



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0006447  
(43) 공개일자 2018년01월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 31/506 (2006.01) A61K 31/437 (2006.01)  
A61K 31/519 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
A61K 31/506 (2013.01)  
A61K 31/437 (2013.01)  
(21) 출원번호 10-2017-7036179  
(22) 출원일자(국제) 2016년05월20일  
심사청구일자 없음  
(85) 번역문제출일자 2017년12월15일  
(86) 국제출원번호 PCT/US2016/033587  
(87) 국제공개번호 WO 2016/191296  
국제공개일자 2016년12월01일  
(30) 우선권주장  
62/165,813 2015년05월22일 미국(US)

(71) 출원인  
플렉시콘 인코퍼레이티드  
미국 94710 캘리포니아 버클리 볼리바 드라이브 91  
(72) 발명자  
이브라힘, 프라바 엔.  
미국 94710 캘리포니아주 버클리 볼리바 드라이브 91 스위트 에이 플렉시콘 인코퍼레이티드 내  
장, 차오  
미국 94710 캘리포니아주 버클리 볼리바 드라이브 91 스위트 에이 플렉시콘 인코퍼레이티드 내  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
양영준, 김영

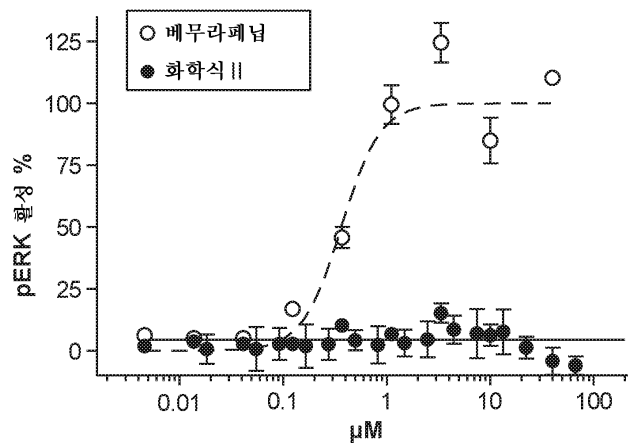
전체 청구항 수 : 총 32 항

(54) 발명의 명칭 BRAF-V600-관련 질환의 치료에 사용하기 위한 PLX-8394 또는 PLX-7904

(57) 요약

본 개시내용은 야생형 BRAF를 잠복시키는 세포에서 MAPK 경로를 활성화하거나 MAPK 경로 유전자의 발현을 유도하지 않으면서 BRAF V600 돌연변이 또는 BRAF 융합 돌연변이 관련된 질환 또는 병태를 앓고 있거나 그 위험에 있는 대상체를 치료하는 방법을 제공한다.

대표도 - 도1b



(52) CPC특허분류

**A61K 31/519** (2013.01)

**A61K 45/06** (2013.01)

**A61P 35/00** (2018.01)

(72) 발명자

**스페마크, 웨인**

미국 94710 캘리포니아주 버클리 볼리바 드라이브  
91 스위트 에이 플렉시콘 인코퍼레이티드 내

**장, 지아종**

미국 94710 캘리포니아주 버클리 볼리바 드라이브  
91 스위트 에이 플렉시콘 인코퍼레이티드 내

**우, 구오시안**

미국 94710 캘리포니아주 버클리 볼리바 드라이브  
91 스위트 에이 플렉시콘 인코퍼레이티드 내

**린, 잭**

미국 94710 캘리포니아주 버클리 볼리바 드라이브  
91 스위트 에이 플렉시콘 인코퍼레이티드 내

**조, 한나**

미국 94710 캘리포니아주 버클리 볼리바 드라이브  
91 스위트 에이 플렉시콘 인코퍼레이티드 내

**네스피, 마리카**

미국 94710 캘리포니아주 버클리 볼리바 드라이브  
91 스위트 에이 플렉시콘 인코퍼레이티드 내

**시, 송위안**

미국 94710 캘리포니아주 버클리 볼리바 드라이브  
91 스위트 에이 플렉시콘 인코퍼레이티드 내

**에워, 토드**

미국 94710 캘리포니아주 버클리 볼리바 드라이브  
91 스위트 에이 플렉시콘 인코퍼레이티드 내

**장, 잉**

미국 94710 캘리포니아주 버클리 볼리바 드라이브  
91 스위트 에이 플렉시콘 인코퍼레이티드 내

**블래그, 기드온**

미국 94710 캘리포니아주 버클리 볼리바 드라이브  
91 스위트 에이 플렉시콘 인코퍼레이티드 내



청구항 1 내지 2 및 4 내지 8 중 어느 한 항에 있어서, 상기 치료적 유효량의 화학식 I은 약제학적으로 허용가능한 부형제 또는 담체를 추가로 포함하는 약제학적 조성물로 투여되는, 방법.

#### 청구항 10

청구항 1 내지 2 및 4 내지 8 중 어느 한 항에 있어서, 상기 치료적 유효량의 화학식 I은 또 다른 치료제를 추가로 포함하는 약제학적 조성물로 투여되는, 방법.

#### 청구항 11

청구항 1 내지 10 중 어느 한 항에 있어서, 상기 BRAF V600 돌연변이 또는 BRAF 융합 돌연변이 관련된 질환 또는 병태는 흑색종, 결장직장암, 유두상 갑상선암, 역형성 갑상선암, 난소암, 비-소세포 폐암, 위암, 담관암종, 바렛 식도암, 두경부암, 간세포 암종, 랑게르한스 세포 조직구증, 위장 기질 세포 종양, 다발성 골수종, 소아 별아교세포종, 다형성 황색별아교세포종, 만성 골수 백혈병, 급성 골수단구 백혈병, 양표현형 B 골수단구 백혈병, 급성 골수 백혈병, 모발 세포 백혈병, 모반, 에드하임-체스터 질환, 악성 말초 신경집 종양, 염증성 및 자가면역 질환, 건혈막 거대세포 종양, 색소성 용모결절성 윤활막염, 힘줄집의 거대세포 종양, 골의 거대세포 종양, 자궁경부암, 자궁내막 암, 생식세포 종양, 전립선암, 방광암, 근주위세포종, 후신 샘종, 췌장 신생물, 신경 내분비 종양, 내분비 종양, 부신 종양, 부신 수질 종양, 귀밑샘의 낭샘암종, 교모세포종 다형성, 담관 샘종을 포함하는 담도암, 담관암종, B-세포 만성 림프증식성 장애, 수지상 세포 육종, 조직구성 육종, 또는 림프종인, 방법.

#### 청구항 12

청구항 1 내지 11 중 어느 한 항에 있어서, 상기 BRAF V600 돌연변이 또는 BRAF 융합 돌연변이 관련된 질환 또는 병태는 간세포 암종, 랑게르한스 세포 조직구증, 위장 기질 세포 종양, 다발성 골수종, 소아 별아교세포종, 다형성 황색별아교세포종, 만성 골수 백혈병, 급성 골수단구 백혈병, 양표현형 B 골수단구 백혈병, 급성 골수 백혈병, 모발 세포 백혈병, 또는 모반인, 방법.

#### 청구항 13

청구항 1 내지 12 중 어느 한 항에 있어서, 상기 BRAF V600 돌연변이 또는 BRAF 융합 돌연변이 관련된 질환 또는 병태는 흑색종, 결장직장암, 유두상 갑상선암, 역형성 갑상선암, 난소암, 비-소세포 폐암, 위암, 담관암종, 바렛 식도암, 또는 두경부암인, 방법.

#### 청구항 14

청구항 1 내지 11 중 어느 한 항에 있어서, 상기 BRAF V600 돌연변이 관련된 질환 또는 병태는 에드하임-체스터 질환인, 방법.

#### 청구항 15

청구항 1 내지 11 및 13 중 어느 한 항에 있어서, 상기 BRAF V600 돌연변이 관련된 질환 또는 병태는 흑색종인, 방법.

#### 청구항 16

청구항 1 내지 11 및 13 중 어느 한 항에 있어서, 상기 BRAF V600 돌연변이 관련된 질환 또는 병태는 전이성 흑색종인, 방법.

#### 청구항 17

청구항 1 내지 11 및 13 중 어느 한 항에 있어서, 상기 BRAF V600 돌연변이 관련된 질환 또는 병태는 결장직장암인, 방법.

#### 청구항 18

청구항 1 내지 11 및 13 중 어느 한 항에 있어서, 상기 BRAF V600 돌연변이 관련된 질환 또는 병태는 유두상 갑

상선암인, 방법.

#### 청구항 19

청구항 1 내지 11 및 13 중 어느 한 항에 있어서, 상기 BRAF V600 돌연변이 관련된 질환 또는 병태는 역형성 갑상선암인, 방법.

#### 청구항 20

청구항 1 내지 11 및 13 중 어느 한 항에 있어서, 상기 BRAF V600 돌연변이 관련된 질환 또는 병태는 난소암인, 방법.

#### 청구항 21

청구항 1 내지 11 및 13 중 어느 한 항에 있어서, 상기 BRAF V600 돌연변이 관련된 질환 또는 병태는 비-소세포 폐암인, 방법.

#### 청구항 22

청구항 1 내지 11 및 13 중 어느 한 항에 있어서, 상기 BRAF V600 돌연변이 관련된 질환 또는 병태는 위암인, 방법.

#### 청구항 23

청구항 1 내지 12 중 어느 한 항에 있어서, 상기 BRAF V600 돌연변이 관련된 질환 또는 병태는 랑게르한스 세포 조직구증인, 방법.

#### 청구항 24

청구항 1 내지 12 중 어느 한 항에 있어서, 상기 BRAF V600 돌연변이 관련된 질환 또는 병태는 급성 골수 백혈병인, 방법.

#### 청구항 25

청구항 1 내지 12 중 어느 한 항에 있어서, 상기 BRAF V600 돌연변이 관련된 질환 또는 병태는 다발성 골수종인, 방법.

#### 청구항 26

청구항 1 내지 11 중 어느 한 항에 있어서, 상기 BRAF V600 돌연변이 관련된 질환 또는 병태는 악성 말초 신경 집 종양인, 방법.

#### 청구항 27

청구항 1 내지 12 중 어느 한 항에 있어서, 상기 BRAF 융합 돌연변이 관련된 질환 또는 병태는 소아 별아교세포종인, 방법.

#### 청구항 28

청구항 1 내지 27 중 어느 한 항에 있어서, 상기 BRAF V600 돌연변이는 V600E, V600K, V600D, V600A, V600G, V600M, 및 V600R로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상의 돌연변이인, 방법.

#### 청구항 29

청구항 1 내지 28 중 어느 한 항에 있어서, 상기 BRAF V600 돌연변이는 V600E 돌연변이 및 V600K 돌연변이를 포함하는, 방법.

#### 청구항 30

청구항 1 내지 28 중 어느 한 항에 있어서, 상기 BRAF V600 돌연변이는 V600E 돌연변이를 포함하는, 방법.

### 청구항 31

청구항 1 내지 9 및 11 내지 30 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에게 하기 제제 중 하나 이상을 투여하는 것을 추가로 포함하는, 방법: 아도젤레신, 알트레타민, 벤다무스틴, 바이젤레신, 부설판, 카보플라틴, 카보쿠온, 카모푸르, 카무스틴, 클로르암부실, 시스플라틴, 사이클로포스파마이드, 다카바진, 에스트라무스틴, 에토글루시드, 포테무스틴, 헵실팜, 이포스파마이드, 임프로셀판, 이로폴벤, 로무스틴, 만노셀판, 메클로르에타민, 멜팔란, 미토브로니톨, 네다플라틴, 니무스틴, 옥살리플라틴, 피포셀판, 프레드니무스틴, 프로카바진, 라니무스틴, 사트라플라틴, 세무스틴, 스트렙토조신, 테모졸로마이드, 티오테파, 트레오셀판, 트리아지쿠온, 트리에틸렌멜라민, 트라이플라틴 테트라니트레이트, 트로포스파마이드, 우라무스틴, 아클라루비신, 암루비신, 블레오마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 독소루비신, 엘사미트루신, 에피루비신, 이다루비신, 메노가렐, 미토마이신, 네오키르지노스타틴, 펜토스타틴, 피라루비신, 플리카마이신, 발루비신, 조루비신, 아미노프테린, 아자시티딘, 아자티오프린, 카페시타빈, 클라드리빈, 클로파라빈, 사이타라빈, 데시타빈, 플록수리딘, 플루다라빈, 5-플루오로우라실, 젬시타빈, 하이드록시우레아, 머캅토프린, 메토티렉세이트, 넬라라빈, 페메트렉세드, 아자티오프린, 칼티트렉세드, 테가푸르-우라실, 티오구아닌, 트리메토프림, 트리메트렉세이트, 비다라빈, 알렘투주맵, 켈브롤리주맵, 니볼루맵, 베바시주맵, 세톡시맵, 갈릭시맵, 켄투주맵, 파니투무맵, 페르투주맵, 리톡시맵, 토시투모맵, 트라스투주맵, 90Y-이브리투모맵 티옥세탄, 이필리무맵, 트레멜리무맵, 아나스트로졸, 안드로젠, 부세렐린, 디에틸stil베스트롤, 엑세메스탄, 플루타마이드, 폴베스트란트, 고세렐린, 이독시펜, 레트로졸, 류프롤라이드, 마게스트롤, 탈록시펜, 타목시펜, 토레미펜, DJ-927, 도세탁셀, TPI 287, 라로탁셀, 오르타탁셀, 파클리탁셀, DHA-파클리탁셀, 테세탁셀, 알리트레티노인, 백사로텐, 펜레티나이드, 이소트레티노인, 트레티노인, 데메콜신, 호모하렁토닌, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 빈플루닌, 비노렐빈, 하기를 비제한적으로 포함하는 항혈관형성제: 네오바스타트, ABT-510, 2- 메톡시에스트라디올, 레날리도마이드, 탈리도마이드, 암사크린, 에도테카린, 에토포시드, 에토포시드 포스페이트, 엑사테칸, 이리노테칸, 루칸톤, 미톡산트론, 픽산트론, 루비테칸, 테니포시드, 토포테칸, 9-아미노캅토프테신, 악시티닙, 에를로티닙, 게피티닙, 플라보피리돌, 이마티닙 메실레이트, 카보잔티닙, 라팔리닙, 모테사닙 디포스페이트, 닐로티닙, 셀리시클립, 소라페닙, 수니티닙 말레이트, AEE-788, BMS-599626, 7-하이드록시스타우로스포린, 바탈라닙, 보르테오미딘, 젤다나마이신, 라파마이신, 이미퀴모드, 인터페론- $\alpha$ , 인터류킨-2, 3-아미노-2- 카복시알데하이드 티오세미카바존, 알트라센탄, 아미노글루테티미드, 아나그렐라이드, 아스파라기나제, 브리오스타틴-1, 실렌지타이드, 엘레스클로니올, 에리볼린 메실레이트, 역사베필론, 로니다민, 마소프로콜, 미토구아나존, 오블리메르센, 설린다, 테스토라톤, 티아조퓨린, 템시롤리무스, 에버롤리무스, 데포르리무스, PI3K 억제제, Cdk4 억제제, Akt 억제제, Hsp90 억제제, EGFR 억제제, IDO 억제제, 파메실전달효소 억제제, MEK 억제제, BET 억제제, AS703026, 셀루메티닙, AZD8330, BIX02188, PD184352, D-87503, GS 1 120212, PD0325901, PD3 18088, PD98059, PDEA1 19, 또는 TAK-733.

