

(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2018-525425

(P2018-525425A)

(43) 公表日 平成30年9月6日(2018.9.6)

(51) Int.Cl.

**A61K 31/506 (2006.01)**  
**A61K 31/519 (2006.01)**  
**A61K 31/4439 (2006.01)**  
**A61P 35/00 (2006.01)**  
**A61P 35/02 (2006.01)**

F 1

A 6 1 K 31/506  
A 6 1 K 31/519  
A 6 1 K 31/4439  
A 6 1 P 35/00  
A 6 1 P 35/02

テーマコード(参考)

4 C 0 8 6

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 36 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2018-510912(P2018-510912)  
(86) (22) 出願日 平成28年8月25日(2016.8.25)  
(85) 翻訳文提出日 平成30年4月27日(2018.4.27)  
(86) 國際出願番号 PCT/IB2016/055076  
(87) 國際公開番号 WO2017/037587  
(87) 國際公開日 平成29年3月9日(2017.3.9)  
(31) 優先権主張番号 62/211,027  
(32) 優先日 平成27年8月28日(2015.8.28)  
(33) 優先権主張国 米国(US)

(71) 出願人 504389991  
ノバルティス アーゲー  
スイス国 バーゼル リヒトシュトラーセ  
35  
(74) 代理人 100092783  
弁理士 小林 浩  
(74) 代理人 100095360  
弁理士 片山 英二  
(74) 代理人 100120134  
弁理士 大森 規雄  
(74) 代理人 100104282  
弁理士 鈴木 康仁

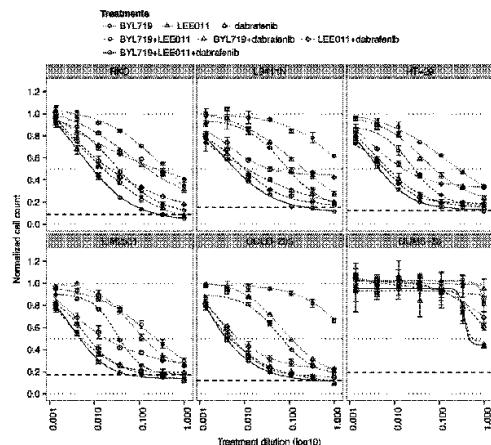
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】がんを治療または予防するためのリボシクリブとダブラフェニブの組み合わせ

## (57) 【要約】

本開示は、サイクリン依存性キナーゼ4 / 6 (CDK4 / 6) 阻害剤化合物、(b) B-Raf 阻害剤化合物、および任意に(c) アルファ-アイソフォーム特異的ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ(PI3K)阻害剤化合物を含む、がんの治療または予防のための医薬的組み合わせ、ならびにがんの治療または予防に関連する医薬組成物、使用および方法に関する。

FIGURE 1

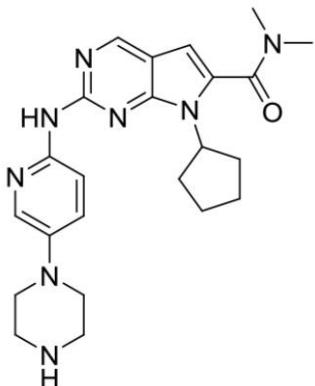


## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

(a) 式(I)の構造を有する第1の化合物：

## 【化1】



式(I)

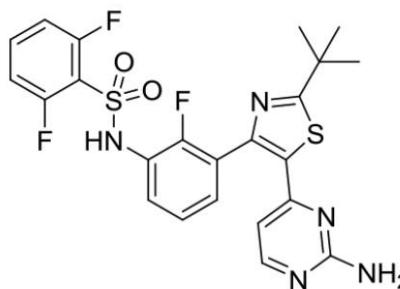
10

またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物と、

(b) 式(II)の構造を有する第2の化合物：

## 【化2】

20



式(II)

30

またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物と  
を含む、医薬的組み合わせ。

## 【請求項 2】

式(I)の構造を有する前記化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物、および式(II)の構造を有する前記化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物が、同じ製剤の中にある、請求項1に記載の医薬的組み合わせ。

## 【請求項 3】

式(I)の構造を有する前記化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物、および式(II)の構造を有する前記化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物が、別々の製剤の中にある、請求項1に記載の医薬的組み合わせ。

40

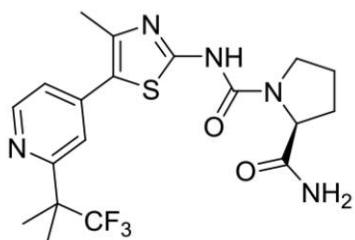
## 【請求項 4】

前記組み合わせが、同時または順次投与のためのものである、請求項1に記載の医薬的組み合わせ。

## 【請求項 5】

式(III)の構造を有する第3の化合物：

## 【化3】



式(III)

10

またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物を更に含む、請求項1に記載の医薬的組み合わせ。

## 【請求項6】

式(I)の構造を有する前記化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物、式(II)の構造を有する前記化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物、および式(III)の構造を有する前記化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和が、同じ製剤の中にある、請求項5に記載の医薬的組み合わせ。

## 【請求項7】

式(I)の構造を有する前記化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物、式(II)の構造を有する前記化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物、および式(III)の構造を有する前記化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和が、2または3つの別々の製剤の中にある、請求項5に記載の医薬的組み合わせ。

20

## 【請求項8】

前記組み合わせが、同時または順次投与のためのものである、請求項5に記載の医薬的組み合わせ。

## 【請求項9】

前記第1の化合物が、式(I)の構造を有する前記化合物のコハク酸塩である、請求項1から8のいずれか一項に記載の医薬的組み合わせ。

30

## 【請求項10】

それを必要とする対象においてがんを治療または予防する方法であって、治療有効量の請求項1から9のいずれか一項に記載の医薬的組み合わせを前記対象に投与することを含む、方法。

## 【請求項11】

前記がんが、黒色腫、肺がん（非小細胞がん（NSCLC）を含む）、結腸直腸がん（CRC）、乳がん、腎臓がん、腎細胞癌（RCC）、肝臓がん、急性骨髓性白血病（AML）、骨髄異形成症候群（MDS）、甲状腺がん、膵がん、神経線維腫症、および肝細胞癌からなる群から選択される、請求項10に記載の方法。

## 【請求項12】

前記がんが結腸直腸がんである、請求項10に記載の方法。

40

## 【請求項13】

前記がんが、B-Raf変異、B-Raf V600E変異、PIK3CA変異、およびPIK3CA過剰発現のうちの1つまたは複数により特徴付けられる、請求項10から12のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項14】

がんの治療または予防における使用のための、請求項1～9のいずれか一項に記載の医薬的組み合わせ。

## 【請求項15】

がんの治療または予防のための医薬の製造における使用のための、請求項1～9のいずれか一項に記載の医薬的組み合わせ。

50

**【請求項 16】**

前記がんが、黑色腫、肺がん（非小細胞がん（N S C L C）を含む）、結腸直腸がん（C R C）、乳がん、腎臓がん、腎細胞癌（R C C）、肝臓がん、急性骨髓性白血病（A M L）、骨髓異形成症候群（M D S）、甲状腺がん、膵がん、神経線維腫症、および肝細胞癌からなる群から選択される、請求項14または15に記載の医薬的組み合わせ。

**【請求項 17】**

前記がんが結腸直腸がんである、請求項16に記載の医薬的組み合わせ。

**【請求項 18】**

前記がんが、B - R a f 変異、B - R a f V 6 0 0 E 変異、P I K 3 C A 変異、およびP I K 3 C A 過剰発現のうちの1つまたは複数により特徴付けられる、請求項14から16のいずれか一項に記載の医薬的組み合わせ。10

**【請求項 19】**

がんの治療または予防のための医薬の製造のための、請求項1～9のいずれか一項に記載の医薬的組み合わせの使用。

**【請求項 20】**

がんの治療または予防のための、請求項1～9のいずれか一項に記載の医薬的組み合わせの使用。

**【請求項 21】**

前記がんが、黑色腫、肺がん（非小細胞がん（N S C L C）を含む）、結腸直腸がん（C R C）、乳がん、腎臓がん、腎細胞癌（R C C）、肝臓がん、急性骨髓性白血病（A M L）、骨髓異形成症候群（M D S）、甲状腺がん、膵がん、神経線維腫症、および肝細胞癌からなる群から選択される、請求項19または20に記載の使用。20

**【請求項 22】**

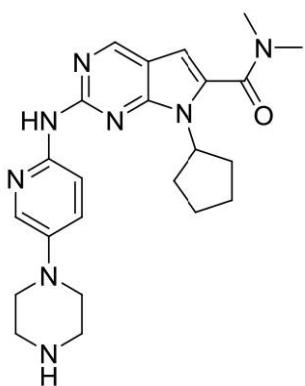
前記がんが結腸直腸がんである、請求項21に記載の使用。

**【請求項 23】**

前記がんが、B - R a f 変異、B - R a f V 6 0 0 E 変異、P I K 3 C A 変異、およびP I K 3 C A 過剰発現のうちの1つまたは複数により特徴付けられる、請求項19から22のいずれか一項に記載の使用。

**【請求項 24】**

(a)式(I)の構造を有する第1の化合物：30

**【化4】**

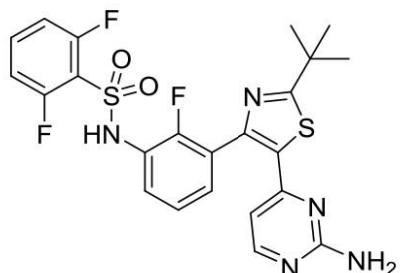
式(I)

またはその薬学的に許容される塩と、

(b)式(II)の構造を有する第2の化合物：

40

## 【化5】



式(II)

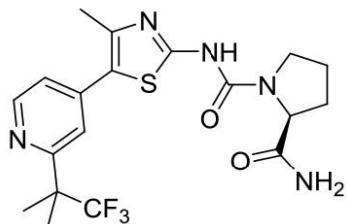
10

またはその薬学的に許容される塩と  
を含む、医薬組成物。

## 【請求項25】

式(IICI)の構造を有する第3の化合物：

## 【化6】



式(III)

20

またはその薬学的に許容される塩  
を更に含む、請求項24に記載の医薬組成物。

## 【請求項26】

1つまたは複数の添加剤を更に含む、請求項24または25に記載の医薬組成物。

30

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

## 技術分野

本開示は、(a)サイクリン依存性キナーゼ4/6(CDK4/6)阻害剤化合物、(b)B-Raf阻害剤化合物、および任意に(c)アルファ-アイソフォーム特異的ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ(PI3K)阻害剤化合物を含む、癌の治療または予防のための医薬的組み合わせ(pharmaceutical combination)に関する。本開示は、がんの治療または予防に関連する医薬組成物、使用および方法も提供する。

## 【背景技術】

40

## 【0002】

## 背景

腫瘍発生は、サイクリン依存性キナーゼ(CDK)およびこれらの調節剤の遺伝子改変および調節解除に密接に関連しており、CDKの阻害剤が抗がん療法に有用でありうることを示唆している。事実、初期の結果は、転換細胞および正常細胞が、例えばサイクリンD/CDK4/6に対する要件が異なっていること、ならびに従来の細胞障害性および細胞増殖抑制性薬物により観察された一般的な宿主毒性を回避する新規抗新生物剤を開発することが、可能でありうることを示唆している。

## 【0003】

CDKの機能はリン酸化することであり、したがって、例えば、網膜芽細胞腫タンパク

50

質、ラミン、ヒストンH1、および有糸分裂紡錘体の構成成分を含む特定のタンパク質を活性化または不活性化することである。CDKにより媒介される触媒ステップは、ATPから巨大分子酵素基質へのリン酸基転移反応を伴う。いくつかの化合物群（例えば、Fischer, P. M. Curr. Opin. Drug Discovery Dev. 2001, 4, 623-634において総説されている）が、CDK特異的ATP拮抗作用によって抗増殖特性を持つことが見出されている。

#### 【0004】

分子レベルにおいて、CDK /サイクリン複合体活性の媒介は、一連の刺激性および阻害性のリン酸化または脱リン酸化事象を必要とする。CDKリン酸化は、一群のCDK活性化キナーゼ（CAK）、ならびに/またはWee1、Myt1、およびMik1などのキナーゼによって実施される。脱リン酸化は、Cdc25(a&c)、PP2A、またはKAPなどのホスファターゼにより実施される。

10

#### 【0005】

CDK /サイクリン複合体活性は、内在性細胞タンパク質様阻害剤の2つのファミリーである、Kip/CipファミリーまたはINKファミリーによって更に調節されうる。INKタンパク質は、CDK4およびCDK6に特異的に結合する。p16<sup>INK4</sup>（MTS1としても公知である）は、多数の原発性がんにおいて変異または欠失している、潜在的な腫瘍抑制遺伝子である。Kip/Cipファミリーには、p21<sup>Cip1/Waf1</sup>、p27<sup>Kip1</sup>、およびp57<sup>Kip2</sup>などのタンパク質が含まれ、p21は、p53により誘発され、CDK2 /サイクリン(E/A)複合体を不活性化することができる。異常に低レベルのp27発現が、乳がん、結腸がん、および前立腺がんにおいて観察されている。逆に、固形腫瘍におけるサイクリンEの過剰発現は、不十分な患者予後に相關していることが示されている。サイクリンD1の過剰発現は、食道癌、乳癌、扁平上皮癌、および非小細胞肺癌に関連している。

20

#### 【0006】

増殖細胞における細胞周期の協調および駆動におけるCDKおよびそれらの関連タンパク質の中心的役割が、上記に概説されている。CDKが主要な役割を果たすいくつかの生化学的経路も記載されている。したがって、CDKを一般的に、またはCDKを特異的に標的にする治療薬を使用してがんなどの増殖性障害を治療するために、単剤療法を開発することは潜在的に極めて望ましい。

