



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0058432  
(43) 공개일자 2017년05월26일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
**A61K 31/4015** (2006.01) **A61K 31/166** (2006.01)  
**A61K 31/4025** (2006.01) **A61K 45/06** (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
**A61K 31/4015** (2013.01)  
**A61K 31/166** (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2017-7010980
- (22) 출원일자(국제) 2015년09월29일  
 심사청구일자 2017년04월24일
- (85) 번역문제출일자 2017년04월24일
- (86) 국제출원번호 PCT/IB2015/057457
- (87) 국제공개번호 WO 2016/055907  
 국제공개일자 2016년04월14일
- (30) 우선권주장  
 62/062,192 2014년10월10일 미국(US)
- (71) 출원인  
**화이자 인코포레이티드**  
 미국 뉴욕주 10017 뉴욕 이스트 42번 스트리트  
 235
- (72) 발명자  
**사프라 푸자**  
 미국 뉴저지주 07661 리버 엣지 웨인 애비뉴 254  
**쇼어 보리스**  
 미국 뉴저지주 07010 클리프사이드 파크 윈스턴  
 드라이브 200 아파트먼트 1818
- (74) 대리인  
**제일특허법인**

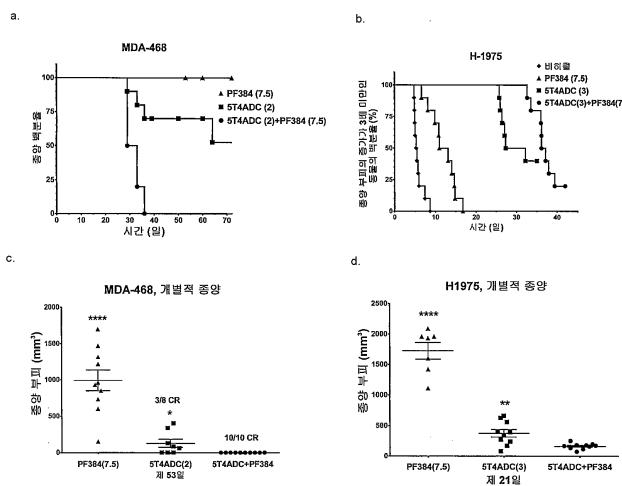
전체 청구항 수 : 총 38 항

(54) 발명의 명칭 **상승 효과적 아우리스타틴 조합**

### (57) 요 약

본 발명은 아우리스타틴 또는 아우리스타틴-기반 항체-약물 접합체(ADC)와 제2 활성제(PI3K/mTOR 억제제, MEK 억제제, 탁산 또는 다른 항암제를 포함)의 조합, 및 이를 조합을 환자에게 투여함에 의한 비정상적 세포 성장의 치료 방법에 관한 것이다.

### 대 표 도



(52) CPC특허분류

*A61K 31/4025* (2013.01)

*A61K 45/06* (2013.01)

*A61K 2300/00* (2013.01)

---

## 명세서

## 청구범위

## 청구항 1

아우리스타틴, 및 PF-384 및 PF-502로부터 선택된 PI3K-mTOR 억제제를 이를 필요로 하는 개체에게 동시에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암의 치료 방법.

## 청구항 2

제1항에 있어서,

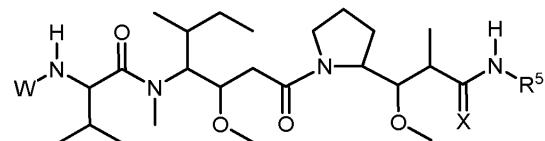
PI3K-mTOR 억제제가 PF-384인, 치료 방법.

### 청구항 3

제1항에 있어서,

아우리스타틴이 하기 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 또는 상기 화합물, 염 또는 용매화물의 항체-약물 접합체인, 치료 방법:

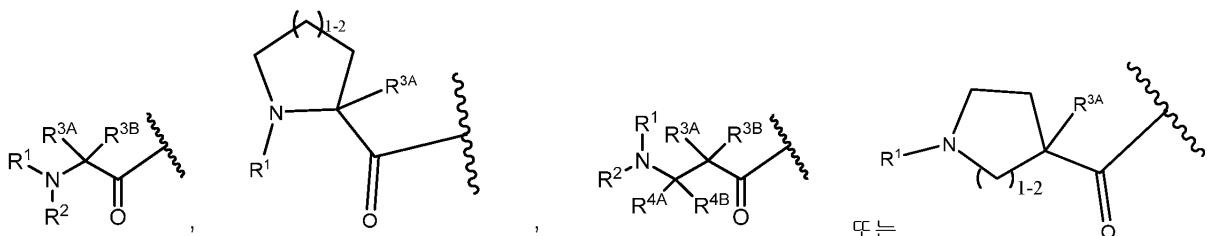
## [화학식 I]



상기 식에서,

각각의 경우 독립적으로,

W는



이고;

$R^1$ 은 수소,  $C_1-C_8$  알킬 또는  $C_1-C_8$  할로알킬이고;

$R^2$ 는 수소,  $C_1-C_8$  알킬 또는  $C_1-C_8$  할로알킬이고;

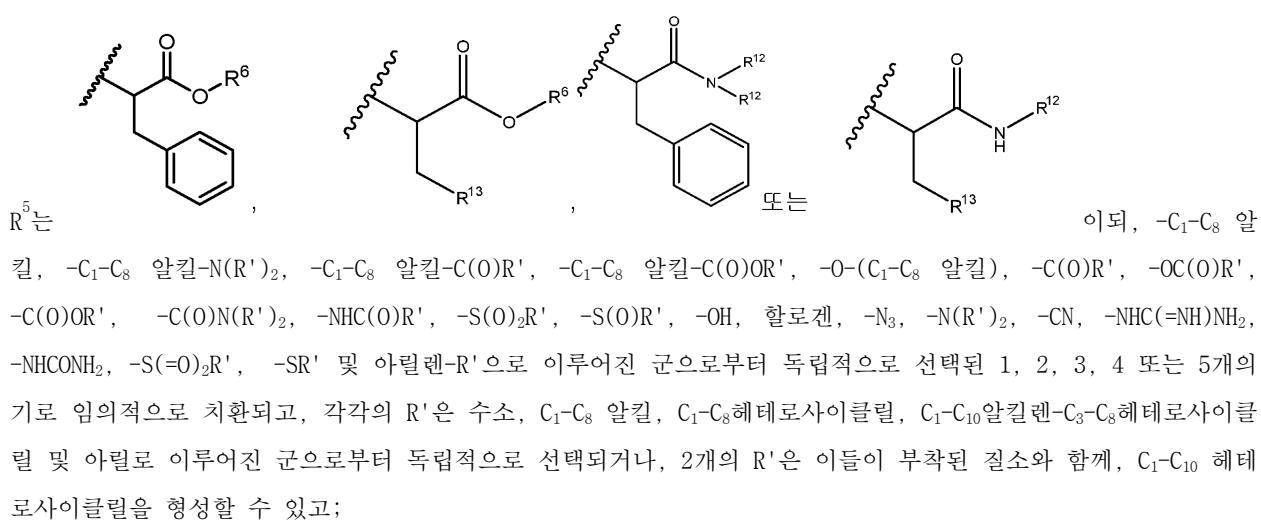
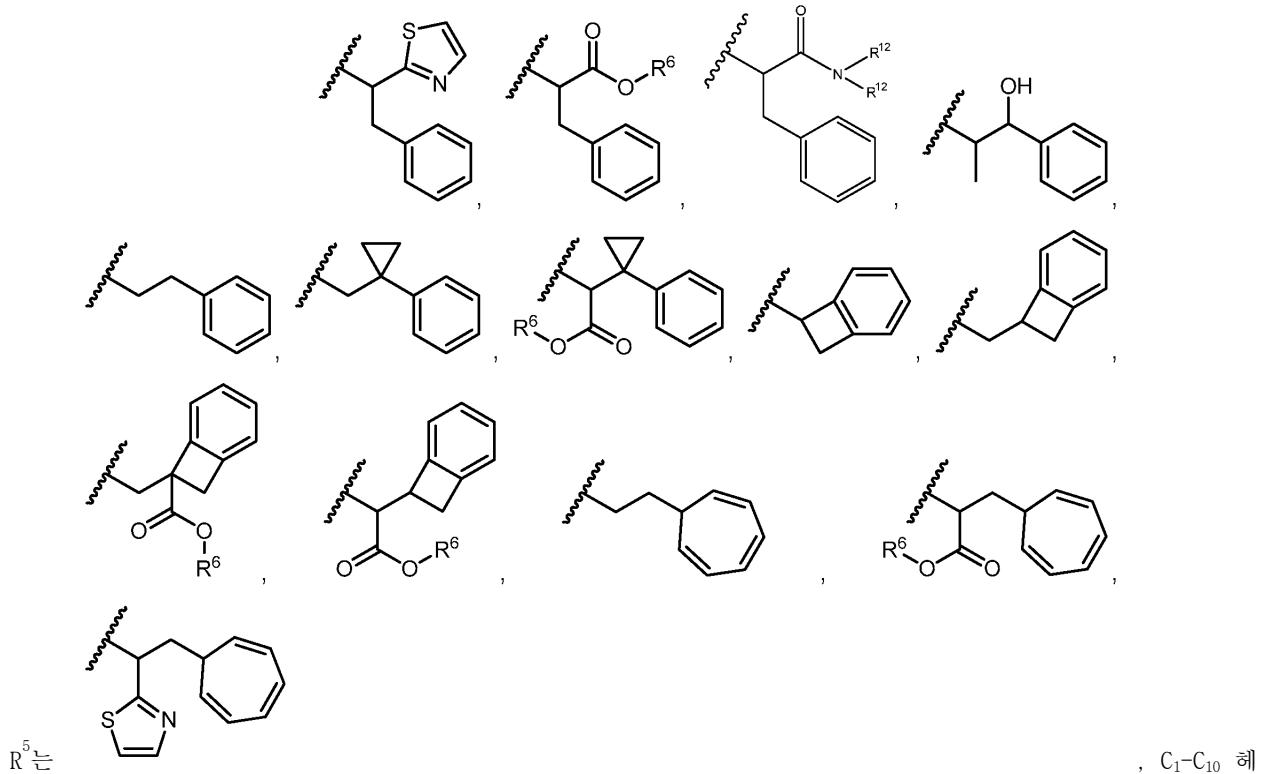
$R^{3A}$ 는 수소,  $C_1-C_8$  알킬,  $C_1-C_8$  할로알킬,  $C_3-C_8$  카보사이클릴,  $C_1-C_{10}$  헤테로사이클릴, 아릴, 헤테로아르알킬, 할로겐 또는 아르알킬이고,  $R^{3B}$ 는  $C_1-C_8$  알킬,  $C_1-C_8$  할로알킬,  $C_3-C_8$  카보사이클릴,  $C_1-C_{10}$  헤�테로사이클릴, 아릴, 헤�테로아르알킬, 아르알킬 또는 할로겐이거나,

$R^{3A}$  및  $R^{3B}$ 는 함께 취해져  $C_2-C_8$  알킬렌 또는  $C_1-C_8$  헤테로알킬렌이고;

$R^{4A}$ 는 수소,  $C_1-C_8$  알킬,  $C_1-C_8$  할로알킬,  $C_3-C_8$  카보사이클릴,  $C_1-C_{10}$  헤테로사이클릴, 아릴, 헤테로아르알킬 또는

아르알킬이고,  $R^{4B}$ 는 수소,  $C_1-C_8$  알킬,  $C_1-C_8$  할로알킬,  $C_3-C_8$  카보사이클릴,  $C_1-C_{10}$  헤테로사이클릴, 아릴, 헤테로아르알킬 또는 아르알킬이거나,

$R^{4A}$  및  $R^{4B}$ 는 함께 취해져  $C_2-C_8$  알킬렌 또는  $C_1-C_8$  헤테로알킬렌이고;



$R^6$ 는 수소,  $-C_1-C_8$  알킬,  $-C_2-C_8$  알켄일,  $-C_2-C_8$  알킨일 또는  $-C_1-C_8$  할로알킬이고;

$R^{12}$ 는 수소,  $C_1-C_4$  알킬,  $C_1-C_{10}$  헤테로사이클릴 또는  $C_6-C_{14}$  아릴이고;

$R^{13}$ 은  $C_1-C_{10}$  헤테로사이클릴이고;

X는 0이다.

#### 청구항 4

제1항에 있어서,

아우리스타틴이 항체-약물 접합체 5T4-ADC, PF-101 및 MMAF로부터 선택되는, 치료 방법.

#### 청구항 5

제1항에 있어서,

아우리스타틴이 항체-약물 접합체 5T4-ADC인, 치료 방법.

#### 청구항 6

제1항에 있어서,

아우리스타틴이 아우리스타틴-101인, 치료 방법.

#### 청구항 7

제1항에 있어서,

아우리스타틴이 MMAF인, 치료 방법.

#### 청구항 8

제1항에 있어서,

암이 폐암인, 치료 방법.

#### 청구항 9

제1항에 있어서,

암이 유방암인, 치료 방법.

#### 청구항 10

제1항에 있어서,

아우리스타틴 및 PI3K-mTOR 억제제가 동시에 투여되거나 순차적으로 투여되는, 치료 방법.

#### 청구항 11

제1항에 있어서,

아우리스타틴 및 PI3K-mTOR 억제제가 임의의 순서로 순차적으로 투여되는, 치료 방법.

#### 청구항 12

소정의 양의 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 소정의 양의 PF-384 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 약학적 조성물.

#### 청구항 13

아우리스타틴 및 MEK 억제제를 이를 필요로 하는 개체에게 동시에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암의 치료 방법.

**청구항 14**

제13항에 있어서,  
MEK 억제제가 PD-901인, 치료 방법.

**청구항 15**

제13항에 있어서,  
아우리스타틴이 항체-약물 접합체 5T4-ADC, PF-101 및 MMAF로부터 선택되는, 치료 방법.

**청구항 16**

제13항에 있어서,  
아우리스타틴이 항체-약물 접합체 5T4-ADC인, 치료 방법.

**청구항 17**

제13항에 있어서,  
아우리스타틴이 아우리스타틴-101인, 치료 방법.

**청구항 18**

제13항에 있어서,  
아우리스타틴이 MMAF인, 치료 방법.

**청구항 19**

제13항에 있어서,  
암이 폐암인, 치료 방법.

**청구항 20**

제13항에 있어서,  
암이 유방암인, 치료 방법.

**청구항 21**

제13항에 있어서,  
아우리스타틴 및 MEK 억제제가 동시에 투여되거나 순차적으로 투여되는, 치료 방법.

**청구항 22**

제13항에 있어서,  
아우리스타틴 및 MEK 억제제가 임의의 순서로 순차적으로 투여되는, 치료 방법.

**청구항 23**

소정의 양의 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 소정의 양의 PD-901 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 약학적 조성물.

**청구항 24**

아우리스타틴-101인 아우리스타틴, 및 파클리탁셀 또는 도세탁셀인 탁산을 이를 필요로 하는 개체에게 동시에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암의 치료 방법.

**청구항 25**

제24항에 있어서,

탁산이 파클리탁셀인, 치료 방법.

### 청구항 26

제24항에 있어서,

탁산이 도세탁셀인, 치료 방법.

### 청구항 27

제24항에 있어서,

암이 폐암인, 치료 방법.

### 청구항 28

제24항에 있어서,

암이 유방암인, 치료 방법.

### 청구항 29

제24항에 있어서,

아우리스타틴 및 탁산이 동시에 투여되거나 순차적으로 투여되는, 치료 방법.

### 청구항 30

제24항에 있어서,

아우리스타틴 및 탁산이 임의의 순서로 순차적으로 투여되는, 치료 방법.

### 청구항 31

소정의 양의 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 소정의 양의 탁산 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 약학적 조성물.

### 청구항 32

제1항, 제13항 및 제24항 중 어느 한 항에 있어서,

동시적 투여에 의해 달성되는 항암 효과가 제1 및 제2 약학적 조성물의 비동시적 투여에 의해 달성되는 항암 효과보다 큰, 치료 방법.

### 청구항 33

(a) 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; (b) PF-384 및 PF-502로부터 선택된 PI3K-mTOR 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 및 (c) 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는, 포유동물에서 암을 치료하기 위한 투여량 형태.

### 청구항 34

(a) 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; (b) PD-901인 MEK 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 및 (c) 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는, 포유동물에서 암을 치료하기 위한 투여량 형태.

### 청구항 35

(a) 아우리스타틴-101인 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; (b) 파클리탁셀 또는 도세탁셀인 탁산 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 및 (c) 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는, 포유동물에서 암을 치료하기 위한 투여량 형태.

### 청구항 36

(a) 제1 단위 투여량 형태의, 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제; (b) 제2 단위 투여량 형태의, PF-384 및 PF-502로부터 선택된 PI3K-mTOR 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제; 및 (c) 상기 제1 및 제2 투여량 형태를 함유하기 위한 수단을 포함하는, 포유동물에서 치료적 효과를 달성하기 위한 키트.

### 청구항 37

(a) 제1 단위 투여량 형태의, 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제; (b) 제2 단위 투여량 형태의, PD-901인 MEK 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제; 및 (c) 상기 제1 및 제2 투여량 형태를 함유하기 위한 수단을 포함하는, 포유동물에서 치료적 효과를 달성하기 위한 키트.

### 청구항 38

(a) 제1 단위 투여량 형태의, 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제; (b) 제2 단위 투여량 형태의, 파클리탁셀 또는 도세탁셀인 탁산 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제; 및 (c) 상기 제1 및 제2 투여량 형태를 함유하기 위한 수단을 포함하는, 포유동물에서 치료적 효과를 달성하기 위한 키트.

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001]

본 발명은 아우리스타틴(auristatin) 또는 아우리스타틴-기반 항체-약물 접합체(ADC)와 제2 활성제, 예컨대 PI3K/mTOR 억제제, MEK 억제제, 탁산(taxane) 또는 다른 항암제의 조합에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 상기 조합을 환자에게 투여함에 의한 비정상적 세포 성장, 예를 들어 암의 치료 방법에 관한 것이다.

### 발명의 내용

[0002]

본 발명의 하나의 실시양태는 아우리스타틴 또는 아우리스타틴-기반 ADC, 및 PI3K/mTOR 억제제, MEK 억제제, 탁산 및 다른 항암제로부터 선택된 제2 제제의 조합의 유효량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 비정상적 세포 성장, 예컨대 암의 치료 방법을 제공한다.

[0003]

암 약물 표적 mTOR은 2개의 유형의 복합체, 즉 랩터(raptor) 하위 단위를 함유하는 mTORC1 및 릭터(riktor)를 함유하는 mTORC2로 존재한다. 당분야에 공지된 바와 같이, "릭터"는 인간 유전자 자리 Sp13. 1을 갖는 세포 성장 조절 단백질을 의미한다. 이를 복합체는 상이하게 조절되고 기질의 상이한 스펙트럼을 갖는다. mTORC2는 일반적으로 라파마이신 및 선택적 억제제에 대하여 둔감하다. mTORC2는 일부 AGC 키나제, 예컨대 Akt의 C-말단 소수성 모티프를 포스포릴화함으로써 성장 인자 신호화를 조절하는 것으로 생각된다. 많은 세포 상황에서, mTORC2는 Akt의 S473 부위의 포스포릴화를 위해 요구된다. 따라서, mTORC1 활성은 Akt에 의해 부분적으로 제어되는 반면에, Akt 자체는 mTORC2에 의해 부분적으로 제어된다. 포스파티딜이노시톨 3-키나제(PI3K)의 성장 인자 자극은 2개의 주요 부위, 즉, S473 및 T308에서 포스포릴화에 의한 Akt의 활성화를 야기한다. Akt의 완전한 활성화가 S473 및 T308 둘 다의 포스포릴화를 요구하는 것으로 보고되었다. Akt는 세포 생존 및 증식을 여러 방법(세포 자멸 억제, 글루코스 흡수 촉진 및 세포 대사 조정 포함)으로 촉진한다. Akt 상에 2개의 포스포릴화 부위 중, PDK1에 의해 매개되는 T308에서의 활성화 루프 포스포릴화가 키나제 활성에 대하여 필수적인 것으로 생각되는 반면에, S473에서의 소수성 모티프 포스포릴화는 Akt 키나제 활성을 향상시킨다. S473에서의 AKT 포스포릴화는 PI3K/AKT mTOR 경로의 구조 활성화에 대한 마커로서 사용될 수 있다.

[0004]

본 발명의 또 다른 실시양태는 아우리스타틴 및 PI3K-mTOR 억제제를 이를 필요로 하는 개체에게 동시에 투여하는 단계를 포함하는 개체에서 암의 치료 방법에 관한 것으로서, 이때 상기 PI3K-mTOR 억제제는 PF-384 및 PF-502로부터 선택된다.

[0005]

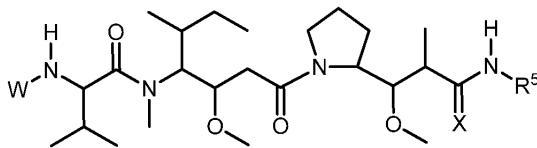
하나의 바람직한 실시양태에서, PI3K-mTOR 억제제는 PF-384이다.

[0006]

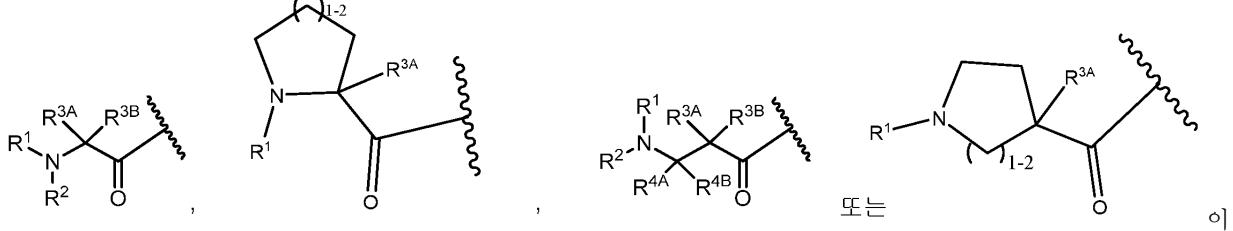
또 다른 실시양태에서, 아우리스타틴 및 PI3K-mTOR 억제제를 이를 필요로 하는 개체에게 동시에 투여하는 단계를 포함하는 개체에서 암의 치료 방법이 제공되며, 이때 PI3K-mTOR 억제제는 PF-384 및 PF-502로부터 선택되고,

아우리스타틴은 하기 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 또는 상기 화합물, 염 또는 용매화물의 항체-약물 접합체이다:

## [화학식 I]



상기 식에서, 각각의 경우 독립적으로,



卫;

$R^1$ 은 수소,  $C_1-C_8$  알킬 또는  $C_1-C_8$  할로알킬이고;

$R^2$ 는 수소, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> 알킬 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> 할로알킬이고;

(i)  $R^{3A}$ 는 수소,  $C_1-C_8$  알킬,  $C_1-C_8$  할로알킬,  $C_3-C_8$  카보사이클릴,  $C_1-C_{10}$  헤테로사이클릴, 아릴, 헤�테로아르알킬, 할로겐 또는 아르알킬이고,

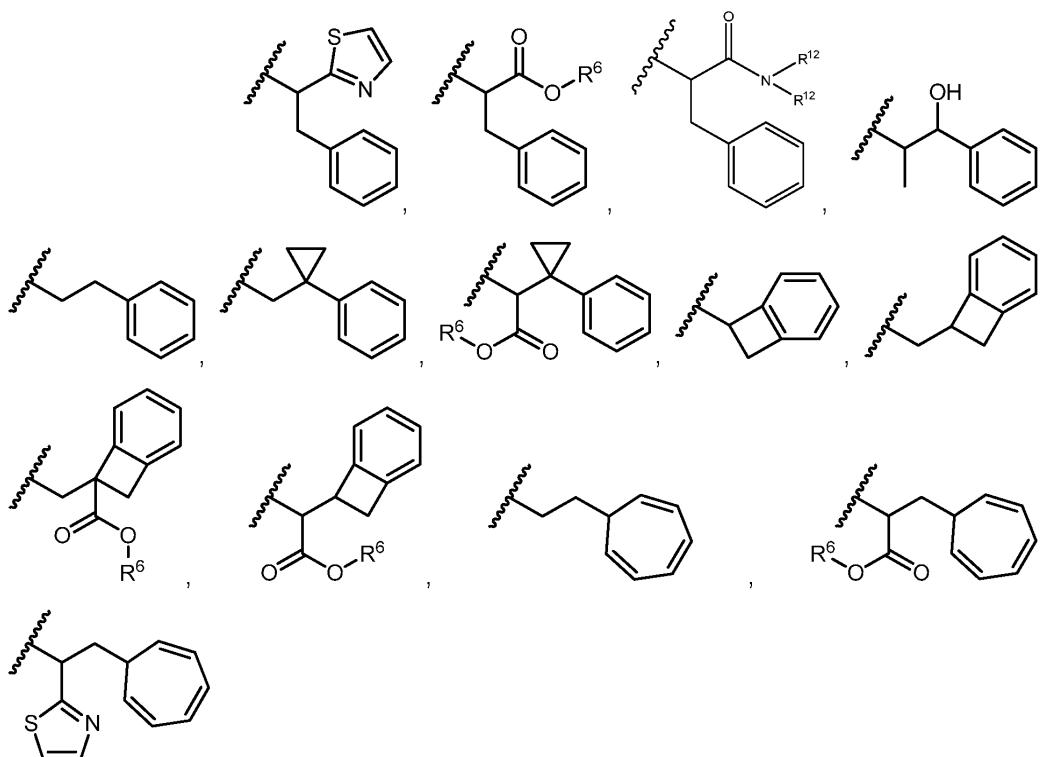
$R^{3B}$ 는  $C_1-C_8$  알킬,  $C_1-C_8$  할로알킬,  $C_3-C_8$  카보사이클릴,  $C_1-C_{10}$  헤테로사이클릴, 아릴, 헤테로아르알킬, 아르알킬 또는 할로겐이거나;

[0015] (ii)  $R^{3A}$  및  $R^{3B}$ 는 함께 취해져  $C_2-C_8$  알킬렌 또는  $C_1-C_8$  헤테로알킬렌이고,

[0016] (i)  $R^{4A}$ 는 수소,  $C_1-C_8$  알킬,  $C_1-C_8$  할로알킬,  $C_3-C_8$  카보사이클릴,  $C_1-C_{10}$  헤테로사이클릴, 아릴, 헤테로아르알킬 또는 아르알킬이고

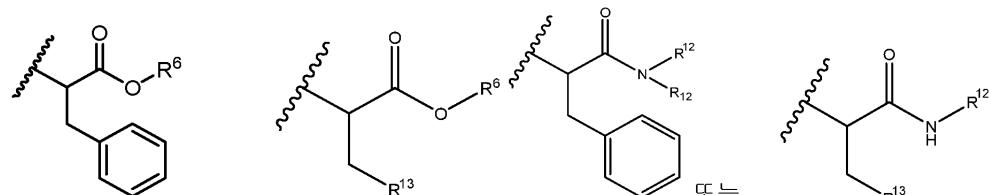
[0017]  $R^{4B}$ 는 수소,  $C_1-C_8$  알킬,  $C_1-C_8$  할로알킬,  $C_3-C_8$  카보사이클릴,  $C_1-C_{10}$  헤테로사이클릴, 아릴, 헤테로아르알킬 또는 아르알킬이거나.

