

【特許請求の範囲】

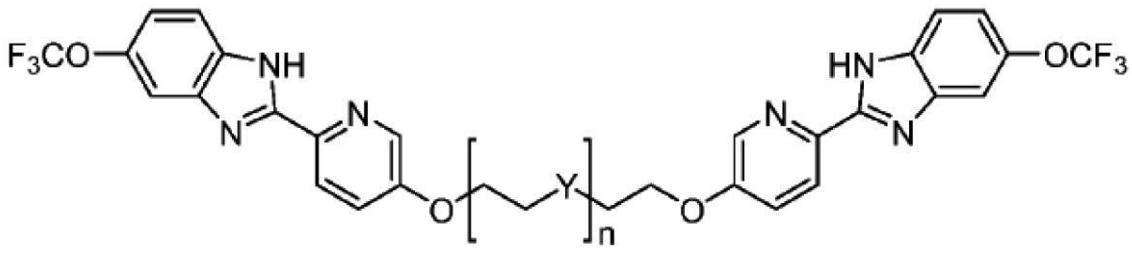
【請求項 1】

in vitro (16) 白血病を処置する方法であつて：

これを必要とする対象に、

a) 式 (1) の化合物

【化 1】



10

(1)

式中、Yは、O、NH、もしくはNRであり、ここで、Rがメチルもしくはエチルであり、

nが1～10の整数である；またはその薬学的に許容可能な塩；と

b) ピラルビシン、アクラルビシン、ミトキサントロン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、イダルビシン、エピルビシン、シタラビン、薬学的に許容可能な塩及びこれらの混合物からなる群から選択される化学療法剤と

20

の治療的に有効な組み合わせを投与するステップ；

を含み、

前記式(1)の化合物と前記化学療法剤との前記治療的に有効な組み合わせが、in vitro (16) 白血病細胞の増殖を相乗的に阻害する、前記方法。

【請求項 2】

YがOである、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

YがN-CH₃である、請求項1に記載の方法。

30

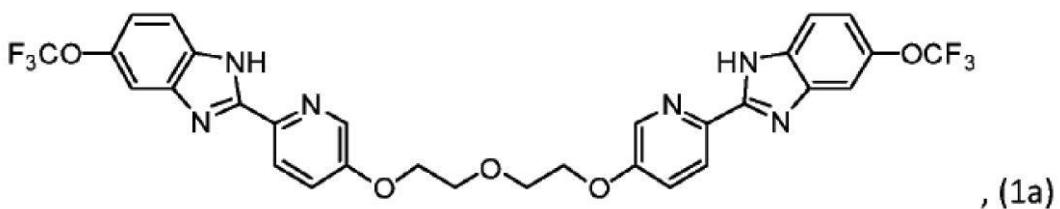
【請求項 4】

nが1～5の整数である、請求項1～4のいずれか一項に記載の方法。

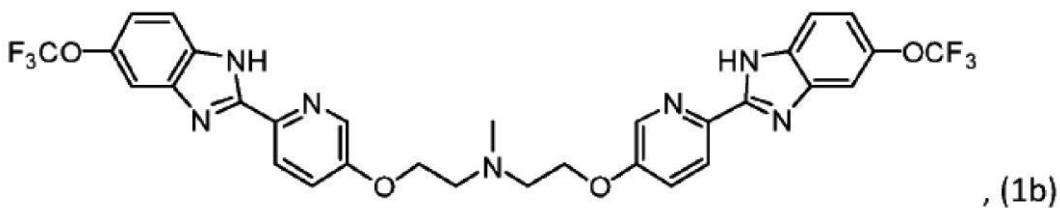
【請求項 5】

前記式(1)の化合物が：

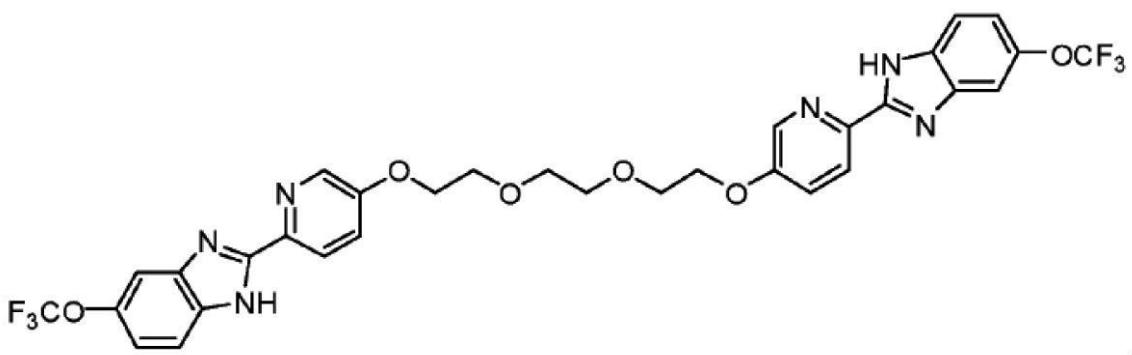
【化 2】



10

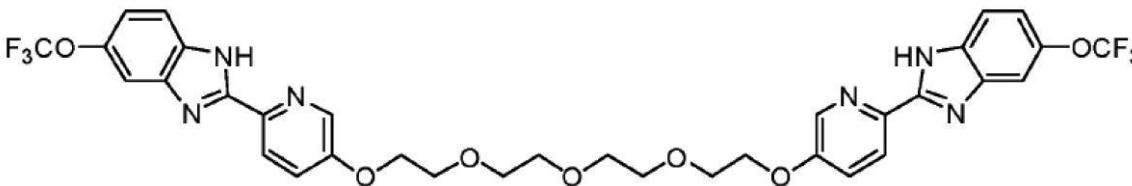


10



20

及び



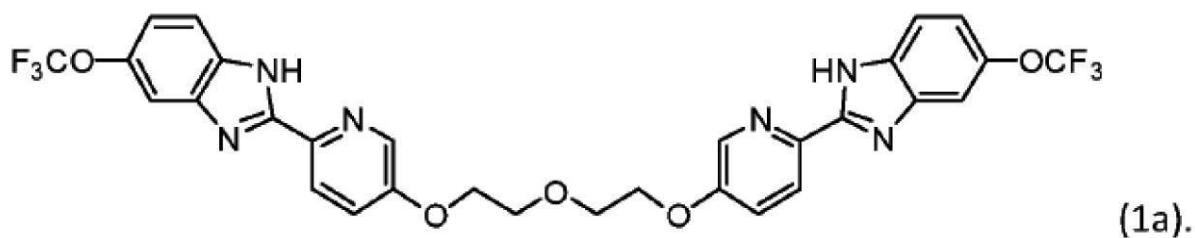
30

から選択される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記式(1)の化合物が:

【化 3】



40

である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

前記式(1)の化合物及び前記化学療法剤が、前記式(1)の化合物、前記化学療法剤、及び薬学的に許容可能な担体を含む医薬組成物において投与される、請求項1~6のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

50

前記化学療法剤が、ドキソルビシンまたはダウノルビシンである、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記化学療法剤が、ドキソルビシンである、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記 i n v (1 6) 白血病が、急性骨髓性白血病である、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

前記式 (1) の化合物及び前記化学療法剤が、同時に投与され、または、まず前記式 (1) の化合物を投与し、続いて前記化学療法剤を投与することによって逐次的に投与される、請求項 1 ~ 6 及び 8 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の方法。 10

【請求項 12】

前記式 (1) の化合物及び前記化学療法剤が同時に投与される、請求項 1 ~ 1 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

前記化学療法剤の投与後、1日以上の間、さらなる治療的に有効な量の前記式 (1) の化合物を投与するステップをさらに含む、請求項 1 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

前記式 (1) の化合物及び前記化学療法剤の同時投与後、1日以上の間、さらなる治療的に有効な量の前記式 (1) の化合物を投与するステップをさらに含む、請求項 1 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の方法。 20

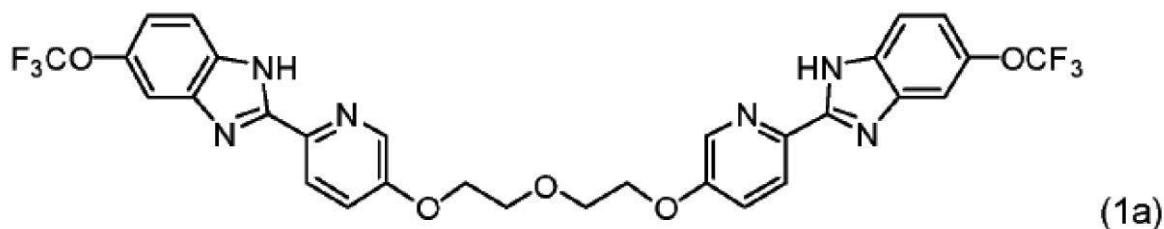
【請求項 15】

i n v (1 6) 白血病を処置する方法であって：

これを必要とする対象に、

a) 式 (1 a) の化合物またはその薬学的に許容可能な塩と

【化 4】



b) ドキソルビシンまたはその薬学的に許容可能な塩との治療的に有効な組み合わせを投与するステップを含み、前記式 (1 a) の化合物と前記ドキソルビシンとの前記治療的に有効な組み合わせが、i n v (1 6) 白血病細胞の増殖を相乗的に阻害する、前記方法。