### 청구항 32

청구항 10에 있어서, 상기 또 다른 치료제는 아도젤레신, 알트레타민, 벤다무스틴, 바이젤레신, 부설판, 카보플라틴, 카보쿠온, 카모푸르, 카무스틴, 클로르암부실, 시스플라틴, 사이클로포스파마이드, 다카바진, 에스트라무스틴, 에토글루시드, 포테무스틴, 헵실팜, 이포스파마이드, 임프로셀판, 이로폴벤, 로무스틴, 만노셀판, 메클로르에타민, 멜팔란, 미토브로니톨, 네다플라틴, 니무스틴, 옥살리플라틴, 피포셀판, 프레드니무스틴, 프로카바진, 라니무스틴, 사트라플라틴, 세무스틴, 스트렙토조신, 테모졸로마이드, 티오테파, 트레오셀판, 트리아지쿠온, 트리에틸렌멜라민, 트라이플라틴 테트라니트레이트, 트로포스파마이드, 우라무스틴, 아클라루비신, 암루비신, 블레오마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 독소루비신, 엘사미트루신, 에피루비신, 이다루비신, 메노가렐, 미토마이신, 네오키르지노스타틴, 펜토스타틴, 피라루비신, 플리카마이신, 발루비신, 조루비신, 아미노프테린, 아자시티딘, 아자티오프린, 카페시타빈, 클라드리빈, 클로파라빈, 사이타라빈, 데시타빈, 플록수리딘, 플루다라빈, 5-플루오로우라실, 젬시타빈, 하이드록시우레아, 머캅토프린, 메토티렉세이트, 넬라라빈, 페메트렉세드, 아자티오프린, 칼티트렉세드, 테가푸르-우라실, 티오구아닌, 트리메토프림, 트리메트렉세이트, 비다라빈, 알렘투주맵, 켈브롤리주맵, 니볼루맵, 베바시주맵, 세톡시맵, 갈릭시맵, 켄투주맵, 파니투무맵, 페르투주맵, 리톡시맵, 토시투모맵, 트라스투주맵, 90Y-이브리투모맵 티옥세탄, 이필리무맵, 트레멜리무맵, 아나스트로졸, 안드로젠, 부세렐린, 디에틸stil베스트롤, 엑세메스탄, 플루타마이드, 폴베스트란트, 고세렐린, 이독시펜, 레트로졸, 류프롤라이드, 마게스트롤, 탈록시펜, 타목시펜, 토레미펜, DJ-927, 도세탁셀, TPI 287, 라로탁셀, 오르타탁셀, 파클리탁셀, DHA-파클리탁셀, 테세탁셀, 알리트레티노인, 백사로텐, 펜레티나이드, 이소트레티노인, 트레티노인, 데메콜신, 호모하렁토닌, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 빈플루닌, 비노렐빈, 하기를 비제한적으로 포함하는 항혈관형성제: 네오바스타트, ABT-510, 2- 메톡시에스트라디올, 레날리도마이드, 탈리도마이드, 암사

크린, 에도테카린, 에토포시드, 에토포시드 포스페이트, 엑사테칸, 이리노테칸, 루칸톤, 미톡산트론, 픽산트론, 루비테칸, 테니포시드, 토포테칸, 9-아미노캄프토테신, 악시티닙, 에를로티닙, 게피티닙, 플라보피리돌, 이마티닙, 메실레이트, 카보잔티닙, 라팔리닙, 모테사닙, 디포스페이트, 닐로티닙, 셀리시클립, 소라페닙, 수니티닙, 말레이트, AEE-788, BMS-599626, 7-하이드록시스타우로스포린, 바탈라닙, 보르테조미, 젤다나마이신, 라파마이신, 이미퀴모드, 인터페론- $\alpha$ , 인터류킨-2, 3-아미노-2- 카복시알데하이드 티오세미카바존, 알트라센탄, 아미노글루테티미드, 아나그렐라이드, 아스파라기나제, 브리오스타틴-1, 실렌지타이드, 엘레스클로니올, 에리볼린, 메실레이트, 익사베필론, 로니다민, 마소프로콜, 미토구아나존, 오블리메르센, 설린다, 테스토라톤, 티아조퓨린, 템시롤리무스, 에버롤리무스, 데포르리무스, PI3K 억제제, Cdk4 억제제, Akt 억제제, Hsp90 억제제, EGFR 억제제, IDO 억제제, 파메실전달효소 억제제, MEK 억제제, BET 억제제, AS703026, 셀루메티닙, AZD8330, BIX02188, PD184352, D-87503, GS 1 120212, PD0325901, PD3 18088, PD98059, PDEA1 19, 또는 TAK-733인, 방법.

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 관련 출원들에 대한 교차참조

[0002] 본원은 2015년 5월 22일 출원된 미국 가출원 62/165,813의 35 U.S.C. § 119(e) 하에서의 이점을 주장하고, 이것은 본 명세서에 참고로 그 전문이 편입되어 있다.

[0003] 분야

[0004] 본 개시내용은 일반적으로 야생형 BRAF를 잠복시키는 세포에서 MAPK 경로를 활성화하거나 MAPK 경로 유전자의 발현을 유도하지 않으면서 BRAF V600 돌연변이 또는 BRAF 융합 돌연변이 관련 질환 또는 병태를 앓고 있거나 그 위험에 있는 대상체를 치료하는 방법에 관한 것이다.

### 배경 기술

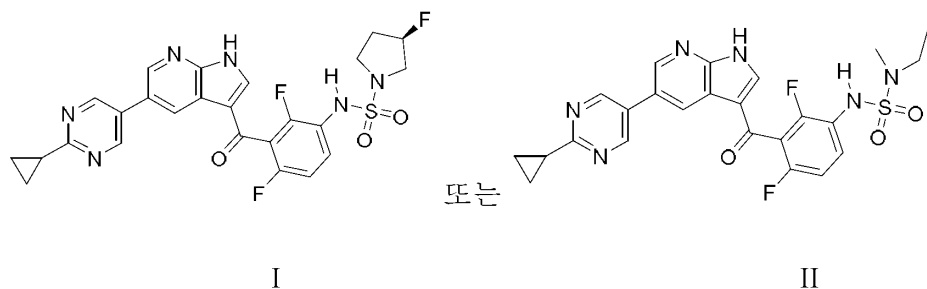
[0005] 흑색종의 개인화된 치료에서 실질적인 치료 개선을 제공하기 위해 돌연변이된 B-Raf 키나제 (BRAF)를 차단하는 제제를 개발하려는 노력이 기울어져 왔다. 현재 의료용도로 되는 특정한 BRAF 억제제의 예는 베무라페닙 및 다브라페닙을 포함한다. 다브라페닙은 객관적인 종양반응을 가지는 것으로 나타났다. 또한, 베무라페닙은 돌연변이체 BRAF<sup>V600</sup> 흑색종에서 전반적인 생존율 이점을 갖는 것이 실증되고 잘 문서로 기록되어 있다. BRAF 억제제를 사용하는 암요법의 임상적 유효성을 위해, BRAF V600E 돌연변이를 갖는 종양에서 MAPK 경로출력의 완전한 폐지를 달성하는 것이 바람직하다. 그러나, 이들 제1 세대 BRAF 억제제는 종양발생 RAS 또는 증가된 수용체 신호전달을 갖는 MAPK 경로를 역설적으로 활성화시킨다. (BRAF)에 있는 V600E 미스센스 돌연변이는 MAPK 경로의 다면적적인 조절, 조절되지 않는 세포 증식 및 종양 형성의 개시로 이어진다. ATP-경쟁적 B-Raf 억제제가 B-Raf 돌연변이체 세포에서 MAPK 경로를 차단하는 동안, 이들은 C-Raf와의 헤테로이량체화를 이끄는 야생형 B-Raf 키나제 도메인으로의 형태적 변화를 유도하여, MAPK 경로의 역설적인 과활성을 야기한다. 베무라페닙은 BRAF의 돌연변이체 V600E 형태를 선호하는 반면, 야생형 BRAF에 결합하는 것은 BRAF/CRAF 이종이량체를 유도할 수 있어 ERK1/2 활성화를 초래한다. ERK1/2의 이 "역설적 활성화"의 부정적인 결과는 각화극세포종 (KAs) 및 피부 편평상피 세포 암종 (cuSCC)의 진행으로 이어지는 세포 증식을 포함하며, 이 진행은 이들 BRAF 억제제로 치료 개시의 몇 주 이내에 발생하는 것으로 관측되었다. 따라서, MAPK 신호전달의 역설적 활성화를 회피하고, 이로써 ERK1/2 경로를 억제하여 심각한 부작용을 적게 하고 줄이며 환자반응의 안전성 및 지속기간을 개선시키는 BRAF<sup>V600</sup> 돌연변이체 억제제의 새로운 세대가 필요하다.

[0006] 요약

[0007] 업스트림 활성화 이벤트를 함유하는 세포에서, 예외적인이고 예기치 못한 수준으로 MAPK 경로의 활성화 없이 돌연변이체 RAF 세포를 억제하는 것으로 발견되었던 BRAF 억제제의 부류의 신규 사용이 개시된다. 본 개시내용의 BRAF 억제제는 BRAF 점 돌연변이 및 융합 돌연변이 둘 모두를 억제할 수 있다. 따라서, 본 개시내용 현재 사용되는 제1 세대 BRAF 억제제에 존재하는 장애를 극복한다.

[0008] 구체적으로, 본 개시내용은 야생형 BRAF를 잠복시키는 세포에서 MAPK 경로를 활성화하거나 MAPK 경로 유전자의 발현을 유도하지 않으면서 BRAF V600 돌연변이 또는 BRAF 융합 돌연변이 관련된 질환 또는 병태를 앓고 있거나 그 위험에 있는 대상체를 치료하는 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 상기 대상체에게 치료적 유효량의 식 I 또

는 II의 화합물:



[0009]

[0010] 또는 그것의 약제학적으로 허용가능한 염, 이성질체, 호변이성질체 또는 중수소화된 형태를 투여하는 것을 포함한다.

[0011] 본 개시내용의 또 다른 구현에는 야생형 BRAF를 잠복시키는 세포에서 MAPK 경로를 활성화하거나 MAPK 경로 유전자의 발현을 유도하지 않으면서 BRAF V600 돌연변이 또는 BRAF 융합 돌연변이 관련된 질환 또는 병태를 앓고 있거나 그 위험에 있는 대상체를 치료하는 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 상기 대상체에게 치료적 유효량의 식 I 또는 식 II의 화합물, 또는 그것의 약제학적으로 허용가능한 염, 이성질체, 호변이성질체 또는 중수소화된 형태, 및 약제학적으로 허용가능한 부형제 또는 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 것을 포함한다.

[0012] 본 개시내용의 또 다른 구현에는 야생형 BRAF를 잠복시키는 세포에서 MAPK 경로를 활성화하거나 MAPK 경로 유전자의 발현을 유도하지 않으면서 BRAF V600 돌연변이 또는 BRAF 융합 돌연변이 관련된 질환 또는 병태를 앓고 있거나 그 위험에 있는 대상체를 치료하는 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 상기 대상체에게 치료적 유효량의 식 I 또는 식 II의 화합물, 또는 그것의 약제학적으로 허용가능한 염, 이성질체, 호변이성질체 또는 중수소화된 형태, 및 또 다른 치료제를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 것을 포함한다.

[0013] 추가 구현예는 하기 도면 및 상세한 설명 및 청구범위로부터 분명할 것이다.

[0014] 도면의 간단한 설명

[0015] 도 1(A)는, 식 II (채워진 원; 바닥선) 및 베무라페닙 (개방된 원; 최상부 점선)이 인간 BRAF<sup>V600E</sup> 흑색종 세포 COL0829에서 pERK 신호전달을 차단하기 위해 유사한 효력을 갖는다는 것을 도시한다.

[0016] 도 1(B)는, RAS 활성화된 인간 흑색종 세포주 IPC-298 (NRAS<sup>Q61L</sup>), 베무라페닙 (개방된 원)이 역설적으로 MAPK 신호전달을 활성화하고, 한편 식 II (채워진 원)은 무시할만한 pERK 증가를 야기한다는 것을 도시한다.

[0017] 도 2(A)는, 식 I (정사각형)이 베무라페닙 (선으로 나타낸 원)과 비교하여 B9 세포주에서 Perk를 활성화하지 않는다는 것을 도시한다. 베무라페닙 평균  $EC_{50} = 0.56 \mu M$  (n=26); 식 I 평균  $EC_{50} = 10 \mu M$  (n=14).

[0018] 도 2(B)는, 식 I (정사각형)이 베틀라페닙 (원)과 비교하여 B9 세포주에서 pMEK를 활성화하지 않는다는 것을 도시한다. 베틀라페닙 평균  $EC_{50} = 0.588 \mu M$  (n=26); 식 I 평균  $EC_{50} = 10 \mu M$  (n=14).

[0019] 도 2(C)는, 식 I (정사각형)이 베틀라페닙 (원)과 비교하여 IPC-298 세포주에서 pERK를 활성화하지 않는다는 것을 도시한다. 베틀라페닙 평균  $EC_{50} = 0.84 \mu M$  ( $n=26$ ); 식 I 평균  $EC_{50} = 10 \mu M$  ( $n=14$ ).

[0020] 도 2(D)는, 식 I (정사각형)이 베무라페넵 (원)과 비교하여 IPC-298 세포주 pMEK를 활성화하지 않는다는 것을 도시한다. 베무라페넵 평균  $EC_{50} = 1.011 \mu M$  (n=26); 식 I 평균  $EC_{50} = 10 \mu M$  (n=14).

[0021] 도 2(E)는, 식 I (정사각형)이 베무라페닙 (원)과 비교하여 HCT116 세포주 pERK를 활성화하지 않는다는 것을 도시한다. 베무라페닙 평균  $EC_{50} = 0.286 \mu M$  (n=3); 식 I 평균  $EC_{50} = 10 \mu M$  (n=1).

[0022] 도 2(F)는, 식 I (정사각형)이 베틀라페닙 (원)과 비교하여 HCT116 세포주 pMEK를 활성화하지 않는다는 것을 도시한다. 베틀라페닙 평균  $EC_{50} = 0.769 \mu M$  (n=3); 식 I 평균  $EC_{50} = 10 \mu M$  (n=1).

[0023] 도 3은, 식 I이 모든 3종의 이중이식 (4종의 KIAA1549-BRAF 융합 중 3종을 발현시키는 NIH/3T3 세포)의 성장을 50% 이상까지 억제했다는 것을 도시한다. 대조군: 원; PLX4720: 정사각형; 식 I: 삼각형.  $y$  축은 입방체 밀리미터의 종양 부피를 나타내고;  $x$  축은 주사후 일수를 나타낸다.



- [0024] 상세한 설명
- [0025] I. 정의
- [0026] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 명확히 달리 표시되지 않는 한 하기 정의가 적용된다:
- [0027] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어들 "치료하다", "치료하는", "요법", "요법들" 및 유사한 용어는 질환 또는 병태의 하나 이상의 증상, 즉 징후를 예방, 경감 또는 완화하고 및/또는 치료될 대상체의 생존을 연장시키기에 효과적인 양으로 물질, 예를 들면, 본 명세서에서 기재된 바와 같은 임의의 1종 이상의 화합물(들)의 투여를 지칭한다.
- [0028] 본 맥락에서, 용어 "치료적으로 효과적인" 또는 "효과적인 양"은 투여될 때 식 I 또는 식 II의 화합물 또는 화합물의 양이 치료되는 질환, 장애 또는 의로병태의 하나 이상의 증상을 예방, 경감 또는 완화하고 및/또는 치료될 대상체의 생존을 연장시키기에 충분하거나 또는 효과적이라는 것을 나타낸다. 치료적으로 효과적인 양은 화합물, 질환, 장애 또는 병태 및 그것의 중증도와 치료될 포유동물의 연령, 체중, 등에 따라 달라질 것이다. 일반적으로, 대상체에서 만족스러운 결과는 약 0.1 내지 약 10g/대상체 체중 kg의 1일 복용량으로 수득되는 것으로 나타났다. 일부 구현예에서, 매일 용량은 약 0.10 내지 10.0mg/체중 kg, 약 1.0 내지 3.0mg/체중 kg, 약 3 내지 10mg/체중 kg, 약 3 내지 150mg/체중 kg, 약 3 내지 100mg/체중 kg, 약 10 내지 100mg/체중 kg, 약 10 내지 150mg/체중 kg, 또는 약 150 내지 1000mg/체중 kg의 범위이다. 복용량은 편리하게, 예를 들면 1일당 4회까지 분할된 용량으로 또는 지속-방출 형태로 투여될 수 있다.
- [0029] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, MAPK에 대해 식 I 또는 II의 화합물에 적용되는 바와 같은 "비-자극", "비-활성화", 및 "비-유발성" (즉, 야생형 BRAF를 잠복시키는 세포에서 MAPK 경로 또는 MAPK 경로 유전자의 발현)은 제1 세대 BRAF V600E 억제제 예컨대 다브라페닙 및 베크라페닙으로 관찰되는 자극, 활성화 및 유발성과 비교하여 보다 적은 자극, 보다 적은 활성화 및 보다 적은 유발성을 지칭한다.
- [0030] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "고형형태"는 치료 목적을 위해 의도된 동물 대상체에 투여하기에 적합한 약제학적으로 활성 화합물의 고형 제제 (즉 가스도 액체도 아닌 제제)를 지칭한다. 본 명세서에 개시된 식 I 또는 식 II의 화합물은 각각 식 I 및 식 II의 고형형태를 포함하는 것으로 의도된다. 고형형태는 임의의 복합체, 예컨대 염, 공-결정 또는 비정질 복합체뿐만 아니라 상기 화합물의 임의의 다형체를 포함한다. 고형형태는 실질적으로 결정질, 세미-결정성 또는 실질적으로 비정질일 수 있다. 고형형태는 직접 투여될 수 있거나 개선된 약제학적 특성을 갖는 적합한 조성물의 제조에 사용될 수 있다. 예를 들면, 고형형태는 적어도 1종의 약제학적으로 허용가능한 캐리어 또는 부형제를 포함하는 제형에 사용될 수 있다.
- [0031] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "세미-결정성" 물질은 10% 초과와 결정도이지만, 90%보다 크지 않은 결정도인 물질을 포용하고; 바람직하게는 "세미-결정성" 물질은 20% 초과와 결정도이지만, 80%보다 크지 않은 결정도인 물질을 포용한다. 본 명세서에 개시된 식 I 및 식 II의 화합물은 식 I 및 식 II의 화합물의 세미-결정형을 포함하는 것으로 의도된다. 본 개시내용의 일 구현예에서 화합물의 고형형태의 혼합물은, 예를 들면 "세미-결정성" 고형형태를 제공하기 위해, 예를 들면, 비정질과 결정성 고형형태의 혼합물로 제조될 수 있다. 그와 같은 "세미-결정성" 고형형태는 당해 분야에서 공지된 방법, 예를 들면 비정질 고형형태를 요망된 비로 결정성 고형형태와 혼합함에 의해 제조될 수 있다. 일부 사례에서, 산 또는 염기와 혼합된 화합물은 비정질 복합체를 형성하고; 세미-결정성 고형은 비정질 복합체로 화합물과 산 또는 염기의 화학양론의 초과하는 화합물 성분의 양을 이용하여 제조될 수 있어, 이로써 결정형에서 과잉의 화합물로, 이들의 화학양론에 기반한 비정질 복합체의 양을 초래한다. 복합체의 제조에 사용된 과잉의 화합물의 양은 고형형태의 수득한 혼합물에서 비정질 복합체 대 결정성 화합물의 요망된 비를 제공하도록 조정될 수 있다. 예를 들면, 산 또는 염기와 화합물의 비정질 복합체가 1:1 화학양론을 가지는 경우, 화합물 대 산 또는 염기의 2:1 몰비로 상기 복합체를 제조하는 것은 50% 비정질 복합체 및 50% 결정성 화합물의 고형형태를 초래할 것이다. 그와 같은 고형형태의 혼합물은 예를 들면, 결정성 성분과 함께 개선된 생물 약제학적 특성을 갖는 비정질 성분을 제공함으로써 의약품으로서 유익할 수 있다. 비정질 성분은 생체 이용가능성이 보다 쉬운 반면 결정성 성분은 생체 이용률이 지연될 수 있다. 그와 같은 혼합물은 활성 화합물에 대한 급속 및 장기간 노출 모두를 제공할 수 있다.
- [0032] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "복합체"는 식 I 또는 식 II의 화합물과 고형형태로 신규한 화학 종을 형성하거나 생성하는 추가 분자 종의 조합을 지칭한다. 일부 사례에서, 복합체는 염일 수 있으며, 즉 여기서 추가의 분자 종은 전형적인 염을 형성하는 산:염기 상호 작용을 초래하는 화합물의 산/염기 기에 산/염기 반대 이온을 제공한다. 이러한 염 형태는 전형적으로 실질적으로 결정성이지만, 이들은 또한 부분적으로 결정성이거나,

