

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 3 部門第 2 区分

【発行日】平成23年5月12日 (2011.5.12)

【公表番号】特表2009-534397(P2009-534397A)

【公表日】平成21年9月24日 (2009.9.24)

【年通号数】公開・登録公報2009-038

【出願番号】特願2009-506662(P2009-506662)

【国際特許分類】

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/02 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 31/12 (2006.01)

A 6 1 P 31/22 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/5415 (2006.01)

A 6 1 K 31/5383 (2006.01)

A 6 1 K 31/505 (2006.01)

A 6 1 K 31/4402 (2006.01)

A 6 1 P 35/04 (2006.01)

A 6 1 K 31/44 (2006.01)

A 6 1 P 7/00 (2006.01)

A 6 1 P 7/06 (2006.01)

C 0 7 D 417/14 (2006.01)

C 0 7 D 498/04 (2006.01)

C 0 7 D 239/48 (2006.01)

【 F I 】

A 6 1 K 45/00

A 6 1 P 35/02

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 31/12

A 6 1 P 31/22

A 6 1 P 43/00 1 2 3

A 6 1 K 31/5415

A 6 1 K 31/5383

A 6 1 K 31/505

A 6 1 K 31/4402

A 6 1 P 35/04

A 6 1 K 31/44

A 6 1 P 43/00 1 0 5

A 6 1 P 7/00

A 6 1 P 7/06

C 0 7 D 417/14

C 0 7 D 498/04 1 1 2 T

C 0 7 D 239/48

【手続補正書】

【提出日】平成22年3月23日 (2010.3.23)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

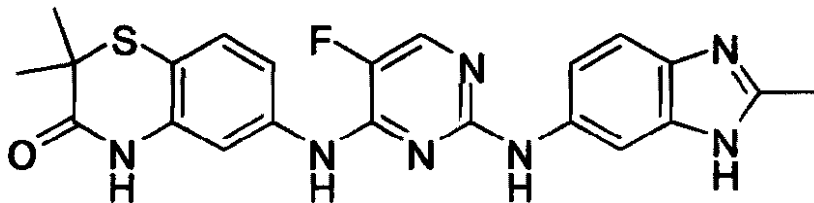
【特許請求の範囲】

【請求項 1】

細胞増殖性障害の治療のための、S y k キナーゼ阻害化合物を含む組成物であって、該化合物は、

( a ) N 2 - ( 2 - ( 2 - メチル - 1 H - ベンゾ [ d ] イミダゾール - 6 - イルアミノ ) - N 4 - 2 , 2 - ジメチル - 2 H - ベンゾ [ b ] [ 1 , 4 ] チアジン - 3 ( 4 H ) - オン - 6 - イル ) - 5 - フルオロ - 2 , 4 - ピリミジンジアミン

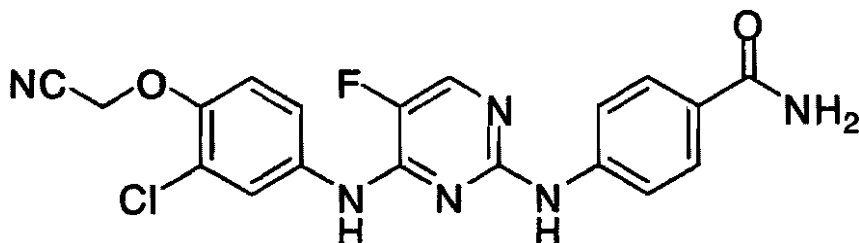
【化 2 - 1】



i

( b ) N 2 - ( 4 - ベンズアミド ) - N 4 - ( 3 - クロロ - 4 - オキシアセトニトリルフェニル ) - 5 - フルオロ - 2 , 4 - ピリミジンジアミン

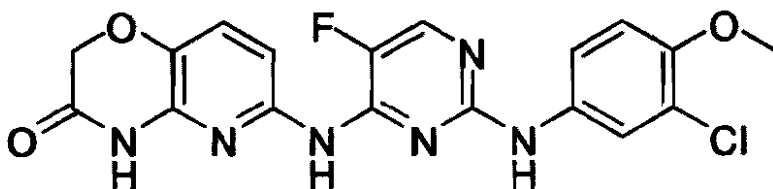
【化 2 - 2】



i

( c ) N 2 - ( 3 - クロロ - 4 - メトキシフェニル ) - 5 - フルオロ - N 4 - ( 3 - オキソ - 4 H - 5 - ピリド [ 1 , 4 ] オキサジン - 6 - イル ) - 2 , 4 - ピリミジンジアミン