【請求項 16】

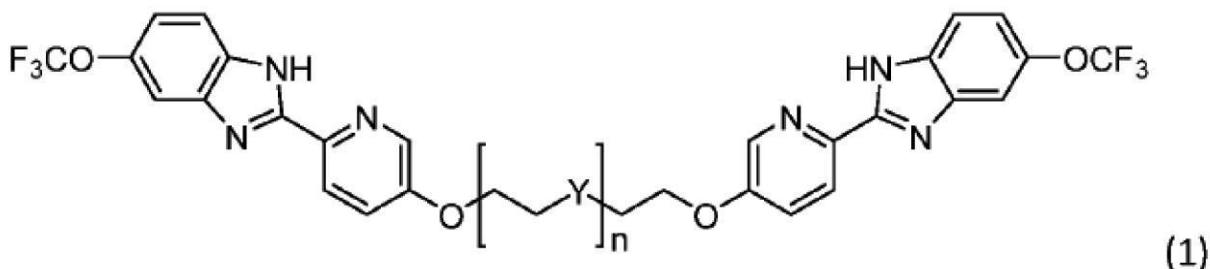
医薬組成物であって：

薬学的に許容可能な担体、及び：

a) 式 (1) の化合物

40

【化5】



10

式中、Yは、O、NH、またはNRであり、ここで、Rがメチルまたはエチルであり、

nが1～10の整数である；

またはその薬学的に許容可能な塩；と

b) ピラルビシン、アクラルビシン、ミトキサントロン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、イダルビシン、エビルビシン、シタラビン、またはその薬学的に許容可能な塩からなる群から選択される化学療法剤；と

の治療的に有効な組み合わせ；及び

薬学的に許容可能な賦形剤；

を含み、

20

前記式(1)の化合物及び前記化学療法剤が、inv(16)白血病細胞の増殖を阻害するのに相乗的に有効な組み合わせ量で存在する、前記医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

連邦政府による資金提供を受けた研究開発の記載

この発明は、アメリカ国立衛生研究所によって与えられた助成金番号C A 1 0 8 0 5 6及びC A 1 4 0 3 9 8の下で政府支援によってなされた。政府は、当該発明においてある一定の権利を有する。

30

【0002】

関連出願の相互参照

この出願は、参照によって本明細書に組み込まれる、2016年7月27日に出願された米国出願第62/367,263号の優先権を主張する。

【0003】

本発明は、白血病を処置する組成物及び方法に概して関する。より詳細には、本発明は、化学療法剤と特定の転写因子阻害剤との相乗的組み合わせを使用する処置の組成物及び方法に関する。

【背景技術】

【0004】

急性骨髄性白血病(AML)は、成人の白血病の最も一般的な形態である。染色体逆位inv(16)(p13q22)によるAMLにおいて発現される転写因子融合CBF-SMMHC(コア結合因子及び平滑筋ミオシン重鎖)は、転写因子RUNX1への結合に関して野生型CBFを打ち負かし、造血におけるRUNX1活性を規制解除し、AMLを誘発する。非選択的細胞毒性化学療法による現在のinv(16)AML処置は、良好な初期反応を結果として生じるが、長期の生存を制限していた。

40

【0005】

CBFは、DNA結合RUNXサブユニット(3つの遺伝子:RUNX1、RUNX2、またはRUNX3;のうちの1つによってコードされる)及び非DNA結合CBFサブユニットから構成されるヘテロ二量体転写因子であり、これは、DNAに対するRUNXタンパク質の親和性を増加させる。全3つのRUNXタンパク質ならびにCBFは、

50

特定の発生経路の重要な調節因子であることが示されている。RUNX1及びCBFは、二次造血に必須であり、これらは、幹細胞及び前駆細胞の増殖、分化、及び生存に関連する遺伝子の発現を調節する。RUNX2は、骨の発達に重要な遺伝子の転写調節による正常な骨形成に必須である。RUNX1及びRUNX3は、いずれも、神経発達において重要な役割を果たす。

【0006】

正常な発達における重要な役割に基づいて、RUNXタンパク質及びCBFは、多数のがんにおいて変化の標的である。RUNX1及びCBFは、いずれも、対応する融合タンパク質が疾患のドライバーであることが明らかに示されている急性骨髓性白血病(AML)及び急性リンパ性白血病(ALL)患者のサブセットにおいて染色体転座を経験する。融合タンパク質AML1-ETO及びTEL-AML1では、CBFへの融合タンパク質の結合が、形質転換に必須であることが示されている。RUNX1は、AML及び骨髓異形成症候群(MDS)患者のサブセットにおいて変異する。

10

【0007】

特に転写因子に関するタンパク質-タンパク質相互作用の小分子阻害剤は、このクラスの相互作用が「新薬の開発に繋がらない」、すなわち、かかる相互作用を標的とすることは成功の可能性が非常に低いという長年広く信じられている考えに部分的に起因して、依然として、比較的新生の分野である。転写因子を含めた、タンパク質-タンパク質相互作用に影響する小分子阻害剤の成功談の数が増加するにつれ、このパラダイムは、明らかに変わりつつある。また、エピジェネティックなシグナル伝達タンパク質の小分子阻害剤、例えば、BRD4またはEZH2阻害剤の最近の開発は、転写の小分子調節が、特に、がん処置への潜在的に強力なアプローチであることを明らかに示している。

20

【0008】

参照によって本明細書に組み込まれる米国特許第8,748,618号及び同第9,221,764号は、CBF-SMMHCと、CBF-SMMHCのCBF部に結合するRUNX1のRuntドメインとの間のタンパク質-タンパク質相互作用の小分子阻害剤を報告している。米国特許第8,748,618号及び同第9,221,764号に開示されている二量体阻害剤は、inv(16)細胞株に対する効能の増加及び非inv(16)細胞株への最小限の影響を示している。

30

【0009】

inv(16)AMLを有する患者は、細胞毒性薬、例えば、Arac-C及びアントラサイクリンを含めた積極的な化学療法レジメンを通常は経験する。この処置は、若年患者により良好に耐容性であり、45%~65%の5年全生存率を示している(Ravandi, et al., 2007; Pulsomni, et al., 2008)。しかし、大部分の患者が高齢であり、60歳を超える患者での5年全生存率は約20%である(Farag, et al., 2006)。これらのデータは、inv(16)AML患者で治療応答を改善することができる標的療法が望ましいことを示している。

【0010】

新興文献には、細胞毒性化学療法、キナーゼ阻害剤、またはモノクローナル抗体を含めた現在の療法によってがんを治癒できないことが、処置に耐性であって、静止していて、長期自己再生能を有していて、かつ、再発時に腫瘍表現型を完全に反復することができる、いわゆるがん幹細胞またはがん発症細胞の集団に起因し得ることが示唆されている。inv(16)AMLは、この特徴の良好な例である。なぜなら、inv(16)患者は、診断で検出される他の変異体(RAS、FLT3ITDもしくはKIT)は再発時に検出される場合もあり、されない場合もあるが、再発時にinv(16)再配列を常に示すからである(Nakano, et al., 1999; Kottaridis, et al., 2002; Shih, et al., 2008)。

40

【0011】

現在、標準の細胞毒性化学療法が、inv(16)白血病の処置に使用されている。該療法は、若年患者によっては合理的に良好な耐容性が示されるが、この疾患に悩まされて

50

いる主に高齢患者によっては良好な耐容性が示されない。より重要なことには、i n v (16)患者のおよそ60%が再発しがつ5年以内に死亡することから、かなりの再発率を示している。これは、おそらく、標準の化学療法によって処置するときに白血病幹細胞集団を死滅させないという結果であり、当該疾患を再発させる。CBF - SMMHCは、細胞の遺伝子発現プロファイルを、より幹細胞様に変化させることが知られているため、CBF - SMMHCが、白血病幹細胞表現型のドライバーであることは明らかである。そのため、CBF - SMMHCの直接阻害が、この表現プロファイルを改変し得、そのため、単独でまたは細胞毒性化学療法と組み合わせて、より効果的な治療的アプローチであり得ることが大いに起こり得る。

【0012】

10

特にi n v (16)融合を含めた、急性骨髄性白血病を防止または処置するのに有用な組成物及び方法について、当該分野において長年感じられている必要性が存在する。本発明は、これらの必要性を満たすものである。

【発明の概要】

【0013】

この発明は、i n v (16)白血病の処置のための方法及び組成物に概して関する。

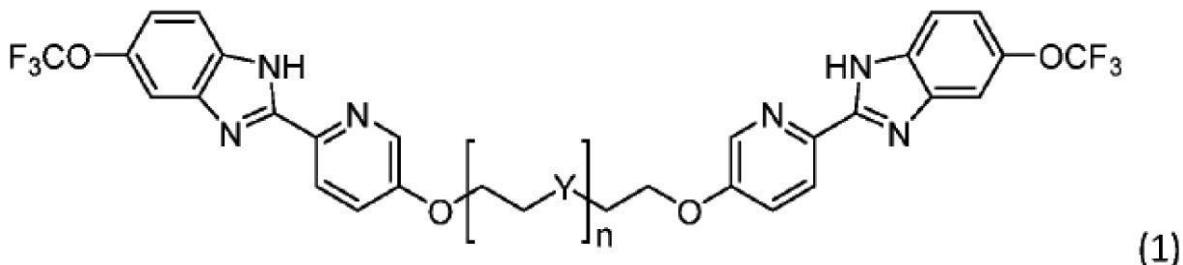
【0014】

この発明は、i n v (16)白血病を処置する方法であって：これを必要とする対象に

a) 式(1)の化合物

20

【化1】



30

式中、Yは、O、NH、もしくはNRであり、ここで、Rがメチルもしくはエチルであり

nが1～10の整数である；

またはその薬学的に許容可能な塩と

b) ピラルビシン、アクラルビシン、ミトキサントロン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、イダルビシン、エピルビシン、シタラビン、薬学的に許容可能な塩及びこれらの混合物からなる群から選択される化学療法剤との治療的に有効な組み合わせを投与するステップを含む、上記方法に関する。式(1)の化合物と化学療法剤との治療的に有効な組み合わせは、i n v (16)白血病細胞の増殖を相乗的に阻害する。

【0015】

本発明による方法において、式(1)の化合物及び化学療法剤は、同時に投与され、または、まず式(1)の化合物を投与し、続いて化学療法剤を投与することによって逐次的に投与される。

【0016】

この発明はまた、式(1)の化合物と化学療法剤との治療的に有効な組み合わせ、及び薬学的に許容可能な賦形剤を含む医薬組成物にも関する。式(1)の化合物と化学療法剤との治療的に有効な組み合わせは、i n v (16)白血病細胞の増殖を阻害するのに相乗的に有効な組み合わせ量である。