실질적으로 비정질이거나, 비정질 형태일 수 있다. 일부 사례에서, 약제학적으로 활성 화합물과 조합된 추가 분자 중은 비-염 공-결정을 형성하고, 즉, 화합물 및 분자 중은 전형적인 산:염기 상호작용의 방식에 의해 상호작용하지 않지만, 실질적으로 결정성 구조를 여전히 형성한다. 공-결정은 또한 화합물 및 추가 분자 중의 염으로부터 형성될 수 있다. 일부 사례에서, 복합체는 전형적인 염 결정을 형성하지 않고 대신에 실질적으로 비정질 고형을 형성하는 염-유사 산:염기 상호작용을 함유할 수 있는 실질적으로 비정질 복합체, 즉 그의 X-선 분말 회절 패턴이 날카롭지 않은 피크를 나타내는 (예를 들면 비정질 할로를 나타내는) 고형이다.

[0033] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "대상체"는, 비제한적으로, 임의의 포유동물, 예컨대 인간, 다른 영장류, 스포츠 동물, 상업적 관심 있는 동물 예컨대 소, 농장동물 예컨대 말, 또는 애완 동물 예컨대 개 및 고양이 포함하여, 본 명세서에서 기재된 바와 같은 화합물로 치료되는 살아 있는 유기체를 지칭한다.

[0034] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "생물 약제학적 특성"은 대상체에게 투여시 화합물의 용해, 흡수 및 분포를 포함하여 본 개시내용의 화합물 또는 복합체의 약력학적 작용을 지칭한다. 이와 같이, 본 개시내용의 화합물의 특정 고형형태, 예컨대 본 개시내용의 화합물의 비정질 복합체는 활성 화합물의 개선된 용해 및 흡수를 제공하기 위한 것이며, 이는 전형적으로 개선된  $C_{max}$  (즉, 약물의 투여 후 혈장에서 최대 달성된 농도) 및 개선된 AUC (즉, 약물의 투여 후 약물 혈장 농도 대 시간의 곡선하 면적)에 반영된다.

[0035] 용어 "약제학적으로 허용가능한"은 표시된 물질이 상당히 신중한 개업의가 치료될 질환 또는 병태 및 각각의 투여 경로를 고려하여 환자에게 물질의 투여를 회피하게 하는 특성을 갖지 않음을 나타낸다. 예를 들면, 그와 같은 물질은, 예를 들면, 주사기 용으로 본질적으로 멸균이어야한다는 것이 통상적으로 요구된다.

[0036] 용어 "투여하는"은 대상체에 경구 투여, 좌약, 국소 접촉, 정맥 내, 복강 내, 근육 내, 병소 내, 비강 내 또는 피하 투여, 또는 서방출 디바이스 예를들면, 미니-삼투펌프의 이식으로서 투여를 지칭한다. 투여는 비경구 및 경점막 (예를 들면, 구강, 설하, 구개, 잇몸, 비강, 질, 직장, 또는 경피)을 포함하는 임의의 경로에 의한다. 비경구 투여는 예를 들면, 정맥 내, 근육 내, 세동맥 내, 진피 내, 피하, 복강 내, 심실 내 및 두개 내를 포함한다. 다른 전달 방식은, 비제한적으로, 리포솜 제형, 정맥 내 주입, 경피 패치 등)의 사용을 포함한다.

[0037] 식 I 및 식 II의 화합물은 각각 수화된 형태를 포함하여 용매화된 형태뿐만 아니라 불용매화된 형태로 존재할 수 있다. "수화물"은 용질의 분자 또는 이온과 물분자의 조합에 의해 형성된 착물을 지칭한다. "용매화물"은 용질의 분자 또는 이온과 용매분자의 조합에 의해 형성된 착물을 지칭한다. 용매는 유기 화합물, 무기 화합물, 또는 양자의 혼합물일 수 있다. 용매화물은 수화물을 포함하는 것으로 의미된다. 용매의 일부 예는, 비제한적으로, 메탄올, N,N-디메틸포름아미드, 테트라하이드로퓨란, 디메틸설폭사이드, 및 물을 포함한다. 일반적으로, 용매화된 형태는 불용매화된 형태와 동등하고 본 개시내용의 범위 내에 포괄된다. 본 개시내용에 따라 사용하기 위한 식 I 및 식 II의 화합물은 각각 다중 결정성 또는 비정질 형태로 존재할 수 있다. 일반적으로, 모든 물리적 형태는 본 개시내용에 의해 고려되는 사용에 대해 동등하고 본 개시내용의 범위 내에 있는 것으로 의도된다.

[0038] 본 맥락에서, 용어 "치료적으로 효과적인" 또는 "효과적인 양"은 물질 또는 물질의 양이 질환 또는 의료 병태의 하나 이상의 증상을 예방, 경감 또는 완화하고 및/또는 치료될 대상의 생존을 연장하기에 효과적이라는 것을 나타낸다. 치료적으로 효과적인 양은 화합물, 장애 또는 병태와 그것의 중증도 및 치료될 포유동물의 연령, 체중, 등에 따라 달라질 것이다. 예를 들면, 효과적인 양은 유익한 또는 요망된 임상결과를 달성하기에 충분한 양이다. 효과적인 양은 단일 투여로 한번에 또는 여러 번의 투여에서 효과적인 양을 제공하는 단편적인 양 모두로 제공될 수 있다. 효과적인 양으로 간주될 수 있는 것이 무엇인지에 대한 정확한 결정은 대상체의 크기, 연령, 손상, 및/또는 치료되는 질환 또는 손상을 포함하는 각각의 대상체에 대한 개별적인 인자와 손상이 발생하거나 질환이 시작된 이후의 시간의 정도에 기초할 수 있다. 당해 분야의 숙련가는 당해 기술에서 일상적인 이 들 고려 사항들에 기초하여 소정의 대상체에 대한 효과적인 양을 결정할 수 있을 것이다.

[0039] 본 맥락에서, 용어들 "상승작용으로 효과적인" 또는 "상승작용 효과"는 조합하여 사용될 때 치료적으로 효과적인 2종 이상의 화합물이 그것만으로 사용된 각각의 화합물의 효과에 기초하여 예상되는 누적 효과보다 더 큰 개선된 치료 효과를 제공한다는 것을 나타낸다.

[0040] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "조절하는" 또는 "조절하다"는 생물학적 활성, 특히 특정한 생체 분자 예컨대 단백질 키나제와 관련된 생물학적 활성을 변화시키는 효과를 지칭한다. 예를 들면, 특정한 생체 분자의 억제제는 생체 분자, 예컨대 효소의 활성을 감소시킴으로써 그 생체 분자, 예를 들면 효소의 활성을 조절한다. 이러한 활성은 전형적으로, 예를 들면 효소에 관한 억제제용 화합물의 억제 농도 ( $IC_{50}$ )의 관점으로 표시된다.

[0041] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "단백질 키나제 매개된 질환 또는 병태"는, 그것의 임의의 돌연변이를 포함하는 단백질 키나제의 생물학적 기능이, 질환 또는 병태의 발달, 과정, 및/또는 증상에 영향을 주고/거나 단백질 키나제의 조절이 질환 또는 병태의 발달, 과정, 및/또는 증상을 변경시키는 질환 또는 병태를 지칭한다. 단백질 키나제 매개된 질환 또는 병태는, 그것의 억제제가 치료 이점을 제공하고, 예를 들면 본 명세서에서 기재된 식 I 또는 식 II의 화합물 중 하나 이상을 포함하는 단백질 키나제 억제제(들)에 의한 치료는 질환 또는 병태를 앓고 있거나 그 위험에 있는 상기 대상체에 대해 치료 이점을 제공하는 질환 또는 병태를 포함한다.

[0042] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "BRAF V600 돌연변이 관련된 질환 또는 병태" 또는 "BRAF V600 돌연변이 매개된 질환 또는 병태"는, V600 돌연변이를 갖는 BRAF 키나제의 생물학적 기능이 질환 또는 병태의 발달, 과정, 및/또는 증상에 영향을 주고/거나, BRAF의 조절이 질환 또는 병태의 발달, 과정, 및/또는 증상을 변경시키는 질환 또는 병태를 지칭한다. BRAF V600 돌연변이 관련된 질환 또는 병태 또는 BRAF V600 돌연변이 매개된 질환 또는 병태는, 그것의 억제제가 치료 이점을 제공하고, 예를 들면 본 명세서에서 기재된 식 I 또는 식 II의 화합물 중 하나 이상을 포함하는 단백질 키나제 억제제(들)에 의한 치료는, 질환 또는 병태를 앓고 있거나 그 위험에 있는 상기 대상체에 대한 치료 이점을 제공하는 질환 또는 병태를 포함한다.

[0043] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "BRAF 융합 돌연변이 관련된 질환 또는 병태" 또는 "BRAF 융합 돌연변이 매개된 질환 또는 병태"는, 융합 돌연변이를 갖는 BRAF 키나제의 생물학적 기능이 질환 또는 병태의 발달, 과정, 및/또는 증상에 영향을 주고/거나, BRAF의 조절이 질환 또는 병태의 발달, 과정, 및/또는 증상을 변경시키는 질환 또는 병태를 지칭한다. BRAF 융합 돌연변이 관련된 질환 또는 병태 또는 BRAF 융합 돌연변이 매개된 질환 또는 병태는, 그것의 억제제가 치료 이점을 제공하고, 예를 들면 본 명세서에서 기재된 식 I 또는 식 II의 화합물 중 하나 이상을 포함하는 단백질 키나제 억제제(들)에 의한 치료는, 질환 또는 병태를 앓고 있거나 그 위험에 있는 상기 대상체에 대한 치료 이점을 제공하는 질환 또는 병태를 포함한다.

[0044] 또한, 본 명세서에서 사용된 약어는 아래와 같은 각각의 의미를 갖는다:

BRAF	v-Raf 컷과 육종 바이러스성 종양유전자 동족체 B1
C <sub>max</sub>	최대 관측된 농도
EC <sub>50</sub>	반최대 효과적인 농도
ERK	세포의 신호-조절된 키나제
IC <sub>50</sub>	반최대 억제 농도
KRAS2	v-Ki-ras2 키르스텐 랫트 육종 바이러스성 종양유전자 동족체

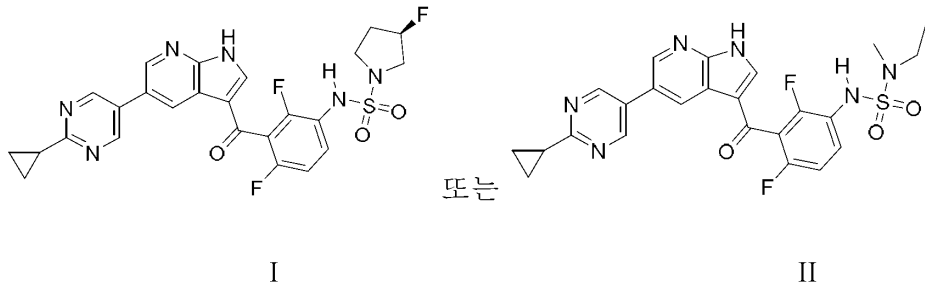
[0045]

## [0046] II. 제1 세대 BRAF 억제제의 역설 활성화

[0047] 암에서 활성화 BRAF V600E 돌연변이 (주로 발린-600 또는 BRAFV600의 미스센스 치환)의 확인 (Davies 2002)은 이들 악성 종양의 발병에 BRAF가 기능적으로 중요한 역할을 한다는 것을 입증한다. 베무라페닙 (Bollag 2010, Flaherty 2010)과 다브라페닙 (Stellwagen 2011)을 포함한 특정한 BRAF 억제제는 객관적 종양 반응 (Sosman 2012; Hauschild 2012)과 베무라페닙의 경우에 돌연변이체 BRAFV600 유도된 흑색종에서의 전반적인 생존율 이점 (Chapman 2011) 모두를 입증했다. BRAF 억제제-기반 치료법의 임상적 유효성은 종양을 잠복시키는 BRAF V600E 돌연변이 (Bollag 2010)에서 MAPK 경로 출력의 완전한 제거에 좌우된다. 그러나, 1세대 BRAF 억제제는 발암성 RAS 또는 상승된 업스트림 수용체 신호 전달을 담지하는 세포에서 역설적으로 MAPK 경로를 활성화한다 (Hatzivassiliou 2010; Heidorn 2010; Poulikakos 2010). 이 활성화는 세포 증식으로 이어질 수 있고, 때때로 치료의 개시 몇 주 이내에 피부 편평 상피 세포 암종 (cuSCC) 및 각화극세포종 (KAs)의 출현과 임상적으로 관련되어있다 ((Su 2012; Anforth 2012; Hauschild 2012; Huang 2012). 이들 MAPK 경로 활성화-유도된 종양은 특이하지 않게 RAS 돌연변이의 높은 발병률을 가진다 (Oberholzer 2012; Su 2012). 비록 임상 시험에서 BRAF 억제제가 독성의 상대적 결여를 나타내지만, 역설적 활성화 기전은 다른 RAS 유도된 암의 진행을 가속화할 수 있으며, 그리고 BRAF 억제제 치료 도중 원발성 흑색종의 발병률 증가 (Zimmer 2012) 및 RAS 돌연변이체 백혈병의 진행 (Callahan 2012)의 최근 케이스 보고는 이것을 입증한다.