30

#### 【0007】

様々なRas GTPアーゼおよびB-Rafキナーゼにおける変異は、MAPK経路の持続的および構成的活性化をもたらし、最終的に細胞分裂および生存の増加をもたらしうることが確認されている。この結果、これらの変異は、広範囲のヒトがんの確立、発生、および進行と強く関連している。シグナル伝達におけるRafキナーゼ、具体的にはB-Rafの生物学的な役割は、Davies, H., et al., Nature (2002) 9:1-6; Garnett, M.J. & Marais, R., Cancer Cell (2004) 6:313-319; Zebisch, A. & Troppmair, J., Cell. Mol. Life Sci. (2006) 63:1314-1330; Midgley, R.S. & Kerr, D.J., Crit. Rev. Onc/Hematol. (2002) 44:109-120; Smith, R.A., et al., Curr. Top. Med. Chem. (2006) 6:1071-1089およびDownward, J., Nat. Rev. Cancer (2003) 3:11-22に記載されている。

40

#### 【0008】

MAPK経路シグナル伝達を活性化するB-Rafキナーゼの天然に生じる変異が、大きなパーセンテージでヒト黒色腫(Davies (2002)上記)および甲状腺がん(Cohen et al. J. Nat. Cancer Inst. (2003) 95(8) 625-627およびKimura et al. Cancer Res. (2003) 63(7) 1454-1457)において、ならびに低いが、依然として有意な頻度で以下において見出された。

#### 【0009】

バレット腺癌(Garnett et al., Cancer Cell (2004) 6 313-319およびSommerer et al. Oncogene (2004) 23(2) 554-558)、胆道癌(Zebisch et al., Cell. Mol. Life Sci. (2006) 63 1314-1330)、乳がん(Davies (2002)上記)、子宮頸がん(Moreno-Bueno et al. Clin. Cancer Res. (2006) 12(12) 3865-3866)、胆管細胞癌(Tannapfel et al. Gut (

50

2003) 52(5) 706-712)、神経膠芽腫、星状細胞腫および上衣細胞腫などの原発性CNS腫瘍を含む中枢神経系腫瘍(Knobbe et al. *Acta Neuropathol. (Berl.)* (2004) 108(6) 467-470, Davies (2002)上記およびGarnett et al., *Cancer Cell* (2004)上記)、ならびに二次性CNS腫瘍(すなわち、中枢神経系の外部に由来する腫瘍の中枢神経系への転移)、大腸結腸癌を含む結腸直腸がん(Yuen et al. *Cancer Res.* (2002) 62(22) 6451-6455, Davies (2002)上記およびZebisch et al., *Cell. Mol. Life Sci.* (2006))、胃がん(Lee et al. *Oncogene* (2003) 22(44) 6942-6945)、頭頸部扁平上皮癌を含む頭頸部癌(Cohen et al. *J. Nat. Cancer Inst.* (2003) 95(8) 625-627およびWeber et al. *Oncogene* (2003) 22(30) 4757-4759)、白血病を含む血液がん(Garnett et al., *Cancer Cell* (2004)上記)、特に急性リンパ球性白血病(Garnett et al., *Cancer Cell* (2004)上記およびGustafsson et al. *Leukemia* (2005) 19(2) 310-312)、急性骨髓性白血病(AML)(Lee et al. *Leukemia* (2004) 18(1) 170-172およびChristiansen et al. *Leukemia* (2005) 19(12) 2232-2240)、骨髓異形成症候群(Christiansen et al. *Leukemia* (2005)上記)および慢性骨髓性白血病(Mizuchi et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2005) 326(3) 645-651)、ホジキンリンパ腫(Figl et al. *Arch. Dermatol.* (2007) 143(4) 495-499)、非ホジキンリンパ腫(Lee et al. *Br. J. Cancer* (2003) 89(10) 1958-1960)、巨核芽球性白血病(Eychene et al. *Oncogene* (1995) 10(6) 1159-1165)および多発性骨髓腫(Ng et al. *Br. J. Haematol.* (2003) 123(4) 637-645)、肝細胞癌(Garnett et al., *Cancer Cell* (2004))、小細胞肺がん(Pardo et al. *EMBO J.* (2006) 25(13) 3078-3088)および非小細胞肺がん(Davies (2002)上記)を含む肺がん(Brose et al. *Cancer Res.* (2002) 62(23) 6997-7000, Cohen et al. *J. Nat. Cancer Inst.* (2003)上記およびDavies (2002)上記)、卵巣がん(Russell & McCluggage *J. Pathol.* (2004) 203(2) 617-619およびDavies (2002)上記)、子宮内膜がん(Garnett et al., *Cancer Cell* (2004)上記およびMoreno-Bueno et al. *Clin. Cancer Res.* (2006)上記)、脾がん(Ishimura et al. *Cancer Lett.* (2003) 199(2) 169-173)、下垂体腺腫(De Martino et al. *J. Endocrinol. Invest.* (2007) 30(1) RC1-3)、前立腺がん(Cho et al. *Int. J. Cancer* (2006) 119(8) 1858-1862)、腎がん(Nagy et al. *Int. J. Cancer* (2003) 106(6) 980-981)、肉腫(Davies (2002)上記)、ならびに皮膚がん(Rodriguez-Viciano et al. *Science* (2006) 311(5765) 1287-1290およびDavies (2002)上記)。c-Rafの過剰発現は、AML(Zebisch et al., *Cancer Res.* (2006) 66(7) 3401-3408およびZebisch (*Cell. Mol. Life Sci.* (2006)))、ならびに赤白血病(Zebisch et al., *Cell. Mol. Life Sci.* (2006))に関連付けられている。

#### 【0010】

ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ(PI3K)は、リン酸塩がイノシトール脂質のD-3'位に移動してホスホイノシトール-3-リン酸(PIP)、ホスホイノシトール-3,4-二リン酸(PIP<sub>2</sub>)、およびホスホイノシトール-3,4,5-三リン酸(PIP<sub>3</sub>)を産生させ、次にプレクストリン相同性、FYVE、Phox、および他のリン脂質結合ドメインを含有するタンパク質を、多くの場合に細胞膜にある様々なシグナル伝達複合体にドッキングさせることにより、シグナル伝達カスケードにおける第2のメッセンジャーとして作用するように触媒する、脂質キナーゼのファミリーを含む(Vanhaesebroeck et al., *Annu. Rev. Biochem.* 70:535 (2001); Katso et al., *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 17:615 (2001))。2つのクラス1 PI3Kのうち、クラス1A PI3Kは、p85<sup>+</sup>、p55<sup>+</sup>、p50<sup>+</sup>、p85<sup>+</sup>、またはp55<sup>+</sup>でありうる調節サブユニットと構成的に会合する触媒性p110サブユニット(、アイソフォーム)から構成されるヘテロ二量体である。クラス1Bサブクラスは、2つの調節サブユニットのp101またはp84のうちの1つと会合する触媒性p110サブユニットから構成されるヘテロ二量体である、1つのファミリーメンバーを有する(Fruman et al., *Annu. Rev. Biochem.* 67:481 (1998); Suire et al., *Curr. Biol.* 15:566 (2005))。p85<sup>+/55<sup>+</sup>/50</sup>サブユニットのモジュラードメインは、特定の配列の文脈において、活性化された受容体チロシンキナーゼおよび細胞質チロシンキナーゼ上のホスホチロシン残基に結

合し、クラス1A PI3Kの活性化および局在化をもたらす、Src相同性(SH2)ドメインを含む。クラス1B PI3Kは、多様なレパートリーのペプチドおよび非ペプチドリガンドに結合するGタンパク質共役受容体によって、直接活性化される(Stephens et al., Cell 89:105 (1997)); Katso et al., Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 17:615-675 (2001))。したがって、もたらされたクラスI PI3Kのリン脂質産物は、上流の受容体を、増殖、生存、走化性、細胞輸送、運動性、代謝、炎症およびアレルギー応答、転写、ならびに翻訳を含む下流の細胞活性と関連付ける(Cantley et al., Cell 64:281 (1991); Escobedo and Williams, Nature 335: 85 (1988); Fantl et al., Cell., 69: 413 (1992))。

## 【0011】

10

多くの場合において、PIP<sub>2</sub>およびPIP<sub>3</sub>は、ウイルスがん遺伝子v-Aktのヒト相同体の産物であるAktを、細胞膜へと動員し、そこで成長および生存にとって重要な多くの細胞内シグナル伝達経路の節点として作用する(Fantl et al., Cell 69:413-423(1992); Bader et al., Nature Rev. Cancer 5:921 (2005); Vivanco and Sawyer, Nature Rev. Cancer 2:489 (2002))。多くの場合にAkt活性化を介して生存を増加させるPI3Kの異常な調節は、ヒトがんにおいて最も一般的な事象の1つであり、複数のレベルにおいて生じることが示されている。イノシトール環の3'位でホスホイノシチドを脱リン酸化し、そうすることによってPI3K活性を拮抗する腫瘍抑制遺伝子のPTENは、様々な腫瘍において機能的に欠失している。他の腫瘍では、p110アイソフォームであるPIK3CAの遺伝子、およびAktの遺伝子が増幅され、遺伝子産物のタンパク質発現が増加することが、いくつかのヒトがんにおいて実証されている。

20

## 【0012】

更に、p85-p110複合体を上方調節するように機能するp85の変異および転位が、ヒトがんにおいて記載されている。最後に、下流シグナル伝達経路を活性化するPIK3CAにおける体細胞ミスセンス変異が、多種多様なヒトがんにおいて著しく頻繁に記載されている(Kang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102:802 (2005); Samuels et al., Science 304:554 (2004); Samuels et al., Cancer Cell 7:561-573 (2005))。これらの観察は、ホスホイノシトール-3キナーゼ、ならびにこのシグナル伝達経路の上流および下流構成成分の調節解除が、ヒトのがんおよび増殖性疾患に関連する最も一般的な調節解除の1つであることを示している(Parsons et al., Nature 436:792 (2005); Hennessey et al., Nature Rev. Drug Disc. 4:988-1004 (2005))。

30

## 【0013】

下記に提示されている式(III)の2-カルボキサミドシクロアミノ尿素誘導体は、有益な薬理学的特性を有すること、および例えばPI3K(ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ)を阻害することが見出された。特に、これらの化合物は、好ましくは、ベータ、および/またはデルタ、および/またはガンマサブタイプに関して、PI3Kアルファに対して改善された選択性を示す。したがって式(III)の化合物は、例えば、PI3キナーゼに依存する疾患(特に、PI3Kアルファに依存する、例えば、PI3Kアルファの過剰発現もしくは増幅を示すもの、またはPIK3CAの体細胞変異を示すもの)、とりわけ腫瘍疾患および白血病などの増殖性疾患の治療における使用に適している。

40

## 【0014】

更に、これらの組成物は、好ましくは改善された代謝安定性を示し、したがって低減されたクリアランスを示し、改善された薬物動態プロファイルをもたらす。

## 【0015】

これらのがんにおいてRafファミリーキナーゼが果たした役割によって、ならびにB-Rafキナーゼ活性の阻害を選択的に標的にするものを含む一連の前臨床および治療剤による予備的研究によって(King A.J., et al., (2006) Cancer Res. 66:11100-11105)、1つまたは複数のRafファミリーキナーゼの阻害剤が、Rafキナーゼに関連するがんの治療に有用であることが一般に受け入れられている。

## 【0016】

50

多くのがん、特に、B-Raf 変異、B-Raf V600E 変異、PIK3CA 変異、および／または PIK3CA 過剰発現を有するものは、例えば、B-Raf 阻害剤による治療を受け入れやすい。しかし、特定の場合において、がんは選択された治療薬に対して抵抗性を取得し、最終的には治療に対して難治性になる。

## 【0017】

がん患者には多数の治療選択肢があるにもかかわらず、有効で安全な治療剤の必要性、および組み合わせ療法におけるそれらの優先的な使用の必要性が、依然として存在する。特に、がん、とりわけ現行の療法に対して抵抗性がある、および／または難治性であるがんを治療する有効な方法の必要性が存在する。

10

## 【発明の概要】

## 【課題を解決するための手段】

## 【0018】

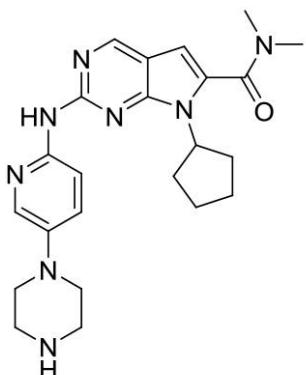
## 要旨

第1の態様では、

(a) 式(I)の構造を有する第1の化合物：

## 【0019】

## 【化1】



(I)

20

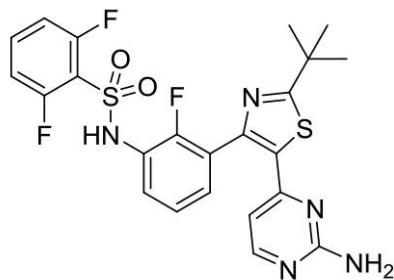
またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物と、

30

(b) 式(II)の構造を有する第2の化合物：

## 【0020】

## 【化2】



(II)

40

またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物と  
を含む医薬的組み合わせが、本明細書において提供される。

## 【0021】

1つの実施形態において、式(I)の構造を有する化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物、および式(II)の構造を有する化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物は、同じ製剤(formulation)の中にある。

50

## 【0022】

1つの実施形態において、式(I)の構造を有する化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物、および式(II)の構造を有する化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物は、別々の製剤の中にある。

## 【0023】

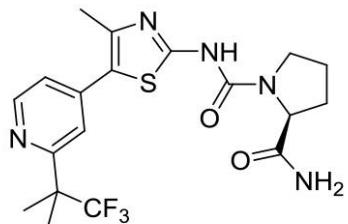
1つの実施形態において、第1の態様の組み合わせは、同時または順次投与のためのものである。

## 【0024】

第1の態様の1つの実施形態において、医薬的組み合わせは、式(III)の構造を有する第3の化合物：

## 【0025】

## 【化3】



(III)

10

20

またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物を更に含む。

## 【0026】

1つの実施形態において、式(I)の構造を有する化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物、式(II)の構造を有する化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物、および式(III)の構造を有する化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物は、同じ製剤の中にある。