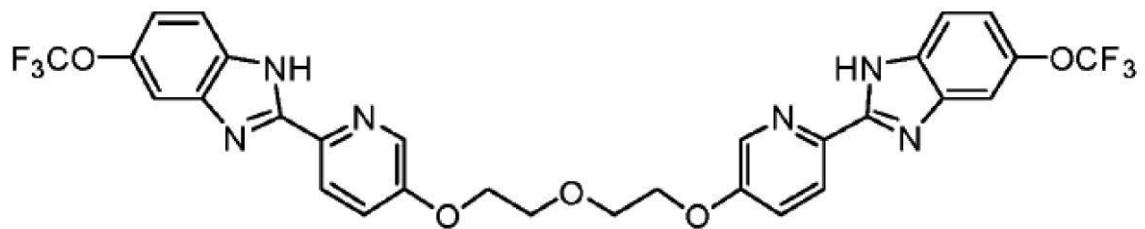
【0017】

40

50

本発明の方法及び医薬組成物において、式(1)の化合物は、式(1a)の化合物またはその薬学的に許容可能な塩であり；

【化2】



(1a);

10

化学療法剤は、ドキソルビシンまたはその薬学的に許容可能な塩である。

【図面の簡単な説明】

【0018】

【図1】白血病が移植され、かつDMSO(対照)、ドキソルビシン、A I - 1 0 - 4 9、及びドキソルビシン+A I - 1 0 - 4 9で処置されたマウスからの白血球数の測定。

【図2】白血病が移植され、かつDMSO(対照)、ドキソルビシン、A I - 1 0 - 4 9、及びドキソルビシン+A I - 1 0 - 4 9で処置されたマウスからのc-Ki t + 細胞集団の測定。

【図3】白血病が移植され、かつDMSO(対照)、ドキソルビシン、A I - 1 0 - 4 9、及びドキソルビシン+A I - 1 0 - 4 9で処置されたマウスからの脾臓重量及び細胞数の測定。

【図4】白血病が移植され、かつDMSO(対照)、ドキソルビシン、A I - 1 0 - 4 9、及びドキソルビシン+A I - 1 0 - 4 9で処置されたマウスからのL in - S ea 1 - C - K i t + 細胞集団の測定。

【図5】CBF - SMMHC融合タンパク質を発現するME - 1 白血病細胞株に対するA I - 1 0 - 4 9及びドキソルビシンならびにこれらの組み合わせの効果の測定。

【発明を実施するための形態】

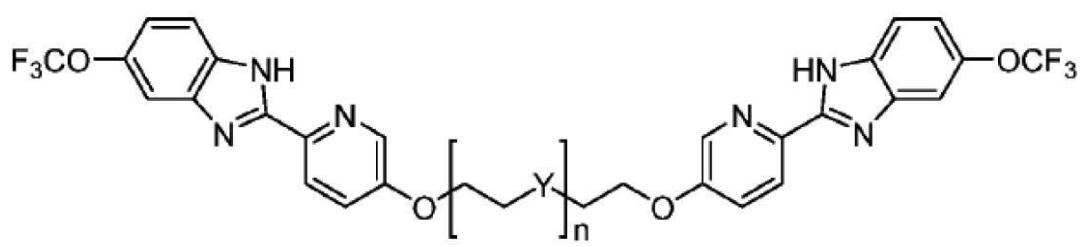
【0019】

本発明は、in v (16) 白血病の処置の方法であって、これを必要とする対象に：

30

a) 式(1)の化合物

【化3】



(1)

40

式中、Yは、O、NH、またはNRであり、ここで、Rがメチルまたはエチルであり

、nが1～10の整数である；

またはその薬学的に許容可能な塩と

b) ピラルビシン、アクラルビシン、ミトキサントロン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、イダルビシン、エピルビシン及びシタラビン、ならびにこれらの混合物、またはその薬学的に許容可能な塩からなる群から選択される化学療法剤との治療的に有効な組み合わせを投与することを含む、上記方法に関する。

【0020】

50

式(1)の化合物と化学療法剤との治療的に有効な組み合わせは、inv(16)白血病細胞の増殖を相乗的に阻害する。本発明の方法は、inv(16)白血病の1タイプである急性骨髄性白血病の処置において特に有用である。「処置」または「処置すること」は、特定の障害もしくは状態の予防、あるいは、特定の障害もしくは状態の予防に関連する症状の寛解、及び/またはこれらの症状の防止もしくは排除を含む。

【 0 0 2 1 】

驚くべきことに、相乗効果は、ある一定の組み合わせ量の式(1)の化合物及び化学療法剤がinv(16)白血病細胞の増殖を阻害するのに使用されるときに見られる。本発明において使用される相乗的組み合わせは、式(1)の化合物の1日投与用量に対する化学療法剤の1日投与用量の重量対重量比が、約0.0001:1～約1000:1の範囲である。当該比は、約0.001:1～約100:1、例えば、約0.01:1～約10:1、例えば約0.1:1～約1:1であつてよい。

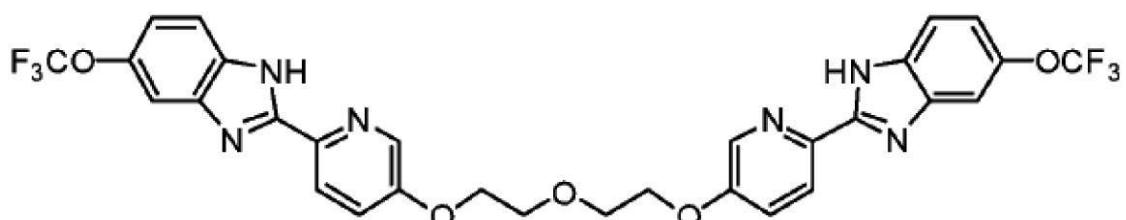
(0 0 2 2)

発がん性 CBF - SMMHC 融合タンパク質の直接阻害は、inv(16) AMLについての潜在的に有効な治療アプローチとして示されている (I lendula, et al., 2015.)。5-メトキシ-2-(ピリジン-2-イル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール、AI-4-57は、CBF - SMMHC 融合タンパク質のCBF部に結合して当該部のRUNXタンパク質のRunntドメインへの結合を阻害する化合物として報告された (I lendula, et al., 2015.)。トリフルオロメトキシ(CF₃O)誘導体である、2-(ピリジン-2-イル)-5-(トリフルオロメトキシ)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール、A-10-47は、メトキシ化合物と比較して向上した代謝安定性を示した (I lendula, et al., 2015.)。ポリエチレングリコール系リンカーは、5-、7-、10-、及び16-原子リンカー長を有する二価誘導体を作り出すのに使用された (I lendula, et al., 2015.)。5原子リンカー化合物は、より低い活性を有したが、より長いリンカー化合物は、強力な阻害を示す。7原子リンカーを有する化合物、AI-4-83は、一価化合物よりも63倍の向上を示す。また、AI-4-83は、飽和濃度においてCBF - SMMHC 及びRUNX1 Runntドメインの>10倍解離を達成した (I lendula, et al., 2015.)。

〔 0 0 2 3 〕

7 原子リンカーを有するトリフルオロメトキシ誘導体、A I - 1 0 - 4 9 はまた、本明細書において、化合物(1a)とも称され、

【化 4】



i n v (1 6) による白血病細胞株、 M E - 1 細胞株における細胞死を誘発する強力な C B F - S M M H C 特異的化合物であることが示された (I l l e n d u l a , e t a l . , 2 0 1 5 .) 。 C B F - S M M H C はオリゴマーである一方で、 C B F は、単量体である。 A I - 1 0 - 4 9 は、 C B F 機能への影響が最小でありながら、 C B F - S M M H C 活性を阻害する (I l l e n d u l a , e t a l . , 2 0 1 5 .) 。

[0 0 2 4]

本発明による方法において、式(1)の化合物は、リンカー、-O-[CH₂CH₂Y]₁-O-によって結合された2つの2-(ピリジン-2-イル)-5-(トリフルオロメチル)。

10

20

30

40

メトキシ) - 1 H - ベンゾ[d]イミダゾール基を含有する。式(1)の化合物において、リンカーは、ベンゾイミダゾール環を通して分子の2つの結合部を接続する。二量体または二価阻害剤は、CBF - SMMHCのオリゴマー性質を利用してあり、多価の原則が適用されて(Mammnen, et al., 1998; Kiessling, et al., 2006)、所望の選択性を達成している。CBF末端先端を欠失するCBF - SMMHCの切断型は、溶液中で二量体を形成することが示されている(Lukasik, et al., 2002)。全長タンパク質では、これらの二量体が次いでオリゴマー化して高次オリゴマーを形成する(Shigesada, et al. 2004)。対照的に、CBFは、溶液中で単量体である。オリゴマー化におけるこの差は、CBF - SMMHC対CBFの選択性的阻害を達成する手段を提供する。

10

【0025】

本発明の方法によると、式(1)の化合物において、Yは、O、NH、またはSである。本発明の方法において、Yは、Oである。本発明の別の方法において、Yは、N - CH₃である。nが1を超えるとき、Yは、同じであっても異なっていてもよい。

【0026】

本発明の方法によると、式(1)の化合物において、nは、1～10の整数である。本発明による方法及び組成物において、nは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10である。好ましくは、nは、1～5である。式(1)の化合物において、リンカーは、式(1)の二価化合物が、CBF - SMMHC - リガンド相互作用対一価CBF - リガンド相互作用によって結合の向上を達成することを可能にするように十分に長くあるべきである。米国特許第9,221,764号、図5を参照されたい。単量体CBFに結合している一価化合物についての解離定数は、K_d(単量体)に等しい。この化合物のホモ二量体は、K_d(単量体)/2に等しい解離定数を有する単量体CBFタンパク質を結合させる。しかし、この同ホモ二量体は、二量体CBF - SMMHCタンパク質における2つの部位と相互作用し、(K_d(単量体))²/C_{eff}:ここで、C_{eff}は、CBF - SMMHCにおいて2つの結合部位が互いにつながることから生じる有効濃度である;に等しいK_d(二量体)を有する。(Mulder, et al., 2004)