- [0048] BRAF에서 돌연변이를 활성화하는 것은 RAS 활성화와 독립적으로 MAPK 경로 신호전달을 구성적으로 촉진함으로써 암 성장을 부채질한다. 돌연변이된 BRAF를 차단하는 약제를 개발하려는 노력은 전이성 흑색종의 개인화된 치료에 있어 극적인 치료 개선을 가져왔다. 그러나 이들 제제들의 개발은 또한 이들 표적화된 요법의 예기치 못한 결과: 특정 암의 자극된 성장 (역설적 활성화)을 드러냈다. 지금까지 가장 흔한 부작용 예는 최초로 소라페닙 (Lacouture 2006)으로 관측되고 그리고 더욱 최근에 베무라페닙 (Flaherty 2010; Huang 2012) 및 다브라페닙 (Hauschild 2012)으로 관측된 케라틴 생성 세포로부터 유래한 피부 신생물 (Robert 2011)이다. 치명적 전이성 질환의 관점에서, 특히 대부분의 병변을 쉽게 식별하고 제거할 수 있기 때문에, 비악성 피부 종양 예컨대 각화극세포종 및 각화극세포종-유사 cuSCC의 출현이 허용될 수 있다. 그러나 이들 이차 악성 종양의 출현은 RAF 억제제의 두 가지 반대 효과를 강조한다: 이들 모두는 종양을 치료하고 유발한다. 구조적으로-다양한 ATP-경쟁적 RAF 키나제 억제제는 경로가 BRAF V600E 돌연변이 또는 업스트림 이벤트, 예컨대 RAS 돌연변이 또는 수용체 티로신 키나제 활성화에 의해 활성화되는지 여부에 따라 RAF/MEK/ERK 경로를 억제하고 그리고 역설적으로 활성화시키는 것 양자를 할 수 있다 (Hatzivassiliou 2010; Heidorn 2010; Poulikakos 2010).
- [0049] EGFR 신호 전달과 BRAF 억제제-유도된 피부 발암과의 연관성이 또한 있다. MAPK 경로 반응 유전자의 발현을 유도하는 것은 EGFR 리간드를 유도한다. 베무라페닙은 형질 전환된 케라틴생성세포에서 AREG, HB-EGF 및 TGF $\alpha$ 를 포함하는 EGFR 리간드의 발현을 상당히 유도한다. 외인성 EGFR 리간드는 베무라페닙의 성장자극효과를 반복하는 반면 EGFR 억제제는 이에 길항한다. 따라서, MAPK 경로 반응 유전자의 발현을 유도하지 않는 식 I 또는 식 II의 화합물은 EGFR 리간드를 발현하지 않을 것이다. PDGFR, IGF-1R 및 MET를 포함한 EGFR 및 다른 RTK의 보상성 활성화는 흑색종에서 BRAF 억제에 대한 획득된 내성을 야기하는 것으로 나타났다 (Nazarian 2010; Villanueva 2010; Straussman 2012). BRAF 억제제에 대한 BRAFV600E 결합 직장암의 무반응성은 또한 EGFR의 피드백 활성화에 기인한다 (Corcoran 2012; Prahalad 2012). 따라서, 식 I 또는 식 II의 화합물은 흑색종 예컨대 유두상 갑상선암, 결장 직장암, 및 다른 암 이외의 BRAF 돌연변이체 암종이 있는 대상체를 치료하는데 유리할 수 있다.
- [0050] 식 I 및 식 II의 화합물은 하기 실시예에서 입증된 바와 같이, BRAF 억제제의 제1 세대의 미충족된 요구를 만족한다. 실시예는 식 I이 RAS 돌연변이 또는 수용체 티로신 키나아제 활성화를 포함하는 세포에서 MAPK 경로를 활성화함이 없이 돌연변이체 BRAF 세포를 억제한다는 것을 입증한다. 또한, 실시예에서 식 I 및 식 II의 화합물 각각은 다른 키나아제의 활성화에 최소 영향을 미치면서, 한자릿수 nM IC<sub>50</sub>으로 가장 흔한 -BRAFV600E-를 포함하는 돌연변이된 BRAF 키나아제를 선택적으로 억제한다는 것이 실증된다. 경로 활성화로부터 MAPK 경로 억제를 해리 시킴으로써, 식 I의 화합물은 별개의 개선된 활성 프로파일을 갖는다.
- [0051] 본 명세서에서 기재된 방법 및 식 I 또는 식 II의 화합물의 사용은 미국 특허공개번호 2014/0128373의 선택발명이다. 구체적으로, 식 I 및 II의 화합물은 각각 매우 강력한 BRAFV600E 돌연변이체 억제제이고 또한 특히 강한 역설 파괴제이며, 여기서 식 I 및 II는 제1 세대 BRAF V600E 돌연변이체 억제제에서 전형적인 MAPK 경로를 활성화하지 않는다. 식 I의 화합물은 따라서 이런 점에서 매우 유리하고, 다양한 징후에 대해 잠재적으로 유용한 것으로 시험되고 입증되었다.
- [0052] RAF 억제제로 치료받은 환자로부터의 편평 상피 세포 종양에서 만연한 동일한 HRAS 돌연변이를 나타내는 세포 모델에서, 1세대 RAF 억제제는 세포의 *시험관내* 및 *생체내* 성장을 자극하고 EGFR 리간드를 포함한 MAPK 경로 반응 유전자의 발현을 유도한다. 반대로, 식 I 및 식 II의 역설 파괴제는 그러한 효과가 없었다. 또한, 식 I의 화합물은 놀랍게도 제1 세대 RAF 억제제에 대한 내성의 몇 개의 공지된 기전을 극복했다. 식 I 또는 식 II의 화합물의 이들 유리한 특성에 기초하여, 향상된 내성 및, 이어서, 증가된 약물 복용량이 수득될 수 있다.
- [0053] **III. 구현예**
- [0054] 업스트림 활성화 이벤트를 함유하는 세포에서, 예외적인이고 예기치 못한 수준으로 야생형 BRAF를 잠복시키는 세포에서 MAPK 경로를 활성화하거나 MAPK 경로 유전자의 발현을 유도하지 않으면서 돌연변이체 RAF 세포를 억제하는 것으로 발견되었던 BRAF 억제제의 부류의 신규 사용이 개시된다. 따라서, 따라서, 본 개시내용 현재 사용되는 제1 세대 BRAF 억제제에 존재하는 장애를 극복한다.
- [0055] 구체적으로, 본 개시내용은 야생형 BRAF를 잠복시키는 세포에서 MAPK 경로를 활성화하거나 MAPK 경로 유전자의 발현을 유도하지 않으면서 BRAF V600 돌연변이 또는 BRAF 융합 돌연변이 관련된 질환 또는 병태를 앓고 있거나 그 위험에 있는 대상체를 치료하는 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 상기 대상체에게 치료적 유효량의 식 I 또는 II의 화합물:





[0056]

[0057]

또는 그것의 약제학적으로 허용가능한 염, 이성질체, 호변이성질체 또는 중수소화된 형태를 투여하는 것을 포함한다.

[0058]

식 I (또는 "식 I")의 화합물은 (3R)-N-[3-[5-(2-사이클로프로필피리미딘-5-일)-1H-피콜로[2,3-b]피리딘-3-카보닐]-2,4-디플루오로페닐]-3-플루오로페롤리딘-1-설포나미드로도 공지된다. 식 II (또는 "식 II")의 화합물은 5-(2-사이클로프로필피리미딘-5-일)-3-[3-[[에틸(메틸)설파모일]아미노]-2,6-디플루오로-벤조일]-1H-피콜로[2,3-b]피리딘으로도 공지된다.

[0059]

일부 구현예에서, 야생형 BRAF를 잠복시키는 세포에서 MAPK 경로를 활성화하거나 MAPK 경로 유전자의 발현을 유도하지 않으면서 BRAF V600 돌연변이 관련된 질환 또는 병태를 앓고 있거나 그 위험에 있는 대상체를 치료하는 방법은 식 I의 화합물을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 야생형 BRAF를 잠복시키는 세포에서 MAPK 경로를 활성화하거나 MAPK 경로 유전자의 발현을 유도하지 않으면서 BRAF V600 돌연변이 관련된 질환 또는 병태를 앓고 있거나 그 위험에 있는 대상체를 치료하는 방법은 식 II의 화합물을 투여하는 것을 포함한다.

[0060]

또 다른 구현예에서, 야생형 BRAF를 잠복시키는 세포에서의 MAPK 경로의 비-활성화 또는 MAPK 경로의 발현의 비-유도 유전자는 BRAF 야생형 세포에서의 포스포-ERK (pERK)의 억제를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 야생형 BRAF를 잠복시키는 세포에서의 MAPK 경로의 비-활성화 또는 MAPK 경로 유전자의 발현의 비-유도는 BRAF 야생형 세포에서의 pERK 및 pMEK의 억제를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 야생형 BRAF를 잠복시키는 세포에서의 MAPK 경로의 비-활성화 또는 MAPK 경로 유전자의 발현의 비-유도는 세포 성장의 자극을 예방한다. 또 다른 구현예에서, BRAF 야생형 세포에서의 pERK의 억제는 세포 성장의 자극을 예방한다. 또 다른 구현예에서, BRAF 야생형 세포에서의 pERK 및 pMEK의 억제는 세포 성장의 자극을 예방한다. 또 다른 구현예에서, 야생형 BRAF를 잠복시키는 세포에서의 MAPK 경로의 비-활성화 또는 MAPK 경로 유전자의 발현의 비-유도는 자극 피부 신생물을 예방한다. 또 다른 구현예에서, BRAF 야생형 세포에서의 pERK의 억제는 피부 종양의 자극을 예방한다. 또 다른 구현예에서, BRAF 야생형 세포에서의 pERK 및 pMEK의 억제는 피부 신생물의 자극을 예방한다. 또 다른 구현예에서, 야생형 BRAF를 잠복시키는 세포에서의 MAPK 경로의 비-활성화 또는 MAPK 경로 유전자의 발현의 비-유도는 다른 악성종양의 자극을 예방한다. 비제한적인 예는 백혈병 또는 결장직장암을 포함한다.

[0061]

본 개시내용의 또 다른 구현예는 야생형 BRAF를 잠복시키는 세포에서 MAPK 경로를 활성화하거나 MAPK 경로 유전자의 발현을 유도하지 않으면서 BRAF V600 돌연변이 또는 BRAF 융합 돌연변이 관련된 질환 또는 병태를 앓고 있거나 그 위험에 있는 대상체를 치료하는 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 상기 대상체에게 치료적 유효량의 식 I 또는 식 II의 화합물, 또는 그것의 약제학적으로 허용가능한 염, 이성질체, 호변이성질체 또는 중수소화된 형태, 및 약제학적으로 허용가능한 부형제 또는 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 것을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 야생형 BRAF를 잠복시키는 세포에서의 MAPK 경로의 비-활성화 또는 MAPK 경로 유전자의 발현의 비-유도는 BRAF 야생형 세포에서의 pERK의 억제를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 야생형 BRAF를 잠복시키는 세포에서의 MAPK 경로의 비-활성화 또는 MAPK 경로 유전자의 발현의 비-유도는 BRAF 야생형 세포에서의 pERK 및 pMEK의 억제를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 야생형 BRAF를 잠복시키는 세포에서의 MAPK 경로의 비-활성화 또는 MAPK 경로 유전자의 발현의 비-유도는 세포 성장의 자극을 예방한다. 또 다른 구현예에서, 야생형 BRAF 세포에서의 pERK의 억제는 세포 성장의 자극을 예방한다. 또 다른 구현예에서, 야생형 BRAF 세포에서의 pERK 및 pMEK의 억제는 세포 성장의 자극을 예방한다. 또 다른 구현예에서, 야생형 BRAF를 잠복시키는 세포에서의 MAPK 경로의 비-활성화 또는 MAPK 경로 유전자의 발현의 비-유도는 자극 피부 신생물을 예방한다. 또 다른 구현예에서, pERK 야생형 세포의 억제는 피부 종양의 자극을 예방한다. 또 다른 구현예에서, 야생형 BRAF 세포에서의 pERK 및 pMEK의 억제는 피부 신생물의 자극을 예방한다.

[0062]

본 개시내용의 또 다른 구현예는 야생형 BRAF를 잠복시키는 세포에서 MAPK 경로를 활성화하거나 MAPK 경로 유전자의 발현을 유도하지 않으면서 BRAF V600 돌연변이 또는 BRAF 융합 돌연변이 관련된 질환 또는 병태를 앓고 있

거나 그 위험에 있는 대상체를 치료하는 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 상기 대상체에게 치료적 유효량의 식 I 또는 식 II, 또는 그것의 약제학적으로 허용가능한 염, 이성질체, 호변이성질체 또는 중수소화된 형태를 포함하는 약제학적 조성물, 및 또 다른 치료제를 투여하는 것을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 야생형 BRAF를 잠복시키는 세포에서의 MAPK 경로의 비-활성화 또는 MAPK 경로 유전자의 발현의 비-유도는 야생형 BRAF 세포에서의 pERK의 억제제를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 야생형 BRAF를 잠복시키는 세포에서의 MAPK 경로의 비-활성화 또는 MAPK 경로 유전자의 발현의 비-유도는 야생형 BRAF 세포에서의 pERK 및 pMEK의 억제제를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 야생형 BRAF를 잠복시키는 세포에서의 MAPK 경로의 비-활성화 또는 MAPK 경로 유전자의 발현의 비-유도는 세포 성장의 자극을 예방한다. 또 다른 구현예에서, 야생형 BRAF 세포에서의 pERK의 억제는 세포 성장의 자극을 예방한다. 또 다른 구현예에서, 야생형 BRAF를 잠복시키는 세포에서의 MAPK 경로의 비-활성화 또는 MAPK 경로 유전자의 발현의 비-유도는 자극 피부 신생물을 예방한다. 또 다른 구현예에서, BRAF 야생형 세포에서의 pERK의 억제는 피부 종양의 자극을 예방한다. 또 다른 구현예에서, 야생형 BRAF 세포에서의 pERK 및 pMEK의 억제는 피부 신생물의 자극을 예방한다.

[0063] BRAF V600 돌연변이의 비-제한적인 예는 V600E, V600K, V600A, V600G, V600M, 및 V600R을 포함하되, 상기 V600E 및 V600K는 첫 번째 및 두 번째로 가장 흔하다. 제조합 효소를 사용하는 생물학적 검정에서, IC<sub>50</sub> 값은 식 I의 화합물에 대해 3.5 내지 14.2 nM의 범위였다. 실시예 3 및 표 1 참고.

[0064] BRAF 융합 돌연변이 관련된 질환 또는 병태의 비-제한적인 예는 소아 별아교세포종을 포함한다.

[0065] BRAF V600E 돌연변이는 모든 흑색종의 약 절반 (Rajagopalan 2002) 및 많은 추가 암, 뿐만 아니라 다른 유형의 질환 또는 병태에서 일어난다. 하기 BRAF V600E 돌연변이 관련된 질환 또는 병태는 본 명세서에서 기재된 식 I의 화합물의 방법 및 용도에 대해 고려된다.

[0066] BRAF V600 돌연변이 관련된 질환 또는 병태의 비-제한적인 예 include 흑색종 (전이성 흑색종, 3A 단계 흑색종, 3B 단계 흑색종, 3C 단계 흑색종, 및 피부 색소침착 흑색종 포함), 결장직장암 (결장직장 선암종 포함) (Cohen 2003), 유두상 갑상선암 (Fukushima 2003; Kimura 2003; Xu 2003), 역형성 갑상선암 (Xu 2003), 장액 난소암 (Nikiforova 2003), 비-소세포 폐암 (Singer 2003), 위암 (Brose 2002), 담관암종 (Lee 2003), 바렛 식도암 (Tannapfel 2003), 및 두경부암 (Sommerer 2004; Weber 2003)을 포함한다. BRAF V600 돌연변이 관련된 암의 다른 비-제한적인 예는 간세포 암종 (Colombino 2012), 랑게르한스 세포 조직구증 (Badalian-Verly 2010), 위장 기질 세포 종양 (Agaram 2008), 다발성 골수종 (Chapman 2011), 소아 별아교세포종 (which contain 주로 BRAF 증복s) (Jones 2008; Pfister 2008; Sievert 2009), 다형성 황색별아교세포종 (Dias-Santagata 2011; 윈들러 2011), 만성 골수 백혈병, 급성 골수단구 백혈병, 양표현형 B 골수단구 백혈병, 급성 골수 백혈병, 및 모발 세포 백혈병 (Tiacci 2011)을 포함한다. BRAF V600 돌연변이 관련된 암의 다른 비-제한적인 예는 말초 신경집 종양, 예컨대 양성 및 악성 말초 신경집 종양 (Serrano 2013)을 포함한다. BRAF V600 돌연변이는 또한 모반 (Pollock 2003)에서 아주 빈번한데, 상기 모반은 일반적으로, 멜라닌세포로부터 유래하고 휴지기 및 따라서 양성인 이형성증 병변 이다. BRAF V600 돌연변이는 또한 에드하임-체스터 질환에서 일어난다.

