

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6678584号
(P6678584)

(45) 発行日 令和2年4月22日(2020.4.22)

(24) 登録日 令和2年3月19日(2020.3.19)

(51) Int.Cl.	F I	
A 6 1 K 31/4439 (2006.01)	A 6 1 K 31/4439	
A 6 1 K 31/519 (2006.01)	A 6 1 K 31/519	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 35/02	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
請求項の数 59 (全 90 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2016-540553 (P2016-540553)
 (86) (22) 出願日 平成26年12月19日 (2014.12.19)
 (65) 公表番号 特表2017-502013 (P2017-502013A)
 (43) 公表日 平成29年1月19日 (2017.1.19)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2014/071747
 (87) 国際公開番号 W02015/095840
 (87) 国際公開日 平成27年6月25日 (2015.6.25)
 審査請求日 平成29年12月18日 (2017.12.18)
 (31) 優先権主張番号 61/919,597
 (32) 優先日 平成25年12月20日 (2013.12.20)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)

(73) 特許権者 514063906
 バイオメッド バレー ディスカバリーズ
 , インコーポレイティド
 アメリカ合衆国, ミズーリ 64111,
 カンザス シティ, メイン ストリート
 4435, スイート 550
 (74) 代理人 100107489
 弁理士 大塩 竹志
 (72) 発明者 サハ, サウラブ
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02
 481, ウェルズリー ヒルズ, カー
 ルズブルック ロード 44

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 CDK阻害剤およびERK阻害剤の組み合わせを使用するがん処置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

がんを処置または改善することを必要とする被験体におけるがんを処置または改善するための組合せ物であって、有効量の (i) B V D - 5 2 3 または薬学的に許容されるその塩である第1の抗がん剤、および (i i) サイクリン依存性キナーゼ (C D K) 阻害剤である第2の抗がん剤を含み、該 C D K 阻害剤が、パルボシクリブ、LEE - 0 1 1、薬学的に許容されるこれらの塩、およびこれらの組合せからなる群から選択される組合せ物。

【請求項2】

前記被験体が、哺乳動物である、請求項1に記載の組合せ物。

【請求項3】

前記哺乳動物が、ヒト、霊長動物、農場動物、および家庭動物からなる群から選択される、請求項2に記載の組合せ物。

【請求項4】

前記哺乳動物が、ヒトである、請求項2に記載の組合せ物。

【請求項5】

前記 C D K 阻害剤が、LEE - 0 1 1 (A s t e x P h a r m a c e u t i c a l s)、薬学的に許容されるその塩、およびその組合せからなる群から選択される、請求項1に記載の組合せ物。

【請求項6】

前記 C D K 阻害剤が、パルボシクリブ、薬学的に許容されるその塩、およびその組合せ

からなる群から選択される、請求項 1 に記載の組合せ物。

【請求項 7】

がんを有する前記被験体が、体細胞 N R A S 変異を有する、請求項 1 に記載の組合せ物。

【請求項 8】

前記がんが、神経芽細胞腫、白血病、リンパ腫、肝臓がん、肺がん、皮膚がん、精巣がん、および甲状腺がんからなる群から選択される、請求項 1 に記載の組合せ物。

【請求項 9】

前記がんが、黒色腫である、請求項 1 に記載の組合せ物。

【請求項 10】

抗体またはその断片、細胞傷害剤、薬物、毒素、放射性核種、免疫調節剤、光活性治療剤、放射線増感剤、ホルモン、抗血管新生剤、およびこれらの組合せからなる群から選択される少なくとも 1 つのさらなる治療剤をさらに含む、請求項 1 に記載の組合せ物。

【請求項 11】

前記さらなる治療剤が、P I 3 K / A k t 経路の阻害剤である、請求項 10 に記載の組合せ物。

【請求項 12】

前記 P I 3 K / A k t 経路の前記阻害剤が、A - 6 7 4 5 6 3 (C A S 番号 : 5 5 2 3 2 5 - 7 3 - 2)、A G L 2 2 6 3、A M G - 3 1 9 (A m g e n、T h o u s a n d O a k s、C A)、A S - 0 4 1 1 6 4 (5 - ベンゾ [1 , 3] ジオキソール - 5 - イルメチレン - チアゾリジン - 2 , 4 - ジオン)、A S - 6 0 4 8 5 0 (5 - (2 , 2 - ジフルオロ - ベンゾ [1 , 3] ジオキソール - 5 - イルメチレン) - チアゾリジン - 2 , 4 - ジオン)、A S - 6 0 5 2 4 0 (5 - キノキシリン - 6 - メチレン - 1 , 3 - チアゾリジン - 2 , 4 - ジオン)、A T 7 8 6 7 (C A S 番号 : 8 5 7 5 3 1 - 0 0 - 1)、G e n e n t e c h (R o c h e H o l d i n g s I n c .、S o u t h S a n F r a n c i s c o、C A) のベンズイミダゾールシリーズ、B M L - 2 5 7 (C A S 番号 : 3 2 3 8 7 - 9 6 - 5)、C A L - 1 2 0 (G i l e a d S c i e n c e s、F o s t e r C i t y、C A)、C A L - 1 2 9 (G i l e a d S c i e n c e s)、C A L - 1 3 0 (G i l e a d S c i e n c e s)、C A L - 2 5 3 (G i l e a d S c i e n c e s)、C A L - 2 6 3 (G i l e a d S c i e n c e s)、C A S 番号 : 6 1 2 8 4 7 - 0 9 - 3、C A S 番号 : 6 8 1 2 8 1 - 8 8 - 9、C A S 番号 : 7 5 7 4 7 - 1 4 - 7、C A S 番号 : 9 2 5 6 8 1 - 4 1 - 0、C A S 番号 : 9 8 5 1 0 - 8 0 - 6、C C T 1 2 8 9 3 0 (C A S 番号 : 8 8 5 4 9 9 - 6 1 - 6)、C H 5 1 3 2 7 9 9 (C A S 番号 : 1 0 0 7 2 0 7 - 6 7 - 1)、C H R - 4 4 3 2 (C h r o m a T h e r a p e u t i c s、L t d .、A b i n g d o n、U K)、F P A 1 2 4 (C A S 番号 : 9 0 2 7 7 9 - 5 9 - 3)、G S - 1 1 0 1 (C A L - 1 0 1) (G i l e a d S c i e n c e s)、G S K 6 9 0 6 9 3 (C A S 番号 : 9 3 7 1 7 4 - 7 6 - 0)、H - 8 9 (C A S 番号 : 1 2 7 2 4 3 - 8 5 - 0)、ホノキオール、I C 8 7 1 1 4 (G i l e a d S c i e n c e)、I P I - 1 4 5 (I n t e l l i k i n e I n c .)、K A R - 4 1 3 9 (K a r u s T h e r a p e u t i c s、C h i l w o r t h、U K)、K A R - 4 1 4 1 (K a r u s T h e r a p e u t i c s)、K I N - 1 (K a r u s T h e r a p e u t i c s)、K T 5 7 2 0 (C A S 番号 : 1 0 8 0 6 8 - 9 8 - 0)、ミルテホシン、M K - 2 2 0 6 二塩酸塩 (C A S 番号 : 1 0 3 2 3 5 0 - 1 3 - 2)、M L - 9 (C A S 番号 : 1 0 5 6 3 7 - 5 0 - 1)、ナルトリンドール塩酸塩、O X Y - 1 1 1 A (N o r m O x y s I n c .、B r i g h t o n、M A)、ペリホシン、P H T - 4 2 7 (C A S 番号 : 1 1 9 1 9 5 1 - 5 7 - 1)、M e r c k K G a A (M e r c k & C o .、W h i t e h o u s e S t a t i o n、N J) の P I 3 キナーゼデルタ阻害剤、G e n e n t e c h (R o c h e H o l d i n g s I n c .) の P I 3 キナーゼデルタ阻害剤、I n c o z e n (I n c o z e n T h e r a p e u t i c s、P v t . L t d .、H y d r a b a d、I n d i a) の P I 3 キナーゼデルタ阻害剤、

10

20

30

40

50

Incozen (Incozen Therapeutics) の PI3 キナーゼデルタ阻害剤 2、Roche - 4 (Roche Holdings Inc.) の PI3 キナーゼ阻害剤、Roche (Roche Holdings Inc.) の PI3 キナーゼ阻害剤、Roche - 5 (Roche Holdings Inc.) の PI3 キナーゼ阻害剤、Pathway Therapeutics (Pathway Therapeutics Ltd., South San Francisco, CA) の PI3 - アルファ/デルタ阻害剤、Cellzome (Cellzome AG, Heidelberg, Germany) の PI3 - デルタ阻害剤、Intellikine (Intellikine Inc., La Jolla, CA) の PI3 - デルタ阻害剤、Pathway Therapeutics - 1 (Pathway Therapeutics Ltd.) の PI3 - デルタ阻害剤、Pathway Therapeutics - 2 (Pathway Therapeutics Ltd.) の PI3 - デルタ阻害剤、Cellzome (Cellzome AG) の PI3 - デルタ/ガンマ阻害剤、Cellzome (Cellzome AG) の PI3 - デルタ/ガンマ阻害剤、Intellikine (Intellikine Inc.) の PI3 - デルタ/ガンマ阻害剤、Intellikine (Intellikine Inc.) の PI3 - デルタ/ガンマ阻害剤、Pathway Therapeutics (Pathway Therapeutics Ltd.) の PI3 - デルタ/ガンマ阻害剤、Pathway Therapeutics (Pathway Therapeutics Ltd.) の PI3 - デルタ/ガンマ阻害剤、Evotec (Evotec) の PI3 - ガンマ阻害剤、Cellzome (Cellzome AG) の PI3 - ガンマ阻害剤、Pathway Therapeutics (Pathway Therapeutics Ltd.) の PI3 - ガンマ阻害剤、Intellikine - 1 (Intellikine Inc.) の PI3 K デルタ/ガンマ阻害剤、Intellikine - 1 (Intellikine Inc.) の PI3 K デルタ/ガンマ阻害剤、ピクチリシブ (Roche Holdings Inc.)、PIK - 90 (CAS 番号: 677338-12-4)、SC - 103980 (Pfizer, New York, NY)、SF - 1126 (Semafore Pharmaceuticals, Indianapolis, IN)、SH - 5、SH - 6、テトラヒドロクルクミン、TG100 - 115 (Targegen Inc., San Diego, CA)、トリシリピン、X - 339 (Xcovery, West Palm Beach, FL)、XL - 499 (Evotech, Hamburg, Germany)、薬学的に許容されるこれらの塩、およびこれらの組合せからなる群から選択される、請求項 11 に記載の組合せ物。

【請求項 13】

前記第 1 および第 2 の抗がん剤の投与により、どちらの抗がん剤単独の投与と比較しても相乗作用がもたらされる、請求項 1 に記載の組合せ物。

【請求項 14】

前記 BVD - 523 または薬学的に許容されるその塩が、薬学的に許容される担体または希釈剤をさらに含む医薬組成物の形態で投与される、請求項 1 に記載の組合せ物。

【請求項 15】

前記 パルボシクリブ または薬学的に許容される その塩 が、薬学的に許容される担体または希釈剤をさらに含む医薬組成物の形態で投与される、請求項 1 に記載の組合せ物。

【請求項 16】

がん細胞死をもたらすための組合せ物であって、有効量の (i) BVD - 523 または薬学的に許容されるその塩である第 1 の抗がん剤、および (ii) CDK 阻害剤 である第 2 の抗がん剤を含み、該 CDK 阻害剤が、パルボシクリブ、LEE - 011、薬学的に許容されるこれらの塩、およびこれらの組合せからなる群から選択される組合せ物。

【請求項 17】

前記がん細胞が、哺乳動物がん細胞である、請求項 16 に記載の組合せ物。

【請求項 18】

10

20

30

40

50

前記哺乳動物がん細胞が、ヒト、霊長動物、農場動物、および家庭動物からなる群から選択される哺乳動物から得られる、請求項 17 に記載の組合せ物。

【請求項 19】

前記哺乳動物がん細胞が、ヒトがん細胞である、請求項 18 に記載の組合せ物。

【請求項 20】

前記 CDK 阻害剤が、LEE - 011 (Astex Pharmaceuticals)、薬学的に許容されるその塩、およびその組合せからなる群から選択される、請求項 16 に記載の組合せ物。

【請求項 21】

前記 CDK 阻害剤が、パルボシクリブ、薬学的に許容されるその塩、およびその組合せからなる群から選択される、請求項 16 に記載の組合せ物。 10

【請求項 22】

前記がん細胞が、体細胞 NRAS 変異を有する、請求項 16 に記載の組合せ物。

【請求項 23】

前記がん細胞が、神経芽細胞腫、白血病、リンパ腫、肝臓がん、肺がん、皮膚がん、精巣がん、および甲状腺がんからなる群から選択されるがんから得られる、請求項 16 に記載の組合せ物。

【請求項 24】

前記がんが、黒色腫である、請求項 16 に記載の組合せ物。

【請求項 25】 20

抗体またはその断片、細胞傷害剤、薬物、毒素、放射性核種、免疫調節剤、光活性治療剤、放射線増感剤、ホルモン、抗血管新生剤、およびこれらの組合せからなる群から選択される少なくとも 1 つのさらなる治療剤をさらに含む、請求項 16 に記載の組合せ物。

【請求項 26】

前記さらなる治療剤が、PI3K / Akt 経路の阻害剤である、請求項 25 に記載の組合せ物。

【請求項 27】

前記 PI3K / Akt 経路の前記阻害剤が、A - 674563 (CAS 番号: 552325 - 73 - 2)、AGL 2263、AMG - 319 (Amgen、Thousand Oaks、CA)、AS - 041164 (5 - ベンゾ [1, 3] ジオキソール - 5 - イルメチレン - チアゾリジン - 2, 4 - ジオン)、AS - 604850 (5 - (2, 2 - ジフルオロ - ベンゾ [1, 3] ジオキソール - 5 - イルメチレン) - チアゾリジン - 2, 4 - ジオン)、AS - 605240 (5 - キノキシリン - 6 - メチレン - 1, 3 - チアゾリジン - 2, 4 - ジオン)、AT7867 (CAS 番号: 857531 - 00 - 1)、Genentech (Roche Holdings Inc.、South San Francisco、CA) のベンズイミダゾールシリーズ、BML - 257 (CAS 番号: 32387 - 96 - 5)、CAL - 120 (Gilead Sciences、Foster City、CA)、CAL - 129 (Gilead Sciences)、CAL - 130 (Gilead Sciences)、CAL - 253 (Gilead Sciences)、CAL - 263 (Gilead Sciences)、CAS 番号: 612847 - 09 - 3、CAS 番号: 681281 - 88 - 9、CAS 番号: 75747 - 14 - 7、CAS 番号: 925681 - 41 - 0、CAS 番号: 98510 - 80 - 6、CCT128930 (CAS 番号: 885499 - 61 - 6)、CH5132799 (CAS 番号: 1007207 - 67 - 1)、CHR - 4432 (Chroma Therapeutics, Ltd.、Abingdon、UK)、FPA 124 (CAS 番号: 902779 - 59 - 3)、GS - 1101 (CAL - 101) (Gilead Sciences)、GSK 690693 (CAS 番号: 937174 - 76 - 0)、H - 89 (CAS 番号: 127243 - 85 - 0)、ホノキオール、IC87114 (Gilead Science)、IPI - 145 (Intellikine Inc.)、KAR - 4139 (Karus Therapeutics、Chilworth、UK)、 30 40 50

KAR - 4141 (Karus Therapeutics)、KIN - 1 (Karus Therapeutics)、KT 5720 (CAS番号: 108068 - 98 - 0)、ミルテホシン、MK - 2206 二塩酸塩 (CAS番号: 1032350 - 13 - 2)、ML - 9 (CAS番号: 105637 - 50 - 1)、ナルトリンドール塩酸塩、OXY - 111A (NormOxys Inc.、Brighton、MA)、ペリホシン、PHT - 427 (CAS番号: 1191951 - 57 - 1)、Merck KGaA (Merck & Co.、Whitehouse Station、NJ) のPI3キナーゼデルタ阻害剤、Genentech (Roche Holdings Inc.) のPI3キナーゼデルタ阻害剤、Incozen (Incozen Therapeutics, Pvt. Ltd.、Hydrabad、India) のPI3キナーゼデルタ阻害剤、Incozen (Incozen Therapeutics) のPI3キナーゼデルタ阻害剤2、Roche - 4 (Roche Holdings Inc.) のPI3キナーゼ阻害剤、Roche (Roche Holdings Inc.) のPI3キナーゼ阻害剤、Roche - 5 (Roche Holdings Inc.) のPI3キナーゼ阻害剤、Pathway Therapeutics (Pathway Therapeutics Ltd.、South San Francisco、CA) のPI3 - アルファ/デルタ阻害剤、Cellzome (Cellzome AG、Heidelberg、Germany) のPI3 - デルタ阻害剤、Intellikine (Intellikine Inc.、La Jolla、CA) のPI3 - デルタ阻害剤、Pathway Therapeutics - 1 (Pathway Therapeutics Ltd.) のPI3 - デルタ阻害剤、Pathway Therapeutics - 2 (Pathway Therapeutics Ltd.) のPI3 - デルタ阻害剤、Cellzome (Cellzome AG) のPI3 - デルタ/ガンマ阻害剤、Cellzome (Cellzome AG) のPI3 - デルタ/ガンマ阻害剤、Intellikine (Intellikine Inc.) のPI3 - デルタ/ガンマ阻害剤、Intellikine (Intellikine Inc.) のPI3 - デルタ/ガンマ阻害剤、Pathway Therapeutics (Pathway Therapeutics Ltd.) のPI3 - デルタ/ガンマ阻害剤、Pathway Therapeutics (Pathway Therapeutics Ltd.) のPI3 - デルタ/ガンマ阻害剤、Evotec (Evotec) のPI3 - ガンマ阻害剤、Cellzome (Cellzome AG) のPI3 - ガンマ阻害剤、Pathway Therapeutics (Pathway Therapeutics Ltd.) のPI3 - ガンマ阻害剤、Intellikine - 1 (Intellikine Inc.) のPI3 Kデルタ/ガンマ阻害剤、Intellikine - 1 (Intellikine Inc.) のPI3 Kデルタ/ガンマ阻害剤、ピクチリシブ (Roche Holdings Inc.)、PIK - 90 (CAS番号: 677338 - 12 - 4)、SC - 103980 (Pfizer、New York、NY)、SF - 1126 (Semafore Pharmaceuticals、Indianapolis、IN)、SH - 5、SH - 6、テトラヒドロクルクミン、TG100 - 115 (Targegen Inc.、San Diego、CA)、トリシリピン、X - 339 (Xcovery、West Palm Beach、FL)、XL - 499 (Evotech、Hamburg、Germany)、薬学的に許容されるこれらの塩、およびこれらの組合せからなる群から選択される、請求項26に記載の組合せ物。

【請求項28】

前記がん細胞の、前記第1および第2の抗がん剤との接触により、該がん細胞のどちらの抗がん剤単独との接触と比較しても相乗作用がもたらされる、請求項16に記載の組合せ物。

【請求項29】

がんを処置または改善することを必要とする被験体におけるがんを処置または改善するためのキットであって、有効量の(i) BVD - 523または薬学的に許容されるその塩

である第1の抗がん剤、および(i i)CDK阻害剤である第2の抗がん剤を、それらの使用のための指示と一緒にパッケージングして、含み、該CDK阻害剤が、パルボシクリブ、LEE-011、薬学的に許容されるこれらの塩、およびこれらの組合せからなる群から選択されるキット。

【請求項30】

前記被験体が、哺乳動物である、請求項29に記載のキット。

【請求項31】

前記哺乳動物が、ヒト、霊長動物、農場動物、および家庭動物からなる群から選択される、請求項30に記載のキット。

【請求項32】

前記哺乳動物が、ヒトである、請求項30に記載のキット。

【請求項33】

前記CDK阻害剤が、LEE-011 (Astex Pharmaceuticals)、薬学的に許容されるその塩、およびその組合せからなる群から選択される、請求項29に記載のキット。

【請求項34】

前記CDK阻害剤が、パルボシクリブ、薬学的に許容されるその塩、およびその組合せからなる群から選択される、請求項29に記載のキット。

【請求項35】

がんを有する前記被験体がNRAS変異を有する、請求項29に記載のキット。

【請求項36】

前記がんが、神経芽細胞腫、白血病、リンパ腫、肝臓がん、肺がん、皮膚がん、精巣がん、および甲状腺がんからなる群から選択される、請求項29に記載のキット。

【請求項37】

前記がんが、黒色腫である、請求項29に記載のキット。

【請求項38】

抗体またはその断片、細胞傷害剤、薬物、毒素、放射性核種、免疫調節剤、光活性治療剤、放射線増感剤、ホルモン、抗血管新生剤、およびこれらの組合せからなる群から選択される少なくとも1つのさらなる治療剤をさらに含む、請求項29に記載のキット。

【請求項39】

前記さらなる治療剤が、PI3K/Akt経路の阻害剤である、請求項38に記載のキット。

【請求項40】

前記PI3K/Akt経路の前記阻害剤が、A-674563 (CAS番号: 552325-73-2)、AGL-2263、AMG-319 (Amgen, Thousand Oaks, CA)、AS-041164 (5-ベンゾ[1,3]ジオキソール-5-イルメチレン-チアゾリジン-2,4-ジオン)、AS-604850 (5-(2,2-ジフルオロ-ベンゾ[1,3]ジオキソール-5-イルメチレン)-チアゾリジン-2,4-ジオン)、AS-605240 (5-キノキシリン-6-メチレン-1,3-チアゾリジン-2,4-ジオン)、AT7867 (CAS番号: 857531-00-1)、Genentech (Roche Holdings Inc., South San Francisco, CA)のベンズイミダゾールシリーズ、BML-257 (CAS番号: 32387-96-5)、CAL-120 (Gilead Sciences, Foster City, CA)、CAL-129 (Gilead Sciences)、CAL-130 (Gilead Sciences)、CAL-253 (Gilead Sciences)、CAL-263 (Gilead Sciences)、CAS番号: 612847-09-3、CAS番号: 681281-88-9、CAS番号: 75747-14-7、CAS番号: 925681-41-0、CAS番号: 98510-80-6、CCT128930 (CAS番号: 885499-61-6)、CH5132799 (CAS番号: 1007207-67-1)、CHR-4432 (Chroma Thera

10

20

30

40

50

peutics, Ltd., Abingdon, UK)、FPA 124 (CAS番号: 902779-59-3)、GS-1101 (CAL-101) (Gilead Sciences)、GSK 690693 (CAS番号: 937174-76-0)、H-89 (CAS番号: 127243-85-0)、ホノキオール、IC87114 (Gilead Science)、IPI-145 (Intellikine Inc.)、KAR-4139 (Karus Therapeutics, Chilworth, UK)、KAR-4141 (Karus Therapeutics)、KIN-1 (Karus Therapeutics)、KT 5720 (CAS番号: 108068-98-0)、ミルテホシン、MK-2206 二塩酸塩 (CAS番号: 1032350-13-2)、ML-9 (CAS番号: 105637-50-1)、ナルトリンドール塩酸塩、OXY-111A (NormOxys Inc., Brighton, MA)、ペリホシン、PHT-427 (CAS番号: 1191951-57-1)、Merck KGaA (Merck & Co., Whitehouse Station, NJ) のPI3キナーゼデルタ阻害剤、Genentech (Roche Holdings Inc.) のPI3キナーゼデルタ阻害剤、Incozen (Incozen Therapeutics, Pvt. Ltd., Hyderabad, India) のPI3キナーゼデルタ阻害剤、Incozen (Incozen Therapeutics) のPI3キナーゼデルタ阻害剤2、Roche-4 (Roche Holdings Inc.) のPI3キナーゼ阻害剤、Roche (Roche Holdings Inc.) のPI3キナーゼ阻害剤、Roche-5 (Roche Holdings Inc.) のPI3キナーゼ阻害剤、Pathway Therapeutics (Pathway Therapeutics Ltd., South San Francisco, CA) のPI3-アルファ/デルタ阻害剤、Cellzome (Cellzome AG, Heidelberg, Germany) のPI3-デルタ阻害剤、Intellikine (Intellikine Inc., La Jolla, CA) のPI3-デルタ阻害剤、Pathway Therapeutics-1 (Pathway Therapeutics Ltd.) のPI3-デルタ阻害剤、Pathway Therapeutics-2 (Pathway Therapeutics Ltd.) のPI3-デルタ阻害剤、Cellzome (Cellzome AG) のPI3-デルタ/ガンマ阻害剤、Cellzome (Cellzome AG) のPI3-デルタ/ガンマ阻害剤、Intellikine (Intellikine Inc.) のPI3-デルタ/ガンマ阻害剤、Intellikine (Intellikine Inc.) のPI3-デルタ/ガンマ阻害剤、Pathway Therapeutics (Pathway Therapeutics Ltd.) のPI3-デルタ/ガンマ阻害剤、Pathway Therapeutics (Pathway Therapeutics Ltd.) のPI3-デルタ/ガンマ阻害剤、Evotec (Evotec) のPI3-ガンマ阻害剤、Cellzome (Cellzome AG) のPI3-ガンマ阻害剤、Pathway Therapeutics (Pathway Therapeutics Ltd.) のPI3-ガンマ阻害剤、Intellikine-1 (Intellikine Inc.) のPI3Kデルタ/ガンマ阻害剤、Intellikine-1 (Intellikine Inc.) のPI3Kデルタ/ガンマ阻害剤、ピクチリシブ (Roche Holdings Inc.)、PIK-90 (CAS番号: 677338-12-4)、SC-103980 (Pfizer, New York, NY)、SF-1126 (Semafore Pharmaceuticals, Indianapolis, IN)、SH-5、SH-6、テトラヒドロクルクミン、TG100-115 (Targegen Inc., San Diego, CA)、トリシリピン、X-339 (Xcovery, West Palm Beach, FL)、XL-499 (Evotech, Hamburg, Germany)、薬学的に許容されるこれらの塩、およびこれらの組合せからなる群から選択される、請求項39に記載のキット。

【請求項41】

10

20

30

40

50

前記第1および第2の抗がん剤の投与により、どちらの抗がん剤単独の投与と比較しても相乗作用がもたらされる、請求項29に記載のキット。

【請求項42】

がんを処置または改善することを必要とする被験体におけるがんを処置または改善するための医薬組合せ物であって、薬学的に許容される希釈剤または担体と、有効量の(i) BVD-523または薬学的に許容されるその塩である第1の抗がん剤、および(ii) CDK阻害剤である第2の抗がん剤とを含み、該第1および第2の抗がん剤の投与により、どちらの抗がん剤単独の投与と比較しても相乗作用がもたらされ、該CDK阻害剤が、パルボシクリブ、LEE-011、薬学的に許容されるこれらの塩、およびこれらの組合せからなる群から選択される、医薬組合せ物。

10

【請求項43】

前記被験体が、哺乳動物である、請求項42に記載の医薬組合せ物。

【請求項44】

前記哺乳動物が、ヒト、霊長動物、農場動物、および家庭動物からなる群から選択される、請求項43に記載の医薬組合せ物。

【請求項45】

前記哺乳動物が、ヒトである、請求項43に記載の医薬組合せ物。

【請求項46】

前記CDK阻害剤が、LEE-011 (Astex Pharmaceuticals)、薬学的に許容されるその塩、およびその組合せからなる群から選択される、請求項4

20

【請求項47】

前記CDK阻害剤が、パルボシクリブ、薬学的に許容されるその塩、およびその組合せからなる群から選択される、請求項42に記載の医薬組合せ物。

【請求項48】

がんを有する前記被験体が体細胞NRAS変異を有する、請求項42に記載の医薬組合せ物。

【請求項49】

前記がんが、神経芽細胞腫、白血病、リンパ腫、肝臓がん、肺がん、皮膚がん、精巣がん、および甲状腺がんからなる群から選択される、請求項42に記載の医薬組合せ物。

30

【請求項50】

前記がんが、黒色腫である、請求項42に記載の医薬組合せ物。

【請求項51】

抗体またはその断片、細胞傷害剤、毒素、放射性核種、免疫調節剤、光活性治療剤、放射線増感剤、ホルモン、抗血管新生剤、およびこれらの組合せからなる群から選択される少なくとも1つのさらなる治療剤をさらに含む、請求項42に記載の医薬組合せ物。

【請求項52】

前記さらなる治療剤が、PI3K/Akt経路の阻害剤である、請求項51に記載の医薬組合せ物。

【請求項53】

前記PI3K/Akt経路の前記阻害剤が、A-674563 (CAS番号: 552325-73-2)、AGL 2263、AMG-319 (Amgen, Thousand Oaks, CA)、AS-041164 (5-ベンゾ[1,3]ジオキソール-5-イルメチレン-チアゾリジン-2,4-ジオン)、AS-604850 (5-(2,2-ジフルオロ-ベンゾ[1,3]ジオキソール-5-イルメチレン)-チアゾリジン-2,4-ジオン)、AS-605240 (5-キノキシリン-6-メチレン-1,3-チアゾリジン-2,4-ジオン)、AT7867 (CAS番号: 857531-00-1)、Genentech (Roche Holdings Inc., South San Francisco, CA)のベンズイミダゾールシリーズ、BML-257 (CAS番号: 32387-96-5)、CAL-120 (Gilead Sciences, Fost

40

50

er City, CA)、CAL - 129 (Gilead Sciences)、CAL - 130 (Gilead Sciences)、CAL - 253 (Gilead Sciences)、CAS番号: 612847 - 09 - 3、CAS番号: 681281 - 88 - 9、CAS番号: 75747 - 14 - 7、CAS番号: 925681 - 41 - 0、CAS番号: 98510 - 80 - 6、CCT128930 (CAS番号: 885499 - 61 - 6)、CH5132799 (CAS番号: 1007207 - 67 - 1)、CHR - 4432 (Chroma Therapeutics, Ltd., Abingdon, UK)、FPA 124 (CAS番号: 902779 - 59 - 3)、GS - 1101 (CAL - 101) (Gilead Sciences)、GSK 690693 (CAS番号: 937174 - 76 - 0)、H - 89 (CAS番号: 127243 - 85 - 0)、ホノキオール、IC87114 (Gilead Science)、IPI - 145 (Intellikine Inc.)、KAR - 4139 (Karus Therapeutics, Chilworth, UK)、KAR - 4141 (Karus Therapeutics)、KIN - 1 (Karus Therapeutics)、KT 5720 (CAS番号: 108068 - 98 - 0)、ミルテホシン、MK - 2206 二塩酸塩 (CAS番号: 1032350 - 13 - 2)、ML - 9 (CAS番号: 105637 - 50 - 1)、ナルトリンドール塩酸塩、OXY - 111A (NormOxys Inc., Brighton, MA)、ペリホシン、PHT - 427 (CAS番号: 1191951 - 57 - 1)、Merck KGaA (Merck & Co., Whitehouse Station, NJ) のPI3キナーゼ
10
デルタ阻害剤、Genentech (Roche Holdings Inc.) のPI3キナーゼデルタ阻害剤、Incozen (Incozen Therapeutics, Pvt. Ltd., Hyderabad, India) のPI3キナーゼデルタ阻害剤、Incozen (Incozen Therapeutics) のPI3キナーゼデルタ阻害剤2、Roche - 4 (Roche Holdings Inc.) のPI3キナーゼ阻害剤、Roche (Roche Holdings Inc.) のPI3キナーゼ阻害剤、Roche - 5 (Roche Holdings Inc.) のPI3キナーゼ阻害剤、Pathway Therapeutics (Pathway Therapeutics Ltd., South San Francisco, CA) のPI3 - アル
20
ファ/デルタ阻害剤、Cellzome (Cellzome AG, Heidelberg, Germany) のPI3 - デルタ阻害剤、Intellikine (Intellikine Inc., La Jolla, CA) のPI3 - デルタ阻害剤、Pathway Therapeutics - 1 (Pathway Therapeutics Ltd.) のPI3 - デルタ阻害剤、Pathway Therapeutics - 2 (Pathway Therapeutics Ltd.) のPI3 - デルタ阻害剤、Cellzome (Cellzome AG) のPI3 - デルタ/ガンマ阻害剤、Cellzome (Cellzome AG) のPI3 - デルタ/ガンマ阻害剤、Intellikine (Intellikine Inc.) のPI3 - デルタ/ガンマ阻害剤、Intellikine (Intellikine Inc.) のPI3 - デルタ/ガンマ阻害剤、Pathway Therapeutics (Pathway Therapeutics Ltd.) のPI3 - デルタ/ガンマ阻害剤、Pathway Therapeutics (Pathway Therapeutics Ltd.) のPI3 - デルタ/
30
ガンマ阻害剤、Evotec (Evotec) のPI3 - ガンマ阻害剤、Cellzome (Cellzome AG) のPI3 - ガンマ阻害剤、Pathway Therapeutics (Pathway Therapeutics Ltd.) のPI3 - ガンマ阻害剤、Intellikine - 1 (Intellikine Inc.) のPI3 Kデルタ/ガンマ阻害剤、Intellikine - 1 (Intellikine Inc.) のPI3Kデルタ/ガンマ阻害剤、ピクチリシブ (Roche Holdings Inc.)、PIK - 90 (CAS番号: 677338 - 12 - 4)、SC - 1039
40
80 (Pfizer, New York, NY)、SF - 1126 (Semafore
50

Pharmaceuticals, Indianapolis, IN)、SH-5、SH-6、テトラヒドロクルクミン、TG100-115 (Targegen Inc., San Diego, CA)、トリシリピン、X-339 (Xcovery, West Palm Beach, FL)、XL-499 (Evotec, Hamburg, Germany)、薬学的に許容されるこれらの塩、およびこれらの組合せからなる群から選択される、請求項52に記載の医薬組合せ物。

【請求項54】

両方の抗がん剤を含む単位剤形である、請求項42に記載の医薬組合せ物。

【請求項55】

前記第1の抗がん剤が、第1の単位剤形であり、前記第2の抗がん剤が、該第1とは別個の第2の単位剤形である、請求項42に記載の医薬組合せ物。

10

【請求項56】

前記第1および第2の抗がん剤が、前記被験体へと共投与されることを特徴とする、請求項42に記載の医薬組合せ物。

【請求項57】

前記第1および第2の抗がん剤が、前記被験体へと逐次的に投与されることを特徴とする、請求項42に記載の医薬組合せ物。

【請求項58】

前記第1の抗がん剤が、前記第2の抗がん剤の前に前記被験体へと投与されることを特徴とする、請求項57に記載の医薬組合せ物。

20

【請求項59】

前記第2の抗がん剤が、前記第1の抗がん剤の前に前記被験体へと投与されることを特徴とする、請求項57に記載の医薬組合せ物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の引用

本願は、2013年12月20日に提出した米国特許出願第61/919,597号の利益を主張する。この出願は、その全体が本明細書中に参考として援用される。

【0002】

30

本発明はとりわけ、BVD-523または薬学的に許容されるその塩である第1の抗がん剤、およびサイクリン依存性キナーゼ(CDK)阻害剤または薬学的に許容されるその塩である第2の抗がん剤を使用して、被験体におけるがんの作用を処置または改善するための方法、医薬組成物、およびキットを提供する。

【0003】

参照による配列表の組込み

本出願は、2014年12月18日に作成された、ファイルサイズ48.4KBの「0375605.txt」という配列表テキストファイルとして、本明細書と同時に提出された、アミノ酸配列および/または核酸配列に対する言及を含有する。前述の配列表は、37 C.F.R. § 1.52(e)(5)に従い、参照によりその全体において本明細書に組み込まれる。