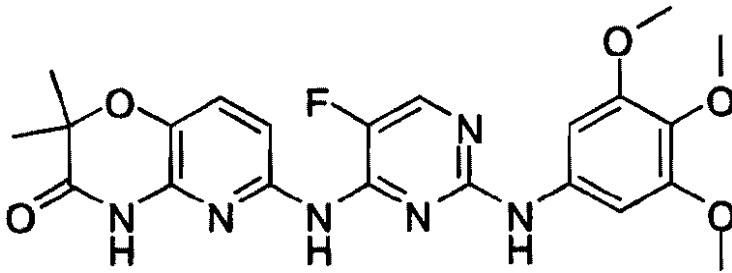
【化 2 - 3】



i

( d ) N 4 - ( 2 , 2 - ジメチル - 3 - オキソ - 4 H - 5 - ピリド [ 1 , 4 ] オキサジン - 6 - イル ) - 5 - フルオロ - N 2 - ( 3 , 4 , 5 - トリメトキシフェニル ) - 2 , 4 - ピリミジンジアミン

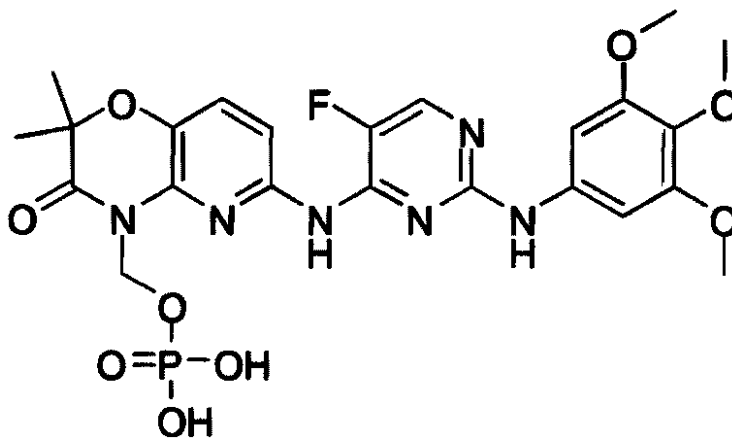
【化 2 - 4】



;

( e ) ( N 4 - ( 2 , 2 - ジメチル - 4 - [ ( 二水素ホスホノキシ ) メチル ] - 3 - オキソ - 5 - ピリド [ 1 , 4 ] オキサジン - 6 - イル ) - 5 - フルオロ - N 2 - ( 3 , 4 , 5 - トリメトキシフェニル ) - 2 , 4 - ピリミジンジアミン )

【化 2 - 5】



またはそれらの塩、水和物、溶媒和物、もしくは N - 酸化物である、組成物。

【請求項 2】

前記細胞増殖性障害が、造血新生物である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

前記造血新生物が、リンパ系の新生物であり、必要に応じて

( i ) 該リンパ系の新生物は、T 細胞新生物であり、必要に応じて該 T 細胞新生物は、T リンパ芽球性白血病であるか；または

( i i ) 該リンパ系の新生物は、B 細胞新生物であり、必要に応じて該 B 細胞新生物は、B - リンパ芽球性白血病またはバーキットリンパ腫である、請求項 2 に記載の組成物。

【請求項 4】

前記細胞増殖性障害が、骨髄新生物である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 5】

前記骨髄新生物が、

( i ) 骨髄増殖性疾患であり、必要に応じて慢性骨髄性白血病 ( C M L ) であるか；

( i i ) 骨髄異形成疾患であり、必要に応じて慢性骨髄単球性白血病であるか；

( i i i ) 骨髄異形成症候群であるか；または

( i v ) 急性骨髄性白血病であり、必要に応じて T E L / S y k 融合タンパク質の活性と関連している、請求項 4 に記載の組成物。

【請求項 6】

前記造血新生物が、急性骨髄性白血病、B - 前駆体細胞急性リンパ芽球性白血病、T - 細胞急性リンパ芽球性白血病、骨髄異形成症候群、および慢性骨髄性白血病から選択される、請求項 2 に記載の組成物。