[0067] 다른 BRAF 600V 관련된 병태 또는 장애는 염증성 및 자가면역 질환 (예컨대 류마티스성 관절염) (*Mol Immunol.* 2013 Oct;55(3-4):247-52), 건혈막 거대세포 종양, 색소성 용모결절성 윤활막염, 힘줄집의 거대세포 종양, 골의 거대세포 종양, 자궁경부암 (*Gynecol Oncol.* 2007 Jun;105(3):662-6.), 자궁내막 암 (*Fam Cancer.* 2014 Mar;13(1):1-12), 생식세포 종양 (*J Clin Oncol.* 2009 May 1;27(13):2129-36), 전립선암 (*Genes Chromosomes Cancer.* 2012 Nov;51(11):1014-23), 방광암 (*Mol Cancer Res.* 2015 Mar 12. pii: molcanres.0689.2014), 근주 위세포종 (*J Natl Cancer Inst.* 2014 Jul 25;106(8)), 후신 샘종 (*Am J Surg Pathol.* 2015 Apr;39(4):549-57), 췌장 신생물 (*J Pathol.* 2014 Mar;232(4):428-35), 신경내분비 종양 (*Am J Clin Pathol.* 2005 Feb;123(2):256-60), 내분비 종양 (*Endocr Relat Cancer.* 2004 Dec;11(4):855-60), 부신 종양 (*Endocr Relat Cancer.* 2009 Jun;16(2):565-72), 부신 수질 종양, 귀밑샘의 낭샘암종 (Springerplus. 2013 Dec 18;2:679. doi: 10.1186/2193-1801-2-679), 교모세포종 다형성 (*World J Surg Oncol.* 2015 Mar 11;13:100), 담관 샘종을 포함하는 담도암 (Hepatology. 2015 Jan;61(1):403-5), 담관암종, B-세포 만성 림프증식성 장애 (*Blood.* 2012 Jan 5;119(1):188-91), 수지상 세포 육종 (*Ann Diagn Pathol.* 2015 Jun;19(3):113-6), 조직구성 육종, 및 림프종 (예를 들면 리히터 증후군, 비-호지킨 림프종) (*Cell.* 2015 Apr 9;161(2):319-32)을 포함한다.

[0068] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 질환 또는 병태는 흑색종, 결장직장암, 유두상 갑상선암, 역형성 갑상선암, 난소암, 비-소세포 폐암, 위암, 담관암종, 바렛 식도암, 두경부암, 간세포 암종, 랑게르한스 세포

조직구증, 위장 기질 세포 종양, 다발성 골수종, 소아 별아교세포종, 다형성 황색별아교세포종, 만성 골수 백혈병, 급성 골수단구 백혈병, 양표현형 B 골수단구 백혈병, 급성 골수 백혈병, 모발 세포 백혈병, 모반, 에드하이-체스터 질환, 염증성 및 자가면역 질환 (예컨대 류마티스성 관절염), 건활막 거대세포 종양, 색소성 용모결절성 윤활막염, 힘줄집의 거대세포 종양, 골의 거대세포 종양, 자궁경부암, 자궁내막 암, 생식세포 종양, 전립선암, 방광암, 근주위세포종, 후신 샘종, 췌장 신생물, 신경내분비 종양, 내분비 종양, 부신 종양, 부신 수질 종양, 귀밑샘의 낭샘암종, 교모세포종 다형성, 담관 샘종을 포함하는 담도암, 담관암종, B-세포 만성 림프증식성 장애, 수지상 세포 육종, 조직구성 육종, 또는 림프종이다.

[0069] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 또는 BRAF 융합 돌연변이 관련된 질환 또는 병태는 흑색종, 결장직장암, 유두상 갑상선암, 역형성 갑상선암, 난소암, 비-소세포 폐암, 위암, 담관암종, 바렛 식도암, 두경부암, 간세포 암종, 랑게르한스 세포 조직구증, 위장 기질 세포 종양, 다발성 골수종, 소아 별아교세포종, 다형성 황색별아교세포종, 만성 골수 백혈병, 급성 골수단구 백혈병, 양표현형 B 골수단구 백혈병, 급성 골수 백혈병, 모발 세포 백혈병, 모반, 에드하이-체스터 질환, 악성 주변 신경집 종양, 염증성 및 자가면역 질환 (예컨대 류마티스성 관절염), 건활막 거대세포 종양, 색소성 용모결절성 윤활막염, 힘줄집의 거대세포 종양, 골의 거대세포 종양, 자궁경부암, 자궁내막 암, 생식세포 종양, 전립선암, 방광암, 근주위세포종, 후신 샘종, 췌장 신생물, 신경내분비 종양, 내분비 종양, 부신 종양, 부신 수질 종양, 귀밑샘의 낭샘암종, 교모세포종 다형성, 담관 샘종을 포함하는 담도암, 담관암종, B-세포 만성 림프증식성 장애, 수지상 세포 육종, 조직구성 육종, 또는 림프종이다.

[0070] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 질환 또는 병태는 전이성 흑색종, 결장직장암, 유두상 갑상선암, 역형성 갑상선암, 난소암, 비-소세포 폐암, 위암, 담관암종, 바렛 식도암, 에드하이-체스터 질환, 또는 두경부암이다. 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 질환 또는 병태는 흑색종, 결장직장암, 유두상 갑상선암, 역형성 갑상선암, 난소암, 비-소세포 폐암, 위암, 담관암종, 바렛 식도암, 또는 두경부암이다.

[0071] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 질환 또는 장애는 간세포 암종, 랑게르한스 세포 조직구증, 위장 기질 세포 종양, 다발성 골수종, 소아 별아교세포종, 다형성 황색별아교세포종, 만성 골수 백혈병, 급성 골수단구 백혈병, 양표현형 B 골수단구 백혈병, 급성 골수 백혈병, 모발 세포 백혈병, 또는 모반이다.

[0072] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 질환 또는 장애는 염증성 및 자가면역 질환 (예컨대 류마티스성 관절염), 건활막 거대세포 종양, 색소성 용모결절성 윤활막염, 힘줄집의 거대세포 종양, 골의 거대세포 종양, 자궁경부암, 자궁내막 암, 생식세포 종양, 전립선암, 방광암, 근주위세포종, 후신 샘종, 췌장 신생물, 신경내분비 종양, 내분비 종양, 부신 종양, 부신 수질 종양, 귀밑샘의 낭샘암종, 교모세포종 다형성, 담관 샘종을 포함하는 담도암, 담관암종, B-세포 만성 림프증식성 장애, 수지상 세포 육종, 조직구성 육종, 또는 림프종이다.

[0073] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 질환 또는 장애는 암이다. 또 다른 구현예에서, BRAF V600E 돌연변이 관련된 암은 전이성 흑색종, 결장직장암, 유두상 갑상선암, 역형성 갑상선암, 난소암, 비-소세포 폐암, 위암, 담관암종, 바렛 식도암, 또는 두경부암이다. 또 다른 구현예에서, BRAF V600E 돌연변이 관련된 암은 전이성 흑색종, 피부 색소침착 흑색종, 결장직장암, 유두상 갑상선암, 역형성 갑상선암, 난소암, 비-소세포 폐암, 위암, 담관암종, 바렛 식도암, 또는 두경부암이다.

[0074] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 간세포 암종, 랑게르한스 세포 조직구증, 위장 기질 세포 종양, 다발성 골수종, 소아 별아교세포종, 다형성 황색별아교세포종, 만성 골수 백혈병, 급성 골수단구 백혈병, 양표현형 B 골수단구 백혈병, 급성 골수 백혈병, 모발 세포 백혈병, 또는 모반이다.

[0075] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 질환 또는 병태는 에드하이-체스터 질환이다.

[0076] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 흑색종이다.

[0077] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 전이성 흑색종이다.

[0078] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 피부 색소침착 흑색종이다.

[0079] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 말초 신경집 종양 (악성 및 양성 말초 신경 덩개 종양 포함)이다.

- [0080] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 악성 말초 신경집 종양 (MPNST)이다.
- [0081] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 결장직장암이다.
- [0082] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 결장직장 선암종이다.
- [0083] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 유두상 갑상선암이다.
- [0084] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 역형성 갑상선암이다.
- [0085] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 난소암이다.
- [0086] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 비-소세포 폐암이다.
- [0087] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 위암이다.
- [0088] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 담관암종이다.
- [0089] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 바렛 식도암이다.
- [0090] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 두경부암이다.
- [0091] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 간세포 암종이다.
- [0092] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 랑게르한스 세포 조직구증이다.
- [0093] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 위장 기질 세포 종양이다.
- [0094] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 다발성 골수종이다.
- [0095] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 소아 별아교세포종이다.
- [0096] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 다형성 황색별아교세포종이다.
- [0097] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 만성 골수 백혈병이다.
- [0098] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 급성 골수단구 백혈병이다.
- [0099] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 양표현형 B 골수단구 백혈병이다.
- [0100] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 급성 골수 백혈병이다.
- [0101] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 모발 세포 백혈병이다.
- [0102] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 암은 모반이다.
- [0103] 또 다른 구현예에서, BRAF V600 돌연변이 관련된 질환 또는 병태는 하기로 구성된 군으로부터 선택된다: 허혈성 뇌졸중, 뇌혈관 허혈, 다-경색 치매, 두부 손상, 척수 손상, 알츠하이머병, 파킨슨병, 근위축 측삭 경화증, 치매, 노인성 무도병, 헌팅턴병, 신생물성 질환, 신생물성 질환을 갖는 합병증, 화학요법-유도된 저산소증, 위장 기질 종양, 전립선 종양, 비만 세포 종양, 갯과 비만 세포 종양, 급성 골수 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 만성 골수 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 다발성 골수종, 흑색종, 비만세포증, 신경아교종, 교모세포종, 별아교세포종, 신경교세포종, 육종, 신경외배엽성 기원의 육종, 평활근육종, 폐 암종, 유방 암종, 췌장 암종, 결장 암종, 간세포 암종, 신장 암종, 여성 생식관의 암종, 편평상피 세포 암종, 체자리 암종, 림프종, 조직구성 림프종, 비-호지킨 림프종, MEN2 증후군, 신경섬유종증, 슈반 세포 신조직형성, 골수이형성 증후군, 백혈병, 종양 혈관신생, 갑상선암, 간암, 골 암, 피부암, 뇌암 (소아 뇌종양 및 BRAF-융합 뇌종양 포함), 중추신경계의 암, 췌장암, 폐암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 유방암, 결장암, 방광암, 전립선암, 위장관 암, 자궁내막의 암, 나팔관암, 고환암, 난소암, 신경병성 기원의 통증, 염증성 기원의 통증, 급성 통증, 만성 통증, 편두통, 심혈관 질환, 심부전, 심장 비대증, 혈전증, 혈전성 미세혈관병증 증후군, 죽상경화증, 재관류 손상, 허혈, 뇌혈관 허혈, 간 허혈, 염증, 다낭성 신장 질환, 연령 관련 황반 변성, 류마티스성 관절염, 알러지성 비염, 염증성 장 질환, 폐양성 대장염, 크론병, 전신 홍반성 낭창, 쇼그렌 증후군, 베게너 육아종증, 건선, 경피증, 만성 갑상선염, 그레이브스병, 중증 근무력증, 다발성 경화증, 골관절염, 자궁내막증, 진피 흉터, 조직 흉터, 혈관 재협착증, 섬유성 장애, 과다호산구증가증, CNS 염증, 췌장염, 신염, 아토피 피부염, 간염, 면역결핍 질환, 중증 복합성 면역결핍, 장기 이식 거부, 이식편 대 숙주 질환, 신장 질환, 전립선 질환, 당뇨병성 신병증, 신장경화



증, 사구체신염, 사이질 신염, 낭창성 신염, 전립선 과다형성, 만성 신부전, 세뇨관 괴사, 당뇨병-관련된 신장 합병증, 관련된 신장 비대, 1형 당뇨병, 2형 당뇨병, 대사 증후군, 비만, 간 지방증, 인슐린 내성, 고혈당증, 지방분해 비만, 감염, 헬리코박터 파일로리 감염, 인플루엔자 바이러스 감염, 열병, 폐혈증, 폐 질환, 만성적 폐쇄성 폐 질환, 급성 호흡 곤란 증후군, 천식, 알러지, 기관지염, 폐공기증, 폐 섬유증, 유전적 발달성 질환, 누난 증후군, 크루존 증후군, 침두-함지증 1형, 파이프 증후군, 잭슨-바이스 증후군, 코스텔로 증후군, 얼굴피 부골격 증후군, 레오파드 증후군, 심장-얼굴피부 증후군, 실험관을 야기하는 신경능 증후군 비정상, 골격, 장, 피부, 모발 또는 내분비 질환, 골 구조 또는 무기화의 장애, 골다공증, 골절의 증가된 위험, 고칼슘혈증, 골 전 이, 그레이브스병, 히르쉬스프룽 질환, 림프부종, 선택적 T-세포 결함, X-연결된 무감마글로불린혈증, 당뇨 망 막병증, 탈모증, 발기 부전, 및 결절성 경화증.

[0104] 일부 구현예에서, BRAF V600 돌연변이는 1종 이상의 BRAF V600 돌연변이일 수 있다. 일부 구현예에서, BRAF V600 돌연변이는 V600E, V600K, V600D, V600A, V600G, V600M, 및 V600R 로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상의 돌연변이이다. 일부 구현예에서, BRAF V600 돌연변이는 V600E 및 V600K 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, BRAF V600 돌연변이는 V600E 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, BRAF V600 돌연변이는 V600K 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, BRAF V600 돌연변이는 V600D 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, BRAF V600 돌연변이는 V600A 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, BRAF V600 돌연변이는 V600G 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, BRAF V600 돌연변이는 V600M 돌연변이이다. 일부 구현예에서, BRAF V600 돌연변이는 V600R 돌연변이를 포함한다.

#### [0105] IV. 대안적인 화합물 형태 또는 유도체

[0106] 본 명세서에서 사용하기 위해 고려된 식 I 또는 식 II의 화합물은 수많은 상이한 형태 또는 유도체로 존재할 수 있고, 이들 모두는 본 개시내용의 범위 내에 있다. 대안적인 형태 또는 유도체는, 예를 들면, (a) 호변이성질체, 이성질체 (입체이성질체 및 레지오이성질체 포함), 및 라세미 혼합물 (b) 약제학적으로 허용가능한 염 및 (c) 상이한 결정 형태를 포함하는 고형 형태, 그것의 수화물 및 용매화물을 포함하는 다형성 또는 비정질 고형물, 및 다른 형태를 포함한다.

#### [0107] A. 호변이성질체, 입체이성질체, 및 레지오이성질체

[0108] 일부 화합물이 호변이성질체현상을 나타낼 수 있는 것으로 이해된다. 그와 같은 경우에, 본 명세서에서 제공된 식들은 가능한 호변이성질체 형태 중 단 하나를 명확히 묘사한다. 따라서 본 명세서에서 제공된 식는 묘사된 화합물의 임의의 호변이성질체 형태를 나타내는 것으로 의도되고 식의 도면에 의해 묘사된 특정 호변이성질체 형태로 단지 제한되지 않는 것으로 이해된다.

[0109] 마찬가지로, 본 개시내용에 따라 사용하기 위해 고려된 화합물은 입체이성질체로서 존재할 수 있고, 즉 상기 이성질체는 공유결합된 원자의 동일한 원자 연결을 갖지만 원자의 공간적 배향이 상이하다. 예를 들면, 화합물은 1개 이상의 키랄 중심을 함유하는 광학 입체이성질체일 수 있고, 따라서, 2종 이상의 입체이성질체 형태 (예를 들면 거울상이성질체 또는 부분입체이성질체)로 존재할 수 있다. 따라서, 그와 같은 화합물은 단일 입체이성질체 (즉, 본질적으로 다른 입체이성질체 없음), 라세미체, 및/또는 거울상이성질체 및/또는 부분입체이성질체의 혼합물로서 존재할 수 있다. 또 다른 예로서, 입체이성질체는 기하 이성질체, 예컨대 이중 결합의 인접한 탄소에 대한 치환체의 시스- 또는 트랜스- 배향을 포함한다. 모든 그와 같은 단일 입체이성질체, 라세미체 및 이들의 혼합물은 본 개시내용의 범위 내에 있는 것으로 의도된다. 반대로 명시되지 않는 한, 모든 그와 같은 입체이성질체 형태는 본 명세서에서 제공된 식 내에 포함된다.

