

(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2013-542262

(P2013-542262A)

(43) 公表日 平成25年11月21日(2013.11.21)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/5355 (2006.01)	A 6 1 K 31/5355	4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/573 (2006.01)	A 6 1 K 31/573	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 46 頁)

(21) 出願番号	特願2013-538921 (P2013-538921)	(71) 出願人	500039463
(86) (22) 出願日	平成23年11月11日 (2011.11.11)		ボード・オブ・リージェンツ, ザ・ユニバ ーシテイ・オブ・テキサス・システム
(85) 翻訳文提出日	平成25年7月9日 (2013.7.9)		アメリカ合衆国、テキサス・78701、 オースティン、ウエスト・セブンス・スト リート・201
(86) 国際出願番号	PCT/US2011/060297	(74) 代理人	110000800
(87) 国際公開番号	W02012/065021		特許業務法人創成国際特許事務所
(87) 国際公開日	平成24年5月18日 (2012.5.18)	(72) 発明者	イ、チン
(31) 優先権主張番号	61/413,260		アメリカ合衆国、テキサス・77584 、パーランド、ニューブルック・ドライブ ・3023
(32) 優先日	平成22年11月12日 (2010.11.12)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	61/420,089		
(32) 優先日	平成22年12月6日 (2010.12.6)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 デキサメタゾン併用療法

(57) 【要約】

本発明は、対象が治療されるように、本明細書に記載される、(1)ある量の化学式(I)の化合物、及び/又はその立体異性体、互変異性体、もしくは薬学的に許容される塩と、(2)ある量のデキサメタゾン及び/又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、代謝産物、もしくはラセミ化合物とを、対象に投与することを含む、対象における多発性骨髄腫の治療方法に関する。別の態様において、対象が治療されるように、(1)ある量の化学式(I)の化合物と、(2)ある量のデキサメタゾンとを対象に投与することを含む、対象における多発性骨髄腫の治療方法、多発性骨髄腫の治療のための前記組み合わせを含む薬学的製剤、及びその組成物が、本明細書に提供される。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

対象における多発性骨髄腫の治療方法であって、

前記対象が治療されるように、(1)ある量の5-(2,6-ジ-モルホリン-4-イル-ピリミジン-4-イル)-4-トリフルオロメチル-ピリジン-2-イルアミン、及び/又はその立体異性体、互変異性体、もしくは薬学的に許容される塩と、

(2)ある量のデキサメタゾン及び/又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、代謝産物、もしくはラセミ化合物とを前記対象に投与することを含むことを特徴とする方法。

【請求項 2】

対象における多発性骨髄腫の治療方法であって、

前記対象が治療されるように、(1)ある量の5-(2,6-ジ-モルホリン-4-イル-ピリミジン-4-イル)-4-トリフルオロメチル-ピリジン-2-イルアミンと、

(2)ある量のデキサメタゾンを前記対象に投与することを含むことを特徴とする治療方法。

10

【請求項 3】

請求項 1 又は 2 に記載の多発性骨髄腫の治療方法であって、

前記治療が、前記量の(1)と、前記量の(2)とを併用投与することを含むことを特徴とする治療方法。

【請求項 4】

請求項 1 又は 2 に記載の多発性骨髄腫の治療方法であって、

前記量の(1)及び前記量の(2)が、単一の製剤又は単位投与形態中にあることを特徴とする治療方法。

20

【請求項 5】

請求項 1 又は 2 に記載の多発性骨髄腫の治療方法であって、

前記量の(1)及び前記量の(2)が、別々の製剤又は単位投与形態中にあることを特徴とする治療方法。

【請求項 6】

請求項 1 又は 2 に記載の多発性骨髄腫の治療方法であって、

前記治療が、前記量の(1)と前記量の(2)とを実質的に同時に投与することを含むことを特徴とする治療方法。

30

【請求項 7】

請求項 1 又は 2 に記載の多発性骨髄腫の治療方法であって、

前記治療が、前記量の(1)と前記量の(2)とを異なる時間に投与することを含むことを特徴とする治療方法。

【請求項 8】

請求項 1 又は 2 に記載の多発性骨髄腫の治療方法であって、

前記量の(1)及び/又は前記量の(2)が、(1)及び(2)の一方又は両方が単独で投与される場合には有効でないが、

それらの量を組み合わせた場合に有効である投与量で投与されることを特徴とする治療方法。

40

【請求項 9】

薬学的製剤であって、

(1)ある量の5-(2,6-ジ-モルホリン-4-イル-ピリミジン-4-イル)-4-トリフルオロメチル-ピリジン-2-イルアミン、及び/又はその立体異性体、互変異性体、もしくは薬学的に許容される塩と、

(2)ある量のデキサメタゾン及び/又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、代謝産物、もしくはラセミ化合物とを含む薬学的製剤であって、

(1)と(2)とを組み合わせた量が、多発性骨髄腫の治療に有効であることを特徴とする薬学的製剤。

【請求項 10】

50

薬学的製剤であって、

(1) ある量の 5 - (2, 6 - ジ - モルホリン - 4 - イル - プリミジン - 4 - イル) - 4 - トリフルオロメチル - プリジン - 2 - イルアミンと、

(2) ある量のデキサメタゾンとを含む薬学的製剤であって、

(1) と (2) とを組み合わせた量が、多発性骨髄腫の治療に有効であることを特徴とする薬学的製剤。

【請求項 11】

請求項 9 又は 10 に記載の薬学的製剤であって、

前記量の (1) と前記量の (2) が、単一の製剤又は単位投与形態中にあることを特徴とする薬学的製剤。

10

【請求項 12】

請求項 9 又は 10 に記載の薬学的製剤であって、

前記製剤又は単位投与形態が、経口製剤又は単位投与形態であることを特徴とする薬学的製剤。

【請求項 13】

請求項 9 又は 10 に記載の薬学的製剤であって、

前記量の (1) 及び / 又は前記量の (2) が、(1) 及び (2) の一方又は両方が単独で投与される場合には有効でないが、

それらの量を組み合わせた場合に有効であることを特徴とする薬学的製剤。

20

【請求項 14】

5 - (2, 6 - ジ - モルホリン - 4 - イル - プリミジン - 4 - イル) - 4 - トリフルオロメチル - プリジン - 2 - イルアミン及びデキサメタゾンを含むことを特徴とする組成物。

【請求項 15】

多発性骨髄腫の治療のための併用療法であって、

5 - (2, 6 - ジ - モルホリン - 4 - イル - プリミジン - 4 - イル) - 4 - トリフルオロメチル - プリジン - 2 - イルアミン及びデキサメタゾンの処置を含むことを特徴とする併用療法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

30

【0001】

(関連出願)

本出願は、「併用療法 (COMBINATION THERAPY)」と題する 2010 年 11 月 12 日に提出された米国仮出願第 61/413,260 号、代理人整理番号 NVT-183-1 を基礎とする優先権を主張する。本出願はまた、「併用療法 (COMBINATION THERAPY)」と題する 2010 年 12 月 6 日に提出された米国仮出願第 61/420,089 号、代理人整理番号 NVT-183-2 を基礎とする優先権も主張する。本明細書を通して引用されるいずれの特許、特許出願、及び参考文献も、参照によってその全体が本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

40

【0002】

ホスファチジルイノシトール 3 - キナーゼ (PI3K) は、細胞代謝において中心的役割を果たす。PI3K は、成長因子、サイトカイン及びそれらの受容体と関連する他の刺激因子によって活性化される。活性化された PI3K は、さらに、Akt - mTOR へのシグナル伝達を開始し、細胞の成長、増殖、及びアポトーシスの調節をもたらす。この経路の異常調節は、多発性骨髄腫 (MM) を含む、様々な種類のヒト癌に広く見られる。したがって、PI3K - Akt 阻害は、広範な抗 MM 活性を発揮することが期待されている。化合物 5 - (2, 6 - ジ - モルホリン - 4 - イル - プリミジン - 4 - イル) - 4 - トリフルオロメチル - プリジン - 2 - イルアミン (化合物 A) は、汎 PI3K 阻害剤である。この化合物は、様々な腫瘍細胞株において顕著な細胞の増殖阻害及びアポトーシスの誘導

50

を示している。化合物 A は、現在、固形腫瘍患者における第 I 相臨床試験が実施されている。

【 0 0 0 3 】

多発性骨髄腫 (M M) は、骨髄中の形質細胞の増殖によって特徴付けられる悪性 B 細胞腫瘍である (非特許文献 1)。M M は、溶解性骨病変、単クローン性免疫グロブリン (I g) の高レベルの産生、及び正常な I g 産生及び造血の抑制を伴う (非特許文献 2)。化学療法は、M M 患者に対する最も従来のな治療法である (非特許文献 3)。しかしながら、化学療法の改善及び新薬物の導入にもかかわらず、M M は未だに不治の病である。米国において、M M は、悪性血液腫瘍に起因する死亡のほぼ 1 0 % を占める (非特許文献 4)。したがって、新たな化学療法剤の開発が、M M 研究において継続的に試みられている。

10

【 先行技術文献 】

【 非特許文献 】

【 0 0 0 4 】

【 非特許文献 1 】 Kyle RA, Rajkumar SV. Multiple myeloma. N Engl J Med. 2004;351(18):1860-1873

【 非特許文献 2 】 Dvorak C. Common complaints, difficult diagnosis: multiple myeloma. J Am Acad Nurse Pract. 2006;18(5):190-194

【 非特許文献 3 】 Jagannath S, Kyle RA, Palumbo A, Siegel DS, Cunningham S, Berenson J. The current status and future of multiple myeloma in the clinic. Clin Lymphoma Myeloma Leuk;10(1):28-43

20

【 非特許文献 4 】 Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. CA Cancer J Clin. 2009;59(4):225-249

【 非特許文献 5 】 Sasaki T, Takasuga S, Sasaki J, et al. Mammalian phosphoinositide kinases and phosphatases. Prog Lipid Res. 2009;48(6):307-343

【 非特許文献 6 】 Di Paolo G, De Camilli P. Phosphoinositides in cell regulation and membrane dynamics. Nature. 2006;443(7112):651-657

【 非特許文献 7 】 Engelman JA, Luo J, Cantley LC. The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism. Nat Rev Genet. 2006;7(8):606-619

30

【 非特許文献 8 】 Bunney TD, Katan M. Phosphoinositide signalling in cancer: beyond PI3K and PTEN. Nat Rev Cancer;10(5):342-352

【 非特許文献 9 】 Engelman JA. Targeting PI3K signalling in cancer: opportunities, challenges and limitations. Nat Rev Cancer. 2009; 9(8):550-562

【 非特許文献 1 0 】 Harvey RD, Lonial S. PI3 kinase/AKT pathway as a therapeutic target in multiple myeloma. Future Oncol. 2007;3(6):639-647

【 非特許文献 1 1 】 Younes H, Leleu X, Hatjiharissi E, et al. Targeting the phosphatidylinositol 3-kinase pathway in multiple myeloma. Clin Cancer Res. 2007;13(13):3771-3775

【 非特許文献 1 2 】 Hideshima T, Nakamura N, Chauhan D, Anderson KC. Biologic sequelae of interleukin-6 induced PI3-K/Akt signaling in multiple myeloma. Oncogene. 2001;20(42):5991-6000

40

【 非特許文献 1 3 】 Descamps G, Pellat-Deceunynck C, Szpak Y, Bataille R, Robillard N, Amiot M. The magnitude of Akt/phosphatidylinositol 3'-kinase proliferating signaling is related to CD45 expression in human myeloma cells. J Immunol. 2004;173(8):4953-4959

【 非特許文献 1 4 】 Harvey RD, Lonial S. PI3 kinase/AKT pathway as a therapeutic target in multiple myeloma. Future Oncol. 2007;3(6):639-647

【 非特許文献 1 5 】 Martindale: The Complete Drug Reference, 37th Edition, published by Pharmaceutical Press

50

- 【非特許文献 1 6】Holford, N.H.G. and Scheiner, L.B., Clin. Pharmacokinet. 6:429-453 (1981)
- 【非特許文献 1 7】Loewe, S. and Muischnek, H., Arch. Exp. Pathol Pharmacol. 114: 313-326(1926)
- 【非特許文献 1 8】Chou, T.C. and Talalay, P., Adv. Enzyme Regul. 22:27-55(1984)
- 【非特許文献 1 9】Zheng Y, Cai Z, Wang S, et al. Macrophages are an abundant component of myeloma microenvironment and protect myeloma cells from chemotherapy drug-induced apoptosis. Blood. 2009;114(17):3625-3628
- 【非特許文献 2 0】Zheng Y, Cai Z, Wang S, et al. Macrophages are an abundant component of myeloma microenvironment and protect myeloma cells from chemotherapy drug-induced apoptosis. Blood. 2009;114(17):3625-3628 10
- 【非特許文献 2 1】Klein B, Zhang XG, Jourdan M, et al. Interleukin-6 is the central tumor growth factor in vitro and in vivo in multiple myeloma. Eur Cytokine Netw. 1990;1(4):193-201
- 【非特許文献 2 2】Gado K, Domjan G, Hegyesi H, Falus A. Role of INTERLEUKIN-6 in the pathogenesis of multiple myeloma. Cell Biol Int. 2000;24(4):195-209
- 【非特許文献 2 3】Frassanito MA, Cusmai A, Iodice G, Dammacco F. Autocrine interleukin-6 production and highly malignant multiple myeloma: relation with resistance to drug-induced apoptosis. Blood. 2001;97(2):483-489
- 【非特許文献 2 4】De Raeye HR, Vanderkerken K. The role of the bone marrow microenvironment in multiple myeloma. Histol Histopathol. 2005;20(4):1227-1250 20
- 【非特許文献 2 5】Mitsiades CS, McMillin DW, Klippel S, et al. The role of the bone marrow microenvironment in the pathophysiology of myeloma and its significance in the development of more effective therapies. Hematol Oncol Clin North Am. 2007;21(6):1007-1034, vii-viii
- 【非特許文献 2 6】O'Connor L, Strasser A, O'Reilly LA, et al. Bim: a novel member of the Bcl-2 family that promotes apoptosis. EMBO J. 1998;17(2):384-395
- 【非特許文献 2 7】Weber A, Paschen SA, Heger K, et al. BimS-induced apoptosis requires mitochondrial localization but not interaction with anti-apoptotic Bcl-2 proteins. J Cell Biol. 2007;177(4):625-636 30
- 【非特許文献 2 8】Dijkers PF, Medema RH, Lammers JW, Koenderman L, Coffey PJ. Expression of the pro-apoptotic Bcl-2 family member Bim is regulated by the forkhead transcription factor FKHR-L1. Curr Biol. 2000;10(19):1201-1204
- 【非特許文献 2 9】Deveraux QL, Roy N, Stennicke HR, et al. IAPs block apoptotic events induced by caspase-8 and cytochrome c by direct inhibition of distinct caspases. EMBO J. 1998;17(8):2215-2223
- 【非特許文献 3 0】Minn AJ, Kettlun CS, Liang H, et al. Bcl-xL regulates apoptosis by heterodimerization-dependent and -independent mechanisms. EMBO J. 1999;18(3):632-643
- 【非特許文献 3 1】Kumar SK, Rajkumar SV, Dispenzieri A, et al. Improved survival in multiple myeloma and the impact of novel therapies. Blood. 2008;111(5):2516-2520 40
- 【非特許文献 3 2】Pene F, Claessens YE, Muller O, et al. Role of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt and mTOR/P70S6-kinase pathways in the proliferation and apoptosis in multiple myeloma. Oncogene. 2002; 21(43): 6587-6597
- 【非特許文献 3 3】Hideshima T, Nakamura N, Chauhan D, Anderson KC. Biologic sequelae of interleukin-6 induced PI3-K/Akt signaling in multiple myeloma. Oncogene. 2001; 20(42):5991-6000
- 【非特許文献 3 4】Mitsiades CS, Mitsiades NS, McMullan CJ, et al. Inhibition of the insulin-like growth factor receptor-1 tyrosine kinase activity as a therapeutic 50

strategy for multiple myeloma, other hematologic malignancies, and solid tumors. Cancer Cell. 2004;5(3):221-230

【非特許文献 3 5】McMillin DW, Ooi M, Delmore J, et al. Antimyeloma activity of the orally bioavailable dual phosphatidylinositol 3-kinase/mammalian target of rapamycin inhibitor NVP-BEZ235. Cancer Res. 2009;69(14):5835-5842

【非特許文献 3 6】Ikeda H, Hideshima T, Fulciniti M, et al. PI3K/p110{delta} is a novel therapeutic target in multiple myeloma. Blood,

【非特許文献 3 7】Cirstea D, Hideshima T, Rodig S, et al. Dual inhibition of akt/mammalian target of rapamycin pathway by nanoparticle albumin-bound-rapamycin and perifosine induces antitumor activity in multiple myeloma. Mol Cancer Ther;9(4): 963-975 10

【非特許文献 3 8】Epstein J, Yaccoby S. Consequences of interactions between the bone marrow stroma and myeloma. Hematol J. 2003;4(5):310-314

【非特許文献 3 9】Dalton WS. Drug resistance and drug development in multiple myeloma. Semin Oncol. 2002;29(6 Suppl 17):21-25

【非特許文献 4 0】Hideshima T, Nakamura N, Chauhan D, Anderson KC. Biologic sequelae of interleukin-6 induced PI3-K/Akt signaling in multiple myeloma. Oncogene. 2001;20(42):5991-6000

【非特許文献 4 1】Kastritis E, Palumbo A, Dimopoulos MA. Treatment of relapsed/refractory multiple myeloma. Semin Hematol. 2009;46(2):143-157 20

【非特許文献 4 2】Sasaki T, Takasuga S, Sasaki J, et al. Mammalian phosphoinositide kinases and phosphatases. Prog Lipid Res. 2009; 48(6):307-343

【非特許文献 4 3】Di Paolo G, De Camilli P. Phosphoinositides in cell regulation and membrane dynamics. Nature. 2006;443(7112):651-657

【非特許文献 4 4】Ludwig H, Beksac M, Blade J, et al. Current multiple myeloma treatment strategies with novel agents: a European perspective. Oncologist;15(1):6-25

【発明の概要】

【0005】

多発性骨髄腫に対する新たな化学療法治療の必要がある。 30

【0006】

したがって、本明細書では、一態様において、対象が治療されるように、ある量の(1)化学式(I)の化合物、及び/又はその立体異性体、互変異性体、もしくは薬学的に許容される塩と、ある量の(2)デキサメタゾン、及び/又は薬学的に許容される塩、溶媒和物、代謝産物、もしくはラセミ化合物とを対象に投与することを含む、対象における多発性骨髄腫の治療方法が提供される。別の態様において、本明細書では、対象が治療されるように、ある量の(1)化学式(I)の化合物とある量の(2)デキサメタゾンとを対象に投与することを含む、対象における多発性骨髄腫の治療方法が提供される。