40

【背景技術】

【0004】

細胞シグナル伝達ネットワーク内では、RASおよびRAFは、細胞成長、増殖、分化、炎症性応答、およびプログラム細胞死を含む、多様な生物学的過程の調節において、重要な役割を果たす。とりわけ、RAS遺伝子内の変異は、ヒトがんにおいて同定された最初の遺伝子変化であった。HRAS、NRAS、およびKRAS(「RAS」)のほか、BRAFRの活性化変異は、複数種類のがんにおいて高頻度に見出される。

【0005】

現在のところ、RASおよび/またはRAFの1または複数の変異が存在するがんを患

50

う患者のための、効果的で長期にわたる処置選択肢の開発における進行は遅々としている。例えば、薬物耐性は、現在使用されている、多くの現行のMAPK阻害剤についての一般的な問題である。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

前出の観点では、とりわけ、RASおよびRAFがそのメンバーであるMAPKシグナル伝達経路と関連する悪性腫瘍を処置するための新たな方法が必要とされている。本出願は、これらの必要および他の必要を満たすことを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明の一実施形態は、それを必要とする被験体におけるがんの作用を処置または改善する方法である。方法は、被験体へと、有効量の(i)BVD-523または薬学的に許容されるその塩である第1の抗がん剤、および(ii)CDK阻害剤または薬学的に許容されるその塩である第2の抗がん剤を投与して、がんの作用を処置または改善するステップを含む。

【0008】

本発明の別の実施形態は、がんの作用を処置または改善することを必要とする被験体におけるがんの作用を処置または改善する方法である。この方法は、該被験体へと、有効量の(i)BVD-523または薬学的に許容されるその塩である第1の抗がん剤、および(ii)ジナシクリブ、パルボシクリブおよび薬学的に許容されるその塩からなる群より選択される第2の抗がん剤を投与して、該がんの作用を処置または改善するステップを含む。

【0009】

本発明の追加の実施形態は、がん細胞死をもたらす方法である。この方法は、該がん細胞を、有効量の(i)BVD-523または薬学的に許容されるその塩である第1の抗がん剤、および(ii)CDK阻害剤または薬学的に許容されるその塩である第2の抗がん剤と接触させるステップを含む。

【0010】

本発明の追加の実施形態は、がんの作用を処置または改善することを必要とする被験体におけるがんの作用を処置または改善するためのキットである。このキットは、有効量の(i)BVD-523または薬学的に許容されるその塩である第1の抗がん剤、および(ii)CDK阻害剤または薬学的に許容されるその塩である第2の抗がん剤を、それらの使用のための指示と一緒にパッケージングされて、含む。

【0011】

本発明の別の実施形態は、がんの作用を処置または改善することを必要とする被験体におけるがんの作用を処置または改善するための医薬組成物である。この医薬組成物は、薬学的に許容される希釈剤または担体と、有効量の(i)BVD-523または薬学的に許容されるその塩である第1の抗がん剤、および(ii)CDK阻害剤または薬学的に許容されるその塩である第2の抗がん剤とを含み、該第1および第2の抗がん剤の投与により、どちらの抗がん剤単独の投与と比較しても相乗作用をもたらす。

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図1】図1は、*in vitro*における、短期および長期にわたるBVD-523による処置後において、直接的なERK基質のリン酸化および公知のエフェクター経路のいずれもがモジュレートされることを示す図である。ウェスタンブロットは、BVD-523へと曝露されたがん株の全細胞溶解物中の変化を検出する様々な抗体を使用して実施した。A375 BRAF変異細胞株(ヒト黒色腫細胞株)およびHCT116 KRAS変異細胞株(ヒト結腸直腸癌細胞株)では、マイクロモル濃度のBVD-523による処置の4時間後に、RSK1タンパク質内およびRSK2タンパク質内のERK依存性残基

10

20

30

40

50

(T 3 5 9 / S 3 6 3) のリン酸化が低減された。処置の 2 4 時間後、 B R A F 変異細胞株では、直接的な基質阻害が維持され、 M A P K フィードバックホスファターゼである D U S P 6 が大幅に低減されたことから、持続性でほぼ完全な M A P K 経路阻害が示唆された。最後に、 M A P K エフェクターおよび G 1 / S 細胞周期の決定因子であるサイクリン D 1 遺伝子が、処置の 2 4 時間後に大幅に低減されたことは、複数の細胞株バックグラウンドにわたる B V D - 5 2 3 の細胞増殖抑制作用と符合する。 A 3 7 5 細胞株では、長期にわたる処置後において、アポトーシスエフェクターおよび E R K 基質である B i m - E L が増大したが、アポトーシスの増大が観察されなかったことは、 P A R P 切断の欠如のほか、 B V D - 5 2 3 が細胞死を誘導する能力には、さらなる因子も影響を及ぼすという他の観察（示さない）とも符合する。

10

【 0 0 1 3 】

【図 2 A】図 2 は、 C e l l T i t e r - G l o 試薬または H o e c h s t 染色のいずれかにより評価される単剤増殖アッセイの結果を示す図である。増殖結果を、 B V D - 5 2 3 (図 2 A および図 2 B)、 S C H 7 7 2 9 8 4 (図 2 C および図 2 D)、トラメチニブ (図 2 E および図 2 F)、パルボシクリブ (図 2 G および図 2 H)、 L E E - 0 1 1 (図 2 I および図 2 J)、およびパクリタキセル (図 2 K および図 2 L) による処置について示す。

【図 2 B】図 2 は、 C e l l T i t e r - G l o 試薬または H o e c h s t 染色のいずれかにより評価される単剤増殖アッセイの結果を示す図である。増殖結果を、 B V D - 5 2 3 (図 2 A および図 2 B)、 S C H 7 7 2 9 8 4 (図 2 C および図 2 D)、トラメチニブ (図 2 E および図 2 F)、パルボシクリブ (図 2 G および図 2 H)、 L E E - 0 1 1 (図 2 I および図 2 J)、およびパクリタキセル (図 2 K および図 2 L) による処置について示す。

20

【図 2 C】図 2 は、 C e l l T i t e r - G l o 試薬または H o e c h s t 染色のいずれかにより評価される単剤増殖アッセイの結果を示す図である。増殖結果を、 B V D - 5 2 3 (図 2 A および図 2 B)、 S C H 7 7 2 9 8 4 (図 2 C および図 2 D)、トラメチニブ (図 2 E および図 2 F)、パルボシクリブ (図 2 G および図 2 H)、 L E E - 0 1 1 (図 2 I および図 2 J)、およびパクリタキセル (図 2 K および図 2 L) による処置について示す。

【図 2 D】図 2 は、 C e l l T i t e r - G l o 試薬または H o e c h s t 染色のいずれかにより評価される単剤増殖アッセイの結果を示す図である。増殖結果を、 B V D - 5 2 3 (図 2 A および図 2 B)、 S C H 7 7 2 9 8 4 (図 2 C および図 2 D)、トラメチニブ (図 2 E および図 2 F)、パルボシクリブ (図 2 G および図 2 H)、 L E E - 0 1 1 (図 2 I および図 2 J)、およびパクリタキセル (図 2 K および図 2 L) による処置について示す。

30

【図 2 E】図 2 は、 C e l l T i t e r - G l o 試薬または H o e c h s t 染色のいずれかにより評価される単剤増殖アッセイの結果を示す図である。増殖結果を、 B V D - 5 2 3 (図 2 A および図 2 B)、 S C H 7 7 2 9 8 4 (図 2 C および図 2 D)、トラメチニブ (図 2 E および図 2 F)、パルボシクリブ (図 2 G および図 2 H)、 L E E - 0 1 1 (図 2 I および図 2 J)、およびパクリタキセル (図 2 K および図 2 L) による処置について示す。

40

【図 2 F】図 2 は、 C e l l T i t e r - G l o 試薬または H o e c h s t 染色のいずれかにより評価される単剤増殖アッセイの結果を示す図である。増殖結果を、 B V D - 5 2 3 (図 2 A および図 2 B)、 S C H 7 7 2 9 8 4 (図 2 C および図 2 D)、トラメチニブ (図 2 E および図 2 F)、パルボシクリブ (図 2 G および図 2 H)、 L E E - 0 1 1 (図 2 I および図 2 J)、およびパクリタキセル (図 2 K および図 2 L) による処置について示す。

【図 2 G】図 2 は、 C e l l T i t e r - G l o 試薬または H o e c h s t 染色のいずれかにより評価される単剤増殖アッセイの結果を示す図である。増殖結果を、 B V D - 5 2 3 (図 2 A および図 2 B)、 S C H 7 7 2 9 8 4 (図 2 C および図 2 D)、トラメチニブ

50

(図2Eおよび図2F)、パルボシクリブ(図2Gおよび図2H)、LEE-011(図2Iおよび図2J)、およびパクリタキセル(図2Kおよび図2L)による処置について示す。

【図2H】図2は、CellTiter-Glo試薬またはHoechst染色のいずれかにより評価される単剤増殖アッセイの結果を示す図である。増殖結果を、BVD-523(図2Aおよび図2B)、SCH772984(図2Cおよび図2D)、トラメチニブ(図2Eおよび図2F)、パルボシクリブ(図2Gおよび図2H)、LEE-011(図2Iおよび図2J)、およびパクリタキセル(図2Kおよび図2L)による処置について示す。

【図2I】図2は、CellTiter-Glo試薬またはHoechst染色のいずれかにより評価される単剤増殖アッセイの結果を示す図である。増殖結果を、BVD-523(図2Aおよび図2B)、SCH772984(図2Cおよび図2D)、トラメチニブ(図2Eおよび図2F)、パルボシクリブ(図2Gおよび図2H)、LEE-011(図2Iおよび図2J)、およびパクリタキセル(図2Kおよび図2L)による処置について示す。

10

【図2J】図2は、CellTiter-Glo試薬またはHoechst染色のいずれかにより評価される単剤増殖アッセイの結果を示す図である。増殖結果を、BVD-523(図2Aおよび図2B)、SCH772984(図2Cおよび図2D)、トラメチニブ(図2Eおよび図2F)、パルボシクリブ(図2Gおよび図2H)、LEE-011(図2Iおよび図2J)、およびパクリタキセル(図2Kおよび図2L)による処置について示す。

20

【図2K】図2は、CellTiter-Glo試薬またはHoechst染色のいずれかにより評価される単剤増殖アッセイの結果を示す図である。増殖結果を、BVD-523(図2Aおよび図2B)、SCH772984(図2Cおよび図2D)、トラメチニブ(図2Eおよび図2F)、パルボシクリブ(図2Gおよび図2H)、LEE-011(図2Iおよび図2J)、およびパクリタキセル(図2Kおよび図2L)による処置について示す。

【図2L】図2は、CellTiter-Glo試薬またはHoechst染色のいずれかにより評価される単剤増殖アッセイの結果を示す図である。増殖結果を、BVD-523(図2Aおよび図2B)、SCH772984(図2Cおよび図2D)、トラメチニブ(図2Eおよび図2F)、パルボシクリブ(図2Gおよび図2H)、LEE-011(図2Iおよび図2J)、およびパクリタキセル(図2Kおよび図2L)による処置について示す。

30

【0014】

【図3A-C】図3は、BVD-523とパルボシクリブとの組合せの結果を示す図である。図3Aは、A549細胞における組合せについての阻害(%)を示す用量行列を示す。図3B~図3Cは、3Aにおける組合せについての単剤増殖アッセイの結果を示す図である。図3Dは、3Aにおける組合せについてのローウィ過剰(Loewe excess)を示す図であり、図3Eは、3Aにおける組合せについてのブリス過剰(Bliss excess)を示す図である。図3Fは、H2122細胞における組合せについての阻害(%)を示す用量行列を示す。図3G~図3Hは、3Fにおける組合せについての単剤増殖アッセイの結果を示す図である。図3Iは、3Fにおける組合せについてのローウィ過剰を示す図であり、図3Jは、3Fにおける組合せについてのブリス過剰を示す図である。図3Kは、H1437細胞における組合せについての阻害(%)を示す用量行列を示す。図3L~図3Mは、3Kにおける組合せについての単剤増殖アッセイの結果を示す図である。図3Nは、3Kにおける組合せについてのローウィ過剰を示す図であり、図3Oは、3Kにおける組合せについてのブリス過剰を示す図である。図3Pは、H226細胞における組合せについての阻害(%)を示す用量行列を示す。図3Q~図3Rは、3Pにおける組合せについての単剤増殖アッセイの結果を示す図である。図3Sは、3Pにおける組合せについてのローウィ過剰を示す図であり、図3Tは、3Pにおける組合せについてのブリス過剰を示す

40

50

ての単剤増殖アッセイの結果を示す図である。図 3 S は、3 P における組合せについてのローウィ過剰を示す図であり、図 3 T は、3 P における組合せについてのブリス過剰を示す図である。

【図 3 S - T】図 3 は、BVD - 5 2 3 とパルボシクリブとの組合せの結果を示す図である。図 3 A は、A 5 4 9 細胞における組合せについての阻害 (%) を示す用量行列を示す。図 3 B ~ 図 3 C は、3 A における組合せについての単剤増殖アッセイの結果を示す図である。図 3 D は、3 A における組合せについてのローウィ過剰 (Loewe excess) を示す図であり、図 3 E は、3 A における組合せについてのブリス過剰 (Bliss excess) を示す図である。図 3 F は、H 2 1 2 2 細胞における組合せについての阻害 (%) を示す用量行列を示す。図 3 G ~ 図 3 H は、3 F における組合せについての単剤増殖アッセイの結果を示す図である。図 3 I は、3 F における組合せについてのローウィ過剰を示す図であり、図 3 J は、3 F における組合せについてのブリス過剰を示す図である。図 3 K は、H 1 4 3 7 細胞における組合せについての阻害 (%) を示す用量行列を示す。図 3 L ~ 図 3 M は、3 K における組合せについての単剤増殖アッセイの結果を示す図である。図 3 N は、3 K における組合せについてのローウィ過剰を示す図であり、図 3 O は、3 K における組合せについてのブリス過剰を示す図である。図 3 P は、H 2 2 6 細胞における組合せについての阻害 (%) を示す用量行列を示す。図 3 Q ~ 図 3 R は、3 P における組合せについての単剤増殖アッセイの結果を示す図である。図 3 S は、3 P における組合せについてのローウィ過剰を示す図であり、図 3 T は、3 P における組合せについてのブリス過剰を示す図である。

10

20

【0 0 1 5】

【図 4 A - C】図 4 は、BVD - 5 2 3 と LEE - 0 1 1 との組合せの結果を示す図である。図 4 A は、A 5 4 9 細胞における組合せについての阻害 (%) を示す用量行列を示す。図 4 B ~ 図 4 C は、4 A における組合せについての単剤増殖アッセイの結果を示す図である。図 4 D は、4 A における組合せについてのローウィ過剰を示す図であり、図 4 E は、4 A における組合せについてのブリス過剰を示す図である。図 4 F は、H 2 1 2 2 細胞における組合せについての阻害 (%) を示す用量行列を示す。図 4 G ~ 図 4 H は、4 F における組合せについての単剤増殖アッセイの結果を示す図である。図 4 I は、4 F における組合せについてのローウィ過剰を示す図であり、図 4 J は、4 F における組合せについてのブリス過剰を示す図である。図 4 K は、H 1 4 3 7 細胞における組合せについての阻害 (%) を示す用量行列を示す。図 4 L ~ 図 4 M は、4 K における組合せについての単剤増殖アッセイの結果を示す図である。図 4 N は、4 K における組合せについてのローウィ過剰を示す図であり、図 4 O は、4 K における組合せについてのブリス過剰を示す図である。図 4 P は、H 2 2 6 細胞における組合せについての阻害 (%) を示す用量行列を示す。図 4 Q ~ 図 4 R は、4 P における組合せについての単剤増殖アッセイの結果を示す図である。図 4 S は、4 P における組合せについてのローウィ過剰を示す図であり、図 4 T は、4 P における組合せについてのブリス過剰を示す図である。

30

【図 4 D - E】図 4 は、BVD - 5 2 3 と LEE - 0 1 1 との組合せの結果を示す図である。図 4 A は、A 5 4 9 細胞における組合せについての阻害 (%) を示す用量行列を示す。図 4 B ~ 図 4 C は、4 A における組合せについての単剤増殖アッセイの結果を示す図である。図 4 D は、4 A における組合せについてのローウィ過剰を示す図であり、図 4 E は、4 A における組合せについてのブリス過剰を示す図である。図 4 F は、H 2 1 2 2 細胞における組合せについての阻害 (%) を示す用量行列を示す。図 4 G ~ 図 4 H は、4 F における組合せについての単剤増殖アッセイの結果を示す図である。図 4 I は、4 F における組合せについてのローウィ過剰を示す図であり、図 4 J は、4 F における組合せについてのブリス過剰を示す図である。図 4 K は、H 1 4 3 7 細胞における組合せについての阻害 (%) を示す用量行列を示す。図 4 L ~ 図 4 M は、4 K における組合せについての単剤増殖アッセイの結果を示す図である。図 4 N は、4 K における組合せについてのローウィ過剰を示す図であり、図 4 O は、4 K における組合せについてのブリス過剰を示す図である。図 4 P は、H 2 2 6 細胞における組合せについての阻害 (%) を示す用量行列を示す

40

50

。図7Pは、H226細胞における組合せについての阻害(%)を示す用量行列を示す。
 図7Q~図7Rは、7Pにおける組合せについての単剤増殖アッセイの結果を示す図である。
 図7Sは、7Pにおける組合せについてのローウィ過剰を示す図であり、図7Tは、
 7Pにおける組合せについてのプリス過剰を示す図である。

【図7P-R】図7は、トラメチニブとパルボシクリブとの組合せの結果を示す図である。
 図7Aは、A549細胞における組合せについての阻害(%)を示す用量行列を示す。
 図7B~図7Cは、7Aにおける組合せについての単剤増殖アッセイの結果を示す図である。
 図7Dは、7Aにおける組合せについてのローウィ過剰を示す図であり、図7Eは、
 7Aにおける組合せについてのプリス過剰を示す図である。図7Fは、H2122細胞に
 10 における組合せについての阻害(%)を示す用量行列を示す。図7G~図7Hは、7Fにお
 ける組合せについての単剤増殖アッセイの結果を示す図である。図7Iは、7Fにお
 ける組合せについてのローウィ過剰を示す図であり、図7Jは、7Fにおける組合せにつ
 いてのプリス過剰を示す図である。図7Kは、H1437細胞における組合せについての阻害
 (%)を示す用量行列を示す。図7L~図7Mは、7Kにおける組合せについての単剤増
 殖アッセイの結果を示す図である。図7Nは、7Kにおける組合せについてのローウィ過
 剰を示す図であり、図7Oは、7Kにおける組合せについてのプリス過剰を示す図である。
 図7Pは、H226細胞における組合せについての阻害(%)を示す用量行列を示す。
 図7Q~図7Rは、7Pにおける組合せについての単剤増殖アッセイの結果を示す図であ
 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100

る。図7Sは、7Pにおける組合せについてのローウィ過剰を示す図であり、図7Tは、
 7Pにおける組合せについてのプリス過剰を示す図である。
 【図7S-T】図7は、トラメチニブとパルボシクリブとの組合せの結果を示す図である。
 図7Aは、A549細胞における組合せについての阻害(%)を示す用量行列を示す。
 図7B~図7Cは、7Aにおける組合せについての単剤増殖アッセイの結果を示す図であ
 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100

る。図7Dは、7Aにおける組合せについてのローウィ過剰を示す図であり、図7Eは、
 7Aにおける組合せについてのプリス過剰を示す図である。図7Fは、H2122細胞に
 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100

。図8Pは、H226細胞における組合せについての阻害(%)を示す用量行列を示す。

。図 8 A は、A 5 4 9 細胞における組合せについての阻害 (%) を示す用量行列を示す。図 8 B ~ 図 8 C は、8 A における組合せについての単剤増殖アッセイの結果を示す図である。図 8 D は、8 A における組合せについてのローウィ過剰を示す図であり、図 8 E は、8 A における組合せについてのプリス過剰を示す図である。図 8 F は、H 2 1 2 2 細胞における組合せについての阻害 (%) を示す用量行列を示す。図 8 G ~ 図 8 H は、8 F における組合せについての単剤増殖アッセイの結果を示す図である。図 8 I は、8 F における組合せについてのローウィ過剰を示す図であり、図 8 J は、8 F における組合せについてのプリス過剰を示す図である。図 8 K は、H 1 4 3 7 細胞における組合せについての阻害 (%) を示す用量行列を示す。図 8 L ~ 図 8 M は、8 K における組合せについての単剤増殖アッセイの結果を示す図である。図 8 N は、8 K における組合せについてのローウィ過剰を示す図であり、図 8 O は、8 K における組合せについてのプリス過剰を示す図である。図 8 P は、H 2 2 6 細胞における組合せについての阻害 (%) を示す用量行列を示す。図 8 Q ~ 図 8 R は、8 P における組合せについての単剤増殖アッセイの結果を示す図である。図 8 S は、8 P における組合せについてのローウィ過剰を示す図であり、図 8 T は、8 P における組合せについてのプリス過剰を示す図である。

10

【 0 0 2 0 】

【図 9 A】図 9 A は、C D K 阻害剤と E R K 阻害剤との組合せについてのローウィ体積を示す図である。図 9 B は、C D K 阻害剤と E R K 阻害剤との組合せについてのプリス体積を示す図である。図 9 C は、C D K 阻害剤と E R K 阻害剤との組合せについての相乗性スコアを示す図である。

20

【図 9 B】図 9 A は、C D K 阻害剤と E R K 阻害剤との組合せについてのローウィ体積を示す図である。図 9 B は、C D K 阻害剤と E R K 阻害剤との組合せについてのプリス体積を示す図である。図 9 C は、C D K 阻害剤と E R K 阻害剤との組合せについての相乗性スコアを示す図である。

【図 9 C】図 9 A は、C D K 阻害剤と E R K 阻害剤との組合せについてのローウィ体積を示す図である。図 9 B は、C D K 阻害剤と E R K 阻害剤との組合せについてのプリス体積を示す図である。図 9 C は、C D K 阻害剤と E R K 阻害剤との組合せについての相乗性スコアを示す図である。

【 0 0 2 1 】

【図 1 0 A - C】図 1 0 は、B V D - 5 2 3 と S C H 7 7 2 9 8 4 との組合せの結果を示す図である。図 1 0 A は、A 3 7 5 細胞における組合せについての阻害 (%) を示す用量行列を示す。図 1 0 B ~ 図 1 0 C は、1 0 A における組合せについての単剤増殖アッセイの結果を示す図である。図 1 0 D は、1 0 A における組合せについてのローウィ過剰を示す図であり、図 1 0 E は、1 0 A における組合せについてのプリス過剰を示す図である。

30

【図 1 0 D - E】図 1 0 は、B V D - 5 2 3 と S C H 7 7 2 9 8 4 との組合せの結果を示す図である。図 1 0 A は、A 3 7 5 細胞における組合せについての阻害 (%) を示す用量行列を示す。図 1 0 B ~ 図 1 0 C は、1 0 A における組合せについての単剤増殖アッセイの結果を示す図である。図 1 0 D は、1 0 A における組合せについてのローウィ過剰を示す図であり、図 1 0 E は、1 0 A における組合せについてのプリス過剰を示す図である。

【 発明を実施するための形態 】

40

【 0 0 2 2 】

発明の詳細な説明

本発明の一実施形態は、それを必要とする被験体におけるがんの作用を処置または改善する方法である。方法は、被験体へと、有効量の (i) B V D - 5 2 3 または薬学的に許容されるその塩である第 1 の抗がん剤、および (i i) C D K 阻害剤または薬学的に許容されるその塩である第 2 の抗がん剤を投与して、がんの作用を処置または改善するステップを含む。

【 0 0 2 3 】

本明細書で使用される「 ~ を処置する」、「 ~ を処置すること」、「処置」という用語、およびこれらの文法的変化形は、個別の被験体を、その被験体、例えば、患者における

50

生理学的応答または生理学的転帰を得ることが所望される、プロトコール、レジメン、過程、または治療に供することを意味する。特に、本発明の方法および組成物を使用して、疾患症状の発症を緩徐化するか、または疾患もしくは状態の発症を遅延させるか、または疾患発症の進行を止めることができる。しかし、処置されたどの被験体も、特定の処置プロトコール、処置レジメン、処置過程、または処置治療に応答しない場合があるため、処置することは、所望の生理学的応答または生理学的転帰が、各被験体において、かつ、どの被験体においても、または被験体集団、例えば、患者集団においても達成されることを必要としない。したがって、所与の被験体または被験体集団、例えば、患者集団は、処置に応答しない場合もあり、処置への応答が不十分な場合もある。

【 0 0 2 4 】

本明細書で使用される「～を改善する」、「～を改善すること」という用語、およびこれらの文法的変化形は、被験体における疾患の症状の重症度を低下させることを意味する。

【 0 0 2 5 】

本明細書で使用される「被験体」とは、哺乳動物、好ましくは、ヒトである。ヒトに加えて、本発明の範囲内の哺乳動物の類別は、例えば、農場動物、家庭動物、実験動物などを含む。農場動物の一部の例は、ウシ、ブタ、ウマ、ヤギなどを含む。家庭動物の一部の例は、イヌ、ネコなどを含む。実験動物の一部の例は、霊長動物、ラット、マウス、ウサギ、モルモットなどを含む。

【 0 0 2 6 】

がんは、固形がんおよび血液がんの両方を含む。固形がんの非限定的な例は、副腎皮質癌、肛門がん、膀胱がん、骨がん（骨肉腫など）、脳がん、乳がん、カルチノイドがん、癌、子宮頸がん、結腸がん、子宮内膜がん、食道がん、肝臓外胆管がん、がんのユーングファミリー、頭蓋外胚細胞がん、眼がん、胆嚢がん、胃がん、胚細胞腫瘍、妊娠性絨毛腫瘍、頭頸部がん、下咽頭がん、膵島細胞癌、腎臓がん、大腸がん、喉頭がん、白血病、口唇口腔がん、肝臓がん、肺がん、リンパ腫、悪性中皮腫、メルケル細胞癌、菌状息肉腫、骨髄異形成症候群、骨髄増殖性障害、鼻咽頭がん、神経芽細胞腫、口腔がん、口腔咽頭がん、骨肉腫、卵巣上皮がん、卵巣胚細胞がん、膵臓がん、副鼻腔鼻腔がん、副甲状腺がん、陰茎がん、下垂体がん、形質細胞新生物、前立腺がん、横紋筋肉腫、直腸がん、腎細胞がん、腎盂尿路移行上皮がん、唾液腺がん、セザリー症候群、皮膚がん（皮膚T細胞リンパ腫、カボジ肉腫、マスト細胞腫瘍、および黒色腫など）、小腸がん、軟部組織肉腫、胃がん、精巣がん、胸腺腫、甲状腺がん、尿道がん、子宮がん、膣がん、外陰がん、およびウィルムス腫瘍を含む。

【 0 0 2 7 】

血液がんの例は、成人/小児急性リンパ芽球性白血病、成人/小児急性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、および有毛細胞白血病などの白血病、リンパ腫、例えば、AIDS関連リンパ腫、皮膚T細胞リンパ腫、成人/小児ホジキンリンパ腫、菌状息肉腫、成人/小児非ホジキンリンパ腫、原発性中枢神経系リンパ腫、セザリー症候群、皮膚T細胞リンパ腫、およびワルデンシュトロームマクログロブリン血症のほか、慢性骨髄増殖性障害、ランゲルハンス細胞組織球症、多発性骨髄腫/形質細胞新生物、骨髄異形成症候群、および骨髄異形成性/骨髄増殖性新生物など、他の増殖性障害を含むがこれらに限定されない。本発明に従い処置されうるがんの好ましいセットは、神経芽細胞腫、白血病、リンパ腫、肝臓がん、肺がん、皮膚がん、精巣がん、および甲状腺がんを含む。好ましくは、がんは、黒色腫である。

【 0 0 2 8 】

本発明では、BVD - 523とは、ERK1/2阻害剤である。BVD - 523とは、式(I)：

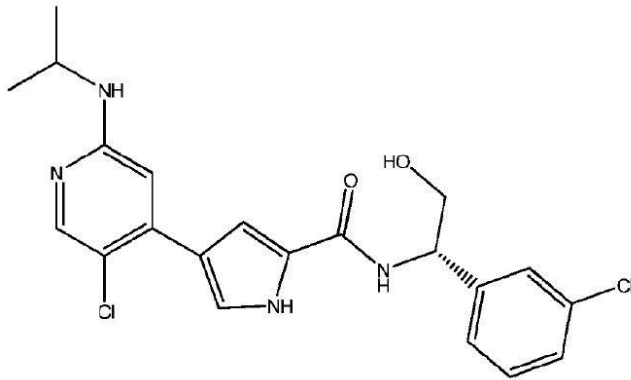
10

20

30

40

【化1】



10

に従う化合物および薬学的に許容されるその塩である。BVD-523は、例えば、米国特許第7,354,939号において開示されている方法に従い合成することができる。BVD-523の作用機構は、とりわけ、固有であり、SCH772984など、ある特定の他のERK1/2阻害剤と顕著に異なると考えられている。例えば、SCH772984が、ERKの自己リン酸化を阻害する(Morrisら、2013年)のに対し、BVD-523は、ERKの自己リン酸化を可能としながら、なおERKを阻害する(例えば、図1を参照されたい)。これは、とりわけ、BVD-523の特性は、例えば、細胞死に実質的に影響を及ぼさずに、細胞増殖を制御することにより、複数のシグナル伝達経路の解離を可能とすると考えられるために重要である。

20

【0029】

本明細書で使用される「CDK」とは、細胞周期を調節するタンパク質キナーゼのファミリーを意味する。公知のCDKは、cdk1、cdk2、cdk3、cdk4、cdk5、cdk6、cdk7、cdk8、cdk9、cdk10、およびcdk11を含む。「CDK阻害剤」とは、(i)例えば、CDKに結合することにより、CDKと直接相互作用し、(ii)CDKの発現またはCDKの活性を低下させる物質を意味する。

【0030】

本発明に従うCDK阻害剤の非限定的な例としては、2-ヒドロキシボヘミン、3-ATA、5-ヨード-インジルピン-3'-モノキシム、9-シアノパウロン、アロイシンA、アルステルパウロン2-シアノエチル、アルボシジブ(Sanofi)、AM-5992(Amgen)、アミノプルバラノールA、アルシリアフラビンA、AT-7519(Astex Pharmaceuticals)、AZD5438(CAS番号:602306-29-6)、BMS-265246(CAS番号:582315-72-8)、BS-181(CAS番号:1092443-52-1)、ブチロラクトンI(CAS番号:87414-49-1)、Cdk/Crk阻害剤(CAS番号:784211-09-2)、Cdk1/5阻害剤(CAS番号:40254-90-8)、Cdk2阻害剤II(CAS番号:222035-13-4)、Cdk2阻害剤IV、NU6140(CAS番号:444723-13-1)、Cdk4阻害剤(CAS番号:546102-60-7)、Cdk4阻害剤III(CAS番号:265312-55-8)、Cdk4/6阻害剤IV(CAS番号:359886-84-3)、Cdk9阻害剤II(CAS番号:140651-18-9)、CGP74514A、CR8、CYC-065(Cyclacel)、ジナシクリブ(Ligand)、(R)-DRF053二塩酸塩(CAS番号:1056016-06-8)、ファスカプリシン、フラボピリドール、ヒグロリジン、インジルピン、LEE-011(Astex Pharmaceuticals)、LY-2835219(Eli Lilly)、ミルシクリブマレイン酸塩(Nerviano Medical Sciences)、MM-D37K(Maxwell Biotech)、N9-イソプロピル-オロモウシン、NSC625987(CAS番号:141992-47-4)、NU2058(CAS番号:161058-83-9)

30

40

50

)、NU6102 (CAS番号：444722-95-6)、オロモウシン、ON-108600 (Onconova)、ON-123300 (Onconova)、オキシインドールI、P-1446-05 (Piramal)、P-276-00 (Piramal)、パルボシクリブ (Pfizer)、PHA-767491 (CAS番号：845714-00-3)、PHA-793887 (CAS番号：718630-59-2)、PHA-848125 (CAS番号：802539-81-7)、プルバラノールA、プルバラノールB、R547 (CAS番号：741713-40-6)、RO-3306 (CAS番号：872573-93-8)、ロスコピチン、SB-1317 (SBIO)、SCH 900776 (CAS番号：891494-63-6)、SEL-120 (Selvita)、セリシクリブ (Cyclacel)、SNS-032 (CAS番号：345627-80-7)、SU9516 (CAS番号：377090-84-1)、WHI-P180 (CAS番号：211555-08-7)、薬学的に許容されるこれらの塩、およびこれらの組合せが挙げられる。好ましくは、CDK阻害剤は、ジナシクリブ、パルボシクリブ、薬学的に許容されるこれらの塩、およびこれらの組合せからなる群から選択される。

10

【0031】

この実施形態の別の態様では、がんを伴う被験体は、RAS、RAF、MEK、およびERKを含む、MAPK経路結節点における体細胞変異を有する。本明細書で使用される「体細胞変異」とは、生殖細胞となるように運命づけられてはいない任意の細胞内で生じる変化を意味する。変異は、置換、欠失、挿入、または融合でありうる。好ましくは、体細胞変異とは、H-RAS、N-RAS、またはK-RASにおける変異である。より好ましくは、がんは、体細胞N-RAS変異を有する。表1は、多様な動物に由来する野生型N-RASの代表的な核酸配列およびアミノ酸配列の配列番号を示す。これらの配列は、変異N-RASの遺伝子型（下記で示される方法などにおいて）を伴う被験体を同定するための方法において使用することができる。

20

【表 1】

表 1 N-RAS の配列

配列番号	ポリペプチド配列または 核酸配列	生物	他の情報
1	核酸	ヒト	
2	ポリペプチド	ヒト	
3	核酸	ラット(Rattus norvegicus)	
4	ポリペプチド	ラット(Rattus norvegicus)	
5	核酸	マウス(Mus musculus)	
6	ポリペプチド	マウス(Mus musculus)	
7	核酸	モルモット(Cavia porcellus)	
8	ポリペプチド	モルモット(Cavia porcellus)	
9	核酸	モルモット(Cavia porcellus)	バリエント X1
10	ポリペプチド	モルモット(Cavia porcellus)	バリエント X1
11	核酸	イヌ(Canis lupus familiaris)	
12	ポリペプチド	イヌ(Canis lupus familiaris)	
13	核酸	ネコ(Felis catus)	
14	ポリペプチド	ネコ(Felis catus)	
15	核酸	ウシ(Bos taurus)	
16	ポリペプチド	ウシ(Bos taurus)	
17	核酸	ニワトリ(Gallus gallus)	
18	ポリペプチド	ニワトリ(Gallus gallus)	

10

20

30

【 0 0 3 2 】

当技術分野では、上記で同定された R A S 遺伝子など、核酸内の変異を同定するための方法が公知である。核酸は、生体試料から得ることができる。本発明では、生体試料は、血液、血漿、尿、皮膚、唾液、および生検を含むがこれらに限定されない。生体試料は、当技術分野で公知の日常的な手順および方法により、被験体から得られる。

【 0 0 3 3 】

変異を同定するための方法の非限定的な例は、P C R、配列決定、ハイブリッド捕捉、溶液中捕捉、分子反転プローブ (molecular inversion probe)、蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (FISH) アッセイ、およびこれらの組合せを含む。