[0018] (ii)  $R^{4A}$  및  $R^{4B}$ 는 함께 촉매로  $C_2-C_9$  알킬렌 또는  $C_1-C_9$  헬 테로알킬렌이고;



[0019]

$R^5$ 는 테로사이클릴,  $C_3$ - $C_8$  카보사이클릴 또는  $C_6$ - $C_{14}$  아릴이되,  $-C_1$ - $C_8$  알킬,  $-C_1$ - $C_8$  알킬- $N(R')$ <sub>2</sub>,  $-C_1$ - $C_8$  알킬- $C(O)R'$ ,  $-C_1$ - $C_8$  알킬- $C(O)OR'$ - $O-(C_1$ - $C_8$  알킬),  $-C(O)R'$ ,  $-OC(O)R'$ ,  $-C(O)OR'$ ,  $-C(O)N(R')$ <sub>2</sub>,  $-NHC(O)R'$ ,  $-S(O)R'$ ,  $-S(O)R'$ ,  $-OH$ , 할로겐,  $-N_3$ ,  $-CN$ ,  $-NHC(=NH)NH_2$ ,  $-NHCONH_2$ ,  $-S(=O)_2R'$  및  $-SR'$ 으로부터 독립적으로 선택된 1, 2, 3, 4 또는 5개의 기호 임의적으로 치환되고, 각각의  $R'$ 은 수소,  $C_1$ - $C_8$  알킬 및 치환되지 않은 아릴로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되거나, 2개의  $R'$ 은 이들이 부착된 질소와 함께,  $C_1$ - $C_{10}$  헤테로사이클릴을 형성할 수 있거나,



[0020]

$R^5$ 는 이되,  $-C_1$ - $C_8$  알킬,  $-C_1$ - $C_8$  알킬- $N(R')$ <sub>2</sub>,  $-C_1$ - $C_8$  알킬- $C(O)R'$ ,  $-O-(C_1$ - $C_8$  알킬),  $-C(O)R'$ ,  $-OC(O)R'$ ,  $-C(O)OR'$ ,  $-C(O)N(R')$ <sub>2</sub>,  $-NHC(O)R'$ ,  $-S(O)R'$ ,  $-S(O)R'$ ,  $-OH$ , 할로겐,  $-N_3$ ,  $-N(R')$ <sub>2</sub>,  $-CN$ ,  $-NHC(=NH)NH_2$ ,  $-NHCONH_2$ ,  $-S(=O)_2R'$ ,  $-SR'$  및 아릴렌- $R'$ 으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 1, 2, 3, 4 또는 5개의 기호 임의적으로 치환되고, 각각의  $R'$ 은 수소,  $C_1$ - $C_8$  알킬,  $C_1$ - $C_8$  헤테로사이클릴,  $C_1$ - $C_{10}$  알킬렌- $C_3$ - $C_8$  헤테로사이클릴 및 아릴로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되거나, 2개의  $R'$ 은 이들이 부착된 질소와 함께,  $C_1$ - $C_{10}$  헤테로사이클릴을 형성할 수 있고;

[0021]

$R^6$ 는 수소,  $-C_1$ - $C_8$  알킬,  $-C_2$ - $C_8$  알켄일,  $-C_2$ - $C_8$  알킨일 또는  $-C_1$ - $C_8$  할로알킬이고;

[0022]

$R^{12}$ 는 수소,  $C_1$ - $C_4$  알킬,  $C_1$ - $C_{10}$  헤테로사이클릴 또는  $C_6$ - $C_{14}$  아릴이고;

[0023]

$R^{13}$ 은  $C_1$ - $C_{10}$  헤테로사이클릴이고;

[0024]

$X$ 는 0이다.

- [0025] 상기 방법의 추가적 실시양태에서, PI3K-mTOR 억제제는 PF-384 및 PF-502로부터 선택되고, 아우리스타틴은 항체-약물 접합체 5T4-ADC, PF-101 및 MMAF로부터 선택된다.
- [0026] 상기 방법의 추가적 실시양태에서, PI3K-mTOR 억제제는 PF-384 및 PF-502로부터 선택되고, 아우리스타틴은 항체-약물 접합체 5T4-ADC이다.
- [0027] 상기 방법의 추가적 실시양태에서, PI3K-mTOR 억제제는 PF-384 및 PF-502로부터 선택되고, 아우리스타틴은 아우리스타틴-101이다.
- [0028] 상기 방법의 추가적 실시양태에서, PI3K-mTOR 억제제는 PF-384 및 PF-502로부터 선택되고, 아우리스타틴은 MMAF이다.
- [0029] 상기 방법의 추가적 실시양태에서, PI3K-mTOR 억제제, 및 아우리스타틴 또는 아우리스타틴-기반 ADC는 폐암을 치료하는데 사용된다.
- [0030] 상기 방법의 추가적 실시양태에서, PI3K-mTOR 억제제, 및 아우리스타틴 또는 아우리스타틴-기반 ADC는 유방암을 치료하는데 사용된다.
- [0031] 상기 방법의 추가적 실시양태에서, 아우리스타틴 또는 아우리스타틴-기반 ADC, 및 PI3K-mTOR 억제제는 동시에 투여되거나 순차적으로 투여된다.
- [0032] 상기 방법의 추가적 실시양태에서, 아우리스타틴 또는 아우리스타틴-기반 ADC, 및 PI3K-mTOR 억제제는 임의의 순서로 순차적으로 투여된다.
- [0033] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 소정의 양의 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 소정의 양의 PF-384 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 약학적 조성물에 관한 것이다.
- [0034] 본 발명의 또 다른 실시양태는 아우리스타틴 및 MEK 억제제를 이를 필요로 하는 개체에게 동시에 투여하는 단계를 포함하는 개체에서 암의 치료 방법에 관한 것이다.
- [0035] 하나의 바람직한 실시양태에서 MEK 억제제는 PD-901이다.
- [0036] 상기 방법의 추가적 실시양태에서, MEK 억제제는 PD-901이고, 아우리스타틴은 항체-약물 접합체 5T4-ADC, PF-101 및 MMAF로부터 선택된다.
- [0037] 상기 방법의 추가적 실시양태에서, MEK 억제제는 PD-901이고, 아우리스타틴은 항체-약물 접합체 5T4-ADC이다.
- [0038] 상기 방법의 추가적 실시양태에서, MEK 억제제는 PD-901이고, 아우리스타틴은 아우리스타틴-101이다.
- [0039] 상기 방법의 추가적 실시양태에서, MEK 억제제는 PD-901이고, 아우리스타틴은 MMAF이다.
- [0040] 상기 방법의 추가적 실시양태에서, MEK 억제제, 및 아우리스타틴 또는 아우리스타틴-기반 ADC는 폐암을 치료하는데 사용된다.
- [0041] 상기 방법의 추가적 실시양태에서, MEK 억제제, 및 아우리스타틴 또는 아우리스타틴-기반 ADC는 유방암을 치료하는데 사용된다.
- [0042] 본 발명의 또 다른 실시양태는 소정의 양의 아우리스타틴 또는 아우리스타틴-기반 ADC, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 소정의 양의 PD-901 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 약학적 조성물에 관한 것이다.
- [0043] 본 발명의 또 다른 실시양태는 아우리스타틴 및 탁산을 이를 필요로 하는 개체에게 동시에 투여하는 단계를 포함하는 개체에서 암의 치료 방법에 관한 것이다.
- [0044] 상기 방법의 추가적 실시양태에서, 탁산은 파클리탁셀(paclitaxel) 또는 도세탁셀(docetaxel)이고, 아우리스타틴은 항체-약물 접합체 5T4-ADC, PF-101 및 MMAF로부터 선택된다.
- [0045] 상기 방법의 추가적 실시양태에서, 탁산은 파클리탁셀 또는 도세탁셀이고, 아우리스타틴은 항체-약물 접합체 5T4-ADC이다.
- [0046] 상기 방법의 추가적 실시양태에서, 탁산은 파클리탁셀 또는 도세탁셀이고, 아우리스타틴은 아우리스타틴-101이다.

- [0047] 상기 방법의 추가적 실시양태에서, 탁산은 파클리탁셀 또는 도세탁셀이고, 아우리스타틴은 MMAF이다.
- [0048] 상기 방법의 추가적 실시양태에서, 탁산, 및 아우리스타틴 또는 아우리스타틴-기반 ADC는 폐암을 치료하는데 사용된다.
- [0049] 상기 방법의 추가적 실시양태에서, 탁산, 및 아우리스타틴 또는 아우리스타틴-기반 ADC는 유방암을 치료하는데 사용된다.
- [0050] 본 발명의 또 다른 실시양태는 소정의 양의 아우리스타틴 또는 아우리스타틴-기반 ADC, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 파클리탁셀 및 도세탁셀로부터 선택된 소정의 양의 탁산 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 약학적 조성물에 관한 것이다.
- [0051] 또한, 아우리스타틴 및 탁산이 동시에 투여되거나 순차적으로 투여되는 실시양태가 제공된다.
- [0052] 또한, 아우리스타틴 및 탁산이 임의의 순서로 순차적으로 투여되는 실시양태가 제공된다.
- [0053] 추가적 실시양태는 소정의 양의 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 소정의 양의 탁산 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 약학적 조성물을 포함한다.
- [0054] 아우리스타틴과 PI3K/mTOR 억제제의 투여, 아우리스타틴과 MEK 억제제의 투여, 아우리스타틴과 탁산의 투여를 포함하는 본원에 기재된 동시적 투여의 임의의 방법이 제공되되, 상기 동시적 투여에 의해 달성된 항암 효과는 제1 및 제2 약학적 조성물의 비동시적 투여에 의해 달성되는 항암 효과보다 큰 실시양태가 제공된다.
- [0055] 포유동물에서 암을 치료하기 위한 (a) 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; (b) PF-384 및 PF-502로부터 선택된 PI3K-mTOR 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 및 (c) 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 투여량 형태 실시양태가 제공된다.
- [0056] 포유동물에서 암을 치료하기 위한 (a) 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; (b) PD-901인 MEK 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 및 (c) 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 투여량 형태 실시양태가 제공된다.
- [0057] 포유동물에서 암을 치료하기 위한 (a) 아우리스타틴-101인 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; (b) 파클리탁셀 또는 도세탁셀인 탁산 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 및 (c) 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 투여량 형태 실시양태가 제공된다.
- [0058] (a) 제1 단위 투여량 형태의, 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제; (b) 제2 단위 투여량 형태의, PF-384 및 PF-502로부터 선택된 PI3K-mTOR 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제; 및 (c) 상기 제1 및 제2 투여량 형태를 함유하기 위한 수단을 포함하는 키트 실시양태가 제공된다.
- [0059] (a) 제1 단위 투여량 형태의, 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제; (b) 제2 단위 투여량 형태의, PD-901인 MEK 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제; 및 (c) 상기 제1 및 제2 투여량 형태를 함유하기 위한 수단을 포함하는 키트 실시양태가 제공된다.
- [0060] (a) 제1 단위 투여량 형태의, 아우리스타틴-101인 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제; (b) 제2 단위 투여량 형태의 파클리탁셀 또는 도세탁셀인 탁산 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제; 및 (c) 상기 제1 및 제2 투여량 형태를 함유하기 위한 수단을 포함하는 키트 실시양태가 제공된다.

### 도면의 간단한 설명

- [0061] 도 1은 암 세포주의 패널에서 조합 지수(CI) 값의 요약을 나타낸다. 도 1a의 점도표는 PF-384(이중 PI3K/mTOR 억제제) 또는 mTOR-특이적 억제제와의 약물 조합의 분석에 따라 수득된 CI 지수 값의 범위를 나타낸다. 도 1b는 PTX와의 약물 조합의 분석에 따라 수득된 CI 지수 값의 범위를 나타낸다. 도 1a 및 1b에 대한 CI 지수는 재료 및 방법에 기재된 초우 탈랄레이법(Chou Talalay method)을 사용하여 결정되고 각각의 조합에 대한 ED50 수준에서 제시된다. 결과는 3개 이상의 독립적 실험의 평균이다. CI는 하기와 같이 해석된다: 매우 강한 상승 효과(<0.1), 강한 상승 효과 (0.1 내지 0.3), 상승 효과(0.3 내지 0.7), 중간 상승 효과(0.7 내지 0.85), 약한 상승 효과(0.85 내지 0.9), 거의 가산 효과(0.9 내지 1.1), 약한 길항 효과(1.1 내지 1.2) 및 중간 길항 효과

(1.2 내지 1.45). 1.1 및 0.7의 CI 값에서 점선이 존재한다. PTX, 파클리탁셀; VINO, 비노렐빈; Aur101, 아우리스타틴-101; mTORi, WYE-132.

도 2는 xCELigence 시스템을 사용한 MDA-468 세포에서 세포 성장의 동력학 모니터링을 나타낸다. 도 2a는 MDA-468 세포에서 5T4-ADC, PF-384 또는 조합의 농도- 및 시간-의존 세포 독성 효과를 나타낸다. 도 2a에서, 3개의 상이한 실험 중 하나의 대표가 도시된다. 도 2b에서 임피던스 지수 값이 8-일 시점에 대하여 제시되고 5T4-ADC + PF-384 조합에 대한 세포 성장 억제의 통계적으로 유의한 향상을 나타낸다. 도 2c는 MDA-468 세포에서 MMAF-OMe, PF-384 또는 조합의 농도- 및 시간-의존 세포 독성 효과를 나타낸다. 도 2c에서, 3개의 상이한 실험 중 하나의 대표가 도시된다. 도 2d에서 임피던스 지수 값이 8-일 시점에 대하여 제시되고 MMAF-OMe + PF-384 조합에 대한 세포 성장 억제의 통계적으로 유의한 향상을 나타낸다.

도 3은 5T4-ADC 또는 MMAF-OMe와 PF-384 또는 PTX의 조합이 3D 배양에서 세포 성장의 보다 강한 억제를 야기함을 나타낸다. 매트리겔에서 3D 회전타원체로서 성장한 MDA-468(2a 내지 2f) 또는 H-1975(g 내지 j) 세포 및 회전타원체 생존을 재료 및 방법에 기재된 바와 같이 측정하였다. 값은 평균 ± SEM이다. 도 3a에서, MDA-468 세포를 증가하는 투여량의 5T4-ADC, 고정된 투여량의 PF-384(10 nM) 또는 둘 다의 약물의 조합으로 7일 동안 처리하였다. 각각의 미처리된 대조군에 상대적인 성장률을 플롯팅하였다. 점선은 고정된 투여량의 PF-384에 대한 생존률(%)을 나타낸다. 도 3b는 도 3a로부터 지시된 약물 농도에서 선택된 데이터 지점의 히스토그램을 나타낸다. 별표는 5T4-ADC + PF-384로부터의 유의차를 나타낸다(\*\*p < 0.01, 스튜던트 t 검정). 도 3c에서, MDA-468 세포를 증가하는 투여량의 PF-384, 고정된 투여량의 MMAF-OMe(0.8 nM) 또는 둘 다의 약물의 조합으로 7일 동안 처리하였다. 각각의 미처리된 대조군에 상대적인 성장률을 플롯팅하였다. 점선은 고정된 투여량의 MMAF-OMe에 대한 생존률(%)을 나타낸다. 도 3d는 도 3c로부터 지시된 약물 농도에서 선택된 데이터 지점의 히스토그램을 나타낸다. 별표는 MMAF-OMe + PF-384로부터의 유의차를 나타낸다(\*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001; 스튜던트 t 검정). 도 3e에서, MDA-468 세포를 증가하는 투여량의 5T4-ADC, 고정된 투여량의 PTX(1 nM) 또는 둘 다의 약물의 조합으로 7일 동안 처리하였다. 각각의 미처리된 대조군에 상대적인 성장률을 플롯팅하였다. 점선은 고정된 투여량의 PTX에 대한 생존률(%)을 나타낸다. 도 3f는 도 3e로부터 지시된 약물 농도에서 선택된 데이터 지점의 히스토그램을 나타낸다. 값은 평균 ± SEM이다. 별표는 5T4-ADC + PTX로부터의 유의차를 나타낸다(\*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001; 스튜던트 t 검정). 도 3g는 증가하는 농도의 PF-384, 고정된 투여량의 5T4-ADC(5 또는 10 μg/ml) 또는 2개의 약물의 조합으로 처리된 H-1975 회전타원체의 투여량 반응 곡선을 나타낸다. 도 3h는 도 3g로부터 지시된 약물 농도에서 선택된 데이터 지점의 히스토그램을 나타낸다. 별표는 5T4-ADC(10 μg/ml) + PF-384(\*p < 0.05, \*\*\*p < 0.001; 스튜던트 t 검정) 또는 5T4-ADC(5 μg/ml) + PF-384(\*p < 0.05; 스튜던트 t 검정) 조합으로부터의 유의차를 나타낸다. 도 3i는 증가하는 농도의 PF-384, 고정된 투여량의 MMAF-OMe(0.3 또는 0.8 nM) 또는 2개의 약물의 조합으로 처리된 H-1975 회전타원체의 투여량 반응 곡선을 나타낸다. 도 3j는 도 3i로부터 지시된 약물 농도에서 선택된 데이터 지점의 히스토그램을 나타낸다. 별표는 MMAF-OMe(0.3 nM) + PF-384(\*p < 0.05; 스튜던트 t 검정) 또는 MMAF-OMe(0.8 nM) + PF-384(\*\*p < 0.01, \*\*\*\*p < 0.0001, 스튜던트 t 검정) 조합으로부터의 유의차를 나타낸다.

도 4는 5T4-ADC 또는 MMAF-OMe와 PF-384 또는 PTX의 조합에 의한 카스파제 3/7 활성의 유도를 나타낸다. 도 4a 및 4e는 5T4-ADC(10 μg/ml) + PF-384(1 μM)로 24시간 동안 처리된 MDA-468(도 4a) 또는 H-1975(도 4e) 세포에서 카스파제 3/7의 향상된 유도를 나타낸다. 도 4b 및 4f는 MMAF-OMe(2 nM) + PF-384(1 μM)로 24시간 동안 처리된 MDA-468(도 4b) 또는 H-1975(도 4f) 세포에서 카스파제 3/7의 향상된 유도를 나타낸다. 도 4c 및 4d는 5T4-ADC(1 μg/ml) + PTX(6 nM)(도 4c) 또는 MMAF-OMe(0.22 nM) + PTX(6 nM)(도 4d)로 48시간 동안 처리된 MDA-468 세포에서 카스파제 3/7 활성의 향상된 유도를 나타낸다. 카스파제 3/7 활성 유도 배수를 재료 및 방법에 기재된 바와 같이 결정하였다. 3중 실험의 평균 및 SEM을 나타냈다. \*p < 0.05, \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001. 별표는 각각의 단일 약물 단독 및 조합 사이의 통계적 유의차를 나타낸다; 스튜던트 t 검정.

도 5는 세포 주기 프로필에 대한 5T4-ADC, MMAF-OMe, PF-384 및 이들의 조합의 단일 제제 처리의 효과를 나타낸다. 비히클(대조군), 5T4-ADC(1 μg/ml)(단일 제제), PF-384(100 nM)(단일 제제), 또는 5T4-ADC(1 μg/ml) + PF-384(100 nM) 조합으로 24시간(도 5a) 및 36시간(도 5b) 동안 처리된 MDA-468의 세포 주기 단계 분포를 나타낸다. 도 5c는 유사 분열 지수에 대한 단일 제제 처리 5T4-ADC, PF-384 및 이들의 조합의 효과를 나타낸다. 유사 분열 지수는 도 5a 및 5b에 나타낸 실험에 대한 모집단 내 포스포-히스톤 H3-양성 세포의 백분율로서 유동 세포계수에 의해 결정하였다. 세포 주기 분석 및 유사 분열 지수는 플로우셀렉트 바이跛리에이트(FlowCelect Bivariate) 세포 주기 키트를 사용하여 유동 세포계수에 의해 수행하였다. 세포 주기의 G1, S, G2 상을 표준 오차를 갖는 총 세포 모집단의 평균 백분율로서 플롯팅하였다. 결과는 표준 오차를 나타내는 오차 막대를

갖는, 3회 실시된 2개의 독립적인 실험을 대표한다.

도 6은 5T4-ADC + PF-384 조합 처리가 생체내 유방암 및 폐암 모델에서 향상된 치료적 효과를 야기함을 나타낸다. 도 6a에서, 피하 MDA-468 종양을 갖는 마우스를 비히클, 5T4-ADC(i.v. 2 mg/kg, Q4D x 4), PF-384(i.v. 7.5 mg/kg, Q4D x 4) 또는 조합으로 처리하였다. 종점까지의 시간(TTE)은 동물의 경우 종양 퇴화를 달성하는데 경화된 시간으로서 정의된다. 카플란-마이어(Kaplan-Meier) 플롯은 시간에 따라 종양을 갖는 동물의 백분율 변화를 나타낸다. TTE 분석은 5T4-ADC의 단독 제제 활성과 비교시 5T4-ADC 및 PF-384의 조합의 사용시 종양 퇴화의 현저하게 향상된 속도를 입증한다( $p < 0.0001$ , 로그-순위 만텔-콕스(Mantel-Cox) 검정). PF-384는 본 실험에서 퇴화를 유도하지 않았다. 도 6b는 도 6a에 나타낸 데이터의 제53일에서 개별적 종양 부피 분석이다. 5T4-ADC + PF-384는 5T4-ADC( $P < 0.05$ ) 또는 PF-384( $P < 0.0001$ ) 단독 처리와 비교시 평균 종양 부피의 통계학적으로 유의한 억제를 야기한다. 그래프는 제53일(임의의 실험군에서 15% 이상의 마우스가 연구에서 제외될 때의 시간)에서 개별적 종양 부피를 나타내고, 막대는 군 당 평균 종양 부피를 나타낸다. CR(완전 완화)은 완전 종양 퇴화에 의해 정의된다. 도 6c에서, 피하 H-1975 종양을 갖는 마우스를 5T4-ADC(i.v. 3 mg/kg, Q4D x 4), PF-384(i.v. 7.5 mg/kg, Q4D x 4) 또는 조합으로 처리하였다. 종점은 종양 부피가 3배가 되는 시간으로서 정의된다. 카플란-마이어 플롯은 시간에 따라 종양 부피가 3배 증가보다 적은 동물의 백분율을 나타낸다. 데이터의 TTE 분석은 5T4-ADC( $p = 0.0356$ , 로그-순위 검정) 또는 PF-384( $p < 0.0001$  로그-순위 검정) 단독의 단일 제제 활성과 비교시 5T4-ADC + PF-384 조합이 종양을 3배로 만드는 속도의 현저한 지연을 입증한다. 도 6d는 도 6c에 나타낸 데이터의 제21일에서 개별적 종양 부피 분석을 나타낸다. 5T4-ADC는 5T4-ADC( $P < 0.01$ ) 또는 PF-384( $P < 0.0001$ ) 단독 처리와 비교시 평균 종양 부피의 통계학적으로 유의한 억제를 야기한다.

도 7은 5T4-ADC 및 PTX 조합이 생체내 유방암 및 폐암 모델에서 향상된 치료적 효과를 야기함을 나타낸다. 도 7a에서, 피하 MDA-468 종양을 갖는 마우스를 5T4-ADC(i.v. 2 mg/kg, Q4D x 4), PTX(p.o. 10 mg/kg, Q4D x 4) 또는 조합으로 처리하였다. 데이터의 TTE 분석은, 5T4-ADC( $p = 0.0071$ , 로그-순위 검정) 또는 PTX( $p = 0.01$ , 로그-순위 검정)의 단일 제제 활성과 비교시 5T4-ADC 및 PTX의 조합의 사용으로 완전 종양 퇴화의 현저하게 빠른 속도를 달성하였음을 입증한다. 도 7b는 도 7a에 나타낸 데이터의 제53일에서 개별적 종양 부피 분석을 나타낸다. 5T4-ADC + PTX(10 mg/kg)는 5T4-ADC( $P < 0.05$ ) 또는 PTX( $P < 0.001$ ) 단독 처리와 비교시 평균 종양 부피의 현저하게 향상된 억제를 야기한다. 막대는 군 당 평균 종양 부피를 나타낸다. CR(완전 완화)은 완전 종양 퇴화에 의해 정의된다. 도 7c는 도 7a와 유사하나, PTX를 22.5 mg/kg(p.o. Q4D x 4)의 투여량으로 사용하였다. 데이터의 TTE 분석은 5T4-ADC( $p = 0.00821$ , 로그-순위 검정) 또는 PTX의 단일 제제 활성과 비교시 (이 투여량에서 임의의 종양 퇴화가 발생하지 않음) 5T4-ADC + PTX 조합으로 달성된 완전 종양 퇴화가 현저하게 빠른 속도를 나타낸다. 도 7d는 도 7c에서 나타낸 데이터의 제53일에서의 개별적 종양 부피 분석을 나타낸다. 5T4-ADC + PTX(22.5 mg/kg)는 5T4-ADC( $P < 0.05$ ) 또는 PTX( $p = 0.07$ ) 단독 처리와 비교시 평균 종양 부피의 향상된 억제를 야기한다. 막대는 군 당 평균 종양 부피를 나타낸다. CR(완전 완화)은 완전 종양 퇴화에 의해 정의된다. 도 7e에서, 피하 H-1975 종양을 갖는 마우스를 5T4-ADC(i.v. 3 mg/kg, Q4D x 4), PTX(p.o. 10 mg/kg, Q4D x 4) 또는 조합으로 처리하였다. 5T4-ADC + PTX 조합은 단일 제제 처리보다 효과적이다. 도 7f는 도 7e에서 나타낸 데이터의 제46일에서 개별적 종양 부피 분석을 나타낸다. 5T4-ADC + PTX(22.5 mg/kg)는 5T4-ADC( $p < 0.0001$ ) 또는 PTX( $p < 0.0001$ ) 단독 처리와 비교시 평균 종양 부피의 향상된 억제를 야기한다. 막대는 군 당 평균 종양 부피를 나타낸다. 도 7g에서, 피하 37622A1 폐암 PDX 종양을 갖는 마우스를 5T4-ADC(i.v. 3 mg/kg, Q4D x 4), PTX(p.o. 22.5 mg/kg, Q4D x 4) 또는 조합으로 처리하였다. 오차 막대는 평균의 표준 오차를 나타낸다. 연구를 군 중 하나가(비히클) 15% 이상의 동물을 상실할 때인 제56일에 종결하였다. 통계 분석을 비히클 군의 종결시 수행하였다( $***p < 0.001$ ,  $****p < 0.0001$ , 이원 분산분석).