【0007】

本方法の一実施形態において、対象は、ヒトである。別の実施形態において、本治療は、該量の(1)と該量の(2)とを併用投与することを含む。なお別の実施形態において、該量の(1)と該量の(2)は、単一の製剤又は単位投与形態中にある。さらに別の実施形態において、該量の(1)と該量の(2)は、別々の製剤又は単位投与形態中にある。 40

【0008】

別の実施形態において、本治療は、該量の(1)と該量の(2)とを実質的に同時に投与することを含む。なお別の実施形態において、本治療は、該量の(1)と該量の(2)とを異なる時間に投与することを含む。さらに別の実施形態において、該量の(1)及び/又は該量の(2)は、(1)及び(2)の一方又は両方が単独で投与される場合には有効でないが、それらの量を組み合わせた場合に有効である投与量で投与される。 50

【 0 0 0 9 】

別の態様において、本明細書では、ある量の（１）化学式（Ⅰ）の化合物、及び／又はその立体異性体、互変異性体、もしくは薬学的に許容される塩と、ある量の（２）デキサメタゾン及び／又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、代謝産物、もしくはラセミ化合物とを含む薬学的製剤であって、（１）と（２）とを組み合わせた量が、多発性骨髄腫の治療に有効である、薬学的製剤が提供される。また、別の態様において、本明細書では、ある量の（１）化学式（Ⅰ）の化合物とある量の（２）デキサメタゾンとを含む薬学的製剤であって、（１）と（２）とを組み合わせた量が、多発性骨髄腫の治療に有効である、薬学的製剤が提供される。

【 0 0 1 0 】

薬学的製剤の一実施形態において、該量の（１）と該量の（２）は、単一の薬剤又は単位投与形態中にある。別の実施形態において、この製剤又は単位投与形態は、経口製剤又は単位投与形態である。なお別の実施形態において、該量の（１）及び／又は該量の（２）は、（１）及び（２）の一方又は両方が単独で投与される場合には有効ではないが、それらの量を組み合わせた場合に有効である。

10

【 0 0 1 1 】

別の態様において、（１）化学式（Ⅰ）の化合物と（２）デキサメタゾンとを含む組成物が、本明細書で提供される。さらに別の態様において、化学式（Ⅰ）の化合物とデキサメタゾンとからなる併用療法が、本明細書では提供される。併用療法の一実施形態において、併用療法は、多発性骨髄腫の治療のためのものである。

20

【 0 0 1 2 】

別の態様において、本明細書では、対象が治療されるように、ある量の（１）５ - （２，６ - ジ - モルホリン - ４ - イル - ピリミジン - ４ - イル） - ４ - トリフルオロメチル - ピリジン - ２ - イルアミン、及び／又はその立体異性体、互変異性体、もしくは薬学的に許容される塩と、ある量の（２）デキサメタゾン及び／又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、代謝産物、もしくはラセミ化合物とを対象に投与することを含む、対象における多発性骨髄腫の治療方法が提供される。なお、別の態様において、対象が治療されるように、ある量の（１）５ - （２，６ - ジ - モルホリン - ４ - イル - ピリミジン - ４ - イル） - ４ - トリフルオロメチル - ピリジン - ２ - イルアミンと、ある量の（２）デキサメタゾンとを対象に投与することを含む、対象における多発性骨髄腫の治療方法が提供される。

30

【 0 0 1 3 】

本方法の一実施形態において、対象は、ヒトである。別の実施形態において、本治療法は、該量の（１）と該量の（２）とを併用投与することを含む。なお別の実施形態において、該量の（１）と該量の（２）は、単一の薬剤又は単位投与形態中にある。さらに別の実施形態において、該量の（１）と該量の（２）は、別々の薬剤又は単位投与形態中にある。

【 0 0 1 4 】

別の実施形態において、本治療法は、該量の（１）と該量の（２）とを実質的に同時に投与することを含む。別の実施形態において、本治療法は、該量の（１）と該量の（２）とを異なる時間に投与することを含む。さらに別の実施形態において、該量の（１）及び／又は該量の（２）は、（１）及び（２）の一方又は両方が単独で投与される場合には有効でないが、それらの量を組み合わせた場合に有効である投与量で投与される。

40

【 0 0 1 5 】

別の態様において、ある量の（１）５ - （２，６ - ジ - モルホリン - ４ - イル - ピリミジン - ４ - イル） - ４ - トリフルオロメチル - ピリジン - ２ - イルアミン、及び／又はその立体異性体、互変異性体、もしくは薬学的に許容される塩と、ある量の（２）デキサメタゾン及び／又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、代謝産物、もしくはラセミ化合物とを含む薬学的製剤であって、（１）と（２）とを組み合わせた量が、多発性骨髄腫の治療に有効である、薬学的製剤が、本明細書では提供される。

50

【 0 0 1 6 】

なお別の態様において、ある量の (1) 5 - (2 , 6 - ジ - モルホリン - 4 - イル - ピリミジン - 4 - イル) - 4 - トリフルオロメチル - ピリジン - 2 - イルアミンとある量の (2) デキサメタゾンとを含む薬学的製剤であって、 (1) と (2) とを組み合わせた量が、多発性骨髄腫の治療に有効である、薬学的製剤が、本明細書では提供される。

【 0 0 1 7 】

薬学的製剤の一実施形態において、該量の (1) と該量の (2) は、単一の製剤又は単位投与形態中にある。別の実施形態において、この製剤又は単位投与形態は、経口製剤又は単位投与形態である。なお別の実施形態において、該量の (1) 及び / 又は該量の (2) は、 (1) 及び (2) の一方又は両方が単独で投与される場合には有効でないが、それらの量を組み合わせた場合に有効である。

10

【 0 0 1 8 】

別の態様において、5 - (2 , 6 - ジ - モルホリン - 4 - イル - ピリミジン - 4 - イル) - 4 - トリフルオロメチル - ピリジン - 2 - イルアミン及びデキサメタゾンを含む組成物が、本明細書に提供される。

【 0 0 1 9 】

さらに別の態様において、5 - (2 , 6 - ジ - モルホリン - 4 - イル - ピリミジン - 4 - イル) - 4 - トリフルオロメチル - ピリジン - 2 - イルアミン及びデキサメタゾンを含む併用療法が、本明細書に提供される。併用療法の一実施形態において、組み合わせ療法は、多発性骨髄腫の治療のためのものである。

20

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 2 0 】

【 図 1 A 】化合物 A が MM 細胞の増殖阻害及びアポトーシスを誘導するが、正常な P B M C に対しては細胞毒性が限定的であることを示す。

【 図 1 B 】化合物 A が MM 細胞の増殖阻害及びアポトーシスを誘導するが、正常な P B M C に対しては細胞毒性が限定的であることを示す。

【 図 1 C 】化合物 A が MM 細胞の増殖阻害及びアポトーシスを誘導するが、正常な P B M C に対しては細胞毒性が限定的であることを示す。

【 図 1 D 】化合物 A が MM 細胞の増殖阻害及びアポトーシスを誘導するが、正常な P B M C に対しては細胞毒性が限定的であることを示す。

30

【 図 1 E 】化合物 A が MM 細胞の増殖阻害及びアポトーシスを誘導するが、正常な P B M C に対しては細胞毒性が限定的であることを示す。

【 図 2 A 】B M S C 又は I L - 6 の存在は、化合物 A によって誘導される MM 細胞のアポトーシスを減衰しないことを示す。

【 図 2 B 】B M S C 又は I L - 6 の存在は、化合物 A によって誘導される MM 細胞のアポトーシスを減衰しないことを示す。

【 図 3 A 】化合物 A による治療が G 1 期で細胞周期停止を引き起こすことを示す。

【 図 3 B 】化合物 A による治療が G 1 期で細胞周期停止を引き起こすことを示す。

【 図 4 A 】化合物 A が、MM 細胞中の細胞内シグナリング及びカスパーゼ活性化を誘導したことを示す。

40

【 図 4 B 】化合物 A が、MM 細胞中の細胞内シグナリング及びカスパーゼ活性化を誘導したことを示す。

【 図 4 C 】化合物 A が、MM 細胞中の細胞内シグナリング及びカスパーゼ活性化を誘導したことを示す。

【 図 5 A 】化合物 A 及びデキサメタゾンが、相乗的な抗 MM 活性を有することを示す。

【 図 5 B 】化合物 A 及びデキサメタゾンが、相乗的な抗 MM 活性を有することを示す。

【 図 5 C 】化合物 A 及びデキサメタゾンが、相乗的な抗 MM 活性を有することを示す。

【 図 5 D 】化合物 A 及びデキサメタゾンが、相乗的な抗 MM 活性を有することを示す。

【 図 5 E 】化合物 A 及びデキサメタゾンが、相乗的な抗 MM 活性を有することを示す。

【 図 5 F 】化合物 A 及びデキサメタゾンが、相乗的な抗 MM 活性を有することを示す。

50

【図 6 A】S C I D マウスにおいて確立されている M M モデルにおける化合物 A のインビボ治療効果を示す。

【図 6 B】S C I D マウスにおいて確立されている M M モデルにおける化合物 A のインビボ治療効果を示す。

【図 6 C】S C I D マウスにおいて確立されている M M モデルにおける化合物 A のインビボ治療効果を示す。

【発明を実施するための形態】

【0021】

化学式 (I) の化合物とデキサメタゾンの投与の併用は、対象における多発性骨髄腫の治療に対して驚くべき相乗的な効果を提供することが発見されている。化学式 (I) の化合物の立体異性体、互変異性体、又は薬学的に許容される塩、及びデキサメタゾンの薬学的に許容される塩、溶媒和物、代謝産物、又はラセミ化合物はまた、本明細書に開示される併用療法において使用することもできる。そのようなアプローチ (2 つの種類の薬剤の組み合わせ又は併用投与) は、現在利用可能な療法に対して応答しないか、又はそれに対して耐性がある多発性骨髄腫を患っている個体を治療するのに特に有用であり、また、そのような療法に対して応答する個体に対する現在利用可能な多発性骨髄腫の療法の有効性を改善及び / 又はその副作用を軽減するのに有用である。

10

【0022】

本明細書に使用される特定の用語は、以下に説明されている。本発明の化合物は、正式名称を用いて説明されている。特に定義されない限り、本明細書に使用されるすべての技術用語及び科学用語は、本発明が属する分野における当業者により一般的に理解されるものと同一の意味を有する。

20

【0023】

多発性骨髄腫を治療するための、治療剤の併用及び薬剤の併用投与方法が、本明細書で提供される。本明細書に使用されるように、「薬剤の併用」及び同様の用語は、2 つの種類の薬剤、つまり、(1) 化学式 (I) の化合物及び / 又はその立体異性体、互変異性体、もしくは薬学的に許容される塩と、(2) デキサメタゾン及び / 又はその薬学的に許容される塩との併用を指す。個々の薬剤の異性体又はラセミ混合物の使用もまた、提供される。デキサメタゾンの薬理学的に活性な代謝産物には、それ自体は不活性であるが、投与後の体内で薬理学的に活性のある形態に変換されるものが含まれる。

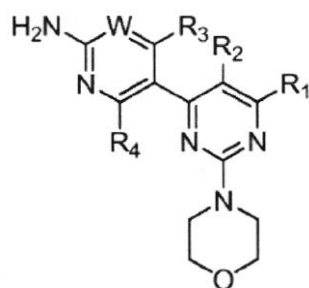
30

【0024】

国際公開第 07 / 084786 号には、ホスファチジルイノシトール 3 - キナーゼ (P I 3 K) 等の脂質キナーゼの活性を阻害することが見出されている、ピリミジン誘導体が記載されている。本発明に適している特定のピリミジン誘導体、それらの調製物、及び同様の好適な薬学的製剤が、国際公開第 07 / 084786 号において記載されている、式 (I) の化合物

【0025】

【化 1】



(I)

40

【0026】

又はその立体異性体、互変異性体、もしくは薬学的に許容される塩を含み、式中、W は C

50

R_w 又は N であり、

R_w は、

- (1) 水素、
- (2) シアノ、
- (3) ハロゲン、
- (4) メチル、
- (5) トリフルオロメチル、
- (6) スルホンアミドからなる群から選択され、

R_1 は、

- (1) 水素、
- (2) シアノ、
- (3) ニトロ、
- (4) ハロゲン、
- (5) 置換及び非置換アルキル、
- (6) 置換及び非置換アルケニル、
- (7) 置換及び非置換アルキニル、
- (8) 置換及び非置換アリール、
- (9) 置換及び非置換ヘテロアリール、
- (10) 置換及び非置換ヘテロシクリル、
- (11) 置換及び非置換シクロアルキル、

10

- (12) $-COR_{1a}$ 、
- (13) $-CO_2R_{1a}$ 、
- (14) $-CONR_{1a}R_{1b}$ 、
- (15) $-NR_{1a}R_{1b}$ 、
- (16) $-NR_{1a}COR_{1b}$ 、
- (17) $-NR_{1a}SO_2R_{1b}$ 、
- (18) $-OCOR_{1a}$ 、
- (19) $-OR_{1a}$ 、
- (20) $-SR_{1a}$ 、
- (21) $-SOR_{1a}$ 、

20

- (23) $-SO_2NR_{1a}R_{1b}$ からなる群から選択され、

30

R_{1a} 及び R_{1b} は独立して、

- (a) 水素、
- (b) 置換又は非置換アルキル、
- (c) 置換及び非置換アリール、
- (d) 置換及び非置換ヘテロアリール、
- (e) 置換及び非置換ヘテロシクリル、ならびに
- (f) 置換及び非置換シクロアルキルからなる群から選択され、

R_2 は、

- (1) 水素、
- (2) シアノ、
- (3) ニトロ、
- (4) ハロゲン、
- (5) ヒドロキシ、
- (6) アミノ、
- (7) 置換及び非置換アルキル、
- (8) $-COR_{2a}$ 、ならびに
- (9) $-NR_{2a}COR_{2b}$ からなる群から選択され、

40

R_{2a} 及び R_{2b} は独立して、

- (a) 水素、ならびに

50

(b) 置換又は非置換アルキルからなる群から選択され、
 R_3 は、

- (1) 水素、
- (2) シアノ、
- (3) ニトロ、
- (4) ハロゲン、
- (5) 置換及び非置換アルキル、
- (6) 置換及び非置換アルケニル、
- (7) 置換及び非置換アルキニル、
- (8) 置換及び非置換アリール、
- (9) 置換及び非置換ヘテロアリール、
- (10) 置換及び非置換ヘテロシクリル、
- (11) 置換及び非置換シクロアルキル、
- (12) $-COR_{3a}$ 、
- (14) $-NR_{3a}R_{3b}$ 、
- (13) $-NR_{3a}COR_{3b}$ 、
- (15) $-NR_{3a}SO_2R_{3b}$ 、
- (16) $-OR_{3a}$ 、
- (17) $-SR_{3a}$ 、
- (18) $-SOR_{3a}$ 、

10

(19) $-SO_2R_{3a}$ からなる群から選択され、
 R_{3a} 及び R_{3b} は独立して、

20

- (a) 水素、
- (b) 置換又は非置換アルキル、
- (c) 置換及び非置換アリール、
- (d) 置換及び非置換ヘテロアリール、
- (e) 置換及び非置換ヘテロシクリル、ならびに
- (f) 置換及び非置換シクロアルキルからなる群から選択され、

R_4 は、

- (1) 水素、及び
- (2) ハロゲンからなる群から選択される。

30

【0027】

本明細書に使用される「アルキル」という用語は、ヘテロ原子を含有しないアルキル基を指す。したがって、この語句は、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、ヘキシル、ヘプチル、オクチル、ノニル、デシル、ウンデシル、ドデシル等の直鎖アルキル基を含む。この語句はまた、直鎖アルキル基の分枝鎖異性体を含み、例として提供されるものには、 $-CH(CH_3)_2$ 、 $-CH(CH_3)(CH_2CH_3)$ 、 $-CH(CH_2CH_3)_2$ 、 $-C(CH_3)_3$ 、 $-C(CH_2CH_3)_3$ 、 $-CH_2CH(CH_3)_2$ 、 $-CH_2CH(CH_3)(CH_2CH_3)$ 、 $-CH_2CH(CH_2CH_3)_2$ 、 $-CH_2C(CH_3)_3$ 、 $-CH_2C(CH_2CH_3)_3$ 、 $-CH(CH_3)-CH(CH_3)(CH_2CH_3)$ 、 $-CH_2CH_2CH(CH_3)_2$ 、 $-CH_2CH_2CH(CH_3)(CH_2CH_3)$ 、 $-CH_2CH_2CH(CH_2CH_3)_2$ 、 $-CH_2CH_2C(CH_3)_3$ 、 $-CH_2CH_2C(CH_2CH_3)_3$ 、 $-CH(CH_3)CH_2-CH(CH_3)_2$ 、 $-CH(CH_3)CH(CH_3)CH(CH_3)_2$ 、 $-CH(CH_2CH_3)CH(CH_3)CH(CH_3)(CH_2CH_3)$ 等が含まれるが、これらに限定されない。したがって、「アルキル基」という語句は、第1級アルキル基、第2級アルキル基、及び第3級アルキル基を含む。好ましいアルキル基は、1～12個の炭素原子又は1～6個の炭素原子を有する直鎖及び分枝鎖アルキル基を含む。

40

【0028】

「アルケニル」という用語は、1つ以上の炭素-炭素二重結合を有することを除いては

50

、上で定義されたアルキル基について記載されたもののような、2～約20個の炭素原子の直鎖、分枝、又は環状基を指す。例としては、ビニル、 $-CH=CH(CH_3)$ 、 $-CH=CH(CH_3)_2$ 、 $-C(CH_3)=CH_2$ 、 $-C(CH_3)=CH(CH_3)$ 、 $-C(CH_2CH_3)=CH_2$ 、シクロヘキセニル、シクロペンテニル、シクロヘキサジエニル、ブタジエニル、ペンタジエニル、及びヘキサジエニル等が挙げられるが、これらに限定されない。好ましいアルケニル基は、2～12個の炭素原子又は2～6個の炭素原子を有する直鎖や分枝アルケニル基、ならびに環状アルケニル基を含む。

【0029】

「アルキニル」という用語は、1つ以上の炭素-炭素三重結合を有することを除いては、上で定義されたアルキル基について記載されたもののような、2～約20個の炭素原子の直鎖、分枝、又は環状基を指す。例としては、 $-C\equiv C(CH_3)$ 、 $-C\equiv C(CH_3)_2$ 、 $-C\equiv C(CH_2CH_3)$ 、 $-C(CH_3)\equiv CH$ 、 $-C(CH_3)\equiv C(CH_3)$ 、及び $C(CH_3)_2\equiv C(CH_2CH_3)$ が挙げられるが、これらに限定されない。好ましいアルキニル基は、2～12個の炭素原子又は2～6個の炭素原子を有する直鎖及び分枝アルキニル基を含む。