40

【 0 0 3 4 】

当技術分野では、多様な配列決定法が公知である。これらは、サンガーシーケンシング (ジデオキシシーケンシングとも称する)、および、例えば、Metzker、2005 年において開示されている、多様な、合成による配列決定 (sequencing-by-synthesis) (SBS) 法、ハイブリダイゼーションによる配列決定、ライゲーションによる配列決定 (例えば、WO2005021786)、分解による配列決定 (例えば、米国特許第 5,622,824 号および同第 6,140,053 号)、およびナノポアシーケンシング (Oxford Nanopore Technologies、UK から市販されている) を含むがこれらに限定されない。ディープシーケンシング法では、配列決定工程の間、配列内の所与のヌクレオチドを、1 回を超えて読み取る。ディープシーケンシング法は、例えば

50

、米国特許公開第20120264632号および国際特許公開第WO2012125848号において開示されている。

【0035】

変異を検出するためのPCRベースの方法は、当技術分野で公知であり、PCR増幅を援用するが、この場合、試料中の各標的配列は、対応する固有の配列特異的プライマー対を有する。例えば、ポリメラーゼ連鎖反応制限断片長多型(PCR-RFLP)法は、PCRによりゲノム配列を増幅した後における、変異の迅速な検出を可能とする。変異は、特異的な制限エンドヌクレアーゼによる消化を介して弁別され、電気泳動により同定される。例えば、Otaら、2007年を参照されたい。変異はまた、リアルタイムPCRを使用しても検出することができる。例えば、国際出願公開第WO2012046981号を参照されたい。

10

【0036】

ハイブリッド捕捉法は、当技術分野で公知であり、例えば、米国特許公開第20130203632号および米国特許第8,389,219号および同第8,288,520号において開示されている。これらの方法は、標的ゲノム領域の、使用者によりデザインされたオリゴヌクレオチドとの選択的ハイブリダイゼーションに基づく。ハイブリダイゼーションは、高密度マイクロアレイまたは低密度マイクロアレイ上に固定化されたオリゴヌクレオチド(アレイ上捕捉)とのハイブリダイゼーションの場合もあり、その後ビーズなどの固体表面へと固定化されうる、リガンド(例えば、ビオチン)で修飾されたオリゴヌクレオチドとの、液相ハイブリダイゼーション(溶液中捕捉)の場合もある。

20

【0037】

分子反転プローブ(MIP)法は、当技術分野で公知であり、例えば、Absalanら、2008年において開示されている。この方法では、遺伝子型解析のための特殊な「パッドロック」プローブ(Nilssonら、1994年)である、MIP分子を使用する。MIP分子とは、特異的領域、ユニバーサル配列、制限部位、およびタグ(指標)配列(16~22bp)を含有する直鎖状オリゴヌクレオチドである。MIPは、目的の遺伝子マーカー/SNP近傍に直接ハイブリダイズする。MIP法ではまた、ゲノムDNAに並列でハイブリダイズする、いくつかの「パッドロック」プローブセットも使用することができる(Hardenbolら、2003年)。完全なマッチの場合は、配置における逆位(inversion in configuration)を起こし(技法の名称により示唆されるとおり)、環状分子を作製することにより、ゲノムの相同性領域をライゲーションする。第1の制限後に、全ての分子を、ユニバーサルプライマーにより増幅する。単位複製配列に再度制限を施して、マイクロアレイ上のハイブリダイゼーションのための短い断片を確保する。生成した短い断片に、タグ配列を介して標識づけし、アレイ上のcタグ(指標のための相補鎖)へとハイブリダイズさせた。タグ-cタグ二重鎖の形成の後で、シグナルを検出する。

30

【0038】

この実施形態の別の態様では、方法は、被験体へと、がんの作用を処置または改善するのに効果的な少なくとも1つのさらなる治療剤を投与するステップをさらに含む。さらなる治療剤は、抗体またはその断片、細胞傷害剤、毒素、放射性核種、免疫調節剤、光活性治療剤、放射線増感剤、ホルモン、抗血管新生剤、およびこれらの組合せからなる群から選択され得る。

40

【0039】

本明細書で使用される「抗体」は、天然に存在する免疫グロブリンのほか、例えば、単鎖抗体、キメラ抗体(例えば、ヒト化マウス抗体)、およびヘテロコンジュゲート抗体(例えば、二重特異性抗体)を含む、天然に存在しない免疫グロブリンも包含する。抗体の断片は、抗原に結合する断片(例えば、Fab'、F(ab')₂、Fab、Fv、およびrIgG)を含む。例えばまた、Pierce Catalog and Handbook、1994~1995年(Pierce Chemical Co.、Rockford、Ill.) ; Kuby, J.、Immunology、3版、W.H. Freeman & Co.、New York(1998年)も参照されたい。抗体という用語はまた、二価分子または二重特異性分子、ダイアボディ、トリアボディ、およびテトラボディも含

50

む。「抗体」という用語は、ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体の両方もさらに含む。

【0040】

本発明で使用されうる治療用抗体の例は、リツキシマブ (Rituxan)、セツキシマブ (Erbix)、ベバシズマブ (Avastin)、およびイブリツモマブ (Zevalin) を含む。

【0041】

本発明に従う細胞傷害剤は、DNA 損傷剤、代謝拮抗剤、抗微小管剤、抗生剤などを含む。DNA 損傷剤は、アルキル化剤、白金ベースの薬剤、挿入剤、および DNA 複製阻害剤を含む。DNA アルキル化剤の非限定的な例は、シクロホスファミド、メクロレタミン、ウラムスチン、メルファラン、クロラムブシル、イホスファミド、カルムスチン、ロムスチン、ストレプトゾシン、ブスルファン、テモゾロミド、薬学的に許容されるこれらの塩、プロドラッグ、およびこれらの組合せを含む。白金ベースの薬剤の非限定的な例は、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン、ネダプラチン、サトラプラチン、トリプラチン四硝酸塩、薬学的に許容されるこれらの塩、プロドラッグ、およびこれらの組合せを含む。挿入剤の非限定的な例は、ドキシソルピシン、ダウノルピシン、イダルピシン、ミトキサントロン、薬学的に許容されるこれらの塩、プロドラッグ、およびこれらの組合せを含む。DNA 複製阻害剤の非限定的な例は、イリノテカン、トポテカン、アムサクリン、エトポシド、エトポシドリン酸塩、テニポシド、薬学的に許容されるこれらの塩、プロドラッグ、およびこれらの組合せを含む。代謝拮抗剤は、メトトレキサートおよびペメトレキセド (premetrexed) などの葉酸アンタゴニスト、6-メルカプトプリン、ダカルバジン、およびフルダラビンなどのプリンアンタゴニスト、ならびに 5-フルオロウラシル、アラビノシルシトシン、カペシタビン、ゲムシタビン、デシタビンなどのピリミジンアンタゴニスト、薬学的に許容されるこれらの塩、プロドラッグ、およびこれらの組合せを含む。抗微小管薬剤は、限定なしに述べると、ビンカルカロイド、パクリタキセル (Taxol (登録商標))、ドセタキセル (Taxotere (登録商標))、およびイキサベピロン (Ixempria (登録商標)) を含む。抗生剤は、限定なしに述べると、アクチノマイシン、アントラサイクリン、バルルピシン、エピルピシン、プレオマイシン、プリカマイシン、マイトマイシン、薬学的に許容されるこれらの塩、プロドラッグ、およびこれらの組合せを含む。

【0042】

本発明に従う細胞傷害剤はまた、PI3K/Akt 経路の阻害剤も含む。PI3K/Akt 経路の阻害剤の非限定的な例としては、A-674563 (CAS 番号: 552325-73-2)、AGL-2263、AMG-319 (Amgen, Thousand Oaks, CA)、AS-041164 (5-ベンゾ [1,3] ジオキソール-5-イルメチレン-チアゾリジン-2,4-ジオン)、AS-604850 (5-(2,2-ジフルオロ-ベンゾ [1,3] ジオキソール-5-イルメチレン)-チアゾリジン-2,4-ジオン)、AS-605240 (5-キノキシリン-6-メチレン-1,3-チアゾリジン-2,4-ジオン)、AT7867 (CAS 番号: 857531-00-1)、Genentech (Roche Holdings Inc., South San Francisco, CA) のベンズイミダゾールシリーズ、BML-257 (CAS 番号: 32387-96-5)、CAL-120 (Gilead Sciences, Foster City, CA)、CAL-129 (Gilead Sciences)、CAL-130 (Gilead Sciences)、CAL-253 (Gilead Sciences)、CAL-263 (Gilead Sciences)、CAS 番号: 612847-09-3、CAS 番号: 681281-88-9、CAS 番号: 75747-14-7、CAS 番号: 925681-41-0、CAS 番号: 98510-80-6、CT128930 (CAS 番号: 885499-61-6)、CH5132799 (CAS 番号: 1007207-67-1)、CHR-4432 (Chroma Therapeutics, Ltd., Abingdon, UK)、FPA-124 (CAS 番号: 9

10

20

30

40

50

02779-59-3)、GS-1101(CAL-101)(Gilead Sciences)、GSK 690693(CAS番号:937174-76-0)、H-89(CAS番号:127243-85-0)、ホノキオール、IC87114(Gilead Science)、IPI-145(Intellikine Inc.)、KAR-4139(Karus Therapeutics、Chilworth、UK)、KAR-4141(Karus Therapeutics)、KIN-1(Karus Therapeutics)、KT 5720(CAS番号:108068-98-0)、ミルテホシン、MK-2206二塩酸塩(CAS番号:1032350-13-2)、ML-9(CAS番号:105637-50-1)、ナルトリンドール塩酸塩、OXY-111A(Normoxys Inc.、Brighton、MA)、ペリホシン、PH 10
T-427(CAS番号:1191951-57-1)、Merck KGaA(Merck & Co.、Whitehouse Station、NJ)のPI3キナーゼデルタ阻害剤、Genentech(Roche Holdings Inc.)のPI3キナーゼデルタ阻害剤、Incozen(Incozen Therapeutics、Pvt.Ltd.、Hydrabad、India)のPI3キナーゼデルタ阻害剤、Incozen(Incozen Therapeutics)のPI3キナーゼデルタ阻害剤2、Roche-4(Roche Holdings Inc.)のPI3キナーゼ阻害剤、Roche(Roche Holdings Inc.)のPI3キナーゼ阻害剤、Roche-5(Roche Holdings Inc.)のPI3キナーゼ阻害剤、Pathway Therapeutics(Pathway Therapeutics Ltd.、South San Francisco、CA)のPI3-アルファ/デルタ阻害剤、Cellzome(Cellzome AG、Heidelberg、Germany)のPI3-デルタ阻害剤、Intellikine(Intellikine Inc.、La Jolla、CA)のPI3-デルタ阻害剤、Pathway Therapeutics-1(Pathway Therapeutics Ltd.)のPI3-デルタ阻害剤、Pathway Therapeutics-2(Pathway Therapeutics Ltd.)のPI3-デルタ阻害剤、Cellzome(Cellzome AG)のPI3-デルタ/ガンマ阻害剤、Cellzome(Cellzome AG)のPI3-デルタ/ガンマ阻害剤、Intellikine(Intellikine Inc.)のPI3-デルタ/ガンマ阻害剤、Intellikine(Intellikine Inc.)のPI3-デルタ/ガンマ阻害剤、Pathway Therapeutics(Pathway Therapeutics Ltd.)のPI3-デルタ/ガンマ阻害剤、Pathway Therapeutics(Pathway Therapeutics Ltd.)のPI3-デルタ/ガンマ阻害剤、Evotec(Evotec)のPI3-ガンマ阻害剤、Cellzome(Cellzome AG)のPI3-ガンマ阻害剤、Pathway Therapeutics(Pathway Therapeutics Ltd.)のPI3-ガンマ阻害剤、Intellikine-1(Intellikine Inc.)のPI3Kデルタ/ガンマ阻害剤、Intellikine-1(Intellikine Inc.)のPI3Kデルタ/ガンマ阻害剤、ピクチリシブ(Roche Holdings Inc.)、PIK-90(CAS番号:677338-12-4)、SC-103980(Pfizer、New York、NY)、SF-1126(Semafore Pharmaceuticals、Indianapolis、IN)、SH-5、SH-6、テトラヒドロクルクミン、TG100-115(Targegen Inc.、San Diego、CA)、トリシリピン、X-339(Xcovery、West Palm Beach、FL)、XL-499(Evotech、Hamburg、Germany)、薬学的に許容されるこれらの塩、およびこれらの組合せが挙げられる。

【0043】

本発明では、「毒素」という用語は、抗原性の植物または動物由来の毒物または毒液を意味する。例は、ジフテリア毒素またはその部分である。

【 0 0 4 4 】

本発明では、「放射性核種」という用語は、患者へと投与される放射性物質であって、例えば、患者へと静脈内投与または経口投与され、その後、患者の正常な代謝を介して、標的器官または標的組織へと浸透し、そこで、局所的な放射線を、短時間にわたり送達する放射性物質を意味する。放射性核種の例は、I - 1 2 5、A t - 2 1 1、L u - 1 7 7、C u - 6 7、I - 1 3 1、S m - 1 5 3、R e - 1 8 6、P - 3 2、R e - 1 8 8、I n - 1 1 4 m、および Y - 9 0 を含むがこれらに限定されない。

【 0 0 4 5 】

本発明では、「免疫調節剤」という用語は、免疫系が、それらの産生を誘発した抗原を認識し、これと反応する、抗体または感作細胞を産生する能力を、増進させるかまたは低減することにより、免疫応答を変化させる物質を意味する。免疫調節剤は、組換え調製物の場合もあり、合成調製物の場合もあり、天然調製物の場合もあり、サイトカイン、コルチコステロイド、細胞傷害剤、チモシン、および免疫グロブリンを含む。一部の免疫調節剤は、体内に天然で存在し、これらのうちのいくつかは、薬理的調製物中で利用可能である。免疫調節剤の例は、顆粒球コロニー刺激因子 (G - C S F)、インターフェロン、イミキモドおよび細菌に由来する細胞膜画分、I L - 2、I L - 7、I L - 1 2、C C L 3、C C L 2 6、C X C L 7、および合成シトシンリン酸 - グアノシン (cytosine phosphate-guanosine) (C p G) を含むがこれらに限定されない。

【 0 0 4 6 】

本発明では、用語「光活性治療剤」とは、光へと曝露されると活性となる化合物および組成物を意味する。光活性治療剤のある特定の例は、例えば、米国特許出願第 2 0 1 1 / 0 1 5 2 2 3 0 A 1 号、「Photoactive Metal Nitrosyls For Blood Pressure Regulation And Cancer Therapy」において開示されている。

【 0 0 4 7 】

本発明では、用語「放射線増感剤」とは、腫瘍細胞の放射線療法に対する感受性を大きくする化合物を意味する。放射線増感剤の例は、ミソニダゾール、メトロニダゾール、チラパザミン、および t r a n s - クロセチン酸ナトリウムを含む。

【 0 0 4 8 】

本発明では、「ホルモン」という用語は、身体の一部における細胞により放出される物質であって、身体の別の部分の細胞に影響を及ぼす物質を意味する。ホルモンの例は、プロスタグランジン、ロイコトリエン、プロスタサイクリン、トロンボキサン、アミリン、抗ミューラー管ホルモン、アジポネクチン、副腎皮質刺激ホルモン、アンジオテンシノーゲン、アンジオテンシン、バソプレッシン、アトリオペプチン、脳性ナトリウム利尿ペプチド、カルシトニン、コレシストキニン、コルチコトロピン放出ホルモン、エンセファリン、エンドセリン、エリスロポエチン、濾胞刺激ホルモン、ガラニン、ガストリン、グレリン、グルカゴン、ゴナドトロピン放出ホルモン、成長ホルモン放出ホルモン、ヒト絨毛性ゴナドトロピン、ヒト胎盤性ラクトーゲン、成長ホルモン、インヒピン、インスリン、ソマトメジン、レプチン、リプトロピン、黄体形成ホルモン、メラニン細胞刺激ホルモン、モチリン、オレキシン、オキシトシン、隣ポリペプチド、副甲状腺ホルモン、プロラクチン、プロラクチン放出ホルモン、リラキシン、レニン、セクレチン、ソマトスタチン、トロンボポエチン、甲状腺刺激ホルモン、テストステロン、デヒドロエピアンドロステロン、アンドロステンジオン、ジヒドロテストステロン、アルドステロン、エストラジオール、エストロン、エストリオール、コルチゾール、プロゲステロン、カルシトリオール、およびカルシジオールを含むがこれらに限定されない。

【 0 0 4 9 】

一部の化合物は、ある特定のホルモンの活性に干渉するか、またはある特定のホルモンの産生を停止させる。これらのホルモン干渉化合物は、タモキシフェン (N o l v a d e x (登録商標))、アナストロゾール (A r i m i d e x (登録商標))、レトロゾール (F e m a r a (登録商標))、およびフルベストラント (F a s l o d e x (登録商標)) を含むがこれらに限定されない。このような化合物もまた、本発明におけるホルモン

10

20

30

40

50

の意味の範囲内にある。

【0050】

本明細書で使用される「抗血管新生」剤は、例えば、血管内皮成長因子（VEGF）阻害剤および内皮細胞遊走阻害剤など、新たな血管の成長を低減または阻害する物質を意味する。抗血管新生薬剤は、限定なしに述べると、2-メトキシエストラジオール、アンギオスタチン、ベバシズマブ、軟骨由来血管新生阻害因子、エンドスタチン、IFN-、IL-12、イトラコナゾール、リノミド、血小板因子4、プロラクチン、SU5416、スラミン、タスキニモド、テコガラン、テトラチオモリブデン酸塩、サリドマイド、トロンボスポンジン、トロンボスポンジン、TNF-470、ziv-アフリベルセプト、薬学的に許容されるこれらの塩、プロドラッグ、およびこれらの組合せを含む。

10

【0051】

この実施形態のさらなる態様では、第1および第2の抗がん剤の投与により、どちらの抗がん剤単独の投与と比較しても相乗作用をもたらす。本明細書で使用される「相乗的」とは、相加的を超えることを意味する。相乗作用は、超過プリスアッセイ（excess over bliss assay）など、本明細書で開示されるアッセイを含むがこれらに限定されない、当技術分野で公知の多様なアッセイにより測定することができる。

【0052】

本発明の別の実施形態は、がんの作用を処置または改善することを必要とする被験体におけるがんの作用を処置または改善する方法である。この方法は、該被験体へと、有効量の（i）BVD-523または薬学的に許容されるその塩である第1の抗がん剤、および（ii）ジナシクリブ、パルボシクリブおよび薬学的に許容されるそれらの塩からなる群より選択される第2の抗がん剤を投与して、該がんの作用を処置または改善するステップを含む。

20

【0053】

適切で好ましい被験体は、本明細書で開示される通りである。この実施形態では、方法を使用して、上記で開示したがんであって、上記で同定された変異バックグラウンドを伴うがんを含むがんを処置することができる。このような変異を同定する方法もまた、上記で示した通りである。

【0054】

この実施形態の一つの態様では、BVD-523または薬学的に許容されるその塩は、薬学的に許容される担体または希釈剤をさらに含む医薬組成物の形態で投与する。

30

【0055】

この実施形態のさらなる態様では、ジナシクリブ、パルボシクリブまたは薬学的に許容されるそれらの塩は、薬学的に許容される担体または希釈剤をさらに含む医薬組成物の形態で投与する。

【0056】

この実施形態の別の態様では、方法は、被験体へと、少なくとも1つのさらなる治療剤、好ましくは、本明細書で開示される、PI3K/Akt経路の阻害剤を投与するステップをさらに含む。

【0057】

この実施形態の別の態様では、第1および第2の抗がん剤の投与により、どちらの抗がん剤単独の投与と比較しても相乗作用をもたらす。

40

【0058】

本発明のさらなる実施形態は、がん細胞死をもたらす方法である。方法は、がん細胞を、有効量の（i）BVD-523または薬学的に許容されるその塩である第1の抗がん剤、および（ii）CDK阻害剤または薬学的に許容されるその塩である第2の抗がん剤と接触させるステップを含む。この実施形態では、「～を接触させること」とは、BVD-523、CDK阻害剤と、任意選択で、1または複数のさらなる治療剤とを、がん細胞に近づけることを意味する。これは、例えば、BVD-523、CDK阻害剤と、任意選択で、他の治療剤とを、がん細胞が置かれる培養培地へと提供することにより、従来の薬物

50

送達技法を、哺乳動物に対して、または *in vitro* 状況において使用して達成することができる。

【0059】

適切で好ましいCDK阻害剤は、本明細書で開示される通りである。この実施形態では、がん細胞死をもたらすことを、多様な変異バックグラウンドを有し、かつ/または上記で開示した通りに特徴付けられるがん細胞内で達成することができる。このような変異を同定する方法もまた、上記で示した通りである。

【0060】

この実施形態の方法であって、*in vitro* で実行することもでき、*in vivo* において実行することもできる方法を使用することにより、例えば、本明細書で開示される種類のがんの細胞において、がん細胞を死滅させることにより、がん細胞死をもたらすことができる。

10

【0061】

この実施形態の一態様では、がん細胞は、哺乳動物がん細胞である。好ましくは、哺乳動物がん細胞は、ヒト、霊長動物、農場動物、および家庭動物からなる群から選択される哺乳動物から得られる。より好ましくは、哺乳動物がん細胞は、ヒトがん細胞である。

【0062】

この実施形態の別の態様では、方法は、少なくとも1つのさらなる治療剤、好ましくは、本明細書で開示される、PI3K/Akt経路の阻害剤とがん細胞を接触させるステップをさらに含む。

20

【0063】

この実施形態のさらなる態様では、がん細胞を、第1および第2の抗がん剤と接触させることにより、がん細胞をどちらの抗がん剤単独と接触させることと比較しても相乗作用をもたらす。

【0064】

本発明の別の実施形態は、がんの作用を処置または改善することを必要とする被験体におけるがんの作用を処置または改善するためのキットである。このキットは、有効量の(i) BVD-523または薬学的に許容されるその塩である第1の抗がん剤、および(ii) CDK阻害剤または薬学的に許容されるその塩である第2の抗がん剤を、それらの使用のための指示と一緒にパッケージングされて、含む。

30

【0065】

キットはまた、各医薬組成物、および医薬組成物の被験体への投与における使用のための他の試薬、例えば、バッファ、平衡塩溶液などに適する保存容器、例えば、アンプル、バイアル、チューブなども含む。医薬組成物および他の試薬は、例えば、溶液形態または粉末形態など、任意の好都合な形態でキット内に存在する。キットは、医薬組成物の使用のための指示をさらに含む。キットは、医薬組成物および他の任意選択の試薬を収納するための1または複数の区画を任意選択で有するパッケージング容器をさらに含む。

【0066】

本発明のキットにおける使用に適する、好ましいCDK阻害剤および被験体は、本明細書に開示される通りである。この実施形態では、キットを使用して、本明細書で同定される変異バックグラウンドを伴うがんを含む、上記で開示したがんを処置することができる。このような変異を同定する方法は、上記で示した通りである。

40

【0067】

この実施形態のさらなる態様では、キットは、少なくとも1つのさらなる治療剤、好ましくは、本明細書で開示される、PI3K/Akt経路の阻害剤をさらに含む。

【0068】

この実施形態の別の態様では、第1および第2の抗がん剤の投与により、どちらの抗がん剤単独の投与と比較しても相乗作用をもたらす。

【0069】

50

本発明のさらなる実施形態は、がんの作用を処置または改善することを必要とする被験体におけるがんの作用を処置または改善するための医薬組成物である。この医薬組成物は、薬学的に許容される希釈剤または担体と、有効量の (i) B V D - 5 2 3 または薬学的に許容されるその塩である第 1 の抗がん剤、および (i i) C D K 阻害剤または薬学的に許容されるその塩である第 2 の抗がん剤とを含み、該第 1 および第 2 の抗がん剤の投与により、どちらの抗がん剤単独の投与と比較しても相乗作用をもたらす。

【 0 0 7 0 】

適切で好ましい C D K 阻害剤および被験体は、本明細書で開示される通りである。本発明の医薬組成物を使用して、本明細書で同定される変異バックグラウンドを伴うがんを含む、上記で開示したがんを処置することができる。このような変異を同定する方法もまた、上記で示した通りである。

10

【 0 0 7 1 】

この実施形態の別の態様では、医薬組成物は、少なくとも 1 つのさらなる治療剤、好ましくは、本明細書で開示される、 P I 3 K / A k t 経路の阻害剤をさらに含む。

【 0 0 7 2 】

本発明に従う医薬組成物は、両方の抗がん剤を含む単位剤形でありうる。この実施形態の別の態様では、第 1 の抗がん剤が、第 1 の単位剤形であり、第 2 の抗がん剤は、第 1 とは別個の第 2 の単位剤形である。

【 0 0 7 3 】

第 1 および第 2 の抗がん剤は、主治医により最も適切であると判断される通り、被験体へと、同時に共投与することもでき、異なる時点において共投与することもできる。第 1 の抗がん剤と、第 2 の抗がん剤とを、例えば、逐次投与により、異なる時点において投与する場合、第 1 の抗がん剤は、第 2 の抗がん剤の前に被験体へと投与することができる。代替的に、第 2 の抗がん剤を、第 1 の抗がん剤の前に被験体へと投与することもできる。

20

【 0 0 7 4 】

本発明では、本明細書で開示される、本発明の抗がん剤を含有する医薬組成物を含む、本発明の抗がん剤の「有効量」または「治療有効量」とは、このような薬剤または組成物の量であって、被験体へと投与されると、有益な結果または所望の結果をもたらすのに十分な量である。有効な剤形、投与方式、および投薬量は、経験的に決定ことができ、このような決定を下すことは、当技術分野における技術の範囲内にある。当業者により、投与量は、投与経路、排出速度、処置期間、投与される他の任意の薬物の実体 (identity)、哺乳動物、例えば、ヒト患者の年齢、サイズ、および種ならびに、医学および獣医学の技術分野で周知の類似の因子と共に変化することが理解される。一般に、本発明に従う薬剤または組成物の適切な用量は、薬剤または組成物の量であって、所望の作用をもたらすのに有効な最低用量である量である。本発明の薬剤または組成物の有効用量は、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、6 つ、またはこれを超える部分用量であって、1 日を通して、適切な間隔で、個別に投与される部分用量として投与することができる。

30

【 0 0 7 5 】

本明細書で開示される抗がん剤の投与量の適切で非限定的な例は、1 日当たり約 1 m g / k g ~ 約 1 0 0 m g / k g を含む、1 日当たり約 1 m g / k g ~ 約 1 2 0 0 m g / k g 、1 日当たり 7 5 m g / k g ~ 1 日当たり約 3 0 0 m g / k g など、1 日当たり約 1 m g / k g ~ 約 2 4 0 0 m g / k g である。このような薬剤の他の代表的な投与量は、1 日当たり約 1 m g / k g 、5 m g / k g 、1 0 m g / k g 、1 5 m g / k g 、2 0 m g / k g 、2 5 m g / k g 、3 0 m g / k g 、3 5 m g / k g 、4 0 m g / k g 、4 5 m g / k g 、5 0 m g / k g 、6 0 m g / k g 、7 0 m g / k g 、7 5 m g / k g 、8 0 m g / k g 、9 0 m g / k g 、1 0 0 m g / k g 、1 2 5 m g / k g 、1 5 0 m g / k g 、1 7 5 m g / k g 、2 0 0 m g / k g 、2 5 0 m g / k g 、3 0 0 m g / k g 、4 0 0 m g / k g 、5 0 0 m g / k g 、6 0 0 m g / k g 、7 0 0 m g / k g 、8 0 0 m g / k g 、9 0 0 m g / k g 、1 0 0 0 m g / k g 、1 1 0 0 m g / k g 、1 2 0 0 m g / k g 、1 3 0 0 m g / k g 、1 4 0 0 m g / k g 、1 5 0 0 m g / k g 、1 6 0 0 m g / k g 、1 7 0 0

40

50

mg/kg、1800mg/kg、1900mg/kg、2000mg/kg、2100mg/kg、2200mg/kg、および2300mg/kgを含む。本明細書に開示される抗がん剤（例えば、BVD-523およびCDK阻害剤）の有効用量は、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、またはこれを超える部分用量であって、1日を通して、適切な間隔で、個別に投与される部分用量として投与することができる。

【0076】

抗がん剤、またはこれらを含む本発明の医薬組成物は、任意の所望される効果的な方式で、経口服用のために、または軟膏もしくは眼への局所投与のための点眼剤として、または非経口投与もしくは他の投与のために、腹腔内投与、皮下投与、局部投与、皮内投与、吸入投与、肺内投与、直腸投与、膣投与、舌下投与、筋内投与、静脈内投与、動脈内投与、髄腔内投与、またはリンパ内投与など、任意の適切な方式で投与することができる。さらに、本発明の抗がん剤、または医薬組成物は、他の処置と共に投与することができる。他の抗がん剤、またはこれらを含む本発明の医薬組成物は、所望の場合、カプセル化することもでき、胃分泌物または他の分泌物に対して他の形で保護することもできる。

10

【0077】

本発明の医薬組成物は、1または複数の有効成分、例えば、抗がん剤を、1または複数の薬学的に許容される希釈剤または担体、ならびに、任意選択で、1または複数の他の化合物、薬物、成分、および/または材料と混合して含み得る。選択される投与経路に関わらず、本発明の薬剤/化合物は、当業者に公知の従来の方法により、薬学的に許容される剤形へと製剤化される。例えば、Remington, The Science and Practice of Pharmacy (21版、Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, PA.)を参照されたい。

20

【0078】

当技術分野では、薬学的に許容される希釈剤または担体が周知であり（例えば、Remington, The Science and Practice of Pharmacy (21版、Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, PA.)およびThe National Formulary (American Pharmaceutical Association, Washington, D.C.)を参照されたい）、糖（例えば、ラクトース、スクロース、マンニトール、およびソルビトール）、デンプン、セルロース調製物、リン酸カルシウム（例えば、リン酸二カルシウム、リン酸三カルシウム、およびリン酸水素カルシウム）、クエン酸ナトリウム、水、水溶液（例えば、食塩液、塩化ナトリウム注射液、リンゲル注射液、デキストロース注射液、デキストロースおよび塩化ナトリウム注射液、乳酸加リンゲル注射液）、アルコール（例えば、エチルアルコール、プロピルアルコール、およびベンジルアルコール）、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、およびポリエチレングリコール）、有機エステル（例えば、オレイン酸エチルおよびトリグリセリド）、生体分解性ポリマー（例えば、ポリラクチド-ポリグリコリド、ポリ(オルトエステル)、およびポリ酸（無水物））、エラストマーマトリックス、リポソーム、マイクロスフェア、油（例えば、トウモロコシ油、胚芽油、オリーブ油、ヒマシ油、ゴマ油、綿実油、および落花生油）、ココアバター、蠟（例えば、坐剤用蠟）、パラフィン、シリコーン、滑石、サリチル酸塩（silicylate）などを含む。本発明の医薬組成物において使用される、各薬学的に許容される希釈剤または担体は、製剤の他の成分に対して適合性であり、被験体に対して傷害性でないという意味で「許容可能」でなければならない。当技術分野では、選択された剤形および意図された投与経路に適する希釈剤または担体が周知であり、選ばれた剤形および投与方法のための許容可能な希釈剤または担体は、当技術分野における通常の技術を使用して決定することができる。

30

40

【0079】

本発明の医薬組成物は、任意選択で、医薬組成物において一般に使用される、さらなる成分および/または材料を含む。当技術分野では、これらの成分および材料が周知であり、(1)デンプン、ラクトース、スクロース、グルコース、マンニトール、およびケイ酸などの充填剤または増量剤；(2)カルボキシメチルセルロース、アルギネート

50

、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、スクロース、およびアカシアなどの結合剤；(3)グリセロールなどの保湿剤；(4)寒天、炭酸カルシウム、バレイショデンプンまたはタピオカデンプン、アルギン酸、ある特定のシリケート、デンプングリコール酸ナトリウム、架橋カルボキシメチルセルロースナトリウムおよび炭酸ナトリウムなどの崩壊剤；(5)パラフィンなどの溶解遅延剤；(6)四級アンモニウム化合物などの吸収促進剤；(7)セチルアルコールおよびモノステアリン酸グリセロールなどの湿潤剤；(8)カオリン粘土およびベントナイト粘土などの吸収剤；(9)滑石、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、固体ポリエチレングリコール、およびラウリル硫酸ナトリウムなどの滑沢剤；(10)エトキシ化イソステアリンアルコール、ポリオキシエチレンソルビトールおよびソルビタンエステル、微結晶セルロース、メタ水酸化アルミニウム(aluminum metahydroxide)、ベントナイト、寒天、およびトラガントなどの懸濁化剤；(11)緩衝剤；(12)ラクトース、乳糖、ポリエチレングリコール、動物性脂肪および植物性脂肪、油、蠟、パラフィン、ココアバター、デンプン、トラガント、セルロース誘導體、ポリエチレングリコール、シリコン、ベントナイト、ケイ酸、滑石、サリチラート、酸化亜鉛、水酸化アルミニウム、ケイ酸カルシウム、およびポリアミド粉末などの賦形剤；(13)水または他の溶媒などの不活性希釈剤；(14)防腐剤(preservative)；(15)界面活性剤；(16)分散剤；(17)ヒドロキシプロピルメチルセルロース、他のポリマーマトリックス、生体分解性ポリマー、リポソーム、マイクロスフェア、モノステアリン酸アルミニウム、ゼラチン、および蠟などの放出制御剤または吸収遅延剤；(18)乳白剤；(19)アジュバント；(20)湿潤剤；(21)乳化懸濁化剤；(22)エチルアルコール、イソプロピルアルコール、炭酸エチル、酢酸エチル、ベンジルアルコール、安息香酸ベンジル、プロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール、油(特に、綿実油、落花生油、トウモロコシ油、胚芽油、オリーブ油、ヒマシ油、およびゴマ油)、グリセロール、テトラヒドロフリルアルコール、ポリエチレングリコール、およびソルビタンの脂肪酸エステルなどの可溶化剤および乳化剤；(23)クロロフルオロ炭化水素、およびブタンおよびプロパンなどの揮発性非置換炭化水素などの噴射剤；(24)抗酸化剤；(25)糖および塩化ナトリウムなど、製剤を、意図されるレシピエントの血液と等張性とする剤；(26)増粘剤；(27)レシチンなどのコーティング材料；ならびに(28)甘味剤、香味剤、着色剤、芳香剤、および防腐剤(preservative agent)を含む。このような各成分または各材料は、製剤の他の成分に対して適合性であり、被験体に対して傷害性でないという意味で「許容可能」でなければならない。当技術分野では、選択された剤形および意図された投与経路に適する成分および材料が周知であり、選ばれた剤形および投与方法のための許容可能な成分および材料は、当技術分野における通常の技術を使用して決定することができる。

【0080】

経口投与に適する本発明の医薬組成物は、カプセル剤、カシェ剤、丸剤、錠剤、粉末、顆粒、水性または非水性液体の溶液または懸濁液、水中油型液体エマルジョンまたは油中水型液体エマルジョン、エリキシルまたはシロップ、トローチ、ポーラス、舐薬、またはペーストの形態でありうる。これらの製剤は、当技術分野で公知の方法により、例えば、従来のパン式コーティング工程、混合工程、造粒工程、または凍結乾燥工程を介して調製することができる。