도 8은 5T4-ADC + 켐시타빈 조합 처리가 생체내 폐암 모델에서 향상된 치료적 효과를 야기함을 나타낸다.

피하 H-1975 인간 폐 종양 이종이식 받은 마우스를 5T4-ADC(i.v. 4 mg/kg, Q4D x 4), 켐시타빈(i.v. 30 mg/kg, Q7D x 3) 또는 조합으로 처리하였다. 플롯은 처리 개시 후에 지시된 시간에서 결정된 종양 부피의 종양 성장 곡선을 나타낸다. 점은 10 마우스/군의 값의 평균이고, 막대는 SE이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

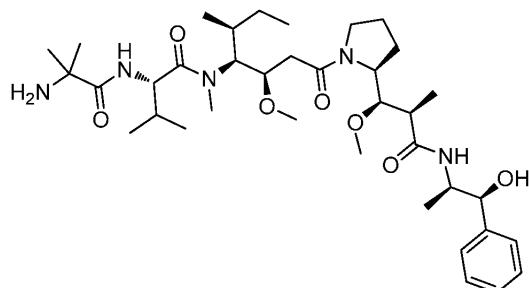
[0062] 본 발명에서, 달리 지시되지 않는 한, 하기 용어가 하기에 나타낸 바와 같이 기재된다.

[0063] 아우리스타틴: 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "아우리스타틴"은 천연물 원뿔균소로부터 유도된 약물을 포함하

는, 폴리펩티드-계 화합물의 부류 및 구조적으로 관련된 화합물, 예컨대 아우리스타틴-101, MMAE 및 MMAF를 나타낸다. 또한, 본 발명의 조합의 성분을 기재하기 위해 본원에 사용된 바와 같이, "아우리스타틴"은 아우리스타틴을 혼입하거나 포함하는 바이오-접합된 분자, 예를 들어 생물학적 잔기, 예컨대 항체(Ab)가 폴리펩티드 잔기에 연결된 항체-약물 접합체(ADC)를 나타낸다. 대표적 아우리스타틴 폴리펩티드-계 분자는 아우리스타틴-101, MMAE 및 MMAF를 포함한다. 대표적 아우리스타틴 ADC는 5T4-ADC를 포함한다.

[0064]

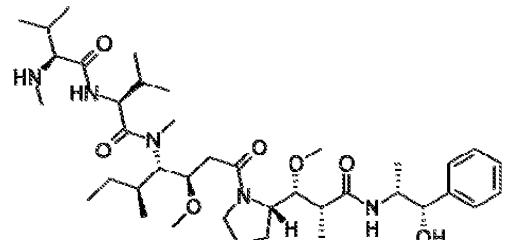
"아우리스타틴-101"은 아우리스타틴 폴리펩티드 화합물, 즉, 하기 화학식의 2-메틸알란일-N-[(3R,4S,5S)-3-메톡시-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소-3-{[(1S)-2-페닐-1-(1,3-티아졸-2-일)에틸]아미노}프로필]페롤리딘-1-일}-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일]-N-메틸-L-발린아미드, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 또는 이의 유도체를 나타낸다:



[0065]

[0066]

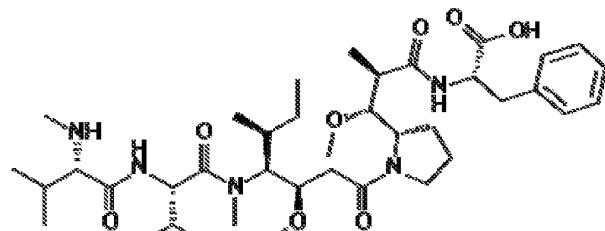
"MMAE"는 모노메틸아우리스타틴 E로 공지되고 하기 화학식을 갖는 아우리스타틴 폴리펩티드 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 또는 이의 유도체를 나타낸다:



[0067]

[0068]

"MMAF"는 모노메틸아우리스타틴 F 또는 (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-다이메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸아미노)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일) 피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로판아미도)-3-페닐프로판으로 공지되고 하기 화학식을 갖는 아우리스타틴 폴리펩티드 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 또는 이의 유도체를 나타낸다:



[0069]

[0070]

"5T4-ADC"는 5T4 항원에 대하여 특이적인 항체에 "mc" 링커를 통해 접합된 아우리스타틴 폴리펩티드 MMAF를 포함하는 분자를 나타낸다.

[0071]

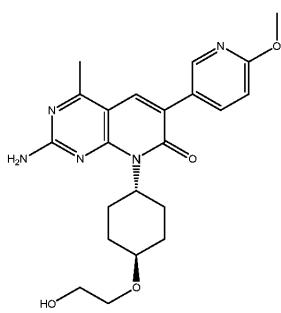
"항-5T4 항체-약물 접합체"는 비-질단성 말레이미도카프로일(mc) 링커를 통해 강한 튜불린 억제제 모노메틸아우리스타틴 F(MMAF)에 연결된 항-5T4 A1 항체를 나타낸다. 항-5T4-ADC(AlmcMMAF로 지칭됨)에서 표적화제는 인간 5T4를 특이적으로 인식하는 인간화된 IgG1 단일클론성 항체 A1이다. (문헌[Sapra P, Damelin M, Dijoseph J, Marquette K, Geles KG, Golas J, et al. Long term tumor regression induced by an antibody drug conjugate that targets 5T4, an oncofetal antigen expressed on tumor initiating cells. Molecular cancer therapeutics. 2013;12:38 47]). mcMMAF의 말레이미드는 항체 상에 시스테인 셀프히드릴 기에 접합되었다. 생성된 ADC는 4 mol/mol의 평균 약물:항체 비를 함유한다. 표적 세포 내로 내재화시 ADC는 리소좀에서 이화되어

어 세포 자멸 및 세포사를 야기하는 튜불린 중합을 억제하는 cysmcMMAF의 방출을 야기한다.

[0072] 본원에 사용된 바와 같이, "PI3K/mTOR 억제제"는 PI3K 및 mTOR 표적의 이중 억제를 가능하게 하는 화합물을 나타낸다. 이러한 이중 특이성 억제제는 mTOR 및 PI3K의 ATP 결합 부위 둘 다에 결합한다. 이러한 억제제의 예는 보르트만닌, LY294002, PI-103(케이만 케미컬(Cayman chemical)), SF1126(세마포어(Semafore)), BGT226(노바티스(Novartis)), XL765(엑셀리시스(Exelixis)) 및 NVP-BEZ235(노바티스)를 포함한다. (문헌[Liu et al., Nature Review, 8, 627-644, 2009]). 일부 양상에서, 이중 특이성 억제제는 이미다조퀴나졸린(예를 들어, 이미다조[4,5-c]퀴놀린 유도체)일 것이다. 화합물이 PI3K 및/또는 mTOR에 결합하고/하거나 이를 억제하는지 여부에 대한 예시적 분석은 당분야에 주지되어 있다.

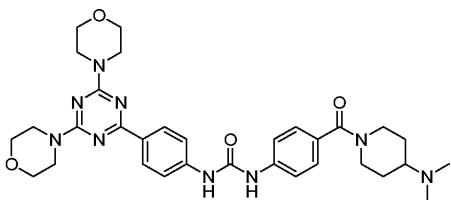
[0073] 용어 "개체" 및 "환자"는 본원에서 상호교환적으로 사용된다. "개체" 또는 "환자"의 예는 비제한적으로 인간, 래트, 마우스, 기니 피그, 원숭이, 돼지, 염소, 소, 말, 개, 고양이, 새 및 가금을 포함한다. 예시적 실시양태에서, 개체 또는 환자는 인간이다.

[0074] 또한, 임상 개발에 있어서 본 발명의 특히 관심있는 PI3K/mTOR 억제제는 하기 화학식의 2-아미노-8-[트랜스-4-(2-하이드록시에톡시)사이클로헥실]-6-(6-메톡시페리딘-3-일)-4-메틸페리도[2,3-d]페리미딘-7(8H)-온, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 또는 이의 유도체:



; 및

[0075] 하기 화학식의 1-(4-{[4-(다이메틸아미노)페페리딘-1-일]카본일}페닐)-3-[4-(4,6-다이모폴린-4-일)-1,3,5-트라이아진-2-일]페닐]우레아, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 또는 이의 유도체이다:



[0076] [0077] 이러한 제2 트라이아진-계 화합물은 PF-05212384, PF-'384, PF-384 또는 PKI-587로도 공지되어 있다.

[0078] 본원에 사용된 추가적 용어는 하기를 포함한다: 2D(이차원 세포 배양); 3D(삼차원 세포 배양); 5T4(종양태아성 항원 또는 TPBG); 5T4-ADC(mcMMAF 독소에 대한 5T4 mAb의 접합체); CR(완전 반응); CI(조합 지수); ED50(50% 효과 투여량); IC50(반최고치 억제 농도); IgG(면역글로불린 G); IHC(면역조직화학); mc(비-절단성 말레이미도 카프로일 링커); mcMMAF(비-절단성 말레이미도카프로일 링커에 연결된 모노메틸아우리스타틴 F); MMAF-Ome(모노 메틸아우리스타틴 F의 투과성 버전); mTOR(라파마이신의 포유동물 표적); PD-901(MEK 억제제 PD0325901); PF-384(이중 PI3K/mTOR 억제제, PF-05212384 또는 PKI-587); PI3K(포스포이노시티드 3-키나제); PTX(파클리탁셀); RNAseq(RNA 염기 서열); SOC(치료 표준); TCGA(암 유전체 지도); 및 WYE-132(글로벌 mTOR 억제제 WYE-125132).

[0079] 본 발명에서 사용하기 위한 활성화 부위 억제제의 또 다른 부류는 선택적 mTOR 억제제이다. 이러한 부류의 mTOR 억제제는 하나 이상의 유형 I 포스파티딜이노시톨 3-키나제와 비교하여 mTORC1 및 mTORC2를 선택적으로 억제한다. 유형 I 포스파티딜이노시톨 3-키나제는 PI3 키나제 u, PI3 키나제 p, PI3 키나제 7 또는 PI3 키나제 6으로부터 선택될 수 있다. 이를 활성 부위 억제제는 PI3K가 아닌 mTOR의 활성 부위에 결합한다. 이러한 억제제의 예는 토린(Torin)1(문헌[Guertin and Sabatini]), PP242(2-(4-아미노-1-이소프로필-1H-페라졸로[3,4-d]페리미딘-3-일)-1H-인도1-5-올), PP30, Ku-0063794, WAY-600(Wyeth(와이어스)), WAY-687(와이어스), WAY-354(와이어스) 및 AZD8055(문헌[Sparks and Guertin, Oncogene, 29, 2733-2744, 2010, Liu et al., Nature Review, 8, 627-644, 2009])를 포함한다. 일부 양상에서, mTOR 억제제는 페라졸로페리미딘일 것이다. mTOR 억제제의

선택성을 결정하는 방법은 당분야에 공지되어 있다. 본 발명에서 사용하기 위한 mTOR 억제제의 또 다른 부류는 본원에서 "라팔로그(rapalog)"로 지칭된다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "라팔로그"는 mTOR FRB 도메인 (FKBP 라파마이신 결합 도메인)에 특이적으로 결합하고 라파마이신에 구조적으로 관련되고 mTOR 억제 특성을 보유하는 화합물을 나타낸다.

[0081] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "PI3K 억제제"는 하나 이상의 PI3K에 결합하고 이의 활성을 억제하는 화합물 또는 리간드를 나타낸다. PI3K 단백질은 3개의 부류, 즉, 부류 1 P13K, 부류 2 P13K 및 부류 3 P13K로 분류될 수 있다. PI3K 억제제의 예는 BKM120(부류 1 P13K 억제제, 노바티스), XL147(부류 1 P13K 억제제, 엑셀릭시스), GDC0941(부류 1 P13K 억제제, 제넨테크(Genentech)), GSK1059615(pan-P13K 억제제, 글락소스미스클라인(GlaxoSmithKline)), PX-866(부류 1 P13K 억제제; p110u, p110p 및 p1107 동형 단백질, 온코티레온(Oncothyreon)) 및 CAL-101(부류 1 P13K 억제제; p1106 동형 단백질, 더 캘리스토가(the Calistoga))을 포함한다.

[0082] 본원에 이미 언급된 것에 더하여, 본 발명과 관련하여 유용한 PI3K 또는 PI3K/mTOR 억제제는 GDC 0941(PI3Ki) 및 GDC-098(PI3K/mTORi)(제네테크(Genentech)/로슈(Roche)); BEZ235(PI3K/mTORi), BGT226(PI3K/mTORi), BKM120(PI3Ki) 및 이베롤리무스(Everolimus)(mTORC1i 라팔로그)(노바티스); XL-767(PI3K/mTORi), XL-147(PI3Ki) 및 XL-388(엑셀릭시스/사노피-아벤티즈(Sanofi-Aventis)); AZD 8055(mTORi)(아스트라제네카(Astrazeneca)); GSK214179(AKT<sub>i</sub>) 및 GSK2126458(PI3K/mTORi)(GSK); OSI-027(mTORi) 및 OXA-01(mTORi)(OSI); CAL-101(PI3K<sub>8</sub>) 및 CAL120(PI3K<sub>γ/δ</sub>)(칼리스토가(Calistoga)); SF1126(PI3Ki)(세마포어); INK-128(mTORi), PI3K<sub>γ/δ</sub> 및 PI3K<sub>α/β</sub>(인텔리킨(Intellikine)); SB2312(PI3K/mTORi)(S\*Bio); AR-mTOR-1(mTORi) 및 AR-mTOR-26(mTORi)(ARRAY); PX-866(PI3Ki)(온코티레온); AEZS-126(PI3Ki)(에터나 젠타리스(Aeterna Zentaris)); ZSTK474(일본 암 연구 재단); WX037(윌렉스(Wilex)); NV-128(mTORi)(노바젠(Novagen)); EZN-4150(PI3Ki)(엔존(Enzon)); 엑스커버리(Xcovery), 셀좀(Cellzome) 등에 의해 개발 중인 화합물을 포함한다. 이미 본원에 언급된 것에 더하여, 본 발명과 관련하여 유용한 FGFR 억제제는 AZD-4547(아스트라제네카); LY2874455(릴리(Lilly)); BGJ-398 및 도비티닙(dovitinib)(노바티스); 브리바닙(brivanib) 알라니네이트(BMS); 살파티닙(sulfatatinib)(허치슨 메디 팜(Hutchinson Medi Pharm)); 인테다닙(intedanib)(뵈링거 인겔하임(Boehringer Ingelheim)); 렌바티닙(lenvatinib)(에이사이(Eisai)); 및 TSU-68(타이호 파마슈티컬(Taiho Pharmaceutical))을 포함한다.

[0083] 본원에 사용된 바와 같이, "MEK 억제제"는 미토겐-활성화된 단백질 키나제 효소 MEK1 및/또는 MEK2를 억제하는 화학물질 또는 약물이다. MEK 억제제는 일부 암에서 종종 과반응성인 MAPK/ERK 경로에 침범하는데 사용될 수 있다. 따라서, MEK 억제제는 BRAF-돌연변이 흑색종 및 KRAS/BRAF-돌연변이 대장암을 비롯한 일부 암의 치료에 대한 잠재력을 갖는다. MEK 억제제는 트라메티닙(Trametinib)(GSK1120212)(BRAF-돌연변이 흑색종을 치료하는데 FDA-승인되고 BRAF 억제제 다브라페닙(dabrafenib)과 조합되어 BRAF-돌연변이 흑색종을 치료하는 것으로 연구됨); 셀루메티닙(Selumetinib)(비-소세포 폐암(NSCLC)에 대한 제2상 임상 시험에서 PFS가 개선된 것으로 입증되었고, 포도막 흑색종 및 분화된 갑상선 암종에 대하여 다른 임상 시험 진행 중임); 비니메티닙(Binimetinib) 또는 MEK162(담도암 및 흑색종에 대하여 제1상 시험됨); PD-325901 또는 PCD-901(유방암, 결장암 및 흑색종과 관련되어 탐구됨); 코비메티닙(cobimetinib) 또는 XL518(후기 흑색종의 치료를 위한 베무라페닙(vemurafenib)(젤보라프(Zelboraf, 등록상표))과 조합되어 제3상 시험 중); 및 CI-1040을 포함한다. 본 발명과 특히 관련 있는 것은 MEK 억제제 PD-325901이다.

[0084] 파클리탁셀은 암 화학요법에 사용되는 유사 분열 억제제이다; 파클리탁셀 및 도세탁셀은 "탁산" 패밀리의 약물을 대표한다.

[0085] 본 발명의 방법의 실시양태에서, 비정상적 세포 성장은 비제한적으로 중피종, 간담즙성(간 및 담관), 원발성 또는 속발성 중추 신경계(CNS) 종양, 원발성 또는 속발성 뇌 종양, 폐암(NSCLC 및 SCLC), 편평 세포암, 골암, 췌장암, 피부암, 두경부암, 피부 또는 안내 흑색종, 난소암, 결장암, 직장암, 항문부암, 위암, 위장(위, 대장 및 십이지장)암, 유방암, 자궁암, 난관 암종, 자궁내막 암종, 자궁경관 암종, 질 암종, 음문 암종, 호지킨병, 식도암, 소장암, 내분비계암, 갑상선암, 부갑상선암, 부신암, 연조직 육종, 요도암, 음경암, 전립선암, 고환암, 만성 또는 급성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 림프구성 림프종, 방광암, 신장 또는 수뇨관암, 신장 세포 암종, 신우 암종, 중추 신경계(CNS) 신생물, 원발성 CNS 림프종, 비-호지킨 림프종, 척수 종양, 뇌간 교종, 뇌하수체 선종, 부신피질암, 담낭암, 다발성 골수종, 담관 암종, 섬유육종, 신경아세포종, 망막아세포종 또는 하나 이상의 전술된 암의 조합을 포함하는 암이다.

[0086] 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 암은 폐암(NSCLC 및 SCLC), 두경부암, 난소암, 결장암, 직장암, 항문부암, 위

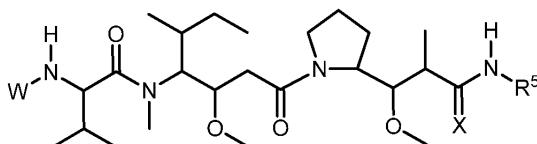
암, 유방암, 신장 또는 수뇨관암, 신장 세포암종, 신우암종, 중추신경계(CNS)신생물, 원발성 CNS 림프종, 비-호지킨 림프종 및 척수 종양으로부터 선택되거나; 폐암(NSCLC 및 SCLC), 난소암, 결장암, 직장암 및 항문부암으로부터 선택되거나; 폐암(NSCLC 및 SCLC), 난소암, 결장암 및 직장암으로부터 선택되거나; 방광암, 자궁내막암종, 다발성 골수종, 위암, 폐암(NSCLC 및 SCLC), 유방암 및 편평세포암으로부터 선택되거나; 자궁내막암종, 위암, 폐암(NSCLC 및 SCLC), 유방암 및 편평세포암으로부터 선택되거나; 자궁내막암종, 위암 및 폐암(NSCLC 및 SCLC)으로부터 선택되거나; 하나 이상의 전술된 암의 조합으로부터 선택된다.

본 발명의 하나의 실시양태에서, 아우리스타틴 및 PI3K-mTOR 억제제를 이를 필요로 하는 개체에게 동시에 투여하는 단계를 포함하는 개체에서 암의 치료 방법이 제공되며, 상기 PI3K-mTOR 억제제는 PF-384 및 PF-502로부터 선택된다.

본 발명의 추가적 실시양태는 PI3K-mTOR 억제제가 PF-384인 경우를 포함한다.

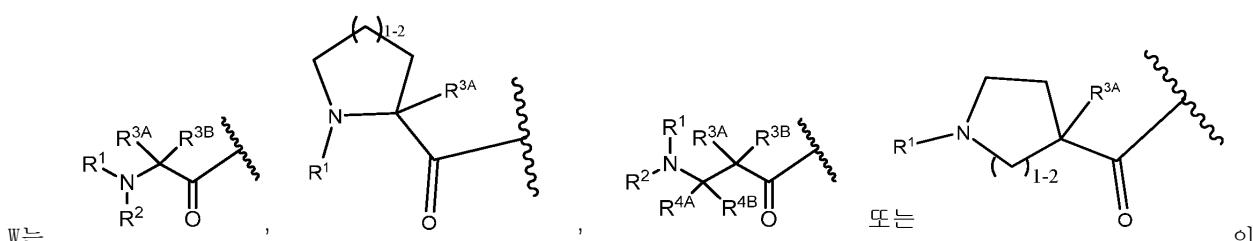
본 발명의 추가적 실시양태는 아우리스타틴이 하기 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 또는 상기 화합물, 염 또는 용매화물의 합체-약물 접합체인 경우를 포함한다:

## 〔화학식 I〕



상기 식에서.

각각의 경우 독립적으로



W는

$R^1$  은 수소  $C_1-C_9$  알킬 또는  $C_1-C_9$  학로알킬이고;

$R^2$ 는 숫자  $0 \sim 1$  사이의 값으로, 0에 가까울수록 모델의 적합도가 낮고, 1에 가까울수록 모델의 적합도가 높습니다.

(iii)  $R^{3A}$ 는 수소,  $C_1-C_8$  알킬,  $C_1-C_8$  할로알킬,  $C_3-C_8$  카보사이클릴,  $C_1-C_{10}$  헤테로사이클릴, 아릴, 헤테로아르알킬 할로제 또는 아르아크이이고

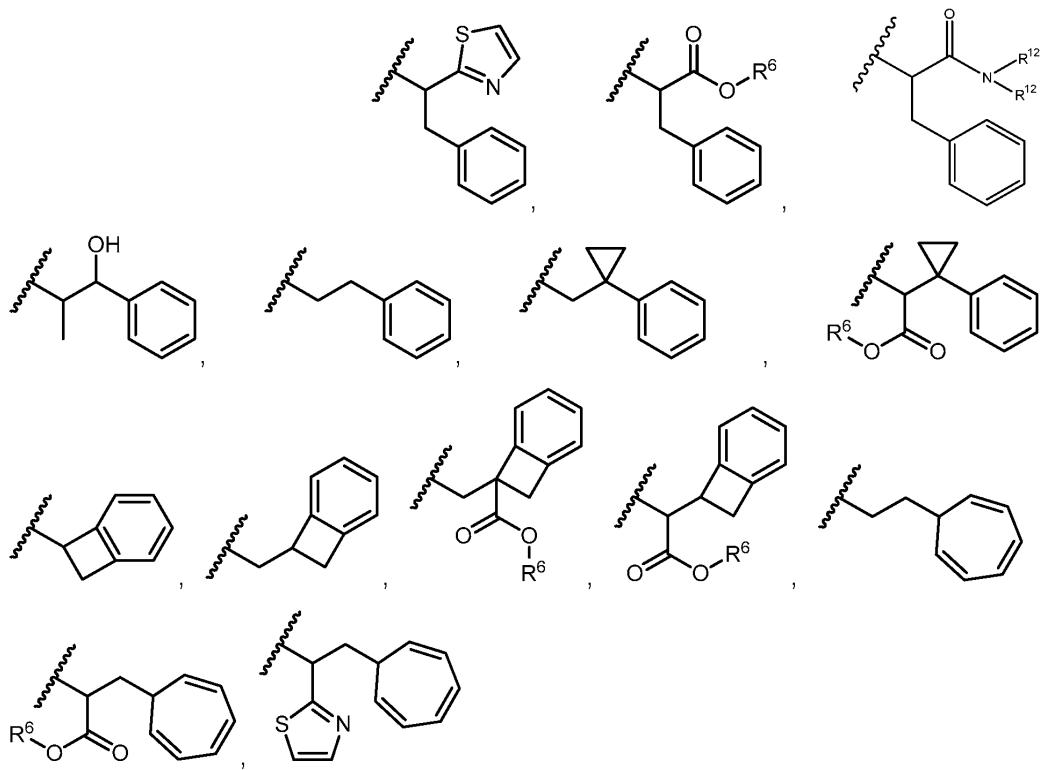
$R^{3B}$ 는  $C_1-C_8$  알킬,  $C_1-C_8$  할로알킬,  $C_3-C_8$  카보사이클릴,  $C_1-C_{10}$  헤테로사이클릴, 아릴, 헤테로아르알킬, 아르알킬 또는 할로케이거나.