10

【0030】

アルキル基、アルケニル基、及びアルキニル基は、置換されてもよい。「置換アルキル」とは、炭素又は水素との1つ以上の結合を非水素及び非炭素原子との結合によって置き換えられる、上記で定義されたアルキル基を指し、これには、F、Cl、Br、及びI等のハロゲン原子；ヒドロキシ基、アルコキシ基、アリーロキシ基、及びエステル基のような基内の酸素原子；チオール基、アルキル及びアリールスルフィド基、スルホン基、スルホニル基及びスルホキシド基のような基内の硫黄原子；アミン、アミド、アルキルアミン、ジアルキルアミン、アリールアミン、アルキルアリールアミン、ジアリールアミン、N-オキシド、イミド、及びエナミンのような基内の窒素原子；トリアルキルシリル基、ジアルキルアリールシリル基、アルキルジアリールシリル基、及びトリアリールシリル基のような基内のケイ素原子；ならびに種々の他の基内の他のヘテロ原子等が挙げられるが、これらに限定されない。置換アルキル基はまた、炭素原子又は水素原子との1つ以上の結合を、オキソ基、カルボニル基、カルボキシ基、及びエステル基内の酸素；イミン、オキシム、ヒドラゾン、及びニトリルのような基内の窒素等のヘテロ原子との高次結合（例えば、二重結合又は三重結合）で置き換えられる基を含む。置換アルキル基は、炭素又は水素原子との1つ以上の結合が、アリール基、ヘテロアリール基、ヘテロシクリル基、又はシクロアルキル基と結合によって置き換えられるアルキル基をさらに含む。好ましい置換アルキル基には、とりわけ、炭素又は水素原子との1つ以上の結合が、フルオロ基、クロロ基、又はブロモ基との1つ以上の結合によって置き換えられるアルキル基が含まれる。別の好ましい置換アルキル基は、トリフルオロメチル基及びトリフルオロメチル基を含有する他のアルキル基である。他の好ましい置換アルキル基には、炭素又は水素原子との1つ以上の結合が、置換アルキル基がヒドロキシ基、アルコキシ基、又はアリーロキシ基を含有するような酸素原子との結合によって置き換えられるものが含まれる。他の好ましい置換アルキル基には、アミンを有するアルキル基、又は置換もしくは非置換アルキルアミン基、ジアルキルアミン基、アリールアミン基、(アルキル)(アリール)アミン基、ジアリールアミン基、ヘテロシクリルアミン基、ジヘテロシクリルアミン基、(アルキル)(ヘテロシクリル)アミン基、もしくは(アリール)(ヘテロシクリル)アミン基が含まれる。なお他の好ましい置換アルキル基には、炭素又は水素原子との1つ以上の結合が、アリール基、ヘテロアリール基、ヘテロシクリル基、又はシクロアルキル基との結合によって置き換えられるものが含まれる。置換アルキルの例は、 $-(CH_2)_3NH_2$ 、 $-(CH_2)_3NH(CH_3)$ 、 $-(CH_2)_3NH(CH_3)_2$ 、 $-CH_2C(=CH_2)CH_2NH_2$ 、 $-CH_2C(=O)CH_2NH_2$ 、 $-CH_2S(=O)_2CH_3$ 、 $-CH_2OCH_2NH_2$ 、 $-CO_2H$ である。置換アルキルの置換基の例は、 $-CH_3$ 、 $-C_2H_5$ 、 $-CH_2OH$ 、 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 、 $-OC_2H_5$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OC(=O)CH_3$ 、 $-OC(=O)NH_2$ 、 $-OC(=O)N(CH_3)_2$ 、 $-CN$ 、-

20

30

40

50

NO_2 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{CH}_3$ 、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CO}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{NH}\text{SO}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{NHCOCH}_3$ 、 $-\text{NHC}(=\text{O})\text{OCH}_3$ 、 $-\text{NH}\text{SO}-2\text{CH}_3$ 、 $-\text{SO}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 、ハロである。

【0031】

「置換アルケニル」という用語は、置換アルキル基が非置換アルキル基に関して有していた意味と同じ意味をアルケニル基に関して有する。置換アルケニル基は、非炭素又は非水素原子が別の炭素に二重結合している炭素に結合しているアルケニル基、及び非炭素又は非水素原子のうちの1つが別の炭素との二重結合に関与していない炭素に結合しているものを含む。

【0032】

「置換アルキニル」という用語は、置換アルキル基が非置換アルキル基に関して有していた意味と同じ意味をアルキニル基に関して有する。置換アルキニル基は、非炭素又は非水素原子が別の炭素に三重結合している炭素に結合しているアルキニル基、及び非炭素又は非水素原子が別の炭素との三重結合に関与していない炭素に結合しているものを含む。

【0033】

「アルコキシ」という用語は、Rがアルキルである $\text{RO}-$ を指す。アルコキシ基の代表例には、メトキシ、エトキシ、*t*-ブトキシ、トリフルオロメトキシ等が挙げられる。

【0034】

「ハロゲン」又は「ハロ」という用語は、クロロ、ブロモ、フルオロ、及びヨード基を指す。「ハロアルキル」という用語は、1つ以上のハロゲン原子で置換されるアルキルラジカルを指す。「ハロアルコキシ」という用語は、1つ以上のハロゲン原子で置換されるアルコキシラジカルを指す。

【0035】

「アルコキシアルキル」という用語は、 $-\text{alk}_1-\text{O}-\text{alk}_2$ 基を指し、 alk_1 はアルキル又はアルケニルであり、 alk_2 はアルキル又はアルケニルである。「アリーロキシアルキル」という用語は、 $-\text{アルキルO}-\text{アリール}$ 基を指す。「アラルコキシアルキル」という用語は、 $-\text{アルキルエニル}-\text{O}-\text{アラルキル}$ 基を指す。

【0036】

「カルボニル」という用語は、二価基 $-\text{C}(\text{O})-$ を指す。

【0037】

「シクロアルキル」という用語は、単環式もしくは多環式の複素環式又は炭素環式アルキル置換基を指す。代表的なシクロアルキル基には、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、及びシクロオクチルが含まれ、そのような環は、上記で定義されるような、直鎖及び分枝鎖アルキル基で置換される。典型的なシクロアルキル置換基は、3～8個の骨格（即ち、環）原子を有し、それぞれの骨格原子は、炭素原子又はヘテロ原子のいずれかである。「ヘテロシクロアルキル」という用語は、本明細書では、環状構造に、1～5個、さらに典型的には、1～4個のヘテロ原子を有するシクロアルキル置換基を指す。本発明の化合物で使用される好適なヘテロ原子は、窒素、酸素、及び硫黄である。代表的なヘテロシクロアルキル部分には、例えば、モルホリノ、ピペラジニル（*pipera z i n y l*）、ピペラジニル（*pipera d i n y l*）等が含まれる。カルボシクロアルキル基は、すべての環原子が炭素であるシクロアルキル基である。シクロアルキル置換基と関連して使用されるとき、「多環式」という用語は、本明細書では、縮合及び非縮合アルキル環式構造を指す。

【0038】

「アリール」という用語は、3～14個の骨格炭素又はヘテロ原子を有する任意に置換される単環式及び多環式の芳香族基を指し、炭素環式アリール基及び複素環式アリール基の両方を含む。この用語は、例として、フェニル、ピフェニル、アントラセニル、ナフテニル等の基を指すが、これらに限定されない。炭素環式アリール基は、芳香環中のすべての環原子が炭素であるアリール基である。「ヘテロアリール」という用語は、本明細書では、芳香環中の環原子として1～4個のヘテロ原子を有するアリール基を指し、その環原

10

20

30

40

50

子の残りは炭素原子である。

【 0 0 3 9 】

「非置換アリール」という用語は、ナフタレン等の縮合環を含有する基を含む。トリル等のアリール基は、下に記載される置換アリール基であると本明細書において見なされるため、環員のうちの1つに結合しているアルキル基又はハロ基等の他の基を有するアリール基を含まない。好ましい非置換アリール基は、フェニルである。しかしながら、非置換アリール基は、親化合物の1つ以上の炭素原子、酸素原子、窒素原子、及び/又は硫黄原子に結合してもよい。

【 0 0 4 0 】

「置換アリール基」という用語は、置換アルキル基が非置換アルキル基に関して有していた意味と同じ意味を非置換アリール基に関して有する。しかしながら、置換アリール基はまた、芳香族炭素のうちの1つが上述の非炭素又は非水素原子のうちの1つに結合しているアリール基を含み、また、アリール基の1つ以上の芳香族炭素が、本明細書に定義される置換及び/又は非置換アルキル、アルケニル、もしくはアルキニル基に結合しているアリール基も含む。これには、縮合環系（例えばジヒドロナフチル又はテトラヒドロナフチル）を定義するためにアリール基の2個の炭素原子がアルキル基、アルケニル基、又はアルキニル基の2個の原子に結合している結合配置が含まれる。したがって、「置換アリール」という語句には、とりわけ、トリル及びヒドロキシフェニルが挙げられるが、これらに限定されない。

【 0 0 4 1 】

本明細書で使用される「置換ヘテロアリール」という用語は、本明細書に定義されたヘテロアリール基であって、それらが独立に1個、2個、又は3個の水素原子と、C1、Br、F、I、-OH、-CN、C₁-C₃-アルキル、C₁-C₆-アルコキシ、又はアリール、ハロアルキル、チオアルコキシ、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、メルカプト、ニトロ、カルボアルデヒド、カルボキシ、アルコシカルボニル、及びカルボキサミドで置換されたC₁-C₆-アルコキシとによって置換される、ヘテロアリール基を指す。加えて、いずれの置換基も、アリール、ヘテロアリール、又はヘテロシクロアルキル基であってもよい。

【 0 0 4 2 】

本明細書に使用される「置換複素環」、「複素環式基」、「複素環」、又は「ヘテロシクリル」という用語は、窒素、酸素、硫黄から選択されるヘテロ原子を含有する任意の3もしくは4員環、又は窒素、酸素、硫黄からなる群から選択される1~3個のヘテロ原子を含有する5もしくは6員環を指し、5員環は0~2個の二重結合を有し、6員環は、0~3個の二重結合を有し、窒素及び硫黄原子は、任意に酸化されてもよく、窒素及び硫黄ヘテロ原子は、任意に四級化されてもよく、上記複素環式環のいずれかがベンゼン環又は上記で定義された別の5もしくは6員の複素環式環に独立して縮合される、二環式基を含む。ヘテロシクリル基の例としては、限定されないが：ピロリル、ジヒドロピリジル、ピリニジル、ピラジニル、テトラゾリル、（例えば、1H-テトラゾリル、2H-テトラゾリル）のような1~4個の窒素原子を含有する不飽和の3~8員環；これらに限定されないが、イソインドリル、インドリニル、インドリジニル、キノリル、インダゾリルのような1~4個の窒素原子を含有する縮合された不飽和の複素環式基；これらに限定されないが、オキサジアゾリル（例えば、1,2,4-オキサジアゾリル、1,3,4-オキサジアゾリル、1,2,5-オキサジアゾリル）のような、1~2個の酸素原子及び1~3個の窒素原子を含有する不飽和の3~8員環；これに限定されないがモルホリニルのような、1~2個の酸素原子及び1~3個の窒素原子を含有する飽和の3~8員環；例えば、ベンゾオキサジアゾリル、ベンゾオキサジニル（例えば、2H-1,4-ベンゾオキサジニル）等の1~2個の酸素原子及び1~3個の窒素原子を含有する不飽和の縮合複素環式基；これらに限定されないが、チアジアゾリル（例えば、1,2,3-チアジアゾリル、1,2,4-チアジアゾリル、1,3,4-チアジアゾリル、1,2,5-チアジアゾリル）のような、1~3個の硫黄原子及び1~3個の窒素原子を含有する不飽和の3~8員環；

10

20

30

40

50

これに限定されないが、チアゾロジニルのような、1～2個の硫黄原子及び1～3個の窒素原子を含有する飽和の3～8員環；これらに限定されないが、ジヒドロジチエニル、ジヒドロジチオニル、テトラヒドロチオフエン、テトラヒドロチオピランのような、1～2個の硫黄原子を含有する飽和及び不飽和の3～8員環；これらに限定されないが、ベンゾチアジアゾリル、ベンゾチアジニル（例えば、2H-1, 4-ベンゾチアジニル）、ジヒドロベンゾチアジニル（例えば、2H-3, 4-ジヒドロベンゾチアジニル）のような、1～2個の硫黄原子及び1～3個の窒素原子を含有する不飽和の縮合複素環式環、これに限定されないフリルのような、1個の酸素原子を含有する不飽和の3～8員環；ベンゾジオキサソイル（例えば、1, 3-ベンゾジオキサソイル）等の、1～2個の酸素原子を含有する不飽和の縮合複素環式環；これに限定されないが、ジヒドロオキサチエニル等の、1個の酸素原子及び1～2個の硫黄原子を含有する不飽和の3～8員環；1, 4-オキサチアン等の1～2個の酸素原子及び1～2個の硫黄原子を含有する飽和の3～8員環；ベンゾジチエニル等の1～2個の硫黄原子を含有する不飽和の縮合環；ベンゾオキサチエニル等の1個の酸素原子及び1～2個の酸素原子を含有する不飽和の縮合複素環式環が挙げられる。好ましい複素環には、例えば、ジアザピニル、ピリル、ピロリニル、ピロリジニル、ピラゾリル、ピラゾリニル、ピラゾリジニル、イミダゾイル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、ピリジル、ピペリジニル、ピラジニル、ピペラジニル、N-メチルピペラジニル、アゼチジニル、N-メチルアゼチジニル、ピリミジニル、ピリダジニル、オキサゾリル、オキサゾリジニル、イソオキサゾリル、イソオキサゾリジニル、モルホリニル、チアゾリル、チアゾリジニル、イソチアゾリル、イソチアゾリジニル、インドリル、キノリニル、イソキノリニル、ベンゾイミダゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンゾオキサゾリル、フリル、チエニル、トリアゾリル、及びベンゾチエニルが含まれる。ヘテロシクリル基はまた、環中の1つ以上のS原子が、1個又は2個の酸素原子（スルホキシド及びスルホン）に二重結合している、上述のものも含む。例えば、ヘテロシクリル基には、テトラヒドロチオフエン、テトラヒドロチオフエンオキシド、及びテトラヒドロチオフエン1, 1-ジオキシドが含まれる。好ましいヘテロシクリル基は、5又は6個の環員を含有する。より好ましいヘテロシクリル基には、ピペラジン、1, 2, 3-トリアゾール、1, 2, 4-トリアゾール、テトラゾール、チオモルホリン、ホモピペラジン、オキサゾリジン-2-オン、ピロリジン-2-オン、キヌクリジン、及びテトラヒドロフランが含まれる。

10

20

30

【0043】

複素環式部分は、非置換であることができるし、あるいはヒドロキシ、ハロ、オキソ（ $C=O$ ）、アルキルイミノ（ $RN=$ 、Rはアルキル又はアルコキシ基である）、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アシルアミノアルキル、アルコキシ、チオアルコキシ、ポリアルコキシ、アルキル、シクロアルキル、又はハロアルキルから独立して選択される様々な置換基で単置換又は二置換することができる。「非置換ヘテロシクリル」には、ベンゾイミダゾリル等の縮合された複素環式環が含まれ、2-メチルベンゾイミダゾリル等の化合物が置換ヘテロシクリル基であるような、環員のうちの1つに結合しているアルキル又はハロ基等の他の基を有するヘテロシクリル基を含まない。

【0044】

複素環式基は、本明細書の開示に関連して有機化学及び医薬品化学分野の当業者には明らかかなように様々な位置で結合されてもよい。複素環式基の非制限的例はまた、以下のものも含み、

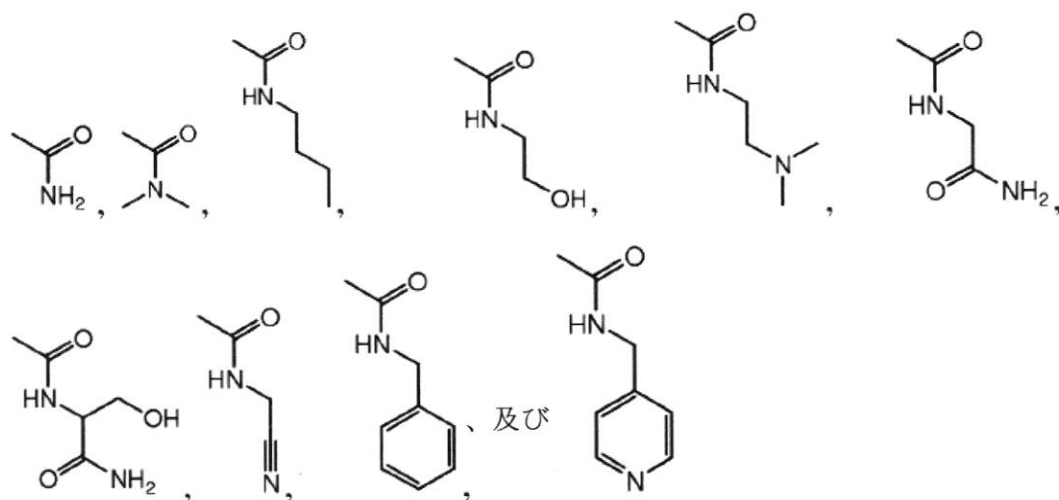
40

置換された置換基が直鎖の基を含むとき、置換は、その鎖内で起こり得る（例えば、2 - ヒドロキシプロピル、2 - アミノブチル等）か、又は鎖の末端で起こり得る（例えば、2 - ヒドロキシエチル、3 - シアノプロピル等）。置換された置換基は、共有結合した炭素又はヘテロ原子の直鎖、分枝、又は環状の配置であることができる。

【 0 0 4 9 】

代表的な置換アミノカルボニル基には、例えば、以下に示されるものが含まれる。これらは、本明細書の開示に関連して有機化学及び医薬品化学分野の当業者には明らかなようにヘテロシクリル基及びヘテロアリール基によってさらに置換されることができる。好ましいアミノカルボニル基には、N - (2 - シアノエチル) カルボキサミド、N - (3 - メトキシプロピル) カルボキサミド、N - シクロプロピルカルボキサミド、N - (2 - ヒドロキシ - イソプロピル) カルボキサミド、メチル 2 - カルボニルアミノ - 3 - ヒドロキシプロパン酸塩、N - (2 - ヒドロキシプロピル) カルボキサミド、N - (2 - ヒドロキシ - イソプロピル) カルボキサミド、N - [2 - ヒドロキシ - 1 - (ヒドロキシメチル) エチル] カルボキサミド、N - (2 - カルボニルアミノエチル) アセトアミド、N - (2 - (2 - ピリジル) エチル) カルボキサミド、N - (2 - ピリジルメチル) カルボキサミド、N - (オキソラン - 2 - イルメチル) - カルボキサミド、N - (4 - ヒドロキシピロリジン - 2 - イル) カルボキサミド、N - [2 - (2 - ヒドロキシエトキシ) エチル] - カルボキサミド、N - (4 - ヒドロキシシクロヘキシル) カルボキサミド、N - [2 - (2 - オキソ - 4 - イミダゾリニル) エチル] - カルボキサミド、N - (カルボニルアミノメチル) アセトアミド、N - (3 - ピロリジニルプロピル) カルボキサミド、N - [1 - (カルボニルアミノメチル) ピロリジン - 3 - イル] アセトアミド、N - (2 - モルホリン - 4 - イルエチル) - カルボキサミド、N - [3 - (2 - オキソピロリジニル) プロピル] カルボキサミド、4 - メチル - 2 - オキソペラジンカルバルデヒド、N - (2 - ヒドロキシ - 3 - ピロリジニルプロピル) カルボキサミド、N - (2 - ヒドロキシ - 3 - モルホリン - 4 - イルプロピル) カルボキサミド、N - { 2 - [(5 - シアノ - 2 - ピリジル) アミノ] エチル } カルボキサミド、3 - (ジメチル - アミノ) ピロリジンカルバルデヒド、N - [(5 - メチルピラジン - 2 - イル) メチル] カルボキサミド、2, 2, 2 - トリフルオロ - N - (1 - ホルミルピロリジン - 3 - イル) アセトアミド、