## 【0027】

1つの実施形態において、式(I)の構造を有する化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物、式(II)の構造を有する化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物、および式(III)の構造を有する化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物は、2つ以上の別々の製剤の中にある。

30

## 【0028】

1つの実施形態において、式(I)の構造を有する化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物、式(II)の構造を有する化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物、および式(III)の構造を有する化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物は、2または3つの別々の製剤の中にある。

30

## 【0029】

1つの実施形態において、式(I)の構造を有する化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物、式(II)の構造を有する化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物、および式(III)の構造を有する化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物を含む医薬的組み合わせは、同時または順次投与のためのものである。

40

## 【0030】

上記に記載された医薬的組み合わせの特定の実施形態において、第1の化合物は、式(I)の構造を有する化合物のコハク酸塩である。

## 【0031】

上記に記載された医薬的組み合わせの特定の実施形態において、第2の化合物は、式(II)の構造を有する化合物のメシリル酸塩である。

## 【0032】

第2の態様では、それを必要とする対象においてがんを治療または予防する方法であつ

50

て、治療有効量の上記に記載された実施形態のいずれか1つに従って医薬的組み合わせを対象に投与することを含む方法が、本明細書において提供される。

**【0033】**

1つの実施形態において、がんは、黒色腫、肺がん（非小細胞がん（NSCLC）を含む）、結腸直腸がん（CRC）、乳がん、腎臓がん、腎細胞癌（RCC）、肝臓がん、急性骨髓性白血病（AML）、骨髄異形成症候群（MDS）、甲状腺がん、膵がん、神経線維腫症、および肝細胞癌からなる群から選択される。

**【0034】**

特定の実施形態において、がんは、結腸直腸がんである。

**【0035】**

第2の態様のある特定の実施形態において、がんは、B-Raf変異、B-Raf V600E変異、PIK3CA変異、およびPIK3CA過剰発現のうちの1つまたは複数により特徴付けられる。

**【0036】**

第3の態様では、がんの治療または予防における使用のための上記に記載された医薬的組み合わせが、本明細書において提供される。

**【0037】**

第4の態様では、がんの治療または予防のための医薬（medicament）の製造における使用のための上記に記載された医薬的組み合わせが、本明細書において提供される。

**【0038】**

第3および第4の態様のある実施形態において、がんは、黒色腫、肺がん（非小細胞がん（NSCLC）を含む）、結腸直腸がん（CRC）、乳がん、腎臓がん、腎細胞癌（RCC）、肝臓がん、急性骨髓性白血病（AML）、骨髄異形成症候群（MDS）、甲状腺がん、膵がん、神経線維腫症、および肝細胞癌からなる群から選択される。

**【0039】**

特定の実施形態において、がんは、結腸直腸がんである。

**【0040】**

第3および第4の態様のある特定の実施形態において、がんは、B-Raf変異、B-Raf V600E変異、PIK3CA変異、およびPIK3CA過剰発現のうちの1つまたは複数により特徴付けられる。

**【0041】**

第5の態様では、がんの治療または予防のための医薬の製造のための上記に記載された医薬的組み合わせの使用が、本明細書において提供される。

**【0042】**

第6の態様では、がんの治療または予防のための上記に記載された医薬的組み合わせの使用が、本明細書において提供される。

**【0043】**

第5および第6の態様の特定の実施形態において、がんは、黒色腫、肺がん（非小細胞がん（NSCLC）を含む）、結腸直腸がん（CRC）、乳がん、腎臓がん、腎細胞癌（RCC）、肝臓がん、急性骨髓性白血病（AML）、骨髄異形成症候群（MDS）、甲状腺がん、膵がん、神経線維腫症、および肝細胞癌からなる群から選択される。

**【0044】**

特定の実施形態において、がんは、結腸直腸がんである。

**【0045】**

第5および第6の態様のある特定の実施形態において、がんは、B-Raf変異、B-Raf V600E変異、PIK3CA変異、およびPIK3CA過剰発現のうちの1つまたは複数により特徴付けられる。

**【0046】**

第7の態様では、

(a) 式(I)の構造を有する第1の化合物：

10

20

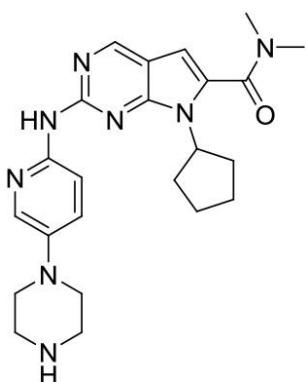
30

40

50

【0047】

【化4】



(I)

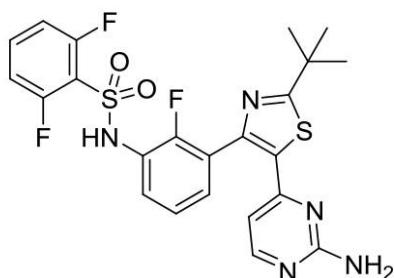
10

またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物と、

(b)式(II)の構造を有する第2の化合物：

【0048】

【化5】



(II)

20

またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物と  
を含む医薬組成物が、本明細書において提供される。

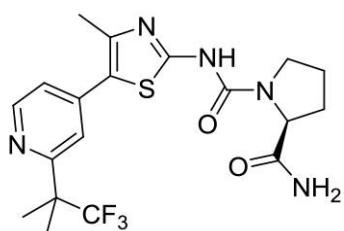
30

【0049】

第7の態様の実施形態において、医薬組成物は、式(III)の構造を有する第3の化合物：

【0050】

【化6】



40

(III)

またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物を更に含む。

【0051】

1つの実施態様において、医薬組成物は1つまたは複数の添加剤を含む。

【図面の簡単な説明】

【0052】

【図1】図1は、6個のRaf変異結腸直腸がん細胞系における、LEEO11、ダブルフェニブ、BYL719、およびこれらの組み合わせの用量応答曲線を示す。X軸は、1

50

○ g 1 0 の処理希釈を示し、y 軸は、DMSO と比べた、処理後の細胞計数を示す。濃い破線 (strong dashed line) は、処理開始前 (「ベースライン」) の細胞数を示す。

【図 2】図 2 は、6 個の B - Raf 变異結腸直腸がん細胞系の 24 時間、48 時間、および 72 時間後 (異なるモノクローナル抗体) における、LEE011、ダブラフェニブ、BYL719、およびこれらの組み合わせの最大カスパーゼ 3 / 7 誘発を示す。x 軸は、処理を示し、y 軸は、各処理において見られた最大カスパーゼ 3 / 7 誘発 (細胞の %) を示す。

【図 3】図 3 は、6 個の Raf 变異結腸直腸がん細胞系における LEE011、ダ布拉フェニブ、および LEE011 とダ布拉フェニブの組み合わせの用量応答曲線を示す。x 軸は、log 10 の処理希釈を示し、y 軸は、DMSO と比べた、処理後の細胞計数を示す。濃い破線は、処理開始前 (「ベースライン」) の細胞数を示す。

【図 4】図 4 は、6 個の結腸直腸がん細胞系の 24 時間、48 時間、および 72 時間後 (異なるモノクローナル抗体) における、LEE011、ダ布拉フェニブ、および LEE011 とダ布拉フェニブの組み合わせの最大カスパーゼ 3 / 7 誘発を示す。x 軸は、処理を示し、y 軸は、各処理において見られた最大カスパーゼ 3 / 7 誘発 (細胞の %) を示す。

#### 【発明を実施するための形態】

##### 【0053】

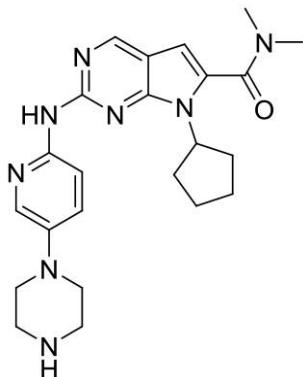
##### 詳細な説明

##### 阻害剤化合物

CDK4 / 6 阻害剤の 7 - シクロペニチル - 2 - (5 - ピペラジン - 1 - イル - ピリジン - 2 - イルアミノ) - 7H - ピロロ [2,3-d] ピリミジン - 6 - カルボン酸ジメチルアミド (「LEE011」または「リボシクリブ」としても公知である) は、本明細書において式 (I) の構造を有する化合物、または化合物 (I) と呼ばれる。

##### 【0054】

##### 【化 7】



(I)

##### 【0055】

化合物 (I)、およびその薬学的に許容される塩または溶媒和物は、国際公開第 2010 / 020675 号パンフレット (例えば、実施例 74) に記載されており、その全体が参考として本明細書に組み込まれる。

##### 【0056】

B - Raf 阻害剤の N - {3 - [5 - (2 - アミノ - 4 - ピリミジニル) - 2 - (1,1 - ジメチルエチル) - 1,3 - チアゾール - 4 - イル] - 2 - フルオロフェニル} - 2,6 - デフルオロベンゼンスルホニアミド (「ダ布拉フェニブ」としても公知である) は、本明細書において式 (II) の構造を有する化合物、または化合物 (II) と呼ばれる。

##### 【0057】

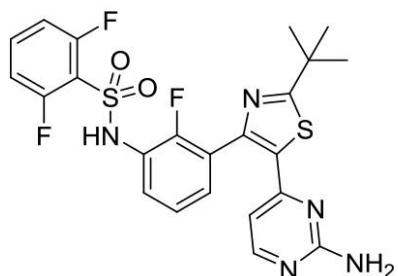
10

20

30

40

## 【化8】



(II)

10

## 【0058】

化合物(II)、およびその薬学的に許容される塩または溶媒和物は、国際公開第2009/137391号パンフレット(例えば、実施例58a～58e)に記載されている。この公報は、その全体が参考として本明細書に組み込まれる。化合物(II)を実施例3の方法に従って調製してもよい。

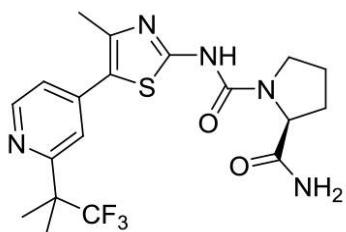
## 【0059】

アルファ-アイソフォーム特異的PI3K阻害剤化合物の(S)-ピロリジン-1,2-ジカルボン酸2-アミド1-(4-メチル-5-[2-(2,2,2-トリフルオロ-1,1-ジメチル-エチル)-ピリジン-4-イル]-チアゾール-2-イル)-アミド)(「BYL719」または「アルペリシブ」としても公知である)は、本明細書において式(III)の構造を有する化合物、または化合物(II)と呼ばれる。

20

## 【0060】

## 【化9】



(III)

30

## 【0061】

化合物(III)、およびその薬学的に許容される塩または溶媒和物は、国際出願第2010/029082号パンフレット(例えば、実施例15)に記載されている。この公報は、その全体が参考として本明細書に組み込まれる。

## 【0062】

## 塩および溶媒和物

本明細書に記載されている阻害剤化合物の塩は、単独で、または遊離塩基形態との混合物で存在することができ、好ましくは薬学的に許容される塩である。「薬学的に許容される塩」は、本明細書において使用されるとき、特に指示のない限り、本発明の化合物に存在しうる酸性および塩基性基の塩を含む。そのような塩は、例えば、塩基性窒素原子との反応によって、好ましくは有機または無機酸との酸付加塩として形成されうる。適切な無機酸は、例えば、塩酸、硫酸、またはリン酸などのハロゲン酸である。適切な有機酸は、例えば、フマル酸またはメタンスルホン酸などのカルボン酸またはスルホン酸である。単離または精製の目的には、薬学的に許容されない塩、例えば、ピクリン酸塩または過塩素酸塩を使用することも可能である。

40

## 【0063】

本明細書に記載されている医薬的組み合わせの好ましい実施形態において、式(I)の

50

構造を有する化合物は、コハク酸塩の形態である。

【0064】

本明細書に記載されている医薬的組み合わせの好ましい実施形態において、式(II)の構造を有する化合物は、メシリ酸塩の形態である。

【0065】

本明細書に記載されている医薬的組み合わせの好ましい実施形態において、式(III)の構造を有する化合物は、遊離塩基の形態である。

【0066】

治療用途では、薬学的に許容される塩、溶媒和物、または遊離化合物（適用可能な場合では、医薬調製物の形態）のみが用いられており、したがって、これらが好ましい。遊離形態の化合物と、例えば新規化合物の精製または特定において中間体として使用することができる塩を含む、塩形態の化合物との密接な関係を考慮すると、本明細書以上および本明細書以下の遊離化合物への参照は、対応する塩も参照することが適切および適当であることが理解されるべきである。本明細書において考慮される塩は、好ましくは薬学的に許容される塩であり、適切な対イオン形成性の薬学的に許容される塩は、当該分野において公知である。

10

【0067】

治療方法

本発明は、がんの治療または予防に関する。

20

【0068】

1つの実施形態において、がんは、黒色腫、肺がん（非小細胞がん（NSCLC）を含む）、結腸直腸がん（CRC）、乳がん、腎臓がん、腎細胞癌（RCC）、肝臓がん、急性骨髓性白血病（AML）、骨髄異形成症候群（MDS）、甲状腺がん、膵がん、神経線維腫症、および肝細胞癌からなる群から選択される。

30

【0069】

特定の実施形態において、がんは、結腸直腸がんである。

【0070】

第2の態様のある特定の実施形態において、がんは、B-Raf変異、B-Raf V600E変異、PIK3CA変異、およびPIK3CA過剰発現のうちの1つまたは複数により特徴付けられる。

30

【0071】

第3の態様では、がんの治療または予防における使用のための上記に記載された医薬的組み合わせが、本明細書において提供される。

【0072】

第4の態様では、がんの治療または予防のための医薬の製造における使用のための上記に記載された医薬的組み合わせが、本明細書において提供される。

40

【0073】

第3および第4の態様のある実施形態において、がんは、黒色腫、肺がん（非小細胞がん（NSCLC）を含む）、結腸直腸がん（CRC）、乳がん、腎臓がん、腎細胞癌（RCC）、肝臓がん、急性骨髓性白血病（AML）、骨髄異形成症候群（MDS）、甲状腺がん、膵がん、神経線維腫症、および肝細胞癌からなる群から選択される。