(iv)  $R^{3A}$  및  $R^{3B}$ 는 함께 최해결  $C_2-C_0$  악티브 또는  $C_1-C_0$  혼테로 악티브이 고:

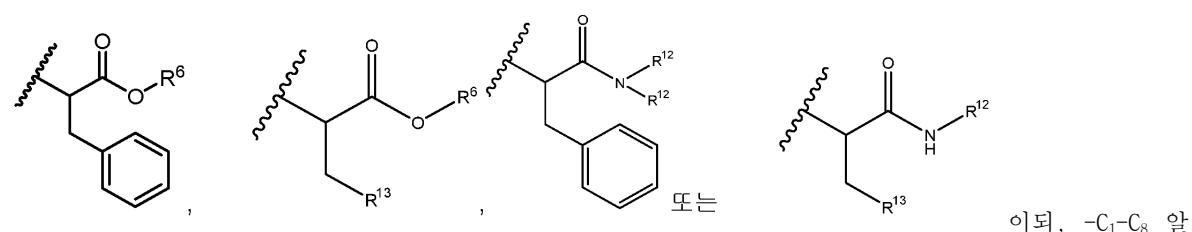
(iii)  $R^{4A}$ 는 수소,  $C_1-C_8$  알킬,  $C_1-C_8$  할로알킬,  $C_3-C_8$  카보사이클릴,  $C_1-C_{10}$  헤테로사이클릴, 아릴, 헤테로아르알킬 또는 아르알킬이고

$R^{4B}$ 는 수소,  $C_1-C_8$  알킬,  $C_1-C_8$  할로알킬,  $C_3-C_8$  카보사이클릴,  $C_1-C_{10}$  헤테로사이클릴, 아릴, 헤테로아르알킬 또는 아르알킬이거나,

[0102] (iv)  $R^{4A}$  및  $R^{4B}$ 는 함께 취해져  $C_2-C_8$  알킬렌 또는  $C_1-C_8$  헤테로알킬렌이고;



[0103]  $R^5$ 는 테로사이클릴,  $C_3-C_8$  카보사이클릴 또는  $C_6-C_{14}$  아릴이되,  $-C_1-C_8$  알킬,  $-C_1-C_8$  알킬- $N(R')_2$ ,  $-C_1-C_8$  알킬- $C(O)R'$ ,  $-C_1-C_8$  알킬- $C(O)OR'$ - $O-(C_1-C_8$  알킬),  $-C(O)R'$ ,  $-OC(O)R'$ ,  $-C(O)OR'$ ,  $-C(O)N(R')_2$ ,  $-NHC(O)R'$ ,  $-S(O)_2R'$ ,  $-S(O)R'$ ,  $-OH$ , 할로겐,  $-N_3$ ,  $-N(R')_2$ ,  $-CN$ ,  $-NHC(=NH)NH_2$ ,  $-NHCONH_2$ ,  $-S(=O)_2R'$  및  $-SR'$ 으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 1, 2, 3, 4 또는 5개의 기로 임의적으로 치환되고, 각각의  $R'$ 은 독립적으로 수소,  $C_1-C_8$  알킬 및 치환되지 않은 아릴로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되거나, 2개의  $R'$ 은 이들이 부착된 질소와 함께,  $C_1-C_{10}$  헤테로사이클릴을 형성할 수 있거나,



[0104]  $R^5$ 는 테로사이클릴,  $C_3-C_8$  카보사이클릴 또는  $C_6-C_{14}$  아릴이되,  $-C_1-C_8$  알킬,  $-C_1-C_8$  알킬- $N(R')_2$ ,  $-C_1-C_8$  알킬- $C(O)R'$ ,  $-C_1-C_8$  알킬- $C(O)OR'$ ,  $-O-(C_1-C_8$  알킬),  $-C(O)R'$ ,  $-OC(O)R'$ ,  $-C(O)OR'$ ,  $-C(O)N(R')_2$ ,  $-NHC(O)R'$ ,  $-S(O)_2R'$ ,  $-S(O)R'$ ,  $-OH$ , 할로겐,  $-N_3$ ,  $-N(R')_2$ ,  $-CN$ ,  $-NHC(=NH)NH_2$ ,  $-NHCONH_2$ ,  $-S(=O)_2R'$ ,  $-SR'$  및 아릴렌- $R'$ 으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 1, 2, 3, 4 또는 5개의 기로 임의적으로 치환되고, 각각의  $R'$ 은 수소,  $C_1-C_8$  알킬,  $C_1-C_8$  헤테로사이클릴,  $C_1-C_{10}$  알킬렌- $C_3-C_8$  헤테로사이클릴 및 아릴으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되거나, 2개의  $R'$ 은 이들이 부착된 질소와 함께  $C_1-C_{10}$  헤테로사이클릴을 형성할 수 있고;

[0105]  $R^6$ 는 수소,  $-C_1-C_8$  알킬,  $-C_2-C_8$  알켄일,  $-C_2-C_8$  알진일 또는  $-C_1-C_8$  할로알킬이고;

[0106]  $R^{12}$ 는 수소,  $C_1-C_4$  알킬,  $C_1-C_{10}$  헤테로사이클릴 또는  $C_6-C_{14}$  아릴이고;

- [0107]  $R^{13}$ 은  $C_1-C_{10}$  헤테로사이클릴이고;
- [0108] X는 O 또는 S이되,
- [0109]  $R^{3A}$ 가 수소일 때, X는 S가 아니다.
- [0110] 본 발명의 추가적 실시양태는 아우리스타틴이 항체-약물 접합체 5T4-ADC, PF-101 및 MMAF로부터 선택되는 것을 포함한다.
- [0111] 본 발명의 추가적 실시양태는 아우리스타틴이 항체-약물 접합체 5T4-ADC인 경우를 포함한다.
- [0112] 본 발명의 추가적 실시양태는 아우리스타틴-101인 경우를 포함한다.
- [0113] 본 발명의 추가적 실시양태 아우리스타틴이 MMAF인 경우를 포함한다.
- [0114] 본 발명의 추가적 실시양태는 암이 폐암인, 암의 치료 방법을 포함한다.
- [0115] 본 발명의 추가적 실시양태는 암이 유방암인, 암의 치료 방법을 포함한다.
- [0116] 본 발명의 또 다른 추가적 실시양태는 아우리스타틴 및 PI3K-mTOR 억제제가 동시에 투여되거나 순차적으로 투여되는 것을 포함한다. 순차적 투여는 임의의 순서로 발생할 수 있다 - 아우리스타틴이 먼저 투여 되거나 두번째로 투여된다.
- [0117] 본 발명의 실시양태는 소정의 양의 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 소정의 양의 PF-384 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 약학적 조성물을 포함한다.
- [0118] 또한, 본 발명의 실시양태는 아우리스타틴 및 MEK 억제제를 이를 필요로 하는 개체에게 동시에 투여하는 단계를 포함하는 개체에서 암의 치료 방법을 포함한다.
- [0119] 추가적 실시양태는 MEK 억제제가 PD-901인 경우를 포함한다.
- [0120] 추가적 실시양태는 아우리스타틴이 항체-약물 접합체 5T4-ADC, PF-101 및 MMAF로부터 선택되는 경우를 포함한다.
- [0121] 일부 실시양태에서, 아우리스타틴은 항체-약물 접합체 5T4-ADC이다.
- [0122] 일부 실시양태에서, 아우리스타틴은 아우리스타틴-101이다.
- [0123] 일부 실시양태에서, 아우리스타틴은 MMAF이다.
- [0124] 아우리스타틴/MEK 조합에서, 실시양태는 암이 폐암인 경우 및 암이 유방암인 경우를 포함한다.
- [0125] 본 발명의 일부 실시양태에서, 아우리스타틴 및 MEK 억제제는 동시에 투여되거나 순차적으로 투여되되, 순차적으로 투여되는 경우 임의의 순서로 순차적으로 투여된다.
- [0126] 일부 실시양태에서, 본 발명은 소정의 양의 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 소정의 양의 PD-901 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.
- [0127] 일부 실시양태에서, 본 발명은 아우리스타틴 및 탁산을 이를 필요로 하는 개체에게 동시에 투여하는 단계를 포함하는 개체에서 암의 치료 방법을 제공하되, 이때 아우리스타틴은 아우리스타틴-101이고, 탁산은 파클리탁셀 또는 도세탁셀이다. 이러한 방법은 폐암의 치료 방법 및 유방암의 치료 방법을 포함한다.
- [0128] 본 발명의 일부 실시양태에서, 아우리스타틴-101 및 탁산은 동시에 투여되거나 순차적으로 투여되되, 순차적으로 투여되는 경우 임의의 순서로 순차적으로 투여된다.
- [0129] 본 발명은 소정의 양의 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 소정의 양의 탁산 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 약학적 조성물을 추가로 제공한다.
- [0130] 본원에 기재된 일부 실시양태에서, 동시적 투여에 의해 달성된 항암 효과는 제1 및 제2 약학적 조성물의 비동시적 투여에 의해 달성된 항암 효과보다 크다.
- [0131] 본 발명의 일부 실시양태에서, (a) 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; (b) PI3K-mTOR 억제제 또

는 이의 약학적으로 허용되는 염(이때, PI3K-mTOR 억제제는 PF-384 및 PF-502로부터 선택됨); 및 (c) 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는, 포유동물에서 암을 치료하기 위한 투여량 형태가 제공된다.

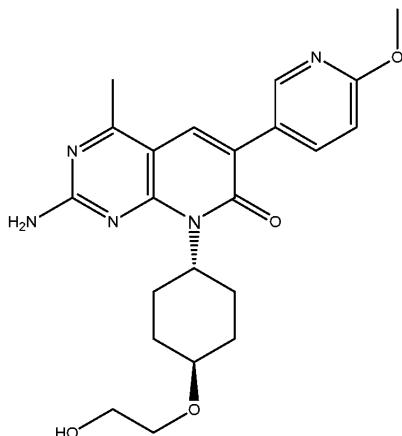
[0132] 본 발명의 일부 실시양태에서, (a) 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; (b) MEK 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염(이때, MEK 억제제는 PD-901임); 및 (c) 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는, 포유동물에서 암을 치료하기 위한 투여량 형태가 제공된다.

[0133] 본 발명의 일부 실시양태에서 (a) 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염(이때, 아우리스타틴은 아우리스타틴-101임); (b) 탁산 또는 이의 약학적으로 허용되는 염(이때, 탁산은 파클리탁셀 또는 도세탁셀임); 및 (c) 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는, 포유동물에서 암을 치료하기 위한 투여량 형태가 제공된다..

[0134] 본 발명의 일부 실시양태에서, (a) 제1 단위 투여량 형태의, 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제; (b) 제2 단위 투여량 형태의, PF-384 및 PF-502로부터 선택된 PI3K-mTOR 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제; 및 (c) 상기 제1 및 제2 투여량 형태를 함유하기 위한 수단을 포함하는, 포유동물에서 치료적 효과를 달성하기 위한 키트가 제공된다.

[0135] 본 발명의 일부 실시양태에서, (a) 제1 단위 투여량 형태의, 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제; (b) 제2 단위 투여량 형태의, PD-901인 MEK 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제; 및 (c) 상기 제1 및 제2 투여량 형태를 함유하기 위한 수단을 포함하는, 포유동물에서 치료적 효과를 달성하기 위한 키트가 제공된다.

[0136] 본 발명의 일부 실시양태에서, (a) 제1 단위 투여량 형태의, 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제(이때, 아우리스타틴은 아우리스타틴-101임); (b) 제2 단위 투여량 형태의, 파클리탁셀 또는 도세탁셀인 탁산 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제; 및 (c) 상기 제1 및 제2 투여량 형태를 함유하기 위한 수단을 포함하는, 포유동물에서 치료적 효과를 달성하기 위한 키트가 제공된다. 하나의 실시양태에서, 본 발명은 2-아미노-8-[트랜스-4-(2-하이드록시에톡시)사이클로헥실]-6-(6-메톡시페리딘-3-일)-4-메틸페리도[2,3-d]페리미딘-7(8H)-온(화합물 1A)에 관한 것이다:

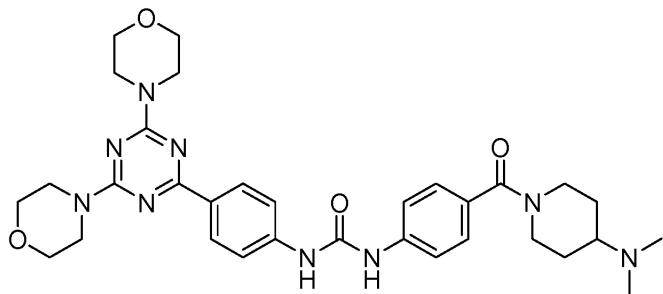


[0137]

[0138] 이는 본원에 참고로 포함된 WO 2008/002578, US 2008-0090801 A1, US 7,696,213에 기재되어 있다. 화합물 1A는 부류 I PI3K 및 mTOR 둘 다의 구조적으로 신규하고 강력하고 ATP-경쟁적이고 가역적인 이중 억제제이다. 화합물 1A는 던디 유니버시티(Dundee University) 및 인비트로겐(Invitrogen) 키나제 스크리닝 서비스를 사용하여 81개의 단백질 키나제의 패널에서 활성의 부족에 의해 나타나는 PI3K 패밀리, 및 부류 III PI3K 패밀리 hVps34에 대하여 높은 정도의 선택성을 입증하였다. 10  $\mu$ M 이하로 상승된 임의의 키나제에 대하여 유의한 억제 활성이 관찰되지 않았다(>500 선택성). 생체내 래트 PK 연구로부터, 화합물 1A는 낮은 클리어런스 및 양호한 경구 생체이용률을 입증하였다(F(%) 56 +/- 16%). 화합물 1A는 래트에서 중간 혈장 단백질 결합 및 20.2%의 미결합된 분획(Fu)을 나타냈다. 결과적으로, 1A의 미결합된 클리어런스는 낮다. 이를 특성은 강인한 생체내 성능을 입증하는 것으로 해석되고, 화합물 1A는 PI3K 경로 이상을 갖는 인간 암 세포주로 이식받은 마우스 이종이식 모델에서 생체내 활성을 갖는다.

[0139] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 1-(4-{[4-(다이메틸아미노)페리딘-1-일]카본일}페닐)-3-[4-(4,6-다이모폴린

-4-일-1,3,5-트라이아진-2-일)페닐]우레아(화합물 1B)에 관한 것이다:

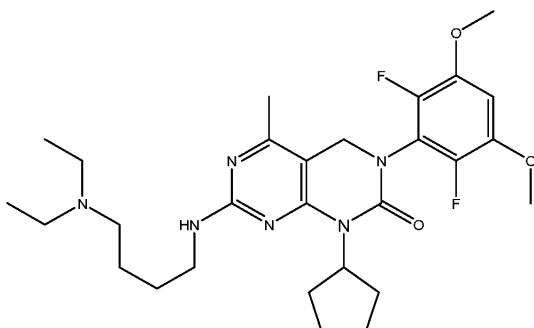


[0140]

[0141] 이는 본원에 참고로 포함된 WO 2009/044774, US 2009-0291079A1 및 US 8,039,469에 기재되어 있다. 화합물 1B는 정맥내 투여되는 매우 강한 pan-PI3K/ mTOR 억제제이다. 화학적으로, 화합물 1B는 PI3K 효소의 ATP 결합 포켓 내에 결합하는 2,4-비스모폴리노-6-아릴우레이도 트라이아진이다. 주요 결합 상호작용은 모폴리노 산소와 경첩 영역 Val 851 사이의 H-결합, 우레아 산소와 Lys-802 아미노 기 사이의 H-결합, 및 둘 다의 우레이도-NH와 Asp 810 카복시레이트 사이의 이중 H-결합이다. 화합물 1B는 236개의 키나제에 대한 이의 키나제 선택성 스크린(인비트로겐)에 의해 입증된 바와 같이 PI3K 및 PIKK에 대하여 매우 선택적이다. 화합물은 50 초파의 다양한 인간 종양 세포주에서  $IC_{50}<100$  nM의 강한 항-종식 효과를 갖는다. 또한, 화합물 1B는 증가된 PI3K 신호화를 갖는 암 세포주에서 세포 자멸을 유도하고 PI3K/mTOR 다운스트림 이펙터, 예컨대 AKT의 포스포릴화를 억제한다. 특히 반응성 세포주 MDA-MB-361 중 하나에서, 세포 자멸이 절단된 PARP의 억제제 의해 입증된 4h에서 30 nM의 화합물 1B에서 유도되었다. 이들 시험관내 결과는 화합물 1B가 유방(BT474, MDA-MB-361), 결장(HCT116), 폐(H1975) 및 신경교종(U87MG) 이종이식 모델에서 종양 성장을 억제하는 경우 생체내 결과로 해석된다. 주 1회 25 mg/kg로 투여된 화합물 1B는 큰( $1000\text{ mm}^3$ ) MDA-MB-361 종양을 줄어들게 하고 재-성장을 억제하였다. 이들 종양 퇴화는 MDA-MB-361 모델에서 포스포릴화된 Akt의 퇴화와 상관관계가 있다.

[0142]

또 다른 실시양태에서, 본 발명은 1-사이클로펜틸-7-(4-다이에틸아미노-부틸아미노)-3-(2,6-다이플루오로-3,5-다이메톡시-페닐)-3,4-다이하이드로-1H-파리미도[4,5-d]파리미딘-2-온에 관한 것이다:



[0143]

[0144] 이는 본원에 참고로 포함된 WO 2004/011465, US 2004-0019210 A1 및 US 7,196,090에 기재되어 있다. 화합물 2는 경구로 이용가능하며 티로신 키나제의 FGFR 패밀리(FGFR1, 2, 3 및 4)의 강하고 매우 선택적인 소분자 억제제이다. 화합물 2는 FGFR 유전적으로 변경된 세포주에 대하여 선택적으로 강하고 시험관내 및 생체내 둘 다에서 위암 및 폐암 세포주에서 우선적 감도를 나타낸다. 화합물 2는 시험된 60개 초파의 키나제에 대한 높은 키나제 선택성을 나타낸다. 세포 분석에서, 화합물은 FGFR2에 비해 VEGFR2에 대하여 100배 초파의 선택성을 갖고, 시험관내 및 생체내 둘 다에서 FGFR 및 다른 다운스트림 마커의 포스포릴화를 억제하는 것으로 나타났다. 화합물은 FGFR 유전자 증폭 또는 돌연변이에 의해 특징화되는 다양한 이종이식 종양 모델에서 생체내 종양 성장을 억제하는 것으로 나타났다. 화합물 2는 약물-유사 약학적 특성을 갖고, QD 또는 BID 경구 투여로 처리할 수 있는 약동학적 프로필을 갖는 것으로 예상된다.

[0145]

달리 지시되지 않는 한, 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "처리함"은 이러한 용어가 적용된 장애 또는 질환의 진행 또는 이러한 장애 또는 질환의 하나 이상의 증상을 역전시킴 또는 완화시킴, 장애 또는 질환 또는 이러한 장애 또는 질환의 하나 이상의 증상을 예방함을 포함한다. 달리 지시되지 않는 한, 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "처리"는 바로 위에 "처리함"으로 정의된 바와 같은 처리함의 작용을 나타낸다.

- [0146] 본 발명에 따라 치료받을 환자는 임의의 온혈 동물, 예컨대 비제한적으로 인간, 말, 개, 기니피그 또는 마우스를 포함한다. 예를 들어, 환자는 인간이다. 당업자는 암에 걸리고 치료를 요하는 개별적 환자를 용이하게 식별할 수 있다.
- [0147] 본원에 사용된 용어 "동시적 투여"는 개별적 치료적 화합물이 동시에(겹치는 시간 동안 포함) 개체내에 존재하도록 하는 여러 치료적 화합물의 투여를 나타낸다. 또한, 동시적 투여는 개별적 치료적 화합물이 동시에 또는 겹치는 시간에 존재하는지 여부에 관계없이 환자가 여러 치료적 화합물을 수용하는 동안의 기간 또는 치료 과정을 나타낼 수 있다.
- [0148] 순차적 투여는, 치료적 화합물이 투여되지 않는 기간의 존재 또는 부재하에 환자가 제1 치료적 화합물을 첫번째 미리 정해진 기간 동안 제공받고 제2 치료적 화합물을 두번째 미리 정해진 기간 동안 제공받음 등으로 여러 치료적 화합물이 순차적으로 투여되는 동안의 치료 기간을 나타낸다.
- [0149] 본 발명의 방법의 하나의 실시양태에서, 암은 비제한적으로 중피종, 간담즙성(간 및 담관), 원발성 또는 속발성 CNS 종양, 원발성 또는 속발성 뇌 종양, 폐암(NSCLC 및 SCLC), 편평 세포암, 골암, 췌장암, 피부암, 두경부암, 피부 또는 안내 흑색종, 난소암, 결장암, 직장암, 항문부암, 위암, 위장(위, 대장 및 십이지장)암, 유방암, 자궁암, 난관 암종, 자궁내막 암종, 자궁경관 암종, 질 암종, 음문 암종, 호지킨병, 식도암, 소장암, 내분비계암, 갑상선암, 부갑상선암, 부신암, 연조직 육종, 요도암, 음경암, 전립선암, 고환암, 만성 또는 급성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 림프구성 림프종, 방광암, 신장 또는 수뇨관암, 신장 세포 암종, 신우 암종, 중추 신경계(CNS) 신생물, 원발성 CNS 림프종, 비-호지킨 림프종, 척수 종양, 뇌간 교종, 뇌하수체 선종, 부신피질암, 담낭암, 다발성 골수종, 담관 암종, 섬유육종, 신경아세포종, 망막아세포종 또는 하나 이상의 전술된 암의 조합을 포함한다.
- [0150] 본 발명의 하나의 실시양태에서, 암은 폐암(NSCLC 및 SCLC), 두경부암, 난소암, 결장암, 직장암, 항문부암, 위암, 유방암, 신장 또는 수뇨관암, 신장 세포 암종, 신우 암종, 중추 신경계(CNS) 신생물, 원발성 CNS 림프종, 비-호지킨 림프종, 척수 종양 또는 하나 이상의 존설된 암의 조합으로부터 선택된다.
- [0151] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "상승적"은 2개 이상의 단일 제제의 가산 효과보다 효과적인 치료적 조합을 나타낸다. 예를 들어, 5T4-mcMMAF(또는 MMAF 또는 다른 아우리스타틴)와 하나 이상의 화학치료제 사이의 상승적 상호작용의 결정은 본원에 기재된 분석으로부터 수득된 결과를 기초로 할 수 있다. 이들 분석의 결과는 조합 지수 "CI"를 수득하기 위한 초우 및 탈랄레이 조합법 및 CalcuSyn 소프트웨어를 사용하는 투여량-효과 분석을 사용하여 분석된다(문헌[Chou and Talalay (1984) Adv. Enzyme Regul. 22:27-55]). 본 발명에 의해 제공된 조합은 여러 분석 시스템에서 평가되었고, 데이터는 항암제 간에 상승 효과, 가산 효과 및 길항 효과를 정량화하기 위한 표준 프로그램을 사용하여 분석될 수 있다. 바람직하게 사용되는 프로그램은 문헌[Chou and Talalay, "New Avenues in Developmental Cancer Chemotherapy," Academic Press, 1987]에 기재된 것이다. 0.8 미만의 조합 지수(CI) 값은 상승 효과를 나타내고, 1.2 초과의 값은 길항 효과를 나타내고, 0.8 내지 1.2의 값은 가산 효과를 나타낸다. 조합 치료는 "상승 효과"를 제공할 수 있고 "상승 효과"를 입증할 수 있다, 즉, 활성 성분을 함께 사용했을 때 달성된 효과가 화합물을 개별적으로 사용함으로써 야기된 효과의 합보다 크다. 상승 효과는 활성 성분이 (1) 조합된 단위 투여량 제형으로 공동-제형화되고 동시에 투여되거나 전달될 때; (2) 별개의 제형으로서 교대로 전달될 때; 또는 (3) 일부 다른 양생법에 의해 전달될 때 수득된다. 교대 요법으로 전달될 때, 상승 효과는 화합물이 순차적으로, 예를 들어 별개의 주사기로 상이한 주사에 의해 투여되거나 전달될 때 수득될 수 있다. 일반적으로, 교대 요법 동안, 각각의 활성 성분의 효과적 투여량은 순차적으로, 즉, 시간 맞춰 순차적으로 투여된다.
- [0152] 생체내 또는 치료적 상승 효과의 측정에서, 상승 효과의 하나의 척도는 "최고 단일 제제 초과(Excess over Highest Single Agent)" 상승 효과로서 공지되어 있다. 최고 단일 제제 초과 상승 효과는 고정된 투여량의 조합이 이의 성분의 투여량 모두보다 우수한 경우, 이를 "최고 단일 제제 초과"로 지칭한다. (FDA 정책 21 CFR 300.50(조합 약물 제품의 승인을 위한 방법을 사용함); 및 문헌[Borisy et al. (2003) Proceedings of the National Academy of Science] 참조). 물론, 또한, 본원에서 "상승 효과"의 사용은 가산적 및/또는 교대적 방법에 의해 측정된 생체내 상승 효과를 포함한다.
- [0153] 본 발명의 특정 양상은 약학적으로 허용되는 염의 투여에 관한 것이다. 달리 지시되지 않는 한, 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "약학적으로 허용되는 염"은 본 발명의 화합물에 존재할 수 있는 산성 또는 염기성 기의 염을 포함한다. 대표적 염은 하이드로브로마이드, 하이드로클로라이드, 살레이트, 바이설레이트, 니트레이트, 아세테이트, 옥살레이트, 발레레이트, 올레이트, 팔미테이트, 스테아레이트, 라우레이트, 보레이트, 벤조에이트,

락테이트, 포스페이트, 토실레이트, 시트레이트, 말레이트, 퓨마레이트, 석시네이트, 타르트레이트, 나프틸레이트, 메실레이트, 글루코헵토네이트, 락토비오네이트 및 라우릴포스포네이트 염 등을 포함한다. 이들은 알칼리 금속 및 알칼리 토금속-계 양이온(예컨대 나트륨, 리튬, 칼륨, 칼슘, 마그네슘), 뿐만 아니라 비-독성 암모늄, 4차 암모늄 및 아민 양이온(비제한적으로 암모늄, 테트라메틸암모늄, 테트라에틸암모늄, 메틸아민, 다이메틸아민, 트라이메틸아민, 트라이에틸아민, 에틸아민 등 포함)을 포함할 수 있다(예를 들어 본원에 참고로 포함된 문헌[S.M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts," J. Pharm. Sci., 1977;66:1-19]; 및 [Handbook of Pharmaceutical Salts, P. Heinrich Stahl, Camille G. Wermuth (Eds.), Published jointly by VHCA (Zurich, Switzerland)&Wiley-VCH (Weinheim, Germany) 2002] 참조. 또한, 이러한 용어는 약학적으로 허용되는 산 부가 염을 포함하고, 관련된 화합물은 수화물 또는 용매화물로 발생할 수 있고, 수화물 및 용매화물도 본 발명의 범주내에 속한다.