【 化 3 】



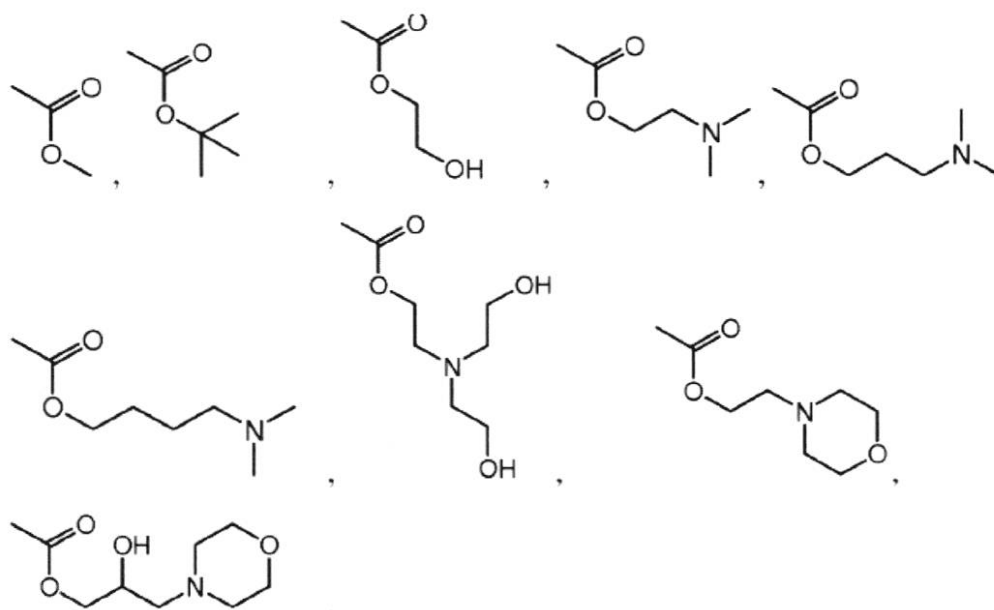
が含まれる。

【 0 0 5 0 】

代表的な置換アルコキシカルボニル基には、例えば、以下に示されるものが含まれる。これらのアルコキシカルボニル基は、本明細書の開示に関連して有機化学及び医薬品化学分野の当業者には明らかなようにさらに置換することができる。

【 0 0 5 1 】

【化 4】



20

「アミノ」という用語は、本明細書では、 $-NH_2$ 基を指す。「アルキルアミノ」という用語は、本明細書では、 $-NRR'$ 基を指し、ここで、 R はアルキルであり、 R' は水素又はアルキルである。「アリールアミノ」という用語は、本明細書では、 $-NRR'$ 基を指し、ここで、 R はアルキルであり、 R' は水素、アルキル、又はアリールである。「アラルキルアミノ」という用語は、本明細書では、 $-NRR'$ 基を指し、ここで、 R はアルキルであり、 R' は水素、アルキル、アリール、又はアラルキルである。

「アルコキシアルキルアミノ」という用語は、本明細書では、-NR-（アルコキシアルキル）基を指し、ここで、Rは、典型的には、水素、アラルキル、又はアルキルである。

30

「アミノカルボニル」という用語は、本明細書では、 $-C(O)-NH_2$ 基を指す。「置換アミノカルボニル」という用語は、本明細書では、 $-C(O)-NRR'$ 基を指し、ここで、R はアルキルであり、R' は水素又はアルキルである。「アリアルアミノカルボニル」という用語は、本明細書では、 $-C(O)-NRR'$ 基を指し、ここで、R はアリアルであり、R' は水素、アルキル、又はアリアルである。「アラルキルアミノカルボニル」という用語は、本明細書では、 $-C(O)-NRR'$ 基を指し、ここで、R はアラルキルであり、R' は水素、アルキル、アリアル、又はアラルキルである。

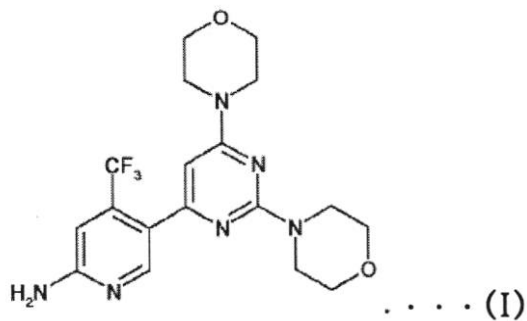
40

「アミジノ」という用語は、 $R - C(=N) - NR'$ - 部分（このラジカルは「 N^1 」窒素で存在する）及び $R(NR')C=N$ - 部分（このラジカルは「 N^2 」窒素で存在する）を指し、ここで、 R 及び R' は、水素、アルキル、アリール、又はアラルキルであり得る。

好ましい実施形態において、化学式（Ⅰ）の化合物は、汎ホスファチジルイノシトール 3 - キナーゼ（PI3K）阻害剤 5 - （2，6 - ジ - モルホリン - 4 - イル - ピリミジン - 4 - イル） - 4 - トリフルオロメチル - ピリジン - 2 - イルアミン（以下、「化合物 A」）である。

【 0 0 5 8 】

【 化 5 】



10

【 0 0 5 9 】

化合物 A の合成は、国際公開第 2 0 0 7 / 0 8 4 7 8 6 号の実施例 1 0 において説明されており、これらの内容は、参照によって本明細書に組み込まれる。

【 0 0 6 0 】

P I 3 K は、細胞代謝において中心的役割を果たす（非特許文献 5、6）。P I 3 K は、成長因子、サイトカイン及びそれらの受容体と関連する他の刺激因子によって活性化される。活性化された P I 3 K は、さらに、A k t - m T O R へのシグナリング伝達を開始し、細胞成長、増殖、及びアポトーシスの調節をもたらす（非特許文献 7）。経路の異常調節は、様々な種類のヒト癌に広く見られる（非特許文献 8、9）。特に、多発性骨髄腫（M M）において、インスリン様成長因子 - 1（I G F - 1）及びインターロイキン - 6（I L 6）等の多くの骨髄腫増殖因子は、M M 細胞上でそれらの受容体との相互作用時、P I 3 K - A k t 経路を活性化し、M M の増殖、生存、及び薬物耐性を促進する（非特許文献 1 0 - 1 3）。したがって、P I 3 K - A k t 阻害は、広範な抗 M M 活性を発揮することが期待されており、いくつかの P I 3 K - A k t 阻害化合物は、前臨床試験又は第 I 相及び第 I I 相試験下にある（非特許文献 1 4）。化合物 A は、様々な腫瘍細胞株において顕著な細胞の増殖阻害及びアポトーシスの誘導を示し、現在、固形腫瘍患者において第 I 相臨床試験の研究がなされている。

20

【 0 0 6 1 】

デキサメタゾン（8 S , 9 R , 1 0 S , 1 1 S , 1 3 S , 1 4 S , 1 6 R , 1 7 R）- 9 - フルオロ - 1 1 , 1 7 - ジヒドロキシ - 1 7 - （2 - ヒドロキシアセチル） - 1 0 , 1 3 , 1 6 - トリメチル - 6 , 7 , 8 , 9 , 1 0 , 1 1 , 1 2 , 1 3 , 1 4 , 1 5 , 1 6 , 1 7 - ドデカヒドロ - 3 H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3 - オンと示される。それは、抗炎症及び免疫抑制活性を有する強力な合成グルココルチコイドステロイド薬物である。デキサメタゾンを使用して、リウマチ性関節炎等のある特定の炎症及び自己免疫状態を治療する。また、それを使用して、抗腫瘍治療から生じるある特定の副作用の影響を弱め、ある特定の血液学的悪性腫瘍においては化学療法剤としても使用される。例えば、非特許文献 1 5 を参照のこと。

30

【 0 0 6 2 】

併用投与（例えば、化学式（I）の化合物とデキサメタゾンの併用、例えば、化合物 A とデキサメタゾンの併用）は、単一の製剤又は単位投与形態中の併用投与、個々の薬剤の同時ではあるが別々の併用投与、あるいはいずれかの好適な経路による個々の薬剤の逐次的併用投与が含まれる。個々の薬剤の併用投与量は、併用する他の薬剤と比較して、複数の薬剤のうちの 1 つのより頻繁な投与を必要とする場合がある。したがって、適切な投与を可能にするために、梱包された製剤は、併用する薬剤を含有する 1 つ以上の投与形態、及び併用する薬剤のうちの 1 つを含有するが、併用する他の薬剤を含有しない 1 つ以上の投与形態を含有し得る。

40

【 0 0 6 3 】

薬剤は、化合物が異なる立体異性体の形態で存在することができるように、立体中心又は立体軸等の 1 つ以上の非対称要素、例えば、非対称炭素原子を含有してもよい。これら

50

の化合物は、例えば、ラセミ化合物又は光学活性形態であり得る。2つ以上の非対称要素を持つ化合物については、これらの化合物はさらに、ジアステレオマーの混合物であり得る。非対称中心を有する化合物については、すべての光学異性体及びその混合物が包含されることが理解されるべきである。加えて、炭素-炭素二重結合を持つ化合物は、Z型及びE型になることがあり、化合物のすべての異性体は、本発明に含まれる。これらの状況においては、単一のエナンチオマー（光学活性体）は、非対称合成、光学的に純粋な前駆体からの合成、又はラセミ化合物の分解によって得ることができる。ラセミ化合物の分解はまた、例えば、分割剤の存在下での結晶化等の従来の方法、又は例えば、キラルHPLCカラムを用いたクロマトグラフィーによっても達成することができる。

【0064】

他に特定されない限り、又は文脈で明らかに示されていない限り、本発明の併用療法に有用な化合物への言及は、本化合物の遊離塩基及び本化合物のすべての薬学的に許容される塩の両方が含まれる。

【0065】

本明細書に使用される「薬学的に許容される塩」という用語は、本発明のピリミジン化合物の非毒性酸又はアルカリ土類金属塩を指す。これらの塩は、ピリミジン化合物の最終的な単離及び精製中にその場で調製することができるか、又はその塩基性もしくは酸性官能基を好適な有機もしくは無機の酸もしくは塩基と別々に反応させることによってその場で調製することができる。代表的な塩としては、酢酸塩、アジピン酸塩、アルギン酸塩、クエン酸塩、アスパラギン酸塩、安息香酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、重硫酸塩、酪酸塩、ショウノウ酸塩、ショウノウスルホン酸塩、ジグルコン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、ドデシルスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、グルコヘプタン酸塩、グリセロリン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプタン酸塩、ヘキサノ酸塩、フマル酸塩、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、2-ヒドロキシエタンスルホン酸塩、乳酸塩、マレイン酸塩、メタンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、2-ナフタレンスルホン酸塩、シュウ酸塩、パモ酸塩、ペクチン酸塩、過硫酸塩、3-フェニルプロピオン酸塩、ピクリン酸塩、ピバリン酸塩、プロピオン酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、酒石酸塩、チオシアン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、及びウンデカン酸塩が挙げられるが、これらに限定されない。また、塩基性窒素含有基は、ハロゲン化アルキル、例えば塩化、臭化、及びヨウ化されたメチル、エチル、プロピル、及びブチル；硫酸ジメチル、硫酸ジエチル、硫酸ジブチル、及び硫酸ジアミルのような硫酸ジアルキル、長鎖ハロゲン化物、例えば塩化、臭化、及びヨウ化されたデシル、ラウリル、ミリスチル、及びステアリル、臭化ベンジル及びフェネチルのようなハロゲン化アルキル等の薬剤で四級化することができる。それにより、水溶性又は油溶性あるいは分散性の生成物が得られる。

【0066】

薬学的に許容される酸付加塩を形成するのに使用され得る酸の例には、塩酸、ヒドロホウ酸、硝酸、硫酸、及びリン酸のような無機酸、ならびにギ酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、フマル酸、酒石酸、シュウ酸、マレイン酸、メタンスルホン酸、コハク酸、リンゴ酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、クエン酸、及びアスパラギン酸及びグルタミン酸等の酸性アミノ酸のような有機酸が含まれる。

【0067】

塩基付加塩は、ピリミジン化合物の最終的な単離及び精製中にその場で調製することができるか、あるいは薬学的に許容される金属カチオンの水酸化物、炭酸塩、もしくは重炭酸塩等の好適な塩基、又はアンモニア、又は有機第1級、第2級、もしくは第3級アミンと、カルボン酸部分とを反応させることによって別々に調製することができる。薬学的に許容される塩としては、アルカリ金属又はアルカリ土類金属、例えば、ナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、及びアルミニウム塩等をベースとするカチオン、ならびにアンモニウム、テトラメチルアンモニウム、テトラエチルアンモニウム、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、エチルアミン等の無毒性のアンモニウム、第四級アンモニア、及びアミンカチオンが挙げられるが、これ

10

20

30

40

50

らに限定されない。塩基付加塩の形成において有用な他の代表的な有機アミンは、ジエチルアミン、エチレンジアミン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、ピペラジン、ピリジン、ピコリン、トリエタノールアミン等、ならびにアルギニン、リジン、及びオルニチン等の塩基アミノ酸を含む。

【0068】

本明細書に使用される「単一の製剤」という用語は、患者に対して有効量の治療剤の両方を送達するように配合された単一の担体又はビヒクルを指す。単一のビヒクルは、任意の薬学的に許容される担体又は賦形剤とともに有効量のそれぞれの薬剤を送達するように設計される。いくつかの実施形態において、ビヒクルは、錠剤、カプセル、丸薬、又はパッチである。他の実施形態において、ビヒクルは、溶液又は懸濁液である。

10

【0069】

「単位用量」という用語は、本明細書では治療される患者への、ある投与形態中で両方の薬剤と一緒に同時投与する意味で使用される。いくつかの実施形態において、単位用量は、単一の製剤である。他の実施形態において、単位用量は、それぞれのビヒクルが薬学的に許容される担体及び賦形剤とともに有効量の少なくとも1つの薬剤を含むような1つ以上のビヒクルを含む。いくつかの実施形態において、単位用量は、同時に患者に投与される1つ以上の錠剤、カプセル、丸薬、又はパッチである。

【0070】

本明細書に使用される「用量範囲」という用語は、特定される薬剤の量の許用量の上限及び下限を指す。典型的には、特定された範囲内の任意の量の薬剤の用量を、治療を受けている患者に投与することができる。

20

【0071】

「治療」という用語は、対象において疾患の少なくとも1つの症状を和らげる、軽減する、又は緩和することを意味して本明細書では使用される。本発明の意味の範囲内で、「治療」という用語はまた、発病（即ち、疾患又は疾患の症状の臨床兆候前の期間）を停止する、遅延させる、及び/又は疾患の症状を発症もしくは悪化させる危険性を軽減することを意味する。

【0072】

「対象」という用語は、動物を含むことが意図される。対象の例には、哺乳動物、例えば、ヒト、イヌ、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ネコ、マウス、ウサギ、ラット、及びトランスジェニック非ヒト動物が含まれる。ある実施形態において、対象は、ヒト、例えば、多発性骨髄腫を患っている、患う危険性がある、又は潜在的に患うことが可能性のあるヒトである。

30

【0073】

「約」又は「およそ」という用語は、通常、所与の値又は範囲の20%以内、より好ましくは、10%以内、さらに最も好ましくは5%以内を意味する。あるいは、特に生物系では「約」という用語は、おおよそ対数（即ち、大きさの次数）の範囲内、好ましくは所与の値の2倍以内を意味する。

【0074】

本明細書に使用される「相乗的な効果」という用語は、例えば、多発性骨髄腫又はその症状の症候性進行を遅延させる効果であって、単独で投与されるそれぞれの薬物の単純な相加的な効果よりも大きい効果をもたらす、例えば、化学式(I)の化合物、例えば化合物A、及びデキサメタゾン等の2つの薬剤の作用を指す。相乗的な効果は、好適な方法、例えば、 $Sigmoid - Emax$ 方程式（非特許文献16）、 $Loewe\ additivity$ の方程式（非特許文献17）、及び $median - effect$ 方程式（非特許文献18）を用いて計算することができる。上記のそれぞれの方程式を実験データに適用し、薬物の併用効果の評価に役立つ対応グラフを作成することができる。上記の方程式と関連する対応グラフは、それぞれ、濃度効果曲線、イソボログラム曲線、及び組み合わせ指数曲線である。

40

【0075】

50

薬剤の組み合わせ（例えば、化学式（Ⅰ）の化合物、例えば化合物 A、及びデキサメタゾン）の「有効量」は、併用により治療された抑うつ障害の臨床的に観察可能な基準値の兆候及び症状を超えた、観察可能な改善をもたらすのに十分な量である。

「経口投与形態」は、経口投与用に処方される、又は意図される単位投与形態を含む。

【0076】

（治療方法）

本発明は、化学式（Ⅰ）の化合物、例えば化合物 A とデキサメタゾンとの組み合わせを個体に投与することによって、個体における多発性骨髄腫の治療方法を提供する。

【0077】

本発明は、多発性骨髄腫の治療方法に関する。本明細書に使用される「骨髄腫」という用語は、骨髄中に通常見られる種類の細胞からなる腫瘍に関する。本明細書に使用される「多発性骨髄腫」という用語は、多発性骨髄腫瘍巣及び M 成分（モノクローナル免疫グロブリンフラグメント）の分泌によって特徴付けられる血漿細胞の拡散性悪性新生物を意味し、これは骨疼痛、病的骨折、高カルシウム血症、及び正色素性正球性貧血をもたらす広範囲の溶骨性病変に関連する。多発性骨髄腫は、従来の高用量化学療法の使用によっては治癒しない。

10

【0078】

いくつかの実施形態において、治療される対象（例えば、ヒト）は、1 つ以上の多発性骨髄腫療法に対して非応答性又は耐性であると判断される。

【0079】

20

多発性骨髄腫に罹患している個体に、有効量の化学式（Ⅰ）の化合物、例えば化合物 A、及びデキサメタゾンを投与することによって多発性骨髄腫を治療する方法が、本明細書に提供される。薬剤の併用量は、多発性骨髄腫を治療するのに有効である。薬剤の併用の相乗的な効果に留意することが重要であり、特定の投与量で単独で投与された 1 つ以上の薬剤が有効でない場合でさえ、それぞれの薬剤の同じ投与量で、組み合わせで投与されるときには、治療が有効である。したがって、併用における 1 つ以上の薬剤の用量は、FDA で承認されたそれぞれの薬剤の用量よりも少ないものであり得る。