【0081】

経口投与用の固体剤形(カプセル剤、錠剤、丸剤、糖剤、散剤、顆粒剤など)は、例えば、有効成分(複数可)を、1または複数の薬学的に許容される希釈剤または担体、ならびに、任意選択で、1または複数の充填剤、増量剤、結合剤、保湿剤、崩壊剤、溶解遅延剤、吸収促進剤、湿潤剤、吸収剤、滑沢剤、および/または着色剤と混合することにより調製することができる。適切な賦形剤を使用して、同様の種類の固体組成物を、軟質充填ゼラチンカプセル及び硬質充填ゼラチンカプセル中の充填剤としても援用することができる。錠剤は、任意選択で、1または複数の補助成分と共に、圧縮または成型により作製することができる。圧縮錠剤は、適切な結合剤、滑沢剤、不活性希釈剤、防腐剤、崩壊剤、

10

20

30

40

50

界面活性剤、または分散剤を使用して調製することができる。成型錠剤は、適切な機械により成型することにより作製することができる。錠剤、ならびに、糖剤、カプセル剤、丸剤、および顆粒剤など、他の固体剤形は、任意選択で、腸溶性コーティングおよび製薬技術分野で周知の他のコーティングなど、コーティングおよびシェルを伴って得られる (scored) または調製することもできる。それらはまた、その中の有効成分の遅延放出または制御放出をもたらすように製剤化することもできる。それらは、例えば、細菌保持フィルターを介する濾過により滅菌することができる。これらの組成物はまた、任意選択で、乳白剤も含有することが可能であり、有効成分を、消化管のある特定の部分だけにおいて、またはこの部分において優先的に、任意選択で、遅延式により放出するような組成物でありうる。有効成分はまた、マイクロカプセル化形態でもありうる。

10

【0082】

経口投与用の液体剤形は、薬学的に許容されるエマルジョン、マイクロエマルジョン、液剤、懸濁剤、シロップ剤、およびエリキシル剤を含む。液体剤形は、当技術分野で一般に使用される、適切な不活性希釈剤を含有しえる。不活性希釈剤のほかに、経口組成物はまた、湿潤剤、乳化懸濁化剤、甘味剤、香味剤、着色剤、芳香剤、および防腐剤などのアジュバントも含みうる。坐剤は、懸濁化剤を含有し得る。

【0083】

直腸投与用または膣投与用の本発明の医薬組成物は、1または複数の有効成分を、1または複数の適切な非刺激性の希釈剤または担体であって、室温では固体であるが、体温では液体であり、したがって、直腸腔または膣腔では融解し、活性化化合物を放出する希釈剤または担体と混合することにより調製しうる、坐剤として提供することができる。膣投与に適する本発明の医薬組成物はまた、適切であることが当技術分野で公知の、このような薬学的に許容される希釈剤または担体を含有する、ペッサリー製剤、タンポン製剤、クリーム製剤、ゲル製剤、ペースト製剤、フォーム製剤、またはスプレー製剤も含む。

20

【0084】

局所投与用または経皮投与用の剤形は、粉剤、スプレー剤、軟膏剤、ペースト剤、クリーム剤、ローション剤、ゲル剤、液剤、パッチ剤、点眼剤、および吸入剤を含む。活性薬剤(複数可)/化合物(複数可)は、滅菌条件下で、適切な薬学的に許容される希釈剤または担体と混合することができる。軟膏剤、ペースト剤、クリーム剤、およびゲル剤は、賦形剤を含有し得る。粉剤およびスプレー剤は、賦形剤および噴射剤を含有し得る。

30

【0085】

非経口投与に適する本発明の医薬組成物は、1または複数の薬学的に許容される滅菌等張性の水溶液もしくは非水溶液、分散液、懸濁液、もしくはエマルジョン、または、使用の直前に滅菌注射用溶液もしくは滅菌注射用分散液へと再構成されうる滅菌粉末であって、適切な抗酸化剤、緩衝剤、製剤を意図されるレシピエントの血液と等張性とする溶質、または懸濁化剤もしくは増粘剤を含有しうる滅菌粉末と組み合わせ、1または複数の薬剤(複数可)/化合物(複数可)を含みうる。適正な流体性は、例えば、コーティング材料の使用により、分散液の場合は、必要とされる粒子サイズの維持により、かつ、界面活性剤の使用により維持することができる。これらの医薬組成物はまた、湿潤剤、乳化剤、および分散剤などの適切なアジュバントも含有しうる。また、等張剤を含むことも所望され得る。加えて、注射用医薬形態の持続性の吸収も、吸収を遅延させる剤の組入れによりもたらすことができる。

40

【0086】

場合によって、薬物(例えば、医薬製剤)の作用を延ばすために、皮下注射または筋内注射からのその吸収を緩徐化することが所望される。これは、水に難溶性である結晶質材料またはアモルファス材料の液体懸濁物を使用することにより達成することができる。

【0087】

次いで、活性薬剤/薬物の吸収速度は、その溶解速度に依存し、溶解速度は、さらに、結晶のサイズおよび結晶形に依存し得る。代替的に、非経口投与された薬剤/薬物の遅延吸収は、活性薬剤/薬物を、油ビヒクル中に溶解するかまたは懸濁させることにより達成

50

することができる。注射用デポ形態は、有効成分のマイクロカプセルマトリックス (microcapsule matrix) を、生体分解性ポリマー中で形成することにより作製することができる。ポリマーに対する有効成分の比、および採用される特定のポリマーの性質に応じて、有効成分の放出速度は制御されうる。注射用デポ製剤はまた、薬物を、体組織と適合性のリポソーム内またはマイクロエマルジョン内に封入することによっても調製される。注射用材料は、例えば、細菌保持フィルターを介する濾過により滅菌することができる。

【0088】

製剤は、単位用量または複数回投与用量 (multi-dose) を密封した容器、例えば、アンプルおよびバイアルにより提供することができ、使用の直前に、滅菌の液体希釈剤または液体担体、例えば、注射水の添加だけを必要とする、乾燥凍結状態で保存することができる。即席注射用溶液および即席注射用懸濁液は、上記で記載した種類の滅菌粉末、顆粒、および錠剤から調製することができる。

10

【0089】

本発明は、ERK阻害剤の作用を増強することが示されている組合せを提供する。本明細書において、本出願者らはまた、異なるERK阻害剤の組合せが同様に相乗的であることも示した。したがって、本明細書で記載される組合せの作用を、1または複数のさらなるERK阻害剤の使用により、さらに改善しうることが想定される。したがって、本発明の一部の実施形態は、1または複数のさらなるERK阻害剤を含む。

【0090】

以下の実施例は、本発明の方法をさらに例示する目的で提示される。これらの実施例は、例示的なだけのものであり、いかなる形であれ、本発明の範囲を限定することを意図するものではない。

20

【実施例】

【0091】

(実施例1)

BVD-523は、MAPKキナーゼの活性およびエフェクター機能についてのマーカーを変化させた

ウェスタンブロット研究のために、HCT116細胞 (5×10^6 個) を、10%のFBSを含むMcCoy's 5Aが入った10cmのディッシュへと播種した。A375細胞 (2.5×10^6 個) を、10%のFBSを含むDMEMが入った10cmのディッシュへと播種した。細胞は、表示量の被験化合物 (BVD-523) またはビヒクル対照を添加する前に、終夜付着させた。細胞は、全細胞タンパク質溶解物を単離する4または24時間前に、下記で指定される通りに処置した。細胞は、トリプシン処理により採取し、ペレット化させ、瞬時凍結させた。溶解物は、RIPA (ラジオイムノ沈殿アッセイ) 緩衝液を用いて調製し、遠心分離により澄清化させ、ピシンコニン酸アッセイ (BCAアッセイ) により定量した。20~50 μ g のタンパク質を、SDS-PAGE電気泳動により分離し、PVD膜へとブロッティングし、下記の表2 (4時間にわたる処置) および表3 (24時間にわたる処置) で詳述される抗体を使用してプローブした。

30

【表 2】

表2:抗体についての詳細

抗原	サイズ (kDa)	供給元	型番	希釈率	インキュベーション/ブロッキング条件	二次
pRSK1/2 pS380	90	Cell Signaling	9335	1:1000	4°C、5%のBSAで終夜	抗ウサギ
pRSK1/2 pS380	90	Cell Signaling	11989	1:2000	4°C、5%のBSAで終夜	抗ウサギ
pRSK-T359/S363	90	Millipore	04-419	1:40000	4°C、5%のBSAで終夜	抗ウサギ
全RSK	90	Cell Signaling	9333	1:1000	4°C、5%のBSAで終夜	抗ウサギ
pErk 1/2	42/44	Cell Signaling	9106S	1:500	4°C、5%のミルクで終夜	抗マウス
全ERK	42/44	Cell Signaling	9102	1:2000	4°C、5%のミルクで終夜	抗ウサギ
pMEK1/2	45	Cell Signaling	9154	1:1000	4°C、5%のBSAで終夜	抗ウサギ
全MEK	45	Cell Signaling	9126	1:1000	4°C、5%のBSAで終夜	抗ウサギ
pS6-pS235	32	Cell Signaling	2211S	1:3000	4°C、5%のミルクで終夜	抗ウサギ
全S6	32	Cell Signaling	2217	1:2000	4°C、5%のミルクで終夜	抗ウサギ
DUSP6	48	Cell Signaling	3058S	1:1000	4°C、5%のBSAで終夜	抗ウサギ
全CRAF	73	BD Biosciences	610152	1:2000	4°C、5%のミルクで終夜	抗マウス
pCRAF-Ser338	73	Cell Signaling	9427	1:1000	4°C、5%のBSAで終夜	抗ウサギ
pRB (Ser780)	105	Cell Signaling	9307	1:2000	4°C、5%のBSAで終夜	抗ウサギ
β -アクチン	42	Sigma	A5441	1:500,000	4°C、5%のミルクで終夜	抗マウス

10

20

30

40

【表 3】

表3:抗体についての詳細

抗原	サイズ (kDa)	供給元	型番	希釈率	インキュベーション/ブロッキング条件	二次
pRB (Ser780)	105	Cell Signaling	9307	1:2000	4°C、5%のBSAで終夜	抗ウサギ
CCND1	34	Abcam	ab6152	1:500	4°C、5%のミルクで終夜	抗マウス
Bim-EL	23	Millipore	AB17003	1:1000	4°C、5%のBSAで終夜	抗ウサギ
Bim-EL	23	Cell Signaling	2933	1:1000	4°C、5%のBSAで終夜	抗ウサギ
BCL-xL	30	Cell Signaling	2762	1:2000	4°C、5%のBSAで終夜	抗ウサギ
PARP	116/89	Cell Signaling	9542	1:1000	4°C、5%のミルクで終夜	抗ウサギ
切断型カスパーゼ3	17,19	Cell Signaling	9664X	1:1000	4°C、5%のミルクで終夜	抗ウサギ
DUSP6	48	Cell Signaling	3058S	1:1000	4°C、5%のBSAで終夜	抗ウサギ
pRSK1/2 pS380	90	Cell Signaling	9335	1:1000	4°C、5%のBSAで終夜	抗ウサギ
pRSK1/2 pS380	90	Cell Signaling	11989	1:2000	4°C、5%のBSAで終夜	抗ウサギ
pRSK-T359/S363	90	Millipore	04-419	1:40000	4°C、5%のBSAで終夜	抗ウサギ
全RSK	90	Cell Signaling	9333	1:1000	4°C、5%のBSAで終夜	抗ウサギ
pErk 1/2	42/44	Cell Signaling	9106S	1:500	4°C、5%のミルクで終夜	抗マウス
全ERK	42/44	Cell Signaling	9102	1:2000	4°C、5%のミルクで終夜	抗ウサギ
β -アクチン	42	Sigma	A5441	1:500,000	4°C、5%のミルクで終夜	抗マウス

【 0 0 9 2 】

図 1 は、多様な濃度の B V D - 5 2 3 で処置された細胞の、以下：1) 4 時間後における A 3 7 5 細胞における M A P K シグナル伝達構成要素；2) 多様な量の B V D - 5 2 3

10

20

30

40

50

で24時間処置したA375内の細胞周期シグナル伝達およびアポトーシスシグナル伝達；ならびに3)4時間にわたり処置されたHCT-116細胞におけるMAPKシグナル伝達についてのウェスタンブロット解析を示す。結果は、RAF変異がん細胞およびRAS変異がん細胞における、短期および長期にわたるBVD-523による*in vitro*における処置が、ERKキナーゼの基質のリン酸化およびエフェクター標的の両方に影響を及ぼすことを示す。これらの変化を誘導するのに必要とされるBVD-523の濃度は、低値のマイクロモル範囲内であることが典型的である。

【0093】

複数の特異的活性マーカーの変化は、注目に値する。まず、BVD-523処置後には、ERKキナーゼの緩徐に移動するアイソフォームの存在度が增大する：短期的に観察されうる変化はわずかであるが、長期にわたる処置後には増大する。これは、酵素的に活性な、ERKのリン酸化形態の増大を指し示しうるが、ERKによる直接的な調節下および間接的な調節下の両方に置かれる複数のタンパク質が、BVD-523処置後に「オフ」状態を保っていることは、やはり注目に値する。第1に、RSK1/2タンパク質は、タンパク質修飾についてERKに厳密に依存する残基(T359/S363)におけるリン酸化の低減を呈示する。第2に、BVD-523処置は、MAPKフィードバックホスファターゼであるDUSP6の複雑な変化を誘導する：短期の処置後には、緩徐に移動するタンパク質アイソフォームが低減されるが、長期にわたるBVD-523処置後には、全タンパク質レベルが大幅に低減される。これらの知見のいずれも、翻訳後機構および転写後機構の両方を介してDUSP6機能を制御する、ERKキナーゼの活性の低減と符合する。全体的に述べると、典型的に活性であると考えられる、ERKの細胞形態の増大にも拘らず、細胞ERKの酵素活性は、短期または長期にわたるBVD-523による処置後において、完全に阻害されるようである。

【0094】

MAPK経路シグナル伝達を必要とするエフェクター遺伝子が、BVD-523による処置後に変化することは、これらの観察と符合する。G1/S細胞周期装置は、翻訳後レベルおよび転写後レベルの両方において、MAPKシグナル伝達により調節され、サイクリンD1タンパク質レベルは、長期にわたるBVD-523処置後において大幅に低減される。同様に、アポトーシスエフェクターの遺伝子発現およびタンパク質存在度も、無傷のMAPKシグナル伝達を必要とすることが多く、全Bim-ELレベルも、長期にわたるBVD-523処置後において増大する。しかし、上記で注記した通り、A375細胞のバックグラウンドでは、PARPタンパク質の切断およびアポトーシスの増大が注目されなかったため、これは、BVD-523/ERK依存性エフェクターシグナル伝達の変化が、細胞死および細胞周期の停止など、決定的な事象へと変換されるのかどうかは、さらなる因子の影響を受ける可能性があることを示唆する。

【0095】

マーカー解析から、ERKの阻害が、がん細胞における様々な分子によるシグナル伝達事象を変化させ、がん細胞を、細胞増殖および生存の両方の低下に対して感受性とすることが示唆されることは、BVD-523の細胞活性と符合する。

【0096】

まとめると、図1は、BVD-523が、MAPKシグナル伝達経路を阻害し、この状況では、RAF阻害またはMEK阻害と比較して、より好適でありうることを示す。

【0097】

最後に、BVD-523の特性は、BVD-523を、同様の活性を伴う他の薬剤と比較して、ERK阻害剤としての使用のための好ましい薬剤とすることができる。キナーゼ阻害薬は、それらの酵素標的との、固有で特異的な相互作用を提示し、薬物の有効性は、直接的な阻害方式、ならびに処置後に生じる適応性の変化に対する感受性の両方の影響を強力に受けることが公知である。例えば、ABLキナーゼ、KITキナーゼ、EGFRキナーゼ、およびALKキナーゼの阻害剤は、それらのコグネイト標的が、活性または不活性の配置で見出される場合に限り効果的である。同様に、これらの阻害剤のうちのいくつ

10

20

30

40

50

かは、二次的な遺伝子変異、または翻訳後におけるタンパク質標的の適応性の変化に対して固有に感受性である。最後に、RAF阻害剤は、ある特定のタンパク質複合体に存在するRAFキナーゼ、および/または細胞内に局在するRAFキナーゼに対する示差的効力を示す。まとめると、ERKキナーゼも同様に、多様で、可変的で、複雑な生化学状態において存在することが公知であるので、BVD-523は、これらの標的と相互作用し、これらを、他の薬剤とは顕著に異なり、極めて好ましい方式で阻害するようである。

【0098】

(実施例2)

BVD-523/CDK阻害剤の組合せは、*in vitro*におけるがん細胞株の成長を阻害するのに効果的である

10

がん細胞株は、標準的な培地条件および血清条件下の細胞培養物中で維持する。

【0099】

全ての組合せ研究のために、MM415細胞(N-RAS変異ヒト黒色腫細胞)を、三連の96ウェルプレートへと、10%(vol/vol)のウシ胎仔血清(FBS)を補充したRPMI 1640培地中に細胞1500個/ウェルの細胞密度で播種する。HCT116細胞(K-RAS変異ヒト結腸直腸癌細胞)を、三連の96ウェルプレートへと、10%のFBSを含むMcCoy's 5A培地中に細胞1500個/ウェルの細胞密度で播種する。A375細胞(BRAF V600Eヒト悪性黒色腫細胞)を、10%のFBSを含むダルベッコ改変イーグル培地(DMEM)中に細胞3000個/ウェルの密度で播種する。細胞を終夜付着させてから、被験化合物またはビヒクル対照を添加する。

20

【0100】

ジナシクリブ研究のために、10×8用量行列を使用して、以下の組合せ：ジナシクリブ(1~50nMの範囲)とBVD-0523(0~10μMの範囲)、ジナシクリブ(1~50nMの範囲)とダブラフェニブ(0~1μMの範囲)、およびジナシクリブ(1~50nMの範囲)とトラメチニブ(0~0.010μMの範囲)について調べる。DMSOの最終濃度は、0.2%である。化合物は、細胞と共に、96時間にわたりインキュベートする。

【0101】

パルボシクリブ研究のために、10×8用量行列を使用して、以下の組合せ：パルボシクリブ(10nM~500nMの範囲)とBVD-0523(0~10μM)、パルボシクリブ(10nM~500nMの範囲)とダブラフェニブ(0~1μMの範囲)、およびパルボシクリブ(10nM~500nMの範囲)とトラメチニブ(0~0.1μMの範囲)について調べる。DMSOの最終濃度は、0.2%である。化合物は、細胞と共に、96時間にわたりインキュベートする。

30

【0102】

次に、10%(v/v)のAlamar Blueを添加し、細胞と共に、4時間にわたりインキュベートしてから、蛍光プレートリーダー上の読取りにかけた。Alamar Blueを読み取った後、培地/Alamar Blueミックスを落とし、100μlのCellTiter-Glo/PBS(1:1)を添加し、製造元の指示(Promega、Madison、WI)に従い、プレートを処理する。培地だけによるバックグラウンド値を減じてから、データを解析する。

40

【0103】

Caspase-Glo 3/7アッセイ

略述すると、MM415細胞を、白色96ウェルプレート中、三連で、10%のFBSを含むRPMI 1640中に細胞5000個/ウェルの細胞密度で播種する。A375細胞を、10%のFBSを含むDMEM中に細胞5000個/ウェルの密度で播種する。HCT116細胞を、10%のFBSを含むMcCoy's 5A培地中に細胞5000個/ウェルの細胞密度で播種する。細胞を終夜付着させてから、被験化合物またはビヒクル対照を添加する。DMSOの最終濃度は、0.2%であり、800nMのスタウロsporinを、陽性対照として組み入れる。24および48時間にわたるアッセイインキュベーション

50

オン期間を使用する。次いで、50% (v/v) の Caspase-Glo (登録商標) 3/7 を添加し、プレートを、オービタルシェーカー上で5分間にわたり混合し、室温で1時間にわたりインキュベートしてから、発光プレートリーダー上の読取りにかける。培地だけによるバックグラウンド値を減じてから、データを解析する。

【0104】

データ解析

組合せによるデータは、GraphPad Prismにより生成される用量反応曲線 (DMSOだけで処置された対照と比べた生存率%を使用してプロットされる) として提示することができる。

【0105】

組合せによる阻害について予測される分数阻害値 (fractional inhibition value) は、等式: $C_{bliss} = A + B - (A \times B)$ [式中、AおよびBは、具体的な濃度の薬物A単独または薬物B単独により得られる分数阻害 (fractional inhibition) である] を使用して計算する。 C_{bliss} とは、2つの薬物の組合せが、正確に相加的であった場合に予測される分数阻害である。 C_{bliss} 値を、実験で観察される分数阻害値から減じて、「超過ブリス (excess over Bliss)」値を得る。0を超える超過ブリス値が、相乗性を指し示すのに対し、0未満の値は、アンタゴニズムを指し示す。超過ブリス値は、ヒートマップ±SDとしてプロットすることができる。

【0106】

ジナシクリブまたはパルボシクリブの、BVD-523との組合せは、A375細胞、MM415細胞、およびHCT116細胞の成長を阻害するのに効果的であることが予測される。用量反応曲線が得られる。これらの細胞株におけるBVD-523の IC_{50} は、約150 nMとなることが予測される。また、これらの細胞株におけるジナシクリブおよびパルボシクリブの IC_{50} は、それぞれ、約13 nM (Parryら、2010年) および130 nM (Fryら、2004年) となることも予測される。

【0107】

(実施例3)

BVD-523 / CDK阻害剤の組合せは、*in vivo*におけるがん細胞株の成長を阻害するのに効果的である

マウス

雌無胸腺ヌードマウス (Crl:NU(Ncr)-Foxn/nu、Charles River) は、研究の1日目において、9週齢であり、体重 (BW) は約15~約30グラムの範囲である。動物には、水 (逆浸透法、1 ppmのCl)、ならびに18.0%の粗タンパク質、5.0%の粗脂肪、および5.0%の粗繊維からなる、NIH 31 Modified and Irradiated Lab Diet (登録商標) を自由に摂取させる。マウスは、静的マイクロアイソレーター内の、照射されたEnrich-o'cobs (商標) Laboratory Animal Bedding上、12時間の光周期、20~22 (68~72 °F) および40~60%の湿度で飼育する。拘束、飼育、手術手順、飼料および流体の調節、ならびに獣医科ケアに関する、the Guide for Care and Use of Laboratory Animalsによる推奨を遵守する。

【0108】

*in vivo*における植込みおよび腫瘍成長

MM415 N-RAS変異ヒト黒色腫細胞は、10%のウシ胎仔血清、2 mMのグルタミン、100単位/mLのペニシリンGナトリウム、100 µg/mLのストレプトマイシン硫酸塩、および25 µg/mLのゲンタマイシンを補充したRPMI-1640培地中で培養する。腫瘍細胞は、加湿式インキュベーター内、37、5%のCO₂ および95%の空気による雰囲気中の組織培養フラスコ内で成長させる。

【0109】

植込みのために使用されるMM415細胞は、指数関数的成長の間に採取し、50%の

10

20

30

40

50

Matrigel (BD Biosciences) : 50% のリン酸緩衝食塩液中、細胞 2.5×10^7 個 / mL の濃度で再懸濁させる。腫瘍植込み日には、各被験マウスの右脇腹の皮下に、細胞 5×10^6 個 (0.2 mL の細胞懸濁液) を注射し、平均サイズが、 $100 \sim 150 \text{ mm}^3$ の標的範囲に近づく間、腫瘍成長をモニタリングする。腫瘍は、カリパーを使用して2つの寸法で測定し、体積は、式：

$$\text{腫瘍体積 (mm}^3\text{)} = (w^2 \times l) / 2$$

[式中、 $w = \text{mm}$ 単位の腫瘍の幅であり、 $l = \text{mm}$ 単位の腫瘍の長さである] を使用して計算する。腫瘍重量は、 1 mg が、 1 mm^3 の腫瘍体積と同等であるという仮定により推定することができる。

【0110】

研究の1日目と称する、腫瘍植込みの10日後、動物を、各々下記に記載される通りの16群に分ける。

【0111】

処置

研究の1日目、マウスを、各々15匹ずつのマウスからなる群と、10匹のマウスからなる1つの群とに分け、投与 (dosing) を開始する。全ての用量 (dose) は、静脈内 (i.v.) で施されるダカルバジン (DTIC) を除き、強制経口投与 (p.o.) により施す。各薬剤について、 $10 \text{ mL} / \text{kg}$ (BW 20グラム当たり0.2 mL) の投与体積は、個々の動物のBWに照らして増減させる。ジナシクリブ / パルボシクリブの用量は、研究の終了まで毎日1回 (q.d.) (終了まで毎日1回) 施すものとするのに対し、
 ビヒクルおよびBVD-523の用量は、終了まで毎日2回 (b.i.d.) (終了まで毎日2回) 施すものとする。毎日2回の投与では、1回の用量を初日 (「初日に1回の用量」) に施すように、投与を、1日目の午後に開始する。

【0112】

対照

1つの群には、1%のCMCビヒクルを、終了まで毎日2回、p.o.で施し、TGD%を計算するための対照群として用いる。別の群には、DTICを、隔日1回 (q.o.d.)、 $80 \text{ mg} / \text{kg}$ で、i.v.により、5回の用量 (5回にわたり隔日1回) を施し、モデルのための陽性対照として用いる。

【0113】

単剤療法による処置

4つの群に、ジナシクリブを5もしくは $600 \text{ mg} / \text{kg}$ で、またはパルボシクリブを100もしくは $150 \text{ mg} / \text{kg}$ で施す。2つの群に、50または $100 \text{ mg} / \text{kg}$ のBVD-523を、p.o.により、終了まで毎日2回施す。

【0114】

組合せ処置

2つの群のうちの1つずつの群には、 $50 \text{ mg} / \text{kg}$ のBVD-523の、5または $60 \text{ mg} / \text{kg}$ のジナシクリブとの組合せを施す。他の2つの群には、 $100 \text{ mg} / \text{kg}$ のBVD-523を、5または $60 \text{ mg} / \text{kg}$ のジナシクリブと共に施す。2つのさらなる群には、 $50 \text{ mg} / \text{kg}$ のBVD-523を、100または $150 \text{ mg} / \text{kg}$ のパルボシクリブと共に施し、別の2つの群には、 $100 \text{ mg} / \text{kg}$ のBVD-523を、100または $150 \text{ mg} / \text{kg}$ のパルボシクリブと共に施す。

【0115】

エンドポイントおよび腫瘍成長遅延 (TGD) 解析

腫瘍は、カリパーを使用して、週あたり2回測定し、各動物は、その腫瘍が所定の腫瘍体積エンドポイント (tumor volume endpoint) である 2000 mm^3 に達するか、または最終日に到達する場合、それらのどちらが先になっても、安楽死させる。腫瘍体積エンドポイントのために研究から外す動物は、腫瘍進行 (TP) のために安楽死させたと、安楽死の日付と共に記録する。解析のための、エンドポイントまでの時間 (TTE) は、各マウスについて、以下の等式：

10

20

30

40

50

$TTE = [\log_{10} (\text{エンドポイント体積}) - b] / m$
 [式中、TTEは、日数で表され、エンドポイント体積は、 mm^3 で表され、bは、切片であり、mは、対数変換された腫瘍成長データセットの線形回帰により得られる直線の傾きである] により計算する。データセットは、解析において使用されるエンドポイント体積を超えた最初の観察と、このエンドポイント体積への到達の直前になされた3回連続の観察とからなる。計算によるTTEは通例、腫瘍サイズのために動物を安楽死させる日であるTPの日より少ない。エンドポイント体積に達しない腫瘍を伴う動物には、研究の最終日までの日数と等しいTTE値を割り当てる。事故に起因するNTR（処置と関連しない）原因（NTRa）または未知の病因に起因するNTR原因（NTRu）により死亡したと分類される任意の動物は、TTEの計算（および全てのさらなる解析）から除外する。TR（処置関連）死亡またはNTRm（転移に起因する、処置と関連しない死亡）と分類される動物には、死亡日までの日数と等しいTTE値を割り当てる。

10

【0116】

処置転帰は、処置群内のTTE中央値の、対照群と比較した増大として定義されるTGD：

$$TGD = T - C$$

であって、日数で表されるTGD、または対照群のTTE中央値の百分率として定義されるTGD：

$$TGD\% = [(T - C) / C] \times 100$$

[式中、

T = 処置群についてのTTE中央値であり、

C = 指定された対照群についてのTTE中央値である]

から評価する。

20

【0117】

退縮応答についての基準

処置有効性は、研究中に観察される退縮応答の発生および大きさから決定することができる。処置により、動物における腫瘍の部分退縮（PR）または完全退縮（CR）をもたらすことができる。PR応答では、腫瘍体積は、研究の経過中の3回連続の測定値について、その1日目の体積の50%またはこれ未満であり、かつ、これらの3回の測定値のうちの1または複数について、 $13.5 mm^3$ と等しいかまたはこれを超える。CR応答では、腫瘍体積は、研究の経過中の3回連続の測定値について、 $13.5 mm^3$ 未満である。研究の終了時においてCR応答を伴う動物は、加えて、無腫瘍生存動物（TFS）としても分類する。動物は、退縮応答についてモニタリングする。

30

【0118】

毒性

動物は、1～5日目には毎日、次いで、研究の完了まで週当たり2回体重測定する。マウスを、任意の有害なTR副作用の明白な徴候について頻繁に観察し、臨床徴候は、観察されたときに記録する。個々のBW減少は、プロトコルに従いモニタリングし、その体重が、許容可能なBW減少についての限界を超える任意の動物は、安楽死させる。また、群平均BW減少も、プロトコルに従いモニタリングする。投与は、許容可能な平均BW減少についての限界を超える任意の群では中断するものとする。平均BWが回復する場合は、投与を、低投与量であるか、または低頻度の投与スケジュールにおいてであるが、その群内で再開するものとする。最大耐量（MTD）についての許容可能な毒性は、研究の群平均BW減少が20%未満であり、TR死亡が10%以下であることとして定義する。死亡は、臨床徴候および/または剖検により証拠立てられる通り、処置副作用に帰せられる場合、TRと分類するが、投与期間中もしくは最終回投与の14日以内における未知の原因に起因する場合もまた、TRと分類する場合がある。死亡は、死亡が処置副作用と関連するという証拠が存在しない場合、NTRと分類する。NTR死亡は、死因に基づきさらに特徴付けることができる。死亡は、それが事故または人為的過誤から生じる場合、NTRaと分類する。死亡は、剖検により、それが、浸潤および/または転移による腫瘍

40

50

の播種から生じる可能性があることが指し示される場合、NTRmと分類する。死亡は、処置副作用に起因する死亡を除外することはできないが、死因が未知であり、処置副作用、転移、事故、または人為的過誤と関連する、利用できる死亡の証拠がない場合、NTRuと分類する。

【0119】

統計学的解析およびグラフ解析

Prism (GraphPad) for Windows (登録商標) 3.03を、グラフ表示および統計学的解析のために使用する。

【0120】

全生存経験を評価するログランク検定を使用して、2つの群のTTE値の間の差の有意性について解析する。ログランク解析は、NTR死亡と評価された動物を除く、群内の全ての動物についてのデータを含む。両側統計学的解析は、有意性水準をP = 0.05として実行する。統計学的検定は、多重比較のために調整しない。Prismでは、検定結果を、P > 0.05のとき、非有意 (ns)、0.01 < P < 0.05のとき、有意 (「*」の記号で表す)、0.001 < P < 0.01のとき、非常に有意 (「**」)、および、P < 0.001のとき、極めて有意 (「***」)とまとめる。レジメンがMTDを上回る群は、統計学的に評価しない。

10

【0121】

散布図を構築して、群ごとに、個別のマウスについてのTTE値を示す。群の平均腫瘍体積は、時間の関数としてプロットする。腫瘍サイズのために、動物を研究から外す場合は、動物について記録される最終腫瘍体積を、後続の時点における平均体積を計算するのに使用されるデータと共に組み入れる。誤差バー (存在する場合は、平均値の1標準誤差 (SEM) を指し示す。腫瘍成長プロットは、NTR死亡についてのデータを除外し、群内の評価可能な動物のうちの50%が研究を終了した後、または群内で2例目のTR死亡の後で、それらのどちらが先になっても、これを打ち切る。カプラン-マイヤープロットは、各群内の、研究に残る動物の百分率を、時間と対比して示す。カプラン-マイヤープロットと、ログランク検定とは、同じTTEデータセットを共有する。1日目からの平均BW変化パーセントを、各群、各BW測定日について計算し、時間の関数としてプロットする。BWプロットからNTR死亡についてのデータを除外し、群内の評価可能な動物のうちの50%が研究を終了した後、これを打ち切る。

20

30

【0122】

結果

ジナシクリブまたはパルボシクリブの、BVD-523との組合せは、MM415細胞由来腫瘍に対して効果的であり、結果は、統計学的に有意であろうことが予測される。また、BVD-523 / CDK阻害剤による処置と関連する副作用は、最小限となることも予測される。

【0123】

(実施例4)

CDK阻害剤およびERK阻害剤についての細胞培養研究
単剤増殖アッセイ

40

細胞を、表4に表示の密度および培地条件で、96ウェルプレート内に播種し、終夜付着させてから、化合物またはビヒクル対照を添加した。化合物は、DMSOストックから調製して、所望の最終濃度をもたらした。最終DMSO濃度は、0.1%で一定とした。被験化合物は、加湿雰囲気中、37 °Cおよび5%のCO₂で、細胞と共に、72時間にわたりインキュベートした。CellTiter-Glo (登録商標) 試薬 (Promega, Madison, WI) を、製造元の指示に従い添加し、BMG FLUOstarプレートリーダー (BMG Labtech, Ortenberg, Germany) を使用して、発光を検出した。アッセイプレートの二連のセットを、完全成長培地中10 μg/mlのHoechst 33342染料 (Invitrogen, Grant Island, NY) と共に、加湿雰囲気中、37 °Cおよび5%のCO₂で1時間にわたりイ

50

ンキュベートした。次いで、培地を除去し、PBSで置きかえ、BMG FLUOstar Omegaプレートリーダー (BMG Labtech, Ortenberg, Germany) を使用して蛍光を検出した。培地だけによるバックグラウンド値の平均を差し引き (deducted)、4パラメータのロジスティック等式を、GraphPad Prism (GraphPad Software, La Jolla, CA) において使用して、データを解析した。

【0124】

組合せ増殖アッセイ

細胞は、三連の96ウェルプレートへと、10%のFBSを含有するRPMI培地中に、表4に指し示される密度で播種し、終夜付着させてから、被験化合物またはビヒクル対照を添加した。組合せは、10×8用量行列を使用して調べた。最終DMSO濃度は、0.2%で一定とした。

10

【0125】

被験化合物は、加湿雰囲気中、37°Cおよび5%のCO₂で、細胞と共に、72時間にわたりインキュベートした。細胞は、Hoechst染料で染色し、蛍光は、上記で記載した通りに検出した。培地だけによるバックグラウンド値の平均を差し引き、データを解析した。

【0126】

用量行列にわたる組合せ相互作用は、ユーザーマニュアル (chalice.discovery.com/chalice-portal/document-ation/analyser/home.jspで入手可能) で概観されている通り、Chalice (商標) Combination Analysis Software (Horizon Discovery Group, Cambridge, MA) を使用する、ローウィ相加性モデルおよびブリス非依存性モデルにより決定した。相乗性は、各組合せ点における阻害の実験観察レベルを、相加性について予測される値であって、行列のエッジに沿った単剤応答から導出される値と比較することにより決定する。潜在的な相乗的相互作用は、相加的であると予測される阻害に対する、計算による過剰阻害を、用量行列にわたり、ヒートマップとして表示し、定量的な「相乗性スコア」を、ローウィモデルに基づき報告することにより同定した。組合せアッセイプレートから導出される単剤データは、Chalice (商標) により生成される用量反応曲線として提示した。