【0074】

特定の実施形態において、がんは、結腸直腸がんである。

【0075】

第3および第4の態様のある特定の実施形態において、がんは、B-Raf変異、B-Raf V600E変異、PIK3CA変異、およびPIK3CA過剰発現のうちの1つまたは複数により特徴付けられる。

40

【0076】

第5の態様では、がんの治療または予防のための医薬の製造のための上記に記載された医薬的組み合わせの使用が、本明細書において提供される。

50

## 【0077】

第6の態様では、がんの治療または予防のための上記に記載された医薬的組み合わせの使用が、本明細書において提供される。

## 【0078】

第5および第6の態様の特定の実施形態において、がんは、黒色腫、肺がん（非小細胞がん（N S C L C）を含む）、結腸直腸がん（C R C）、乳がん、腎臓がん、腎細胞癌（R C C）、肝臓がん、急性骨髓性白血病（A M L）、骨髓異形成症候群（M D S）、甲状腺がん、膵がん、神経線維腫症、および肝細胞癌からなる群から選択される。

## 【0079】

特定の実施形態において、がんは、結腸直腸がんである。

10

## 【0080】

第5および第6の態様のある特定の実施形態において、がんは、B - R a f 変異、B - R a f V 6 0 0 E 変異、P I K 3 C A 変異、およびP I K 3 C A 過剰発現のうちの1つまたは複数により特徴付けられる。

## 【0081】

## 医薬的組み合わせおよび組成物

組み合わせおよび組成物を、細胞または組織を含む系、ならびにヒト対象（例えば、患者）または動物対象に投与することができる。

## 【0082】

本発明の組み合わせおよび組成物を、様々な剤形（dosage form）および強度により、薬学的に有効な量または臨床的に有効な量で投与することができる。

20

## 【0083】

組み合わせの両方の構成成分を別々に投与する、または固定された組み合わせ（fixed combination）、例えば組み合わせを含む単一のガレノス組成物（single galenical composition）を投与するための医薬組成物は、当該技術において公知の任意の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）への経口または直腸内などの経腸および非経口投与に適したものである。

## 【0084】

本明細書に記載されている医薬組成物は、約0.1%～約99.9%、好ましくは約1%～約60%の治療剤を含有することができる。経腸または非経口投与のための組み合わせ療法に適した医薬組成物は、例えば、糖衣錠、錠剤、カプセル剤もしくは坐剤、またはアンプル剤などの単位剤形のものである。別段に指示のない限り、これらはそれ自体公知の方法により、例えば、様々な従来の混合、微粉碎、直接圧縮、造粒、糖衣、溶解、凍結乾燥法、または当業者に容易に理解される製作技術によって調製される。それぞれの剤形の個別の用量に含有される組み合わせ相手の単位含有量は、必要な有効量が複数の投与単位の投与により達成されうるので、それ自体有効量を構成する必要がないことが理解される。

30

## 【0085】

薬剤の組み合わせを含有する単位剤形、または薬剤の組み合わせの個別の薬剤は、カプセル、例えばゼラチンカプセル内に封入されたマイクロ錠剤の形態でありうる。これには、P f i z e r から入手可能なC A P S U G E Lとして公知である硬質ゼラチンカプセルなどの、医薬製剤に用いられるゼラチンカプセルを使用することができる。

40

## 【0086】

本発明の単位剤形は、医薬品（pharmaceuticals）に使用される追加の従来の担体または添加剤を任意に更に含むことができる。そのような担体の例には、崩壊剤、結合剤、滑沢剤、流動促進剤、安定剤、および充填剤、希釈剤、着色剤、香料、ならびに防腐剤が含まれるが、これらに限定されない。当業者は、日常的な実験により、過剰な負担を負うことなく、剤形の特定の望ましい特性に関して1つまたは複数の上述の担体を選択することができる。使用される各担体の量は、当該技術において慣用の範囲内で変わりうる。参照として全て本明細書に組み込まれる以下の参考文献は、経口剤形の製剤化に使用される技

50

術および添加剤を開示している。The Handbook of Pharmaceutical Excipients, 4<sup>th</sup> edition, Rowe et al., Eds., American Pharmaceuticals Association (2003)、およびRemington: the Science and Practice of Pharmacy, 20<sup>th</sup> edition, Gennaro, Ed., Lippincott Williams & Wilkins (2003)を参照されたい。

#### 【0087】

本明細書で使用されるとき、用語「薬学的に許容される添加剤」または「薬学的に許容される担体」は、任意および全ての溶媒、分散媒体、被覆、界面活性剤、酸化防止剤、保存剤（例えば、抗菌剤、抗真菌剤）、等張剤、吸収遅延剤、塩、保存剤、薬物、薬物安定剤、結合剤、賦形剤（excipient）、崩壊剤、滑沢剤、甘味剤、香味剤、色素など、ならびにこれらの組み合わせを含み、当業者には公知である（例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990, pp. 1289-1329を参照されたい）。任意の従来の担体が活性成分と適合性がない場合を除いて、治療用または医薬組成物におけるその使用が考慮される。

#### 【0088】

これらの任意の追加の従来の担体は、1つまたは複数の従来の担体を、造粒の前もしくは間に最初の混合物に組み込むことによって、または1つまたは複数の従来の担体を、薬剤の組み合わせもしくは薬剤の組み合わせの個別の薬剤を含む顆粒と組み合わせることにより経口剤形にすることによって、経口剤形に組み込むことができる。後者の実施態様では、組み合わせた混合物を、例えばVブレンダーにより更にブレンドし、続いて錠剤、例えばモノリシック錠剤に圧縮もしくは成形する、カプセルによりカプセル化する、またはサッシュに充填することができる。

#### 【0089】

薬学的に許容される崩壊剤の例には、デンプン；粘土；セルロース；アルギン酸塩；ゴム；架橋ポリマー、例えば架橋ポリビニルピロリドンまたはクロスボビドン、例えばInternational Specialty Products (Wayne, NJ)からのPOLYPLASDONE XL；架橋カルボキシメチルセルロースナトリウムまたはクロスカルメロースナトリウム、例えばFMCからのAC-DI-SOL；架橋カルボキシメチルセルロースカルシウム；ダイズ多糖；およびグアーゴムが含まれるが、これらに限定されない。崩壊剤は、組成物の約0重量%～約10重量%の量で存在することができる。1つの実施態様において、崩壊剤は、組成物の約0.1重量%～約5重量%の量で存在する。

#### 【0090】

薬学的に許容される結合剤の例には、デンプン；セルロースおよびその誘導体、例えば微晶質セルロース、例えばFMC (Philadelphia, PA)からのAVICEL PH、ヒドロキシプロビルセルロース ヒドロキシリルエチルセルロース、およびDow Chemical Corp. (Midland, MI)からのヒドロキシリルプロフルメチルセルロースのMETHOCEL；スクロース；デキストロース；トウモロコシシロップ；多糖；ならびにゼラチンが含まれるが、これらに限定されない。結合剤は、組成物の約0重量%～約50重量%、例えば2～20重量%の量で存在することができる。

#### 【0091】

薬学的に許容される滑沢剤および薬学的に許容される滑流動促進剤の例には、コロイドシリカ、三ケイ酸マグネシウム、デンプン、タルク、第三リン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸アルミニウム、ステアリン酸カルシウム、炭酸マグネシウム、酸化マグネシウム、ポリエチレングリコール、粉末セルロース、および微晶質セルロースが含まれるが、これらに限定されない。滑沢剤は、組成物の約0重量%～約10重量%の量で存在することができる。1つの実施態様において、滑沢剤は、組成物の約0.1重量%～約1.5重量%の量で存在することができる。滑流動促進剤は、約0.1重量%～約10重量%の量で存在することができる。

#### 【0092】

薬学的に許容される充填剤および薬学的に許容される希釈剤の例には、粉砂糖、圧縮糖

10

20

30

40

50

、デキストラン、デキストリン、デキストロース、ラクトース、マンニトール、微晶質セルロース、粉末セルロース、ソルビトール、スクロース、およびタルクが含まれるが、これらに限定されない。充填剤および／または希釈剤は、例えば、組成物の約0重量%～約80重量%の量で存在することができる。

#### 【0093】

がんを治療または予防するためのそれぞれの組み合わせ相手の最適投与量は、公知の方法を使用してそれぞれの個体のために経験的に決定することができ、疾患の進展の程度、個体の年齢、体重、身体全体の健康、性別および食事、投与の時間および経路、ならびに個体が服用している他の薬剤を含むが、これらに限定されない様々な要因によって左右される。最適投与量は、当該技術において周知である日常的な試験および手順を使用して確立することができる。10

#### 【0094】

担体材料と組み合わせて単一剤形を生成することができるそれぞれの組み合わせ相手の量は、治療される個体および特定の投与様式に応じて変わる。一部の実施形態において、本明細書に記載されている薬剤の組み合わせを含有する単位剤形は、薬剤が単独で投与される場合に典型的に投与される量の、組み合わせにおけるそれぞれの薬剤を含有する。

#### 【0095】

本発明の組み合わせに用いられるそれぞれの組み合わせ相手の有効投与量は、用いられる特定の化合物または医薬組成物、投与様式、治療される状態、および治療される状態の重篤度に応じて変わりうる。したがって、本明細書に記載されている組み合わせの投与量レジメンは、投与経路、ならびに患者の腎臓および肝臓機能を含む様々な要因によって選択される。20

#### 【0096】

それぞれの組み合わせ相手の有効投与量は、組み合わせにおける他の化合物と比較して、化合物のうちの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、包装された医薬品は、化合物の組み合わせを含有する1つまたは複数の剤形と、化合物の組み合わせのうちの1つを含有するが、組み合わせの他の化合物を含有しない1つまたは複数の剤形とを含有することができる。

#### 【0097】

化合物(I)（「LEE011」）は、一般に、1日あたり10mg～2000mgの範囲の用量でヒトに投与される。1つの実施形態において、LEE011は、600mgが1日に1回投与される。別の実施形態において、LEE011は、300mgが1日に1回投与される。別の実施形態において、LEE011は、900mgが1日に1回投与される。30

#### 【0098】

化合物(II)（「ダプラフェニブ」）（非塩／非溶媒和化合物の重量に基づく）は、1日あたり20mg～600mgの範囲の容量でヒトに投与される。1つの実施形態において、ダプラフェニブは、100mg～300mgが1日に1回投与される。別の実施形態において、ダプラフェニブは、150mgが1日に1回投与される。

#### 【0099】

化合物(III)（「BYL719」）は、約1～6.5mg/kgの有効1日用量で成人または小児に経口投与される。化合物(III)は、単回用量により、または1日あたり4回までの分割用量により、約70mg～455mg、例えば、約200～400mg、または約240mg～400mg、または約300mg～400mg、または約350mg～400mgの1日投与量で70kgの体重の成人に経口投与される。好ましくは、化合物(III)は、約350mg～約400mgの1日投与量で70kgの体重の成人に投与される。40

#### 【0100】

毒性を有することなく有効性を生じる本発明の組み合わせにおける組み合わせ相手（例えば、化合物(I)、化合物(II)、および任意の化合物(III)）の最適比、個別

10

20

30

40

50

のおよび組み合わせた投与量、ならびに濃度は、標的部位へ治療剤利用能の動態学に基づいており、当業者に公知の方法を使用して決定される。

#### 【0101】

投与の頻度は、使用される化合物、および治療または予防される特定の状態に応じて変わりうる。一般に、有効な療法を提供するのに十分な最小投与量の使用が好ましい。治療または予防される状態に適したアッセイを使用して、治療有効性について患者を一般にモニターすることができ、このことは当業者に熟知されている。

#### 【0102】

ある態様において、本明細書に記載されている医薬的組み合わせは、がんの治療もしくは予防、またはがんの治療もしくは予防のための医薬の調製に有用である。特定の実施形態において、本明細書に記載されている医薬的組み合わせは、がんの治療、またはがんの治療のための医薬の調製に有用である。

10

#### 【0103】

ある態様では、がんを治療または予防する（例えば、がんの治療のため）方法であって、薬学的有効量の本明細書に記載されている医薬的組み合わせを、それを必要とする患者に投与することを含む方法が提供される。がんの性質は多因子性である。特定の状況下では、異なる作用機構を有する薬物を組み合わせることができる。しかし、異なる作用様式を有する治療剤の任意の組み合わせを考慮するだけでは、有利な効果を有する組み合わせをもたらすとは限らない。

20

#### 【0104】

本明細書に記載の医薬的組み合わせの投与は、有益な効果、例えば、症状の緩和、症状の進行の遅延、または症状の抑制に関する、例えば相乗的な治療効果のみならず、本発明の組み合わせに使用される薬学的治療剤の1つのみを適用する単剤療法と比較して、更に驚くべき有益な効果、例えば、少ない副作用、より長続きする応答、改善された生活の質、または罹患率の減少をもたらすことができる。

30

#### 【0105】

更なる利益は、例えば、多くの場合に投与量が少量でありうるのはもちろん、少ない頻度でも適用されうるように、低い用量の治療剤の本明細書に記載の医薬的組み合わせを使用できること、または組み合わせ相手の1つの単独により観察される副作用の発生を減らすために使用できることである。このことは、治療される患者の希望および要求に合致している。

#### 【0106】

本明細書に記載の医薬的組み合わせが本明細書に記載された有益な効果をもたらすことは、確立された試験モデルによって示すことができる。当業者は、そのような有益な効果を実証するために、関連した試験モデルを選択することが十分に可能である。本発明の組み合わせの薬理学的活性は、例えば、臨床研究または動物モデルによって実証することができる。

30

#### 【0107】

1つまたは複数の成分の相乗的相互作用を決定するためには、効果におけるそれぞれの構成成分の最適な効果範囲および絶対用量範囲を、治療を必要とする患者への異なるw/w比範囲および用量にわたる構成成分の投与により明確に測定することができる。ヒトでは、患者において臨床研究を実施する複雑さ、および費用が、相乗作用の一次モデルとしてのこの試験形態の使用を実用的でなくすることがある。しかし、特定の実験（例えば、実施例1および2を参照されたい）において相乗作用を観察することによって、他の種および存在する動物モデルにおける効果を予測することができ、相乗効果を更に測定することができる。そのような研究の結果を使用して、有効用量比の範囲、ならびに絶対用量および血漿濃度を予測することもできる。