- [0154] 화합물(또는 이의 약학적으로 허용되는 염)의 유효량은 본 발명의 조합에 종양 세포의 성장 또는 암 전이의 진행을 예방하거나 억제하는데 충분한 양을 포함하는 것으로 이해될 수 있다. 또한, 투여량 또는 투여 양생법의 치료적 또는 약리학적 효과는 구체적 종양을 겪는 환자에서 차도를 유도하거나 향상시키거나 유지하거나 연장시킬 수 있는 능력으로서 특징지어질 수도 있다.
- [0155] 본 발명의 방법 또는 조합에 사용될 화합물은 통상적으로 임상적으로 사용되는 투여량 또는 복용량으로 투여될 수 있다. 당업자는 공지된 방법에 따라 인자, 예컨대 연령, 중량, 일반 건강, 투여될 화합물, 투여 경로, 치료할 암의 성질 및 진전, 및 다른 약제의 존재를 고려하여 환자에게 투여하기 위한 본 발명의 조합에 사용되는 각각의 화합물의 적절한 유효량 또는 투여량을 결정할 수 있을 것이다.
- [0156] 본 발명의 화합물의 조합의 투여는 작용 부위로 화합물의 전달을 할 수 있는 임의의 방법에 의해 수행될 수 있다. 이들 방법은 경구 경로, 십이지장내 경로, 비경구 주사(정맥내, 피하, 근육내, 혈관내 또는 주입 포함), 국소 및 직장 투여를 포함한다.
- [0157] 본 발명의 방법 또는 조합의 화합물은 투여 전에 제형화될 수 있다. 제형은 바람직하게 투여의 특정 모드에 적합화될 수 있다. 이들 화합물은 당분야에 공지된 바와 같이 약학적으로 허용되는 담체와 함께 제형화될 수 있고 당분야에 공지된 바와 같이 매우 다양한 투여량 형태로 투여될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물의 제조에 있어서, 활성 성분은 일반적으로 약학적으로 허용되는 담체와 혼합되거나 담체에 의해 희석되거나 담체내에 봉입된다. 이러한 담체는 비제한적으로 고체 희석제 또는 충전제, 부형제, 멸균 수성 매질 및 다양한 비독성 유기 용매를 포함한다. 투여량 단위 형태 또는 약학적 조성물은 정제, 캡슐(예컨대 젤라틴 캡슐), 환약, 분말, 과립, 수성 및 비수성 경구 용액 및 혼탁액, 로젠지, 트로키, 하드 캔디, 스프레이, 크림, 연고, 좌제, 젤리, 젤, 페이스트, 로션, 도포제, 주사가능한 용액, 엘릭시르, 시럽 및 개별적 투여로 세분을 위해 적합화된 용기내로 포장된 비경구 용액을 포함한다.
- [0158] 비경구 제형은 이의 제조를 위한 약학적으로 허용되는 수성 또는 비수성 용액, 분산액, 혼탁액, 유화액 및 멸균 분말을 포함한다. 담체의 예는 물, 에탄올, 폴리올(프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜), 식물 오일 및 주사 가능한 유기 에스터(예컨대 에틸 올레이트)를 포함한다. 유동성은 코팅, 예컨대 레시틴, 계면활성제를 사용하거나 적절한 입자 크기를 유지함으로써 유지될 수 있다. 예시적 비경구 투여 형태는 멸균 수용액(예를 들어 수성 프로필렌 글리콜 또는 텍스트로스 용액) 중 본 발명의 화합물의 용액 또는 혼탁액을 포함한다. 이러한 투여량 형태는 필요에 따라 적합하게 완충된다.
- [0159] 추가적으로, 윤활제(예컨대 마그네슘 스테아레이트, 나트륨 라우릴 설페이트 및 활석)는 흔히 정제화 목적을 위해 유용하다. 또한, 유사한 유형의 고체 조성물이 연질 및 경질 충전 젤라틴 캡슐에 사용될 수 있다. 따라서, 바람직한 물질은 락토스 또는 유당 및 고분자량 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 수성 혼탁액 또는 엘릭시르가 경구 투여를 위해 목적될 때, 그 내부에서 활성 화합물은 희석제, 예컨대 물, 에탄올, 프로필렌 글리콜, 글리세린 또는 이들의 조합과 함께 다양한 감미제 또는 향미제, 색소 또는 염료, 및 필요에 따라, 유화제 또는 혼탁화제와 조합될 수 있다.
- [0160] 구체적 양의 활성 화합물을 갖는 다양한 약학적 조성물의 제조 방법은 당업자에게 공지되어 있거나 자명할 것이다. 예를 들어, 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easter, Pa., 15th Edition (1975)]을 참조한다.
- [0161] 본 발명에 따른 방법, 조성물 및 키트는 화합물 1A 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 화합물 1B 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 단독, 또는 화합물 2 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 단독을 포함하는 종래의 항

암 치료와 비교시 개선된 수준의 항암 활성 억제를 제공할 수 있다. 이처럼, 보다 적은 부작용과 함께 동일하거나 적절한 수준의 항암 활성을 유지하는 반면에, 다른 항암제의 부재하에 불충분(즉, 필요량 이하로 처방함) 할 수 있는 투여량으로 본 발명의 항암제를 사용하는 것이 가능할 수 있다.

[0162] 본 발명의 방법, 조성물 및 키트에서, 아우리스타틴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 약 0.1 내지 약 20 mg의 투여량으로 1일 1회 경구(PO) 투여될 수 있다. 예를 들어, 약 0.1 내지 약 20 mg의 투여량으로 1일 1회, 약 0.5 내지 약 15 mg의 투여량으로 1일 1회, 약 1 내지 약 10 mg의 투여량으로 1일 1회, 또는 약 2 내지 8 mg의 투여량으로 1일 1회이다. 실시양태에서, 청구된 치료적 화합물은 약 2 내지 8 mg의 투여량으로 1일 1회, 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10 mg의 양으로 1일 1회 경구(PO) 투여될 수 있다. 또한, 투여는 보다 자주 또는 보다 드물게, 예를 들어 1일 2회, 2, 3, 4, 5 또는 6일 마다 1회, 2주 마다 1회, 1개월 마다 1회 또는 처방받은 대로 수행될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 치료적 화합물은 IV 주입을 통해 투여될 수 있다.

[0163] 본 발명의 방법, 조성물 및 키트에서, 치료적 화합물(이의 약학적으로 허용되는 염 포함)은 약 10 내지 약 500 mg의 투여량으로 IV 주입을 통해 약 15분 내지 약 3시간 동안 1주일 마다 1회, 바람직하게 IV 주입을 통해 약 30분 동안 투여될 수 있다. 또한, 투여는 보다 자주 또는 보다 드물게, 예를 들어 2, 3, 4, 5 또는 6일 마다 1회, 2주 마다 1회, 2주 마다 1회, 1개월 마다 1회 또는 처방 받은 대로 수행될 수 있다. 청구된 방법 및 조성물에서 아우리스타틴 화합물은 다른 조합 화합물의 투여 전에, 투여 중에 또는 투여 후에 투여될 수 있다. 이러한 동시적 투여(공동-투여)는 별개의 투여량 형태 또는 동일한 투여량 형태일 수 있다.

[0164] 일부 예에서, 당업자에 의해 결정된 바와 같이, 다른 경우 훨씬 더 많은 투여량이 사용될 수 있지만, 전술된 범위의 하한보다 낮은 투여량 수준이 매우 적절할 수 있다.

[0165] 본 발명의 방법, 조성물 및 키트의 실행은 다양한 투여 양생법을 통해 달성될 수 있다. 하나의 양상에서, 화합물은 1-주, 2-주, 3-주, 4-주, 5-주, 6-주, 7-주 또는 8-주 주기로 투여될 수 있다. 투여 양생법의 반복은 암 세포의 목적하는 감소 또는 축소를 달성하기 위해 필요한 만큼 수행될 수 있다.

[0166] 또한, 본 발명은 아우리스타틴 및 다른 치료적 화합물(하나 또는 둘 다의 약학적으로 허용되는 염 포함), 및 치료제 투여의 설명서를 포함하는 키트에 관한 것이다. 하나의 실시양태에서, 설명서는 예를 들어 본 발명의 치료제의 동시적 또는 순차적 투여를 위해 치료제의 투여 모드를 자세히 설명하고 한정한다. 또 다른 실시양태에서, 키트는 암의 치료를 위한 것으로서, 상기 암은 비제한적으로 중피종, 간담즙성(간 및 담관), 원발성 또는 속발성 CNS 종양, 원발성 또는 속발성 뇌 종양, 폐암(NSCLC 및 SCLC), 편평 세포암, 골암, 췌장암, 피부암, 두경부암, 피부 또는 안내 흑색종, 난소암, 결장암, 직장암, 항문부암, 위암, 위장(위, 대장 및 십이지장)암, 유방암, 자궁암, 난관 암종, 자궁내막 암종, 자궁경관 암종, 질 암종, 음문 암종, 호지킨병, 식도암, 소장암, 내분비계암, 갑상선암, 부갑상선암, 부신암, 연조직 육종, 요도암, 음경암, 전립선암, 고환암, 만성 또는 급성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 림프구성 림프종, 방광암, 신장 또는 수뇨관암, 신장 세포 암종, 신우 암종, 중추 신경계(CNS) 신생물, 원발성 CNS 림프종, 비-호지킨 림프종, 척수 종양, 뇌간 교종, 뇌하수체 선종, 부신피질암, 담낭암, 다발성 골수종, 담관 암종, 섬유육종, 신경아세포종, 망막아세포종, 또는 하나 이상의 전술된 암의 조합; 또는 보다 구체적으로 폐암(NSCLC 및 SCLC), 두경부암, 난소암, 결장암, 직장암, 항문부암, 위암, 유방암, 신장 또는 수뇨관암, 신장 세포 암종, 신우 암종, 중추 신경계(CNS) 신생물, 원발성 CNS 림프종, 비-호지킨 림프종, 척수 종양, 또는 하나 이상의 전술된 암의 조합; 또는 보다 구체적으로 폐암(NSCLC 및 SCLC), 난소암, 결장암, 직장암, 또는 하나 이상의 전술된 암의 조합; 또는 보다 구체적으로 폐암(NSCLC 및 SCLC), 난소암, 결장암, 직장암, 또는 하나 이상의 전술된 암의 조합; 또는 방광암, 자궁내막 암종, 다발성 골수종, 위암, 폐암(NSCLC 및 SCLC), 유방암 및 편평 세포암, 또는 하나 이상의 전술된 암의 조합; 또는 자궁내막 암종, 위암, 폐암(NSCLC 및 SCLC), 유방암 및 편평 세포암, 또는 하나 이상의 전술된 암의 조합; 또는 자궁내막 암종, 위암 및 폐암(NSCLC 및 SCLC), 또는 하나 이상의 전술된 암의 조합을 포함한다.

## 실시예

### 실시예 1: 세포주 및 시약

[0169] 인간 종양 세포주 NCI-H1975, Calu-6, NCI-H358, HCC2429, MDA-MB-468, MDA-MB-231, CAOV-3, TOV-112D, OV-90, OVCAR-3, SKOV-3, HT-29, NCI-N87, Raji, 라모스(Ramos)를 미국 균주 은행(American Type Culture Collection; ATCC)으로부터 구입하였다. MDAMB361-DYT2 세포 MDAMB435/5T4는 인간 5T4로 안정하게 형질감염된 세포이다. 37622A1 NSCLC 환자-유래된 이종이식(PDX), 및 37622A1로부터의 무-혈청 우선 배양 TUM622의 확립 및 특징화를 기재하였다(6). 각각의 세포주를 ATCC에 의해 권고된 이의 표준 배지에서 배양하였다. 시험관내

연구의 경우, 화학요법 약물을 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich)로부터 입수하였다. 에를로티닙(Erlotinib) 및 페메트렉시드(Pemetrexed)를 셀렉 케미컬즈(Selleck Chemicals)로부터 구입하였다. PF-05212384(PKI-587), PD-0325901(PD-901), O-Me-MMAF(MMAF) 및 아우리스타틴 101을 상업적으로 입수 가능한 시약을 사용하여 공지된 기술에 따라 제조하였다. 5T4-ADC(AlmcMMAF)의 제조는 이전에 US 2012/0251558A에 기재되어 있다.

#### [0170] 실시예 2: 2D 세포 증식 분석

[0171] 세포를 96-웰 투명-바닥 플레이트(코닝(Corning))에 플레이팅하고 다양한 농도의 화합물로 4일 동안 처리하였다. 셀티터 글로(CellTiter Glo) 발광 세포 생존능 분석 키트(프로메가(Promega))를 사용하여 결정하고 빅터(Victor) X3 플레이트 판독기(퍼킨 엘머(Perkin Elmer))를 사용하여 결정하였다. 데이터를 대조군(빈 백터 또는 DMSO)에 대하여 정규화하였다. IC50 값을 50% 성장 억제를 야기하는 농도로서 정의하였다. IC50 값은 로지스틱 비선형 회귀 모델 번호 203 및 XL fit v4.2(IDBS, 영국 서리 굴포드 소재)를 사용하여 계산하였다. 모든 실험적 포인트를 3개의 복제 웰에 설정하고 독립적으로 이중으로 수행하였다.

#### [0172] 실시예 3: 3D 세포 증식 회전타원체 분석

[0173] 40  $\mu$ l/웰의 100% BD 매트리겔 매트릭스(성장 인자 감소됨)(# 354230)를 갖는 투명-바닥 96 웰 플레이트. 2% 매트리겔 중의 3000/웰 최종 농도의 MDA-MB-468 또는 H-1975의 세포 혼탁액을 100% 매트리겔 베이스의 상부 상에 덮어씌웠다. 세포를 성장시키고 회전타원체를 형성하고, 회전타원체가 약 100  $\mu$ m의 크기에 도달했을 때(광학 현미경으로 측정) 약물 처리를 시작하였다. 단일 투여량 처리 및 IC50 결정을 위해, 회전타원체의 이중 웰을 화합물 또는 ADC로 7일 동안 처리하여 9.2 배 투여량-응답 곡선을 수득하였다. 증식을 처리후 제7일에 셀티터 글로 발광 세포 생존능 분석 키트(프로메가 # G7570)를 사용하여 결정하였다.

#### [0174] 실시예 4: 상승 효과 분석

[0175] 약물 조합의 효과를 초우-탈랄레이 중간 효과 분석을 사용하여 평가하였다(28). 세포를 각각의 약물을 단독으로 및 조합으로 2개의 독립적 96-웰 플레이트에 대각선 매트릭스 포맷으로 처리하고, 증식을 셀티터 글로 키트(프로메가)를 사용하여 측정하였다. 결과를 미처리된 대조군의 것과 비교하여 처리된 샘플의 측정된 발광 계수를 기반으로 생존 분율(영향받은 분율, Fa)로서 표현하였다. 고정된 약물 비를 사용한 다양한 투여량-효과 곡선을 대표하는 7개의 대각선을 사용하여 CalcuSyn 소프트웨어(바이오소프트(Biosoft, 미국 미주리주 퍼거슨 소재))로 각각의 조합에 대한 조합 지수(CI)를 측정하였다. 각각의 실험에서, ED50 수준에서의 CI 지수를 7 내지 8개의 데이터 포인트를 갖는 3개의 투여량 효과 곡선에 대하여 평균냈다. 도 1을 참조한다.

#### [0176] 실시예 5: 임피던스 분석

[0177] 세포 성장을 96 E-플레이트를 사용하여 xCELLigence RTCA MP 시스템(아세아 바이오사이언스 인코포레이티드(Acea Biosciences Inc, 미국 캘리포니아주 샌디에고 소재))을 사용하여 실시간으로 모니터링하였다. xCELLigence 시스템은 전기적 임피던스를 측정함으로써 세포 수 변화를 감지하고 웰의 바닥에 부착된 세포 수와 직접 관련된 세포 지수 값을 생성한다(29). 베이스라인 플레이트 세포 지수를 세포 시딩 전에 수득하였다. 세포를 50 ml 부피 중에 4,000 세포/웰로 시딩하고 밤새 항온처리하였다. 투여하는 날(제1일)에, 화합물을 지시된 농도로 첨가하고, 임피던스 판독을 약 250시간 동안 모니터링하였다. 약물 또는 비히클 처리된 아암(arm)에 대한 임피던스 지수 값을 실험의 종료시 플롯팅하거나 시간에 따라 비교하였다.

#### [0178] 실시예 6: 카스파제 3/7 세포 자멸 분석

[0179] MDA-468 및 H-1975 세포를 처리 전날에 96-웰 플레이트에 15,000/웰로 시딩하였다. 처리 16, 24 또는 48시간 후에, 카스파제 3/7 활성을 제조업자의 프로토콜에 따라 카스파제-글로 3/7 분석(프로메가 G8092, 미국 위스콘신주 매디슨 소재)을 사용하여 측정하였다. 이중 플레이트에서, 세포 생존능을 셀티터-글로 발광 세포 생존능 분석(프로메가 G7573, 미국 위스콘신주 매디슨 소재)에 의해 결정하였다. 약물-처리된 샘플에서 카스파제 3/7 활성 증가를 먼저 비히클-처리된 대조군과 비교하여 표현하고 생존능에 대하여 정규화하고 비히클-처리된 대조군과 비교하여 유도 배수인지를 표현하였다.

#### [0180] 실시예 7: 세포 주기 분석

[0181] 세포를 제조업자의 프로토콜에 따라 플로우셀렉트 바이배리에이트(FlowCelect Bivariate) 세포 주기 키트(밀리포어(Millipore), 카탈로그 번호: FCCH025103)를 사용하여 조합된 세포 주기 및 포스포-히스톤 H3 분석을 위해 제조하였다. 샘플을 FACS 칼리버(Calibur) 기구(비디 바이오사이언스(BD Biosciences)) 및 플로우조(FlowJo) 소프트웨어(트리스타(TreeStar), 미국 오리건주 애쉬랜드 소재)를 사용하여 유동 세포계수에 의해 분

석하였다.

[0182] **실시예 8: 이종이식 효능**

[0183] 암컷 무흉선 nu/nu 마우스(18 내지 23 g)를 찰스 리버 래보래토리즈(Charles River Laboratories, 미국 매사추세츠주 월밍턴 소재)로부터 입수하였다. 마우스를 종양 세포로 피하 주사하고, 단계적 종양을 갖는 동물을 염수(비히클), 5T4-ADC, PF-384, 파클리탁셀, 5T4-ADC + PF-384 조합 또는 5T4-ADC + 파클리탁셀 조합으로 정맥내 투여하였다. ADC를 군 당 8 내지 10 마리의 마우스를 사용하여 Q4D x 4(4일마다) 일정으로 2 또는 3 mg Ab/kg으로 mAb 단백질 함량을 기반으로 투여하였다. 5T4-ADC, PF-384 및 파클리탁셀을, 인간에서 이들 약물에 의해 달성된 노출로부터 추론된 임상적으로 관련된 투여량(CRD)으로 투여하였다. 마우스를 사용하는 모든 절차는 확립된 가이드라인에 따라 화이자 실험 동물 운영 위원회(Pfizer Institutional Animal Care and Use Committee)에 의해 승인을 받았다. 종점까지의 시간(종양 없음까지의 시간 또는 종양이 3배가 되는 속도)을 약물-처리군의 비교를 위해 사용하였다. T-검정을 도면의 간단한 설명에 나타낸 바와 같이 개별적 종양 부피를 비교하기 위해 사용하였다.

[0184] **실시예 9: 시험관내 5T4-ADC 또는 아우리스타틴 페이로드(payload) 조합**

[0185] 시험관내 세포 독성 활성을 폐암, 유방암 및 난소암 세포주에서 기준 치료제(SOC) 또는 선택된 신호화 억제제와 조합된 5T4-ADC 또는 아우리스타틴 페이로드에 대하여 평가하였다. 각각의 종양 적응증에 대한 세포주를 이전에 기재된 바와 같은(문헌[Sapra et al., 2013]) 5T4 상태를 기반으로 선택하였다. 종래의 2D 증식 분석에서 각각의 제제에 대한 IC50 값은 약물 조합 연구 개시 전에 결정되었다. 초우-탈랄레이법을 사용하여 상이한 투여량-효과 수준에서 CI 값을 계산하였다. 독립적 실험의 평균 CI 값을 표 2 내지 5 및 도 1a 및 1b에 제시하였다. 0.9 미만의 CI 값은 상승 효과의 증거로서, 0.9 내지 1.1의 CI 값은 가산 효과로서, 1.1 초과의 CI 값은 길항 효과로서 간주되었다. 5T4-ADC가 PF-384, PD-901, 페메트렉시드, 애를로티닙 또는 탁산과 조합되었을 때, 일관되게 강한 상승 효과가 존재하였다. 대부분의 세포주가 PD-901 또는 애를로티닙 단독에 대하여 비교적 둔감했지만, 민감한 세포 및 둔감한 세포 둘 다는 상승적 상호작용을 나타냈다(표 2 내지 5). 가산 효과는 일반적으로 5T4-ADC가 백금 화합물과 조합됐을 때 관찰된 반면에, 보통 정도의 가산 효과 또는 길항 효과는 5T4-ADC와 아드리아마이신, 에피루비신 또는 켐시티빈 사이에 관찰되었다. 또한, 아우리스타틴 또는 추가적 미세소관-억제제 약물이 조합 분석에 포함되었다. 또한, 상승적 또는 가산적 상호작용의 패턴이 페이로드, MMAF-OMe 또는 아우리스타틴-101의 세포 침투성 베플과 상기 제제 사이에 관찰되었다. 세포주의 보다 작은 하위 세트에서 PF-384와 조합될 때, 파클리탁셀 또는 비노렐빈은 상승적 또는 가산적 관계를 나타냈다. 매우 선택적인 mTOR 키나제 억제제 WYE-132(표 5)는 HT-29, N87 세포에서 아우리스타틴-101의 항증식적 작용을 향상시키고, 이는 mTOR 기능 감소가 적어도 부분적으로 아우리스타틴과 PF-384 사이에 관찰된 광범위한 상승 효과에 원인이 있을 수 있다는 생각을 뒷받침하는 결과이다. 아우리스타틴-기반 제제와 PF-384 또는 파클리탁셀 사이의 보다 강력한 상승 효과가 보다 넓은 범위의 세포주 및 종양 유형에 걸쳐 확인되었다는 사실은 이들 조합이 잠재적 임상적 이점을 제공할 수 있음을 암시한다.

[0186] 상승적 상호작용의 동력학을 이해하기 위해, xCelligence 시스템을 사용하여 세포 성장의 동적 모니터링을 수행하였고, 이는 실시간 증식 및 유착의 전기적 임피던스 측정을 제공하였다. MDA-468 세포를 단일 약물 5T4-ADC, PF-384를 단독으로 또는 5T4-ADC/PF-384 조합으로 미리 결정된 약물의 차선의 투여량으로 처리하여 장기간 동안 향상된 효과의 보다 정확한 시각화를 가능하게 하였다. 대략 11일 동안, 시험된 농도에서 5T4-ADC 또는 PF-384에 의한 세포 성장의 최소 억제가 관찰되었다(도 2a 및 2b). 그러나, 5T4-ADC/PF-384 조합에 의해 야기된 증식의 억제는 개별적 제제 단독의 것보다 훨씬 더 뚜렷했다. 향상은 조합 혼합물의 첨가 직후에 나타나며, 이는 실험 전체 시간 경과에 걸쳐 지속되었다. 유사한 결과가 접합되지 않은 페이로드 미합유 MMAF-OMe가 PF-384와 조합될 때 수득되었다(도 2c 및 2d). 따라서, 이들 결과는 종래의 증식 분석을 사용하는 이전 결과를 확인하고 시험관내 상승 효과의 시간 의존성에 대한 추가적 이해를 제공한다.

[0187] 세포와 매트릭스의 존재하에 생성된 다세포 3D 회전타원체는 성장하는 고형 종양과 보다 더 많은 유사성을 갖는다: 2D 배양물과 비교하여, 3D 조건에서 세포는 보다 느린 속도로 증식하고 정지 세포를 함유한다. 3D 조건하에 약물 조합 효과에 대한 생물학적 이해를 제공하기 위해, 5T4-ADC, MMAF-OMe, PF-384 및 파클리탁셀로 처리함에 대한 MDA-468 회전타원체의 응답을 조사하여 각각의 제제 단독에 대한 IC50을 결정하였다. 이어서, 조합은 고정된 투여량의 제2 제제와 조합된 5T4-ADC의 연속 희석에 의해 또는 2개의 약물의 상호 조합으로서 평가되었다. 또한, 조합된 제제는 동일한 실험에 단일-약물 단독 대조군을 제공하기 위한 단일 제제로서 포함되었다. 3D 회전타원체 세포 독성의 현저한 향상은 5T4-ADC/PF-384, MMAF-OMe /PF-384 또는 5T4-ADC/파클리탁셀의 조합

의 경우 관찰되었다(도 3a 내지 3f). 5T4-ADC/PF-384, MMAF-OMe /PF-384 또는 5T4-ADC/PTX의 조합으로 처리된 폐암 H-1975 회전타원체의 경우에도 유사하게 관찰되었다(도 3g 내지 3j 및 나타내지 않은 데이터).

#### [0188] 실시예 10: 세포 자멸 및 세포 주기에 대한 PF-384 또는 파클리탁셀의 효과

5T4-ADC 및 PF-384 또는 파클리탁셀 조합에 의해 유도된 상승적 성장 억제가 세포 자멸에 기인된 것인지 여부를 평가하기 위해, H-1975 또는 MDA-468 세포에서 전 세포 자멸 신호 카스파제 3/7 활성화를 결정하였다. 5T4-ADC 또는 PF-384 단독은 항온 처리 24시간 후에 측정시 둘 다의 세포주에서 카스파제 3/7의 중간 활성화를 야기하였다. 그러나, 조합 처리는 카스파제 3/7의 현저하게 향상된 유도를 나타냈다(도 4a 및 4e). 동일한 세포를 MMAF-OMe + PF-384로 처리하였을 때 유사한 결과를 수득하였고, 이는 5T4-ADC/PF-384 조합에서 세포 자멸의 유도가 모 페이로드 MMAF-OMe의 작용에 기계론적으로 연결됨을 암시한다(도 4b 및 4f). 절단된 PARP에 대한 면역 블롯 분석(나타내지 않음)은 5T4-ADC/PF384 또는 MMAF-OMe/PF384의 조합에 의한 세포 자멸 유도를 추가로 뒷받침한다. 또한, 향상된 카스파제 3/7 활성화는 단일 제제 단독으로 처리된 세포와 비교시 5T4-ADC 또는 MMAF-OMe + 파클리탁셀로 48시간 동안 처리된 MDA-468 세포에서 관찰되었다(도 4c 및 4d). 총괄하여, 이들 결론은, 조합을 사용하여 관찰된 항-증식 효과가 카스파제 3/7에 의해 조정된 향상된 세포 자멸 응답에 의해 적어도 부분적으로 설명될 수 있음을 입증한다.