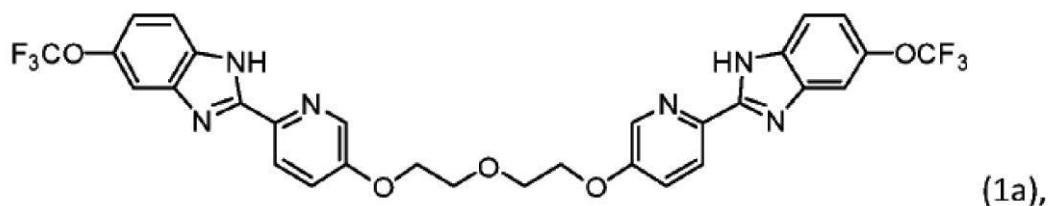
20

【0027】

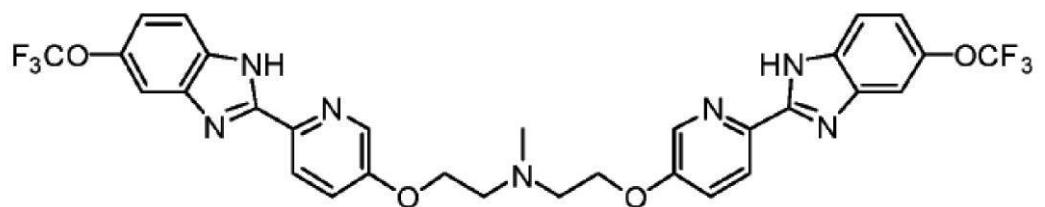
式(1)の範囲内の非限定的な例示的化合物として:

30

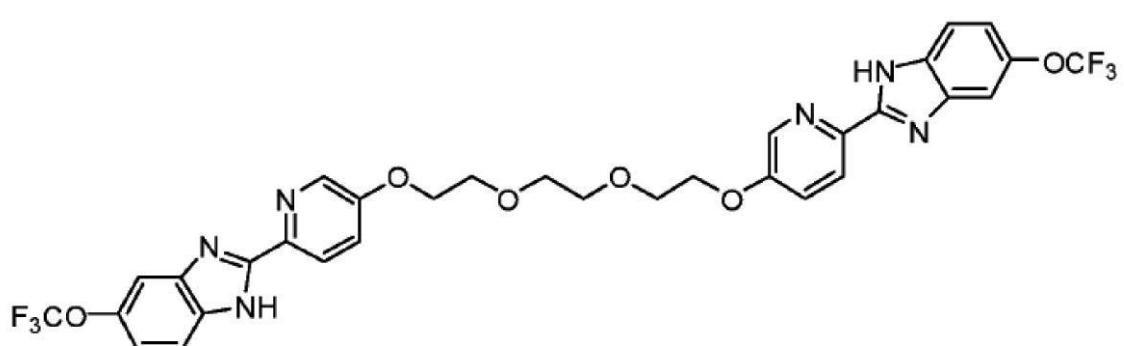
【化 5】



(1a),



(1b).

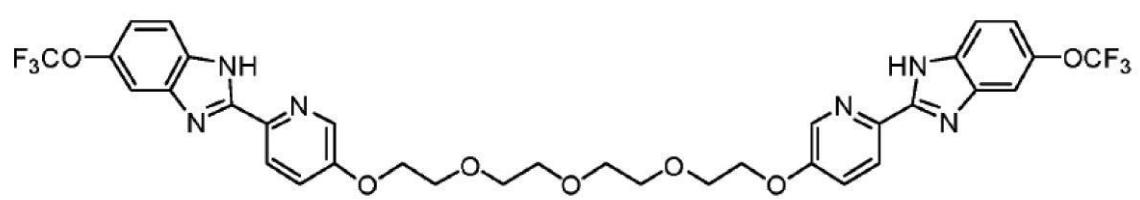


10

20

30

及 て ド



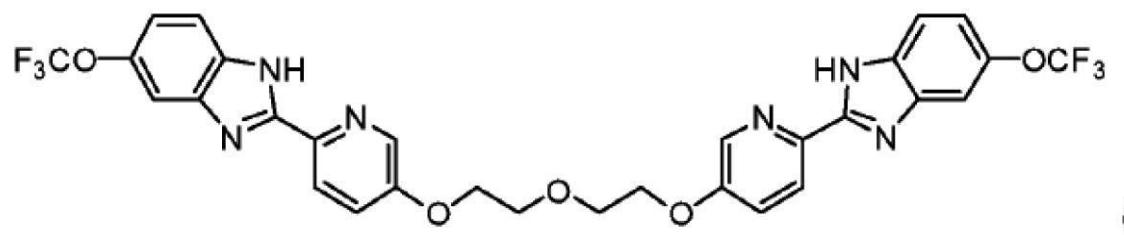
(1d).

が挙げられる。

【 0 0 2 8 】

本発明による好ましい方法において、式(1)の化合物は、

【化 6 】



40

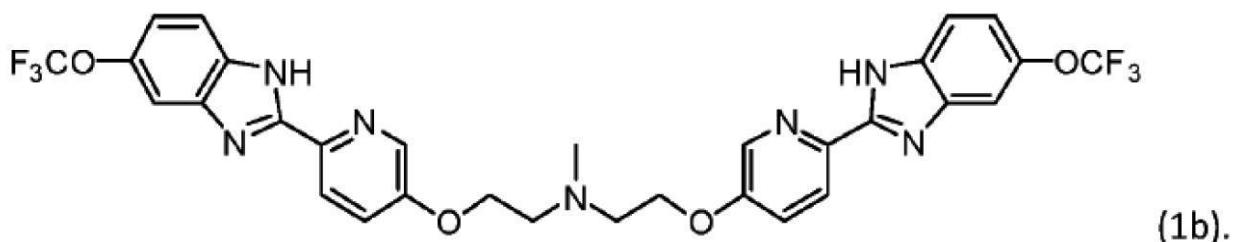
である。

【 0 0 2 9 】

参考によって本明細書に組み込まれる米国特許第9,221,764号は、ポリエチレングリコール系リンカーを有する特定の二価阻害剤の構造及び合成経路を開示している。

【 0 0 3 0 】

本発明による方法において、式(1)の化合物は、
【化7】



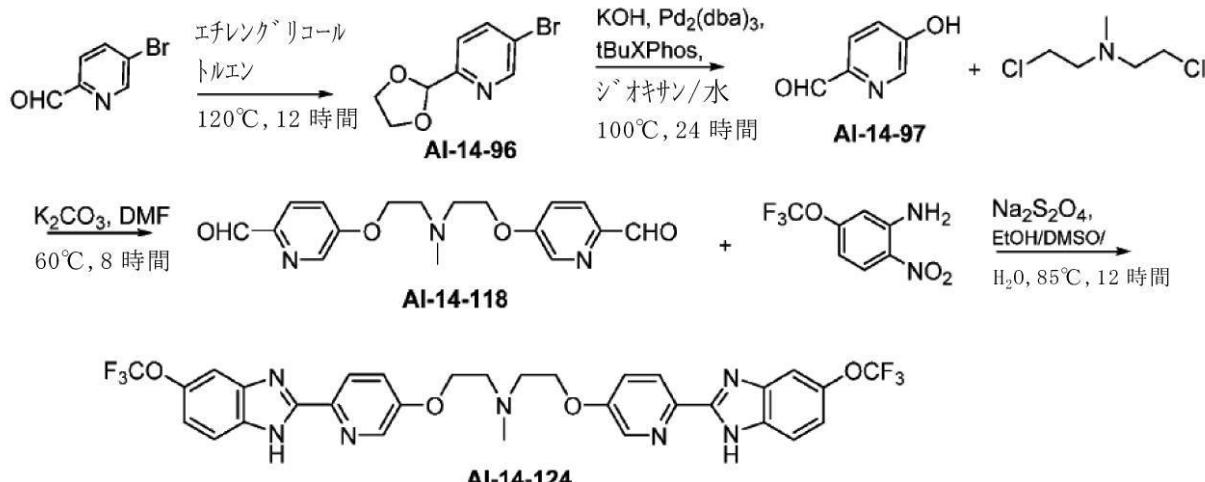
10

である。

【 0 0 3 1 】

A I - 14 - 124 としても知られている化合物 (1b) の例示的な合成を以下に示す：

【化 8】



30

【 0 0 3 2 】

本発明の方法によると、化学療法剤は、ピラルビシン、アクラルビシン、ミトキサントロン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、イダルビシン、エピルビシン及びシタラビン、ならびにこれらの混合物、またはその薬学的に許容可能な塩からなる群から選択される。

(0 0 3 3)

言及されているように、本発明において使用される式(1)の化合物または化学療法剤は、「薬学的に許容可能な塩」の形態を取り得、これは、本発明の化合物の生物学的效果及び特性を保持し、かつ、生物学的にまたは他の点で望ましくないということがない塩を指す。多くの場合において、本発明の方法において投与される化合物は、アミノ及び/またはカルボキシル基もしくはこれと同様の基の存在によって酸及び/または塩基塩を形成することが可能である。薬学的に許容可能な酸付加塩は、無機及び有機酸から調製されてよい。無機酸に由来する塩として、限定されないが、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸などが挙げられる。薬学的に許容可能な塩基付加塩は、無機及び有機塩基から調製されてよい。無機塩基に由来する塩として、ほんの一例として、ナトリウム、カリウム、リチウム、アンモニウム、カルシウム及びマグネシウム塩が挙げられる。有機塩基に由来する塩として、限定されないが、第1級、第2級及び第3級アミンの塩が挙げられる。

[0 0 3 4]

inv(16) AML を有する患者は、細胞毒性薬、例えば、Ara-C(シタラビン)及びアントラサイクリンを含めた積極的な化学療法レジメンを通常は経験する。シタラビンは、急性骨髓性白血病、急性リンパ性白血病及びリンパ腫の処置において主に使用され、シタラビンは、導入化学療法の重要要素である(Pigneux et al., 2