40

#### 【0108】

1つの実施形態では、本明細書において提供される組み合わせ、および/または組成物は、相乗効果を示す。

50

## 【0109】

1つの実施形態では、ヒトへの投与のための相乗的組み合わせが本明細書において提供され、この組み合わせは、本発明に記載されている阻害剤を含み、各阻害剤の用量範囲は、適切な腫瘍モデルまたは臨床研究において示唆された相乗的範囲に相当する。

## 【0110】

本発明の組み合わせに用いられる組み合わせ相手が、単剤として市販されている形態に適用されるとき、これらの投与量および投与様式は、本明細書に別段の記載がない場合は、それぞれの市販薬の添付文書に提供されている情報に従うことができる。

## 【0111】

定義

本明細書において使用される特定の用語が、下記に記載される。化合物は、標準的な命名法の使用により記載される。別段に定義されない限り、本明細書で使用される全ての技術および科学用語は、本開示が属する当業者により一般的に理解される意味を有する。

10

## 【0112】

用語「医薬組成物」は、哺乳動物またはヒトが冒されている特定の疾患または状態を予防または治療するため、対象に、例えば哺乳動物またはヒトに投与される、少なくとも1つの治療剤を含有する混合物または溶液を指すことが本明細書において定義される。

## 【0113】

用語「薬学的に許容される」は、本明細書において定義され、健全な医療判断の範囲内において、妥当な利益／危険比に見合うように、過剰な毒性、刺激アレルギー応答、および他の問題のある合併症を有することなく、対象、例えば哺乳動物またはヒトの組織との接触に適している化合物、材料、組成物、および／または剤形を指す。

20

## 【0114】

用語「治療する」または「治療」は、本明細書において使用されるとき、対象の少なくとも1つの症状を軽減、低減、もしくは緩和する、または疾患の進行を遅延させる治療を含む。例えば、治療は、障害の1つ、もしくはいつかの症状の減少、またはがんなどの障害の完全な消滅でありうる。本開示の意味の範囲内において、用語「治療する」は、発症を阻止すること、遅延すること（すなわち、疾患の臨床症状前の期間）、および／または疾患が発生もしくは悪化する危険性を低減することも意味する。用語「予防する」、「予防すること」、または「予防」は、本明細書において使用されるとき、予防される状態、疾患、または障害に関連する、または起因する少なくとも1つの症状を予防することを含む。

30

## 【0115】

用語、治療剤の組み合わせの「薬学的有効量」または「臨床有効量」は、組み合わせにより治療される障害のベースラインの臨床的に観察可能な兆候および症状に対して、観察可能な改善をもたらすのに十分な量である。

## 【0116】

用語「組み合わせ（併用（combination））」、「治療的組み合わせ」、または「医薬的組み合わせ」は、本明細書において使用されるとき、1つの単位剤形の固定された組み合わせ、もしくは固定されていない組み合わせ（non-fixed combination）、または2つ以上の治療剤が、同時に、もしくはある時間間隔の範囲内で、とりわけこの時間間隔が、組み合わせ相手が協調的な、例えば相乗的な効果を示すことを可能にする範囲内で別々に、独立して投与されうる組み合わせ投与のためのキットの一部を指す。

40

## 【0117】

用語「組み合わせ療法（combination therapy）」は、本開示に記載されている治療状態または障害を治療する、2つ以上の治療剤の投与を指す。そのような投与は、活性成分の固定比を有する单一製剤、または各活性成分が別々の製剤（例えば、カプセル剤、および／もしくは静注製剤）などの、実質的に同時の方法によるこれらの治療剤の共投与を包含する。加えて、そのような投与は、ほぼ同時または異なる時点での、順次的な、または別々の方法による、それぞれの種類の治療剤の使用も包含する。活性成分が单一製剤また

50

は別々の製剤で投与されるかにかかわらず、治療剤は、同じ治療過程の一部として同じ患者に投与される。いずれの場合においても、治療レジメンは、本明細書に記載されている状態または障害の治療に有益な効果を提供する。

#### 【0118】

用語「相乗効果」は、本明細書において使用されるとき、例えば、C D K 阻害剤の L E E 0 1 1、およびB - R a f 阻害剤のダブラフェニブ、ならびに任意の P I 3 K 阻害剤の B Y L 7 1 9などの2つの治療剤の効果を生じる作用、例えば、増殖性疾患、特にがん、またはその症状の症候性進行を緩徐する作用を指し、これは、治療剤単独をそれぞれ投与した効果を単に加算したものより大きい。相乗効果は、例えば、S i g m o i d - E m a x 方程式 (Holford, N. H. G. and Scheiner, L. B., Clin. Pharmacokinet. 6: 429-453 10 (1981))、L o e w e 加算方程式 (Loewe, S. and Muischnek, H., Arch. Exp. Pathol P harmacol. 114: 313-326 (1926))、および半有効方程式 (Chou, T. C. and Talalay, P., Adv. Enzyme Regul. 22: 27-55 (1984))などの適切な方法を使用して計算することができる。

上記に参照されたそれぞれの方程式を実験データに適用して、薬物組み合わせの効果を評価するのに役立つ対応するグラフを生成することができる。上記に参照された方程式に関連した対応するグラフは、それぞれ、濃度効果曲線、アイソボログラム曲線、および組み合わせ指数曲線 (combination index curve) である。

#### 【0119】

用語「対象」または「患者」は、本明細書において使用されるとき、がん、またはがんに直接的もしくは間接的に関与する任意の障害を患有、または罹患する可能性がある動物を含む。対象の例としては、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、および遺伝子導入非ヒト動物が挙げられる。好みしい実施形態において、対象は、ヒト、例えば、がんを患っている、患有危険性のある、または患有潜在的な可能性があるヒトである。

#### 【0120】

用語「固定された組み合わせ」および「固定用量 (fixed dose)」、および「单一製剤 (single formulation)」は、本明細書において使用されるとき、2つ以上の治療剤の、がんの治療に共同で治療的に有効な量を患者に送達するように製剤化された单一の担体もしくはビヒクル、または剤形を指す。单一二ビヒクルは、それぞれの薬剤の量を、任意の薬学的に許容される担体または添加剤と共に送達するように設計される。一部の実施形態において、ビヒクルは、錠剤、カプセル剤、丸剤、またはパッチ剤である。他の実施形態において、ビヒクルは、溶液剤または懸濁剤である。

#### 【0121】

用語「固定されていない組み合わせ」、「キットの一部」、および「別々の製剤 (separate formulations)」は、活性成分、例えば L E E 0 1 1 およびダブラフェニブが、両方とも別々の実体として、特定の時間制限なしで同時に、同時発生的に、または順次に患者に投与されることを意味し、そのような投与は、2つの化合物の治療効果レベルを、それを必要とする温血動物の身体にもたらす。後者は、カクテル療法、例えば3つ以上の活性成分の投与にも当てはまる。

#### 【0122】

用語「単位用量」は、治療される患者に、1つの剤形により2つまたは3つの薬剤と一緒に同時投与することを意味するために、本明細書において使用される。一部の実施形態において、単位用量は单一製剤である。ある特定の実施形態において、単位用量は、各ビヒクルが有効量の少なくとも1つの薬剤を薬学的に許容される担体および添加剤と共に含むように、1つまたは複数のビヒクルを含む。一部の実施形態において、単位用量は、患者に同時に投与される、1つまたは複数の錠剤、カプセル剤、丸剤、注射剤、注入剤、パッチ剤などである。

#### 【0123】

「経口剤形」は、経口投与用に処方または意図された単位投与量形態を含む。

#### 【0124】

10

20

30

40

50

用語「含む（c o m p r i s i n g）」および「含む（i n c l u d i n g）」は、特に示されない限り、開放型の非限定的な意味において本明細書に使用される。

#### 【0125】

本発明を記載する文脈における（とりわけ、以下の特許請求の範囲の文脈における）用語「a」および「a n」および「t h e」、ならびに同様の参照は、本明細書において特に指示のない限り、または文脈により明確に否定されない限り、単数形および複数形の両方を網羅すると解釈されるべきである。複数形態が化合物、塩などに使用される場合、これは、単一の化合物、塩なども意味すると解釈される。

#### 【0126】

用語「約」または「およそ」は、所定の値または範囲の10%以内、より好ましくは5%以内を意味する。

#### 【実施例】

#### 【0127】

##### 材料および方法

化合物を100%DMSO（Sigma、カタログ番号D2650）に20mMの濃度で溶解し、使用するまで-20で保存した。化合物を薬物マスタープレート（drug master plate）（Greiner、カタログ番号788876）に配列し、2000×濃度で3倍に連続希釈（7ステップ）した。

#### 【0128】

この研究に使用される結腸直腸がん細胞系を、商業的供給者のATCC、Cell Bank Australia、およびHSRRB（表1）から得て、培養し、処理した。全ての細胞系の培地には、10%FBS（HyClone、カタログ番号SH30071.03）を補充した。LIM2551の培地には、0.6μg/mLのインスリン（SIGMA、カタログ番号I9278）、1μg/mLのヒドロコルチゾン（SIGMA、カタログ番号H0135）、および10μMの1-チオグリセロール（SIGMA、カタログ番号M6145）を追加的に補充した。

#### 【0129】

#### 【表1】

細胞系	ドライバー変異	供給元	供給元カタログ番号	培地	培地供給者	培地カタログ番号	細胞数	処理[時間]
RKO	BRAF,PIK3CA	ATCC	CRL-2577	EMEM	ATCC	30-2003	500	72
LIM2551	BRAF,PIK3CA	CellBank Australia	CBA-0170	RPMI	ATCC	30-2001	1000	72
HT-29	BRAF,PIK3CA	ATCC	HTB-38	McCoy's 5A	ATCC	30-2007	800	72
LS411N	BRAF	ATCC	CRL-2159	RPMI	ATCC	30-2001	900	72
COLO-205	BRAF	ATCC	CCL-222	RPMI	ATCC	30-2001	800	72
OUMS-23	BRAF	HSRRB	JCRB1022	DMEM	ATCC	30-2002	900	72

表1. 細胞系の情報

#### 【0130】

細胞系を、37および5%CO<sub>2</sub>のインキュベーターで培養し、T-75フラスコで拡大させた。全ての場合において、細胞は、凍結貯蔵物から解凍し、1:3希釈を使用して1継代で拡大させ、平板培養する前に、ViCell計数器（Beckman-Coulter）を使用して計数し、生存度について評価した。細胞系を分裂および拡大させるため、細胞を、0.25%トリプシン-EDTA（GIBCO、カタログ番号25200）を使用してフラスコから取り出した。IDexx Radil（Columbia, MO, USA）により実施されたPCR検出方法により決定され、SNPパネルの検出によって正確に確認されたように、全ての細胞系には、マイコプラズマ汚染がないことが決定された。

#### 【0131】

以前に記載された方法（Horn, Sandmann et al. 2011）を適用し、RのBiocductorパッケージEBImage（Pau, Fuchs et al. 2010）を使用した後、画像を分析した。両方のチャンネルにおける対象物、DAPI（Hoechst/DNAの）お

10

20

30

40

50

よび F I T C (カスパーゼ 3 / 7 の)を適応閾値化により別々にセグメント化し、計数した。カスパーゼ 3 / 7 陽性対象物の閾値は、陰性対照 (D M S O) と陽性対照 (スタウロスボリン)とを比較した後、細胞系 1 つ毎に手作業により確定した。D N A チャンネルにおいて対象物 / 核の 1 7 の追加的特徴 (形状および強度特徴) を分析することによって、細片 / 断片化核を確認した。このため、細胞系 1 つ毎に、陽性対照 (スタウロスボリン) および陰性対照 (D M S O) の追加的な特徴の分布を、手作業により比較した。条件によって差が生じうる特徴 (例えば、D M S O とスタウロスボリンとを比較した特徴測定分布におけるシフト) を、「生存」核の集団に対して「細片」集団を確定するために使用した。細片計数を、生の核計数から差し引いた。得られた核の数を細胞増殖の測度 (「細胞計数」) として使用した。

10

## 【0132】

細胞増殖に対する化合物の効果を、陰性対照 (D M S O) の細胞計数に対する処理細胞計数から計算し、図 1 および図 3 では、y 軸に「正規化細胞計数」 (=「x n o r m」) と示されている。相乗的組み合わせは、帰無仮説の最高単剤モデル (H S A) (Berenbaum 1989) を使用して確認した。H S A モデルにおける超過は、阻害標的間の機能的な繋がりを予測する (Lehar, Zimmermann et al. 2007, Lehar, Krueger et al. 2009)。モデルの入力は、薬物用量毎の阻害値である。

$$I = 1 - x \text{ n o r m}$$

I : 阻害

x n o r m : 正規化細胞計数 (3 回の複製の中央値)

20

## 【0133】

組み合わせ処理の全ての用量点において、組み合わせの阻害と、2つの単剤のより強力な方の阻害との差を計算した (= 残差モデル)。同様に、全ての用量点において三種組み合わせ (triple combinations) による相乗作用を評価するため、三種薬物 (drug triple) の阻害と、最強の薬物対の阻害との差を計算した。高い阻害での組み合わせ効果が好ましいので、残差には、同じ用量点で観察された阻害を加重した。薬物組み合わせの全体的な組み合わせスコア C は、全ての濃度の加重残差の合計である。

$$C = \text{濃度} (I_{\text{データ}}^* (I_{\text{データ}} - I_{\text{モデル}}))$$

I データ : 測定阻害値

I モデル : H S A 帰無仮説による阻害値

30

## 【0134】

堅牢な組み合わせ z スコア ( $z_c$ ) を、処理の組み合わせスコア C と、非相互作用組み合わせの絶対偏差の中央値 (m a d) との比として計算した。

$$z_c = C / m a d (C_{\text{ゼロ}})$$

C ゼロ : 非相互作用組み合わせの組み合わせスコア

$z_c$  は、組み合わせの強さの指標である。

$z_c$  3 : 相乗作用

3 >  $z_c$  2 : 弱い相乗作用

$z_c$  < 2 : 相乗作用なし

40

## 【0135】

I C 5 0 は、D M S O に対して 5 0 % の細胞計数をもたらす濃度である。I C 5 0 の計算 (表 2 および表 3 を参照されたい) は、R の D R C パッケージ (Ritz and Streibig 2005) を使用し、データに 4 パラメーター対数ロジスティック関数を当てはめて行った。