【請求項 7】

前記増殖性障害が、S y k キナーゼ活性の調節から生じるウイルス媒介腫瘍である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 8】

( i ) 前記ウイルス媒介腫瘍が、I T A M モチーフをコードするウイルスと関連しているか；または

( i i ) 前記ウイルス媒介腫瘍が、カポジ肉腫関連ヘルペスウイルスと関連しており、必要に応じてカポジ肉腫関連ヘルペスウイルスの K 1 タンパク質の活性と関連しているか；または

( i i i ) 前記ウイルス媒介腫瘍が、エプスタイン - バーウイルスと関連しており、必要に応じて該エプスタイン - バーウイルスの L M P 2 A タンパク質の活性と関連しているか；または前記ウイルス媒介腫瘍が、H T L V - 1 と関連している、請求項 7 に記載の組成物。

【請求項 9】

前記組成物が、S y k 阻害化合物の混合物を含んでいる、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 10】

前記組成物を、A b 1 キナーゼ阻害剤とともに付加的に投与することを特徴とし、必要に応じて、

( i ) 該 A b 1 キナーゼ阻害剤が、2 - フェニルアミノピリミジンであるか；または

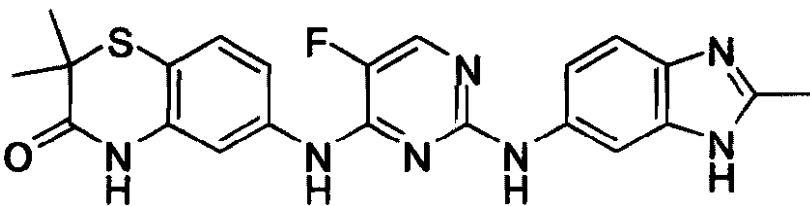
( i i ) 該組成物と該 A b 1 キナーゼ阻害剤とが、連続的にまたは同時に投与されることを特徴とする、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 11】

腫瘍転移を阻害するための、S y k キナーゼ阻害化合物を含む組成物であって、該化合物は、

( a ) N 2 - ( 2 - ( 2 - メチル - 1 H - ベンゾ [ d ] イミダゾール - 6 - イルアミノ ) - N 4 - 2 , 2 - ジメチル - 2 H - ベンゾ [ b ] [ 1 , 4 ] チアジン - 3 ( 4 H ) - オン - 6 - イル ) - 5 - フルオロ - 2 , 4 - ピリミジンジアミン

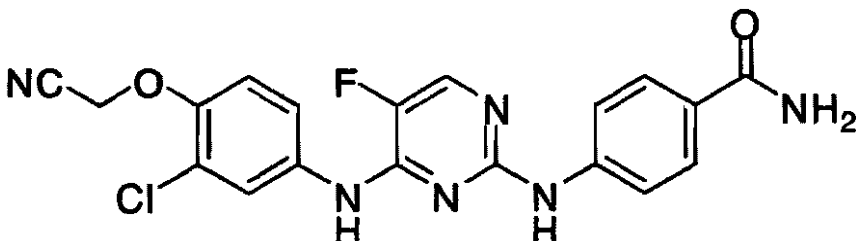
【化 3 - 1】



;

( b ) N 2 - ( 4 - ベンズアミド ) - N 4 - ( 3 - クロロ - 4 - オキシアセトニトリルフェニル ) - 5 - フルオロ - 2 , 4 - ピリミジンジアミン

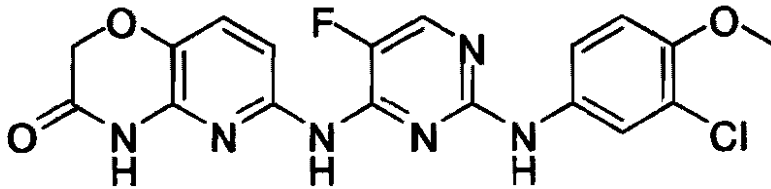
【化 3 - 2】



;