50

007.）。シタラビンは、DNAの合成を妨げて、有糸分裂のためにDNA複製を必要とする迅速に分裂する細胞に影響する。4つの最も一般的なアントラサイクリンは、ドキソルビシン、ダウノルビシン、エピルビシン及びイダルビシンである（McGowan et al. , 2017.）。ドキソルビシン及びダウノルビシンは、臨床診療において使用されることが最初であった。エピルビシンは、ドキソルビシンの立体異性体であり、ドキソルビシンよりも増加した分布体積及び長い半減期を有する。イダルビシンは、ダウノルビシンの誘導体であり、ダウノルビシンよりも親油性でありかつより高い細胞取り込みを有する。さらにいくつかのアントラサイクリンのみが臨床承認を得ている；これらとして、ピラルビシン、アクラシノマイシンA（アクラルビシン）、及びミトキサントロン（置換されたアグリコン性アントラキノン）が挙げられる（Minottiet al. , 2004.）。広範な臨床利用にもかかわらず、がん細胞におけるアントラサイクリンの作用のメカニズムは、依然として論争中のままである。影響力のある解説において、以下のメカニズムが考えられた：1) DNAへの挿入により、高分子の合成の阻害に至る；2) 遊離ラジカルの発生により、DNA損傷または脂質過酸化に至る；3) DNA結合及びアルキル化；4) DNA架橋；5) DNA巻き戻しまたはDNA鎖分離及びヘリカーゼ活性の妨げ；6) 直接的な膜効果；7) トポイソメラーゼIIの阻害を介したDNA損傷の開始；ならびに8) トポイソメラーゼII阻害に応答したアポトーシスの誘発（Gewirtz D. A. , 1999.）

10

20

30

40

50

【0035】

本発明の方法によると、化学療法剤は、ドキソルビシンまたはダウノルビシンである。例えば、化学療法剤は、ドキソルビシンである。本発明による方法において、化学療法剤は、ドキソルビシン塩酸塩である。

【0036】

本発明による方法において、ある量の式(1)の化合物、例えば、化合物(1a)、及び化学療法剤、例えば、ドキソルビシンの治療的に有効な組み合わせが投与されて、inv(16)白血病細胞の増殖を相乗的に阻害する。「阻害する」という用語は、本発明の化合物が、記載されている機能、例えば、細胞増殖を低減または遅延させる能力を指す。好ましくは、阻害は、少なくとも10%だけ、より好ましくは少なくとも25%、なおり好ましくは少なくとも50%だけであり、最も好ましくは、当該機能は、少なくとも75%だけ阻害される。

【0037】

本発明による方法において、本発明において使用される相乗的組み合わせは、式(1)の化合物の1日投与用量に対する化学療法剤の1日投与用量の重量対重量比が、約0.0001:1～1000:1の範囲である。当該比は、約0.001:1～約100:1、例えば、約0.01:1～約10:1、例えば約0.1:1～約1:1であってよい。連日投与は、同時、連続または非連続であってよい。

【0038】

化学療法剤及び式(1)の化合物は、inv(16)白血病細胞の増殖を阻害するときに効果的であることが別個に示されているが、組み合わされると、結果は、加法を超えるものであり、相乗的である。本発明による処置の方法における使用に必要とされる、式(1)の化合物及び化学療法剤またはその塩の相乗的組み合わせの量は、投与経路、処置される状態の性質、ならびに患者の年齢及び状態によって変動してよく、最終的には、主治医または臨床医の裁量によるであろう。急性骨髄性白血病患者を、体表面積の平方メートル当たり45～50mgの用量でダウノルビシンによって3日間処置し、加えて、平方メートル当たり100～200mgの用量でシタラビンによって7～10日間処置することが標準的技法である（Lowemberg, 2009.）。本発明による処置の方法において、化学療法剤の1日投与用量は約10mg/m²～約10,000mg/m²である。例えば、1つの処置方法は、約20～約1000mg/m²の1日用量での化学療法剤の投与を含む。処置の方法は、約25、30、45、50, 100, 150, 250, 450, 750または900mg/m²の1日用量での化学療法剤の投与を含む。化学療法

剤の投与は、静脈内注射、静注、ボーラス注射または皮下注射によってなされ得る。本発明による処置の方法において、式(1)の化合物の1日投与用量は、約10mg/m²～約10,000mg/m²である。例えば、1つの処置方法は、約20～約1000mg/m²の1日用量での式(1)の化合物の投与を含む。1つの処置方法は、約25、30、45、50、100、150、250、450、750または900mg/m²の1日用量での式(1)の化合物の投与を含む。処置の方法において、化学療法剤の投与は、1、2及び3日目に1日1回であるが、式(1)の化合物の投与は、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、またはそれより多くの間、1日1回行う。式(1)の化合物の投与の継続期間は、当業者によって決定されてよく、必要に応じて継続されてよい。1つの処置方法において、化学療法剤の投与は、1及び2日目に1日1回であるが、式(1)の化合物の投与は、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、またはそれより多くの間、1日1回行う。1つの処置方法において、化学療法剤の投与は、1日目に1日1回であるが、式(1)の化合物の投与は、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、またはそれより多くの間、1日1回行う。

10

【0039】

本発明による処置の方法において、式(1)の化合物及び化学療法剤は、同時に投与され、または、まず式(1)の化合物を投与し、続いて化学療法剤を投与することによって逐次的に投与される。本発明による処置の方法において、式(1)の化合物及び化学療法剤は、同時に投与されてもよい。本発明による代替の方法において、式(1)の化合物及び化学療法剤は、まず式(1)の化合物を投与し、続いて化学療法剤を投与することにより、逐次的に投与されてよい。本発明の処置の他の方法によると、さらなる治療的に有効な量の式(1)の化合物が、化学療法剤を投与した後、1日以上の間、連日投与されてもよい。例えば、本発明による処置の方法において、式(1)の化合物が投与され、続いて化学療法剤が投与され、続いて、1日以上の間、式(1)の化合物が連日投与される。本発明の処置の方法の別の例として、式(1)の化合物及び化学療法剤が同時に投与され、続いて、1日以上の間、式(1)の化合物が連日投与される。

20

【0040】

所望の用量は、簡便に、単回用量で、または、適切な間隔で投与される分割用量として、例えば、1日当たり2、3、4、もしくはそれを超えるサブ用量として提示され得る。サブ用量自体は、例えば、多数の別個の大まかに間隔をあけた投与；例えば、複数回の注射；にさらに分割されてよい。

30

【0041】

本発明による方法において、in vitro(16)白血病に罹患している対象からの細胞の増殖の程度は、当業者に公知の技術を使用して測定される。in vitro(16)白血病のマウスモデルを使用した、白血病を引き起こす細胞と称される特定の細胞集団は、適切な動物モデルとして同定及び受容されている(Kuo, Y. H., et al., 2006.)。この細胞集団は、in vitro(16)を保持しているが、疾患に関連する二次変異を保有していない。かかる二次変異の取得に際し、これらの細胞は、顕性白血病に進行し得る。これらの細胞はまた、常套的な細胞毒性化学療法に典型的にはより耐性でもあり、そのため、細胞のプールを提示し、これから再発が起こり得る。細胞は、血液、脾臓、骨髄、及び/または髄液から測定用に抽出されてよい。例えば、in vitro(16)白血病を有する対象から抽出したLin-Scal-Kit+細胞の集団は、フローサイトメトリーを使用して測定される。Lin-Scal-c-Kit+細胞集団は、白血病を引き起こす細胞(LIC)及び白血病幹細胞(LSC)集団に富んでいる。

40

【0042】

本発明による処置の方法において、式(1)の化合物及び化学療法剤は、式(1)の化合物、化学療法剤、及び薬学的に許容可能な担体を含む医薬組成物において投与される。本発明による処置の他の方法においては、式(1)の化合物が、式(1)の化合物及び薬学的に許容可能な担体を含む医薬組成物において投与され、化学療法剤が、化学療法剤及び薬学的に許容可能な担体を含む医薬組成物において後に投与される。本発明による方法

50

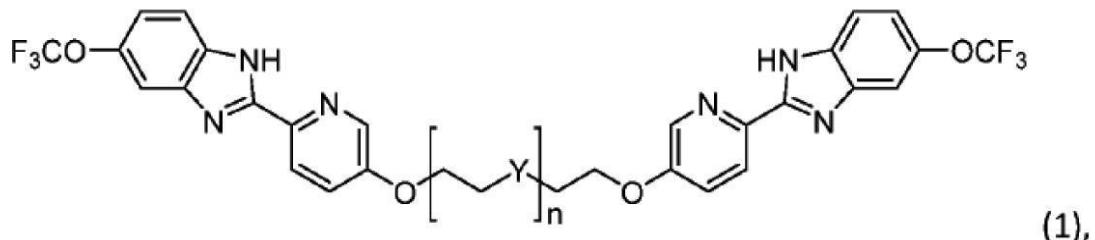
において、薬剤の投薬処方は、同じであっても異なっていてもよい。例えば、化学療法剤及び式(1)の化合物は、両方が、非経口送達用の液剤として処方される。代替的には、化学療法剤が、液剤として処方され、式(1)の化合物が、錠剤として処方される。

(0 0 4 3)

本発明の別個の実施形態は、薬学的に許容可能な担体、及び

a) 式(1)の化合物

【化 9】



10

式中、Yは、O、NH、またはNRであり、ここで、Rがメチルまたはエチルであり

n は 1 ~ 10 の整数である；

またはその薬学的に許容可能な塩；と

20

b) ピラルビシン、アクラルビシン、ミトキサントロン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、イダルビシン、エピルビシン、シタラビン、またはその薬学的に許容可能な塩からなる群から選択される化学療法剤；と