20

30

【表4】

表4:細胞株の播種密度

細胞株	播種密度(細胞/ウェル)
A549	1000
H2212	4000
H1437	3000
H226	1500

40

【0127】

本研究では、ERK阻害剤であるBVD-523およびSCH772984を、2つの異なるCDK4/6阻害剤 (パルボシクリブおよびLEE-011) と組み合わせることの効果について、4つの肺がん細胞株、Krasの2つの変異体、および2つの野生型のパネルにわたり評価した。

【0128】

50

BVD-523、CDK4/6阻害剤、別のERK阻害剤(SCH772984)、および基準MEK阻害剤(トラメチニブ)の、単剤としての、細胞の生存率に対する効果を、2つの方法を使用して72時間後に評価した(図2)。第1の方法は、CellTiter-Glo(登録商標)(Promega、Madison、WI)を使用して、細胞ATPレベルを定量することによった。第2の方法は、Hoechst染料によりDNAを染色した後に、アッセイウェル中の全DNA量を定量することによった。

【0129】

単剤によるIC₅₀値を、表5に示す。KRas変異を保有する2つの細胞株は、野生型細胞株と比べて、BVD-523に対する感受性が大きい。これは、KRas変異の存在が、単剤としてのBVD-523に対する感受性を予測するバイオマーカーでありうることを指し示しうる。ERK阻害剤であるSCH772984に対する応答のパターンは、広範にわたり、BVD-523に対する応答のパターンと同様であった。

【表5】

表5: 相対IC₅₀値

化合物	相対IC ₅₀ (μM)											
	A549 (KRas 変異体)			H2122 (KRas 変異体)			H1437 (KRas 野生型)			H226 (KRas 野生型)		
	CellTiter	Hoechst	CellTiter	Hoechst	CellTiter	Hoechst	CellTiter	Hoechst	CellTiter	Hoechst	CellTiter	Hoechst
BVD-523	0.73	0.59	0.45	0.45	1.2	1.4	34% @10μM	58% @10μM	0.005	0.003	0.002	0.002
SCH772984	1.1	0.74	0.63	0.53	57% @3μM	63% @3μM	35% @3μM	49% @3μM	0.005	0.003	0.002	0.002
トラメチニブ	0.005	0.005	0.003	0.003	0.002	0.003	57% @1μM	0.002	0.005	0.002	0.002	0.002
バルボシクグリブ	41% @3μM	0.13	48% @3μM	0.15	29% @3μM	0.22	20% @3μM	0.056	0.005	0.002	0.002	0.002
LEE-011	49% @10μM	0.70	44% @10μM	0.45	30% @10μM	2.6	32% @10μM	0.37	0.003	0.003	0.003	0.003
バクリタキセル	0.003	0.002	0.003	0.002	0.007	0.003	0.003	0.003	0.002	0.002	0.002	0.003

注: 細胞株が、化合物に対して比較的に非感受性である結果として、部分的応答(達成される阻害の≦約60%として定義される)がもたらされる場合、および/または曲線の底部が明確でない場合は、最大阻害百分率を報告する。

10

20

30

40

50

【0130】

Hoechst染色を使用して評価したところ、CDK4/6阻害剤についての単剤による結果は、使用される細胞の生存率についてのリードアウトに依存し、細胞は、阻害に対して顕著により感受性であるようであった。これにより、ATPレベルの測定値は、CDK4/6阻害に応答する生細胞数の適切な代用物ではないことが示唆されたので、組合せアッセイでは、Hoechst染料によるリードアウトだけを使用した。

【0131】

2つの化合物の間の組合せ相互作用は、濃度行列にわたり、ローウィ相加性モデルおよびブリス非依存性モデルを、Chalice (商標) Bioinformatics Software (Horizon Discovery Group, Cambridge, MA) と共に使用して評価した。Chalice (商標) は、相加的であると予測される阻害に対する、計算による過剰阻害を、用量行列にわたり、ヒートマップとして表示し、定量的な「相乗性スコア」を、ローウィモデルに基づき報告することにより、潜在的な相乗的相互作用を同定することを可能とする。

10

【0132】

BVD-523と、2つのCDK4/6阻害剤との間の組合せ相互作用を、それぞれ、図3および図4に示す。SCH772984と、2つのCDK4/6阻害剤との間の組合せ相互作用を、それぞれ、図5および図6に示す。トラメチニブと、2つのCDK4/6阻害剤との間の組合せ相互作用を、それぞれ、図7および図8に示す。

【0133】

ローウィ「過剰阻害」ヒートマップの視覚化により、BVD-523の、2つのCDK4/6阻害剤のうち的一方との組合せは、A549細胞およびH226細胞では主に相加的であり、H1437およびH2122では、相加的であるが、潜在的な相乗性域を伴うことが示唆された。これらの相乗性域は、H1437細胞では、H2122細胞と比べて、より広範かつ強力であるようであった。ERK阻害剤であるSCH772984についても同様の結果が得られた。

20

【0134】

ローウィ相加性を上回る活性は、単純な体積スコアを使用するChalice (商標) であって、測定される応答曲面と、ローウィ加法応答曲面 (Loewe additive response surface) との間の体積を効果的に計算し、組合せの、全体的な相乗作用 (正の値)、または全体的なアンタゴニスト作用 (負の値) を強調する、Chalice (商標) により定量することができる。BVD-523およびSCH772984の、2つのCDK4/6阻害剤のうち的一方との組合せについての体積スコアを、図9および表6~8に示すが、これらは、ヒートマップから引き出される結論と符合する。

30

【表 6】

表6:ローウィ体積

	A549	H1437	H2122	H226
BVD-523 x Lee-011	2.47	7	5.05	1.66
BVD-523 x パルボシクリブ	0.0329	6.47	3.81	2.89
SCH772984 x LEE-011	3.19	7.45	6.31	2.15
SCH772984 x パルボシクリブ	2.01	7.61	5.92	0.589
トラメチニブ(Trametinib) x LEE-011	3.49	5.27	3.66	3.88
トラメチニブ x パルボシクリブ	4.55	5.9	4.51	3.23

10

【表 7】

表7:プリス体積

	A549	H1437	H2122	H226
BVD-523 x Lee-011	1.42	2.97	0.672	-0.728
BVD-523 x パルボシクリブ	-1.63	1.68	-0.543	-0.398
SCH772984 x LEE-011	1.6	4.34	2.47	-1.24
SCH772984 x パルボシクリブ	0.0322	3.16	2.88	-2.22
トラメチニブ(Trametinib) x LEE-011	0.0863	-0.4	-0.739	-0.342
トラメチニブ x パルボシクリブ	0.987	1.29	-0.502	-2.22

20

30

【表 8】

表8:相乗性スコア

	A549	H1437	H2122	H226
BVD-523 x Lee-011	1.79	4.95	5.16	1.21
BVD-523 x パルボシクリブ	1.08	5.38	4.19	2.51
SCH772984 x LEE-011	2.88	4.83	5.57	1.8
SCH772984 x パルボシクリブ	2.52	5.53	5.37	1.4
トラメチニブ(Trametinib) x LEE-011	2.91	4.47	3.81	2.78
トラメチニブ x パルボシクリブ	4.14	4.73	5.07	2.45

10

【0135】

まとめると、これらの結果により、野生型またはK R a s について変異した肺がん細胞株における、B V D - 5 2 3 と、C D K 4 / 6 阻害剤との間の相互作用は、少なくとも相加的であり、場合によって、相乗的であることが示唆される。

20

【0136】

(実施例5)

E R K 阻害剤間の組合せ相互作用

R A F 変異黒色腫細胞株であるA 3 7 5 細胞は、10%のF B S を伴うD M E M 中で培養し、三連の96ウェルプレートへと、ウェル当たりの細胞2000個の初期密度で播種した。E R K 阻害剤であるB V D - 5 2 3 とS C H 7 7 2 9 8 4 との間の組合せ相互作用は、上記の実施例4で記載した通り、72時間後に解析し、生存率も、上記の実施例4で記載した通り、C e l l T i t e r - G l o (登録商標) 試薬(P r o m e g a) を使用して決定した。

30

【0137】

ローウィ「過剰阻害」ヒートマップおよびブリス「過剰阻害」ヒートマップの視覚化により、B V D - 5 2 3 と、S C H 7 7 2 9 8 4 との組合せは主に相加的であり、範囲の中央用量では潜在的な相乗性域を有することが示唆された(図10)。

【0138】

まとめると、これらの結果は、B V D - 5 2 3 とS C H 7 7 2 9 8 4 との間の相互作用が、少なくとも相加的であり、場合によって、相乗的であることを示唆する。

【化2】

文献

- AVRUCH, J. *et al.* Ras activation of the Raf kinase: tyrosine kinase recruitment of the MAP kinase cascade. *Recent Prog. Horm. Res.*, 2001, 127-155.
- BROSE *et al.* BRAF and RAS mutations in human lung cancer and melanoma. *Cancer Res.*, 2002, 62, 6997-7000. 10
- DAVIES *et al.*, Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*, 2002, 417, 949-954.
- FRANSEN *et al.*, Mutation analysis of the BRAF, ARAF and RAF-1 genes in human colorectal adenocarcinomas. *Carcinogenesis*, 2004, 25, 527-533.
- FRY, D.W. *et al.* (2004). Specific inhibition of cyclin-dependent kinase 4/6 by PD 0332991 and associated antitumor activity in human tumor xenografts. 20
- GARNETT, M.J. *et al.* Wildtype and mutant B-RAF activate C-RAF through distinct mechanisms involving heterodimerization. *Mol. Cell*, 2005, 20, 963-969.
- HOCKER *et al.*, Ultraviolet radiation and melanoma: A systematic review and analysis of reported sequence variants. *Hum. Mutat.*, 2007, 28, 578-588. 30
- LI *et al.*, Recent advances in the research and development of B-Raf Inhibitors. *Current Medicinal Chemistry*, 2010, 17:1618-1634.
- LONG GV, Menzies AM, Nagrial AM, *et al.* Prognostic and Clinicopathologic Associations of Oncogenic BRAF in Metastatic Melanoma. *J Clin Oncol.* 2011 40

【化3】

PARRY, D. *et al.* (2010). Dinaciclib (SCH 727965), a novel and potent cyclin-dependent kinase inhibitor. *Mol Cancer Ther* 9: 2344-2353.

RUSHWORTH, L.K. *et al.* Regulation and role of Raf-1/B-Raf heterodimerization. *Mol. Cell Biol.*, 2006, 26, 2262-2272.

SETH *et al.*, Concomitant mutations and splice variants in KRAS and BRAF demonstrate complex perturbation of the Ras/Raf signalling pathway in advanced colorectal cancer, *Gut* 2009;58:1234-1241

10

WAN, *et al.*, Mechanism of activation of the RAF-ERK signaling pathway by oncogenic mutations of B-RAF. *Cell*, 2004, 116, 855- 867.

WEBER, C.K. *et al.* Active Ras induces heterodimerization of cRaf and BRaf. *Cancer Res.*, 2001, 61, 3595-3598.

WELLBROCK C, Karasarides M, Marais R. The RAF proteins take centre stage. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2004; 5:875–85.

20

XU *et al.*, High prevalence of BRAF gene mutation in papillary thyroid carcinomas and thyroid tumor cell lines. *Cancer Res.*, 2003, 63, 4561-4567.

【0139】

本出願で引用される全ての文献は、本明細書で全面的に言及された場合と同様に、参照により本明細書に組み込まれる。

【0140】

30

本明細書では、本発明の例示的な実施形態について本明細書で記載してきたが、本発明は、記載された実施形態に限定されるものではなく、当業者は、本発明の範囲または精神から逸脱しない限りにおいて、多様な他の変更または改変を施しうることを理解されたい。

例えば、本発明は以下の項目を提供する。

(項目1)

がんの作用を処置または改善することを必要とする被験体におけるがんの作用を処置または改善する方法であって、該被験体へと、有効量の(i) BVD-523または薬学的に許容されるその塩である第1の抗がん剤、および(ii) CDK阻害剤または薬学的に許容されるその塩である第2の抗がん剤を投与して、該がんの作用を処置または改善する

40

(項目2)

前記被験体が、哺乳動物である、項目1に記載の方法。

(項目3)

前記哺乳動物が、ヒト、霊長動物、農場動物、および家庭動物からなる群から選択される、項目2に記載の方法。

(項目4)

前記哺乳動物が、ヒトである、項目2に記載の方法。

(項目5)

前記CDK阻害剤が、2-ヒドロキシボヘミン、3-ATA、5-ヨード-インジルビ

50

ン - 3' - モノキシム、9 - シアノパウロン、アロイシン A、アルステルパウロン 2 - シアノエチル、アルボシジブ (Sanofi)、AM - 5992 (Amgen)、アミノブルバラノール A、アルシリアフラビン A、AT - 7519 (Astex Pharmaceuticals)、AZD 5438 (CAS 番号: 602306 - 29 - 6)、BMS - 265246 (CAS 番号: 582315 - 72 - 8)、BS - 181 (CAS 番号: 1092443 - 52 - 1)、ブチロラクトン I (CAS 番号: 87414 - 49 - 1)、Cdk / Crk 阻害剤 (CAS 番号: 784211 - 09 - 2)、Cdk1 / 5 阻害剤 (CAS 番号: 40254 - 90 - 8)、Cdk2 阻害剤 II (CAS 番号: 222035 - 13 - 4)、Cdk2 阻害剤 IV、NU6140 (CAS 番号: 444723 - 13 - 1)、Cdk4 阻害剤 (CAS 番号: 546102 - 60 - 7)、Cdk4 阻害剤 I I (CAS 番号: 265312 - 55 - 8)、Cdk4 / 6 阻害剤 IV (CAS 番号: 359886 - 84 - 3)、Cdk9 阻害剤 I I (CAS 番号: 140651 - 18 - 9)、CGP 74514A、CR8、CYC - 065 (Cyclacel)、ジナシクリブ (Ligand)、(R) - DRF053 二塩酸塩 (CAS 番号: 1056016 - 06 - 8)、ファスカプリシン、フラボピリドール、ヒグロリジン、インジルピン、LEE - 011 (Astex Pharmaceuticals)、LY - 2835219 (Eli Lilly)、ミルシクリブマレイン酸塩 (Nerviano Medical Sciences)、MM - D37K (Maxwell Biotech)、N9 - イソプロピル - オロモウシン、NSC 625987 (CAS 番号: 141992 - 47 - 4)、NU2058 (CAS 番号: 161058 - 83 - 9)、NU6102 (CAS 番号: 444722 - 95 - 6)、オロモウシン、ON - 108600 (Onconova)、ON - 123300 (Onconova)、オキシインドール I、P - 1446 - 05 (Piramal)、P - 276 - 00 (Piramal)、パルボシクリブ (Pfizer)、PHA - 767491 (CAS 番号: 845714 - 00 - 3)、PHA - 793887 (CAS 番号: 718630 - 59 - 2)、PHA - 848125 (CAS 番号: 802539 - 81 - 7)、ブルバラノール A、ブルバラノール B、R547 (CAS 番号: 741713 - 40 - 6)、RO - 3306 (CAS 番号: 872573 - 93 - 8)、ロスコピチン、SB - 1317 (S BIO)、SCH 900776 (CAS 番号: 891494 - 63 - 6)、SEL - 120 (Selvita)、セリシクリブ (Cyclacel)、SNS - 032 (CAS 番号: 345627 - 80 - 7)、SU9516 (CAS 番号: 377090 - 84 - 1)、WHI - P180 (CAS 番号: 211555 - 08 - 7)、薬学的に許容されるこれらの塩、およびこれらの組合せからなる群から選択される、項目 1 に記載の方法。

10

20

30

(項目 6)

前記 C D K 阻害剤が、ジナシクリブ、パルボシクリブ、薬学的に許容されるこれらの塩、およびこれらの組合せからなる群から選択される、項目 1 に記載の方法。

(項目 7)

がんを有する前記被験体が、体細胞 N R A S 変異を有する、項目 1 に記載の方法。

(項目 8)

前記がんが、神経芽細胞腫、白血病、リンパ腫、肝臓がん、肺がん、皮膚がん、精巣がん、および甲状腺がんからなる群から選択される、項目 1 に記載の方法。

40

(項目 9)

前記がんが、黒色腫である、項目 1 に記載の方法。

(項目 10)

前記被験体へと、抗体またはその断片、細胞傷害剤、薬物、毒素、放射性核種、免疫調節剤、光活性治療剤、放射線増感剤、ホルモン、抗血管新生剤、およびこれらの組合せからなる群から選択される、少なくとも 1 つのさらなる治療剤を投与するステップをさらに含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 11)

前記さらなる治療剤が、P I 3 K / A k t 経路の阻害剤である、項目 10 に記載の方法

50

°

(項目12)

前記PI3K/Akt経路の前記阻害剤が、A-674563(CAS番号:552325-73-2)、AGL 2263、AMG-319(Amgen、Thousand Oaks、CA)、AS-041164(5-ベンゾ[1,3]ジオキソール-5-イルメチレン-チアゾリジン-2,4-ジオン)、AS-604850(5-(2,2-ジフルオロ-ベンゾ[1,3]ジオキソール-5-イルメチレン)-チアゾリジン-2,4-ジオン)、AS-605240(5-キノキシリン-6-メチレン-1,3-チアゾリジン-2,4-ジオン)、AT7867(CAS番号:857531-00-1)、Genentech(Roche Holdings Inc.、South San Francisco、CA)のベンズイミダゾールシリーズ、BML-257(CAS番号:32387-96-5)、CAL-120(Gilead Sciences、Foster City、CA)、CAL-129(Gilead Sciences)、CAL-130(Gilead Sciences)、CAL-253(Gilead Sciences)、CAL-263(Gilead Sciences)、CAS番号:612847-09-3、CAS番号:681281-88-9、CAS番号:75747-14-7、CAS番号:925681-41-0、CAS番号:98510-80-6、CCT128930(CAS番号:885499-61-6)、CH5132799(CAS番号:1007207-67-1)、CHR-4432(Chroma Therapeutics、Ltd.、Abingdon、UK)、FPA 124(CAS番号:902779-59-3)、GS-1101(CAL-101)(Gilead Sciences)、GSK 690693(CAS番号:937174-76-0)、H-89(CAS番号:127243-85-0)、ホノキオール、IC87114(Gilead Science)、IPI-145(Intellikine Inc.)、KAR-4139(Karus Therapeutics、Chilworth、UK)、KAR-4141(Karus Therapeutics)、KIN-1(Karus Therapeutics)、KT 5720(CAS番号:108068-98-0)、ミルテホシン、MK-2206二塩酸塩(CAS番号:1032350-13-2)、ML-9(CAS番号:105637-50-1)、ナルトリンドール塩酸塩、OXY-111A(NormOxys Inc.、Brighton、MA)、ペリホシン、PHT-427(CAS番号:1191951-57-1)、Merck KGaA(Merck & Co.、Whitehouse Station、NJ)のPI3キナーゼデルタ阻害剤、Genentech(Roche Holdings Inc.)のPI3キナーゼデルタ阻害剤、Incozen(Incozen Therapeutics、Pvt.Ltd.、Hydrabad、India)のPI3キナーゼデルタ阻害剤、Incozen(Incozen Therapeutics)のPI3キナーゼデルタ阻害剤2、Roche-4(Roche Holdings Inc.)のPI3キナーゼ阻害剤、Roche(Roche Holdings Inc.)のPI3キナーゼ阻害剤、Roche-5(Roche Holdings Inc.)のPI3キナーゼ阻害剤、Pathway Therapeutics(Pathway Therapeutics Ltd.、South San Francisco、CA)のPI3-アルファ/デルタ阻害剤、Cellzome(Cellzome AG、Heidelberg、Germany)のPI3-デルタ阻害剤、Intellikine(Intellikine Inc.、La Jolla、CA)のPI3-デルタ阻害剤、Pathway Therapeutics-1(Pathway Therapeutics Ltd.)のPI3-デルタ阻害剤、Pathway Therapeutics-2(Pathway Therapeutics Ltd.)のPI3-デルタ阻害剤、Cellzome(Cellzome AG)のPI3-デルタ/ガンマ阻害剤、Cellzome(Cellzome AG)のPI3-デルタ/ガンマ阻害剤、Intellikine(Intellikine Inc.)のPI3-デルタ/ガンマ阻害剤、Inte

10

20

30

40

50

Intellikine (Intellikine Inc.) の PI3 - デルタ / ガンマ阻害剤、 Pathway Therapeutics (Pathway Therapeutics Ltd.) の PI3 - デルタ / ガンマ阻害剤、 Pathway Therapeutics (Pathway Therapeutics Ltd.) の PI3 - デルタ / ガンマ阻害剤、 Evotec (Evotec) の PI3 - ガンマ阻害剤、 Cellzome (Cellzome AG) の PI3 - ガンマ阻害剤、 Pathway Therapeutics (Pathway Therapeutics Ltd.) の PI3 - ガンマ阻害剤、 Intellikine - 1 (Intellikine Inc.) の PI3 K デルタ / ガンマ阻害剤、 Intellikine - 1 (Intellikine Inc.) の PI3 K デルタ / ガンマ阻害剤、 ピクチリシブ (Roche Holdings Inc.)、 PIK - 90 (CAS 番号 : 677338 - 12 - 4)、 SC - 103980 (Pfizer, New York, NY)、 SF - 1126 (Semafore Pharmaceuticals, Indianapolis, IN)、 SH - 5、 SH - 6、 テトラヒドロクルクミン、 TG100 - 115 (Targegen Inc., San Diego, CA)、 トリシリピン、 X - 339 (Xcovery, West Palm Beach, FL)、 XL - 499 (Evotech, Hamburg, Germany)、 薬学的に許容されるこれらの塩、 およびこれらの組合せからなる群から選択される、 項目 11 に記載の方法。

10

(項目 13)

前記第 1 および第 2 の抗がん剤の投与により、 どちらの抗がん剤単独の投与と比較しても相乗作用をもたらす、 項目 1 に記載の方法。

20

(項目 14)

がんの作用を処置または改善することを必要とする被験体におけるがんの作用を処置または改善する方法であって、 該被験体へと、 有効量の (i) BVD - 523 または薬学的に許容されるその塩である第 1 の抗がん剤、 および (ii) ジナシクリブ、 パルボシクリブ および薬学的に許容されるそれらの塩からなる群より選択される第 2 の抗がん剤を投与して、 該がんの作用を処置または改善するステップを含む方法。

(項目 15)

前記被験体が、 哺乳動物である、 項目 14 に記載の方法。

(項目 16)

前記哺乳動物が、 ヒト、 霊長動物、 農場動物、 および家庭動物からなる群から選択される、 項目 15 に記載の方法。

30

(項目 17)

前記哺乳動物が、 ヒトである、 項目 15 に記載の方法。

(項目 18)

前記 BVD - 523 または薬学的に許容されるその塩を、 薬学的に許容される担体または希釈剤をさらに含む医薬組成物の形態で投与する、 項目 14 に記載の方法。

(項目 19)

前記ジナシクリブ、 パルボシクリブまたは薬学的に許容されるそれらの塩を、 薬学的に許容される担体または希釈剤をさらに含む医薬組成物の形態で投与する、 項目 14 に記載の方法。

40

(項目 20)

がんを有する前記被験体が NRAS 変異を有する、 項目 14 に記載の方法。

(項目 21)

前記がんが、 神経芽細胞腫、 白血病、 リンパ腫、 肝臓がん、 肺がん、 皮膚がん、 精巣がん、 および甲状腺がんからなる群から選択される、 項目 14 に記載の方法。

(項目 22)

前記がんが、 黒色腫である、 項目 14 に記載の方法。

(項目 23)

前記被験体へと、 抗体またはその断片、 細胞傷害剤、 毒素、 放射性核種、 免疫調節剤、

50

光活性治療剤、放射線増感剤、ホルモン、抗血管新生剤、およびこれらの組合せからなる群から選択される、少なくとも1つのさらなる治療剤を投与するステップをさらに含む、項目14に記載の方法。

(項目24)

前記さらなる治療剤が、PI3K/Akt経路の阻害剤である、項目23に記載の方法

(項目25)

前記PI3K/Akt経路の前記阻害剤が、A-674563(CAS番号:552325-73-2)、AGL 2263、AMG-319(Amgen、Thousand Oaks、CA)、AS-041164(5-ベンゾ[1,3]ジオキソール-5-イルメチレン-チアゾリジン-2,4-ジオン)、AS-604850(5-(2,2-ジフルオロ-ベンゾ[1,3]ジオキソール-5-イルメチレン)-チアゾリジン-2,4-ジオン)、AS-605240(5-キノキシリン-6-メチレン-1,3-チアゾリジン-2,4-ジオン)、AT7867(CAS番号:857531-00-1)、Genentech(Roche Holdings Inc.、South San Francisco、CA)のベンズイミダゾールシリーズ、BML-257(CAS番号:32387-96-5)、CAL-120(Gilead Sciences、Foster City、CA)、CAL-129(Gilead Sciences)、CAL-130(Gilead Sciences)、CAL-253(Gilead Sciences)、CAL-263(Gilead Sciences)、CAS番号:612847-09-3、CAS番号:681281-88-9、CAS番号:75747-14-7、CAS番号:925681-41-0、CAS番号:98510-80-6、CCT128930(CAS番号:885499-61-6)、CH5132799(CAS番号:1007207-67-1)、CHR-4432(Chroma Therapeutics、Ltd.、Abingdon、UK)、FPA 124(CAS番号:902779-59-3)、GS-1101(CAL-101)(Gilead Sciences)、GSK 690693(CAS番号:937174-76-0)、H-89(CAS番号:127243-85-0)、ホノキオール、IC87114(Gilead Science)、IPI-145(Intellikine Inc.)、KAR-4139(Karus Therapeutics、Chilworth、UK)、KAR-4141(Karus Therapeutics)、KIN-1(Karus Therapeutics)、KT 5720(CAS番号:108068-98-0)、ミルテホシン、MK-2206二塩酸塩(CAS番号:1032350-13-2)、ML-9(CAS番号:105637-50-1)、ナルトリンドール塩酸塩、OXY-111A(NormOxys Inc.、Brighton、MA)、ペリホシン、PHT-427(CAS番号:1191951-57-1)、Merck KGaA(Merck & Co.、Whitehouse Station、NJ)のPI3キナーゼデルタ阻害剤、Genentech(Roche Holdings Inc.)のPI3キナーゼデルタ阻害剤、Incozen(Incozen Therapeutics、Pvt.Ltd.、Hydrabad、India)のPI3キナーゼデルタ阻害剤、Incozen(Incozen Therapeutics)のPI3キナーゼデルタ阻害剤2、Roche-4(Roche Holdings Inc.)のPI3キナーゼ阻害剤、Roche(Roche Holdings Inc.)のPI3キナーゼ阻害剤、Roche-5(Roche Holdings Inc.)のPI3キナーゼ阻害剤、Pathway Therapeutics(Pathway Therapeutics Ltd.、South San Francisco、CA)のPI3-アルファ/デルタ阻害剤、Cellzome(Cellzome AG、Heidelberg、Germany)のPI3-デルタ阻害剤、Intellikine(Intellikine Inc.、La Jolla、CA)のPI3-デルタ阻害剤、Pathway Therapeutics-1(Pathway Therapeutics L

10

20

30

40

50

t d .) の P I 3 - デルタ阻害剤、 Pathway Therapeutics - 2 (Pathway Therapeutics Ltd .) の P I 3 - デルタ阻害剤、 Cellzome (Cellzome AG) の P I 3 - デルタ / ガンマ阻害剤、 Cellzome (Cellzome AG) の P I 3 - デルタ / ガンマ阻害剤、 Intellikine (Intellikine Inc .) の P I 3 - デルタ / ガンマ阻害剤、 Intellikine (Intellikine Inc .) の P I 3 - デルタ / ガンマ阻害剤、 Pathway Therapeutics (Pathway Therapeutics Ltd .) の P I 3 - デルタ / ガンマ阻害剤、 Pathway Therapeutics (Pathway Therapeutics Ltd .) の P I 3 - デルタ / ガンマ阻害剤、 Evotec (Evotec) の P I 3 - ガンマ阻害剤、 Cellzome (Cellzome AG) の P I 3 - ガンマ阻害剤、 Pathway Therapeutics (Pathway Therapeutics Ltd .) の P I 3 - ガンマ阻害剤、 Intellikine - 1 (Intellikine Inc .) の P I 3 K デルタ / ガンマ阻害剤、 Intellikine - 1 (Intellikine Inc .) の P I 3 K デルタ / ガンマ阻害剤、 ピクチリシブ (Roche Holdings Inc .)、 P I K - 9 0 (C A S 番号： 6 7 7 3 3 8 - 1 2 - 4)、 S C - 1 0 3 9 8 0 (P f i z e r、 N e w Y o r k、 N Y)、 S F - 1 1 2 6 (S e m a f o r e P h a r m a c e u t i c a l s、 I n d i a n a p o l i s、 I N)、 S H - 5、 S H - 6、 テトラヒドロクルクミン、 T G 1 0 0 - 1 1 5 (T a r g e g e n I n c .、 S a n D i e g o、 C A)、 トリシリピン、 X - 3 3 9 (X c o v e r y、 W e s t P a l m B e a c h、 F L)、 X L - 4 9 9 (E v o t e c h、 H a m b u r g、 G e r m a n y)、 薬学的に許容されるこれらの塩、およびこれらの組合せからなる群から選択される、項目 2 4 に記載の方法。

10

(項目 2 6)

前記第 1 および第 2 の抗がん剤の投与により、どちらの抗がん剤単独の投与と比較しても相乗作用をもたらす、項目 1 4 に記載の方法。

(項目 2 7)

がん細胞死をもたらす方法であって、該がん細胞を、有効量の (i) B V D - 5 2 3 または薬学的に許容されるその塩である第 1 の抗がん剤、および (i i) C D K 阻害剤または薬学的に許容されるその塩である第 2 の抗がん剤と接触させるステップを含む方法。

30

(項目 2 8)

前記がん細胞が、哺乳動物がん細胞である、項目 2 7 に記載の方法。

(項目 2 9)

前記哺乳動物がん細胞が、ヒト、霊長動物、農場動物、および家庭動物からなる群から選択される哺乳動物から得られる、項目 2 8 に記載の方法。

(項目 3 0)

前記哺乳動物がん細胞が、ヒトがん細胞である、項目 2 8 に記載の方法。

(項目 3 1)

前記 C D K 阻害剤が、 2 - ヒドロキシボヘミン、 3 - A T A、 5 - ヨード - インジルピン - 3 ' - モノキシム、 9 - シアノパウロン、アロイシン A、アルステルパウロン 2 - シアノエチル、アルボシジブ (S a n o f i)、 A M - 5 9 9 2 (A m g e n)、アミノブルバラノール A、アルシリアフラビン A、 A T - 7 5 1 9 (A s t e x P h a r m a c e u t i c a l s)、 A Z D 5 4 3 8 (C A S 番号： 6 0 2 3 0 6 - 2 9 - 6)、 B M S - 2 6 5 2 4 6 (C A S 番号： 5 8 2 3 1 5 - 7 2 - 8)、 B S - 1 8 1 (C A S 番号： 1 0 9 2 4 4 3 - 5 2 - 1)、ブチロラクトン I (C A S 番号： 8 7 4 1 4 - 4 9 - 1)、 C d k / C r k 阻害剤 (C A S 番号： 7 8 4 2 1 1 - 0 9 - 2)、 C d k 1 / 5 阻害剤 (C A S 番号： 4 0 2 5 4 - 9 0 - 8)、 C d k 2 阻害剤 I I (C A S 番号： 2 2 2 0 3 5 - 1 3 - 4)、 C d k 2 阻害剤 I V、 N U 6 1 4 0 (C A S 番号： 4 4 4 7 2 3 - 1 3 - 1)、 C d k 4 阻害剤 (C A S 番号： 5 4 6 1 0 2 - 6 0 - 7)、 C d k 4 阻害剤 I I (C A S 番号： 2 6 5 3 1 2 - 5 5 - 8)、 C d k 4 / 6 阻害剤 I V (C A S 番号：

40

50

359886-84-3)、Cdk9阻害剤II(CAS番号:140651-18-9)、CGP 74514A、CR8、CYC-065(Cyclacel)、ジナシクリブ(Ligand)、(R)-DRF053二塩酸塩(CAS番号:1056016-06-8)、ファスカプリシン、フラボピリドール、ヒグロリジン、インジルピン、LEE-011(Astex Pharmaceuticals)、LY-2835219(Eli Lilly)、ミルシクリブマレイン酸塩(Nerviano Medical Sciences)、MM-D37K(Maxwell Biotech)、N9-イソプロピル-オロモウシン、NSC 625987(CAS番号:141992-47-4)、NU2058(CAS番号:161058-83-9)、NU6102(CAS番号:444722-95-6)、オロモウシン、ON-108600(Onconova)、ON-123300(Onconova)、オキシインドールI、P-1446-05(Piramal)、P-276-00(Piramal)、パルボシクリブ(Pfizer)、PHA-767491(CAS番号:845714-00-3)、PHA-793887(CAS番号:718630-59-2)、PHA-848125(CAS番号:802539-81-7)、プルバラノールA、プルバラノールB、R547(CAS番号:741713-40-6)、RO-3306(CAS番号:872573-93-8)、ロスコピチン、SB-1317(SBIO)、SCH 900776(CAS番号:891494-63-6)、SEL-120(Selvita)、セリシクリブ(Cyclacel)、SNS-032(CAS番号:345627-80-7)、SU9516(CAS番号:377090-84-1)、WHI-P180(CAS番号:211555-08-7)、薬学的に許容されるこれらの塩、およびこれらの組合せからなる群から選択される、項目27に記載の方法。

10

20

(項目32)

前記CDK阻害剤が、ジナシクリブ、パルボシクリブ、薬学的に許容されるこれらの塩、およびこれらの組合せからなる群から選択される、項目27に記載の方法。

(項目33)

がんを有する前記被験体が、体細胞NRAS変異を有する、項目27に記載の方法。

(項目34)

前記がん細胞が、神経芽細胞腫、白血病、リンパ腫、肝臓がん、肺がん、皮膚がん、精巣がん、および甲状腺がんからなる群から選択されるがんから得られる、項目27に記載の方法。

30

(項目35)

前記がんが、黒色腫である、項目27に記載の方法。

(項目36)

抗体またはその断片、細胞傷害剤、薬物、毒素、放射性核種、免疫調節剤、光活性治療剤、放射線増感剤、ホルモン、抗血管新生剤、およびこれらの組合せからなる群から選択される少なくとも1つのさらなる治療剤を、前記がん細胞と接触させるステップをさらに含む、項目27に記載の方法。

(項目37)

前記さらなる治療剤が、PI3K/Akt経路の阻害剤である、項目36に記載の方法。

40

(項目38)

前記PI3K/Akt経路の前記阻害剤が、A-674563(CAS番号:552325-73-2)、AGL 2263、AMG-319(Amgen、Thousand Oaks、CA)、AS-041164(5-ベンゾ[1,3]ジオキソール-5-イルメチレン-チアゾリジン-2,4-ジオン)、AS-604850(5-(2,2-ジフルオロ-ベンゾ[1,3]ジオキソール-5-イルメチレン)-チアゾリジン-2,4-ジオン)、AS-605240(5-キノキシリン-6-メチレン-1,3-チアゾリジン-2,4-ジオン)、AT7867(CAS番号:857531-00-1)、Genentech(Roche Holdings Inc.、South San Fr