[0110] 일부 구현예에서, 본 개시내용에 따라 사용하기 위해 고려된 키랄 화합물은 단일 이성질체의 적어도 80% (60% 거울상이성질체 과잉 ("e.e.") 또는 부분입체이성질체 과잉 ("d.e.")), 또는 적어도 85% (70% e.e. 또는 d.e.), 90% (80% e.e. 또는 d.e.), 95% (90% e.e. 또는 d.e.), 97.5% (95% e.e. 또는 d.e.), 또는 99% (98% e.e. 또는 d.e.)를 함유하는 형태이다. 당해 분야의 숙련가에 의해 일반적으로 이해되는 바와 같이, 하나의 키랄 중심을 갖는 광학적으로 순수한 화합물은 2개의 가능한 거울상이성질체 중 하나로 본질적으로 구성된 (즉, 거울상이성질체로 순수한) 것이고, 1 초과 개의 키랄 중심을 갖는 광학적으로 순수한 화합물은 부분입체이성질체적으로 순수하고 거울상이성질체로 순수한 것이다. 일부 구현예에서, 본 화합물은 광학적으로 순수한 형태로 존재하고, 그와 같은 광학적으로 순수한 형태는 당해 분야에서 공지된 방법에 의해 (예를 들면 재결정화 기술, 키랄 합성 기술 (광학적으로 순수한 개시 물질로부터의 합성 포함))에 의해, 및 키랄 칼럼을 사용하는 크로마토그래피 분리에 의해 제조되고/거나 분리된다.

[0111] **B. 약제학적으로 허용가능한 염**

[0112] 반대로 명시되지 않는 한, 본 명세서의 화합물의 사양은 그와 같은 화합물의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함한다. 따라서, 본 명세서에서 기재된 화합물은 약제학적으로 허용가능한 염의 형태일 수 있거나, 또는 약제학적으로 허용가능한 염으로 제형화될 수 있다. 고려된 약제학적으로 허용가능한 염 형태는, 비제한적으로, 모노, 비스, 트리스, 테트라키스, 등을 포함한다. 약제학적으로 허용가능한 염은 투여된 양 및 농도에서 무독성이다. 그와 같은 염의 제조는 그것의 생리적 효과의 발휘를 방해하지 않으면서 화합물의 물리적 특성을 변경시켜서 약리적 사용을 용이하게 할 수 있다. 물리적 특성의 유용한 변경은 경점막 투여를 용이하게 하기 위해 용융점을 낮추고 더 높은 농도의 약물의 투여를 용이하게 하기 위해 용해도를 증가시키는 것을 포함한다. 개시내용의 화합물은 충분히 산성, 충분히 염기성, 또는 둘 모두 작용기를 보유할 수 있고, 따라서 임의의 수의 무기 또는 유기 염기, 및 무기 및 유기 산과 반응하여 약제학적으로 허용가능한 염을 형성할 수 있다.

[0113] 약제학적으로 허용가능한 염은 하기를 함유하는 예와 같은 산 부가 염을 포함한다: 브로마이드, 아이오다이드, 하이드로클로라이드, 아세테이트, 페닐아세테이트, 아크릴레이트, 아스코르베이트, 아스파르테이트, 벤조에이트, 2-페녹시벤조에이트, 2-아세톡시벤조에이트, 디니트로벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 메틸벤조에이트, 바이카보네이트, 부틴-1,4 디오에이트, 헥신-1,6-디오에이트, 카프로에이트, 카프릴레이트, 클로로벤조에이트, 신나메이트, 시트레이트, 데카노에이트, 포르메이트, 푸마레이트, 글라이콜레이트, 글루코네이트, 글루카레이트, 글루쿠로네이트, 글루코스-6-포스페이트, 글루타메이트, 헵타노에이트, 헥사노에이트, 이세티오네이트, 이소부티레이트, 감마-하이드록시부티레이트, 페닐부티레이트, 락테이트, 말레이트, 말레에이트, 하이드록시말레에이트, 메틸말레에이트, 말로네이트, 만델레이트, 니코티네이트, 니트레이트, 이소니코티네이트, 옥타노에이트, 올레이트, 옥살레이트, 파모에이트, 포스페이트, 모노하이드로전포스페이트, 디하이드로전포스페이트, 오르토포스페이트, 메타포스페이트, 파이로포스페이트, 2-포스포글리세레이트, 3-포스포글리세레이트, 프탈레이트, 프로피오네이트, 페닐프로피오네이트, 프로피올레이트, 피루베이트, 퀴네이트, 살리실레이트, 4-아미노살리실레이트, 세바케이트, 스테아레이트, 우베레이트, 석시네이트, 셀페이트, 파이로셀페이트, 바이셀페이트, 설파이트, 바이설파이트, 설파메이트, 설포네이트, 벤젠설포네이트 (즉 베실레이트), 에탄설포네이트 (즉 에실레이트), 에탄-1,2-디설포네이트, 2-하이드록시에탄설포네이트 (즉 이세티오네이트), 메탄설포네이트 (즉 메실레이트), 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트 (즉 나프실레이트), 프로판설포네이트, *p*-톨루엔설포네이트 (즉 토실레이트), 자일렌설포네이트, 사이클로헥실설파메이트, 타르트레이트, 및 트리플루오로아세테이트. 이들 약제학적으로 허용가능한 산 부가 염은 적절한 대응하는 산을 사용하여 제조될 수 있다.

[0114] 산성 작용기, 예컨대 카복실산 또는 페놀이 존재할 때, 약제학적으로 허용가능한 염은 또한 염기성 부가 염 예컨대 벤자틴, 클로로프로카인, 콜린, 에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민, *t*-부틸아민, 디사이클로헥실아민, 에틸렌디아민, N,N'-디벤질에틸렌디아민, 메글루민, 하이드록시에틸피롤리딘, 피페리딘, 모폴린, 피페라진, 프로카인, 알루미늄, 칼슘, 구리, 철, 리튬, 마그네슘, 망간, 칼륨, 나트륨, 아연, 암모늄, 및 모노-, 디-, 또는 트리-알킬아민 (예를 들면 디에틸아민)을 함유하는 것들, 또는 아미노산 예컨대 L-히스티딘, L-글리신, L-라이신, 및 L-아르기닌로부터 유래된 염을 포함한다. 예를 들면, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 19<sup>th</sup> ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, Vol. 2, p. 1457, 1995 참고. 이들 약제학적으로 허용가능한 염기 부가 염은 적절한 대응하는 염기를 사용하여 제조될 수 있다.

[0115] 약제학적으로 허용가능한 염은 표준 기술에 의해 제조될 수 있다. 예를 들면, 유리 염기 형태의 화합물은 적합한 용매, 예컨대 적절한 산을 함유하는수성 또는 수성-알코올 용액에 용해될 수 있고 그 다음 용액을 증발시켜서 단리된다. 또 다른 예에서, 염은 유리 염기 및 산을 유기 용매에서 반응시킴으로써 제조될 수 있다. 특정한 화합물이 산이면, 요망된 약제학적으로 허용가능한 염은 임의의 적합한 방법, 예를 들면, 적절한 무기 또는 유기 염기에 의한 유리 산의 처리에 의해 제조될 수 있다.

[0116] **C. 다른 화합물 형태**

[0117] 고형인 제제의 경우에, 당해 분야의 숙련가는, 본 개시내용에 따른 사용에 고려된 화합물 및 염이 상이한 결정 또는 다형 형태로 존재할 수 있거나, 공-결정으로서 제형화될 수 있거나 또는 비정질 형태로 존재할 수 있거나, 또는 이들의 임의의 조합 (예를 들면 부분적으로 결정성, 부분적으로 비정질, 또는 다형체의 혼합물)일 수 있고, 이들 모두는 본 개시내용 및 지정된 식의 범위 내에 있는 것으로 의도됨으로 이해한다. 반면에 염은 산/염기 부가에 의해 형성되고, 즉 관심 화합물의 유리 염기 또는 유리 산이 대응하는 첨가 염기 또는 부가가 산 각각과의 산/염기 반응을 형성하여, 이온성 전하 상호작용을 생기게 하지만, 공-결정은 중성 화합물 사이에 신기한 화학 종이고, 이로써 동일한 결정 구조의 화합물 및 추가 분자 종이 생긴다.

[0118] 일부 사례에서, 본 개시내용에 따라 사용하기 위해 고려되는 염은 하기를 포함하는 산 또는 염기와 복합체화된다: 염기 부가 염 예컨대 암모늄, 디에틸아민, 에탄올아민, 에틸렌디아민, 디에탄올아민, t-부틸아민, 피페라진, 메글루민; 산 부가 염, 예컨대 아세테이트, 아세틸살리실레이트, 베실레이트, 캄실레이트, 시트레이트, 포르메이트, 푸마레이트, 글루타레이트, 하이드로클로레이트, 말레이트, 메실레이트, 니트레이트, 옥살레이트, 포스페이트, 석시네이트, 셀레이트, 타르트레이트, 티오시아네이트 및 토실레이트; 및 아미노산 예컨대 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 라이신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신 또는 발린. 본 개시내용의 화합물을 산 또는 염기와 배합시킬 때, 비정질 복합체는 바람직하게는 결정성 물질 예컨대 전형적인 염 또는 공-결정보다 형성된다. 일부 사례에서, 복합체의 비정질 형태는 추가 처리, 예컨대 산 또는 염기와 혼합된 모 화합물의 분무-건조, 기계화학 방법 예컨대 롤러 압축, 또는 마이크로파 조사에 의해 용이하게 된다. 그와 같은 방법은 또한, 복합체의 비정질 본성을 추가로 안정시키는 하이드록시프로필 메틸 셀룰로오스 아세테이트 석시네이트 (HPMCAS) 및 메타크릴산 코폴리머 (예를 들면 Eudragit® L100-55)을 비제한적으로 포함하는 이온성 및/또는 비-이온성 폴리머 시스템의 첨가를 포함할 수 있다. 그와 같은 비정질 복합체는 몇 개의 이점을 제공한다. 예를 들면, 유리 염기에 대해 용융 온도를 낮추면, 화합물의 생물약제학적 특성을 더욱 개선하기 위해 추가 처리, 예컨대 핫 용융 압출을 용이하게 할 수 있다. 또한, 비정질 복합체는 쉽게 부서지고, 고형물의 캡슐 또는 정제 형태로의 장입을 위해 개선된 압축을 제공한다.

[0119] 추가로, 식들은 수화된 또는 용매화된 뿐만 아니라 비수화된 또는 불용매화된 형태의 확인된 구조를 포함하는 것으로 의도된다. 예를 들면, 표시된 화합물은 수화된 및 비-수화된 형태 둘 모두를 포함한다. 용매화물의 다른 예는 적합한 용매, 예컨대 이소프로판올, 에탄올, 메탄올, DMSO, 아세트산에틸, 아세트산, 또는 에탄올아민과 조합된 구조를 포함한다.

## [0120] V. 병용 요법

[0121] 일부 구현예에서, 본 개시내용은 치료를 필요로 하는 동물 대상체에서 본 명세서에서 기재된 질환 또는 병태 중 임의의 것을 치료하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 질환 또는 병태를 치료하기 위해 상기 대상체에게 유효량의 식 I 또는 II의 화합물을 1종 이상의 다른 요법과 함께 투여하는 것을 수반한다.

## [0122] A. 또 다른 제제와 병용한 식 I 또는 II

[0123] 일부 구현예에서, 식 I 또는 식 II의 화합물, 또는 식 I 또는 식 II의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물은, 또 다른 치료제와 함께 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 또 다른 치료제는 하기일 수 있다: 아도젤레신, 알트레타민, 벤다무스틴, 바이젤레신, 부셀판, 카보플라틴, 카보쿠온, 카모푸르, 카무스틴, 클로르암부실, 시스플라틴, 사이클로포스파마이드, 다카바진, 에스트라무스틴, 에토글루시드, 포테무스틴, 헬팔람, 이포스파마이드, 임프로셀판, 이로폴벤, 로무스틴, 만노셀판, 메클로르에타민, 멜팔란, 미토브로니톨, 네다플라틴, 니무스틴, 옥살리플라틴, 피포셀판, 프레드니무스틴, 프로카바진, 라니무스틴, 사트라플라틴, 세무스틴, 스트렙토조신, 테모졸로마이드, 티오테과, 트레오셀판, 트리아지쿠온, 트리에틸렌멜라민, 트라이플라틴 테트라니트레이트, 트로포스파마이드, 및 우라무스틴을 비제한적으로 포함하는 알킬화제; 비제한적으로, 아클라루비신, 암루비신, 블레오마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 독소루비신, 엘사미트루신, 에피루비신, 이다루비신, 메노가렐, 미토마이신, 네오카르지노스타틴, 펜토스타틴, 피라루비신, 플리카마이신, 발루비신, 및 조루비신을 비제한적으로 포함하는 항생제; 아미노프테린, 아자시티딘, 아자티오프린, 카페시타빈, 클라드리빈, 클로파라빈, 사이타라빈, 데시타빈, 플록수리딘, 플루다라빈, 5-플루오로우라실, 겐시타빈, 하이드록시우레아, 머캅토피린, 메토틱세이트, 벨라라빈, 페메트렉세드, 아자티오프린, 알티트렉세드, 테가푸르-우라실, 티오구아닌, 트리메토프림, 트리메트렉세이트, 및 비다라빈을 비제한적으로 포함하는 항대사물질; 알렘투주맙, 켈브롤리주맙, 니볼루맙, 베바시주맙, 세톡시맙, 갈릭시맙, 젠투주맙, 파니투맙, 페르투주맙, 리톡시맙, 토시투모맙, 트라스투주맙, 90Y-이브리투모맙 티옥세탄, 이필리루맙, 및 트레멜리루맙을 비제한적으로 포함하는 면역요법; 아나스트로졸, 안드로겐, 부세렐린, 디에틸stil베스트롤, 엑세메스탄, 플루타미드, 플베스트란트, 고세렐린, 이독시펜, 레트로졸, 류프롤라이드, 마게스트롤, 탈록시펜, 타목시펜, 및 토레미펜을 비제한적으로 포함하는 호르몬 또는 호르몬 길항제; DJ-927, 도세탁셀, TPI 287, 라로탁셀, 오르타탁셀, 파클리탁셀, DHA-파클리탁셀, 및 테세탁셀을 비제한적으로 포함하는 탁산; 알리트레티노인, 백사로텐, 펜레티나이드, 이소트레티노인, 및 트레티노인을 비제한적으로 포함하는 레티노이드; 데메콜신, 호모하링토닌, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 빈플루닌, 및 비노렐빈을 비제한적으로 포함하는 알칼로이드; AE-941 (GW786034, 네오바스타트), ABT-510, 2- 메톡시에스트라디올, 레날리도마이드, 및 탈리도마이드를 비제한적으로 포함하는 항혈관형성제; 암사크린, 블레오테칸, 에도테카린, 에토포시드, 에토포시드 포스페이트, 엑사테칸, 이리노테칸 (또한 활성 대사물 SN-38 (7-에틸- 10-하이드록시-캅프

토테신)), 루칸톤, 미톡산트론, 픽산트론, 루비데칸, 테니포시드, 토포테칸, 및 9-아미노캄프토테신을 비제한적으로 포함하는 토포이소머라제 억제제; 악시티닙 (AG 013736), 다사티닙 (BMS 354825), 에를로티닙, 게피티닙, 플라보피리돌, 이마티닙 메실레이트, 라팔리닙, 모테사닙 디포스페이트 (AMG 706), 닐로티닙 (AMN 107), 셀리시클립, 소라페닙, 수니티닙 말레이트, AEE-788, BMS-599626, UCN-01 (7-하이드록시스타우로스포린), 및 바탈라닌을 비제한적으로 포함하는 키나제 억제제; 보르테조미, 젤다나마이신, 및 라파마이신인 비제한적으로 포함하는 표적화된 신호 전달도입 억제제; 이미퀴모드, 인터페론- $\alpha$ , 및 인터류킨-2를 비제한적으로 포함하는 생물학적 반응 조절제; 및 3-AP (3-아미노-2- 카복시알데하이드 티오세미카바존), 알트라센탄, 아미노글루테티미드, 아나그렐라이드, 아스파라기나제, 브리오스타틴-1, 실렌지타이드, 엘레스클로니올, 에리볼린 메실레이트 (E7389), 익사베필론, 로니다민, 마소프로콜, 미토구아나존, 오블리메르센, 설린다, 테스토락톤, 티아조퓨린, mTOR 억제제 (예를 들면 템시롤리무스, 에버롤리무스, 데포로리무스), PI3K 억제제 (예를 들면 BKM120, BEZ235, GDC-0941, XL1 7, XL765), Cdk4 억제제 (예를 들면 PD-332991), Akt 억제제, Hsp90 억제제 (예를 들면 타네스피마이신) 및 파메실전달효소 억제제 (예를 들면 티피파리닙)를 비제한적으로 포함하는 다른 화학 치료제; EK 억제제 (예를 들면, AS703026, AZD6244 (셀루메티닙), AZD8330, BIX02188, CI 1040 (PD184352), D-87503, GS 1 120212 (JTP-74057), PD0325901, PD3 18088, PD98059, PDEA1 19 (BAY 869766), TAK-733). 또 다른 구현예에서, 암을 치료하는 방법은 상기 대상체에게 유효량의 본 명세서에서 기재된 임의의 1종 이상의 화합물 (들)을 포함하는 조성물을, 카페시타빈, 5-플루오로우라실, 카보플라틴, 다카바진, 게피티닙, 옥살리플라틴, 파클리탁셀, SN-38, 테모졸로마이드, 빈블라스틴, 베바시주맙, 세톡시맙, 인터페론- $\alpha$ , 인터류킨-2, 또는 에를로티닙로부터 선택된 화학치료제와 함께 투여하는 것을 수반한다.