の治療的に有効な組み合わせを含む医薬組成物であって、

式(1)の化合物において及び化学療法剤が、inv(16)白血病細胞の成長を阻害するのに相乗的に有効な組み合わせ量で存在する、上記医薬組成物である。

(0 0 4 4)

本発明による医薬組成物は、式(1)の化合物と化学療法剤との相乗的組み合わせを含有するいずれの医薬品形態であってもよい。医薬組成物は、例えば、錠剤、カプセル、液体懸濁液、注射可能組成物、局所組成物、吸入可能組成物または経皮組成物であってよい。液体医薬組成物が調製されてもよい。医薬組成物は、例えば、約0.1%～約99.9重量%の組み合わせ量の式(1)の化合物及び化学療法剤、例えば、約0.5%～約99重量%の組み合わせ量の式(1)の化合物及び化学療法剤、例えば、99.5%～0.5重量%の少なくとも1つの好適な薬学的賦形剤を概して含有する。一実施形態において、上記組成物は、以下に議論するように、残りが、少なくとも1つの好適な薬学的賦形剤または少なくとも1つの他のアジュバントである、約5%～約75重量%の間の組み合わせ量の式(1)の化合物及び化学療法剤であってよい。

【 0 0 4 5 】

医薬組成物の種類に応じて、薬学的に許容可能な担体は、当該分野において公知の担体のいずれか1つまたは組み合わせから選択されてよい。薬学的に許容可能な担体の選択は、医薬品形態及び使用される所望の投与方法に依る。

〔 0 0 4 6 〕

好適な液体医薬組成物は、例えば、シクロデキストリンなどの薬物水溶性を改善する可溶化剤を含有する。シクロデキストリンの1つの非限定例は、-シクロデキストリン(-CD)の、ポリアニオン性の可変的に置換されたスルホブチルエーテルである(Captisol(登録商標))。

[0 0 4 7]

本発明の固体医薬組成物では、固体医薬組成物における担体は、式(1)の化合物または化学療法剤のいずれも実質的に改変すべきではない。当該担体は、例えば、任意の望ましくない生物学的効果を生じること、またはさもなければ医薬組成物の任意の他の成分(

30

40

50

複数可)と有害に相互作用することによって、使用される式(1)の化合物または化学療法剤と非相溶性になつてはならない。

【0048】

本発明の医薬組成物は、医薬製剤分野において公知の方法によって調製されてよく、例えば、参照によって本明細書に組み込まれる、Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., (Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1990)を参照されたい。本発明の医薬組成物の好適な固体剤形には、少なくとも1つの薬学的に許容可能な賦形剤、例えば、クエン酸ナトリウムもしくはリン酸二カルシウムなど、あるいは、(a)充填剤もしくは增量剤、例えば、デンプン、ラクトース、スクロース、グルコース、マンニトール、及びケイ酸など、(b)結合剤、例えば、セルロース誘導体、デンプン、アルギン酸塩、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、スクロース、及びアカシアガムなど、(c)保湿剤、例えば、グリセロールなど、(d)崩壊剤、例えば、寒天、炭酸カルシウム、ジャガイモまたはタピオカデンプン、アルギン酸、クロスカルメロースナトリウム、複合シリケート、及び炭酸ナトリウムなど、(e)溶液遅延剤、例えば、パラフィンなど、(f)吸収促進剤、例えば、第4級アンモニウム化合物など、(g)湿潤剤、例えば、セチルアルコール、及びモノステアリン酸グリセロール、ステアリン酸マグネシウムなど、(h)吸着剤、例えば、カオリン及びベントナイトなど、ならびに(i)滑沢剤、例えば、タルク、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、固体ポリエチレングリコール、ラウリル硫酸ナトリウム、またはこれらの混合物が含まれる。カプセル、錠剤、及び丸薬の場合、上記剤形は、緩衝剤を含んでいてもよい。

10

20

30

【0049】

医薬製剤分野において公知の薬学的に許容可能なアジュバントは、本発明の医薬組成物において使用されてもよい。これらとして、限定されないが、保存、湿潤、懸濁、甘味、香味、香料、乳化、及び分散剤が挙げられる。微生物の作用の防止は、種々の抗菌及び抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸などの包含により保証されてよい。等張剤、例えば、糖、塩化ナトリウムなどを含むことが望ましい場合もある。所望により、本発明の医薬組成物はまた、少量の補助物質、例えば、湿潤または乳化剤、pH緩衝剤、酸化剤など、例えば、クエン酸、モノステアリン酸ソルビタン、オレイン酸トリエタノールアミン、ブチル化ヒドロキシトルエンなどを含有していてもよい。

【0050】

上記に記載されている固体剤形は、医薬分野において公知であるように、コーティング及びシェル、例えば、腸溶性コーティングなどを用いて調製されてよい。これら固体剤形は、緩和剤を含有していてよく、また、活性化合物または複数の活性化合物を、腸管のある一定の部分において、遅延して放出するような組成物を有することもできる。使用され得る埋め込み組成物の非限定例は、ポリマー物質及びワックスである。活性化合物はまた、適切な場合、上記の賦形剤のうち1つ以上を有する、マイクロカプセル化形態であつてもよい。

30

40

【0051】

好適な懸濁液は、懸濁剤、例えば、エトキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビトール及びソルビタンエステル、微結晶性セルロース、メタ水酸化アルミニウム、ベントナイト、寒天及びトラガカント、またはこれらの物質の混合物などを含有していてよい。液体剤形は、水性であつてよく、薬学的に許容可能な溶媒、ならびに、限定されないが、緩衝剤、風味剤、甘味剤、保存料、及び安定剤を含めた、当該分野において公知の慣例的な液体剤形賦形剤を含有していてよい。

【0052】

カプセル、錠剤、丸薬、粉末、顆粒、及び懸濁液を含めた、経口投与用の剤形が使用されてよい。本発明による好適な医薬組成物は、液体または注射可能な医薬組成物として製剤化されてもよい。投与は、許容されている投与形態または同様の利用性を与える薬剤の

50

いずれかを介して実施されてよい。そのため、投与は、例えば、経口、頬側、または非経口（静脈内、筋肉内、腹腔内、もしくは皮下）、固体、半固体、凍結乾燥粉末、または液体剤形の形態、例えば、錠剤、丸薬、軟質弾性及び硬質ゼラチンカプセル、粉末、液剤、懸濁液、またはエアロゾルなど、例えば、正確な投薬量の簡単な投与に好適な単位剤形であってよい。1つの投与経路は、処置される状態の重篤さの程度によって調整され得る簡便な1日投薬量レジメンを使用した、経口投与であってよい。

【0053】

概して、本発明による医薬組成物において、液体組成物、例えば、注射可能な液剤中の、本発明の式(1)の化合物及び化学療法剤の組み合わせ濃度は、約0.1～25重量%、好ましくは約0.5～10重量%である。半固体または固体組成物、例えば、ゲルまたは粉末における濃度は、約0.1～5重量%、好ましくは約0.5～2.5重量%である。

10

【実施例】

【0054】

実施例1：マウスにおける白血病移植研究

【0055】

動物を用いた実験を、University of Massachusetts Institutional Animal Care and Use Committeeによってレビュー及び承認されているプロトコルにしたがって実施した。in vivo (16) AMLの有効なマウスモデルを使用した(L. Xue, et al., 2014.)。白血病細胞を持つCbf^b^{+/MYH11}及びNras^{+/G12D}発がん性対立遺伝子を、先に記載されているように、CD45.2 C57BL/6マウスにおいて発生させた(111endula, et al., 2015.)。簡潔には、2×10³ Cbf^b^{+/MYH11}; Nras^{+/G12D}白血病細胞を、16匹の亜致死的に照射された6～8週齢のCD45.1 C57BL/6雌性マウスの各々に移植した。移植後5日で、マウスを、各群において4匹のマウスを含む4群: DMSO(対照、50 μL)、Dox、AI-10-49、及びDox+AI-10-49; に分けた。両方のDox群には、移植後5日間、単回用量のドキソルビシン(2mg/kg)を与えた。両方のAI-10-49群には、DMSO中の1日用量のAI-10-49(200mg/kg)を、腹腔内注射により10日間与えた。この10日の期間の後、全てのマウスを犠牲にし、いくつかの尺度を介して白血病負荷について分析した。マウスを二人以上による観察下に置いて中央値の白血病潜伏期間を求める、運動及び身繕い行動の低減、背中の丸まり、青ざめた足(貧血)、ならびに低体温を含めた疾患の兆候が検出されたら安楽死させた。安楽死のとき、末梢血及び脾臓細胞を抽出し、先に記載されているように分析した(Y. H. Kuo, et al., 2006.)。白血病負荷を、合計白血球数、c-Kit(+) - ゲート化集団における細胞数、脾臓重量及び細胞数、ならびに脾臓Lin-Sca1-c-Kit⁺集団を測定することによって末梢血において分析した。Kit⁺及びLin-Sca1-c-Kit⁺の結果については、フローサイトメトリーを使用して効果を測定した。

20

【0056】

白血球数を図1に示すように測定した。白血球数は、AI-10-49及びDoxの両方の群において低減した。Dox及びAI-10-49の組み合わせは、WBCの低減において相加効果を示した。

30

【0057】

c-Kit⁺細胞集団を図2に示すように評価した。c-Kit⁺細胞集団は、白血病細胞を含有する富化画分である。ここで、個々の薬剤は効果を及ぼし、組み合わせは、相加効果を示した。

【0058】

脾臓重量及び細胞数を図3に示すように評価した。これらは、白血病患者において上昇する。脾臓細胞は、WBC及びc-Kit⁺細胞について見られるのと同様の相加効果を示し、脾臓重量は、単一の薬剤のいずれかと比較して組み合わせの相乗効果を示した。

50

【0059】

最後に、Lin-Sea1-c-Kit+細胞集団への効果を図4に示す。この細胞集団は、白血病を引き起こす細胞(LIC)または白血病幹細胞(LSC)が富化されている。ここで、これらの細胞数への明らかな相乗効果がDox+AI-10-49によって観察された一方で、AI-10-49単独では若干の効果が見られたのみであり、Dox単独では効果が見られなかった。