【0080】

（投与量）

多発性骨髄腫の治療のための薬剤の組み合わせの最適用量は、既知の方法を用いてそれぞれの個体に対して経験的に決定され得、それは、これらに限定されない、様々な要因によって異なるが、個々の疾患の進行の程度、年齢、体重、総合的な健康状態、性別、及び食事、投与時間、投与経路、ならびに個体が服用している他の医薬が挙げられる。最適投与量は、当該技術分野において公知である慣用的な試験及び手順を用いて確立され得る。例えば、デキサメタゾンの 1 日投与量は、0.25 mg ~ 9 mg（例えば、0.25、0.5、0.6、0.75、2、又は 4 mg）であり得る。化学式（Ⅰ）の化合物の 1 日投与量は、10 mg ~ 約 2000 mg であり得る。

30

【0081】

単一の投与形態を生じるために担体材料と組み合わせてもよい薬剤の組み合わせの量は、治療される個体及び特定の投与の様式によって異なる。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される薬剤の組み合わせを含む単位投与形態は、薬剤が単独で投与されるとき、一般的に投与される該量のそれぞれの薬剤の組み合わせを含む。

40

【0082】

投与頻度は、使用される化合物及び治療又は予防されるべき特定の状態によって異なり得る。一般に、効果的な療法をもたらすのに十分である最小投与量の使用が、好ましい。当業者によく知られている治療又は予防されるべき状態に適しているアッセイを用いて、患者は治療有効性について全体的にモニタリングされてもよい。

【0083】

投与形態は、薬物製剤の化学における当業者に容易に明らかである多様な従来の混合、粉碎、及び製造技術により調製することができる。

50

【0084】

薬物の組み合わせ又は薬剤の組み合わせの個々の薬剤を含む経口投与形態は、カプセル、例えば、ゼラチンカプセル中に封入されたマイクロタブレットの形態であってもよい。このために、薬学的製剤に使用されるゼラチンカプセルは、Pfizerから入手可能なCAPSULEとして公知の硬質ゼラチンカプセル等を使用することができる。

【0085】

本明細書において有用な経口投与形態の多くが、薬剤の組み合わせ又は薬剤の組み合わせの個々の薬剤を粒子の形態で含む。そのような粒子は、錠剤に圧縮されても、味覚遮蔽された投与形態、圧縮コーティングされた投与形態、もしくは腸溶性コーティングされた投与形態等のコーティングされた投与形態のコアエレメント中に存在しても、又はカプセル、浸透圧ポンプ投与形態、もしくは他の投与形態中に含有されてもよい。

10

【0086】

本発明の薬物化合物（例えば、化学式（I）の化合物、特に化合物A、及びデキサメタゾン）は、100:1~1:100、より好ましくは1:1~1:100、及びなおより好ましくは1:10~1:100の範囲の比で、本明細書に開示される組み合わせ、投与形態、薬学的組成物、及び薬学的製剤で存在する。

【0087】

毒性がなく、有効性をもたらす薬物化合物の最適比、個々及び組み合わせた投与量、ならびに濃度は、標的部位に対する活性成分の有用性の反応速度論に基づき、当業者に既知の方法を用いて決定される。

20

【0088】

（薬学的組成物）

本明細書に提供される薬学的組成物又は組み合わせ（例えば、化学式（I）の化合物、特に化合物A、及びデキサメタゾン）は、臨床試験において試験され得る。好適な臨床試験は、例えば、増殖性疾患に罹患している患者における、非盲検用量漸増研究であり得る。そのような研究により、特に、本発明の組み合わせの活性成分についての相乗的効果が立証される。増殖性疾患に対する有効な効果は、当業者に既知の上記のこれらの研究の結果を通じて直接判定され得る。そのような研究は、特に、本発明の活性成分及び組み合わせを用いた単剤療法の効果と比較することが適切であり得る。一実施形態において、化学式（I）の化合物、例えば化合物Aの用量は、最大許容用量に達するまで漸増させ、デキサメタゾンを固定用量で投与する。あるいは、化学式（I）の化合物、例えば化合物Aを固定用量で投与してもよく、デキサメタゾンを漸増させてもよい。それぞれの患者は、毎日又は間欠的のいずれかで、化学式（I）の化合物、例えば化合物Aの投与を受けてもよい。そのような研究における治療の有効性は、例えば、12、18、又は24週間後、6週間ごとに症状スコアを評価することによって判定することができる。

30

【0089】

本発明の薬学的組み合わせの投与は、本発明の組み合わせに用いられる薬学的に活性な成分を1つのみ適用する単剤療法と比較して、例えば、症状の軽減、進行遅延、又は抑制に関する、相乗的な治療効果等の有効な効果だけでなく、例えば、副作用の減少、生活の質の改善、又は罹患率の低減等のさらに驚くべき有効な効果をもたらす可能性もある。

40

【0090】

更なる利点は、本発明の組み合わせは低用量の活性成分を使用し得る可能性があり、例えば、これは、投与量の必要性を少なくするだけでなく、頻度を減らして適用することもでき、これにより、副作用の発生又は重症度が低減される場合がある。これは、治療される患者の希望及び要件によって決まる。

【0091】

多発性骨髄腫をターゲティング又は予防する点において、両方で治療的に有効であり得る量を含む薬学的組成物を提供することは、本発明の1つの目標である。この組成物では、化学式（I）の化合物及びデキサメタゾンは、一緒に、順々に、又は個別に、1つの組み合わせ単位投与形態又は2つの個々の単位投与形態で投与されてもよい。単位投与形

50

態はまた、固定された組み合わせであってもよい。

【0092】

両方の化合物の個別の投与のための、又は固定された組み合わせの投与のための、即ち、両方の化合物を含む単一の生薬 (galenical) 組成物としての投与のための本発明による薬学的組成物は、それ自体が周知である方法で調製することができ、ヒトを含む哺乳動物 (温血動物) への、経口又は直腸内等の経腸及び非経口投与に適切なものであり、治療有効量の、例えば、上記のような少なくとも1つの薬理的に活性な組み合わせパートナーを単独で、又は特に経腸又は非経口用途に適切な1つ以上の薬学的に許容される担体又は希釈剤と組み合わせる。

【0093】

(製剤)

一実施形態において、薬学的組成物が本明細書に提供され、これは、対象が治療されるように、(1) 化学式 (I) の化合物、特に、化合物 A、及び / 又はその立体異性体、互変異性体、もしくは薬学的に許容される塩と、(2) デキサメタゾン及び / 又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、代謝産物、又はラセミ化合物とを含み、成分 (1) 及び (2) のそれぞれが、薬学的に許容されるアジュバント、希釈剤、又は担体と混合して配合される。

【0094】

本明細書に提供される薬物組み合わせは、薬学的製剤分野の当業者には明らかな様々な方法によって配合され得る。上記の様々な放出特性は、様々な異なる方法において達成され得る。好適な製剤は、例えば、錠剤、カプセル、圧縮コーティングされた製剤、及び他の容易に投与される製剤を含む。

【0095】

好適な薬学的製剤は、例えば、約 0.1% ~ 約 99.9%、好ましくは約 1% ~ 約 60% の1つ又は複数の活性成分を含有してもよい。腸内又は非経口投与のための併用療法における薬学的製剤は、例えば、糖衣錠、錠剤、カプセル、もしくは坐薬、又はアンプル等の単位投与形態中にあるものである。他に示されない場合、これらは、例えば、従来の混合、造粒、糖衣、溶解、又は凍結乾燥プロセスによって、それ自体が既知である様式において調製される。必要な有効量は、複数の投与量単位の投与によって達成されるため、それぞれの投与形態の個々の用量に含有される組み合わせパートナーの単位含量は、それ自体で有効量である必要はないことを理解されよう。

【0096】

特に、治療有効量の、本発明の組み合わせのそれぞれの併用パートナーは、同時に又は順次任意の順序で投与されてもよく、これらの成分は、別々に又は固定された組み合わせとして投与されてもよい。例えば、本発明による多発性骨髄腫の治療方法は、同時に又は順次任意の順序で、両方で治療有効量、好ましくは相乗的に有効な量、例えば、毎日又は間欠的に本明細書に記載の量に対応した投与量での、(i) 遊離型又は薬学的に許容される塩の形態の第1の薬剤 (a) の投与及び (ii) 遊離型又は薬学的に許容される塩の形態の薬剤 (b) の投与を含んでもよい。本発明の組み合わせの個々の組み合わせパートナーは、分割された、又は単一の組み合わせ形態で治療過程の異なる時点で個別に又は同時に投与されてもよい。さらに、投与するという用語はまた、インビボで組み合わせパートナーそれ自体に変化する、組み合わせパートナーのプロドラッグの使用も包含する。したがって、本発明は、同時又は交互の治療のそのようなすべてのレジメンを包含するものとして理解されるべきであり、「投与する」という用語は、それに応じて解釈されるべきである。

【0097】

本発明の組み合わせに使用される組み合わせパートナーのそれぞれの有効な投与量は、使用される特定の化合物又は薬学的組成物、投与様式、治療される状態、治療される状態の重症度に応じて変えてもよい。したがって、本発明の組み合わせの投与レジメンは、投与経路ならびに患者の腎機能及び肝機能を含む、様々な要因に従って選択される。通常の

10

20

30

40

50

臨床医又は医師は、状態の進行を軽減、逆行、又は停止するのに必要とされる単一の活性成分の有効量を容易に決定及び処方することができる。

【0098】

(実施例)

本発明は、以下の実施例によってさらに例示される。実施例は、更なる制限をするものと解釈されるべきではない。

【0099】

(材料及び方法)

細胞株、原発性骨髄腫細胞、骨髄間質細胞 (BMSC)、末梢血単核細胞 (PBMC)、抗体、及び試薬

MM細胞株 ARP1、ARK、MM.1S、MM.1R、及びU266は、37及び5% CO₂で、10% 胎仔血清、100 U/mLのペニシリン、及び100 µg/mLのストレプトマイシンを添加したRPMI-1640培地中に維持された。初代MM細胞及びMM BMSCは、骨髄腫患者の骨髄穿刺液から単離された。PBMCは、健常な志願者から得られた。本研究は、The University of Texas M.D. Anderson Cancer Centerで施設内治験審査委員会により承認された。抗カスパーゼ-3、カスパーゼ-9、PARP、Bim、XIAP、サイクリンD1、pp70S6K (Thr389)、及びp27 (Kip1)抗体は、Cell Signalingから購入された。抗-bcl-2、Bcl-XL、Akt、pAkt (Thr308)、pAkt (Ser473)、p70S6K、及び-アクチン抗体は、Santa Cruzから購入された。化合物Aは、貯蔵液として、10 mMでDMSO中に溶解された。デキサメタゾン及びヨウ化プロビジウム (PI)は、Sigma-Aldrichから購入された。組み換えヒトIL6は、R&D Systemsから購入された。FITC標識アネキシンVは、Invitrogenから得られた。

(5-(2,6-ジ-モルホリン-4-イル-ピリミジン-4-イル)-4-トリフルオロメチル-ピリジン-2-イルアミン (化合物A) の調製)

NMP (14 mL) 中の2-モルホリノ-4,6-ジクロロピリミジン (2.0 g、8.54 mmol) のスラリーに、トリエチルアミン (1.43 mL、10.25 mmol) を添加した。不均質混合物を15分間攪拌し、次いで、モルホリン (0.75 mL、8.54 mmol) を用いて処理した。アルゴン下で、85℃で2時間還流時に、溶液を冷却し、次いで、EtOAc (160 mL) に添加した。有機溶液を25 mLのNaHCO₃ (飽和) (2回)、水 (2回)、及びブラインで洗浄し、Na₂SO₄上で乾燥させ、濾過し、濃縮した。粗材料を200 mLのEtOAc中に溶解し、SiO₂パッドを通して濾過し、EtOAcでさらに溶出し、オフホワイトの固体として、2.2 g (93%) の2,4-ジモルホリノ-6-クロロピリミジンを得た。LCMS (m/z): 285.0 (MH⁺), ¹H NMR (CDCl₃): 5.86 (s, 1H), 3.71-3.76 (m, 12H), 3.52-3.56 (m, 4H)。

【0100】

アルゴンガスを、1,2-ジメトキシエタン及び2 M Na₂CO₃ (3:1) 中の2,4-ジモルホリノ-6-クロロピリミジン (4.1 g、14.3 mmol) 及び4-(トリフルオロメチル)-5-(4,4,5,5-テトラメチル1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ピリドム-2-アミン (16.5 g、57.3 mmol) の不均質混合物を通して、20分間泡立てた。1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセンパラジウム (II) クロリド (292 mg、0.36 mmol) を添加し、混合物を含有する高圧ガラス容器を密閉した。次いで、反応混合物を90℃で15時間加熱し、冷却し、EtOAc (300 mL) で希釈した。有機溶液を300 mLの水: Na₂CO₃ (飽和): NH₄OH (濃縮) = 5:4:1の混合物、次いで、NH₄Cl (飽和)、及びブライン (2回) で洗浄し、Na₂SO₄上で乾燥させ、濾過し、濃縮した。粗材料をSiO₂クロマトグラフィー (0.1% TEAを含む50~90% EtOAc/ヘキサン) によって精製し、オフホワイトの固体として、5.62 g (95%) の5-(2,6-ジ

- モルホリン - 4 - イル - ピリミジン - 4 - イル) - 4 - トリフルオロメチル - ピリジン - 2 - イルアミンを得た。LCMS (m/z) : 411.3 (MH⁺) ; ¹H NMR (CDCl₃) : 8.27 (s, 1H), 6.78 (s, 1H), 5.97 (s, 1H), 4.77 (bs, 2H), 3.59 - 3.80 (m, 12H), 3.58 - 3.61 (m, 4H)。

【0101】

(細胞増殖アッセイ)

多発性骨髄腫 (MM) 細胞株に対する化合物 A の増殖阻害効果は、製造業者のプロトコル (Promega) に従い MTS アッセイによって評価された。要するに、MM 細胞を、96 ウェルプレート中で 1 ウェル当たり 5,000 細胞 / 100 μL の培地の濃度で播種し、0 ~ 1 mM の化合物 A の最終濃度で 24 又は 72 時間処理した。アッセイの終了まで、20 μL の MTS / PMS 溶液をそれぞれのウェル中の培養培地に添加した。次いで、プレートを、37 °C 及び 5 % CO₂ で 4 時間インキュベートした。ELISA プレートリーダーを用いて、490 nm における吸光度を記録した。すべての実験を三回で行った。

10

【0102】

(アポトーシスアッセイ)

化合物 A によって誘導された細胞のアポトーシスを、前述のように、アネキシン V 結合アッセイによって検出した (非特許文献 19)。簡潔に言えば、MM 細胞を、24 ウェルプレート中に培養し、0 ~ 1 mM の化合物 A の最終濃度で、24 又は 72 時間処理した。細胞を冷却した PBS で 2 回洗浄し、アネキシン V 結合緩衝液 (Invitrogen) 中に再懸濁した。MM 細胞は、室温で 15 分間、FITC 標識アネキシン V 及びヨウ化プロピジウム (PI) で染色した。アポトーシス細胞を、アネキシン V 陽性細胞として判定した。

20

【0103】

(細胞周期分析)

MM 細胞株 ARP1、MM.1S、及び MM.1R は、1 μM の化合物 A を用いて又は用いずに 24 時間培養した。次いで、細胞を採取し、4 °C で一晩、70 % エタノール中で浸透処理し、50 μg / mL の PI 及び 20 μg / mL の RNase A で 15 分間インキュベートした。DNA 含有量を、フローサイトメトリー及び FlowJo ソフトウェアによって分析した。

30

【0104】

(確立された多発性骨髄腫における化合物 A のインビボ効果)

6 ~ 8 週齢の雌 SCID マウスを MD Anderson Cancer Center の動物研究施設に収容し、モニタリングした。すべての実験手順及びプロトコルは、The University of Texas M.D. Anderson Cancer Center における動物の飼育と使用に関する委員会 (Institutional Animal Care and Use Committee) によって承認されている。SCID マウスは、50 μL の PBS 中に懸濁された 100 万の ARP1 細胞を右下腹部皮下に接種された。触診可能な腫瘍が発生した (腫瘍直径 5 mm) 後、マウスは PBS 又は化合物 A (5 μmol / kg / 日) の腹腔内注入で毎日処置された。腫瘍の大きさは、5 日ごとに測定され、血液試料は、同じ期間採取された。全身腫瘍組織量は、腫瘍の大きさを測定し、循環するヒトカップバ鎖を検出することによって評価された。

40

【0105】

(ELISA)

マウス血清中のヒトカップバ鎖のレベルは、定量 ELISA (Bethyl Laboratories Inc) によって製造供給元のプロトコルに従い測定された。

【0106】

(統計的分析)

すべてのデータを、平均 ± 標準偏差として示す。スチューデント t 検定を使用して、様

50

々な実験群を比較した。 $P < 0.05$ のとき、有意性があると決定された。

【0107】

(結果)

化合物 A は、MM 細胞株の増殖を阻害し、細胞のアポトーシスを誘導する。

骨髄腫細胞における化合物 A の効果を評価するために、MM 細胞株の ARP1、ARK、MM.1S、MM.1R、及び U266 は、異なる用量の化合物 A を用いて 24 時間又は 72 時間処理された。化合物 A によって誘導された MM 細胞のアポトーシスは、「材料及び方法」に記載されるように測定された。図 1 A に示されるように、化合物 A は、用量依存的及び時間依存的の両方において MM 細胞のアポトーシスを誘導した。異なる MM 細胞株は、化合物 A に対して異なる感受性を有していた。U266 は、他の MM 細胞株と比較して化合物 A に対する感受性が低かった。10 μ M 以上の濃度での化合物 A は、すべての試験した MM 細胞株において、24 時間でアポトーシスを有意に誘導した ($P < 0.05$ 、対照との比較)。したがって、10 μ M の化合物 A での 24 時間処理を、以下の実験において使用した。

10

【0108】

MM 細胞増殖における化合物 A の効果を、MTS アッセイによって試験した。図 1 B に示されるように、化合物 A での処理は、すべての試験した MM 細胞株において用量依存的な増殖阻害をもたらした。化合物 A の IC_{50} (50% 阻害する濃度) は、試験した MM 細胞において異なった。24 時間の処理で、ARP1、ARK、及び MM.1R に対する IC_{50} は、1 μ M ~ 10 μ M であったが、MM.1S に対する IC_{50} は、1 μ M 未

20

【0109】

(化合物 A は、エキスピボで初代培養 MM 細胞のアポトーシスを誘導する。)