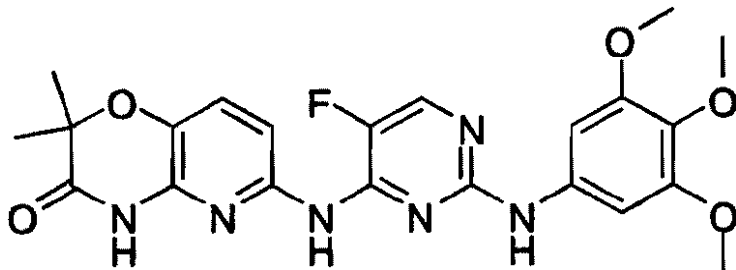
( c ) N 2 - ( 3 - クロロ - 4 - メトキシフェニル ) - 5 - フルオロ - N 4 - ( 3 - オキソ - 4 H - 5 - ピリド [ 1 , 4 ] オキサジン - 6 - イル ) - 2 , 4 - ピリミジンジアミン

## 【化 3 - 3】

i

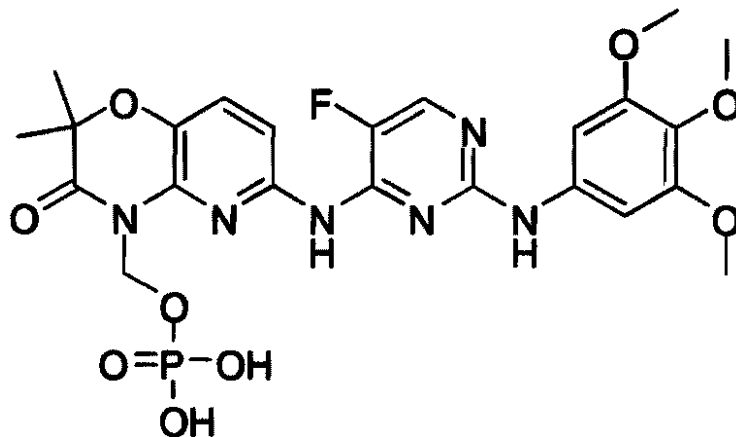
( d ) N 4 - ( 2 , 2 - ジメチル - 3 - オキソ - 4 H - 5 - ピリド [ 1 , 4 ] オキサジン - 6 - イル ) - 5 - フルオロ - N 2 - ( 3 , 4 , 5 - トリメトキシフェニル ) - 2 , 4 - ピリミジンジアミン

## 【化 3 - 4】

i

( e ) ( N 4 - ( 2 , 2 - ジメチル - 4 - [ ( ニ水素ホスホノキシ ) メチル ] - 3 - オキソ - 5 - ピリド [ 1 , 4 ] オキサジン - 6 - イル ) - 5 - フルオロ - N 2 - ( 3 , 4 , 5 - トリメトキシフェニル ) - 2 , 4 - ピリミジンジアミン )

## 【化 3 - 5】



またはそれらの塩、水和物、溶媒和物、もしくは N - 酸化物である、組成物。

## 【請求項 1 2】

前記腫瘍が、乳癌、卵巣癌、腎性癌、胃腸癌、腎臓癌、膀胱癌、膵臓癌、肺扁平癌、および腺癌から選択され、前記組成物は、必要に応じて腫瘍転移の診断前に予防的に投与されることを特徴とする、請求項 1 1 に記載の組成物。

## 【請求項 1 3】

前記転移が、S y k を通るインテグリンシグナル伝達によって引き起こされ、必要に応じて該転移が、1 インテグリンによるか、2 インテグリンによるか、または 3 インテグリンによるインテグリンシグナル伝達によって引き起こされる、請求項 1 2 に記載の方法。

## 【請求項 1 4】

前記化合物が、N 4 - ( 2 , 2 - ジメチル - 3 - オキソ - 4 H - 5 - ピリド [ 1 , 4 ]

オキサジン - 6 - イル) - 5 - フルオロ - N 2 - ( 3 , 4 , 5 - トリメトキシフェニル ) - 2 , 4 - ピリミジンジアミン ; N 4 - ( 2 , 2 - ジメチル - 4 - [ ( 二水素ホスホノキシ ) メチル ] - 3 - オキソ - 5 - ピリド [ 1 , 4 ] オキサジン - 6 - イル) - 5 - フルオロ - N 2 - ( 3 , 4 , 5 - トリメトキシフェニル ) - 2 , 4 - ピリミジンジアミン ; またはそれらの塩、水和物、溶媒和物、もしくは N - 酸化物である、請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0181

