This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows: | | |
| 1. | <input type="checkbox"/> As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims. | |
| 2. | <input type="checkbox"/> As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee. | |
| 3. | <input type="checkbox"/> As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.: | |
| 4. | <input type="checkbox"/> No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: | |
| Remark on Protest | | |
| <input type="checkbox"/> The additional search fees were accompanied by the applicant's protest. | | |
| <input type="checkbox"/> No protest accompanied the payment of additional search fees. | | |

International Application No. PCT/IB 02 04430

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 1, 2, 5, 6, 8-10, 12, 13, 14 (all in part)

The subject matter of present claims 1, 2, 5, 6, 8-10, 12, 13, 14 (all in part) is defined by means of the functional feature: compounds acting as ATP-competitive inhibitors of Bcr/abl kinase.
Because of the character of the functional features, it cannot be guaranteed that the search performed is complete.

It cannot be excluded that compounds fulfilling the requirements of the functional feature have not been identified as doing so in the prior art. If such compounds have not been identified in the application either, they have not been covered by the search.
The search has been carried out, based on the functional features per se as well as on the examples (namely STI571, 2-phenylaminopyrimidine compounds as defined in EP0564409, and RPRI01511A) given in the application.

It is further pointed out that substantive examination can only be carried out to the same extent as the search.

フロントページの続き

| (51)Int.Cl. ⁷ | F I | テーマコード(参考) |
|--------------------------|---------------|------------|
| A 6 1 K 38/00 | A 6 1 K 45/00 | |
| A 6 1 K 45/00 | A 6 1 P 15/00 | |
| A 6 1 P 15/00 | A 6 1 P 25/00 | |
| A 6 1 P 25/00 | A 6 1 P 35/00 | |
| A 6 1 P 35/00 | A 6 1 P 35/02 | |
| A 6 1 P 35/02 | A 6 1 P 43/00 | 1 1 1 |
| A 6 1 P 43/00 | A 6 1 K 37/02 | |

(81)指定国 EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,SK,TR),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,E
E,ES,FI,GB,GD,GE,GH,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LT,LU,LV,MA,MD,MK,MN,MX,NO,NZ,OM,PH,PL
,PT,RO,RU,SE,SG,SI,SK,TJ,TM,TN,TR,TT,UA,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZW

(72)発明者 スコット・エイチ・カウフマン
アメリカ合衆国 5 5 9 0 1 ミネソタ州ロチェスター、コットンウッド・コート・ノース・ウエスト
6 9 6 2 番

(72)発明者 ベンジャミン・モウ
シンガポール 6 7 0 1 7 0 シンガポール、アパートメント 1 4 - 4 0、ガンサ・ロード、ブロック
1 7 0

F ターム(参考) 4C084 AA02 AA19 BA44 CA59 CA62 MA02 NA05 ZA012 ZA812 ZB262
ZB272 ZC202
4C086 AA01 AA02 BC50 BC52 GA04 GA07 GA08 MA02 MA04 MA10
NA05 ZA01 ZA81 ZB26 ZB27 ZC20
4C206 AA01 AA02 FA36 HA13 MA02 MA04 MA14 NA05 ZA01 ZA81
ZB26 ZB27 ZC20