初代培養 MM 細胞中の化合物 A 機能を評価するために、本研究は、骨髄腫患者から新たに単離された CD138 + 初代培養 MM 細胞まで拡大された。これまでの知見によれば、初代培養 MM 細胞は、細胞が BMSC と共培養されない限り、エキスピボでアポトーシスを起こす (非特許文献 20)。したがって、CD138 + 初代培養 MM 細胞を、MM 骨髄穿刺から単離した CD138 - BMSC を用いて、1 : 1 の比で共培養した。細胞を、0 ~ 1 mM の異なる用量の化合物 A を用いて 24 時間処理した。初代培養 MM 細胞及び BMSC は、APC - CD138 染色によって分離された。調べられた 3 人の患者のうちの 1 人からの骨髄腫細胞及び BMSC から得た代表的なデータによって示されるように (図 1 C)、化合物 A は、用量依存的に、初代培養 MM 細胞 (CD138 +) のアポトーシスを誘導した。10 μ M の化合物 A は、70% を超える初代培養 MM 細胞のアポトーシスを誘導した。興味深いことに、化合物 A は、CD138 - 間質細胞に対して有意に低い細胞毒性を示した。図 1 D は、化合物 A が 3 人の異なる MM 患者由来の初代培養 MM 細胞のアポトーシスを誘導したことを示す。合わせて考慮すると、これらのデータは、化合物 A が初代培養 MM 細胞のアポトーシスを誘導するが、非腫瘍 BMSC に対しては低毒性を有することを示す。

30

40

【0110】

(化合物 A は、健常な志願者の正常な血液細胞に対して低毒性を有する。)

化合物 A が正常な PBMC にアポトーシスを誘導するかどうかを調べるために、異なる健常な志願者からの正常な PBMC を、0 ~ 1 mM の化合物 A を用いて 24 時間インキュベートした。細胞のアポトーシス率は、上記のように測定された。図 1 E に示されるように、化合物 A は、正常な PBMC に対しては同等に低毒性を有した。MM 細胞に対して有効な化合物 A の濃度の 10 μ M 又は 100 μ M は、40% 未満の PBMC のアポトーシスをもたらさなかった。したがって、これらの所見は、化合物 A が休止中の PBMC に対して低毒性を有することを示す。

【0111】

50

(図 1 の説明)

(A) 0 ~ 1 m M の化合物 A の存在下で培養された 5 つの M M 細胞株の A R P 1、A R K、M M . 1 S、M M . 1 R、及び U 2 6 6。細胞を、処理から 1 日又は 3 日後に採取した。化合物 A によって誘導された M M 細胞のアポトーシスは、「材料及び方法」に記載されるように、アネキシン V 染色によって測定された。(B) 同じ M M 細胞株は、0 ~ 1 m M の化合物 A を用いて 1 日又は 3 日間処理された。細胞増殖は、M T S アッセイによって評価された。(C) 化合物 A を用いて処理された M M 初代培養細胞の代表的なヒストグラム。(D) 3 人の患者から新たに単離された初代培養 M M 細胞中のアポトーシスの用量依存的な誘導を示すデータ。細胞は、異なる用量の化合物 A を用いて 1 日間処理された。(E) 3 人の健常な志願者から単離された P B M C は、化合物 A を用いて 1 日間処理された。

10

【 0 1 1 2 】

(I L - 6 の添加又は B M S C の存在は、化合物 A によって誘導されたアポトーシスから M M 細胞を保護しない。)

I L - 6 は、M M にとって重要な生存サイトカインである (非特許文献 2 1、2 2)。先行研究は、I L - 6 が化学療法剤のデキサメタゾン処理下で M M 細胞の生存を促進することを示している (非特許文献 2 3)。したがって、化合物 A により誘導された M M 細胞のアポトーシスの I L 6 の添加による減衰が調べられた。この目的のために、異なる M M 細胞株の A R P 1、M M . 1 S、及び M M . 1 R が、組み換え h I L - 6 (最終濃度 5 μ g / m L) を用いて又は用いずに培養され、1 0 μ M の化合物 A を用いて又は用いずに 2 日間処理された。陽性対照として、M M . 1 S 細胞が、同じ期間中、h I L - 6 を添加する又は添加しない 4 0 μ g / m L のデキサメタゾンを用いて処理された。図 2 A に示されるように、I L 6 の添加は、化合物 A によって誘導された M M 細胞のアポトーシスに影響を及ぼさなかったが、デキサメタゾン処理下での M M . 1 S 細胞の生存を促進した。

20

【 0 1 1 3 】

骨髄腫の腫瘍床における骨髄間質細胞 (B M S C) が、腫瘍促進の微環境を提供し、化学療法薬によって誘導されるアポトーシスから M M 細胞を保護することを示す証拠が増大している (非特許文献 2 4、2 5)。したがって、M M 患者の骨髄からの B M S C が、化合物 A によって誘導される細胞のアポトーシスから M M 細胞を保護することが可能であるかどうかについても検討された。この目的のために、M M 患者から単離された B M S C が、M M 細胞株の A R P 1、M M . 1 S、及び M M . 1 R と共培養された。細胞は、1 0 μ M の化合物 A を用いて又は用いずに 2 4 時間処理された。陽性対照として、M M . 1 S 細胞は、B M S C と又は B M S C なしで共培養され、4 0 μ g / m L のデキサメタゾンを用いて又は用いずに 2 4 時間処理された。処理後、M M 細胞は、A P C - C D 1 3 8 染色によって C D 1 3 8 + 細胞として特定された。図 2 B に示されるように、B M S C は、化合物 A によって誘導された M M 細胞のアポトーシスを保護しなかったが、デキサメタゾンによって誘導される細胞のアポトーシスから M M . 1 S 細胞を保護した。

30

【 0 1 1 4 】

(図 2 の説明)

(A) M M 細胞株の A R P 1、M M . 1 S、及び M M . 1 R は、1 0 μ M の化合物 A を用いて 3 日間培養された。r h I L - 6 を、5 n g / m L の最終濃度で添加した。陽性対照として、M M . 1 S 細胞は、5 n g / m L の r h I L 6 の存在下で、同じ時間、4 0 μ g / m L のデキサメタゾンを用いて処理された。細胞のアポトーシス率は、アネキシン V 染色によって測定された。(B) 同じ M M 細胞は、M M の B M S C と又は M M の B M S C なしで共培養され、1 0 μ M の化合物 A を用いて 1 日間処理された。陽性対照として、M M . 1 S 細胞は、B M S C と又は B M S C なしで共培養され、4 0 μ g / m L のデキサメタゾンを用いて 1 日間処理された。C D 1 3 8 + M M 細胞のアポトーシス率は、アネキシン V 染色によって測定された。

40

【 0 1 1 5 】

(化合物 A は G 1 期における細胞周期停止を引き起こす)

化合物 A によって誘導された M M 細胞の増殖阻害及びアポトーシスの機構を研究するた

50

めに、化合物 A の処理が MM 細胞周期に影響を及ぼすかどうかを調べられた。図 3 A に示されるように、ARP1 細胞が、1 μ M の化合物 A を用いて又は用いずに 24 時間培養された。化合物 A の処理は、G1 期細胞の増加及び S 期細胞の減少をもたらした。同様の所見が、他の MM 細胞株の MM.1S 及び MM.1R において観察された (図 3 B)。

【0116】

(図 3 の説明)

(A) 1 μ M の化合物 A を用いて 1 日間処理された ARP1 の代表的なヒストグラム。(B) MM 細胞である ARP1、MM.1S、及び MM.1R は、1 μ M の化合物 A を用いて 1 日間処理された。細胞周期は、記載のように試験された。

【0117】

(化合物 A は、カスパーゼの活性化によって MM 細胞のアポトーシスを引き起こす)

化合物 A によって誘導された MM 細胞のアポトーシスを解明するために、化合物 A を用いて又は用いずに 24 時間処理された MM 細胞株の ARP1、MM.1S、及び MM.1R は、ウェスタンブロット分析によって評価された。この結果は、カスパーゼ 3 及びカスパーゼ 9 の切断を示した (図 4 A)。

【0118】

PARRA 切断はまた、化合物 A での処理後の試験したすべての細胞株において検出された。概して、これらの所見は、化合物 A での処理がカスパーゼ活性化を介して MM 細胞のアポトーシスを誘導することを示す。

【0119】

(化合物 A の曝露は、BimS の上方調節及び XIAP の下方調節をもたらす。)

MM 細胞における化合物 A の曝露によって影響を受けたシグナル経路をさらに分析するために、他の細胞シグナル分子にまで免疫ブロット法を拡大適用した。第 1 に、MM 細胞中の PI3K - Akt - mTOR 経路における化合物 A の阻害効果が試験された。図 4 B に示されるように、Thr473 及び Ser308 の両方で p-Akt が、化合物 A での処理後、下方調節された。全 Akt レベルはまた、化合物 A での処理後、ARP1 及び MM.1R 細胞において減少した (図 4 C)。これは、恐らく、化合物 A での処理後、アポトーシス細胞が増加したためである。p-P70S6K レベルはまた、化合物 A での処理後、試験した MM 細胞株において減少したが、全 P70S6K の発現は、一定のままであった。そのような所見は、化合物 A が MM 細胞において PI3K - Akt - mTOR 経路を阻害することを示す。

【0120】

第 2 に、化合物 A での処理が G1 期において細胞周期停止を引き起こしたため、細胞周期調節因子の発現が試験された。図 4 B に示されるように、細胞周期のリプレッサー p27 (Kip1) タンパク質発現は、化合物 A での処理後、上方調節されたが、一方、サイクリン D1 の発現は、下方調節された。

【0121】

次に、アポトーシス調節因子の発現が試験された。データは、細胞毒性を有する Bim の小さいアイソフォーム、BimS が、化合物 A での処理後、上方調節されたことを示した。Bim は、Bcl-2 ファミリーに属するプロアポトーシス因子である (非特許文献 26)。Bim は、選択的スプライシングにより生成される BimEL、BimL、及び BimS の、3 つの主なアイソフォームを有する。最も短い BimS は、最も細胞毒性のあるアイソフォームである (非特許文献 27)。先行研究は、Bim の転写が、PI3K の下流エフェクターのフォークヘッド転写因子 FKHR-L1 によって調節されることを示している (非特許文献 28)。Bim に加えて、XIAP 及び Bcl-XL の両方は、抗アポトーシスタンパク質であり (非特許文献 29、30)、発現は、化合物 A での処理後、下方調節された。したがって、化合物 A によって誘導された MM 細胞のアポトーシスは、細胞毒性のある BimS の上方調節、ならびに抗アポトーシスな XIAP 及び Bcl-XL の下方調節によって引き起こされ得る。

【0122】

10

20

30

40

50

(図 4 の説明)

(A) MM細胞のARP1、MM.1S、及びMM.1Rは、10 μ Mの化合物Aを用いて又は用いずに1日間処理された。化合物Aによって誘導されたカスパーゼ-3、カスパーゼ-9、及びPARPの活性化及び切断を示す。(B) 10 μ Mの化合物Aを用いて処理された同じMM細胞が、ウェスタンブロット法のために溶解された。(C) RP1細胞は、10 μ Mの化合物Aを用いて1、6、12、及び24時間処理された。

【 0 1 2 3 】

(MM細胞における化合物A及びデキサメタゾンを併用処理の相乗的な細胞毒性)

化合物Aが他のMM化学療法剤との相乗的效果 / 相加的效果を有するかどうかを試験するために、ARP1細胞は、メルファラン、デキサメタゾン、レナリドミド、及びボルテゾミブと組み合わせて化合物Aを用いて処理された。図5Aに示されるように、化合物A及びデキサメタゾンを組み合わせた治療は、ARP1細胞において、相乗的 / 相加的な細胞毒性を有した。次に、実験は、他のMM細胞株まで拡大適用され、低い化合物A (1 μ M) 及びデキサメタゾン (40 μ g / mL) を用いて処理された。図5Bに示されるように、低用量の化合物A又はデキサメタゾンの単独では、限定的な細胞毒性のみを有したが、組み合わせた二重薬物治療は、デキサメタゾンに感受性がある細胞株のARP1及びMM.1Sにおいて、有意に細胞アポトーシスを誘導し、デキサメタゾンに耐性がある細胞MM.1Rにおいては、誘導しなかった。細胞増殖試験はまた、化合物A及びデキサメタゾンがMM.1S細胞の増殖を相乗的に阻害したことも示した (図5C) 。

【 0 1 2 4 】

相乗的な効果に対するそれぞれの薬物の最小用量を調べるために、MM.1S細胞は、異なる用量の化合物A及びデキサメタゾンを併用して24時間処理された。図5Dに示されるように、1 μ Mの化合物Aが、相乗的な効果のために必要であったが、一方、わずか40 ng / mLのデキサメタゾンで、細胞のアポトーシスを相乗的に刺激するには十分であった。デキサメタゾンの投与量の増加は、細胞死亡率を増加させなかった。

【 0 1 2 5 】

MM.1S細胞における相乗的な効果についての化合物A及びデキサメタゾンの役割を解明するために、細胞は、順次薬物を用いて処理された。具体的には、MM.1S細胞は、1日目にデキサメタゾンを併用して処理され、2日目に化合物Aでの処理に切り替えられるか、又はその逆で処理された。細胞のアポトーシス率は、2日目に、測定された。図5Eに示されるように、デキサメタゾンに続く化合物Aの処理は、いかなる他の種類の処理よりも高いアポトーシス率をもたらした。

【 0 1 2 6 】

最後に、相乗的な効果が免疫プロット法によって試験された。図5Fに示されるように、化合物A及びデキサメタゾンの共処理は、PARPの切断、Bcl-2の切断、及びカスパーゼ3の活性化の増加をもたらした。これらの所見は、二重薬物での処理後、アポトーシスが增強されたことを示す。BimSの発現は、組み合わせ処理において上方調節され、これが相乗的な効果の原因であり得る。要約すると、これらの所見は、化合物Aとデキサメタゾンとの組み合わせは、デキサメタゾンに感受性があるMM細胞において相乗的な細胞毒性を有することを示す。

【 0 1 2 7 】

(図 5 の説明)

(A) ARP1細胞は、10 μ Mの化合物A (BK)、15 nMのメルファラン (Me)、40 μ g / mLのデキサメタゾン (De)、100 μ Mのレナリドミド (Le)、10 μ Mのボルテゾミブ (BT)、又はそれらの組み合わせを用いて1日間処理された。細胞のアポトーシスが、記載のように測定された。(B) MM細胞のARP1、MM.1S、及びMM.1Rは、1 μ Mの化合物A、40 μ g / mLのデキサメタゾン、又はそれらの組み合わせを用いて1日間処理された。細胞のアポトーシスが測定された。(C) 同じMM細胞株は、化合物Aを用いて1日間処理され、細胞増殖は、MTSによって測定された。(D) MM.1S細胞は、異なる用量の化合物A (10 nM、100 nM、及び100

0 nM)、デキサメタゾン(40 ng/mL、400 ng/mL、及び4000 ng/mL)、又はそれらの組み合わせを用いて1日間処理された。細胞のアポトーシスが、アネキシンV染色によって測定された。(E) MM.1S細胞は、1 µMの化合物A又は4 µg/mLのデキサメタゾンを用いて1日間処理された。次いで、細胞は、いったんPBSを用いて洗浄され、1 µMの化合物A又は4 µg/mLのデキサメタゾンのいずれかを含む第2の馴化培地にさらに24時間切り替えられる。細胞のアポトーシス率が、アネキシンV染色によって測定された。(F) MM.1S細胞は、デキサメタゾン(4 µg/mL)、化合物A(1 µM)、又は両方を用いて24時間処理された。

【0128】

(確立されたMMにおける化合物Aのインビボ効果)

インビボでの化合物Aの抗MM効果を調べるために、SCIDマウスにおけるヒトMMモデルが、「材料及び方法」に記載されるように確立された。触診可能な腫瘍(直径5 mm以上)に成長したとき、マウス(群当たり10匹)が、化合物A(5 µmol/kg/日)又はビヒクル対照PBSの腹腔内投与を毎日受けた。図6A及び6Bに示されるように、化合物Aでの処理を受けたマウスは、対照マウスと比較して、有意に小さい腫瘍を有した。これは腫瘍体積(図6A、 $P < 0.05$)及び循環するヒトカップパ鎖のレベル(図6B、 $P < 0.05$)によって測定された。加えて、化合物Aでの処理は、担腫瘍マウスの生存を有意に延長した(図6C)。したがって、これらのデータは、インビボでの化合物Aの抗MM能力を示す。

【0129】

(図6の説明)

SCIDマウスは、 1×10^6 ARP1細胞を用いて右下腹部皮下に接種した。触診可能な腫瘍(直径5 mm以上)が成長してから3~4週間後、マウス(群当たり10匹)は、PBS又は化合物A(100 nmol/マウス/日)の腹腔内投与により毎日処理された。腫瘍組織量は、(A)腫瘍体積及び(B)ELISAによって検出されたSCIDマウス血清中の循環するヒトカップパ鎖のレベル、ならびに(C)担腫瘍マウスの生存率として測定された。

【0130】

(考察)

多発性骨髄腫(MM)は、未だに、わずか約5年の平均生存期間の不治の病である(非特許文献31)。それゆえに、新たな治療剤がMM治療において必要とされる。MMにおけるPI3K-Akt経路の過剰活性化が報告されている(非特許文献32)。MMにおける2つの主な増殖因子のIGF-1及びIL6は、PI3K-Akt経路を活性化することによって、骨髄腫細胞の増殖及び薬物耐性を促進する(非特許文献33、34)。PI3K-Akt-mTOR経路の阻害剤のパネルは、インビトロ及びインビボの両方で抗MM活性を示すことが明らかにされている(非特許文献35-37)。それゆえに、PI3K-Akt-mTOR経路標的療法は、MMを治療する有望な方法である。

【0131】

本研究において、化合物A、汎PI3K阻害剤の抗MM活性が示されている。化合物Aでの処理は、用量依存的に、試験したすべてのMM細胞株及び初代培養MM細胞において、細胞の増殖阻害及びアポトーシスの誘導をもたらす(図1A、1B、1C、1D、及び2A)。化合物Aは、正常なPBMC又は非悪性BMSCに対しては限定的な細胞毒性のみを有する(図1C、1E)。加えて、化合物Aは、SCIDマウスのMMモデルにおいてインビボで抗MM活性を示す。化合物Aで処理したMMを担持するマウスは、腫瘍増殖が抑制され、生存が延長された(図6A、6B、及び6C)。重要なことには、化合物Aが誘導したMMの細胞毒性は、BMSC又はIL-6の存在によってもたらされた薬物耐性を克服する(図2A、2B)。先行研究は、MM骨髄中のBMSCがMM薬物耐性において重要な役割を果たすことを示している(非特許文献38、39)。BMSCを介した薬物耐性の一つのメカニズムは、BMSCが薬物耐性因子IL-6を分泌し、化学療法によって誘導されたアポトーシスからMM細胞を保護することである(非特許文献40)。