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0181】

【図 1 A】Syk 阻害化合物 VI が増殖を妨げ、TEL - Syk - 形質転換細胞の分化を誘発する能力を示している。DMSO、Syk - 阻害化合物 VI ( 2  $\mu$ M )、または Abl キナーゼ阻害剤 STI - 571 ( 2  $\mu$ M ) のいずれかで 36 時間処理された TEL - Syk - または BCRAbl - 形質転換細胞の DNA 含有量が示されている。

【図 1 B】Syk 阻害化合物 VI が増殖を妨げ、TEL - Syk - 形質転換細胞の分化を誘発する能力を示している。TEL - Syk がプレ - B 細胞の分化を妨げる能力が示されている。

【図 1 C】Syk 阻害化合物 VI が増殖を妨げ、TEL - Syk - 形質転換細胞の分化を誘発する能力を示している。細胞は、IL - 7 の不在下に 3 日間培養され、FACS によって LC の発現について分析された。化合物 VI での TEL - Syk 活性の阻害が示されている。

【図 2 A】Syk - 阻害剤 VI が、My c - 形質転換されたプレ - B 細胞の増殖を妨げる能力を示している。図 2 A は、My c 発現ベクターで形質導入され、かつ IL - 7 の不在下に 1 週間培養されたプレ - B 細胞の FACS プロフィールである。

【図 2 B】Syk - 阻害剤 VI が、My c - 形質転換されたプレ - B 細胞の増殖を妨げる能力を示している。図 2 B の下方の図は、指示された細胞の注入の 5 週間後の RAG / C -  $\gamma$  - マウスの脾臓を示し、My c - 形質転換細胞が脾腫および白血病を引き起こす能力を図解している。図 2 B は、DMSO、VI ( 2  $\mu$ M )、または STI - 571 ( 2  $\mu$ M ) のいずれかで 36 時間処理された My c - 形質転換細胞の DNA 含有量を示している。

【図 3 A】Syk - 阻害剤 VI が、腫瘍形成性 SLP - 65  $\gamma$  - プレ - B 細胞系の増殖を妨げる能力を示している。図 3 A は、SLP - 65  $\gamma$  - プレ - B 細胞系が、指示された細胞の注入の 5 週間後の RAG / C -  $\gamma$  - マウスの脾臓の状態によって証明されているように、脾腫および白血病を引き起こしうることを示している。

【図 3 B】Syk - 阻害剤 VI が、腫瘍形成性 SLP - 65  $\gamma$  - プレ - B 細胞系の増殖を妨げる能力を示している。図 3 B は、DMSO、VI ( 2  $\mu$ M )、または STI - 571 ( 2  $\mu$ M ) のいずれかで 36 時間処理された腫瘍形成性 SLP - 65  $\gamma$  - プレ - B 細胞系の DNA 含有量を示している。

【図 4】MV4 - 11 ヒト急性骨髄性白血病細胞が静脈内 ( i . v . ) 接種され、かつ腫瘍細胞接種後 17 日目から調査の間中ずっと、一日 2 回 PO で 40 mg / kg において化合物 VII で処理された NOD - SCID マウスについての生存曲線を示している。40 mg / kg VII グループ ( 10<sup>6</sup> 細胞 ) の ILS % についての計算は、調査終了時 ( 83 日目 ) におけるこのグループの 50 % 超の生存率により、83 日の中央値死亡日と想定される。

【図 5】個々の動物についての死亡までの日数を示している。生存率データは、MV4 - 11 腫瘍細胞が静脈内に注入された NOD - SCID マウスについてである。マウスは、

腫瘍細胞注入後 17 日目から調査の終了 (83 日目) まで、一日 2 回 P O で、ビヒクルまたは様々な用量の V I I で処理された。犠牲にされた動物についての死亡までの日数が、グラフ中で、青い線で表示された中央値死亡日で示されている。調査終了時の各グループにおける生存動物は、グラフの頂部に、生存動物数 / 総マウス数として示されている。

【図 6 A】検死時に M V 4 - 1 1 腫瘍を保有する N O D - S C I D マウスにおける腫瘍の頻度を示している。病気の重症度は、犠牲の理由とは無関係に、終了時の検死の時に触診可能な腫瘍を有するマウスの頻度を定量化することによって評価された。