## 【0136】

アポトーシスに対する化合物の効果は、生の細胞計数 (細片を差し引く前) と比べた、処理および時点毎の活性化カスパーゼ 3 / 7 を有する細胞のパーセンテージを計算することによって決定した (図 2 および図 4 の y 軸)。実験的に測定しなかった時点の細胞計数は、0 日目および処理の最終日に対数変換細胞計数を線形モデルに当てはめる (指數細胞成長を推定する) 回帰分析によって得た。

## 【0137】

50

実施例1：B-Raf変異結腸直腸がん細胞系におけるPIK3CA阻害剤のBYL719およびCDK4/6阻害剤のLEE011を、B-Raf阻害剤のダプラフェニブと組み合わせることの増殖に対するインビトロ効果

細胞増殖に対するBYL719、LEE011、およびダプラフェニブの組み合わせの効果を試験するため、細胞を、透明底を有する黒色384ウェルマイクロプレート（Matrix/Thermo Scientific、カタログ番号4332）において、ウェル1つあたり $50\text{ }\mu\text{L}$ の培地に $500\sim1250$ 細胞／ウェルの細胞密度（表1）で平板培養し、37度、5%CO<sub>2</sub>で24時間インキュベートした。24時間後、細胞系1つあたり1つの384ウェルプレートを、処理を受けることなく（＝「ベースライン」）、顕微鏡検査法による細胞計数のために調製した（下記を参照されたい）。他の細胞プレートは、ATS音響液体分配器（acoustic liquid dispenser）（ECD Biosystems）の使用により薬物マスタープレートから $25\text{ nL}$ の $2000\times$ 化合物を移し、最終 $1\times$ 濃度をもたらすことによって処理した。BYL719を $13\text{ nM}\sim10\text{ }\mu\text{M}$ の最終濃度範囲で使用し、LEE011を $13\text{ nM}\sim10\text{ }\mu\text{M}$ の最終濃度範囲で使用し、ダプラフェニブを $1.4\text{ nM}\sim1\text{ }\mu\text{M}$ の最終濃度で使用した（1:3希釈の7段階）。三種組み合わせの効果を評価するため、個別の化合物の全て、3つの対組み合わせ（three pairwise combinations）（BYL719+LEE011、BYL719+ダプラフェニブ、LEE011+ダプラフェニブ）の全て、および三種組み合わせ（BYL719+LEE011+ダプラフェニブ）を、同じ実験で試験した。対組み合わせおよび三種組み合わせを、それぞれの希釈において1:1（薬物対の）および1:1:1（三種薬物の）の固定比で試験し、処理毎に7つの組み合わせ条件をもたらした。加えて、陰性対照（DMSO＝「ピヒクル」）および陽性対照（スタウロスボリン＝細胞死滅、 $16\text{ nM}\sim1\text{ }\mu\text{M}$ の用量範囲の7ポイント1:2希釈系列）を、処理対照として移し、試験細胞系に有効性のない化合物をBYL719およびLEE011と組み合わせて、組み合わせ対照（より有効な単剤の有効性を超えない組み合わせ＝「非相互作用」組み合わせ）として使用した。化合物を添加した後、 $50\text{ nL}$ の $2\text{ mM}$  CellEvent カスパー $3/7$ 緑色検出試薬（Thermo Fisher、カタログ番号C10423）を、HP D300 Digital Dispenser（Tecan）の使用により3回の複製のうちの1回に加えた。カスパー $3/7$ 誘発を、処理により誘発されるアポトーシスの代理として測定した。細胞を倍加時間に応じて72時間から96時間処理し（表1）、カスパー $3/7$ 活性化を、 $4\times$ 対物レンズおよびFITC励起／発光フィルターを備えたInCell Analyzer 2000（GE Healthcare）を使用して、顕微鏡検査法により24時間毎に測定した。処理の最後に、細胞を顕微鏡検査法による細胞計数のために調製した。細胞を、PBS（Boston Bioproducts、カタログ番号BM-220）中の4%PFA（Electron Microscopy Sciences、カタログ番号15714）、0.12%TX-100（Electron Microscopy Sciences、カタログ番号22140）において、45分間にわたって固定および透過処理した。細胞をPBSで3回洗浄した後、それらのDNAをHoechst 33342（Thermo Fisher、カタログ番号H3570）により最終濃度 $4\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ で30分間染色した。細胞をPBSで3回洗浄し、次にプレートをPlateLoc（Agilent Technologies）の使用によりアルミニウムシール（Agilent Technologies、カタログ番号06644-001）でヒートシールし、画像化するまで4で保存した。全ての細胞では、ウェル／処理毎に $4\times$ 対物レンズおよびDAPI励起／発光フィルターを備えたInCell Analyzer 2000（GE Healthcare）を使用する蛍光顕微鏡検査法により单一画像を撮った。

#### 【0138】

PIK3CA阻害剤のBYL719、CDK4/6阻害剤のLEE011、およびB-Raf阻害剤のダプラフェニブの有効性を、合計で6つのB-Raf変異結腸直腸がん細胞系（そのうち3つはPIK3CAでも変異があった）において、個別および組み合わせ

10

20

30

40

50

により評価した（表1）。BYL719は、マイクロモルIC50により、PIK3CA変異細胞において有効であり、一方、LEE011は、低マイクロモルIC50により、1つの細胞系（OUMS-23）を除いて全ての細胞系において有効であった（図1および表2）。ダブラフェニブは、ナノモルから低マイクロモルのIC50により、1つの細胞系（OUMS-23）を除いて全ての細胞系において有効であった（図1および表2）。三種組み合わせ（BYL719+LEE011+ダ布拉フェニブ）は、6つの細胞系のうち2つにおいて、薬物対よりも相乗的阻害（HSAモデルに従って）を引き起こし、6つの細胞系のうち2つにおいて弱い相乗的阻害も引き起こした（表2）。三種組み合わせは、対組み合わせよりも強くアポトーシスを誘発していない（カスパーゼ3/7誘発の測定により評価した）（図2）。まとめると、B-Raf変異CRCにおけるPIK3CA、CDK4/6、およびB-Rafを組み合わせた阻害は、それぞれの単剤と比較して改善された応答が可能である有効な治療様式を提供し、臨床においてより長続きする応答をもたらすことができる。

## 【0139】

【表2】

細胞	IC50 BYL719	IC50 LEE011	IC50 ダ布拉フェニブ	相乗作用zスコア(z <sub>C</sub> )
RKO	3.9	1.5	0.24	5.8
LS411N	>10	2.1	0.036	3.6
HT-29	2.7	0.8	0.016	2.6
LIM2551	2.3	1.3	0.018	2.5
COLO-205	>10	1.1	0.007	1.8
OUMS-23	>10	>10	>1	-0.2

表2.それぞれの化合物の単剤 IC50 値およびLEE011、ダ布拉フェニブ、およびBYL719の組み合わせによる相乗作用zスコア測定値

## 【0140】

実施例2：B-Raf変異結腸直腸がん細胞系におけるCDK4/6阻害剤のLEE011を、B-Raf阻害剤のダ布拉フェニブと組み合わせることの増殖に対するインピト口効果

細胞増殖に対するLEE011およびダ布拉フェニブの組み合わせの効果を試験するため、細胞を、透明底を有する黒色384ウェルマイクロプレート（Matrix/The rm o S c i e n t i f i c、カタログ番号4332）において、ウェル1つあたり50 μLの培地に500~1250細胞/ウェルの細胞密度（表1）で平板培養し、37度、5%CO<sub>2</sub>で24時間インキュベートした。24時間後、細胞系1つあたり1つの384ウェルプレートを、処理を受けることなく（=「ベースライン」）、顕微鏡検査法による細胞計数のために調製した（下記を参照されたい）。他の細胞プレートは、ATS音響液体分配器（acoustic liquid dispenser）（ECD Biosystems）の使用により薬物マスタープレート（drug master plate）から25nLの2000×化合物を移し、最終1×濃度をもたらすことによって処理した。LEE011を13nM~10μMの最終濃度範囲で使用し、ダ布拉フェニブを1.4nM~1μMの最終濃度範囲で使用した（1:3希釈の7段階）。LEE011とダ布拉フェニブの組み合わせでは、単剤をそれぞれの希釈において1:1の固定比で組み合わせて、7つの組み合わせ処理をもたらした。加えて、陰性対照（DMSO='ビヒクル'）および陽性対照（スタウロスボリン=細胞死滅、16nM~1μMの用量範囲の7ポイント1:2希釈系列）を、処理対照として移し、試験細胞系に有効性のない化合物をLEE011およびダ布拉フェニブと組み合わせて、組み合わせ対照（より有効な単剤の有効性を超えない組み合わせ=「非相互作用」組み合わせ）として使用した。化合物を添加した後、50nLの2mM CellEventカスパーゼ3/7緑色検出試薬（Thermo Fisher、カタログ番号C10423）を、HP D300 Digital Dispenser（Tecan）の使

10

20

30

40

50

用により3回の複製のうちの1回に加えた。カスパーゼ3/7誘発を、処理により誘発されるアポトーシスの代理として測定した。細胞を倍加時間に応じて72時間から96時間処理し(表1)、カスパーゼ3/7活性化を、4×対物レンズおよびFITC励起/発光フィルターを備えたInCell Analyzer 2000(GE Healthcare)を使用して、顕微鏡検査法により24時間毎に測定した。処理の最後に、細胞を顕微鏡検査法による細胞計数のために調製した。細胞を、PBS(Boston Bio products、カタログ番号BM-220)中の4%PFA(Electron Microscopy Sciences、カタログ番号15714)、0.12%TX-100(Electron Microscopy Sciences、カタログ番号22140)において、45分間にわたって固定および透過処理した。細胞をPBSで3回洗浄した後、それらのDNAをHoechst 33342(Thermo Fisher、カタログ番号H3570)により最終濃度4μg/mLで30分間染色した。細胞をPBSで3回洗浄し、次にプレートをPlateLoc(Agilent Technologies)の使用によりアルミニウムシール(Agilent Technologies、カタログ番号06644-001)でヒートシールし、画像化するまで4で保存した。全ての細胞では、ウェル/処理毎に4×対物レンズおよびDAPI励起/発光フィルターを備えたInCell Analyzer 2000(GE Healthcare)を使用する蛍光顕微鏡検査法により単一画像を撮った。

## 【0141】

CDK4/6阻害剤のLEE011、およびB-Raf阻害剤のダブラフェニブの有効性を、合計で6つのB-Raf結腸直腸がん細胞系(3つはPIK3CAでも変異があった)において、個別および組み合わせにより評価した(表1)。LEE011は、単剤として、マイクロモルのIC50値により、1つの細胞系(OUMS-23)を除いて全ての細胞系の成長を阻害した(図3および表3)。ダ布拉フェニブは、単剤として、ナノモルからマイクロモル未満のIC50値により、1つの細胞系(OUMS-23)を除いて全ての細胞系の成長を強力に阻害した(図3および表3)。組み合わせ処理は、試験した6つの細胞系のうち5の系において、異なる強度で相乗的阻害を(HSAモデルに従って)引き起こした(表3)。組み合わせは、単剤と比較して強くアポトーシスを誘発せず(カスパーゼ3/7誘発の測定により評価した)、これは、CDK4/6の阻害後に誘発された細胞周期停止の結果でありうる(図4)。B-Raf変異結腸直腸がんにおけるCDK4/6およびB-Rafを組み合わせた阻害は、それぞれの単剤と比較して改善された応答が可能ある有効な治療様式を提供し、臨床においてより長続きする応答をもたらすことができる。

## 【0142】

## 【表3】

細胞	IC50 LEE011	IC50 ダ布拉フェニブ	相乗作用zスコア(z <sub>c</sub> )
LS411N	2.1	0.036	10.3
HT-29	0.8	0.016	9.6
RKO	1.5	0.24	9.5
LIM2551	1.3	0.018	7.5
COLO-205	1.1	0.007	4.4
OUMS-23	>10	>1	-0.1

表3.それぞれの化合物の単剤IC50値およびLEE011とダ布拉フェニブの組み合わせによる相乗作用zスコア測定値

## 【0143】

実施例3：ダ布拉フェニブの合成方法

方法1：ダ布拉フェニブ(第1の結晶形)-N-{3-[5-(2-アミノ-4-ピリミジニル)-2-(1,1-ジメチルエチル)-1,3-チアゾール-4-イル]-2-

10

20

30

40

50

- フルオロフェニル} - 2 , 6 - ジフルオロベンゼンスルホンアミド：

N - { 3 - [ 5 - ( 2 - クロロ - 4 - ピリミジニル ) - 2 - ( 1 , 1 - ジメチルエチル ) - 1 , 3 - チアゾール - 4 - イル ] - 2 - フルオロフェニル } - 2 , 6 - ジフルオロベ  
ンゼンスルホンアミド ( 196 mg , 0.364 mmol ) および 7 M メタノール中アンモニア ( 8 ml , 56.0 mmol ) の懸濁液を、密閉管において 90 °C で 24 時間加熱した。反応物を DCM で希釈し、シリカゲルを加え、濃縮した。粗生成物を、100% DCM ~ 1 : 1 [ DCM : ( 9 : 1 EtOAc : MeOH ) ] で溶出するシリカゲルのクロマトグラフィーにかけた。透明な画分を濃縮して、粗生成物を生じた。粗生成物を、逆相 HPLC ( 兩方とも 0.1% の TFA を伴うアセトニトリル : 水の勾配 ) により再精製した。合わせた透明な画分を濃縮し、次に DCM と飽和 NaHCO<sub>3</sub> に分配した。DCM 層を分離し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥した。表題化合物の N - { 3 - [ 5 - ( 2 - アミノ - 4 - ピリミジニル ) - 2 - ( 1 , 1 - ジメチルエチル ) - 1 , 3 - チアゾール - 4 - イル ] - 2 - フルオロフェニル } - 2 , 6 - ジフルオロベンゼンスルホンアミドを得た ( 94 mg , 収率 47% )。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d6) ppm 10.83 (s, 1 H), 7.93 (d, J=5.2 Hz, 1 H), 7.55 - 7.70 (m, 1 H), 7.35 - 7.43 (m, 1 H), 7.31 (t, J=6.3 Hz, 1 H), 7.14 - 7.27 (m, 3 H), 6.70 (s, 2 H), 5.79 (d, J=5.13 Hz, 1 H), 1.35 (s, 9 H). MS ( ESI ) : 519.9 [M + H]<sup>+</sup>.