또한, 세포 주기 진행의 조정이 세포 주기에 대하여 뚜렷한 효과를 가지는 것으로 예상되는 5T4-ADC 및 PF-384 제제 사이의 상승 효과에 대한 설명을 제공할 수 있을지에 대하여 평가하였다. 세포 주기 분석을, 세포 증식을 위한 IC50 이상의 농도에서 약물 노출 후 24 또는 36시간 후에 MDA-468 및 H-1975 둘 다에 대하여 수행하였다(도 5a 내지 5c, 데이터는 나타내지 않음). 예상되는 바와 같이, PF-384는 세포 주기의 G0/G1 상의 세포의 축적 및 G2/M 상의 세포 분율의 감소를 유도하였다. 이러한 효과는 약물 처리 후 24 및 36시간 후에 자명하였다. 그에 반해서, 5T4-ADC는 노출 후 24 내지 36시간 이내에 세포 주기의 G2/M 상의 세포의 투여량-의존 축적 및 G0/G1 세포의 일치하는 손실을 야기하였다. 5T4-ADC 및 PF-384의 조합으로 처리함은 24시간의 노출까지 G1 세포의 초기 축적 및 G2/M 세포의 거의 정상 백분율을 야기하였다(도 5a 및 5b). 5T4-ADC 단독과는 달리, 조합의 경우, 36시간 까지 분명한 G2/M의 감소와 함께, G2/M 피크 증가 없음이 임의의 시점에서 관찰되었다. 이는 sub-G1의 실질적 증가를 동반하며, 이는 G2/M의 보다 짧은 기간이 이 단계의 세포 주기에서 향상된 세포사에 의해 설명될 수 있음을 암시한다(데이터는 나타내지 않음). 또한, G0/G1 및 G2/M에 대한 10- 또는 100 nM-PF-384 와 조합된 접합되지 않은 MMAF-OMe의 효과가 적어도 시험된 농도에서 MMAF-OMe 단독과 전반적으로 유사하였다(데이터는 나타내지 않음). 조합의 경우 검출된 총 G2/M 피크 감소와 일치하여, 5T4-ADC 단독과 비교시(24시간, 5T4-ADC + PF-384(4.9%) vs 5T4-ADC(7.7%); 36시간, 5T4-ADC + PF-384(6.2%) vs 5T4-ADC(10.8%)), 24 또는 36시간 동안 5T4-ADC/PF-384 조합으로 처리된 세포에 대한 포스포-히스톤 H3 수준 감소가 관찰되었고, 이는 유사 분열 정지 상태로부터의 약물 조합 처리된 세포의 보다 빠른 유출을 시사하는 결론이다.

#### [0191] 실시예 11: 5T4-ADC 및 PF-384 또는 파클리탁셀을 사용하는 생체내 조합 치료

시험관내 5T4-ADC/PF-384 또는 5T4-ADC/파클리탁셀의 사용시 세포 증식의 우선적 감소 및 세포 자멸의 유도가 생체내 환경으로 해석될 수 있는지 여부를 결정하기 위해, 2개의 이전에 특징화된 종양 이종이식 모델에서 각각의 단일 제제 및 조합의 효능을 평가하였다. MDA-468 삼중-음성 유방암 및 H-1975 폐 선암종 모델은 세포계수 및 IHC 염색에 의해 나타난 바와 같이 넓은 범위의 5T4 발현 수준을 갖는 5T4+ 종양 이종이식이다. 본 연구에 사용된 제제가 보다 높은 투여량으로 사용될 때 보다 높은 효능을 야기할 수 있는 반면에, 이들 약물의 임상적으로 관련된 투여량의 투여는 우리의 데이터의 임상적 실행으로의 보다 양호한 변환성을 보장하도록 하는데 중점을 두었다. 종양 없음까지의 시간(종양 퇴화)의 종점까지의 시간(TTE) 분석을 H-1975 이종이식에 비해 5T4-ADC에 대하여 일반적으로 보다 민감한 MDA-468 유방암 모델에 대하여 수행하였다. TTE 플롯은 PF-384(7.5 mg/kg)로 처리된 모든 동물이 여전히 종양을 가진 반면에, 5T4-ADC(2 mg/kg) 및 5T4-ADC/PF-384 군은 연구에 걸쳐 종양 퇴화를 달성하였음을 나타낸다(도 6a). 5T4-ADC 단독에 비해 조합 아암에서( $p < 0.0001$ , 로그-순위 검정) 완전 종양 퇴화를 달성하기 위해 훨씬 짧은 시간이 필요하였고, 5T4-ADC/PF-384 군의 모든 동물은 제36일에 무-종양이 되었다. 또한, 평균 종양 부피의 유의차가 초기 투여 후 제53일에 단일 처리 아암과 5T4-ADC/PF-384 조합 사이에 관찰되었다(PF-384 vs 5T4-ADC/PF-384의 경우  $p < 0.0001$ ; 5T4-ADC vs 5T4-ADC/PF-384의 경우  $p = 0.02$ , t-검정)(도 6b). 특히, 제53일에, 5T4-ADC/PF-384 조합 아암은 10/10의 완전 외화(CR)를 이룬 반면에, 5T4-ADC 단독의 경우 단지 3/8의 CR이 관찰되고 PF-384 군에서 CR이 관찰되지 않았다(도 6b). 종양 부피가 3-배 미만 증가된 동물의 백분율은 일반적으로 MDA-468보다 5T4-ADC에 덜 민감한 H-1975 모델 분석에 대한 생존 종점으로서 사용되었다. TTE 분석은 5T4-ADC(3 mg/kg;  $p = 0.0356$ , 로그-순위 검정) 또는 PF-384 단독(7.5

mg/kg,  $p < 0.0001$ , 로그-순위 검정, 도 6c)과 비교시 조합 군의 경우 종양이 3배가 되는 속도에 있어서 통계학적으로 유의한 지연을 나타냈다. 또한, 5T4-ADC + PF384로의 처리는 종양 성장의 보다 완전한 억제 및 치료 개시 후 제21일에 종양 부피의 통계학적 유의차를 야기하였다( $p = 0.006$ )(도 6c).

[0193]

시험관내 5T4-ADC와 탁산 사이에 관찰된 유리한 상호작용을 고려하여, 이러한 조합의 생체내 잠재적 항-종양 활성을 조사하였다. MDA-468 이종이식을 5T4-ADC(2 mg/kg) + 파클리탁셀(22.5 mg/kg)의 조합을 사용하여 시험하였다. 이들 조합의 TTE 분석은 단일 약물 단독과 비교시 조합 아암의 경우 완전 종양 퇴화를 달성하는데 현저하게 짧은 시간이 필요함을 밝혀냈다(도 7a 및 7c). 도 7b에 나타난 바와 같이, 5T4-ADC 단일요법은 2 mg/kg에서 강한 항-종양 활성을 나타냈고, 이는 제53일에 8개의 종양 중 3개에서 종양 퇴화를 야기한 반면에, 10 mg/kg의 파클리탁셀 단독은 종양 성장에 대하여 확인한 효과 없음을 나타냈다. 10개의 종양 중 9개의 종양 퇴화 및 평균 종양 부피의 유의차에 의해 입증되는 바와 같이( $t$ -검정, 5T4-ADC/PTX vs 5T4-ADC의 경우  $p = 0.037$ ; 5T4-ADC/PTX vs PTX의 경우  $p < 0.0001$ ), 5T4-ADC/PTX 조합 군은 단일요법 처리보다 치료적 이점을 나타냈다. 22.5 mg/kg 파클리탁셀과 조합된 5T4-ADC는 제53일에 9개의 종양 중 9개에서 완전한 오래가는 퇴화를 나타낸 반면에, 단일 처리 단독은 중간 이상의 항-종양 활성을 나타냈다(5T4-ADC의 경우 3/9 CR, PTX의 경우 6/10 CR; 평균 종양 부피: 5T4-ADC/PTX vs 5T4-ADC의 경우  $p = 0.037$ ; 5T4-ADC/PTX vs PTX의 경우  $p < 0.0001$ )(도 6d). 또한, H-1975 폐암 이종이식을 유사한 단일 제제(3 mg/kg 5T4-ADC, 10 mg/kg 파클리탁셀) 또는 조합 요법으로 처리하였다(도 7). 5T4-ADC 또는 PTX 단독 처리 아암과 비교시 조합 군의 경우 종양이 3배가 되는 속도에 있어서 현저한 지연에 의해 증명되는 바와 같이, 5T4-ADC + 파클리탁셀로 이중 처리는 단일요법 처리와 비교시 항-종양 활성에서 뚜렷한 향상을 생성하였다(도 7a). 또한, 평균 종양 부피는 단일 약물 단독 처리 아암에 비해 초기 투여 후 제46일에 5T4-ADC/PTX 군에서 크게 감소하였다(도 7f;  $p < 0.0001$ ,  $t$ -검정).

[0194]

최근 우리 그룹에 설립된 폐암 AA37622의 PDX 모델, k-ras 돌연변이 모델을 포함하여 연구를 수행하였다(3, 4). 두드러지게, 단일요법 처리와 비교시 3 mg/kg의 5T4-ADC 및 22.5 mg/kg의 파클리탁셀의 유사한 조합은 보다 확연한 종양 성장 억제를 야기하였다(5T4-ADC/PTX vs 5T4-ADC의 경우  $p < 0.001$ , 5T4-ADC/PTX vs PTX의 경우  $p < 0.0001$ , 제56일에서 이원 분산분석; 도 7g).

[0195]

생물학적 데이터

[0196]

[표 1]

[0197]

암 세포주

세포주	유형	돌연변이
TUM622	NSCLC, AA37622 PDX-유도됨	K-RAS+/-
NCI-H1975	NSCLC, 선암종	EGFR+/- (L858R/T790M), PIK3CA+/- (G118D), TP53+/-, CDKN2A+/-
Calu-6	NSCLC	TP53+/-, KRAS+/-, BRCA2+/-
NCI-H358	NSCLC, 기관지 폐포 선암종	KRAS+/-, FGFR1+/-
HCC2429	NSCLC	N.A.
MDA-MB-435-5T4	흑색종, 흉막삼출	BRAF+/- (V600E), TP53+/-, CDKN2A+/-
MDA-MB-468	유방, 기지	HER2-/ER2-/PrgR-; PTEN+/-, RB1de1+/-, SMAD4+/-, TP53+/-
MDAMB-361-DYT2	유방, 루미날	HER2+/ER2+/PrgR-; 2XPIK3CA+/-, AKT1+/-, EGFR+/-
MDA-231	유방, 기지	HER2+/ER-/PrgR-; K-RAS+/-, BRAF+/-, NF2+/-, TP53+/-, CDKN2A+/-
CAOV-3	난소, 선암종	TP53+/-, EGFR+/- (R255Q), STK11+/-
TOV-112D	난소, 악성 선암종; 자궁내막 유사 암종	TP53+/-, HER2+
OV-90	난소, 악성 유두상 장액 선암종	TP53+/-, SMAD4+/-, BRAF+/-, CDKN2A+/-
OVCAR-3	난소, 선암종	TP53+/-, PPP2R1A+/-
SKOV-3	난소, 선암종	PIK3CA+/- (H1047R), TP53+/-, NF1+/-, ATM+/-, APC+/-
HT-29	대장 선암종	BRAF+/- (V600E), PIK3CA+/- (P449T), SMAD4+/-, TP53+/-, 2XAPC+/-
NCI-N87	위장 암종, 선암종, 간의 전이 및 부위로부터 유도됨	SMAD4+/-, TP53+/-, HER2+/-, IL2+/-, PCSK7+/-
Raji	버킷(Burkitt) NHL	MYC+/-, TP53+/-
라모스	버킷, NHL	t(8;14), N.A.

[0198]

[표 2]

[0200]

폐암 세포주에서 약물 조합

조합	TUM622	NCI-H1975	Calu-6	NCI-H358	HCC2429
Aur101+PACLI		0.99	0.26	1.03	0.50
Aur101+DOCET		1.19	0.33	0.77	0.71
Aur101+VINO		0.83	0.61	0.78	0.37
Aur101+CISPL		1.31	0.52	0.63	0.65
Aur101+GEM		1.34	0.82	0.87	1.23
Aur101+CARBO		0.83	0.2	0.95	0.55
Aur101+PEMET		0.71	0.13	0.12	0.07
Aur101+ERLO		0.55	0.46	0.42	0.22
Aur101+PF384		0.60	0.57	0.49	0.26
Aur101+PD901		0.33	0.62	0.48	0.40
MMAF+PACLI		0.88	0.71	0.81	0.67
MMAF+DOCET		0.63	0.77	1.08	0.43
MMAF+VINO		0.72	0.62	0.74	0.97
MMAF+CISPL	0.53	1.00	0.30	0.90	0.78
MMAF+GEM		0.89	0.61	0.95	0.86
MMAF+CARBO		0.84	0.48	1.26	0.48
MMAF+PEMET		0.32	0.11	0.35	0.22
MMAF+ERLO	0.24	0.45	0.25	0.85	0.33
MMAF+PF384	0.60	0.47	0.46	0.37	0.55
MMAF+PD901		0.22	0.3	0.20	0.55

[0201]

5T4ADC+PACLI		0.70			
5T4ADC+DOCET		0.51			
5T4ADC+VINO		0.30			
5T4ADC+CISPL		0.49			
5T4ADC+CARBO					
5T4ADC+GEM		1.32			
5T4ADC+ERLO		0.13			
5T4ADC+PEMET		0.52			
5T4ADC+PF384		0.45			
5T4ADC+PD901		0.38			
PACLI+PF384		0.83	0.67	0.32	0.54
PACLI+GEM		0.84			
PACLI+MEK		0.92			
PACLI+PEMET		0.24			
DOCET+PF384		0.75			
VINO+PF384			1.07	0.34	0.29
VINO+PACLI			0.61	0.45	0.64

[0202]

[ 표 3]

[0204]

유방암 세포주에서 약물 조합

조합	MDA468	MDA361-DYT2	MDA-231	MDA435-5T4
Aur101+ADRIA	2.87	2.25	2.32	
Aur101+EPIRUB	2.38	2.07	1.21	
Aur101+GEM	1.81	2.07	1.26	
Aur101+PACLI	1.45	1.43	1.26	
Aur101+DOCET	0.82	1.13	1.37	
Aur101+5FU	0.37	1.03	0.58	
Aur101+MTX	2.49	2.33		
Aur101+PF384	0.58	0.86	0.52	
Aur101+PD901	0.52	0.45	0.41	
MMAF+ADRIA	2.71	1.89	1.51	
MMAF+EPIRUB	3.17	1.96	1.25	
MMAF+GEM	1.78	1.12	1.43	
MMAF+PACLI	0.70	1.35	1.46	
MMAF+DOCET	0.80	1.34	1.45	
MMAF+5FU	0.64	0.71	0.56	
MMAF+MTX	0.64	2.05	1.10	
MMAF+PF384	0.43	0.76	0.54	0.39
MMAF+PD901	0.38	0.42	0.37	0.43
5T4ADC+ADRIA	1.64	0.93		1.69
5T4ADC+EPIRUB	1.36	1.59		0.76

[0205]

5T4ADC+GEM	0.91			
5T4ADC+PACLI	0.69	1.18		
5T4ADC+DOCET	0.45	1.20		
5T4ADC+5FU	0.87	0.78		0.35
5T4ADC+MTX	1.13	1.27		
5T4ADC+PF384	0.51	0.98		0.37
5T4ADC+PD901	0.71	0.53		0.56
PACLI+PF384	1.01			
PACLI+PD901	0.69			
PACLI+GEM	1.29			
PACLI+MTX	1.18			
PACLI+DOCET	0.87			

[0206]

[ 표 4]

[0208]

난소암 세포주에서 약물 조합

조합	OV-90	OVCAR-3	SKOV-3	PDXAA0857
Aur101+PF384	0.51	0.41	0.49	0.80
Aur101+GEM	0.54	8.01	0.47	
Aur101+PACLI	0.20	0.95	1.26	
MMAF+PF384	0.60	0.48	0.54	0.65
MMAF+GEM	0.79	3.23	0.76	2.45
MMAF+PACLI	0.25	1.45	1.67	
CALICH+PF384	0.51	2.12	0.82	1.16
CALICH+GEM	0.24	0.70	0.37	0.29
CALICH+PACLI	0.37	0.38	1.21	
PACLI+PF384		0.16	0.41	

[0209]

[ 표 5]

[0211] HT-29 및 N-87 세포주에서 약물 조합

조합	HT-29	N-87
Aur101+PF384	0.55	0.25
Aur101+WYE-132	0.47	0.47

[0212]

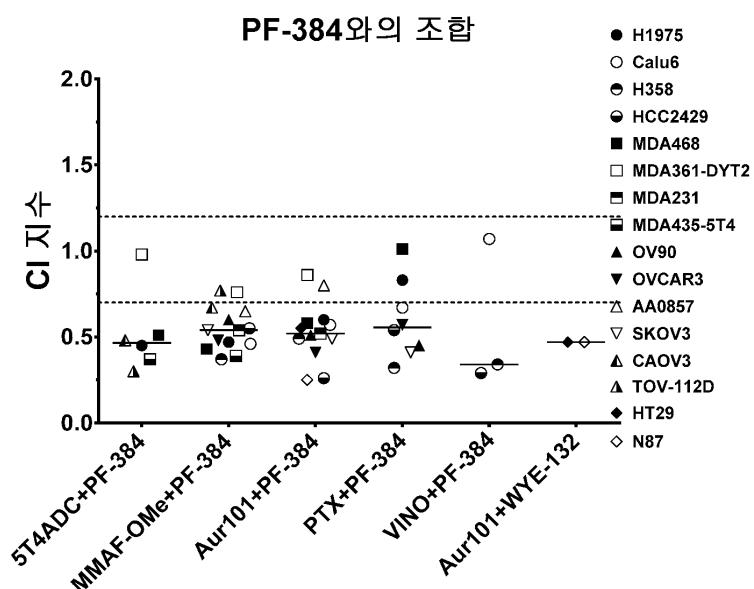
[0213] 표 1은 연구에 사용된 암 세포주를 열거한다. 각각의 세포주에 대한 세포주 명칭, 조직 기원, 선택된 돌연변이 또는 분자 상태를 공개적으로 입수가능한 출처에 기반하여 요약하였다.

[0214]

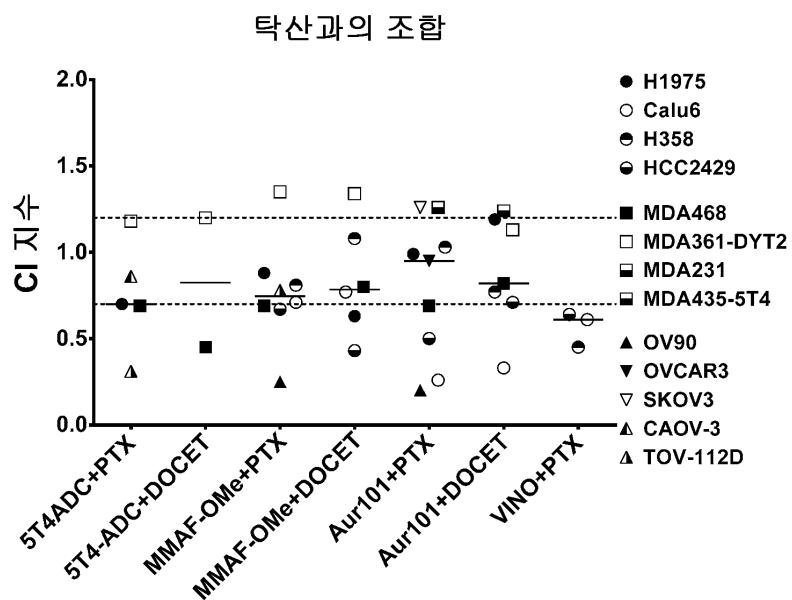
표 2 내지 5는 ED50 수준에서 각각의 결정된 조합에 대한 평균 조합 지수(CI) 값을 열거한다. CI는 하기와 같이 해석되었다: 매우 강한 상승 효과(<0.1), 강한 상승 효과(0.1 내지 0.3), 상승 효과(0.3 내지 0.7), 중간 상승 효과(0.7 내지 0.85), 약한 상승 효과(0.85 내지 0.9), 거의 가산 효과(0.9 내지 1.1), 약한 길항 효과(1.1 내지 1.2) 및 중간 길항 효과(1.2 내지 1.45). 결과는 3개 이상의 독립적 실험의 평균이다.