[0124] 일부 구현예에서, 또 다른 치료제는 하기 제제 중 하나 이상일 수 있다: 아도젤레신, 알트레타민, 벤다무스틴, 바이젤레신, 부셀판, 카보플라틴, 카보쿠온, 카모푸르, 카무스틴, 클로르암부실, 시스플라틴, 사이클로포스파마이드, 다카바진, 에스트라무스틴, 에토글루시드, 포테무스틴, 헵셀판, 이포스파마이드, 임프로셀판, 이로폴벤, 로무스틴, 만노셀판, 메클로레타민, 멜팔란, 미토브로니톨, 네다플라틴, 니무스틴, 옥살리플라틴, 피포셀판, 프레드니무스틴, 프로카바진, 라니무스틴, 사트라플라틴, 세무스틴, 스트렙토조신, 테모졸로마이드, 티오테파, 트레오셀판, 트리아지쿠온, 트리에틸렌멜라민, 트라이플라틴 테트라니트레이트, 트로포스파마이드, 우라무스틴, 아클라루비신, 암루비신, 블레오마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 독소루비신, 엘사미트루신, 에피루비신, 이다루비신, 메노가릴, 미토마이신, 네오키르지노스타틴, 펜토스타틴, 피라루비신, 플리카마이신, 발루비신, 조루비신, 아미노프테린, 아자시티딘, 아자티오프린, 카페시타빈, 클라드리빈, 클로파라빈, 사이타라빈, 데시타빈, 플록수리딘, 플루다라빈, 5-플루오로우라실, 챔시타빈, 하이드록시우레아, 머캅토피린, 메토크세이트, 벨라라빈, 페메트렉세드, 아자티오프린, 알티트렉세드, 데가푸르-우라실, 티오구아닌, 트리메토프림, 트리메트렉세이트, 비다라빈, 알렘투주맙, 웹브롤리주맙, 니볼루맙, 베바시주맙, 세톡시맙, 갈락시맙, 챔투주맙, 파니투무맙, 페르투주맙, 리톡시맙, 토시투모맙, 트라스투주맙, 90Y-이브리투모맙 티옥세탄, 이필리루맙, 트레멜리루맙, 아나스트로졸, 안드로겐, 부세렐린, 디에틸stil베스트롤, 엑세메스탄, 플루타미드, 폴베스트란트, 고세렐린, 이독시펜, 레트로졸, 류프롤라이드, 마게스트롤, 탈록시펜, 타목시펜, 토레미펜, DJ-927, 도세탁셀, TPI 287, 라로탁셀, 오르타탁셀, 파클리탁셀, DHA-파클리탁셀, 테세탁셀, 알리트레티노인, 백사로텐, 펜레티나이드, 이소트레티노인, 트레티노인, 데메콜신, 호모하링토닌, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 빈플루닌, 비노렐빈, 하기를 비제한적으로 포함하는 항혈관형성제: 네오바스타트, ABT-510, 2- 메톡시에스트라디올, 레날리도마이드, 탈리도마이드, 암사크린, 에도테카린, 에토포시드, 에토포시드 포스페이트, 엑사테칸, 이리노테칸, 루칸톤, 미톡산트론, 픽산트론, 루비데칸, 테니포시드, 토포테칸, 9-아미노캄프토테신, 악시티닙, 에를로티닙, 게피티닙, 플라보피리돌, 이마티닙 메실레이트, 카보잔티닙, 라팔리닙, 모테사닙 디포스페이트, 닐로티닙, 셀리시클립, 소라페닙, 수니티닙 말레이트, AEE-788, BMS-599626, 7-하이드록시스타우로스포린, 바탈라닌, 보르테조미, 젤다나마이신, 라파마이신, 이미퀴모드, 인터페론- $\alpha$ , 인터류킨-2, 3-아미노-2- 카복시알데하이드 티오세미카바존, 알트라센탄, 아미노글루테티미드, 아나그렐라이드, 아스파라기나제, 브리오스타틴-1, 실렌지타이드, 엘레스클로니올, 에리볼린 메실레이트, 익사베필론, 로니다민, 마소프로콜, 미토구아나존, 오블리메르센, 설린다, 테스토락톤, 티아조퓨린, 템시롤리무스, 에버롤리무스, 데포로리무스, PI3K 억제제, Cdk4 억제제, Akt 억제제, Hsp90 억제제, EGFR 억제제, IDO 억제제, 파메실전달효소 억제제, MEK 억제제, BET 억제제, AS703026, 셀루메티닙, AZD8330, BIX02188, PD184352, D-87503, GS 1 120212, PD0325901, PD3 18088, PD98059, PDEA1 19, 또는 TAK-733.

[0125] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 상기 대상체에게 유효량의 식 I 또는 II의 화합물을 1종 이상의 적합한 화학 치료제와 함께 투여하여 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일 구현예에서, 1종 이상의 적합한 화학치료제는 하기로부터 선택된다: 아도젤레신, 알트레타민, 벤다무스틴, 바이젤레신, 부셀판,



카보플라틴, 카보쿠온, 카모푸르, 카무스틴, 클로르암부실, 시스플라틴, 사이클로포스포마이드, 다카바진, 에스트라무스틴, 에토글루시드, 포테무스틴, 헬설판, 이포스포마이드, 임프로셀판, 이로폴벤, 로무스틴, 만노셀판, 메클로르에타민, 멜팔란, 미토브로니톨, 네다플라틴, 니무스틴, 옥살리플라틴, 피포셀판, 프레드니무스틴, 프로카바진, 라니무스틴, 사트라플라틴, 세무스틴, 스트렙토조신, 테모졸로마이드, 티오테파, 트레오셀판, 트리아지쿠온, 트리에틸멜라민, 트라이플라틴 테트라니트레이트, 트로포스포마이드, 및 우라무스틴을 비제한적으로 포함하는 알킬화제; 비제한적으로, 아클라루비신, 암루비신, 블레오마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 독소루비신, 엘사미트루신, 에피루비신, 이다루비신, 메노가릴, 미토마이신, 네오카르지노스타틴, 펜토스타틴, 피라루비신, 플리카마이신, 발루비신, 및 조루비신을 비제한적으로 포함하는 항생제; 아미노프테린, 아자시티딘, 아자티오프린, 카페시타빈, 클라드리빈, 클로파라빈, 사이타라빈, 데시타빈, 플록수리딘, 플루다라빈, 5-플루오로우라실, 젬시타빈, 하이드록시우레아, 머캅토피린, 메토타렉세이트, 벨라라빈, 페메트렉세드, 말티트렉세드, 테가푸르-우라실, 티오구아닌, 트리메토프림, 트리메트렉세이트, 및 비다라빈을 비제한적으로 포함하는 항대사물질; 인돌아민 2,3-디옥시게나제 (IDO) 억제제를 포함하는 면역요법, 면역 관문 억제제 예컨대 PD-1 억제제 (예컨대 캄브롤리주맵, 니블루맵, 피딜리주맵) 또는 PD-L1 억제제 (예컨대 BMS-936559, MEDI4736, MPDL3280A, 또는 MSB0010718C), 알렘투주맵, 베바시주맵, 세특시맵, 갈릭시맵, 젬투주맵, 파니투무맵, 페르투주맵, 리툽시맵, 브렌툽시맵, 토시투모맵, 트라스투주맵, 90 Y 이브리투모맵 티옥세탄, 이필리무맵, 트레멜리무맵 및 항-CTLA-4 항체를 비제한적으로 포함하는 항체 요법; 아나스트로졸, 안드로겐, 부세렐린, 디에틸stil베스트롤, 엑세메스탄, 플루타미드, 폴베스트란트, 고세렐린, 이독시펜, 레트로졸, 류프롤라이드, 마게스트롤, 탈록시펜, 타목시펜, 및 토레미펜을 비제한적으로 포함하는 호르몬 또는 호르몬 길항제; DJ-927, 도세탁셀, TPI 287, 라로탁셀, 오르타탁셀, 파클리탁셀, DHA-파클리탁셀, 및 테세탁셀을 비제한적으로 포함하는 타산; 알리트레티노인, 백사로텐, 펜레티나이드, 이소트레티노인, 및 트레티노인을 비제한적으로 포함하는 레티노이드; 데메콜신, 호모하링토닌, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 빈플루닌, 및 비노렐빈을 비제한적으로 포함하는 알칼로이드; AE-941 (GW786034, 네오바스타트), ABT-510, 2-메톡시에스트라디올, 레날리도마이드, 및 탈리도마이드를 비제한적으로 포함하는 항혈관형성제; 암사크린, 벨로테칸, 에도테카린, 에토포시드, 에토포시드 포스페이트, 엑사테칸, 이리노테칸 (또한 활성 대사물 SN-38 (7-에틸-10-하이드록시-캄프토테신)), 루칸톤, 미톡산트론, 픽산트론, 루비테칸, 테니포시드, 토포테칸, 및 9-아미노캄프토테신을 비제한적으로 포함하는 토포이소머라제 억제제; 악시티닙 (AG 013736), 다사티닙 (BMS 354825), 에를로티닙, 게피티닙, 플라보피리돌, 이마티닙 메실레이트, 카보잔티닙, 라파티닙, 모테사닙 디포스페이트 (AMG 706), 닐로티닙 (AMN107), 셀리시클립, 소라페닙, 수니티닙 말레이트, AEE-788, BMS-599626, UCN-01 (7-하이드록시스타우로스포르린), 베무라페닙, 다브라페닙, 셀루메티닙, 및 바탈라닙을 비제한적으로 포함하는 키나제 억제제; 보르테조미, 젤다나마이신, 및 라파마이신을 비제한적으로 포함하는 표적화된 신호 전달도입 억제제; 이미퀴모드, 인터페론- $\gamma$ , 및 인터류킨-2을 비제한적으로 포함하는 생물학적 반응 조절제; 및 3-AP (3-아미노-2-카복시알데하이드 티오세미카바존), 알트라센탄, 아미노글루테티미드, 아나그렐라이드, 아스파라기나제, 브리오스타틴-1, 실렌지타이드, 엘레스클로몰, 에리볼린 메실레이트 (E7389), 익사베필론, 로니다민, 마소프로콜, 미토구아나존, 오블리메르센, 설린다, 테스토라톤, 티아조푸린, mTOR 억제제 (예를 들면 INK28, AZD8055, 시롤리무스, 템시롤리무스, 에버롤리무스, 테포로리무스), PI3K 억제제 (예를 들면 BEZ235, GDC-0941, XL147, XL765), Cdk4 억제제 (예를 들면 PD-332991), Akt 억제제, Hsp90 억제제 (예를 들면 젤다나마이신, 라디시콜, 타네스피마이신), 파르네실전달효소 억제제 (예를 들면 티피파르닙), 및 방향화효소 억제제 (아나스트로졸 레트로졸 엑세메스탄)를 비제한적으로 포함하는 다른 화학치료제. 본 명세서에서 기재된 방법 및 용도의 또 다른 구현예에서, 식 I 또는 II의 화합물은 하기로부터 선택된 화학치료제와 함께 투여된다: 카페시타빈, 5-플루오로우라실, 카보플라틴, 다카바진, 게피티닙, 옥살리플라틴, 파클리탁셀, SN-38, 테모졸로마이드, 빈블라스틴, 베바시주맵, 세특시맵, 인터페론- $\alpha$ , 인터류킨-2, 또는 에를로티닙. 또 다른 구현예에서, 화학치료제는 Mek 억제제이다. 예시적인 Mek 억제제는, 비제한적으로 하기를 포함한다: 트라메티닙, 코비메티닙, AS703026, AZD6244 (셀루메티닙), AZD8330, BIX 02188, CI-1040 (PD184352), GSK1120212 (JTP-74057), PD0325901, PD318088, PD98059, RDEA119(BAY 869766), TAK-733 및 U0126-EtOH. 또 다른 구현예에서, 화학치료제는 티로신 키나제 억제제이다. 예시적인 티로신 키나제 억제제는, 비제한적으로 하기를 포함한다: AEE788, AG-1478 (타이르포스틴 AG-1478), AG-490, 아파티닙 (YN968D1), AV-412, AV-951(티보자빈), 악시티닙, AZD8931, BIBF1120 (바가테프), BIBW2992 (아파티닙), BMS794833, BMS-599626, 브리바닙 (BMS-540215), 브리바닙 알라니네이트 (BMS-582664), 세디라닙 (AZD2171), 크리스판산 (트리소파놀), 크레놀라닙 (CP-868569), CUDC-101, CYC116, 도비티닙 중질산 (TKI258 중질산), E7080, 에를로티닙 하이드로클로라이드 (타르세바, CP-358774, OSI-774, NSC-718781), 포레티닙 (GSK1363089, XL880), 게피티닙 (ZD-1839 또는 이레싸), 이마티닙 (글리벡), 이마티닙 메실레이트, Ki8751, KRN 633, 라파티닙 (타이커브), 리니파닙 (ABT-869), 마시티닙 (Masivet, AB1010), MGCD-265, 모테사닙 (AMG-706), MP-470, 무브리티닙(TAK 165), 네라티닙 (HKI-272), NVP-

BHG712, OSI-420 (테스메틸 에를로티닙, CP-473420), OSI-930, 파조파닙 HC1, PD-153035 HC1, PD173074, 펠리티닙 (EKB-569), PF299804, 포나티닙 (AP24534), PP121, RAF265 (CHIR-265), Raf265 유도체, 레고라페닙 (BAY 73-4506), 소라페닙 토실레이트 (넥사바르), 수니티닙 말레이트 (수네티), 텔라티닙 (BAY 57-9352), TSU-68 (SU6668), 반데타닙 (작티마), 바탈라닙 디하이드로클로라이드 (PTK787), WZ3146, WZ4002, WZ8040, 카보잔티닙, XL647, EGFR siRNA, FLT4 siRNA, KDR siRNA, 항당뇨제 예컨대 메트포르민, PPAR 효능제 (로시글리타존, 피오글리타존, 베자피브레이트, 시프로피브레이트, 클로파이브레이트, 젬피브로질, 페노파이브레이트, 인데글리타자르), 및 DPP4 억제제 (시타글립틴, 빌다글립틴, 삭사글립틴, 듀토글립틴, 제미글립틴, 알로글립틴). 또 다른 구현예에서, 제제는 BET 억제제 (예컨대 BRD2, BRD3, BRD4 및/또는 BRDT)이다. 또 다른 구현예에서, 제제는 EGFR 억제제이다. 예시적인 EGFR 억제제는, 비제한적으로 하기를 포함한다: AEE-788, AP-26113, BIBW-2992 (Tovok), CI-1033, GW-572016, 이레싸, LY2874455, RO-5323441, 타르세바 (에를로티닙, OSI-774), CUDC-101, 세톡시맙 및 WZ4002. 또 다른 구현예에서, 본 개시내용은 상기 대상체에게 유효량의 식 I 또는 II의 화합물을 토포이소머라제 억제제 (예컨대 이리노테칸) 및 EGFR 억제제 (예컨대 세톡시맙)와 함께 투여하여 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다.