【0060】

ドキソルビシンは、inv(16)AML患者のための現在の標準治療の成分であるため、本発明者らは、標的化されたCBF-SMMHC阻害剤、AI-10-49と、ドキソルビシンとを組み合わせることによって効能の増大を示している。総合すれば、これらの結果は、転帰を改善するための、患者におけるAI-10-49とドキソルビシンとの組み合わせの有用性を強く主張している。特に、最後の結果は、上記組み合わせが、再発を駆動する白血病細胞のリザーバーであるLIC集団を効果的に標的化し得ることを主張している。これは、上記組み合わせが、inv(16)AML患者について転帰を改善し得ることを強く主張している。

10

【0061】

実施例2：inv(16)+細胞株ME-1の増殖への効果

【0062】

ME-1細胞(inv(16)+)(DSMZ, Germany)を、20%ウシ胎仔血清及び25mM HEPESを含むRPMI1640中で培養した。5×10⁵個のME-1細胞を、96ウェルプレートを使用して、DMSO、または示したような異なる添加順序による異なる組み合わせにおいて、24時間培養した。細胞を合計4日間インキュベートし、増殖を、MTTキット、CellTiter 96(登録商標)AQueous One Solution(Promega, PA)を使用して測定した。化合物を、1日目のみ、2日目のみ、または1日目に両方を添加し、組み合わせのタイミングのあらゆる効果をアセスメントした。実験を少なくとも2回再現した。

20

【0063】

図5に示すように、同時に添加したAI-10-49+ドキソルビシンの組み合わせ、ならびにAI-10-49、続いて二日目にドキソルビシンを添加したときに関する相乗効果を観察した。一方で、ドキソルビシン、続いてのAI-10-49の添加は、別個に添加した各成分と同等の阻害を示した。

30

【0064】

実施例3：N-メチル-2-((6-(5-(トリフルオロメトキシ)-1H-ベンゾ[ジ]イミダゾール-2-イル)ピリジン-3-イル)オキシ)-N-((5-(トリフルオロメトキシ)-1H-ベンゾ[ジ]イミダゾール-2-イル)ピリジン-3-イル)オキシ)エチル)エタン-1-アミン(AI-14-124)の合成

【0065】

合成を、先に記載されている方法によって2ステップで達成した(11endula, et al., 2015.)。ステップ1において、ジアルデヒド、5,5'-((メチルアザンジイル)ビス(エタン-2,1-ジイル))ビス(オキシ)ジピコリンアルデヒド(AI-14-118)を、市販の中間体、5-ヒドロキシピコリンアルデヒド及び2-クロロ-N-(2-クロロエチル)-N-メチルエタン-1-アミンから合成した。こうして合成したアルデヒドを次のステップに運んだ。ステップ2において、AI-14-124をニトロアニリン(0.22g、1mmol)及びジアルデヒドAI-14-118(0.16g、0.5mmol)から合成し、良好な収率であった(0.13g、40%)。融点139-142；¹H NMR(800 MHz, CD₃OD-d₄)：δ 2.54(3H, s), 3.03-3.04(2H, t), 4.30-4.31(2H, t), 7.11(1H, s), 7.40-7.60(3H, m), 8.13-8.14(1H, d, J=8.64 Hz), 8.36(1H, d, J=3.3 Hz); ¹³C NMR(800 MHz, CD₃OD-d₄)

40

50

: 44.00, 57.40, 68.05, 105.91, 112.15, 11
 8.11, 121.67, 122.75, 123.72, 134.48, 135.
 71, 139.64, 141.56, 146.49, 154.61, 157.67
 . HRMS: m/z [M+H]⁺, C₃₁H₂₅F₆N₇O₄についての計算値; 67
 4.1945; 実測値: 674.1947

【0066】

参考文献

1. Illeendula, A., Pulikkann, J.A., Zong, H., Grembecka, J., Xue, L., Sen, S., Zhou, Y., Boulton, A., Kuntimaddi, A., Gao, Y., Rajewski, R.A., Guzman, M.L., Castillo, L.H., Bushweller, J.H., (2015). Science 347, 779-784.
2. F. Ravandi, A. K. Burnett, E. D. Agura, H. M. Kantarjian, Cancer 110, 1900-1910 (2007).
3. Pulsoni, A., S. lacobelli, et al., (2008). Haematologica 93(7): 1025-32.
4. Farag, S. S., k. J. Archer, et al., (2006). Blood 108(1): 63-73.
5. Nakano, Y., H. Kiyo, et al., (1999). Br J Haematol 104(4): 659-64.
6. Kottaridis, P. D., R. E. Gale, et al., (2002). Blood 100(7): 2393-8.
7. Shih et al., (2008). Leukemia 22(2): 303-7.
8. Mammen, M., S. k. Choi, et al., (1998). Angewandte Chemie International Edition 37(20): 2755-2794.
9. Kiesling, L. L., J. E. Gestwicki, et al., (2006). Angewandte Chemie International Edition 45(15): 2348-2368.
10. Lukasik, S. M., L. Zhang, et al., (2002). Nat Struct Biol 9(9): 674-9.
11. Shigesada, K., B. van de Sluis, et al., (2004). Oncogene 23(24): 4297-307.
12. Mulder, A., T. Auletta, et al., (2004). Journal of the American Chemical Society 126(21): 6627-6636.
13. Pigneux, A., et al., Haematologica 2007, 92: 1327-1334.
14. McGowan et al., Cardiovasc Drugs Ther. (2017) 31: 63-75.
15. Minotti et al., (2004) Pharmacol. Rev. 56(2): 185-229.
16. Gewirtz D. A., (1999) Biochem Pharmacol 57: 727-741.
17. Lowenberg, B. et al., (2009), NEJM 361: 1235-48.
18. Kuo, Y. H., et al., Cancer Cell, (2010) 17: 11-20.

0 6) 9 (1) : p . 5 7 6 8 .
 1 9 . L . X u e , J . A . P u l i k k a n , P . J . V a l k ,
 L . H . C a s t i l l a , B l o o d 1 2 4 , 4 2 6 4 3 6 (2 0 1 4)
 .