## 도면

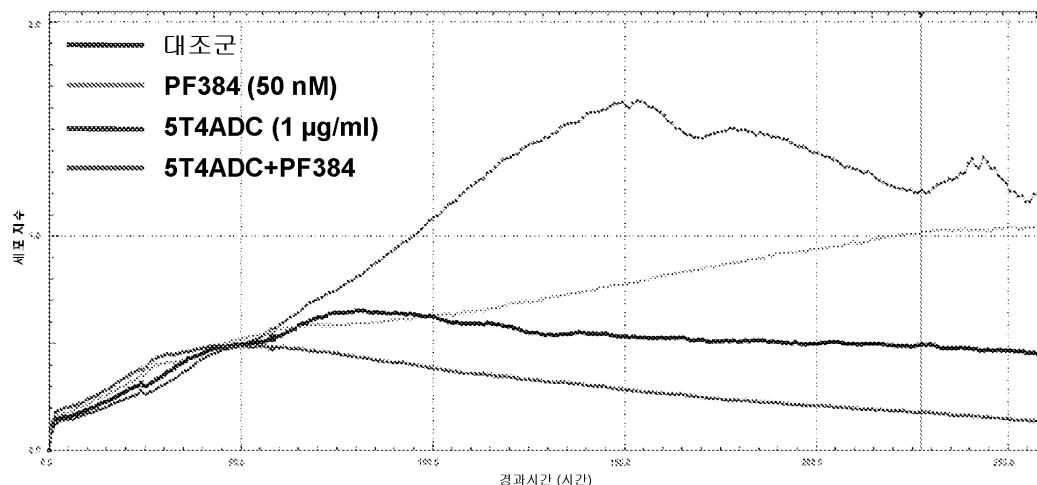
### 도면1a



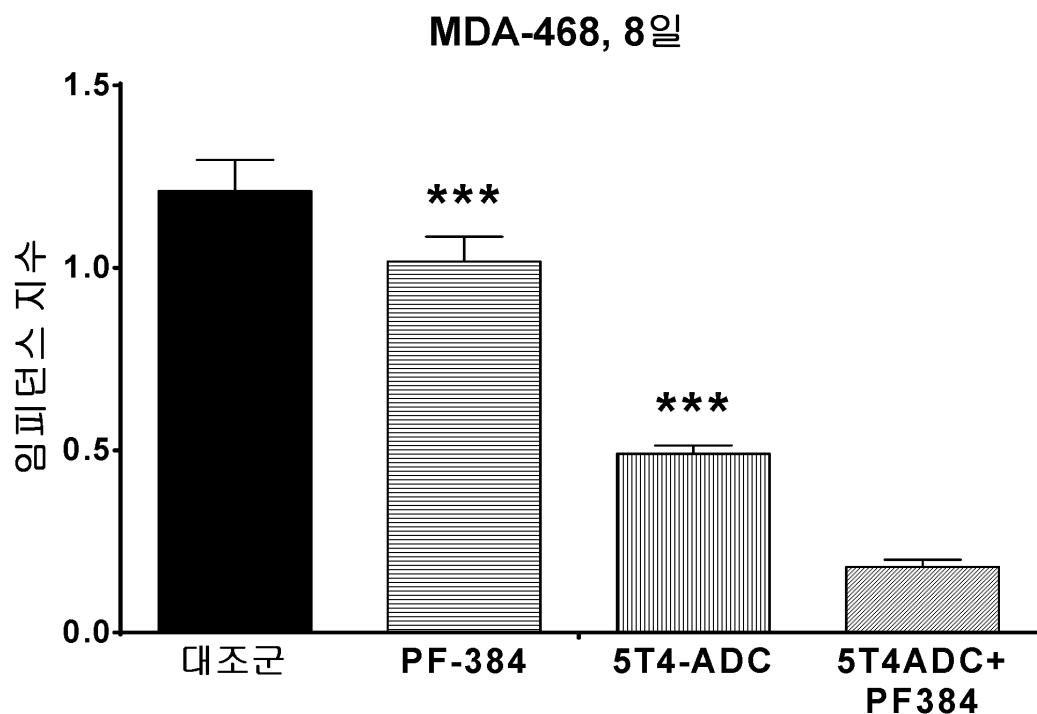
## 도면1b



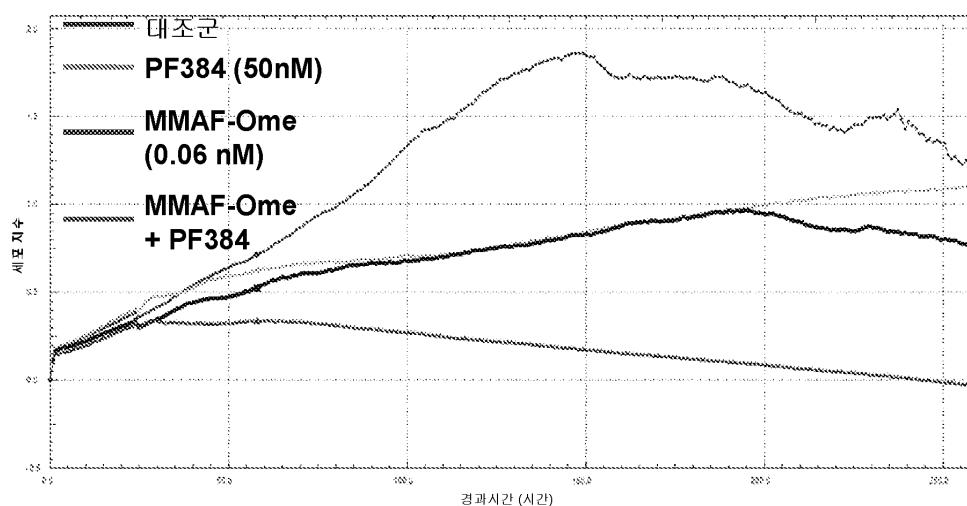
## 도면2a



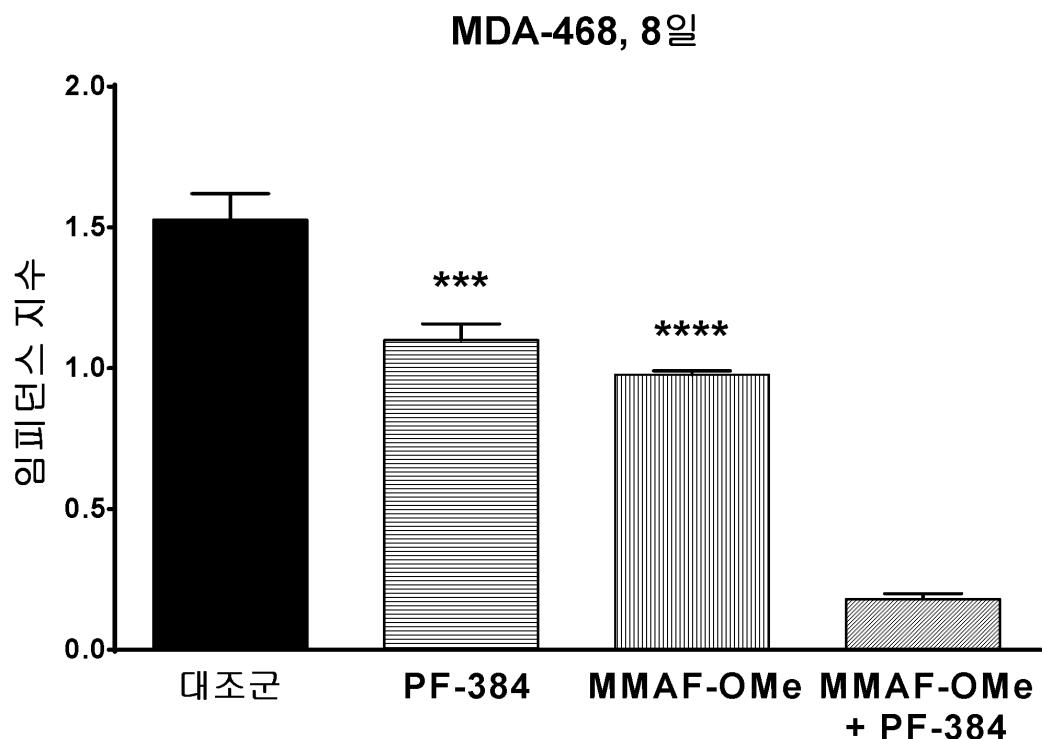
도면2b



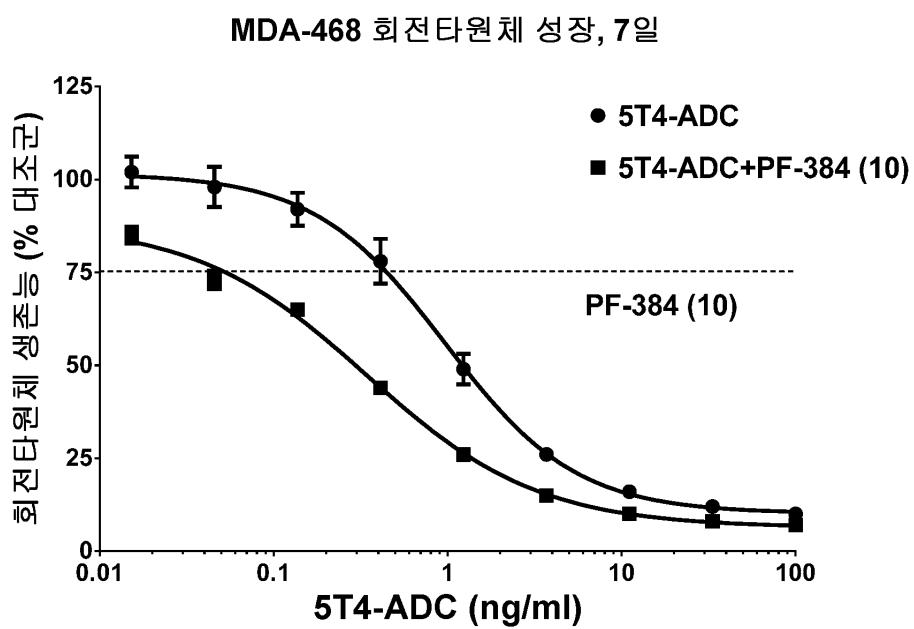
도면2c



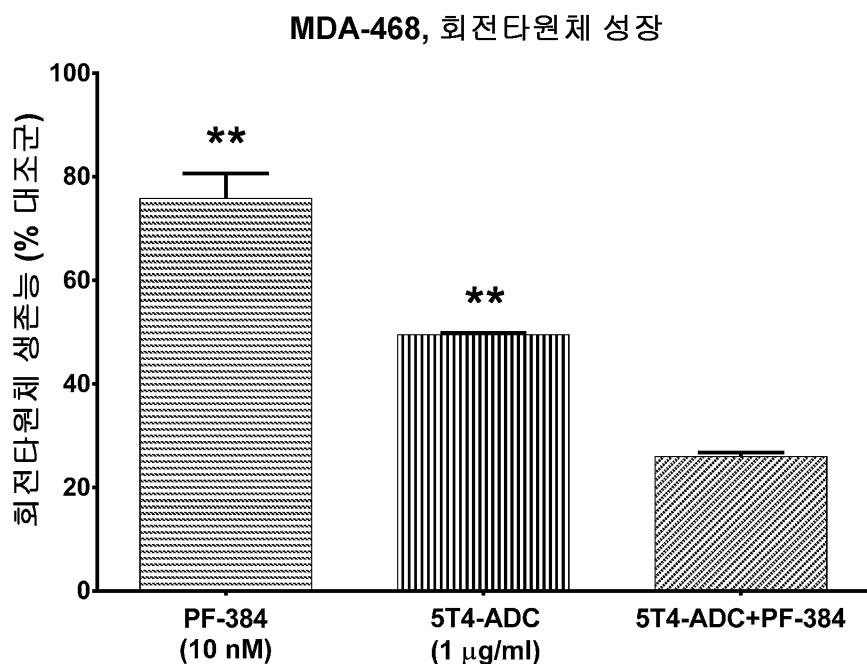
도면2d



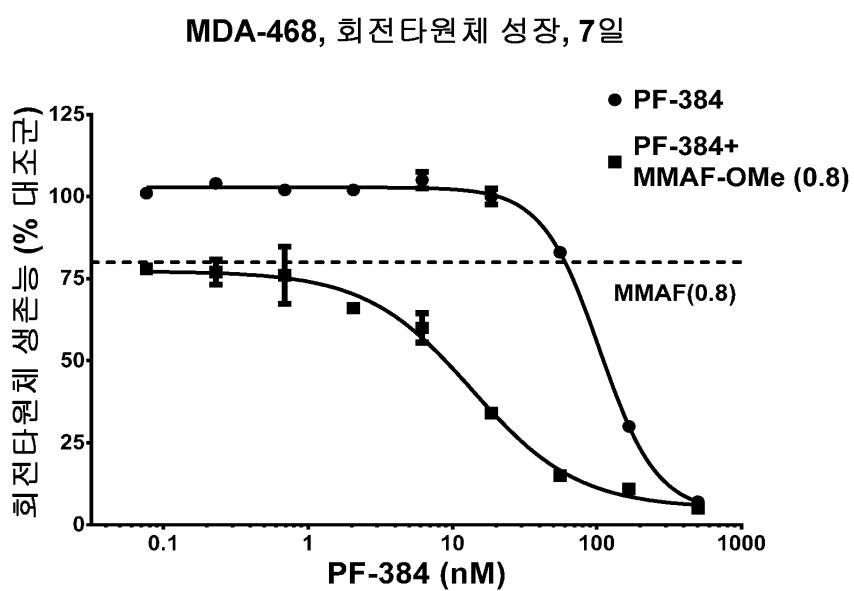
도면3a



도면3b

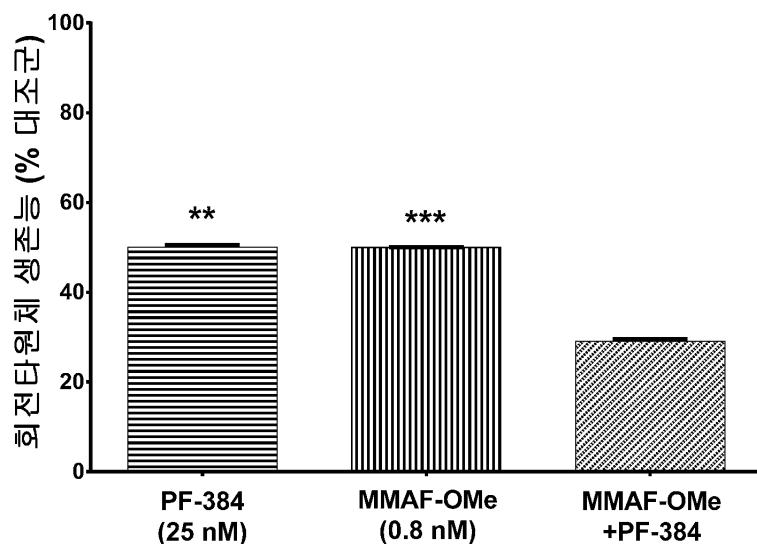


도면3c



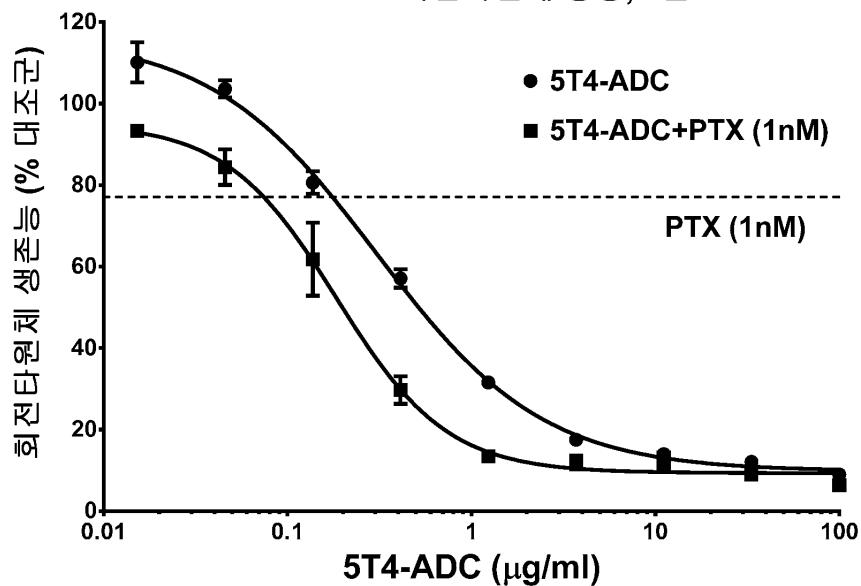
## 도면3d

## MDA-468, 회전타원체 성장, 7일

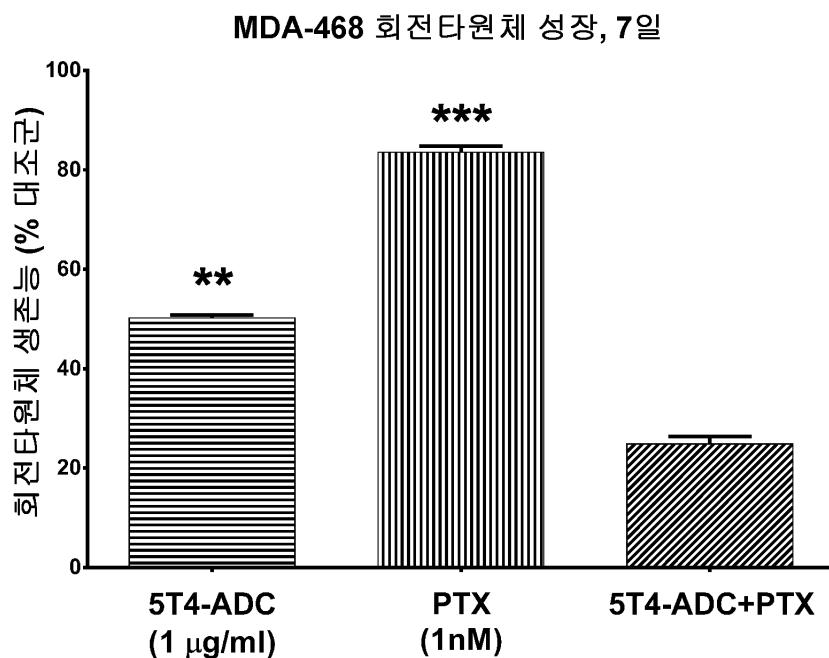


## 도면3e

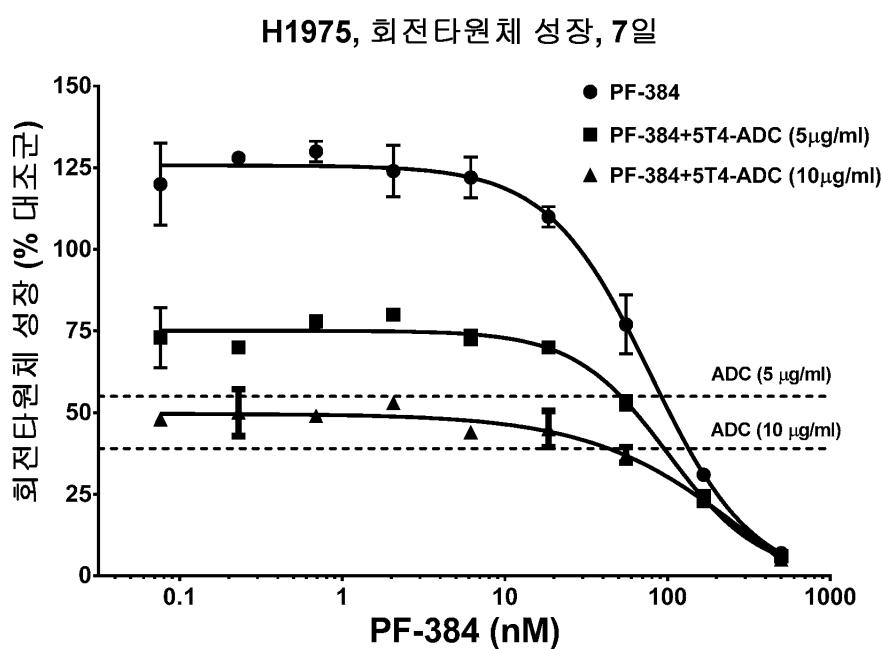
## MDA-468 회전타원체 성장, 7일



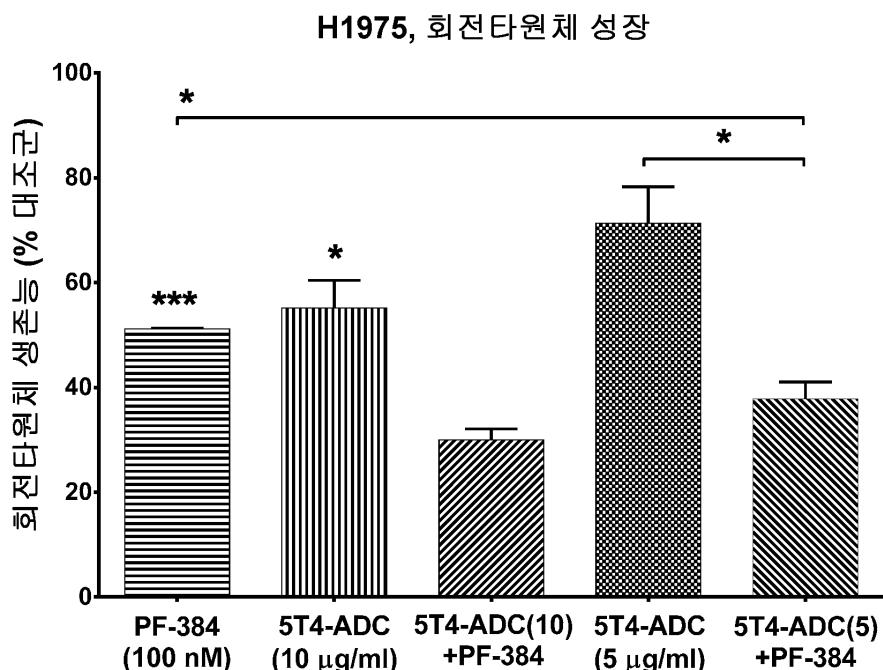
도면3f



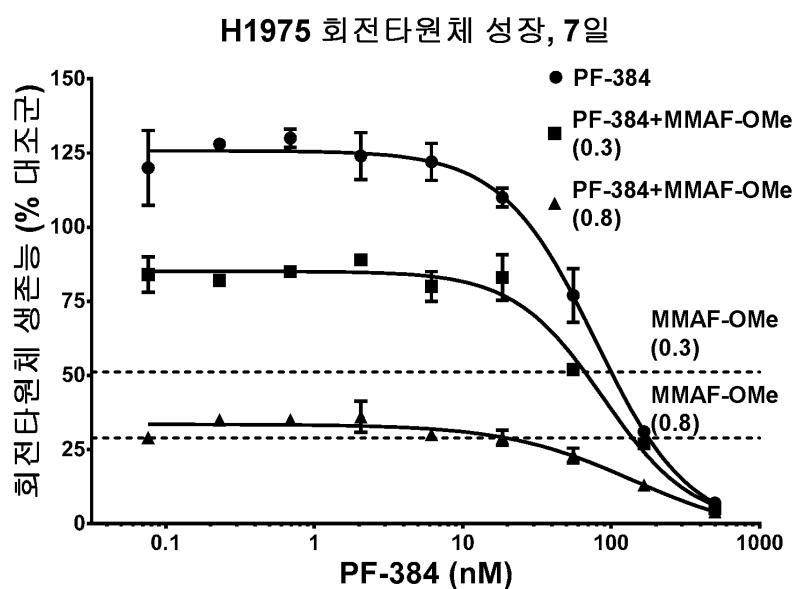
도면3g



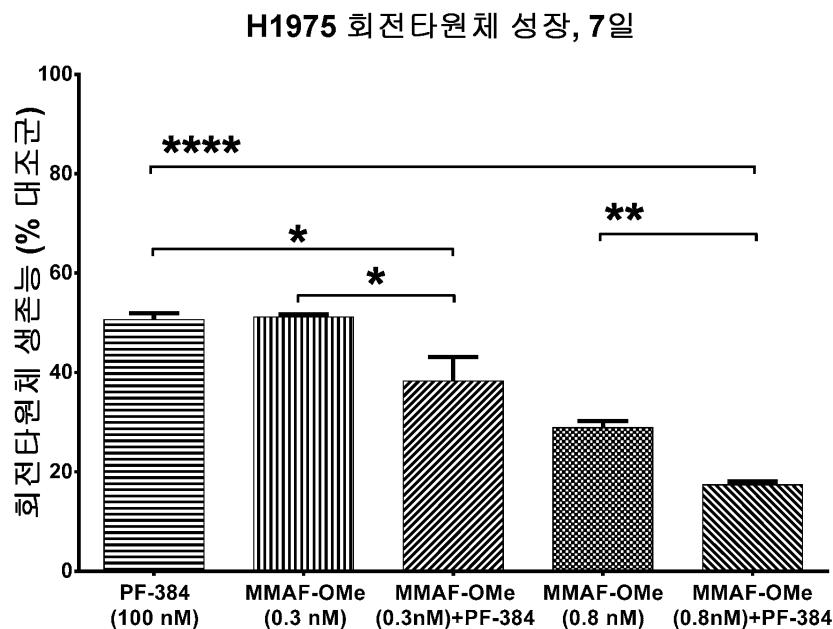
## 도면3h



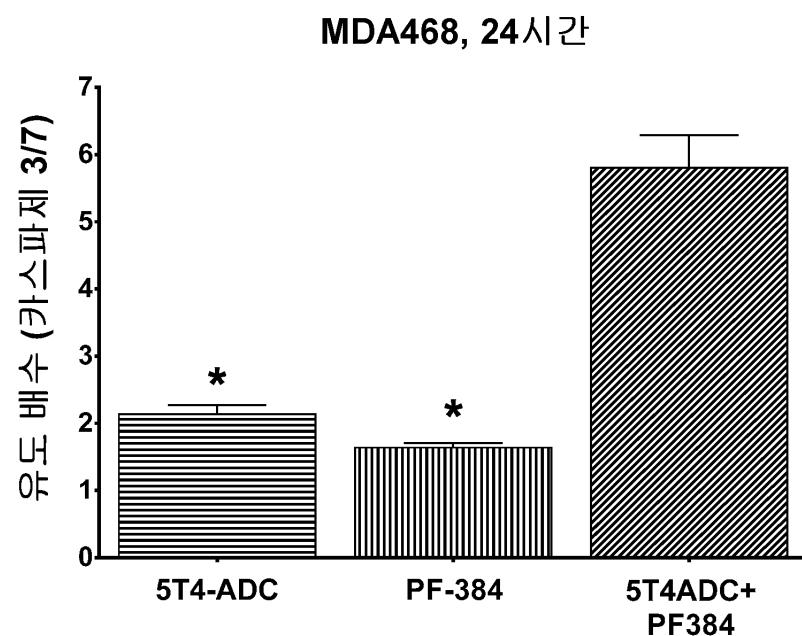
## 도면3i



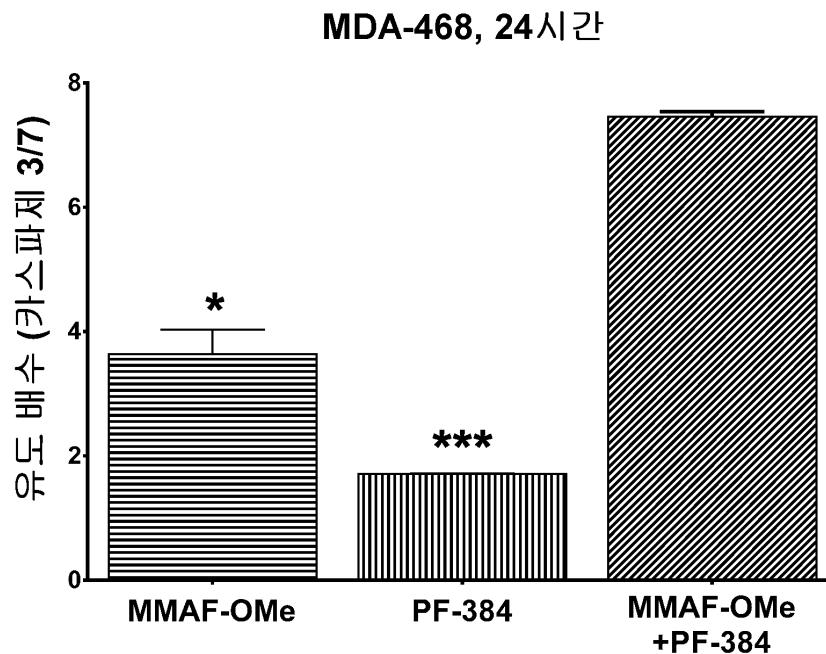
## 도면3j



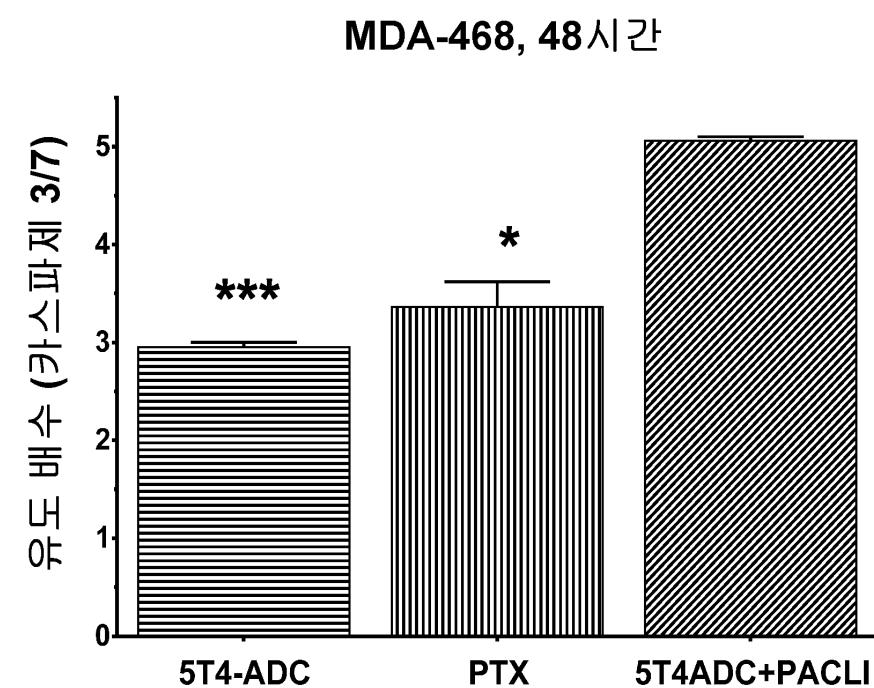