50

ancisco, CA)のベンズイミダゾールシリーズ、BML-257 (CAS番号:
32387-96-5)、CAL-120 (Gilead Sciences, Foster
City, CA)、CAL-129 (Gilead Sciences)、CAL
-130 (Gilead Sciences)、CAL-253 (Gilead Sci
ences)、CAL-263 (Gilead Sciences)、CAS番号: 61
2847-09-3、CAS番号: 681281-88-9、CAS番号: 75747-
14-7、CAS番号: 925681-41-0、CAS番号: 98510-80-6、
CCT128930 (CAS番号: 885499-61-6)、CH5132799 (C
AS番号: 1007207-67-1)、CHR-4432 (Chroma Thera
peutics, Ltd., Abingdon, UK)、FPA 124 (CAS番号:
902779-59-3)、GS-1101 (CAL-101) (Gilead Sci
ences)、GSK 690693 (CAS番号: 937174-76-0)、H-8
9 (CAS番号: 127243-85-0)、ホノキオール、IC87114 (Gile
ad Science)、IPI-145 (Intellikine Inc.)、KA
R-4139 (Karus Therapeutics, Chilworth, UK)、
KAR-4141 (Karus Therapeutics)、KIN-1 (Karus
Therapeutics)、KT 5720 (CAS番号: 108068-98-0
)、ミルテホシン、MK-2206二塩酸塩 (CAS番号: 1032350-13-2)
、ML-9 (CAS番号: 105637-50-1)、ナルトリンドール塩酸塩、OXY
-111A (NormOxys Inc., Brighton, MA)、ペリホシン、P
HT-427 (CAS番号: 1191951-57-1)、Merck KGaA (Me
rck & Co., Whitehouse Station, NJ)のPI3キナーゼ
デルタ阻害剤、Genentech (Roche Holdings Inc.)のPI
3キナーゼデルタ阻害剤、Incozen (Incozen Therapeutics
, Pvt. Ltd., Hyderabad, India)のPI3キナーゼデルタ阻害剤、
Incozen (Incozen Therapeutics)のPI3キナーゼデルタ
阻害剤2、Roche-4 (Roche Holdings Inc.)のPI3キナー
ゼ阻害剤、Roche (Roche Holdings Inc.)のPI3キナーゼ阻
害剤、Roche-5 (Roche Holdings Inc.)のPI3キナーゼ阻
害剤、Pathway Therapeutics (Pathway Therapeu
tics Ltd., South San Francisco, CA)のPI3-アル
ファ/デルタ阻害剤、Cellzome (Cellzome AG, Heidelber
g, Germany)のPI3-デルタ阻害剤、Intellikine (Intelli
ikine Inc., La Jolla, CA)のPI3-デルタ阻害剤、Pathw
ay Therapeutics-1 (Pathway Therapeutics Ltd.)のPI3-デルタ阻害剤、Pathway Therapeutics-2 (P
athway Therapeutics Ltd.)のPI3-デルタ阻害剤、Cel
lzome (Cellzome AG)のPI3-デルタ/ガンマ阻害剤、Cellzo
me (Cellzome AG)のPI3-デルタ/ガンマ阻害剤、Intellikine
(Intellikine Inc.)のPI3-デルタ/ガンマ阻害剤、Inte
llikine (Intellikine Inc.)のPI3-デルタ/ガンマ阻害剤
、Pathway Therapeutics (Pathway Therapeuti
cs Ltd.)のPI3-デルタ/ガンマ阻害剤、Pathway Therapeu
tics (Pathway Therapeutics Ltd.)のPI3-デルタ/
ガンマ阻害剤、Evotec (Evotec)のPI3-ガンマ阻害剤、Cellzom
e (Cellzome AG)のPI3-ガンマ阻害剤、Pathway Therap
eutics (Pathway Therapeutics Ltd.)のPI3-ガン
マ阻害剤、Intellikine-1 (Intellikine Inc.)のPI3
Kデルタ/ガンマ阻害剤、Intellikine-1 (Intellikine In
c.)のPI3Kデルタ/ガンマ阻害剤、ピクチリシブ (Roche Holdings

10

20

30

40

50

Inc.)、PIK-90 (CAS番号：677338-12-4)、SC-103980 (Pfizer、New York、NY)、SF-1126 (Semafore Pharmaceuticals、Indianapolis、IN)、SH-5、SH-6、テトラヒドロクルクミン、TG100-115 (Targegen Inc.、San Diego、CA)、トリシリピン、X-339 (Xcovery、West Palm Beach、FL)、XL-499 (Evotech、Hamburg、Germany)、薬学的に許容されるこれらの塩、およびこれらの組合せからなる群から選択される、項目37に記載の方法。

(項目39)

前記がん細胞を、前記第1および第2の抗がん剤と接触させることにより、該がん細胞をどちらの抗がん剤単独と接触させることと比較しても相乗作用をもたらす、項目27に記載の方法。

10

(項目40)

がんの作用を処置または改善することを必要とする被験体におけるがんの作用を処置または改善するためのキットであって、有効量の(i)BVD-523または薬学的に許容されるその塩である第1の抗がん剤、および(ii)CDK阻害剤または薬学的に許容されるその塩である第2の抗がん剤を、それらの使用のための指示と一緒にパッケージングされて、含むキット。

(項目41)

前記被験体が、哺乳動物である、項目40に記載のキット。

20

(項目42)

前記哺乳動物が、ヒト、霊長動物、農場動物、および家庭動物からなる群から選択される、項目41に記載のキット。

(項目43)

前記哺乳動物が、ヒトである、項目41に記載のキット。

(項目44)

前記CDK阻害剤が、化合物2-ヒドロキシボヘミン、3-ATA、5-ヨード-インジルピン-3'-モノキシム、9-シアノパウロン、アロイシンA、アルステルパウロン2-シアノエチル、アルボシジブ(Sanofi)、AM-5992(Amgen)、アミノプルバラノールA、アルシリアフラビンA、AT-7519(Astex Pharmaceuticals)、AZD 5438 (CAS番号：602306-29-6)、BMS-265246 (CAS番号：582315-72-8)、BS-181 (CAS番号：1092443-52-1)、ブチロラクトンI (CAS番号：87414-49-1)、Cdk/Crk阻害剤 (CAS番号：784211-09-2)、Cdk1/5阻害剤 (CAS番号：40254-90-8)、Cdk2阻害剤II (CAS番号：222035-13-4)、Cdk2阻害剤IV、NU6140 (CAS番号：444723-13-1)、Cdk4阻害剤 (CAS番号：546102-60-7)、Cdk4阻害剤III (CAS番号：265312-55-8)、Cdk4/6阻害剤IV (CAS番号：359886-84-3)、Cdk9阻害剤II (CAS番号：140651-18-9)、CGP 74514A、CR8、CYC-065 (Cyclacel)、ジナシクリブ(Ligand)、(R)-DRF053二塩酸塩 (CAS番号：1056016-06-8)、ファスカプリシン、フラボピリドール、ヒグロリジン、インジルピン、LEE-011 (Astex Pharmaceuticals)、LY-2835219 (Eli Lilly)、ミルシクリブマレイン酸塩 (Nerviano Medical Sciences)、MM-D37K (Maxwell Biotech)、N9-イソプロピル-オロモウシン、NSC 625987 (CAS番号：141992-47-4)、NU2058 (CAS番号：161058-83-9)、NU6102 (CAS番号：444722-95-6)、オロモウシン、ON-108600 (Onconova)、ON-123300 (Onconova)、オキシインドールI、P-1446-05 (Piramal)、P-276-00 (Piramal)、パルボシクリブ(P

30

40

50

fizer)、PHA-767491(CAS番号:845714-00-3)、PHA-793887(CAS番号:718630-59-2)、PHA-848125(CAS番号:802539-81-7)、プルバラノールA、プルバラノールB、R547(CAS番号:741713-40-6)、RO-3306(CAS番号:872573-93-8)、ロスコビチン、SB-1317(SBIO)、SCH 900776(CAS番号:891494-63-6)、SEL-120(Selvita)、セリシクリブ(Cyclacel)、SNS-032(CAS番号:345627-80-7)、SU9516(CAS番号:377090-84-1)、WHI-P180(CAS番号:211555-08-7)、薬学的に許容されるこれらの塩、およびこれらの組合せからなる群から選択される、項目40に記載のキット。

10

(項目45)

前記CDK阻害剤が、ジナシクリブ、パルボシクリブ、薬学的に許容されるこれらの塩、およびこれらの組合せからなる群から選択される、項目40に記載のキット。

(項目46)

がんを有する前記被験体がNRAS変異を有する、項目40に記載のキット。

(項目47)

前記がんが、神経芽細胞腫、白血病、リンパ腫、肝臓がん、肺がん、皮膚がん、精巣がん、および甲状腺がんからなる群から選択される、項目40に記載のキット。

(項目48)

前記がんが、黒色腫である、項目40に記載のキット。

20

(項目49)

抗体またはその断片、細胞傷害剤、薬物、毒素、放射性核種、免疫調節剤、光活性治療剤、放射線増感剤、ホルモン、抗血管新生剤、およびこれらの組合せからなる群から選択される、少なくとも1つのさらなる治療剤をさらに含む、項目40に記載のキット。

(項目50)

前記さらなる治療剤が、PI3K/Akt経路の阻害剤である、項目49に記載のキット。

(項目51)

前記PI3K/Akt経路の前記阻害剤が、A-674563(CAS番号:552325-73-2)、AGL 2263、AMG-319(Amgen、Thousand Oaks、CA)、AS-041164(5-ベンゾ[1,3]ジオキソール-5-イルメチレン-チアゾリジン-2,4-ジオン)、AS-604850(5-(2,2-ジフルオロ-ベンゾ[1,3]ジオキソール-5-イルメチレン)-チアゾリジン-2,4-ジオン)、AS-605240(5-キノキシリン-6-メチレン-1,3-チアゾリジン-2,4-ジオン)、AT7867(CAS番号:857531-00-1)、Genentech(Roche Holdings Inc.、South San Francisco、CA)のベンズイミダゾールシリーズ、BML-257(CAS番号:32387-96-5)、CAL-120(Gilead Sciences、Foster City、CA)、CAL-129(Gilead Sciences)、CAL-130(Gilead Sciences)、CAL-253(Gilead Sciences)、CAL-263(Gilead Sciences)、CAS番号:612847-09-3、CAS番号:681281-88-9、CAS番号:75747-14-7、CAS番号:925681-41-0、CAS番号:98510-80-6、CCT128930(CAS番号:885499-61-6)、CH5132799(CAS番号:1007207-67-1)、CHR-4432(Chroma Therapeutics、Ltd.、Abingdon、UK)、FPA 124(CAS番号:902779-59-3)、GS-1101(CAL-101)(Gilead Sciences)、GSK 690693(CAS番号:937174-76-0)、H-89(CAS番号:127243-85-0)、ホノキオール、IC87114(Gilead Science)、IPI-145(Intellikine Inc.)、KA

30

40

50

R - 4139 (Karus Therapeutics, Chilworth, UK)、
 KAR - 4141 (Karus Therapeutics)、KIN - 1 (Karus
 Therapeutics)、KT 5720 (CAS番号: 108068 - 98 - 0
)、ミルテホシン、MK - 2206 二塩酸塩 (CAS番号: 1032350 - 13 - 2)
)、ML - 9 (CAS番号: 105637 - 50 - 1)、ナルトリンドール塩酸塩、OXY
 - 111A (NormOxys Inc., Brighton, MA)、ペリホシン、P
 HT - 427 (CAS番号: 1191951 - 57 - 1)、Merck KGaA (Me
 rck & Co., Whitehouse Station, NJ) のPI3キナーゼ
 デルタ阻害剤、Genentech (Roche Holdings Inc.) のPI
 3キナーゼデルタ阻害剤、Incozen (Incozen Therapeutics
 , Pvt. Ltd., Hyderabad, India) のPI3キナーゼデルタ阻害剤、
 Incozen (Incozen Therapeutics) のPI3キナーゼデルタ
 阻害剤2、Roche - 4 (Roche Holdings Inc.) のPI3キナー
 ゼ阻害剤、Roche (Roche Holdings Inc.) のPI3キナーゼ阻
 害剤、Roche - 5 (Roche Holdings Inc.) のPI3キナーゼ阻
 害剤、Pathway Therapeutics (Pathway Therapeu
 tics Ltd., South San Francisco, CA) のPI3 - アル
 ファ/デルタ阻害剤、Cellzome (Cellzome AG, Heidelber
 g, Germany) のPI3 - デルタ阻害剤、Intellikine (Intelli
 kine Inc., La Jolla, CA) のPI3 - デルタ阻害剤、Pathw
 ay Therapeutics - 1 (Pathway Therapeutics Ltd.) のPI3 - デルタ阻害剤、Pathway Therapeutics - 2 (P
 athway Therapeutics Ltd.) のPI3 - デルタ阻害剤、Cel
 lzome (Cellzome AG) のPI3 - デルタ/ガンマ阻害剤、Cellzo
 me (Cellzome AG) のPI3 - デルタ/ガンマ阻害剤、Intellikine (Intellikine Inc.) のPI3 - デルタ/ガンマ阻害剤、Inte
 llikine (Intellikine Inc.) のPI3 - デルタ/ガンマ阻害剤、
 Pathway Therapeutics (Pathway Therapeuti
 cs Ltd.) のPI3 - デルタ/ガンマ阻害剤、Pathway Therapeu
 tics (Pathway Therapeutics Ltd.) のPI3 - デルタ/
 ガンマ阻害剤、Evotec (Evotec) のPI3 - ガンマ阻害剤、Cellzom
 e (Cellzome AG) のPI3 - ガンマ阻害剤、Pathway Therap
 eutics (Pathway Therapeutics Ltd.) のPI3 - ガン
 マ阻害剤、Intellikine - 1 (Intellikine Inc.) のPI3
 Kデルタ/ガンマ阻害剤、Intellikine - 1 (Intellikine In
 c.) のPI3Kデルタ/ガンマ阻害剤、ピクチリシブ (Roche Holdings
 Inc.)、PIK - 90 (CAS番号: 677338 - 12 - 4)、SC - 1039
 80 (Pfizer, New York, NY)、SF - 1126 (Semafore
 Pharmaceuticals, Indianapolis, IN)、SH - 5、SH
 - 6、テトラヒドロクルクミン、TG100 - 115 (Targegen Inc., S
 an Diego, CA)、トリシリピン、X - 339 (Xcovery, West P
 alm Beach, FL)、XL - 499 (Evotech, Hamburg, Ger
 many)、薬学的に許容されるこれらの塩、およびこれらの組合せからなる群から選択
 される、項目50に記載のキット。

(項目52)

前記第1および第2の抗がん剤の投与により、どちらの抗がん剤単独の投与と比較して
 も相乗作用がもたらされる、項目40に記載のキット。

(項目53)

がんの作用を処置または改善することを必要とする被験体におけるがんの作用を処置ま
 たは改善するための医薬組成物であって、薬学的に許容される希釈剤または担体と、有効

10

20

30

40

50

量の (i) B V D - 5 2 3 または薬学的に許容されるその塩である第 1 の抗がん剤、および (i i) C D K 阻害剤または薬学的に許容されるその塩である第 2 の抗がん剤とを含み、該第 1 および第 2 の抗がん剤の投与により、どちらの抗がん剤単独の投与と比較しても相乗作用をもたらす医薬組成物。

(項目 5 4)

前記被験体が、哺乳動物である、項目 5 3 に記載の医薬組成物。

(項目 5 5)

前記哺乳動物が、ヒト、霊長動物、農場動物、および家庭動物からなる群から選択される、項目 5 4 に記載の医薬組成物。

(項目 5 6)

前記哺乳動物が、ヒトである、項目 5 4 に記載の医薬組成物。

(項目 5 7)

前記 C D K 阻害剤が、2 - ヒドロキシボヘミン、3 - A T A、5 - ヨード - インジルピン - 3 ' - モノキシム、9 - シアノパウロン、アロイシン A、アルステルパウロン 2 - シアノエチル、アルボシジブ (S a n o f i)、A M - 5 9 9 2 (A m g e n)、アミノプルバラノール A、アルシリアフラビン A、A T - 7 5 1 9 (A s t e x P h a r m a c e u t i c a l s)、A Z D 5 4 3 8 (C A S 番号 : 6 0 2 3 0 6 - 2 9 - 6)、B M S - 2 6 5 2 4 6 (C A S 番号 : 5 8 2 3 1 5 - 7 2 - 8)、B S - 1 8 1 (C A S 番号 : 1 0 9 2 4 4 3 - 5 2 - 1)、ブチロラクトン I (C A S 番号 : 8 7 4 1 4 - 4 9 - 1)、C d k / C r k 阻害剤 (C A S 番号 : 7 8 4 2 1 1 - 0 9 - 2)、C d k 1 / 5 阻害剤 (C A S 番号 : 4 0 2 5 4 - 9 0 - 8)、C d k 2 阻害剤 I I (C A S 番号 : 2 2 2 0 3 5 - 1 3 - 4)、C d k 2 阻害剤 I V、N U 6 1 4 0 (C A S 番号 : 4 4 4 7 2 3 - 1 3 - 1)、C d k 4 阻害剤 (C A S 番号 : 5 4 6 1 0 2 - 6 0 - 7)、C d k 4 阻害剤 I I (C A S 番号 : 2 6 5 3 1 2 - 5 5 - 8)、C d k 4 / 6 阻害剤 I V (C A S 番号 : 3 5 9 8 8 6 - 8 4 - 3)、C d k 9 阻害剤 I I (C A S 番号 : 1 4 0 6 5 1 - 1 8 - 9)、C G P 7 4 5 1 4 A、C R 8、C Y C - 0 6 5 (C y c l a c e l)、ジナシクリブ (L i g a n d)、(R) - D R F 0 5 3 二塩酸塩 (C A S 番号 : 1 0 5 6 0 1 6 - 0 6 - 8)、ファスカプリシン、フラボピリドール、ヒグロリジン、インジルピン、L E E - 0 1 1 (A s t e x P h a r m a c e u t i c a l s)、L Y - 2 8 3 5 2 1 9 (E l l i L i l l y)、ミルシクリブマレイン酸塩 (N e r v i a n o M e d i c a l S c i e n c e s)、M M - D 3 7 K (M a x w e l l B i o t e c h)、N 9 - イソプロピル - オロモウシン、N S C 6 2 5 9 8 7 (C A S 番号 : 1 4 1 9 9 2 - 4 7 - 4)、N U 2 0 5 8 (C A S 番号 : 1 6 1 0 5 8 - 8 3 - 9)、N U 6 1 0 2 (C A S 番号 : 4 4 4 7 2 2 - 9 5 - 6)、オロモウシン、O N - 1 0 8 6 0 0 (O n c o n o v a)、O N - 1 2 3 3 0 0 (O n c o n o v a)、オキシインドール I、P - 1 4 4 6 - 0 5 (P i r a m a l)、P - 2 7 6 - 0 0 (P i r a m a l)、パルボシクリブ (P f i z e r)、P H A - 7 6 7 4 9 1 (C A S 番号 : 8 4 5 7 1 4 - 0 0 - 3)、P H A - 7 9 3 8 8 7 (C A S 番号 : 7 1 8 6 3 0 - 5 9 - 2)、P H A - 8 4 8 1 2 5 (C A S 番号 : 8 0 2 5 3 9 - 8 1 - 7)、プルバラノール A、プルバラノール B、R 5 4 7 (C A S 番号 : 7 4 1 7 1 3 - 4 0 - 6)、R O - 3 3 0 6 (C A S 番号 : 8 7 2 5 7 3 - 9 3 - 8)、ロスコピチン、S B - 1 3 1 7 (S B I O)、S C H 9 0 0 7 7 6 (C A S 番号 : 8 9 1 4 9 4 - 6 3 - 6)、S E L - 1 2 0 (S e l v i t a)、セリシクリブ (C y c l a c e l)、S N S - 0 3 2 (C A S 番号 : 3 4 5 6 2 7 - 8 0 - 7)、S U 9 5 1 6 (C A S 番号 : 3 7 7 0 9 0 - 8 4 - 1)、W H I - P 1 8 0 (C A S 番号 : 2 1 1 5 5 5 - 0 8 - 7)、薬学的に許容されるこれらの塩、およびこれらの組合せからなる群から選択される、項目 5 3 に記載の医薬組成物。

(項目 5 8)

前記 C D K 阻害剤が、ジナシクリブ、パルボシクリブ、薬学的に許容されるこれらの塩、およびこれらの組合せからなる群から選択される、項目 5 3 に記載の医薬組成物。

(項目 5 9)

10

20

30

40

50

がんを有する前記被験体が体細胞N R A S変異を有する、項目53に記載の医薬組成物

(項目60)

前記がんが、神経芽細胞腫、白血病、リンパ腫、肝臓がん、肺がん、皮膚がん、精巣がん、および甲状腺がんからなる群から選択される、項目53に記載の医薬組成物。

(項目61)

前記がんが、黒色腫である、項目53に記載の医薬組成物。

(項目62)

抗体またはその断片、細胞傷害剤、毒素、放射性核種、免疫調節剤、光活性治療剤、放射線増感剤、ホルモン、抗血管新生剤、およびこれらの組合せからなる群から選択される、少なくとも1つのさらなる治療剤をさらに含む、項目53に記載の医薬組成物。

10

(項目63)

前記さらなる治療剤が、PI3K/Akt経路の阻害剤である、項目62に記載の医薬組成物。

(項目64)

前記PI3K/Akt経路の前記阻害剤が、A-674563(CAS番号:552325-73-2)、AGL 2263、AMG-319(Amgen、Thousand Oaks、CA)、AS-041164(5-ベンゾ[1,3]ジオキソール-5-イルメチレン-チアゾリジン-2,4-ジオン)、AS-604850(5-(2,2-ジフルオロ-ベンゾ[1,3]ジオキソール-5-イルメチレン)-チアゾリジン-2,4-ジオン)、AS-605240(5-キノキシリン-6-メチレン-1,3-チアゾリジン-2,4-ジオン)、AT7867(CAS番号:857531-00-1)、Genentech(Roche Holdings Inc.、South San Francisco、CA)のベンズイミダゾールシリーズ、BML-257(CAS番号:32387-96-5)、CAL-120(Gilead Sciences、Foster City、CA)、CAL-129(Gilead Sciences)、CAL-130(Gilead Sciences)、CAL-253(Gilead Sciences)、CAL-263(Gilead Sciences)、CAS番号:612847-09-3、CAS番号:681281-88-9、CAS番号:75747-14-7、CAS番号:925681-41-0、CAS番号:98510-80-6、CCT128930(CAS番号:885499-61-6)、CH5132799(CAS番号:1007207-67-1)、CHR-4432(Chroma Therapeutics、Ltd.、Abingdon、UK)、FPA 124(CAS番号:902779-59-3)、GS-1101(CAL-101)(Gilead Sciences)、GSK 690693(CAS番号:937174-76-0)、H-89(CAS番号:127243-85-0)、ホノキオール、IC87114(Gilead Science)、IPI-145(Intellikine Inc.)、KAR-4139(Karus Therapeutics、Chilworth、UK)、KAR-4141(Karus Therapeutics)、KIN-1(Karus Therapeutics)、KT 5720(CAS番号:108068-98-0)、ミルテホシン、MK-2206二塩酸塩(CAS番号:1032350-13-2)、ML-9(CAS番号:105637-50-1)、ナルトリンドール塩酸塩、OXY-111A(Normoxys Inc.、Brighton、MA)、ペリホシン、PHT-427(CAS番号:1191951-57-1)、Merck KGaA(Merck & Co.、Whitehouse Station、NJ)のPI3キナーゼデルタ阻害剤、Genentech(Roche Holdings Inc.)のPI3キナーゼデルタ阻害剤、Incozen(Incozen Therapeutics、Pvt.Ltd.、Hydrabad、India)のPI3キナーゼデルタ阻害剤、Incozen(Incozen Therapeutics)のPI3キナーゼデルタ阻害剤2、Roche-4(Roche Holdings Inc.)のPI3キナー

20

30

40

50

ゼ阻害剤、Roche (Roche Holdings Inc.) のPI3キナーゼ阻害剤、Roche-5 (Roche Holdings Inc.) のPI3キナーゼ阻害剤、Pathway Therapeutics (Pathway Therapeutics Ltd., South San Francisco, CA) のPI3-アルファ/デルタ阻害剤、Cellzome (Cellzome AG, Heidelberg, Germany) のPI3-デルタ阻害剤、Intellikine (Intellikine Inc., La Jolla, CA) のPI3-デルタ阻害剤、Pathway Therapeutics-1 (Pathway Therapeutics Ltd.) のPI3-デルタ阻害剤、Pathway Therapeutics-2 (Pathway Therapeutics Ltd.) のPI3-デルタ阻害剤、Cellzome (Cellzome AG) のPI3-デルタ/ガンマ阻害剤、Cellzome (Cellzome AG) のPI3-デルタ/ガンマ阻害剤、Intellikine (Intellikine Inc.) のPI3-デルタ/ガンマ阻害剤、Intellikine (Intellikine Inc.) のPI3-デルタ/ガンマ阻害剤、Pathway Therapeutics (Pathway Therapeutics Ltd.) のPI3-デルタ/ガンマ阻害剤、Pathway Therapeutics (Pathway Therapeutics Ltd.) のPI3-デルタ/ガンマ阻害剤、Evotec (Evotec) のPI3-ガンマ阻害剤、Cellzome (Cellzome AG) のPI3-ガンマ阻害剤、Pathway Therapeutics (Pathway Therapeutics Ltd.) のPI3-ガンマ阻害剤、Intellikine-1 (Intellikine Inc.) のPI3Kデルタ/ガンマ阻害剤、Intellikine-1 (Intellikine Inc.) のPI3Kデルタ/ガンマ阻害剤、ピクチリシブ (Roche Holdings Inc.)、PIK-90 (CAS番号: 677338-12-4)、SC-103980 (Pfizer, New York, NY)、SF-1126 (Semafore Pharmaceuticals, Indianapolis, IN)、SH-5、SH-6、テトラヒドロクルクミン、TG100-115 (Targegen Inc., San Diego, CA)、トリシリピン、X-339 (Xcovery, West Palm Beach, FL)、XL-499 (Evotech, Hamburg, Germany)、薬学的に許容されるこれらの塩、およびこれらの組合せからなる群から選択される、項目63に記載の医薬組成物。

10

20

30

(項目65)

両方の抗がん剤を含む単位剤形である、項目53に記載の医薬組成物。

(項目66)

前記第1の抗がん剤が、第1の単位剤形であり、前記第2の抗がん剤が、該第1とは別個の第2の単位剤形である、項目53に記載の医薬組成物。

(項目67)

前記第1および第2の抗がん剤が、前記被験体へと共投与される、項目53に記載の医薬組成物。

(項目68)

前記第1および第2の抗がん剤が、前記被験体へと逐次的に投与される、項目53に記載の医薬組成物。

40

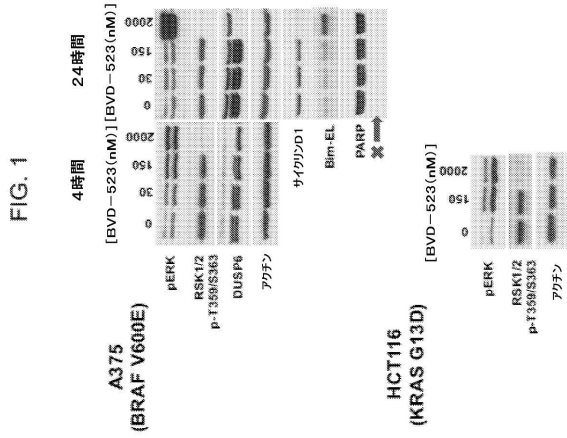
(項目69)

前記第1の抗がん剤が、前記第2の抗がん剤の前に前記被験体へと投与される、項目68に記載の医薬組成物。

(項目70)

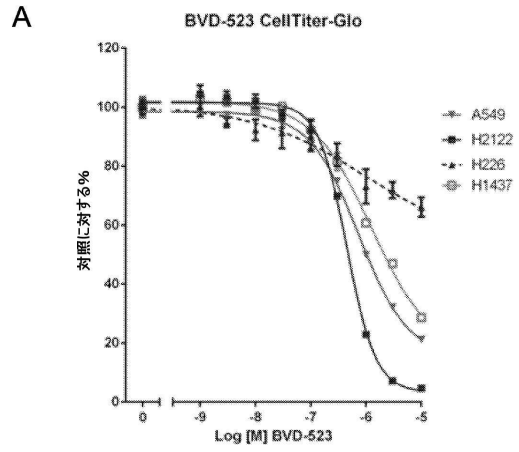
前記第2の抗がん剤が、前記第1の抗がん剤の前に前記被験体へと投与される、項目68に記載の医薬組成物。