結果として、MM患者は、通常、治療中に、従来の化学療法剤に対して薬物耐性を生じ、薬物に対してさらに耐性がある再発性腫瘍を有する（非特許文献41）。したがって、これらの所見は、化合物Aが強力な抗MM活性を有し、従来の化学療法薬に対して耐性があるこれらのMM患者に有効であることを示す。

【0132】

PI3K - Akt - mTOR経路のシグナル伝達及び下流エフェクターが、異なる癌細胞モデルにおいて研究されている。概して、PI3K - Aktの阻害は、細胞周期停止、細胞の増殖抑制及びアポトーシスをもたらす（非特許文献42、43）。

【0133】

開示される実験において、MM細胞株中のPI3K - Akt - mTOR経路における化合物Aの阻害効果が示されている（図3B及び3C）。化合物Aは、p27（Kip1）の上方調節及びサイクリンD1の下方調節によって、G1期でMM細胞の細胞周期停止を引き起こす（図3A、3B、及び4B）。加えて、化合物Aの曝露は、アポトーシスBimS発現の上方調節及び抗アポトーシスXIAP発現の下方調節をもたらす、これらの両方が、MM細胞のアポトーシスを引き起こし得る。

10

【0134】

これらの所見は、化合物Aとデキサメタゾンとの組み合わせの相乗的な抗MM活性を示す（図5A、5B）。この相乗的な効果は、デキサメタゾンに感受性がある細胞にのみあり、デキサメタゾンに耐性がある細胞にはない。さらに重要なことには、化合物Aとデキサメタゾンとの併用は、低用量のそれぞれの薬物を用いるときでさえ、相乗的な効果を示す（図5B、5D）。加えて、デキサメタゾンの曝露後の化合物Aでの治療の組み合わせは、デキサメタゾン又は化合物Aのみでの治療と比較して、増強した抗MM活性も示す（図5E）。デキサメタゾンは、一般に単独で、又は他の化学療法薬と一緒に、MMの治療において使用される（非特許文献44）。デキサメタゾン使用の一般的なルールは、良好な反応を得る又は副作用を最小限に抑えるために必要とされる最小用量を与えることである。したがって、これらの所見は、化合物Aとデキサメタゾンを組み合わせた治療が、MMを治療するために有効、かつ毒性のより少ない方法であることを示す。デキサメタゾン治療を受けているMM患者はまた、化合物Aに切り替え後、利益を得る場合がある。これらの所見は、比較的低い投与量の化合物A及びデキサメタゾンを用いた組み合わせ治療が、MMを治療するために有用な方法であることを示す。

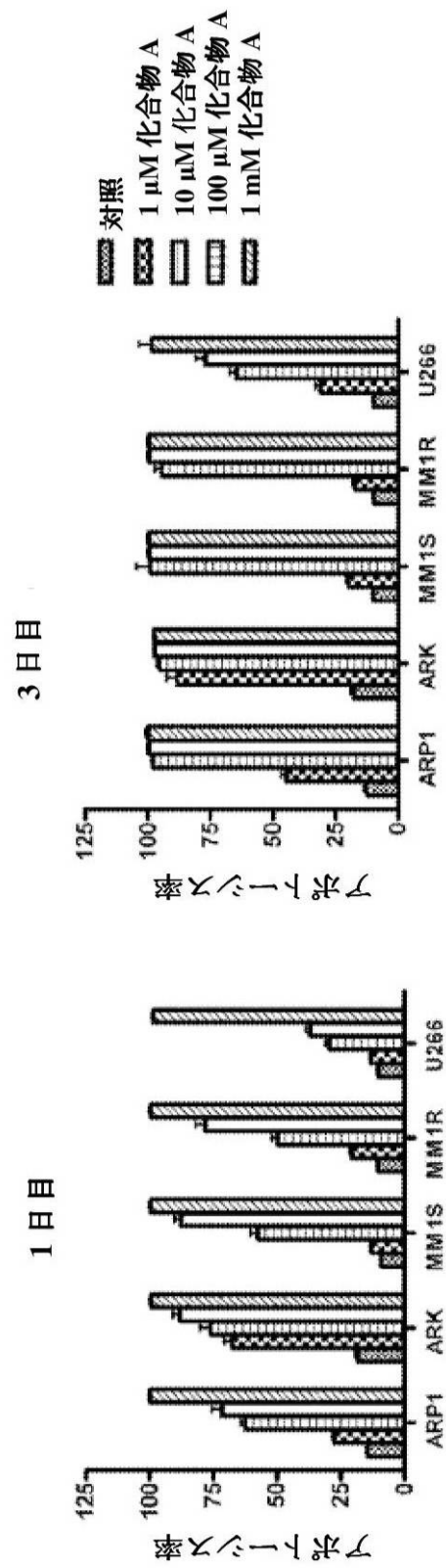
20

30

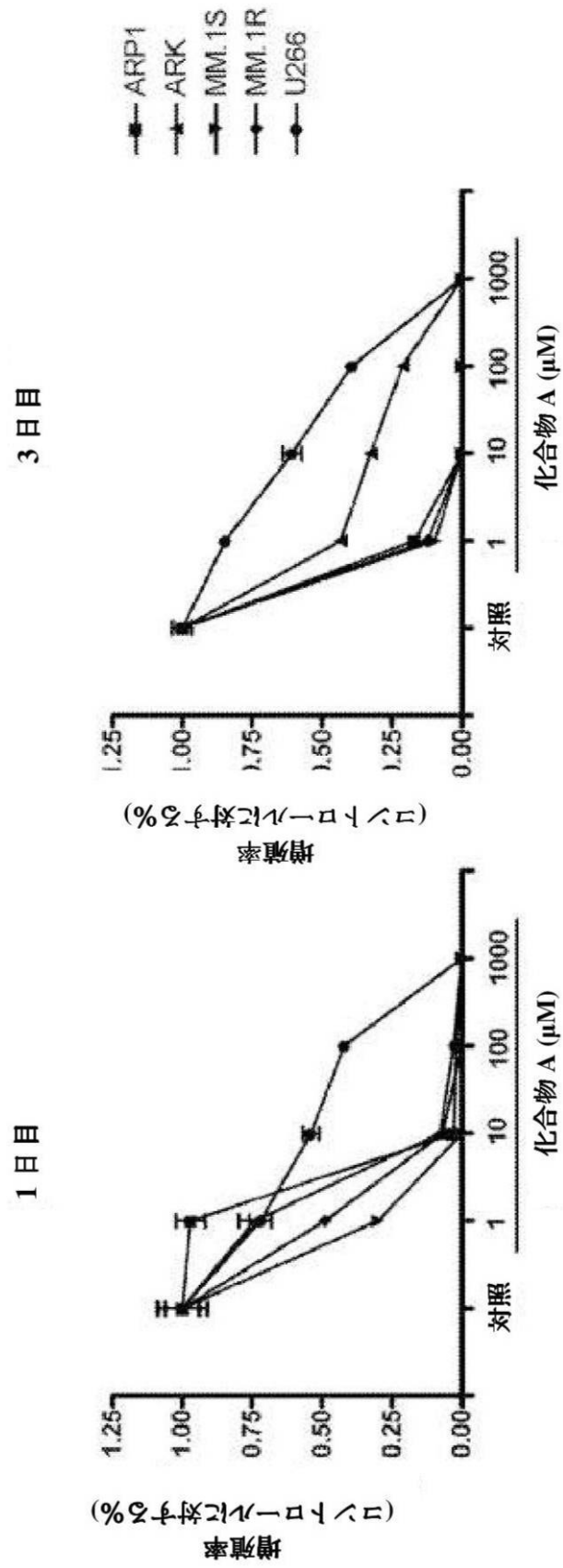
【0135】

要約すると、本開示は、インビトロ及びインビボで化合物Aの抗MM活性を示す。化合物Aの単独、又は他のMM化学療法薬、特にデキサメタゾンとの併用は、MMに対する有効な治療である。