## 도면4a



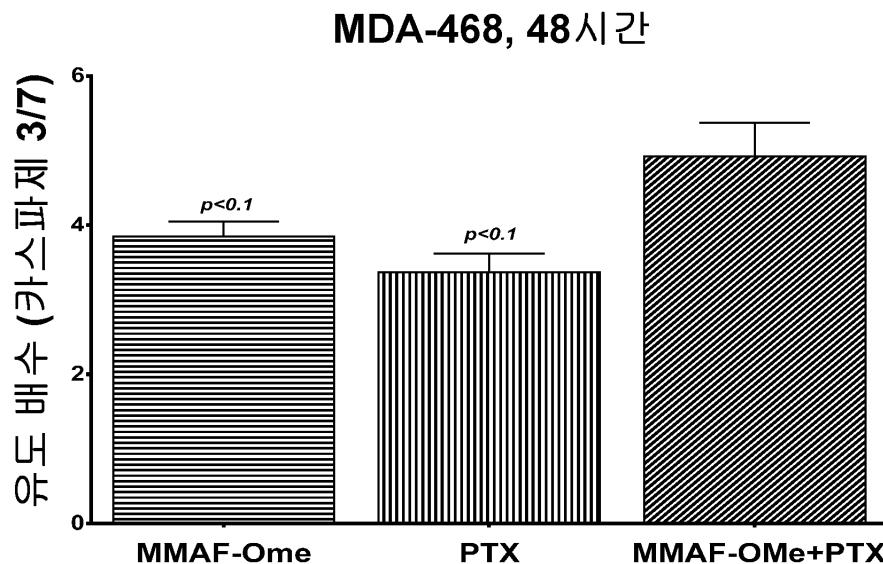
도면4b



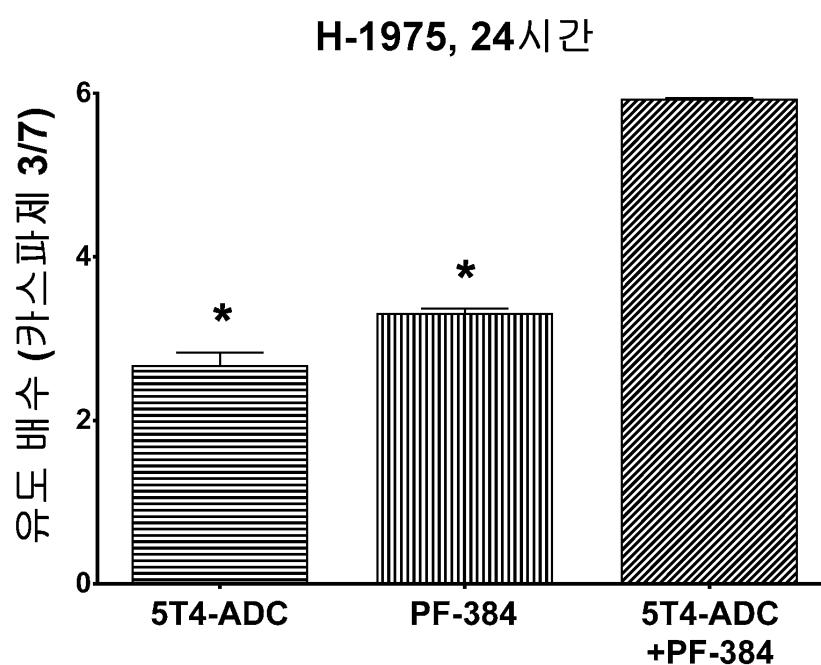
도면4c



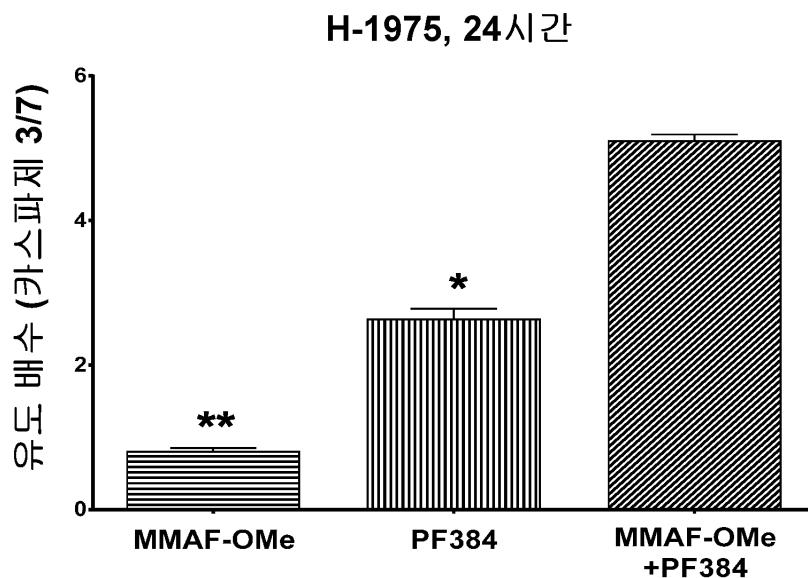
도면4d



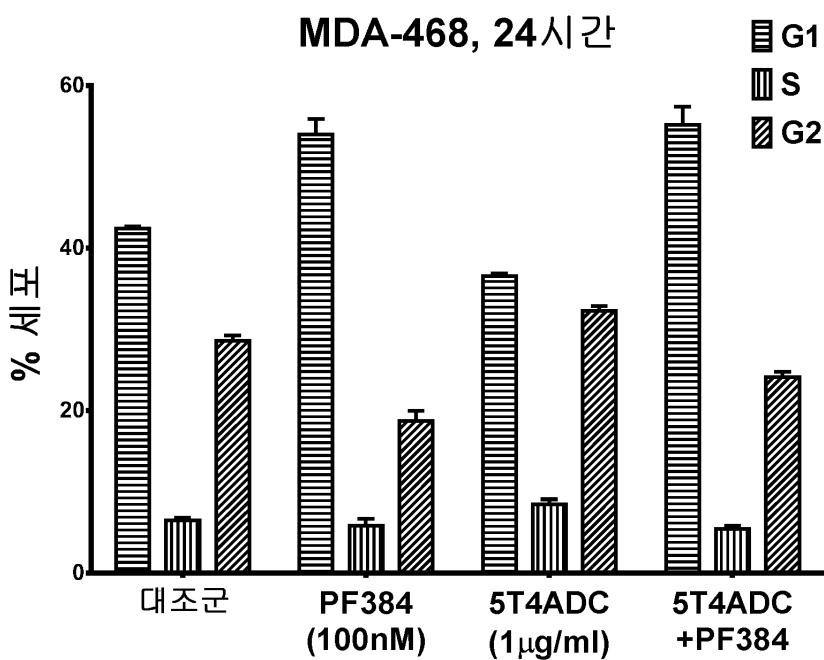
도면4e



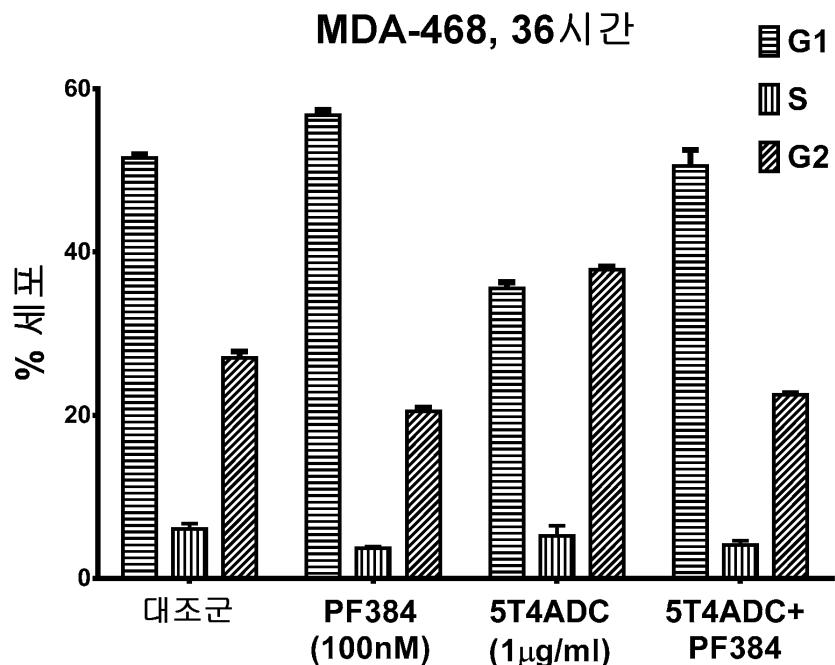
도면4f



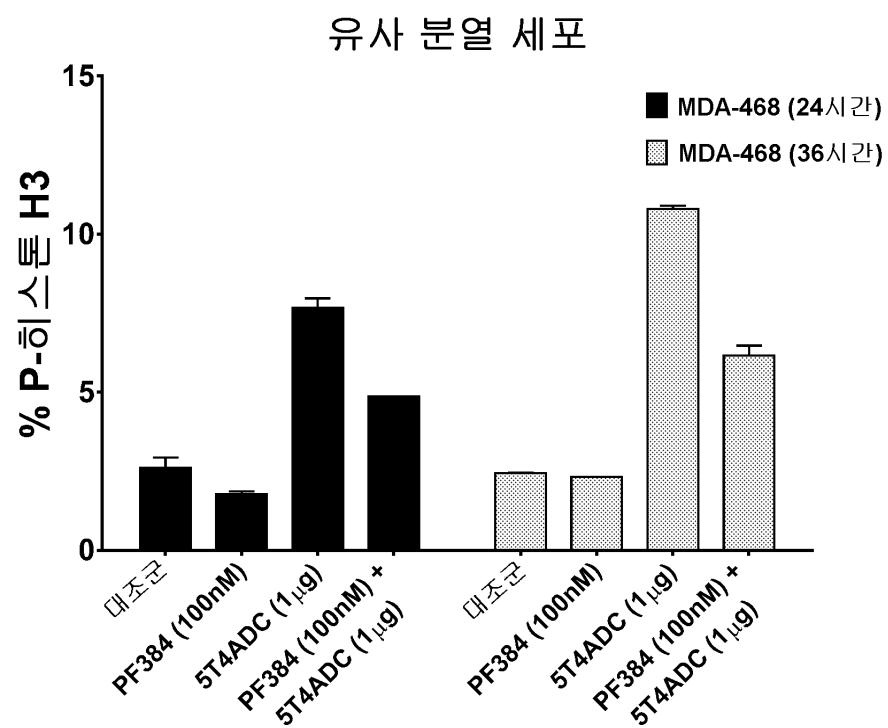
도면5a



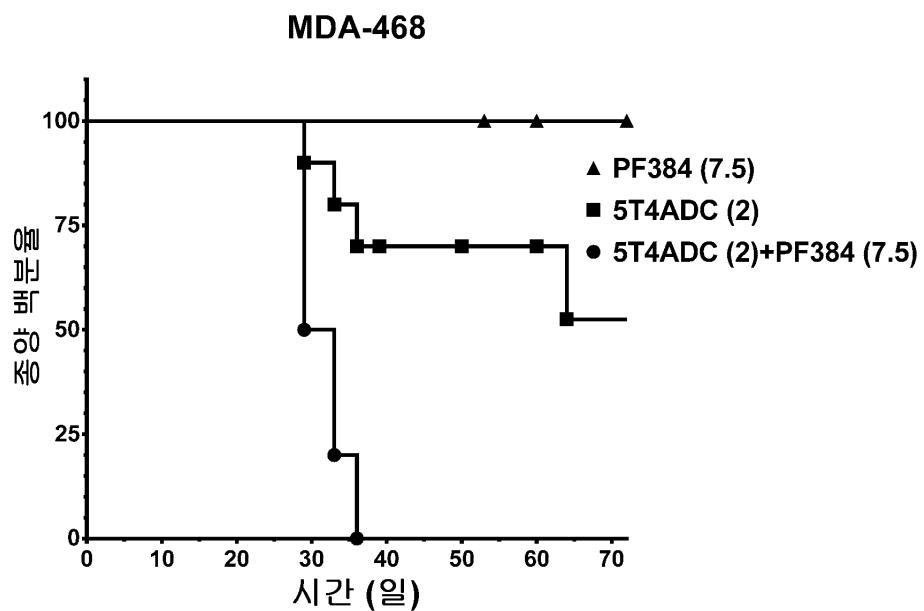
도면5b



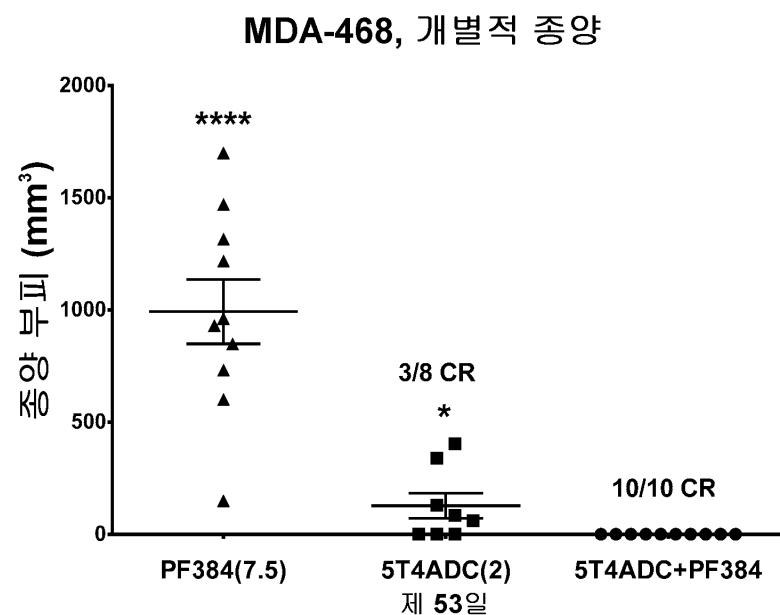
도면5c



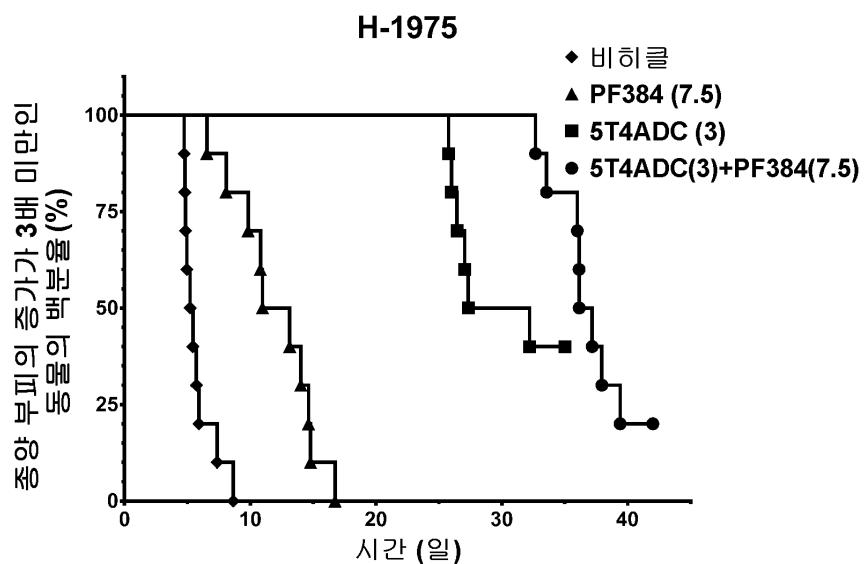
도면6a



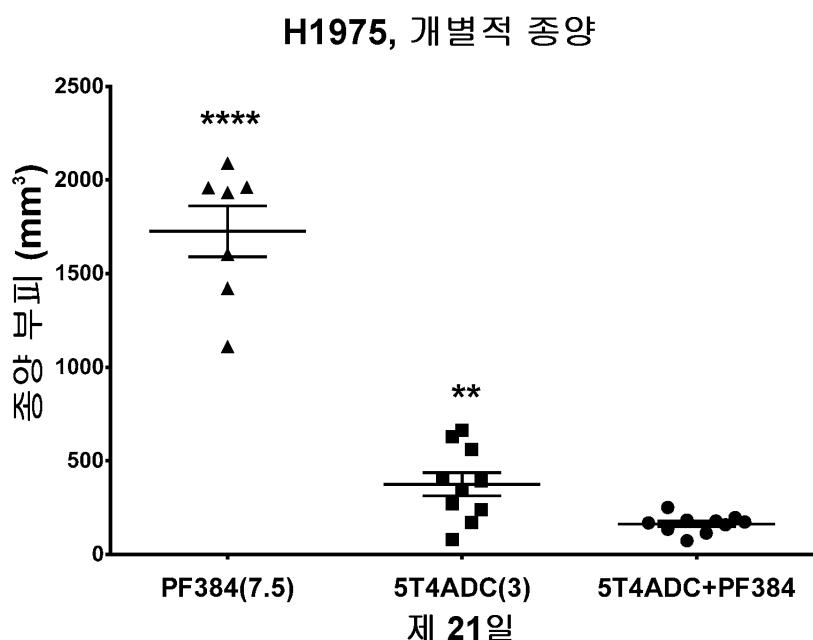
도면6b



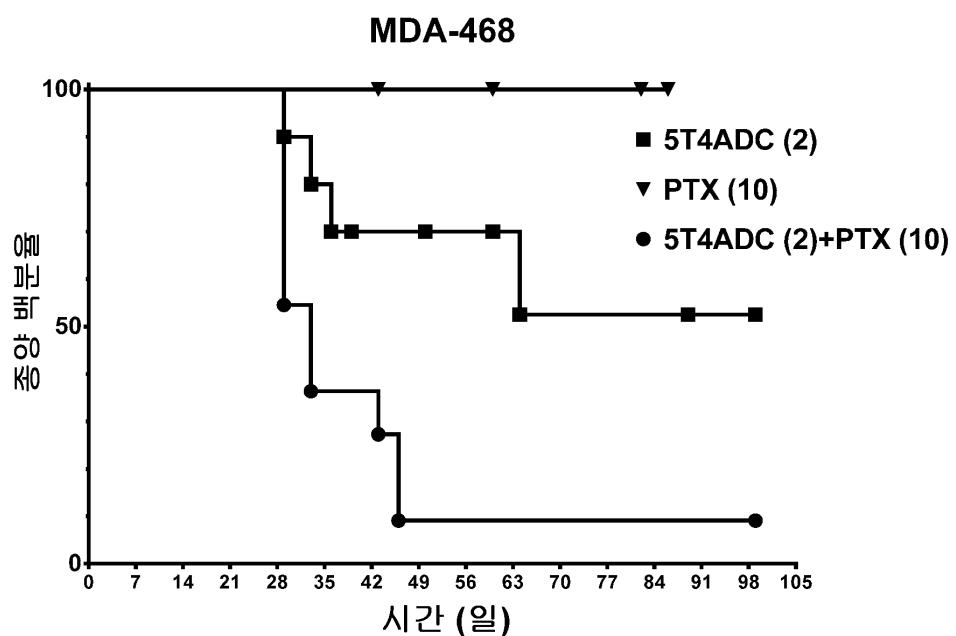
도면6c



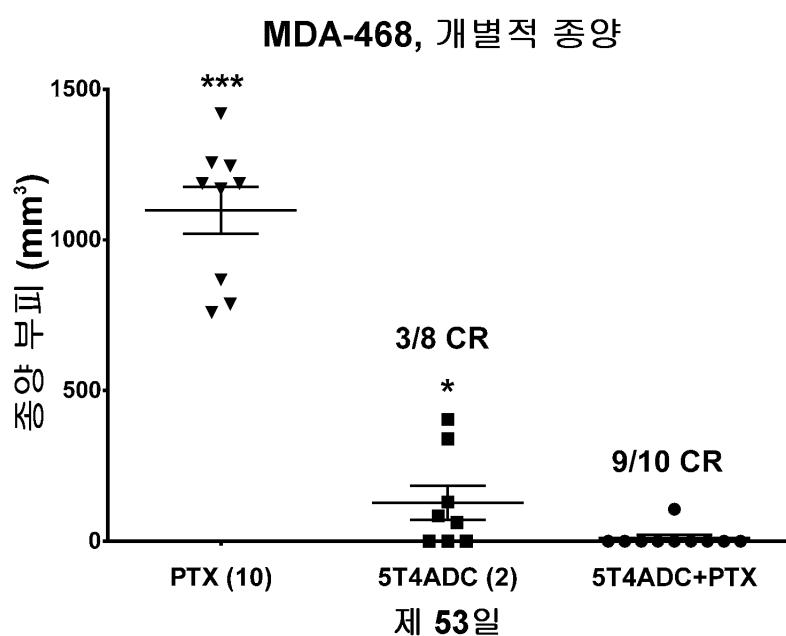
도면6d



도면7a

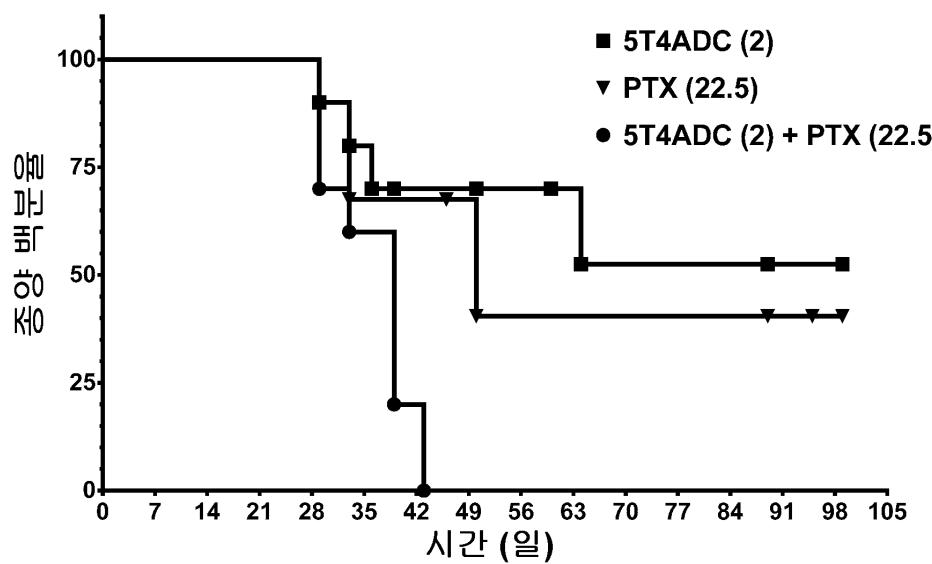


도면7b



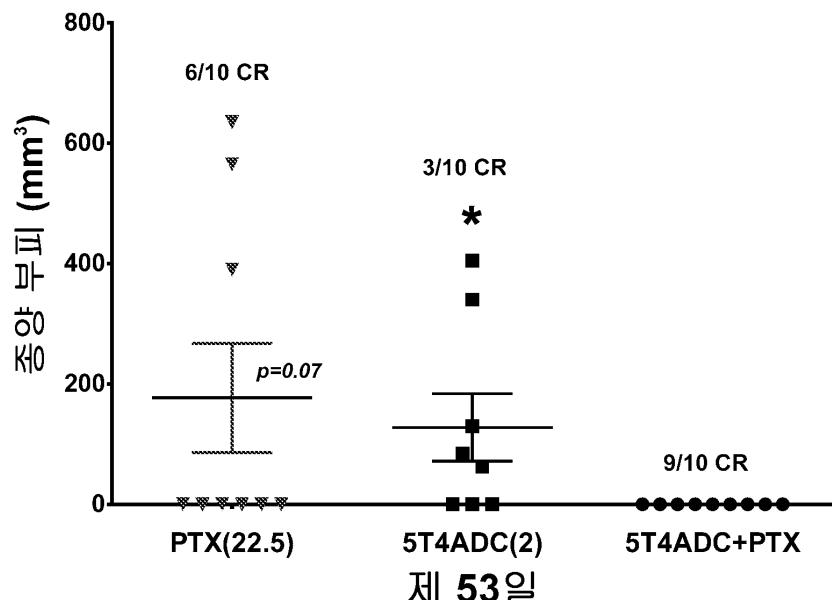
도면7c

## MDA-468

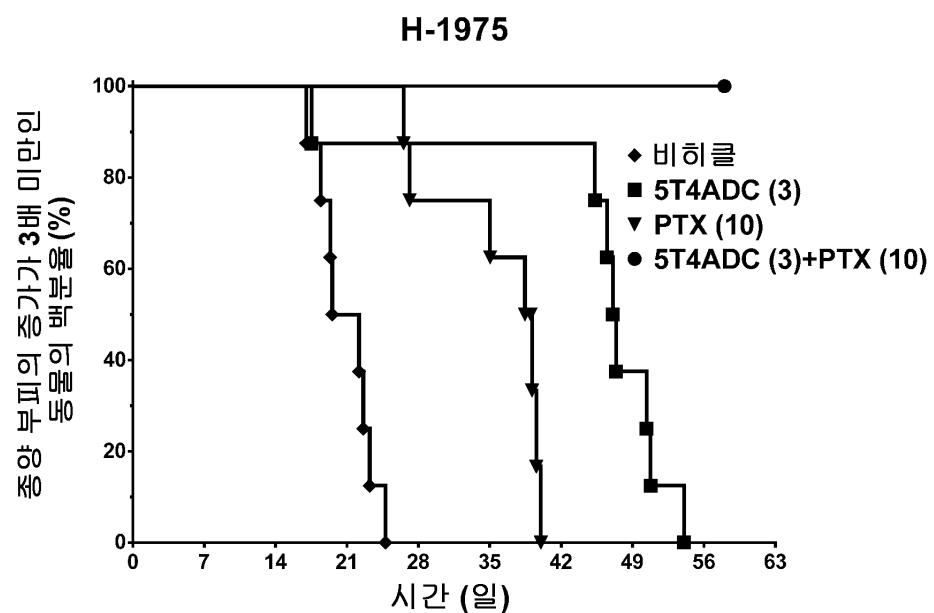


도면7d

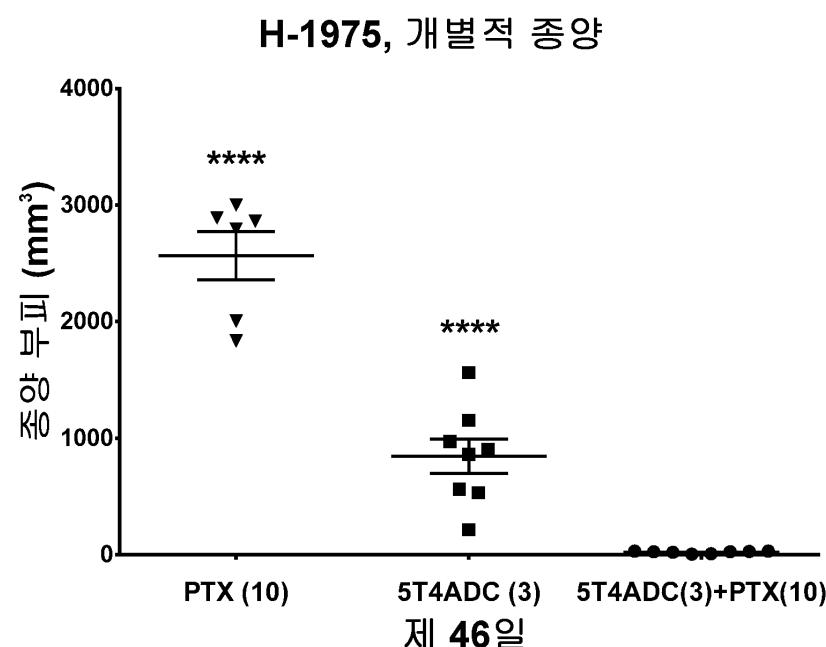
## MDA-468, 개별적 종양



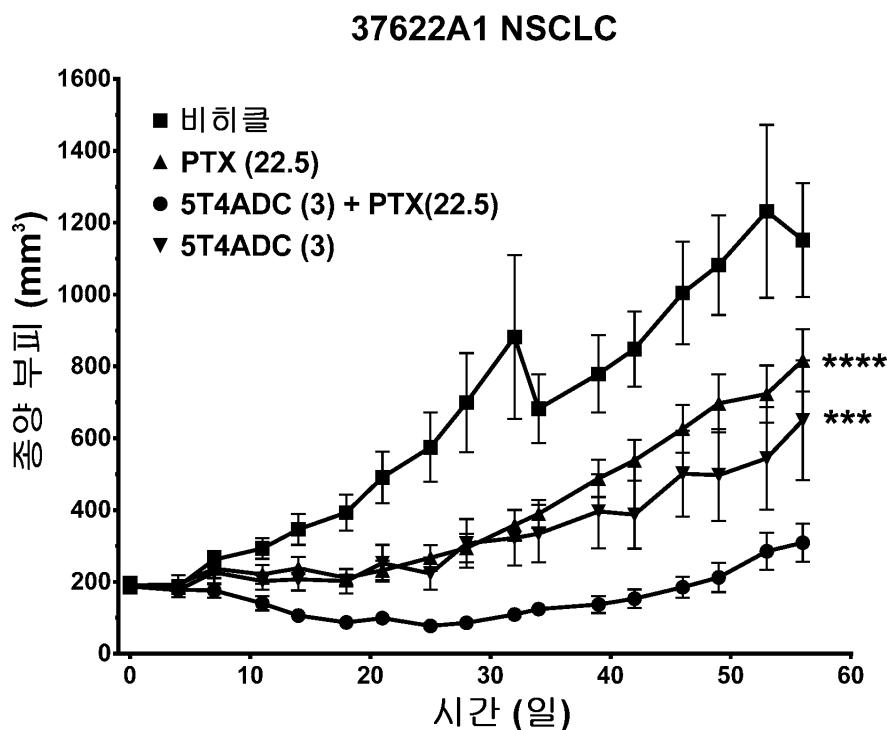
도면7e



도면7f



도면7g



도면8