#### 【 0144 】

方法 2：ダブラフェニブ（代替的な結晶形） - N - { 3 - [ 5 - ( 2 - アミノ - 4 - ピリミジニル ) - 2 - ( 1 , 1 - ジメチルエチル ) - 1 , 3 - チアゾール - 4 - イル ] - 2 - フルオロフェニル } - 2 , 6 - ジフルオロベンゼンスルホンアミド：

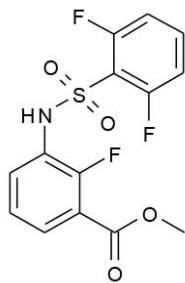
19.6 mg の N - { 3 - [ 5 - ( 2 - アミノ - 4 - ピリミジニル ) - 2 - ( 1 , 1 - ジメチルエチル ) - 1 , 3 - チアゾール - 4 - イル ] - 2 - フルオロフェニル } - 2 , 6 - ジフルオロベンゼンスルホンアミド（実施例 58 a に従って調製することができる）を、2 mL のバイアル中において 500 μL の酢酸エチルと室温で合わせた。スラリーを 0 ~ 40 °C の温度サイクルに 48 時間付した。得られたスラリーを室温に冷却し、固体を真空濾過により収集した。固体を、ラマン、PXRD、DSC/TGA 分析により分析し、上記の実施例 58 a によりもたらされる結晶形と異なる結晶形を示した。

#### 【 0145 】

方法 3：ダ布拉フェニブ（代替的な結晶形、大きなバッヂ） - N - { 3 - [ 5 - ( 2 - アミノ - 4 - ピリミジニル ) - 2 - ( 1 , 1 - ジメチルエチル ) - 1 , 3 - チアゾール - 4 - イル ] - 2 - フルオロフェニル } - 2 , 6 - ジフルオロベンゼンスルホンアミド：ステップ A：メチル 3 - { [ ( 2 , 6 - ジフルオロフェニル ) スルホニル ] アミノ } - 2 - フルオロベンゾエート：

#### 【 0146 】

#### 【 化 10 】



#### 【 0147 】

メチル 3 - アミノ - 2 - フルオロベンゾエート ( 50 g , 1 当量 ) を反応器に投入し、続いてジクロロメタン ( 250 mL , 5 容量 ) を投入した。内容物を攪拌し、約 15 °C に冷却し、ピリジン ( 26.2 mL , 1.1 当量 ) を加えた。ピリジンを加えた後、反応器の内容物を約 15 °C に調整し、2 , 6 - ジフルオロベンゼンスルホニルクロリド ( 39.7 mL , 1.0 当量 ) の添加を添加漏斗により開始した。添加中の温度を < 25 °C に保持

10

20

30

40

50

した。添加が完了した後、反応器の内容物を 20 ~ 25 に温め、一晩保持した。酢酸エチル (150 mL) を加え、ジクロロメタンを蒸留により除去した。蒸留が完了すると、反応混合物を、もう一度酢酸エチル (5 容量) で希釈し、濃縮した。反応混合物を酢酸エチル (10 容量) および水 (4 容量) で希釈し、内容物を、全ての固体が溶解するまで攪拌しながら、50 ~ 55 で加熱した。層を沈降させ、分離した。有機層を水 (4 容量) で希釈し、内容物を 50 ~ 55 で 20 ~ 30 分間加熱した。層を沈殿させ、次に分離し、酢酸エチル層を減圧下で約 3 容量に蒸発させた。酢酸エチル (5 容量) を加え、再び減圧下で約 3 容量に蒸発させた。次にシクロヘキサン (9 容量) を反応器に加え、内容物を 30 分間加熱還流し、次に 0 に冷却した。固体を濾過し、シクロヘキサン (2 × 100 mL) ですすいだ。固体を一晩空気乾燥して、メチル 3 - { [ (2,6 - ジフルオロフェニル) スルホニル ] アミノ } - 2 - フルオロベンゾエート (94.1 g, 91%) を得た。

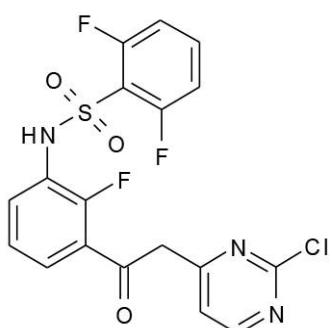
10

## 【0148】

ステップ B : N - { 3 - [ (2 - クロロ - 4 - ピリミジニル) アセチル ] - 2 - フルオロフェニル } - 2 , 6 - ジフルオロベンゼンスルホニアミド :

## 【0149】

## 【化11】



20

## 【0150】

上記のステップ A に従って一般的に調製されたメチル 3 - { [ (2 , 6 - ジフルオロフェニル) スルホニル ] アミノ } - 2 - フルオロベンゾエート (490 g, 1 当量) を、THF (2.45 L, 5 容量) に溶解し、攪拌し、0 ~ 3 に冷却した。THF 中の 1 M のリチウムビス(トリメチルシリル)アミド (5.27 L, 3.7 当量) の溶液を反応混合物に投入し、続いて THF (2.45 L, 5 容量) 中の 2 - クロロ - 4 - メチルピリミジン (238 g, 1.3 当量) を加えた。次に反応物を 1 時間攪拌した。反応物を 4.5 M の HCl (3.92 L, 8 容量) でクエンチした。水層(下側層)を除去し、廃棄した。有機層を減圧下で約 2 L に濃縮した。IPAC(酢酸イソプロピル) (2.45 L) を反応混合物に加え、次にそれを約 2 L に濃縮した。IPAC (0.5 L) および MTBE (2.45 L) を加え、N<sub>2</sub> 下で一晩攪拌した。固体を濾過した。固体および母濾液 (mother filtrate) を一緒に戻して添加し、数時間攪拌した。固体を濾過し、MTBE (約 5 容量) で洗浄した。固体を真空オーブンの中に 50 で一晩置いた。固体を真空オーブンにおいて 30 で週末にかけて乾燥して、N - { 3 - [ (2 - クロロ - 4 - ピリミジニル) アセチル ] - 2 - フルオロフェニル } - 2 , 6 - ジフルオロベンゼンスルホニアミド (479 g, 72%) を得た。

30

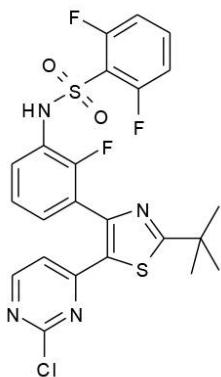
## 【0151】

ステップ C : N - { 3 - [ 5 - (2 - クロロ - 4 - ピリミジニル) - 2 - (1,1 - ダミルエチル) - 1 , 3 - チアゾール - 4 - イル ] - 2 - フルオロフェニル } - 2 , 6 - ジフルオロベンゼンスルホニアミド :

40

## 【0152】

【化 1 2】



10

【 0 1 5 3 】

反応容器に、N - { 3 - [ ( 2 - クロロ - 4 - ピリミジニル ) アセチル ] - 2 - フルオロフェニル } - 2 , 6 - ジフルオロベンゼンスルホニアミド ( 30 g 、 1 当量 ) 、続いでジクロロメタン ( 300 mL ) を投入した。反応スラリーを約 10 ℃ に冷却し、N - プロモスクシンイミド ( 「 NBS 」 ) ( 12.09 g 、 1 当量 ) を 3 つのほぼ等しい部分によって加え、それぞれの添加の間に 10 ~ 15 分間攪拌した。 NBS の最終添加の後、反応混合物を約 20 ℃ に温め、 45 分間攪拌した。次に水 ( 5 容量 ) を反応容器に加え、混合物を攪拌し、次に層を分離した。再び水 ( 5 容量 ) をジクロロメタン層に加え、混合物を攪拌し、層を分離した。ジクロロメタン層を約 120 mL に濃縮した。酢酸エチル ( 7 容量 ) を反応混合物に加え、約 120 mL に濃縮した。次にジメチルアセトアミド ( 270 mL ) を反応混合物に加え、約 10 ℃ に冷却した。 2 , 2 - デメチルプロパンチオアミド ( 1.3 g 、 0.5 当量 ) を 2 つの等しい部分により、反応器の内容物に加え、添加の間に約 5 分間攪拌した。反応物を 20 ~ 25 ℃ に温めた。 45 分後、容器の内容物を 75 ℃ に加熱し、 1.75 時間保持した。次に反応混合物を 5 ℃ に冷却し、温度を 30 ℃ 未満に保ちながら、水 ( 270 mL ) をゆっくりと投入した。次に酢酸エチル ( 4 容量 ) を投入し、混合物を攪拌し、層を分離した。再び酢酸エチル ( 7 容量 ) を水層に投入し、内容物を攪拌し、分離した。再び酢酸エチル ( 7 容量 ) を水層に投入し、内容物を攪拌し、分離した。有機層を合わせ、水 ( 4 容量 ) で 4 回洗浄し、 20 ~ 25 ℃ で一晩攪拌した。次に有機層を熱および真空下で 120 mL に濃縮した。次に容器の内容物を 50 ℃ に加熱し、ヘプタン ( 120 mL ) をゆっくりと加えた。ヘプタンを加えた後、容器の内容物を加热還流し、次に 0 ℃ に冷却し、約 2 時間保持した。固体を濾過し、ヘプタン ( 2 × 2 容量 ) ですすいだ。次に固体生成物を真空下、 30 ℃ で乾燥して、N - { 3 - [ 5 - ( 2 - クロロ - 4 - ピリミジニル ) - 2 - ( 1 , 1 - デメチルエチル ) - 1 , 3 - チアゾール - 4 - イル ] - 2 - フルオロフェニル } - 2 , 6 - ジフルオロベンゼンスルホニアミド ( 28.8 g 、 80 % ) を得た。

20

30

【 0 1 5 4 】

ステップD : N - { 3 - [ 5 - ( 2 - アミノ - 4 - ピリミジニル ) - 2 - ( 1 , 1 - ジメチルエチル ) - 1 , 3 - チアゾール - 4 - イル ] - 2 - フルオロフェニル } - 2 , 6 - ジフルオロベンゼンスルホニアミド :

40

1ガロン圧力反応器において、上記のステップCに従って調製されたN-[3-[5-(2-クロロ-4-ピリミジニル)-2-(1,1-ジメチルエチル)-1,3-チアゾール-4-イル]-2-フルオロフェニル]-2,6-ジフルオロベンゼンスルホニアミド(120g)および水酸化アンモニウム(28~30%、2.4L、20容量)の混合物を密閉圧力反応器中で98~103℃に加熱し、この温度で2時間攪拌した。反応物を室温(20℃)にゆっくりと冷却し、一晩攪拌した。固体を濾過し、最小量の母液で洗浄し、真空下で乾燥した。固体を、EtOAc(15容量)/水(2容量)の混合物に加え、加熱して、60~70℃で溶解を完了させ、水層を除去し、廃棄した。EtOAc層に水(1容量)を投入し、HCl水溶液により約5.4~5.5のpHに中和し、水(1容

量) 加えた。水相を 60 ~ 70 で除去し、廃棄した。有機層を水(1容量)により 60 ~ 70 で洗浄し、水層を除去し、廃棄した。有機層を 60 で濾過し、3容量に濃縮した。EtOAc(6容量)を混合物に投入し、72 で 10 分間加熱および攪拌し、次に 20 に冷却し、一晩攪拌した。EtOAc を真空蒸留により除去して、反応混合物を約 3容量に濃縮した。反応混合物を約 65 ~ 70 で約 30 分間維持した。ヘプタンスラリー中の、上記の実施例 58 bにおいて調製された(および実施例 58 bの手順により調製された)ものと同じ結晶形を有する生成物の結晶を、投入した。ヘプタン(9容量)を 65 ~ 70 でゆっくりと加えた。スラリーを 65 ~ 70 で 2 ~ 3 時間攪拌し、次に 0 ~ 5 にゆっくりと冷却した。生成物を濾過し、EtOAc / ヘプタン(3 / 1 v / v、4容量)で洗浄し、真空下において 45 で乾燥して、N - { 3 - [ 5 - ( 2 - アミノ - 4 - ピリミジニル ) - 2 - ( 1 , 1 - ジメチルエチル ) - 1 , 3 - チアゾール - 4 - イル ] - 2 - フルオロフェニル } - 2 , 6 - ジフルオロベンゼンスルホンアミド(102.3g、88%)を得た。  
10

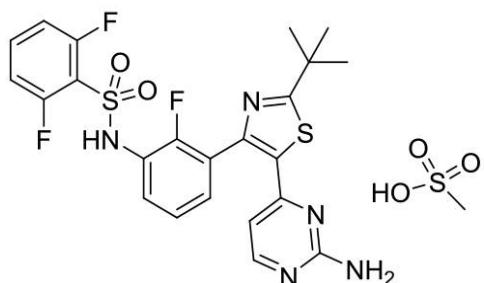
## 【0155】

方法 4 : ダブラフェニブ(メシリ酸塩) - N - { 3 - [ 5 - ( 2 - アミノ - 4 - ピリミジニル ) - 2 - ( 1 , 1 - ジメチルエチル ) - 1 , 3 - チアゾール - 4 - イル ] - 2 - フルオロフェニル } - 2 , 6 - ジフルオロベンゼンスルホンアミドメタンスルホネート :

## 【0156】

## 【化13】

20



## 【0157】

イソプロパノール(2mL)中のN - { 3 - [ 5 - ( 2 - アミノ - 4 - ピリミジニル ) - 2 - ( 1 , 1 - ジメチルエチル ) - 1 , 3 - チアゾール - 4 - イル ] - 2 - フルオロフェニル } - 2 , 6 - ジフルオロベンゼンスルホンアミド(204mg、0.393mmol)の溶液に、メタンスルホン酸(0.131mL、0.393mmol)を加え、溶液を室温で3時間攪拌した。白色の沈殿物が形成され、スラリーを濾過し、ジエチルエーテルですすいで、表記生成物を白色の結晶質固体(210mg、収率83%)として得た。  
30

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d6) ppm 10.85 (s, 1 H) 7.92 - 8.05 (m, 1 H) 7.56 - 7.72 (m, 1 H) 6.91 - 7.50 (m, 7 H) 5.83 - 5.98 (m, 1 H) 2.18 - 2.32 (m, 3 H) 1.36 (s, 9 H). M S ( E S I ) : 520.0 [ M + H ] <sup>+</sup>.