【 図 1 】



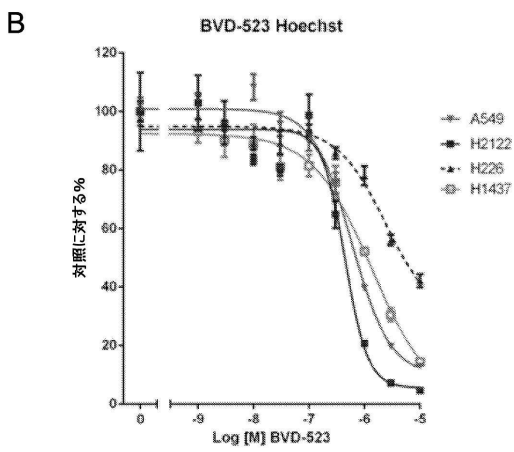
【 図 2 A 】

FIG. 2



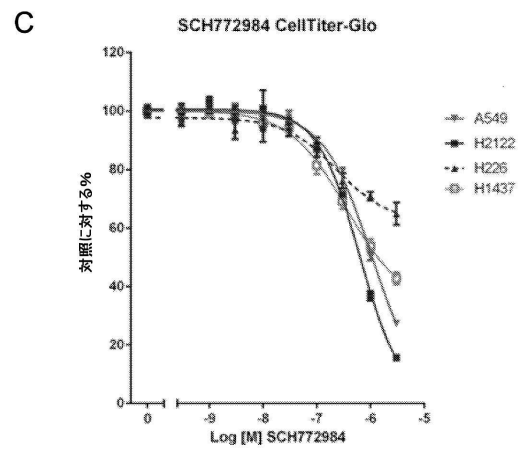
【 図 2 B 】

FIG. 2, 続き



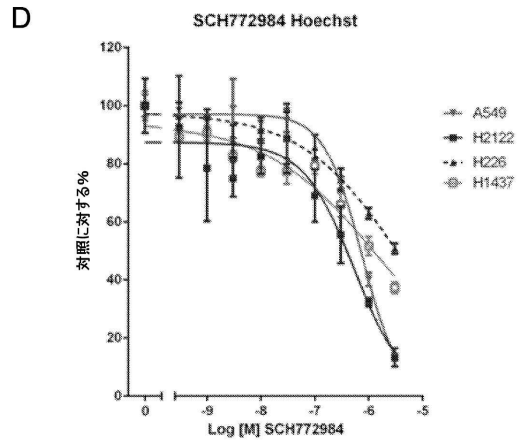
【 図 2 C 】

FIG. 2, 続き



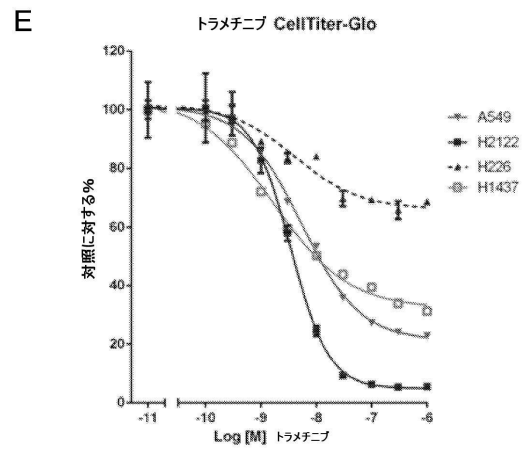
【 図 2 D 】

FIG. 2, 続き



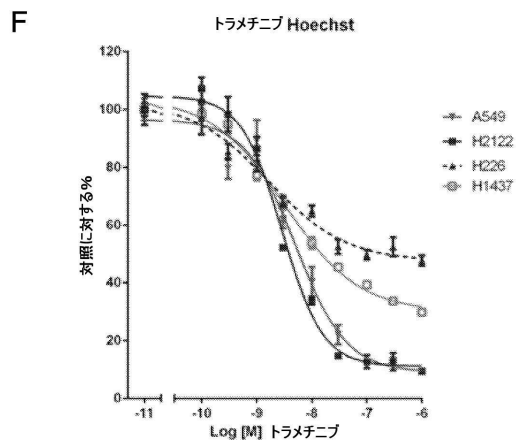
【 図 2 E 】

FIG. 2, 続き



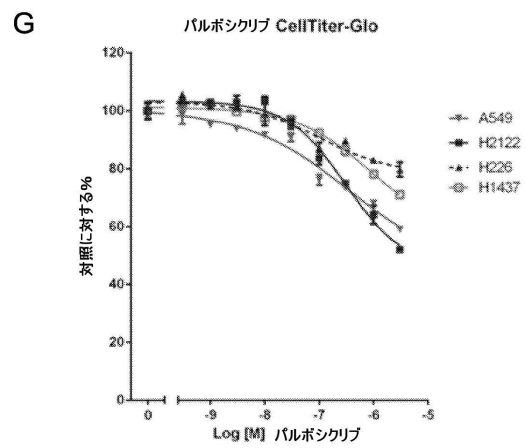
【 図 2 F 】

FIG. 2, 続き



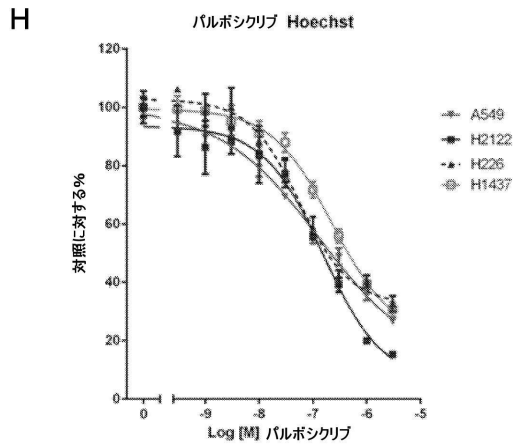
【 図 2 G 】

FIG. 2, 続き



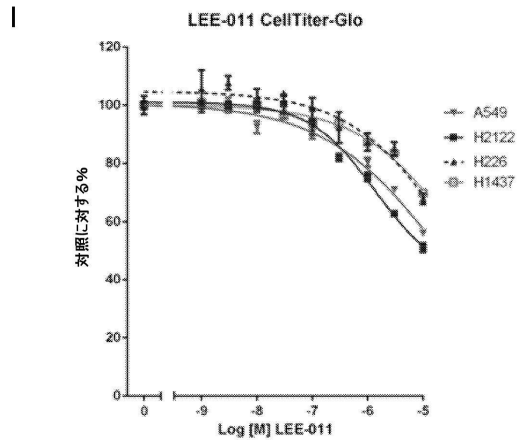
【 図 2 H 】

FIG. 2, 続き



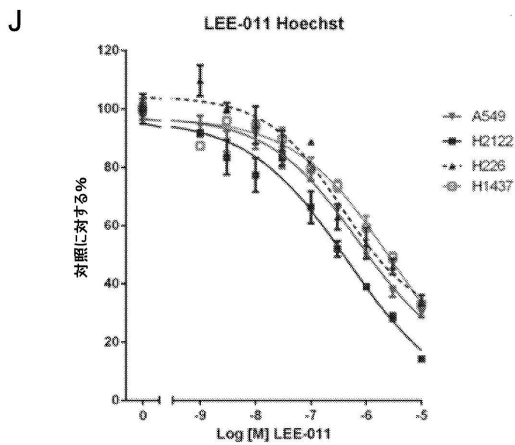
【 図 2 I 】

FIG. 2, 続き



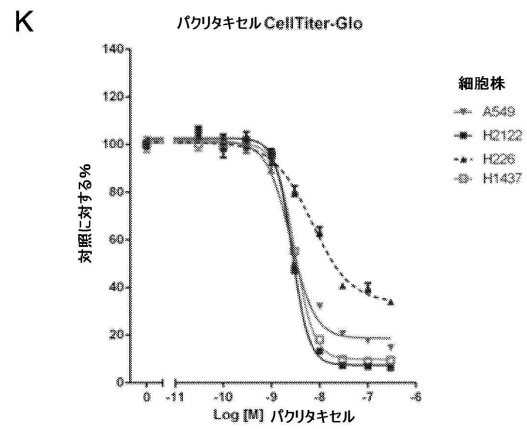
【 図 2 J 】

FIG. 2, 続き



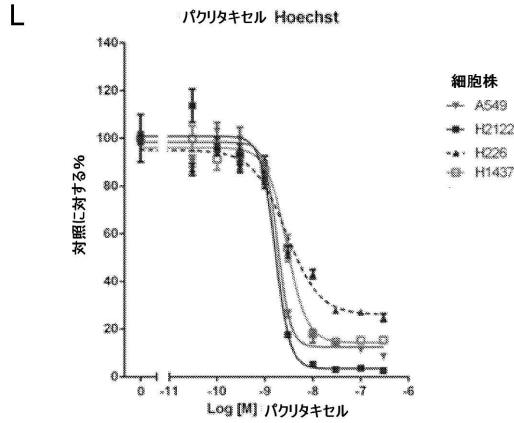
【 図 2 K 】

FIG. 2, 続き



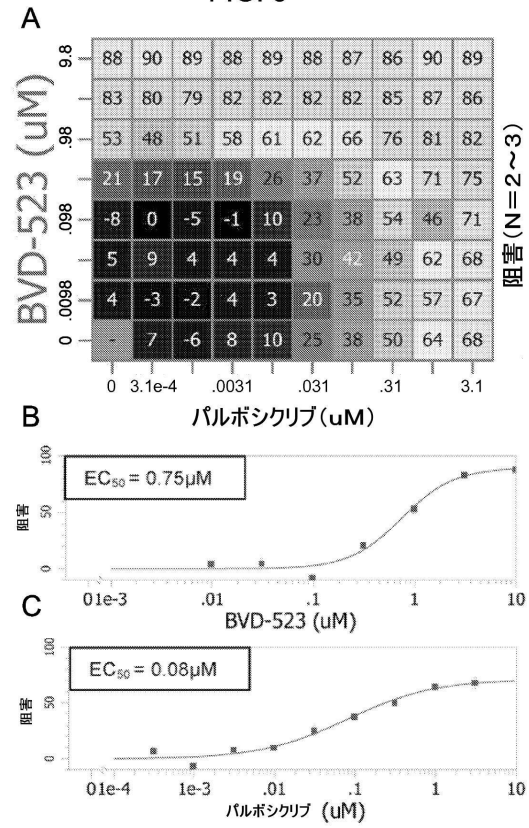
【 図 2 L 】

FIG. 2, 続き



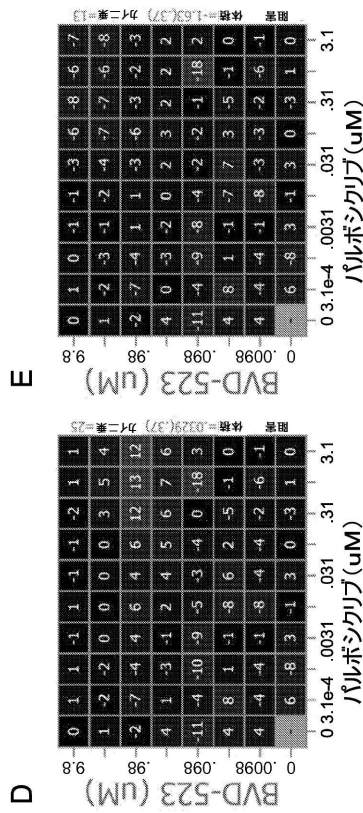
【 図 3 A - C 】

FIG. 3



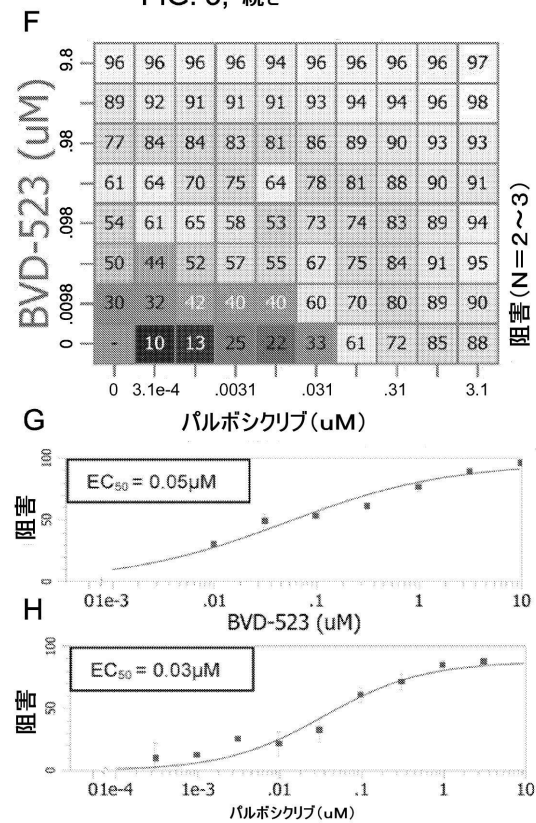
【 図 3 D - E 】

FIG. 3, 続き



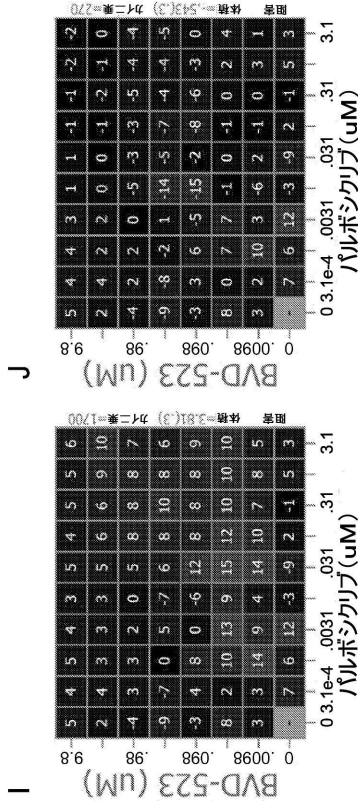
【 図 3 F - H 】

FIG. 3, 続き



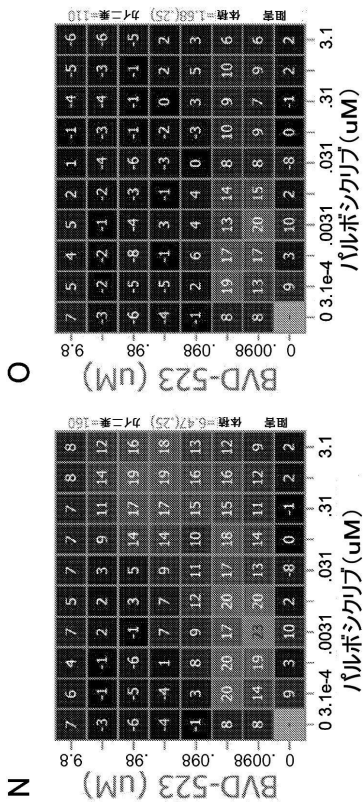
【 図 3 I - J 】

FIG. 3, 続き



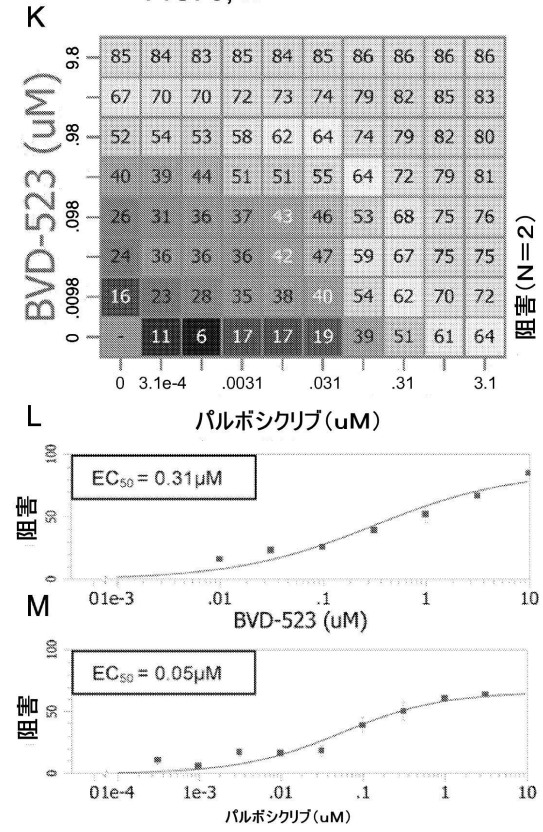
【 図 3 N - O 】

FIG. 3, 続き



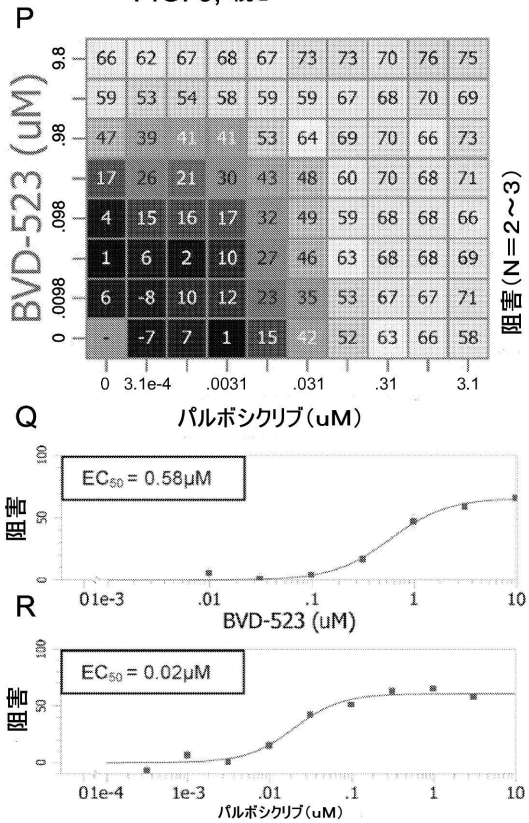
【 図 3 K - M 】

FIG. 3, 続き



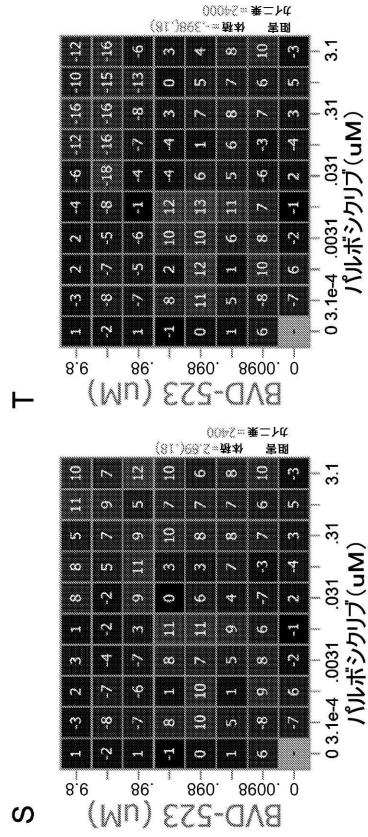
【 図 3 P - R 】

FIG. 3, 続き



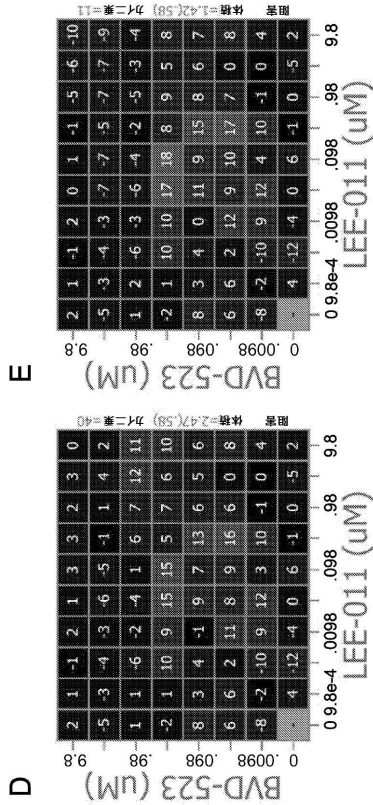
【 図 3 S - T 】

FIG. 3, 続き



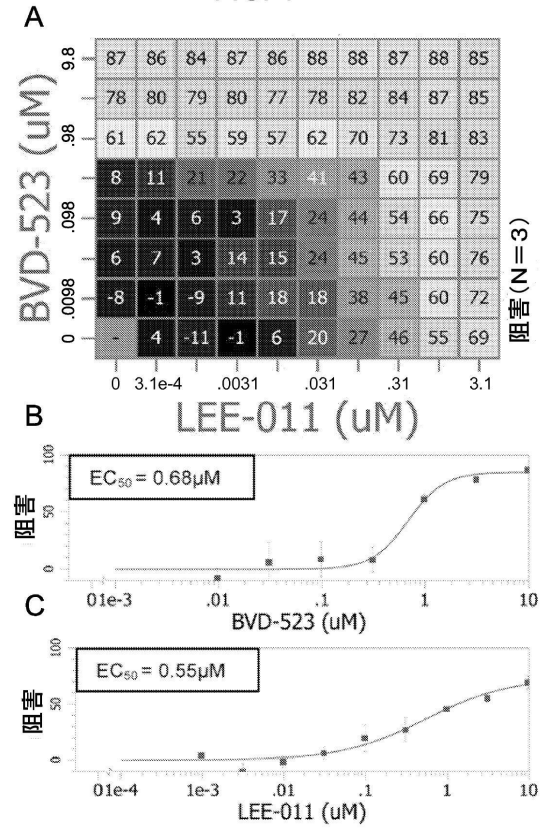
【 図 4 D - E 】

FIG. 4, 続き



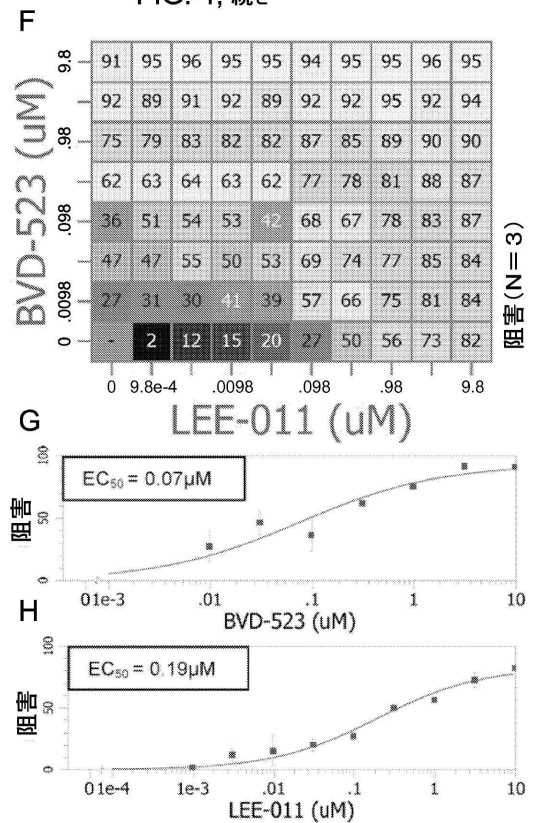
【 図 4 A - C 】

FIG. 4



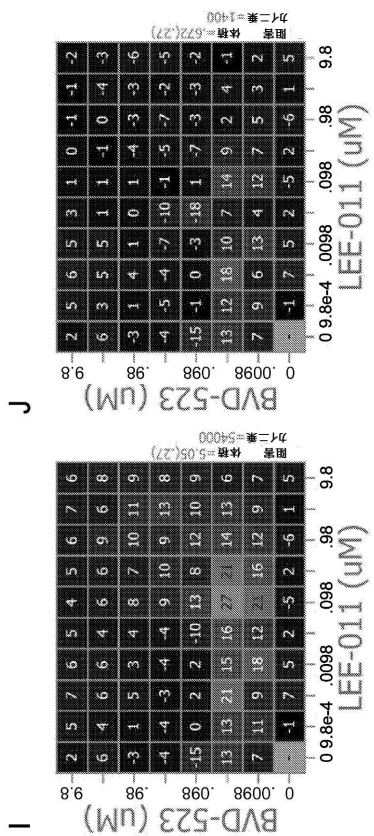
【 図 4 F - H 】

FIG. 4, 続き



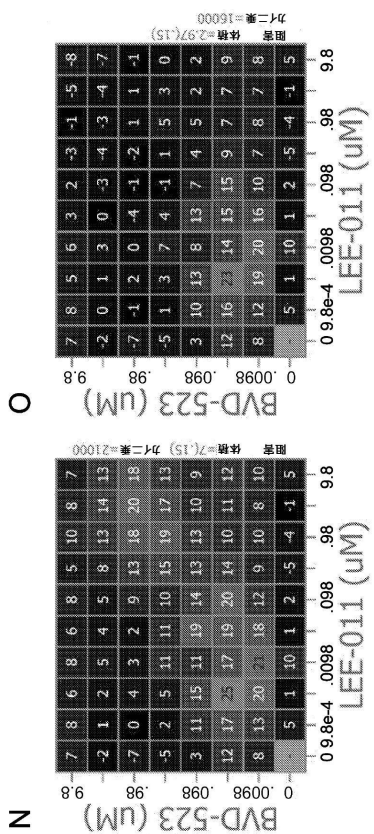
【 図 4 I - J 】

FIG. 4, 続き



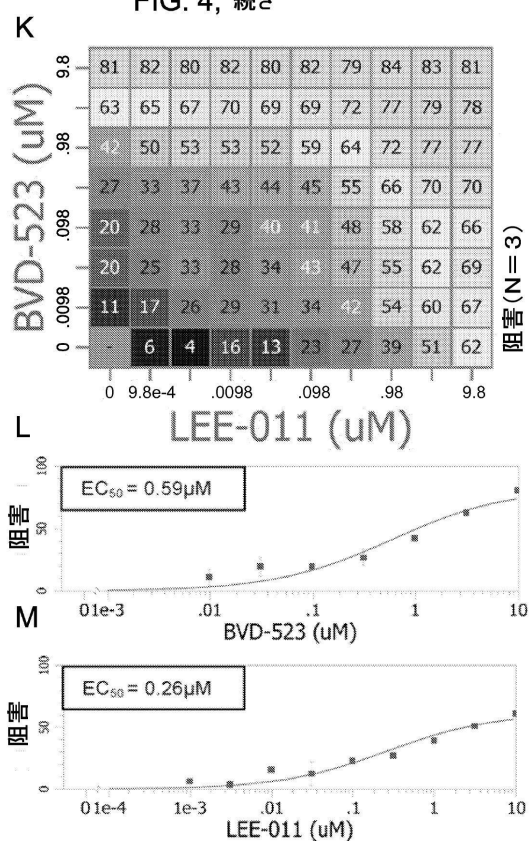
【 図 4 N - O 】

FIG. 4, 続き



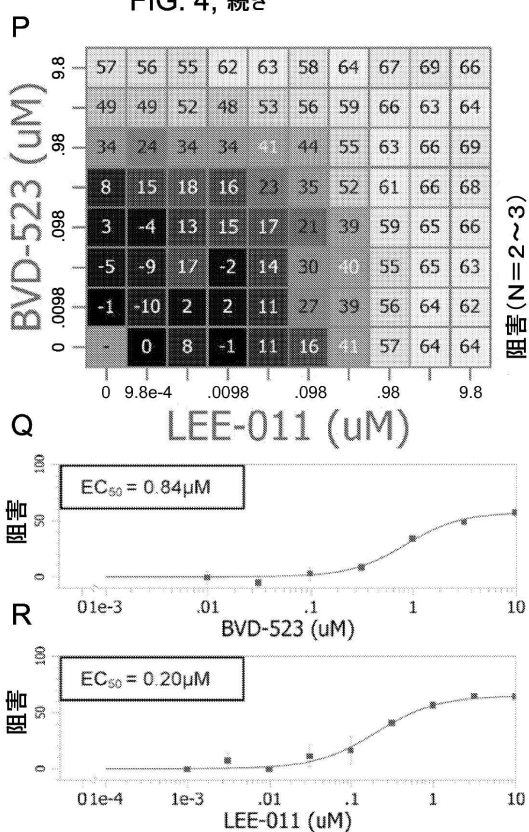
【 図 4 K - M 】

FIG. 4, 続き



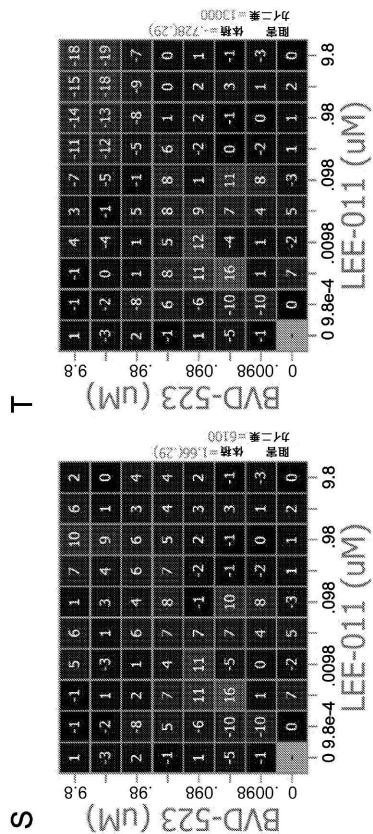
【 図 4 P - R 】

FIG. 4, 続き



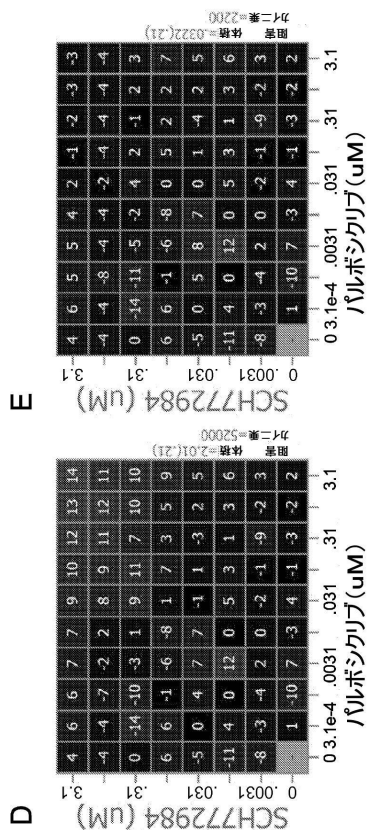
【 図 4 S - T 】

FIG. 4, 続き



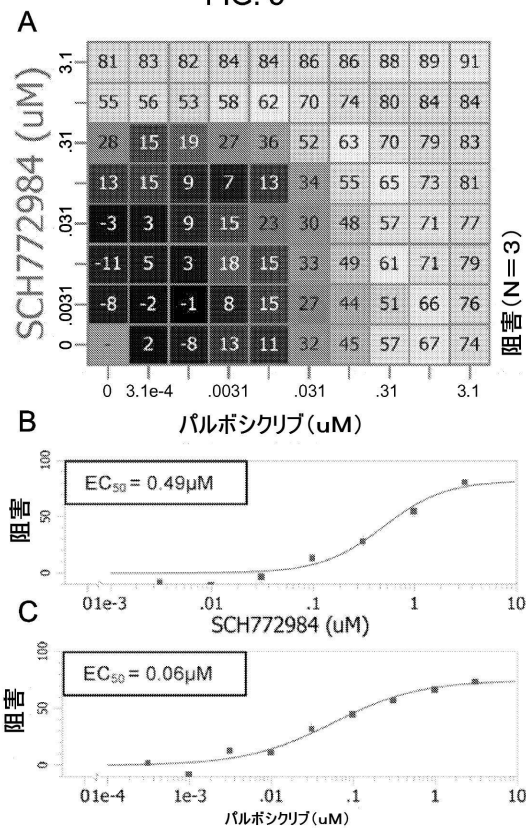
【 図 5 D - E 】

FIG. 5, 続き



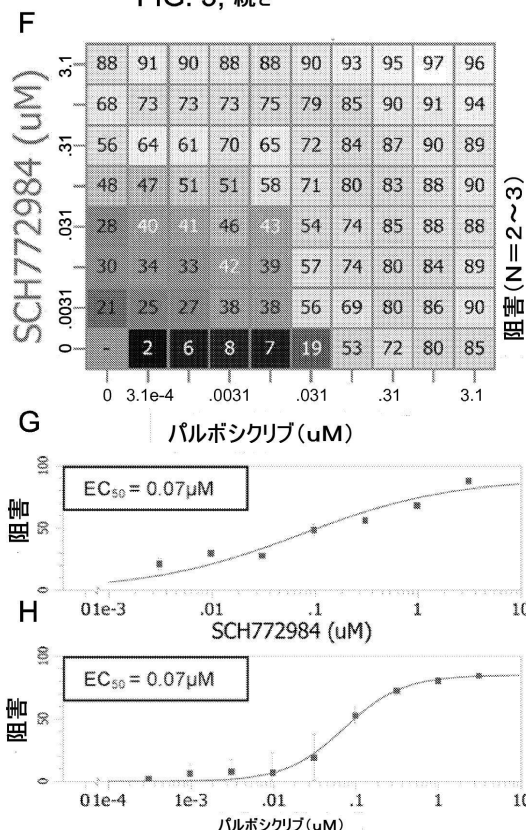
【 図 5 A - C 】

FIG. 5



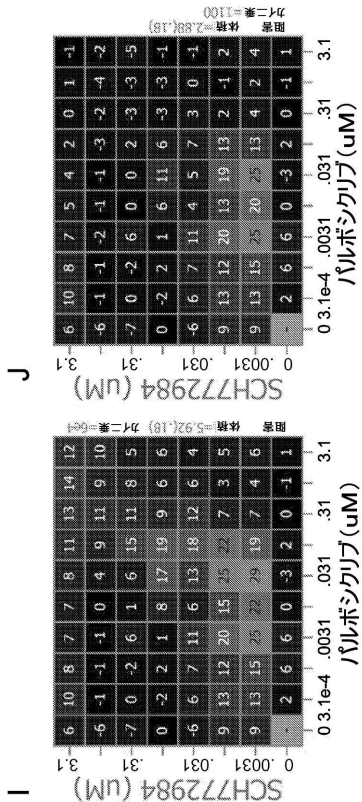
【 図 5 F - H 】

FIG. 5, 続き



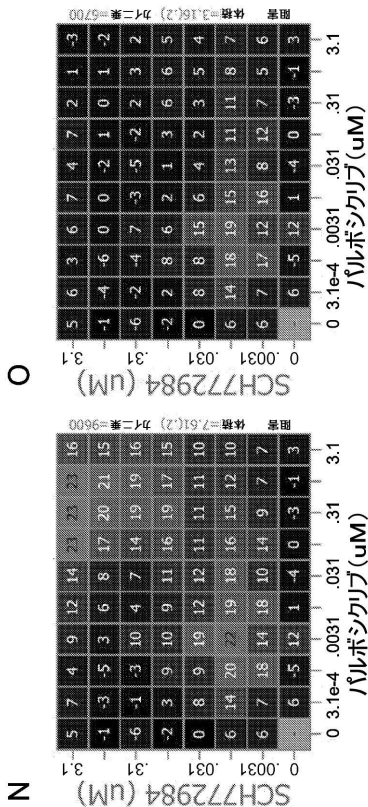
【図 5 I - J】

FIG. 5, 続き



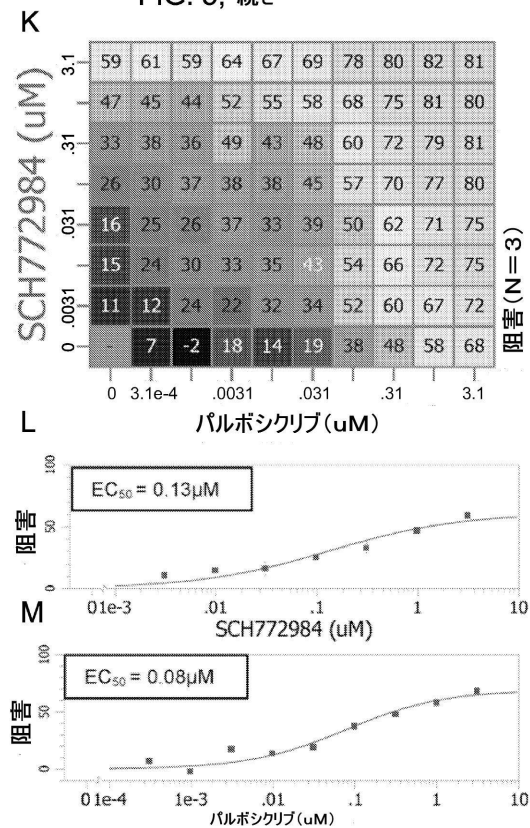
【図 5 N - O】

FIG. 5, 続き



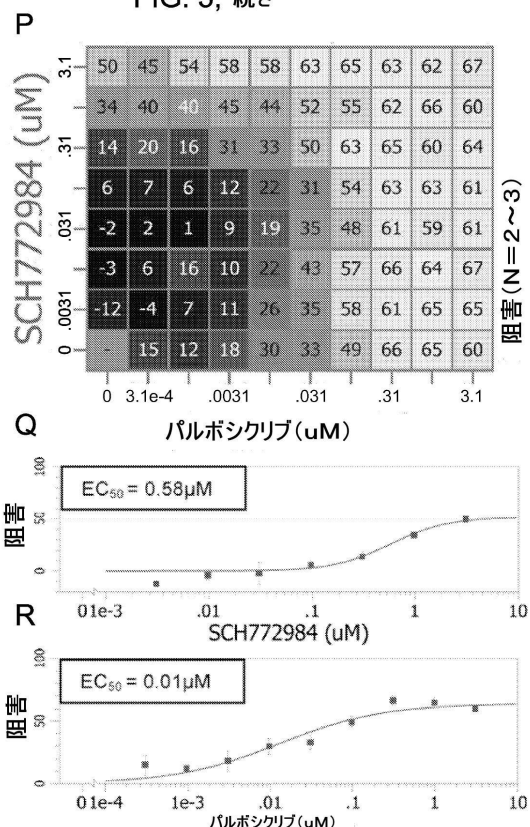
【図 5 K - M】

FIG. 5, 続き



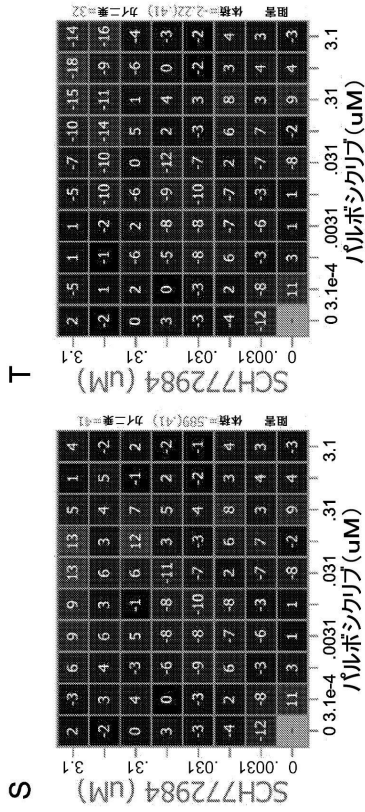
【図 5 P - R】

FIG. 5, 続き



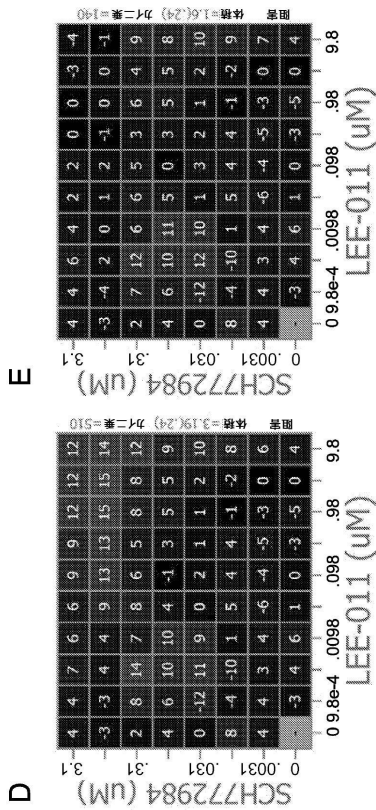
【 図 5 S - T 】

FIG. 5, 続き



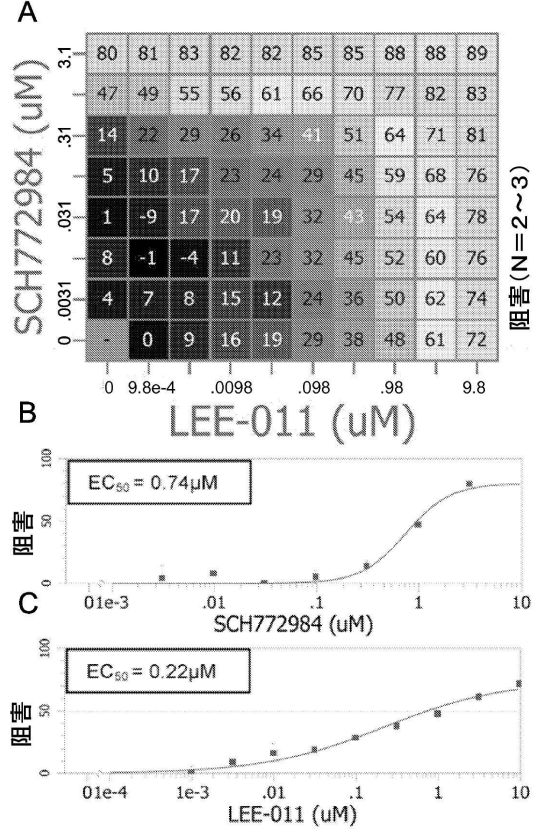
【 図 6 D - E 】

FIG. 6, 続き



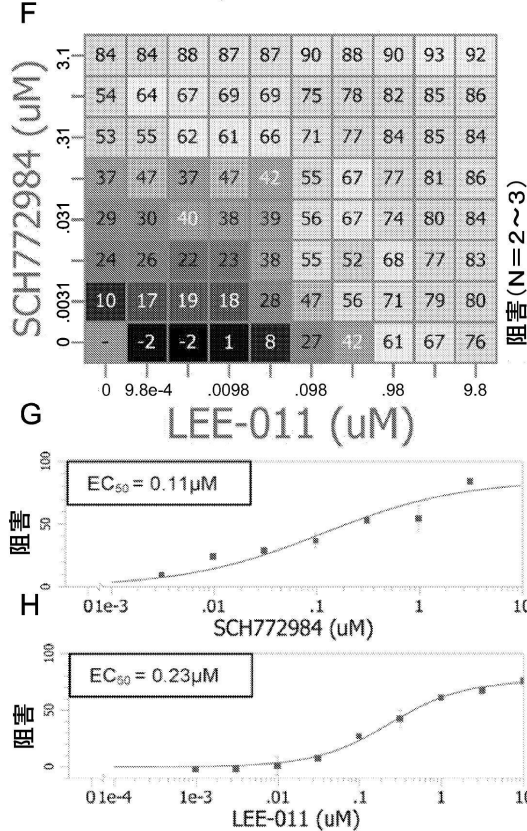
【 図 6 A - C 】

FIG. 6