【図1】

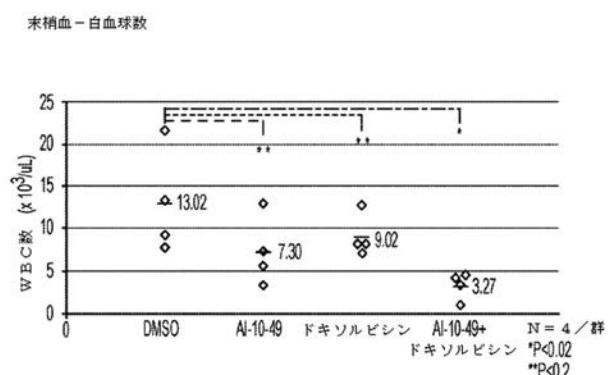


図1

【図2】

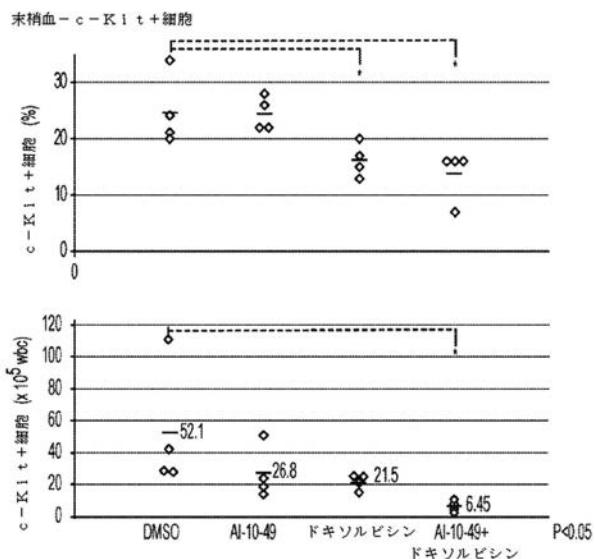


図2

【図3】

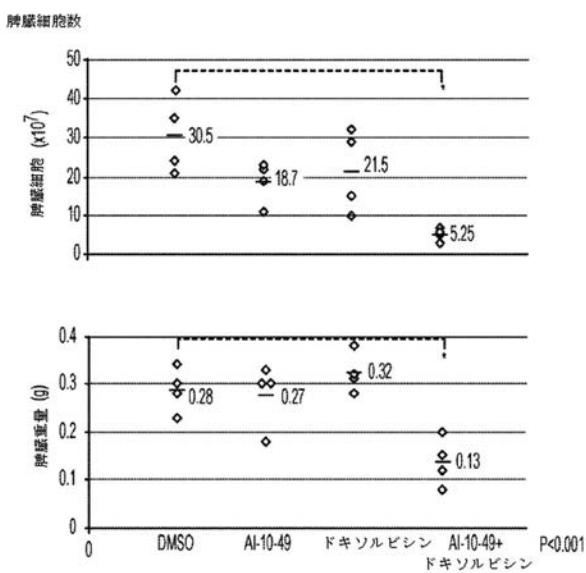


図3

【図4】

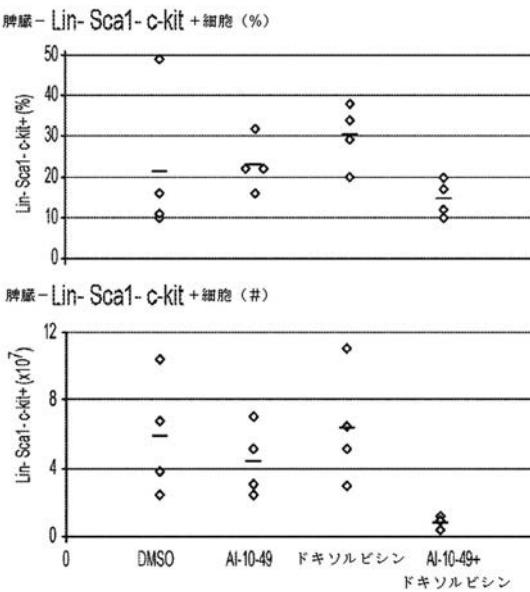


図4

【図5】

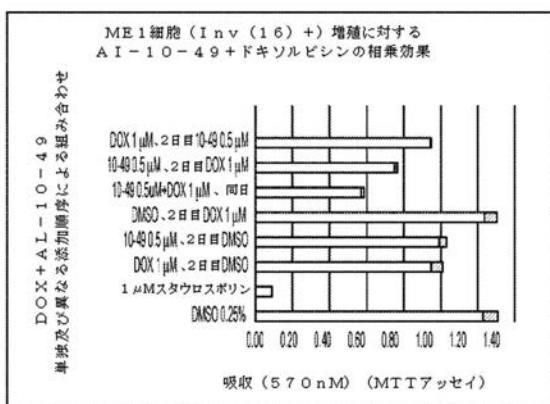


図5

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2017/044124												
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 31/4439; C07D 403/14; A61K 31/44; A61P 35/02 (2017.01) CPC - A61K 31/4439; A61K 31/44; C07D 401/14 (2017.08)														
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) See Search History document														
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 practicable, search terms used) See Search History document														
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Category*</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="padding: 2px;">Y</td> <td style="padding: 2px;">US 2014/0243331 A1 (UNIVERSITY OF VIRGINIA PATENT FOUNDATION) 28 August 2014 (28.08.2014) entire document</td> <td style="padding: 2px;">1, 2, 4-6, 16</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">Y</td> <td style="padding: 2px;">US 2008/0161252 A1 (REDDY et al) 03 July 2008 (03.07.2008) entire document</td> <td style="padding: 2px;">1, 2, 4-6, 16</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">A</td> <td style="padding: 2px;">US 5,643,935 A (DYKSTRA et al) 01 July 1997 (01.07.1997) entire document</td> <td style="padding: 2px;">1, 2, 4-6, 16</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	Y	US 2014/0243331 A1 (UNIVERSITY OF VIRGINIA PATENT FOUNDATION) 28 August 2014 (28.08.2014) entire document	1, 2, 4-6, 16	Y	US 2008/0161252 A1 (REDDY et al) 03 July 2008 (03.07.2008) entire document	1, 2, 4-6, 16	A	US 5,643,935 A (DYKSTRA et al) 01 July 1997 (01.07.1997) entire document	1, 2, 4-6, 16
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.												
Y	US 2014/0243331 A1 (UNIVERSITY OF VIRGINIA PATENT FOUNDATION) 28 August 2014 (28.08.2014) entire document	1, 2, 4-6, 16												
Y	US 2008/0161252 A1 (REDDY et al) 03 July 2008 (03.07.2008) entire document	1, 2, 4-6, 16												
A	US 5,643,935 A (DYKSTRA et al) 01 July 1997 (01.07.1997) entire document	1, 2, 4-6, 16												
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.														
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent 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 "&" document member of the same patent family														
Date of the actual completion of the international search 01 November 2017	Date of mailing of the international search report 17 NOV 2017													
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Blaine R. Copenheaver PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774													

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2017/044124						
Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)								
<p>This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <input type="checkbox"/> Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely: 2. <input type="checkbox"/> Claims Nos.: 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: 3. <input checked="" type="checkbox"/> Claims Nos.: 7-14 because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a). 								
Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)								
<p>This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:</p> <p>See Extra Sheet</p> <p>Claims 1, 2, 4-6, and 16 have been analyzed subject to the restriction that the claims read on a method of treating inv(16) leukemia comprising the step of: administering to a subject in need thereof a therapeutically effective combination of a) a compound of the formula (1) where Y is O; where n is 1, or a pharmaceutically acceptable salt thereof; and b) a chemotherapeutic agent selected as pirarubicin; wherein the therapeutically effective combination of the compound of formula (1) and the chemotherapeutic agent synergistically inhibits proliferation of inv(16) leukemia cells; and pharmaceutical compositions thereof.</p>								
<ol style="list-style-type: none"> 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 additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees. 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 checked="" 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.: 1, 2, 4-6, 16 								
<p>Remark on Protest</p> <table border="0"> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td>The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td>The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td>No protest accompanied the payment of additional search fees.</td> </tr> </table>			<input type="checkbox"/>	The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.	<input type="checkbox"/>	The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.	<input type="checkbox"/>	No protest accompanied the payment of additional search fees.
<input type="checkbox"/>	The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.							
<input type="checkbox"/>	The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.							
<input type="checkbox"/>	No protest accompanied the payment of additional search fees.							

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2017/044124

Continued from Box No. III Observations where unity of invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees need to be paid.

Group I+: claims 1-6, 15, and 16 are drawn to methods of treating inv(16) leukemia and pharmaceutical compositions thereof.

The first invention of Group I+ is restricted to a method of treating inv(16) leukemia comprising the step of: administering to a subject in need thereof a therapeutically effective combination of a) a compound of the formula (1) where Y is O; where n is 1, or a pharmaceutically acceptable salt thereof; and b) a chemotherapeutic agent selected as pirarubicin; wherein the therapeutically effective combination of the compound of formula (1) and the chemotherapeutic agent synergistically inhibits proliferation of inv(16) leukemia cells; and pharmaceutical compositions thereof. It is believed that claims 1, 2, 4-6, and 16 read on this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they read on the above embodiment.

Applicant is invited to elect additional formula(e) for each additional compound to be searched in a specific combination by paying an additional fee for each set of election. Each additional elected formula(e) requires the selection of a single definition for each compound variable. An exemplary election would be a method of treating inv(16) leukemia comprising the step of: administering to a subject in need thereof a therapeutically effective combination of a) a compound of the formula (1) where Y is O; where n is 10, or a pharmaceutically acceptable salt thereof; and b) a chemotherapeutic agent selected as pirarubicin; wherein the therapeutically effective combination of the compound of formula (1) and the chemotherapeutic agent synergistically inhibits proliferation of inv(16) leukemia cells. Additional formula(e) will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that read on any additional elected inventions. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which read on the first named invention if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined.

The inventions listed in Groups I+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1, because under PCT Rule 13.2 they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The Groups I+ formulae do not share a significant structural element requiring the selection of alternatives for the chemotherapeutic agent and compound variables Y and n.

The Groups I+ share the technical features of a method of treating inv(16) leukemia comprising the step of: administering to a subject in need thereof a therapeutically effective combination of a) a compound of the formula (1) or a pharmaceutically acceptable salt thereof; and b) a chemotherapeutic agent selected from the group consisting of pirarubicin, aclarubicin, mitoxantrone, doxorubicin, daunorubicin, idarubicin, epirubicin, cytarabine, pharmaceutically acceptable salts and mixtures thereof; wherein the therapeutically effective combination of the compound of formula (1) and the chemotherapeutic agent synergistically inhibits proliferation of inv(16) leukemia cells; a method of treating inv(16) leukemia comprising the step of: administering to a subject in need thereof a therapeutically effective combination of a) a compound of formula (1a) or a pharmaceutically acceptable salt thereof, b) doxorubicin or a pharmaceutically acceptable salt thereof; wherein the therapeutically effective combination of the compound of formula (1a) and the doxorubicin synergistically inhibit proliferation of inv(16) leukemia cells; and a pharmaceutical composition comprising: a pharmaceutically-acceptable carrier and a therapeutically effective combination of: a) a compound of the formula (1) or a pharmaceutically-acceptable salt thereof; and b) a chemotherapeutic agent selected from the group consisting of pirarubicin, aclarubicin, mitoxantrone, doxorubicin, daunorubicin, idarubicin, epirubicin, cytarabine, or a pharmaceutically acceptable salt thereof; and a pharmaceutically acceptable excipient; wherein the compound of formula (1) and the chemotherapeutic agent are present in a combined amount synergistically effective to inhibit proliferation of inv(16) leukemia cells. However, these shared technical features do not represent a contribution over the prior art.

Specifically, US 2014/0243331 A1 to University of Virginia Patent Foundation teaches a method of treating inv(16) leukemia (Abstract; Claim 3) comprising the step of: administering to a subject in need thereof (Abstract; Claim 3) a therapeutically effective combination of a) a compound of the formula (1) where Y is O, where n is 1 (Para. [0130], Al-10-49,..see shown structure...), and b) a chemotherapeutic agent selected from daunorubicin (Para. [0164]); and the chemotherapeutic agent synergistically inhibits proliferation of inv(16) leukemia cells (Paras. [0125] and [0197]); and a pharmaceutical composition (Paras. [0122] and [0279]) comprising: a pharmaceutically-acceptable carrier (Para. [0279]) and a therapeutically effective combination of: a) a compound of the formula (1) (Para. [0130], Al-10-49,..see shown structure...); and b) a chemotherapeutic agent selected from daunorubicin (Para. [0164]); and the chemotherapeutic agent synergistically inhibits proliferation of inv(16) leukemia cells (Paras. [0125] and [0197]).

Additionally, US 5,843,935 A to Dykstra et al. teach a combination of a bis benzimidazol pyridine compound (Col. 3, Ln. 55 through Col. 4, Ln. 5) and doxorubicin (Col. 8, Lns. 9-19).

The inventions listed in Groups I+ therefore lack unity under Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

フロントページの続き

(51) Int.CI.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 31/7048 (2006.01)	A 6 1 K 31/704	
A 6 1 K 31/136 (2006.01)	A 6 1 K 31/7048	
A 6 1 K 47/55 (2017.01)	A 6 1 K 31/136 A 6 1 K 47/55	

(81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,R0,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,C1,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT

F ターム(参考) 4C076 CC27 CC41 EE59
 4C086 AA01 AA02 BC39 EA10 EA11 EA17 GA07 GA08 GA16 MA02
 MA03 MA04 MA05 NA05 ZB21 ZB27 ZC75
 4C206 AA01 AA02 FA31 MA02 MA03 MA04 MA05 NA05 ZB21 ZB27
 ZC75