【図 6 B】検死時に M V 4 - 1 1 腫瘍を保有する N O D - S C I D マウスにおける腫瘍の頻度を示している。1 グループあたりの腫瘍の総数が、図 6 B に示されている。マウスは、5 百万または 1 千万 M V 4 - 1 1 ヒト A M L 細胞 (それぞれ 5 E 6 または 1 0 E 6 とし示されている) で i . v . 接種された。細胞注入後 17 日目に、マウスは、犠牲にされるまで、または調査の間中ずっと、生存動物については 83 日目まで、ビヒクルまたは 40 m g / k g V I I ( P O . b i d ) で処理された。マウスは犠牲にされ、包括的検死が実施された。グループあたり実施された検死の総数は、8 ~ 13 匹であった。

【図 7】実験動物の腫瘍分布プロフィールを示している。様々な解剖学的位置に見られた総腫瘍のパーセントが、犠牲時の検死の時に記録された。マウスは、5 百万または 1 千万 M V 4 - 1 1 細胞が i . v . 注入され、調査の間中ずっと、一日 2 回ビヒクルまたは 40 m g / k g V I I のどちらかが経口投与された。触診可能な腫瘍は検出されなかったが、拡張された唾液腺を示す動物がグラフに含まれている。グループあたり実施された検死の総数は、8 ~ 13 匹であった。

【図 8】N O D - S C I D マウスの骨髓 ( B M ) および末梢血 ( P B ) における M V 4 - 1 1 腫瘍細胞の植付けプロフィールを示している。データは、腫瘍細胞 i . v . 注入後 17 日目から調査の終了まで、一日 2 回 P O で、ビヒクルまたは 40 m g / k g V I I で処理された N O D - S C I D マウスにおける M V 4 - 1 1 ヒト腫瘍細胞の植付けからのものである。骨髓 ( B M ) および末梢血 ( P B ) 腫瘍細胞植付けは、M V 4 - 1 1 腫瘍細胞の検出のために C D 33 および H L A 細胞表面染色を用いて、フローサイトメトリック分析によって検出された。データは標準化され、総細胞からのパーセントヒト腫瘍細胞が計算された。総細胞は、ヒト C D 33 + H L A + 陽性事象およびネズミ C D 45 陽性染色事象の数として規定された。グラフはすべての試料を含む。

【図 9】免疫沈降およびウェスタンブロット分析による M V 4 - 1 1 異種移植片における F l t - 3 の検出を示している。図 A は、ブロットの左側で抗ホスホチロシン抗体およびブロットの右側で抗 - ホスホ - F l t - 3 特異的抗体を用いて、V I I またはビヒクルの最終投与の約 2 時間後、マウスからの M V 4 - 1 1 腫瘍溶解物におけるリン酸化 F l t - 3 の検出である。加えて、総 F l t - 3 レベルについてのブロットのリブローブは、図 B に示されている。

【図 10】M V 4 - 1 1 腫瘍異種移植片のリン酸化ヒストン H 3 分析を示している。増殖は、腫瘍細胞増殖についてのマーカーとして、ヒト特異的リン酸化ヒストン H 3 ( p h H 3 ) の免疫組織化学染色を用いて、この調査から無作為に選択された 3 匹のマウスからのホルマリン固定腫瘍切片においてエキソピボで評価された。ヒト p h H 3 発現は、腫瘍切片において、V I I での処理後に用量依存的に低下した。ビヒクル処理マウスからの M V 4 - 1 1 腫瘍異種移植片と比較したとき、20 および 40 m g / k g V I I での処理は結果として、それぞれ p h H 3 染色の 53 % および 71 % 阻害を生じた。これらのデータは、V I I 媒介阻害が、インピボの M V 4 - 1 1 腫瘍の増殖能力を低下させ、このことは、この調査の生存中部分の間に観察された腫瘍容積の低下と相関関係があることを示している。低下した増殖は、低下した構成的 F l t - 3 リン酸化によるものである可能性があるが、それは、この活性がインピボでの M V 4 - 1 1 細胞の生存に必要とされることが証明されているからである。

【図 11】一日 2 回 26 日間経口処理された M V 4 - 1 1 腫瘍保有マウスからの腫瘍切片における、p E r k 1 / 2 および p S t a t 5 についての免疫組織化学染色を図解している代表的なデータを示している。腫瘍は、ビヒクルまたは 40 m g / k g V I I の最終

投与の約 2 時間後にマウスから採集された。

【図 1 2】アネキシン V および P I 染色によって決定された、アポトーシスの誘発における、1 u M V I での A M L 細胞または 3 2 D トランスフェクタントの処理の効果を示している。