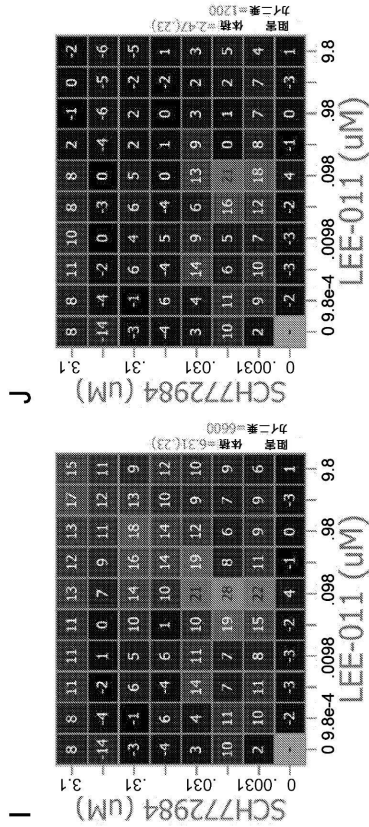
【 図 6 F - H 】

FIG. 6, 続き



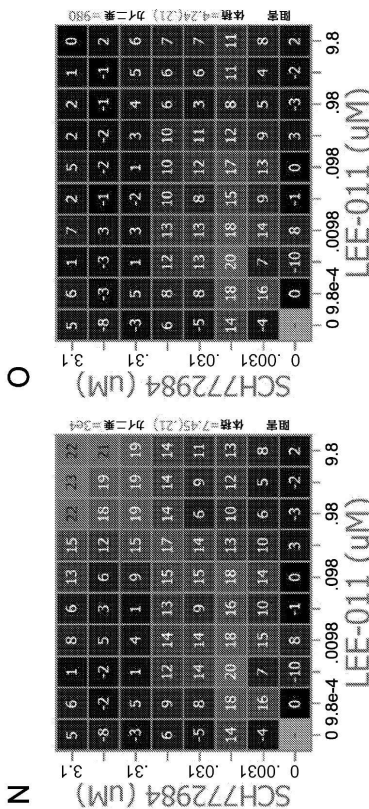
【 図 6 I - J 】

FIG. 6, 続き



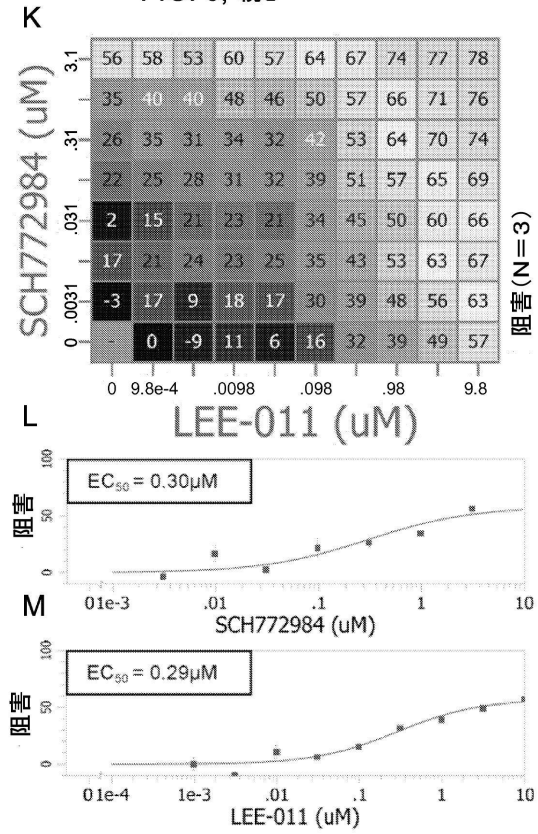
【 図 6 N - O 】

FIG. 6, 続き



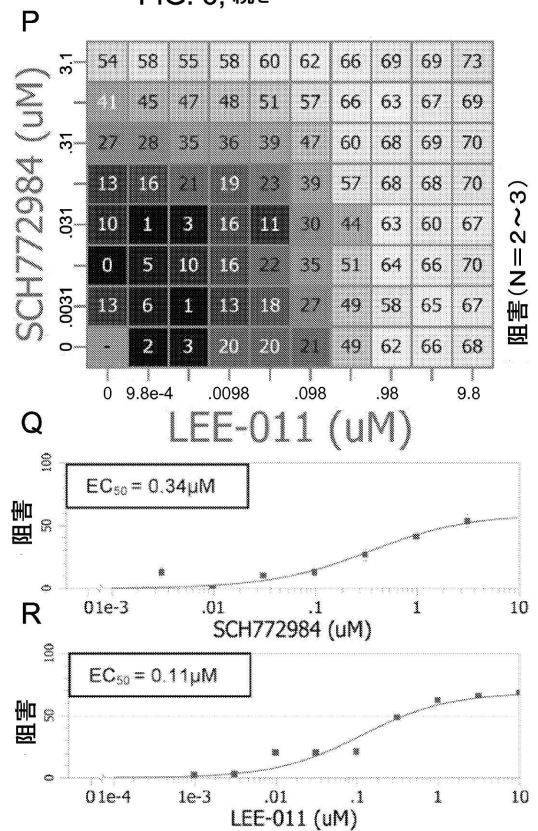
【 図 6 K - M 】

FIG. 6, 続き



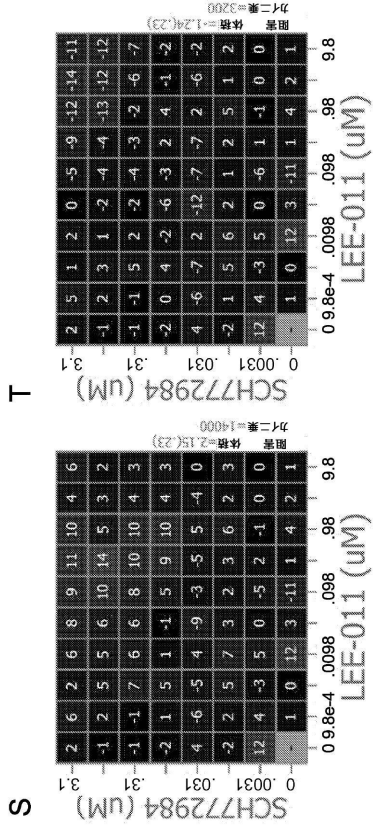
【 図 6 P - R 】

FIG. 6, 続き



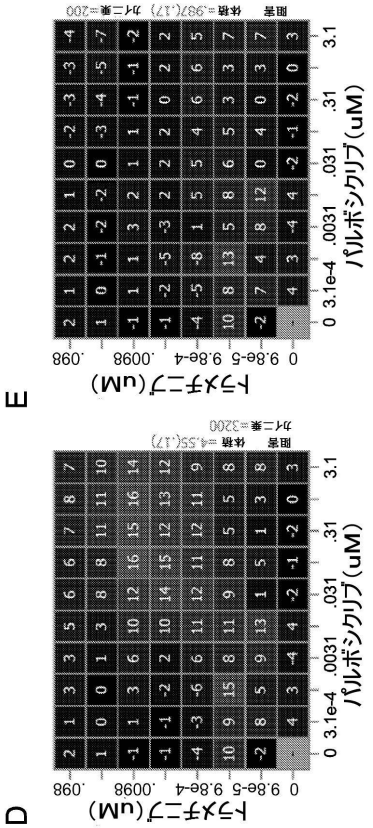
【 図 6 S - T 】

FIG. 6, 続き



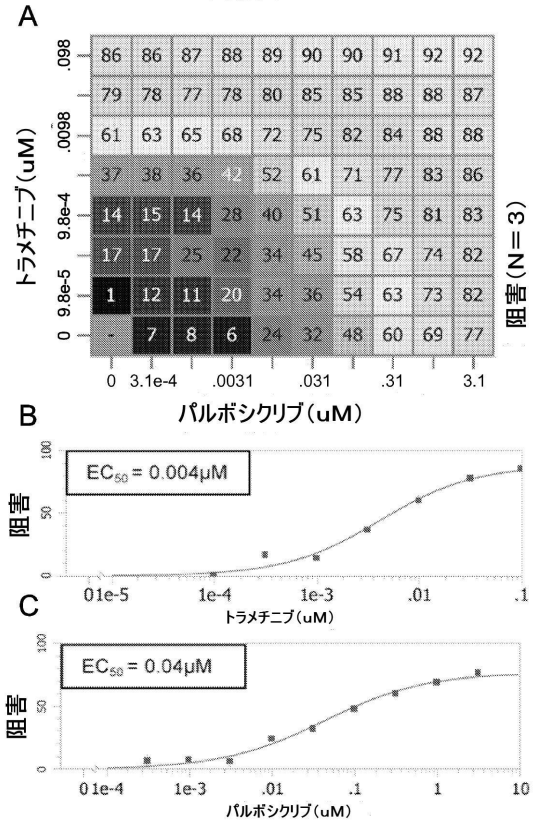
【 図 7 D - E 】

FIG. 7, 続き



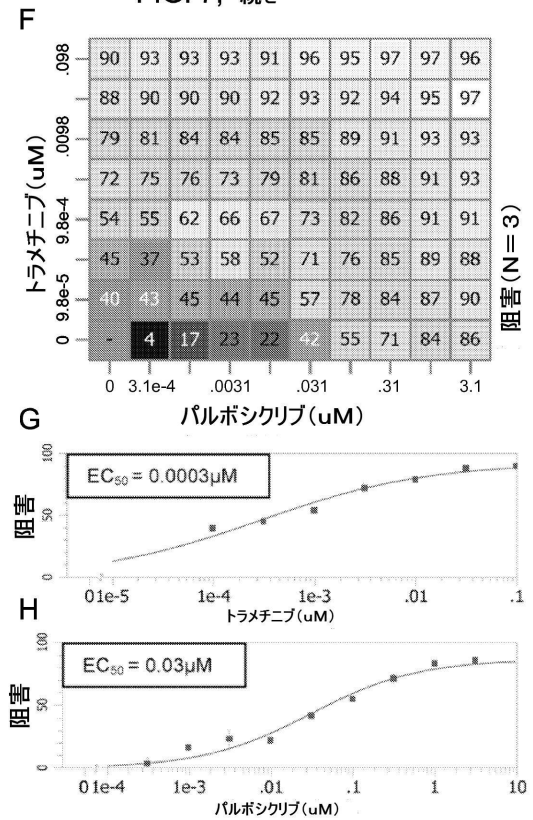
【 図 7 A - C 】

FIG. 7



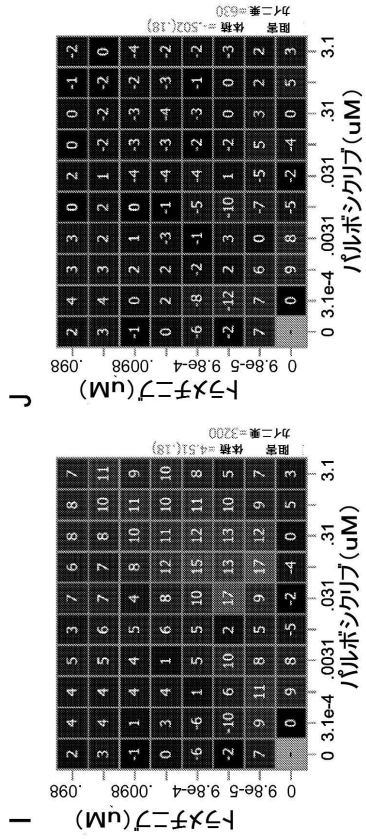
【 図 7 F - H 】

FIG. 7, 続き



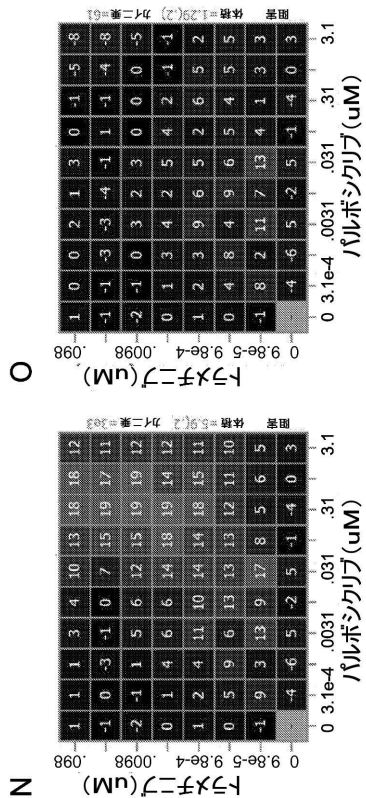
【 図 7 I - J 】

FIG. 7, 続き



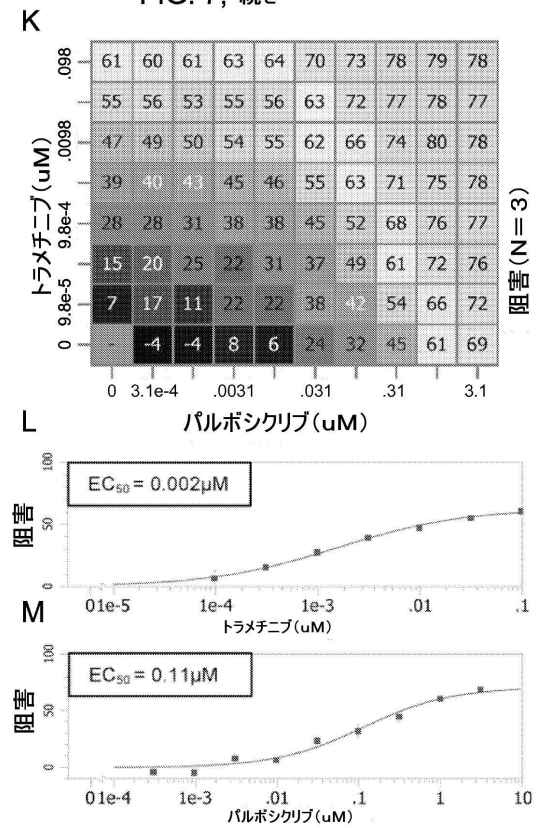
【 図 7 N - O 】

FIG. 7, 続き



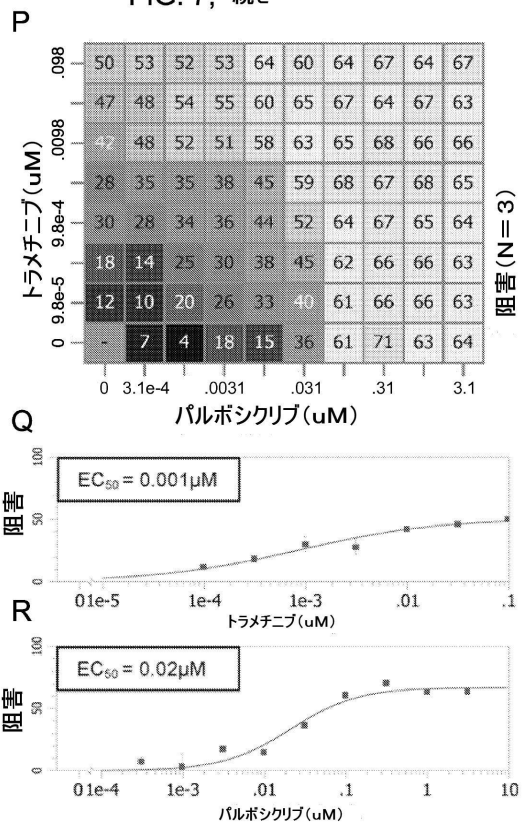
【 図 7 K - M 】

FIG. 7, 続き



【 図 7 P - R 】

FIG. 7, 続き



【 図 7 S - T 】

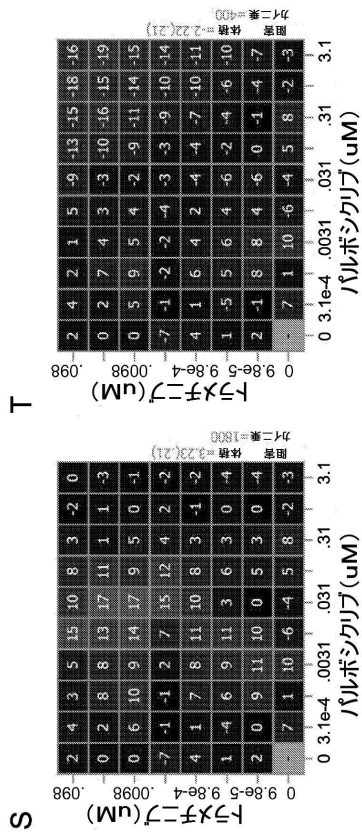


FIG. 7, 続き

【 図 8 D - E 】

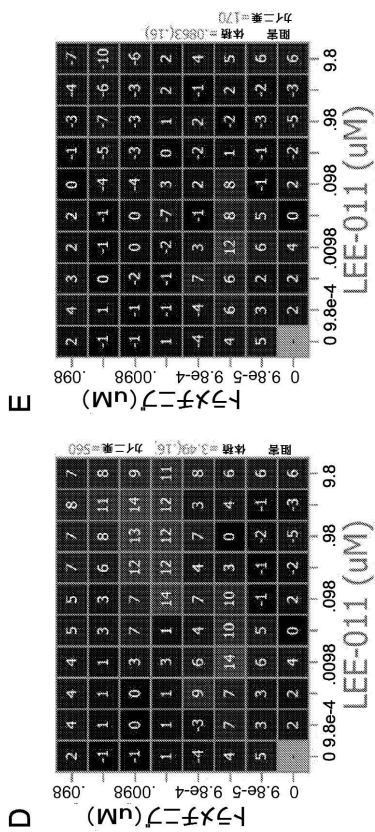
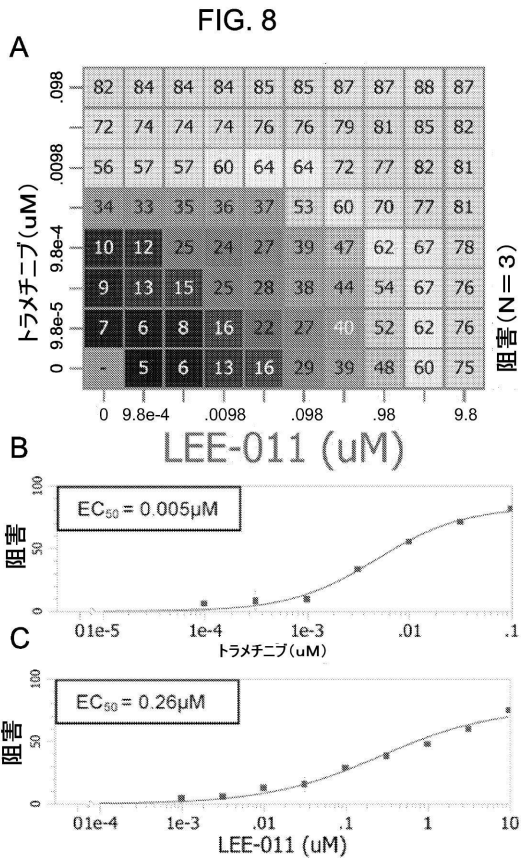
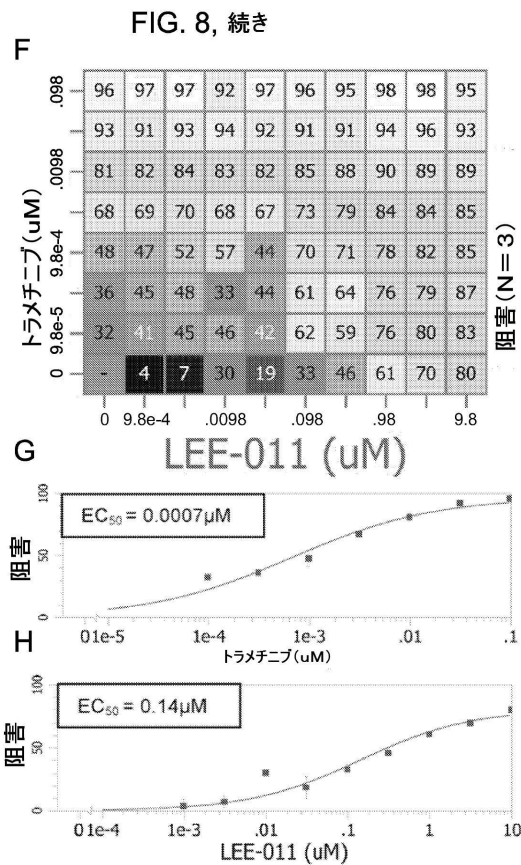


FIG. 8, 続き

【 図 8 A - C 】

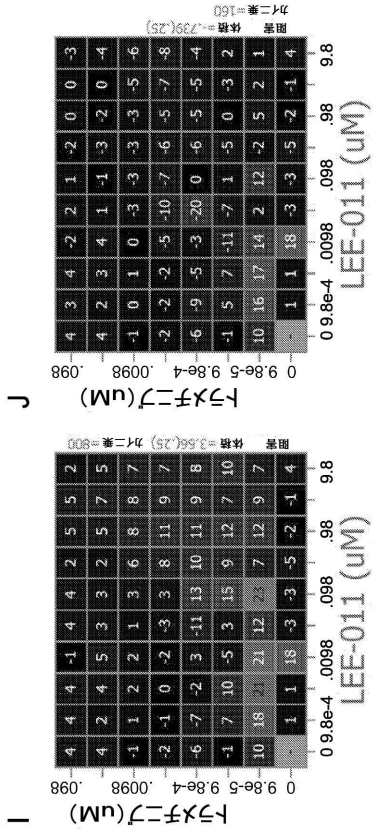


【 図 8 F - H 】



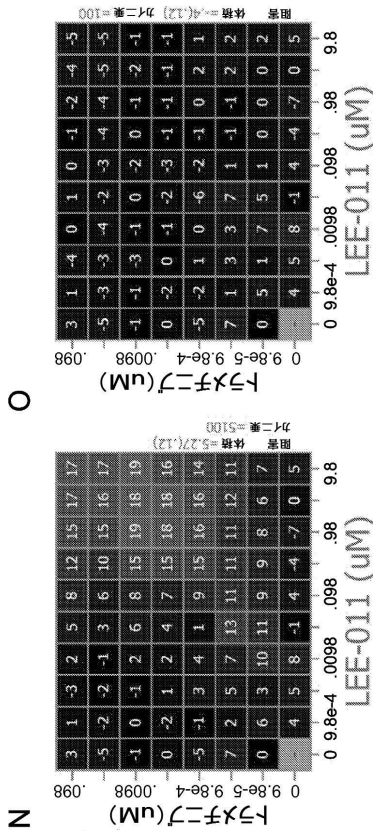
【 図 8 I - J 】

FIG. 8, 続き



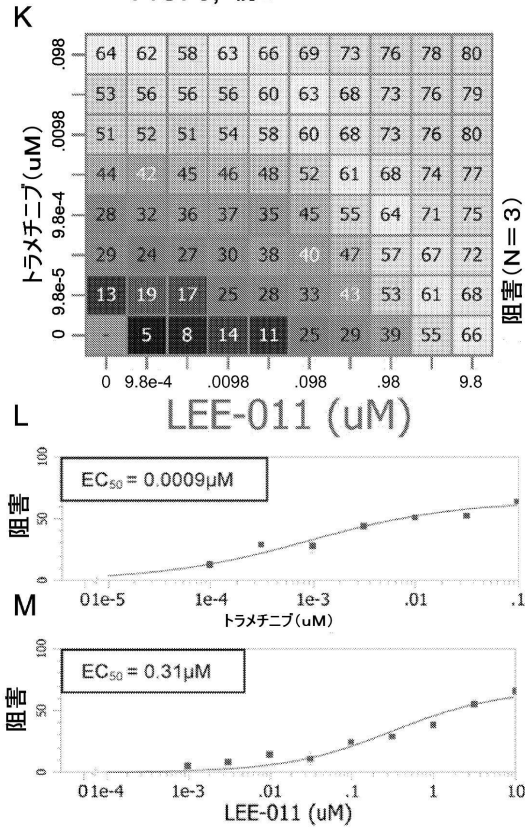
【 図 8 N - O 】

FIG. 8, 続き



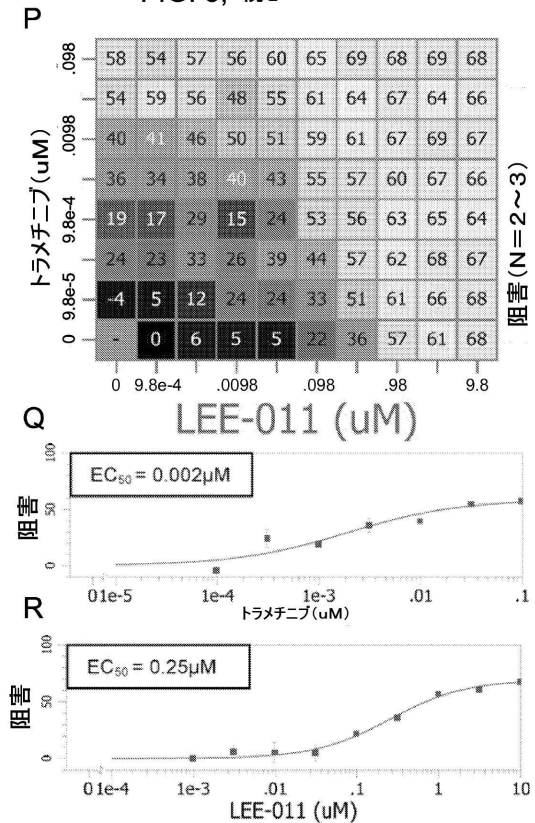
【 図 8 K - M 】

FIG. 8, 続き



【 図 8 P - R 】

FIG. 8, 続き



【 図 8 S - T 】

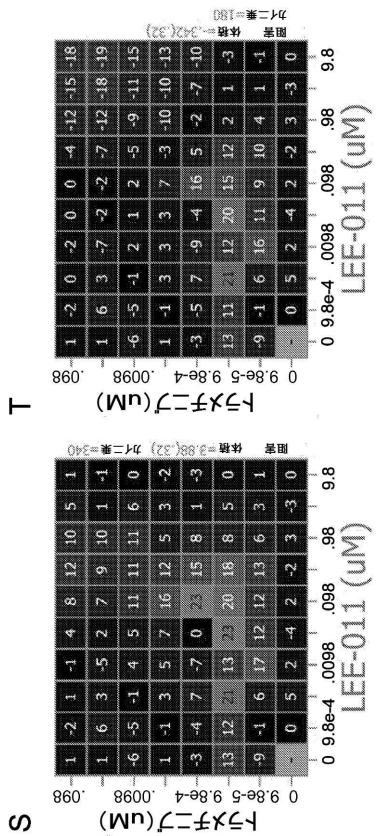


FIG. 8, 続き

【 図 9 B 】

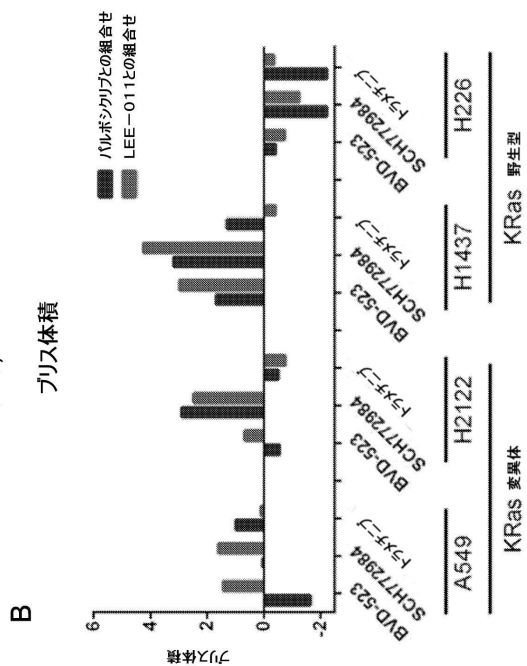


FIG. 9, 続き

プリス体積

【 図 9 A 】

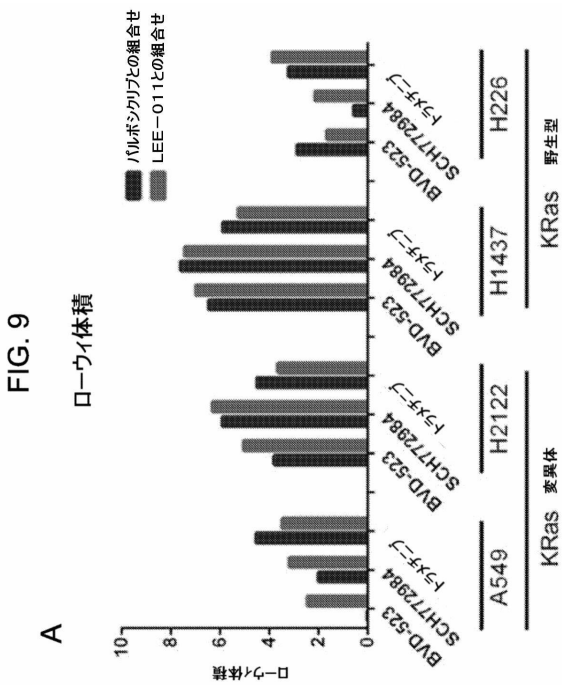


FIG. 9

ローウイ体積

【 図 9 C 】

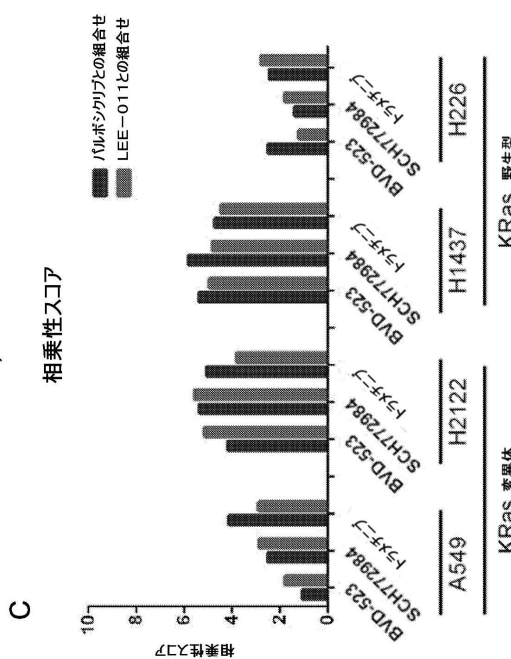
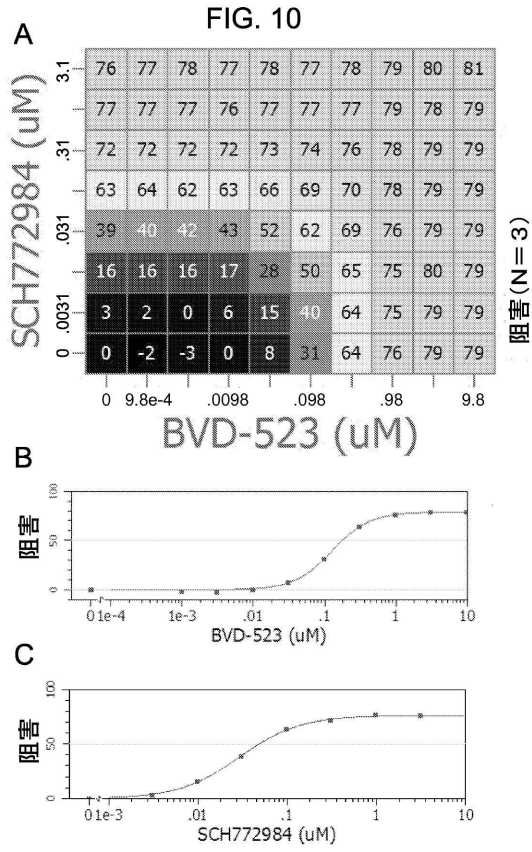


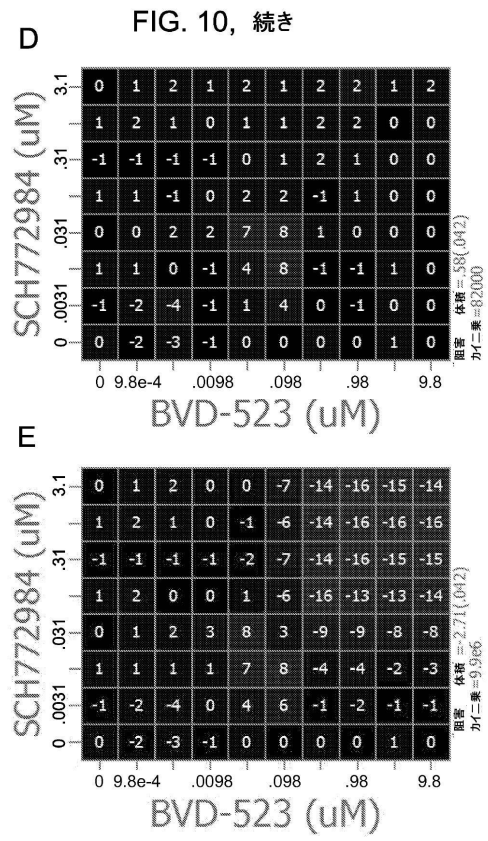
FIG. 9, 続き

相乗性スコア

【 図 10 A - C 】



【 図 10 D - E 】



【 配列表 】

0006678584000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
A 6 1 K 45/00 (2006.01) A 6 1 K 45/00

(72)発明者 ウェルシュ, ディーン
アメリカ合衆国 ミズーリ 6 4 1 5 2, パークビル, エヌダブリュー リバー ヒルズ ブ
レイス 1 0 4 2 7

(72)発明者 デクレッセンゾ, ゲイリー
アメリカ合衆国 ミズーリ 6 4 1 5 2, パークビル, ウェストウッド コート 6 1 3 5

(72)発明者 ロウ, ジェフリー ジェイムズ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 2 7, ボストン, イー. ブロードウェイ スト
リート 6 5 8, アpartment 2

審査官 磯部 洋一郎

(56)参考文献 特表2007-537295(JP,A)
特表2007-522220(JP,A)
特表2012-500785(JP,A)
特表2005-519909(JP,A)
特表2010-529122(JP,A)
Mol. Cancer Ther, 2013/11, Vol.12, B263

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 3 1 / 4 4 3 9

A 6 1 K 3 1 / 5 1 9

A 6 1 K 4 5 / 0 0

A 6 1 P 3 5 / 0 0

A 6 1 P 3 5 / 0 2

A 6 1 P 4 3 / 0 0

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)