## 【0158】

方法 5 : ダ布拉フェニブ(代替的なメシリ酸塩の実施形態) - N - { 3 - [ 5 - ( 2 - アミノ - 4 - ピリミジニル ) - 2 - ( 1 , 1 - ジメチルエチル ) - 1 , 3 - チアゾール - 4 - イル ] - 2 - フルオロフェニル } - 2 , 6 - ジフルオロベンゼンスルホンアミドメタンスルホネート :

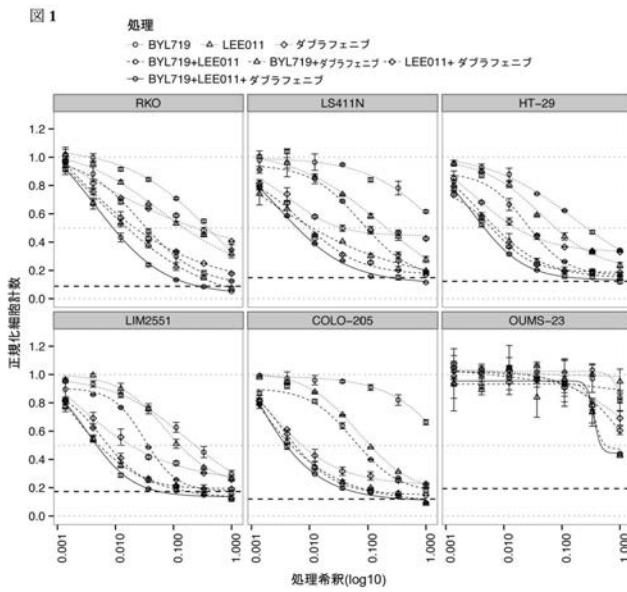
N - { 3 - [ 5 - ( 2 - アミノ - 4 - ピリミジニル ) - 2 - ( 1 , 1 - ジメチルエチル ) - 1 , 3 - チアゾール - 4 - イル ] - 2 - フルオロフェニル } - 2 , 6 - ジフルオロベンゼンスルホンアミド(実施例 58 a により調製することができる)(2.37g、4.56mmol)を、予備濾過アセトニトリル(5.25容量、12.4mL)と合わせた。H<sub>2</sub>O(0.75当量、1.78mL)中のメシン酸(1.1当量、5.02mmol、0.48g)の予備濾過溶液を、20 で加えた。低い攪拌速度を維持しながら、得られた混合物の温度を 50 ~ 60 に上昇させた。混合物の温度が 50 ~ 60 に達すると、  
40

50

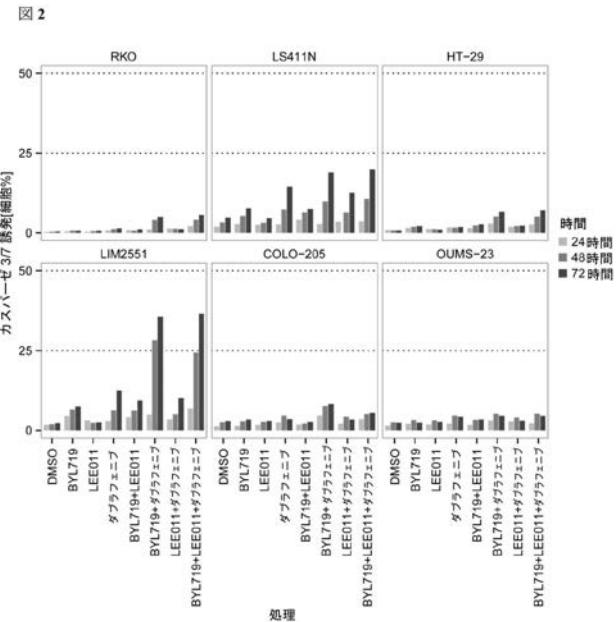
N - { 3 - [ 5 - ( 2 - アミノ - 4 - ピリミジニル ) - 2 - ( 1 , 1 - ジメチルエチル ) - 1 , 3 - チアゾール - 4 - イル ] - 2 - フルオロフェニル } - 2 , 6 - ジフルオロベンゼンスルホニアミドメタンスルホネート ( 0 . 2 容量の予備濾過アセトニトリルでスラリー化した 1 . 0 % w / w ) の種スラリーを加え、混合物を、固体が沈殿するのを避けるのに十分な速度で攪拌しながら、 50 ~ 60 度で 2 時間熟成させた。次に混合物を 0 . 25

/ 分で 0 ~ 5 度に冷却し、 0 ~ 5 度で 6 時間保持した。混合物を濾過し、湿潤ケーキを予備濾過アセトニトリルで 2 回洗浄した。第 1 の洗浄液は、 14 . 2 ml ( 6 容量 ) の予備濾過アセトニトリルから構成され、第 2 の洗浄液は 9 . 5 ml ( 4 容量 ) の予備濾過アセトニトリルから構成された。湿潤固体を真空下、 50 度で乾燥して、 2 . 39 g ( 収率 85 . 1 % ) の生成物をもたらした。

【図 1】

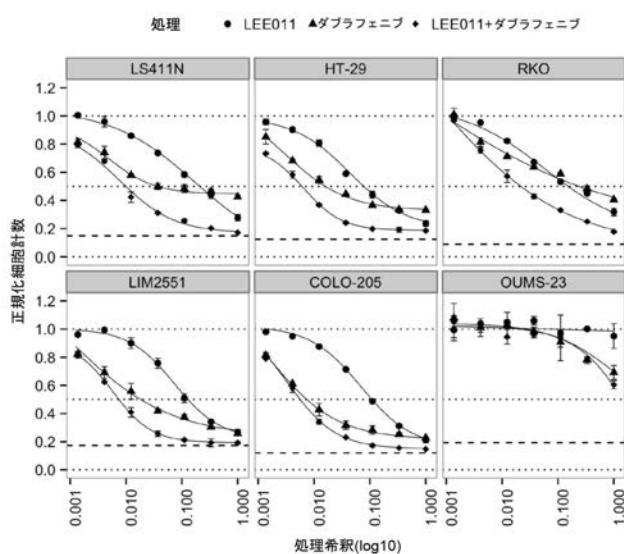


【図 2】



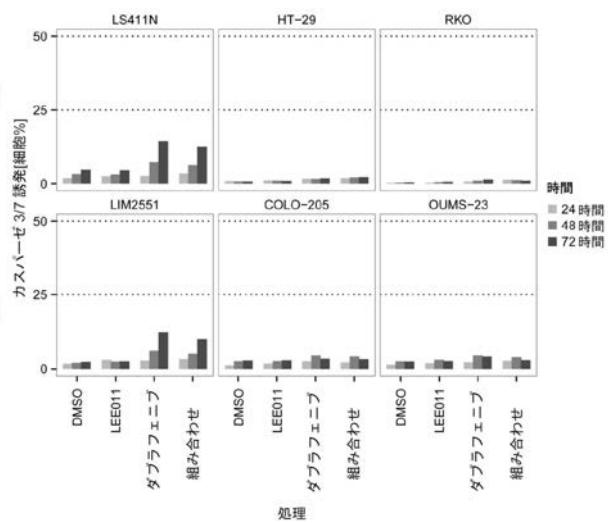
【図3】

図3



【図4】

図4



## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		International application No PCT/IB2016/055076						
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. A61K31/4439 A61K31/506 A61K31/519 A61P35/00 ADD.								
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC								
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> 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 practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE, WPI Data								
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b> <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;">         KURT SAMSON: "LEE011 CDK Inhibitor Showing Early Promise in Drug-Resistant Cancers", ONCOLOGY TIMES, vol. 36, no. 3, 1 February 2014 (2014-02-01), pages 39-40, XP055317020, ISSN: 0276-2234, DOI: 10.1097/01.COT.0000444043.33304.c1 page 39, left-hand column, paragraph 3 page 39, right-hand column, paragraph 2 - page 40, left-hand column, paragraph 4 page 40, right-hand column, paragraph 3          -----          -/-/       </td> <td style="padding: 2px;">1-26</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	Y	KURT SAMSON: "LEE011 CDK Inhibitor Showing Early Promise in Drug-Resistant Cancers", ONCOLOGY TIMES, vol. 36, no. 3, 1 February 2014 (2014-02-01), pages 39-40, XP055317020, ISSN: 0276-2234, DOI: 10.1097/01.COT.0000444043.33304.c1 page 39, left-hand column, paragraph 3 page 39, right-hand column, paragraph 2 - page 40, left-hand column, paragraph 4 page 40, right-hand column, paragraph 3 ----- -/-/	1-26
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.						
Y	KURT SAMSON: "LEE011 CDK Inhibitor Showing Early Promise in Drug-Resistant Cancers", ONCOLOGY TIMES, vol. 36, no. 3, 1 February 2014 (2014-02-01), pages 39-40, XP055317020, ISSN: 0276-2234, DOI: 10.1097/01.COT.0000444043.33304.c1 page 39, left-hand column, paragraph 3 page 39, right-hand column, paragraph 2 - page 40, left-hand column, paragraph 4 page 40, right-hand column, paragraph 3 ----- -/-/	1-26						
<input checked="" 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  11 November 2016		Date of mailing of the international search report  17/11/2016						
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer  Bazzanini, Rita						

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/IB2016/055076

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>A.C. Wood ET AL: "Abstract 1000: Combination CDK4/6 and ALK inhibition demonstrates on-target synergy against neuroblastoma", Cancer research - Proceedings AACR Annual Meeting 2014; April 5-9 2014, San Diego, CA, 1 October 2014 (2014-10-01), XP055317513, Retrieved from the Internet: URL:<a href="http://cancerres.aacrjournals.org/content/74/19_Supplement/1000">http://cancerres.aacrjournals.org/content/74/19_Supplement/1000</a> [retrieved on 2016-11-08] the whole document</p> <p>-----</p> <p>Jeffrey A Sosman ET AL: "A Phase 1b/2 Study of LEE011 in Combination With Binimetinib (MEK162) in Patients With Advanced NRAS-Mutant Melanoma: Early Encouraging Clinical Activity", 1 January 2014 (2014-01-01), XP055311605, Retrieved from the Internet: URL:<a href="http://www.arraybiopharma.com/files/7114/0183/4947/ASCO_2014_MEK_LEE_FINAL_20140603.pdf">http://www.arraybiopharma.com/files/7114/0183/4947/ASCO_2014_MEK_LEE_FINAL_20140603.pdf</a> [retrieved on 2016-10-18] the whole document</p> <p>-----</p> <p>FLAHERTY KEITH T ET AL: "Combined BRAF and MEK Inhibition in Melanoma with BRAF V600 Mutations", NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE, THE - NEJM -, MASSACHUSETTS MEDICAL SOCIETY , vol. 367, no. 18 1 November 2012 (2012-11-01), pages 1694-1703, XP002725869, ISSN: 0028-4793, DOI: 10.1056/NEJMoa1210093 Retrieved from the Internet: URL:<a href="http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJMoa1210093">http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJMoa1210093</a> [retrieved on 2012-09-29] abstract page 1699, right-hand column, paragraph 4 - page 1702, right-hand column, paragraph 2</p> <p>-----</p> <p>-/-</p>	1-26
Y		1-26
Y		1-26

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No  
PCT/IB2016/055076

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	ALEXANDER M. MENZIES ET AL: "Recent advances in melanoma systemic therapy. BRAF inhibitors, CTLA4 antibodies and beyond", EUROPEAN JOURNAL OF CANCER, vol. 49, no. 15, 1 October 2013 (2013-10-01), pages 3229-3241, XP55203734, ISSN: 0959-8049, DOI: 10.1016/j.ejca.2013.06.027 table 1 -----	1-26
2		

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) [April 2005]

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 1/04 (2006.01)	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,R0,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,D0,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,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,TZ,UA,UG,US

(72)発明者 カボニーロ , ジョルダーノ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 02139 , マサチューセッツ アベニュー ケンブリッジ 250 , ノバルティス インスティチューツ フォー バイオメディカル リサーチ , インコーポレイテッド内

(72)発明者 ホルン - スピローン , トマス

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 02139 , マサチューセッツ アベニュー ケンブリッジ 250 , ノバルティス インスティチューツ フォー バイオメディカル リサーチ , インコーポレイテッド内

(72)発明者 レハール , ジョゼフ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 02139 , マサチューセッツ アベニュー ケンブリッジ 250 , ノバルティス インスティチューツ フォー バイオメディカル リサーチ , インコーポレイテッド内

Fターム(参考) 4C086 AA01 AA02 BC17 BC42 CB05 GA07 GA08 GA10 GA12 GA13  
MA02 MA03 MA04 NA05 NA14 ZA66 ZB26 ZB27 ZC75