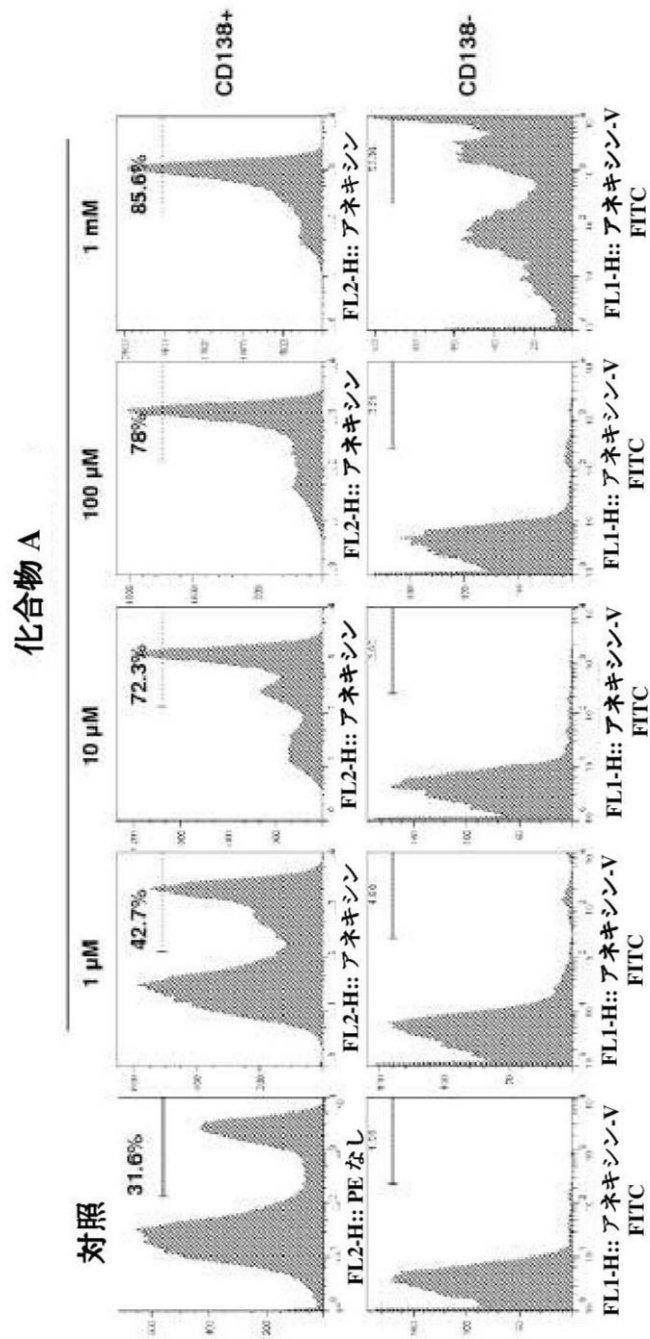
【図 1 A】



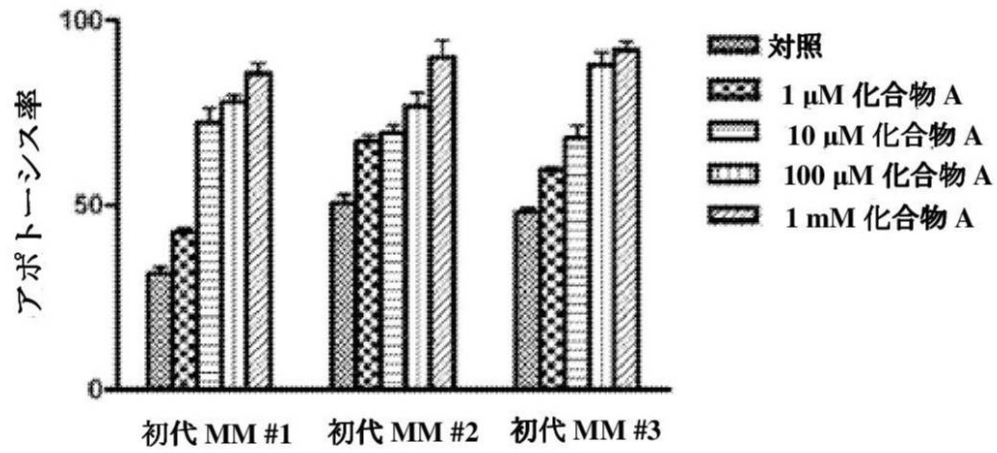
【図 1 B】



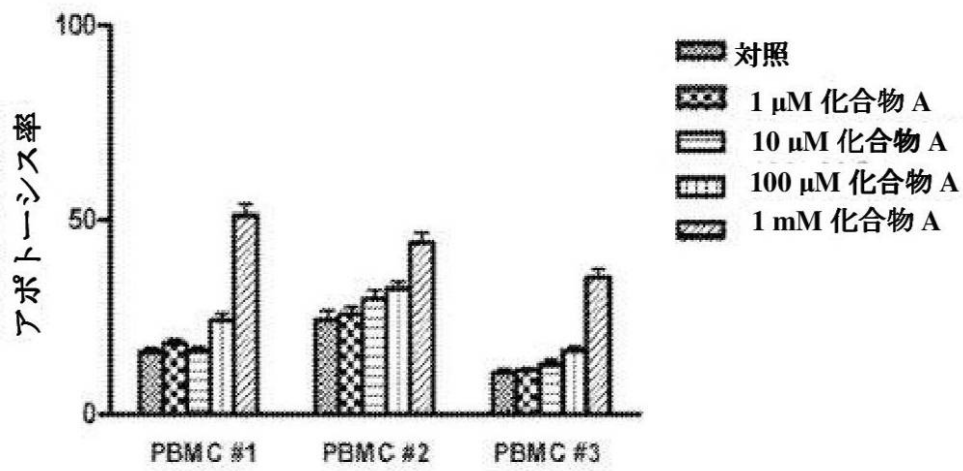
【図 1 C】



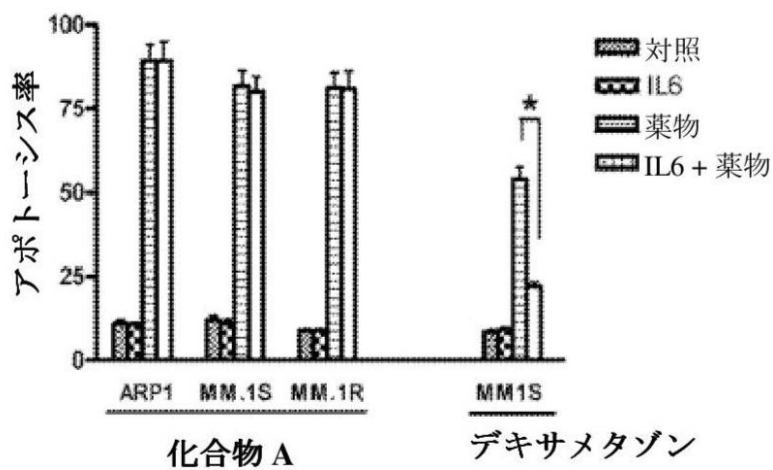
【図 1 D】



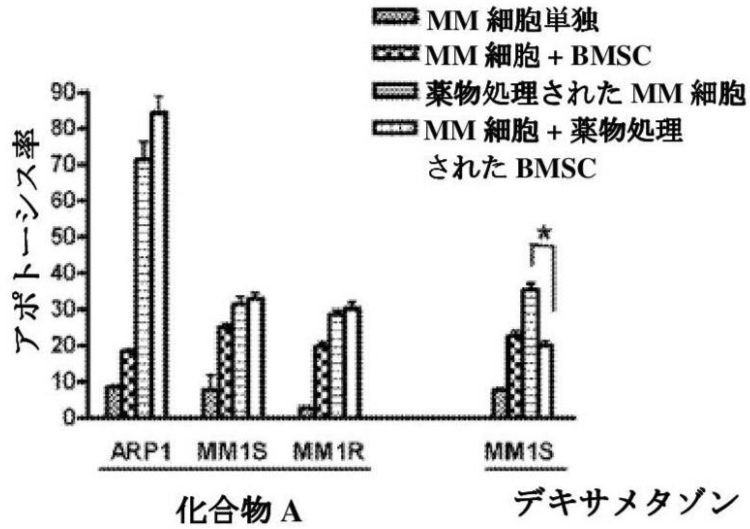
【図 1 E】



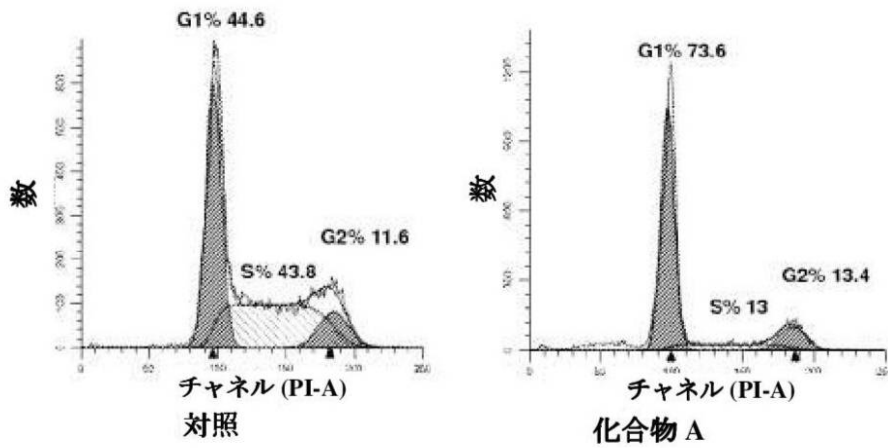
【図 2 A】



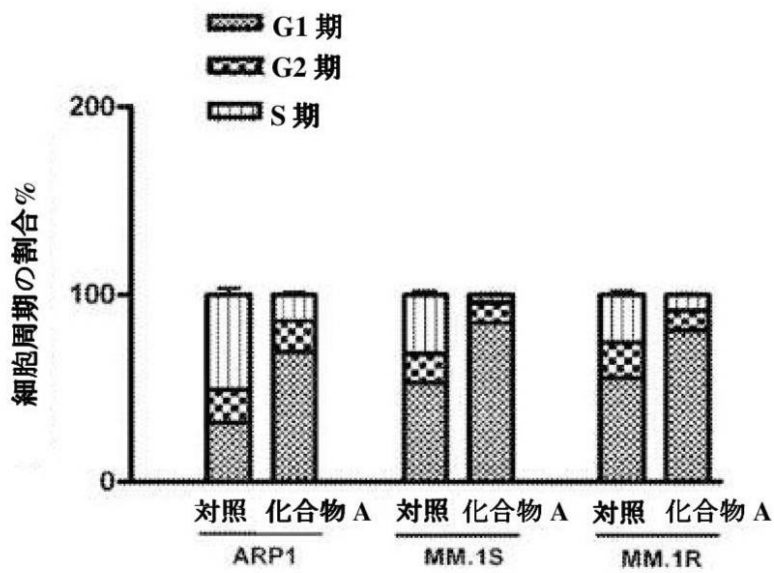
【図 2 B】



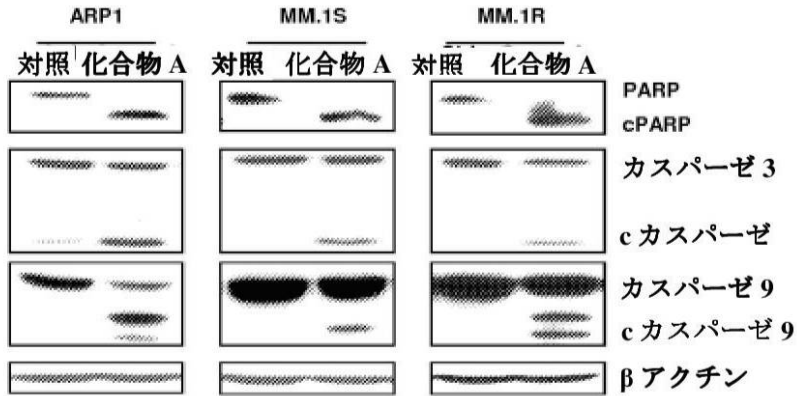
【図 3 A】



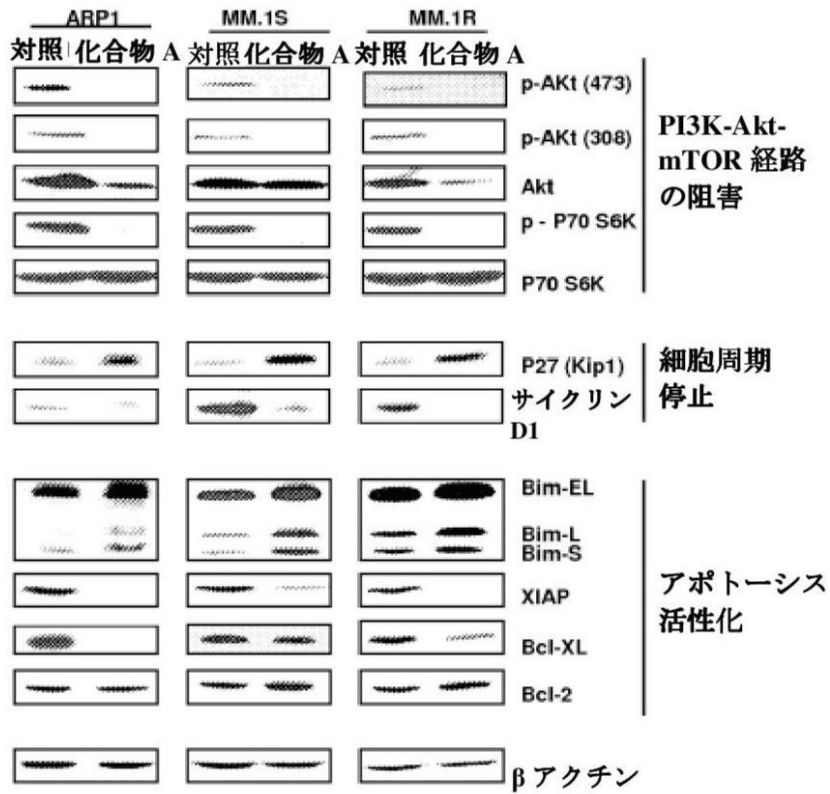
【図 3 B】



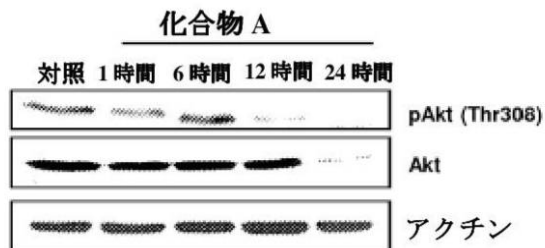
【 図 4 A 】



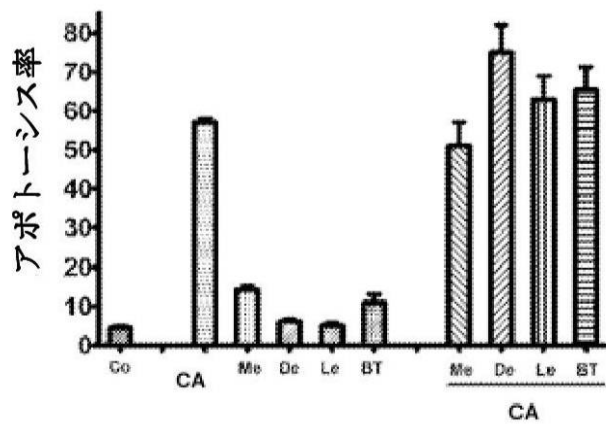
【 図 4 B 】



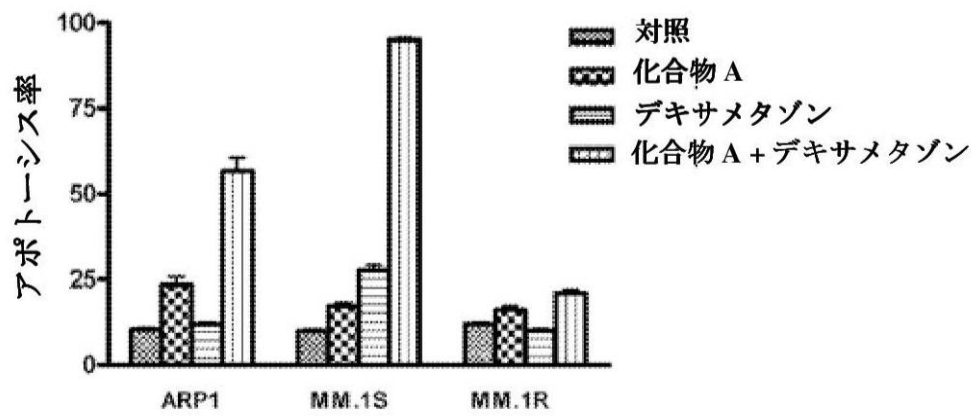
【 図 4 C 】



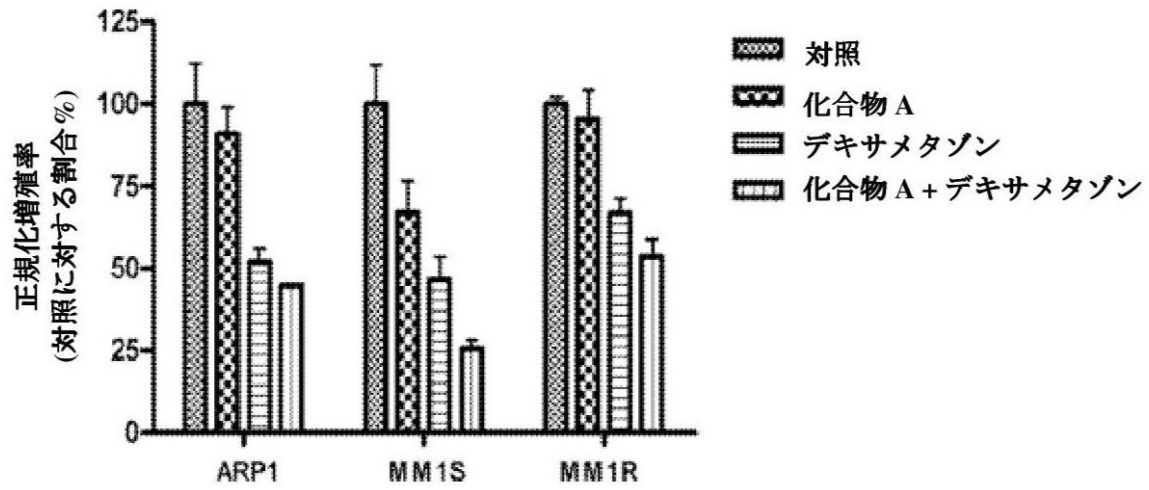
【図 5 A】



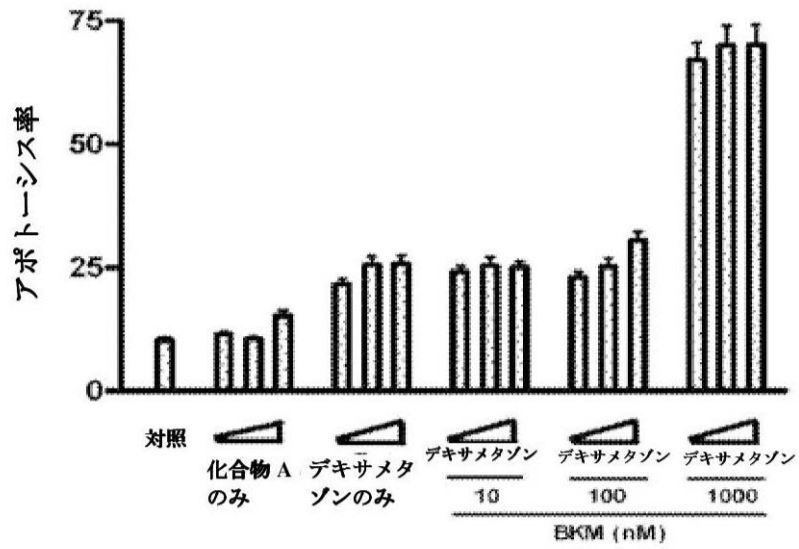
【図 5 B】



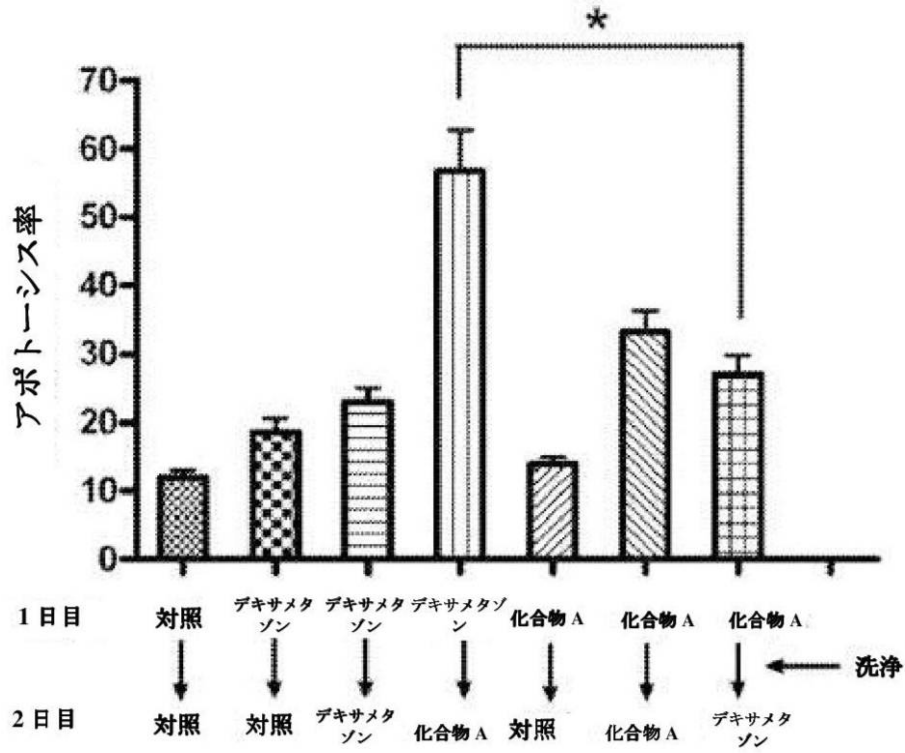
【図 5 C】



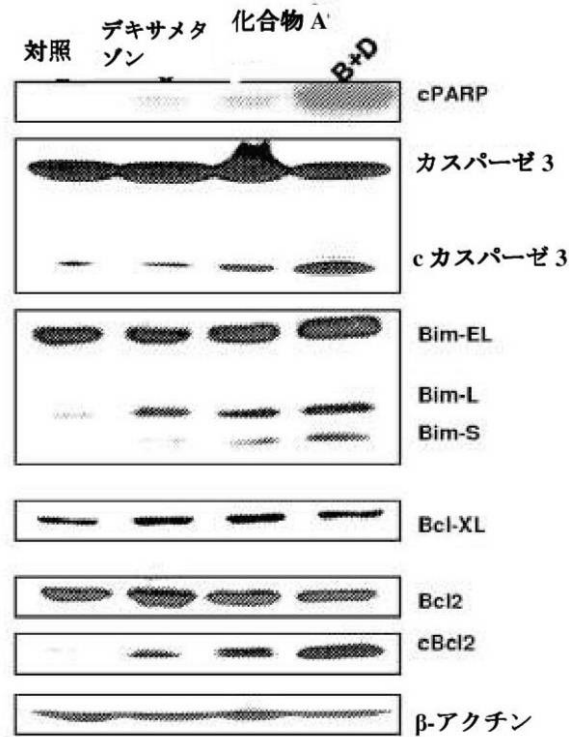
【図 5 D】



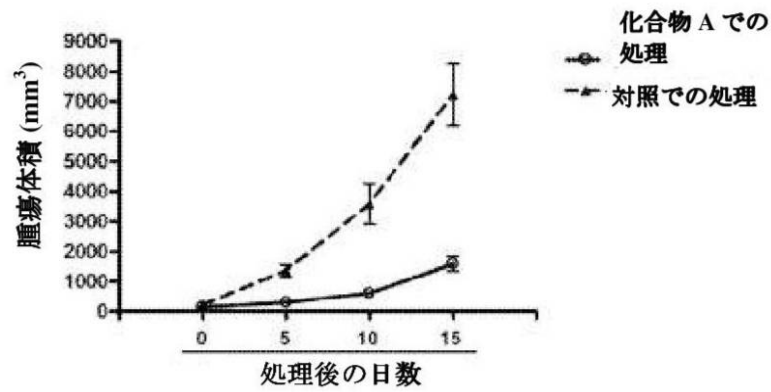
【図 5 E】



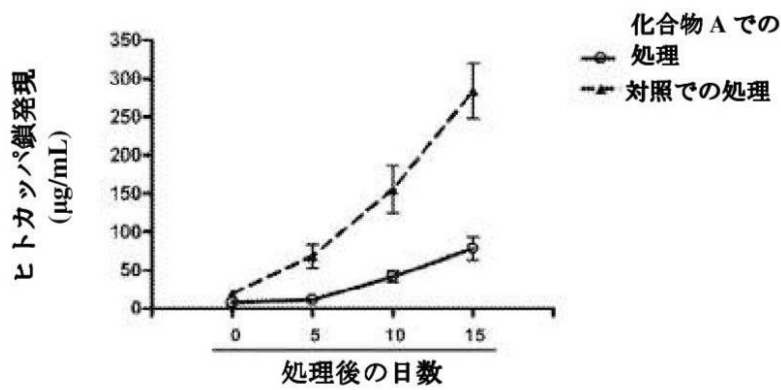
【図 5 F】



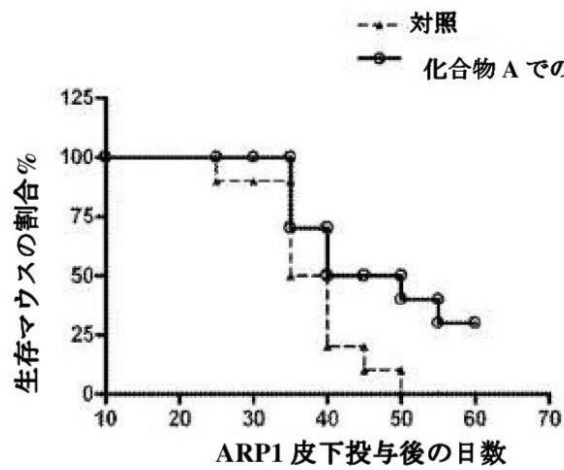
【図 6 A】



【図 6 B】



【図 6 C】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2011/060297

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K31/5377 A61K31/573 A61P35/00 ADD.		
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) A61K		
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) EP0-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE, PASCAL, SCISEARCH, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2007/084786 A1 (NOVARTIS AG [CH]; BURGER MATTHEW [US]; NI ZHI-JIE [US]; PECCHI SABINA) 26 July 2007 (2007-07-26) cited in the application paragraph [0086] paragraph [0112] paragraph [0184] example 10 table 1 ----- -/--	1-15
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" 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 document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubt 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		Date of mailing of the international search report
21 December 2011		23/01/2012
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 6818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040 Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer
		Albrecht, Silke

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2011/060297

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>DATABASE BIOSIS [Online] BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; November 2009 (2009-11), WALSH KATHERINE J ET AL: "PI3K Inhibitors Inhibit Lymphoma Growth by Downregulation of MYC-Dependent Proliferation.", XP002666170, Database accession no. PREV201000352691 abstract & BLOOD, vol. 114, no. 22, November 2009 (2009-11), page 676, 51ST ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN-SOCIETY-OF-HEMATOLOGY; NEW ORLEANS, LA, USA; DECEMBER 05 -08, 2009 ISSN: 0006-4971(print) -----</p>	1-15
A	<p>DATABASE HCAPLUS [Online] 13 August 2010 (2010-08-13), BURGER, MATTHEW T. ET AL: "Discovery of BKM120 , a pan class I PI3 kinase inhibitor in phase I/II clinical trials", XP002666171, Database accession no. 2010:1012092 abstract</p>	1-15
A	<p>& ABSTRACTS OF PAPERS, 240TH ACS NATIONAL MEETING, BOSTON, MA, UNITED STATES, 22 August 2010 (2010-08-22), - 26 August 2010 (2010-08-26), MEDI-489 PUBLISHER: AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, D. C. -----</p>	1-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2011/060297

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2007084786 A1	26-07-2007	AR 059087 A1	12-03-2008
		AT 478064 T	15-09-2010
		AU 2007206048 A1	26-07-2007
		BR PI0707189 A2	26-04-2011
		CA 2636993 A1	26-07-2007
		CN 101389622 A	18-03-2009
		DK 1984350 T3	15-11-2010
		EA 200801680 A1	30-12-2008
		EC SP088630 A	29-08-2008
		EP 1984350 A1	29-10-2008
		EP 2261223 A1	15-12-2010
		ES 2351172 T3	01-02-2011
		GE P20115147 B	25-01-2011
		HK 1122031 A1	31-12-2010
		HR 20100603 T1	31-12-2010
		JP 2009527464 A	30-07-2009
		KR 20080096776 A	03-11-2008
		MA 30208 B1	02-02-2009
		MY 144233 A	15-08-2011
		NZ 569771 A	29-07-2011
		PE 13222007 A1	27-01-2008
		PT 1984350 E	11-11-2010
		RS 51548 B	30-06-2011
		SI 1984350 T1	31-12-2010
		SM AP200800048 A	13-08-2008
		SV 2008002984 A	17-08-2010
		TW 200808786 A	16-02-2008
		US 2010249126 A1	30-09-2010
		WO 2007084786 A1	26-07-2007
		ZA 200806017 A	27-01-2010

フロントページの続き

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

(72)発明者 ゼン、ユファン

アメリカ合衆国、 テキサス・ 77054、 ヒューストン、 844・エル・パセオ・ 1885

Fターム(参考) 4C086 AA01 AA02 BC73 GA07 GA08 GA12 MA02 MA04 NA14 ZB26

ZC20