[0126]

일부 구현예에서, 또 다른 치료제는 하기 제제 중 하나 이상일 수 있다: 아도젤레신, 알트레타민, 벤다무스틴, 바이젤레신, 부설판, 카보플라틴, 카보쿠온, 카모푸르, 카무스틴, 클로르암부실, 시스플라틴, 사이클로포스파마이드, 다카바진, 에스트라무스틴, 에토글루시드, 포테무스틴, 헵셀판, 이포스파마이드, 임프로셀판, 이로폴벤, 로무스틴, 만노셀판, 메클로르에타민, 멜팔란, 미토브로니톨, 네다플라틴, 니무스틴, 옥살리플라틴, 피포셀판, 프레드니무스틴, 프로카바진, 라니무스틴, 사트라플라틴, 세무스틴, 스트렙토조신, 테모졸로마이드, 티오테파, 트레오셀판, 트리아지쿠온, 트리에틸렌멜라민, 트라이플라틴 테트라니트레이트, 트로포스파마이드, 우라무스틴, 아클라루비신, 암루비신, 블레오마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 독소루비신, 엘사미트루신, 에피루비신, 이다루비신, 메노가렐, 미토마이신, 네오키르지노스타틴, 펜토스타틴, 피라루비신, 플리카마이신, 발루비신, 조루비신, 아미노프테린, 아자시티딘, 아자티오프린, 카페시타빈, 클라드리빈, 클로파라빈, 사이타라빈, 데시타빈, 플록수리딘, 플루다라빈, 5-플루오로우라실, 젬시타빈, 하이드록시우레아, 머캅토프린, 메토크세이트, 벨라라빈, 페메트렉세드, 알티트렉세드, 테가푸르-우라실, 티오구아닌, 트리메토프림, 트리메트렉세이트, 비다라빈, (IDO) 억제제, PD-1 억제제, 또는 PD-L1 억제제, 알렘투주맙, 베바시주맙, 세톡시맙, 갈릭시맙, 켄투주맙, 파니투무맙, 페르투주맙, 리툽시맙, 브렌툽시맙, 토시투모맙, 트라스투주맙, 90 Y 이브리투모맙 티옥세탄, 이필리무맙, 트레멜리무맙, 항-CTLA-4 항체, 아나스트로졸, 안드로겐, 부세렐린, 디에틸stil베스트롤, 엑세메스탄, 플루타미드, 폴베스트란트, 고세렐린, 이독시펜, 레트로졸, 류프롤라이드, 마게스트롤, 탈록시펜, 타목시펜, 토레미펜, 탁산, 레티노이드, 알칼로이드, 항혈관형성제, 토포이소머라제 억제제, 악시티닙, 다사티닙, 에를로티닙, 게피티닙, 플라보피리돌, 이마티닙 메실레이트, 라파티닙, 모테사닙 디포스페이트, 닐로티닙, 셀리시클립, 소라페닙, 수니티닙 말레이트, AEE-788, BMS-599626, 7-하이드록시스타우로스 포린, 베무라페닙, 다브라페닙, 셀루메티닙, 바탈라닙, 보르테조미브, 젤다나마이신, 라파마이신, 이미퀴모드, 인터페론- $\gamma$ , 인터류킨-2, 3-아미노-2-카복시알데하이드 티오세미카바존, 알트라센탄, 아미노글루테티미드, 아나그렐라이드, 아스파라기나제, 브리오스타틴-1, 실렌지타이드, 엘레스클로폴, 에리블린 메실레이트, 익사베필론, 로니다민, 마소프로콜, 미토구아나존, 오블리메르센, 설린당, 테스토락톤, 티아조푸린, INK28, AZD8055, 시롤리무스, 템시롤리무스, 에버롤리무스, 데포르리무스, BEZ235, GDC-0941, XL147, XL765, PD-332991, Akt 억제제, 젤다나마이신, 라디시콜, 타네스피마이신, 티피파르닙, 아나스트로졸 레트로졸 엑세메스탄, 트라메티닙, 코비메티닙, AS703026, 셀루메티닙, AZD8330, BIX 02188, PD184352, GSK1120212, PD0325901, PD318088, PD98059, BAY 869766, TAK-733, U0126-EtOH., AEE788, 타이르포스틴, AG-490, 아파티닙, AV-412, 티보자닙, 악시티닙, AZD8931, 바가테프, 아파티닙, BMS794833, BMS-599626, 브리바닙, 브리바닙 알라니네이트, 세디라닙, 크리소판산, 크레놀라닙, CUDC-101, CYC116, 도비티닙 중젯산, E7080, 에를로티닙 하이드로클로라이드, 포레티닙, 게피티닙, 이마티닙, 이마티닙 메실레이트, Ki8751, KRN 633, 라파티닙, 리니파닙, 마시티닙, MGCD-265, 모테사닙, MP-470, 무브리티닙, 네라티닙, NVP-BHG712, 테스메틸 에를로티닙, OSI-930, 파조파닙 HC1, PD-153035 HC1, PD173074, 펠리티닙, PF299804, 포나티닙, PP121, RAF265, 레고라페닙, 소라페닙 토실레이트, 수니티닙 말레이트, 텔라티닙, TSU-68, 반데타닙, 바탈라닙 디하이드로클로라이드, WZ3146, WZ4002, WZ8040, 카보잔티닙, XL647, EGFR siRNA, FLT4 siRNA, KDR siRNA, 항당뇨제, PPAR 효능제, DPP4 억제제, BET 억제제 또는 EGFR 억제제.

[0127]

일부 구현예에서, 또 다른 치료제는 브로모도메인 억제제일 수 있다. 브로모도메인 (예를 들면, BET 단백질, 예컨대 BRD2, BRD3, BRD4, 및/또는 BRDT)의 억제제는, 그 중에서도 세포 증식성 장애, 암, 만성 자가면역, 염증성 병태를 포함하는 브로모도메인의 비정상 발현과 관련된 질환의 치료에 유용할 수 있다. BET 억제제의 비-제한적

인 예는 GSK1210151A 및 GSK525762를 포함한다.

[0128] 일부 구현예에서, 또 다른 치료제는 히스톤 탈아세틸화효소 억제제일 수 있다. 히스톤 탈아세틸화효소 억제제 (HDAC 억제제)는 세포 주기 정지, 분화 및/또는 세포자멸사를 유도하여 배양 및 생체내에서 종양 세포의 증식을 억제하는 세포증식억제제이다. HDAC 억제제는 히스톤 및/또는 비-히스톤 단백질 예컨대 전사 인자의 아세틸화/탈아세틸화를 조절하는 것을 통해 종양유전자 또는 종양 억제제의 발현 변화의 유도를 통해 그것의 항종양 효과를 발휘한다. 히스톤 아세틸화 및 탈아세틸화는 염색질 위상기하학의 조절 및 유전자 전사의 조절에서 중요한 역할을 한다. HDAC 억제제의 비-제한적인 예는 보리노스타트, 로미테신, 차이다마이드, 파노비노스타트, 벨리노스타트, 발프로산, 모세티노스타트, 아백시노스타트, 엔티노스타트, 레스미노스타트, 기비노스타트, 및 퀴시노스타트를 포함한다. HDAC 억제제는 기분 안정제 및 항-간질약으로서 정신의학 및 신경학에서 광범위하게 사용되었다. 이것의 하나의 예는 상표명 데파켄, 데파코트, 및 디발프로엑스 하의 약물로서 시판되는 발프로산. HDAC 억제제는 또한 신경퇴행성 질환 예컨대 알츠하이머병 및 헌팅턴병용 완화제로서 사용되고 있다.

## [0129] B. 또 다른 요법과 병용한 식 I 또는 II

[0130] 일부 구현예에서, 본 개시내용은 상기 대상체에게 유효량의 식 I 또는 II의 화합물, 또는 그것의 조성물을, 암을 치료하는데 효과적인 1종 이상의 다른 요법 또는 의료 절차와 함께 투여하여 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 다른 요법 또는 의료 절차는 적합한 항암 요법 (예를 들면 약물 요법, 백신 요법, 유전자 요법, 광역학적 요법) 또는 의료 절차 (예를 들면 수술, 방사선 치료, 이상고열 가열, 골수 또는 줄기세포 이식)을 포함한다. 일 구현예에서, 1종 이상의 적합한 항암 요법 또는 의료 절차는 하기로부터 선택된다: 화학치료제 (예를 들면 화학치료 약물)에 의한 치료, 방사선 치료 (예를 들면 x-선,  $\gamma$ -선, 또는 전자, 양성자, 중성자, 또는  $\alpha$  입자 빔), 이상고열 가열 (예를 들면 마이크로파, 초음파, 고주파 절제), 백신 요법 (예를 들면 AFP 유전자 간세포 암종 백신, AFP 아데노바이러스 벡터 백신, AG-858, 동종이계 GM-CSF-분비 유방암 백신, 수지상 세포 펩타이드 백신), 유전자 요법 (예를 들면 Ad5CMV-p53 벡터, MDA7를 인코딩하는 아데노벡터, 아데노바이러스 5-종양 괴사 인자 알파), 광역학적 요법 (예를 들면 아미노레벌린산, 모텍사핀 루테튬), 종양용해 바이러스성 또는 박테리아 요법, 수술, 또는 골수 및 줄기 세포 이식. 특정 구현예에서, 본 개시내용은 상기 대상체에게 유효량의 본 명세서에서 기재된 식 I 또는 식 II의 화합물을 투여하고 본 명세서에서 기재된 방사선 치료를 개별적으로 또는 동시에 적용하여 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일 구현예에서, 본 개시내용은 유효량의 본 명세서에서 기재된 식 I 또는 식 II의 화합물을 상기 대상체에게 투여하고 그 다음 방사선 치료 (예를 들면 x-선,  $\gamma$ -선, 또는 전자, 양성자, 중성자, 또는  $\alpha$  입자 빔)를 수행하여 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 또 다른 구현예에서, 본 개시내용은 방사선 치료 (예를 들면 x-선,  $\gamma$ -선, 또는 전자, 양성자, 중성자, 또는  $\alpha$  입자 빔)를 상기 대상체에게 적용하고 그 다음 유효량의 본 명세서에서 기재된 식 I 또는 식 II를 상기 대상체에게 투여하여 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 또 다른 구현예에서, 본 개시내용은 본 명세서에서 기재된 식 I 또는 식 II의 화합물 및 방사선 요법 (예를 들면 x-선,  $\gamma$ -선, 또는 전자, 양성자, 중성자, 또는  $\alpha$  입자 빔)를 상기 대상체에게 동시에 투여하여 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다.

## [0131] VI. 키트

[0132] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 본 명세서에서 기재된 식 I 또는 II의 화합물, 또는 그것의 조성물을 포함하는 키트를 제공한다. 일부 구현예에서, 화합물 또는 조성물은 예를 들면, 박스, 엔빌로프, 또는 백 내에 추가로 포장될 수 있는 바이알, 병, 플라스크 내에 포장되고; 화합물 또는 조성물은 포유동물, 예를 들면, 인간에게 투여하기 위해 U.S. 식품의약품안전청 또는 유사한 관리 기관에 의해 승인되고; 화합물 또는 조성물은 BRAF 단백질 키나제 매개된 질환 또는 병태에 대해 포유동물, 예를 들면, 인간에게 투여하도록 승인되고; 개시내용의 키트는, 화합물 또는 조성물이 BRAF 단백질 키나제-매개된 질환 또는 병태를 위해, 쓰여진 사용 지침 및/또는 포유동물, 예를 들면, 인간에게 투여하기에 적합하거나 승인된 다른 징후를 포함하고; 그리고 본 화합물 또는 조성물은 단위 용량 또는 단일 용량 형태, 예를 들면, 단일 용량 알약, 캡슐, 등으로 포장된다.

## [0133] VII. 제형 및 투여

[0134] 본 명세서에서 기재된 방법 및 용도는 전형적으로 인간 대상체를 위한 요법에서 사용될 것이다. 그러나, 다른 동물 대상체에서 유사한 또는 동일한 징후를 치료하기 위해 사용될 수 있다. 본 명세서에서 기재된 식 I 또는 식 II의 화합물은 주사 (즉 정맥내, 복강내, 피하, 및 근육내를 포함하는 비경구), 경구, 경피, 경점막, 직장, 또는 흡입제를 포함하는 상이한 경로에 의해 투여될 수 있다. 그와 같은 복용 형태는 상기 화합물이 표적 세포에 도달하도록 해야 한다. 다른 인자는 당해 기술에서 잘 알려져 있고, 고려사항들 예컨대 화합물 또는 조성물

이 그것의 효과를 발휘하는 것을 지연시키는 독성 및 복용 형태를 포함한다. 기술 및 제형은 일반적으로 Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 21<sup>st</sup> edition, Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, PA, 2005 (이것은 본 명세서에 참고로 편입되어 있음)에서 발견될 수 있다.

[0135]

일부 구현예에서, 본 개시내용의 방법에서 사용된 조성물은 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제, 예컨대 충전제, 결합제, 붕해제, 활윤제, 윤활제, 착화제, 가용화제, 및 계면활성제를 포함할 것이고, 이들은 특정한 경로에 의한 화합물의 투여를 용이하게 하도록 선택될 수 있다. 담체의 예는 탈산칼슘, 인산칼슘, 다양한 당류 예컨대 락토오스, 글루코스, 또는 수크로오스, 전분 유형, 셀룰로오스 유도체, 젤라틴, 지질, 리포솜, 나노입자, 및 기타 동종의 것을 포함한다. 담체는 또한 현탁액로서 생리적으로 양립가능한 액체를 포함하고, 그 예는 주사용 물의 멸균된 용액 (WFI), 염수 용액, 텍스트로오스 용액, 한스 용액, 링거액, 식물성 오일, 광유, 동물 오일, 폴리에틸렌 글리콜, 유동 파라핀, 및 기타 동종의 것을 포함한다. 부형제는 또한, 예를 들면, 하기를 포함할 수 있다: 콜로이드성 실리콘 디옥사이드, 실리카겔, 탈크, 규산마그네슘, 칼슘 실리케이트, 나트륨 알루미늄실리케이트, 마그네슘 트리실리케이트, 분말화된 셀룰로오스, 거대결정성 셀룰로오스, 카복시메틸 셀룰로오스, 가교결합된 나트륨 카복시메틸셀룰로오스, 나트륨 벤조에이트, 탈산칼슘, 탄산마그네슘, 스테아르산, 알루미늄 스테아레이트, 칼슘 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산아연, 나트륨 스테아릴 푸마레이트, 사일로이드, 스테아로웨트 C, 산화마그네슘, 전분, 나트륨 전분 글라이콜레이트, 글리세릴 모노스테아레이트, 글리세릴 디베헤네이트, 글리세릴 팔미토스테아레이트, 수소화된 식물성 오일, 수소화된 면 종자유, 캐스터 종자유 광유, 폴리에틸렌 글리콜 (예를 들면 PEG 400 또는 PEG 4000-8000), 폴리옥시에틸렌 글리콜, 폴록사머, 포비돈, 크로스포비돈, 크로스카르멜로오스 나트륨, 알긴산, 카세인, 메타크릴산 디비닐벤젠 코폴리머, 나트륨 도쿠세이트, 사이클로덱스트린 (예를 들면 2-하이드록시프로필-β-덱타-사이클로덱스트린), 폴리소르베이트 (예를 들면 폴리소르베이트 80), 세트리마이드, TPGS (d-알파-토코페릴 폴리에틸렌 글리콜 1000 석시네이트), 마그네슘 라우릴 설페이트, 나트륨 라우릴 설페이트, 폴리에틸렌 글라이콜 에테르, 폴리에틸렌 글리콜의 이-지방산 에스테르, 또는 폴리옥시알킬렌 소르비탄 지방산 에스테르 (예를 들면, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르 Tween<sup>®</sup>), 폴리옥시에틸렌 소르비탄 지방산 에스테르, 소르비탄 지방산 에스테르, 예를 들면 지방산 예컨대 올레인산, 스테아르산 또는 팔미트산으로부터의 소르비탄 지방산 에스테르, 만니톨, 자일리톨, 소르비톨, 말토오스, 락토오스, 락토오스 일수화물 또는 락토오스 분무 건조시키고, 수크로오스, 푸룩토오스, 인산칼슘, 이염기성 인산칼슘, 삼염기성 인산칼슘, 황산칼슘, 텍스트레이트, 텍스트란, 텍스트린, 텍스트로오스, 셀룰로오스 아세테이트, 말토덱스트린, 시메티콘, 폴리텍스트로오스, 키토산, 젤라틴, HPMC (하이드록시프로필 메틸 셀룰로오스), HPC (하이드록시프로필 셀룰로오스), 하이드록시에틸 셀룰로오스, 및 기타 동종의 것.

[0136]

일부 구현예에서, 경구 투여가 사용될 수 있다. 경구용 약제학적 제제는 종래의 경구 복용 형태 예컨대 캡슐, 정제, 및 액상 제제 예컨대 시럽, 엘릭시르, 및 농축된 드롭스로 제형화될 수 있다. 본 명세서에서 기재된 식 I 또는 II의 화합물은 고형 부형제와 조합될 수 있고, 선택적으로 수득한 혼합물을 연삭하고, 요망하는 경우 적합한 보조물을 첨가한 후 과립의 혼합물을 가공하여, 예를 들면, 정제, 코팅된 정제, 경질 캡슐, 연질 캡슐, 용액 (예를 들면 수성, 알코올성, 또는 유성 용액) 및 기타 동종의 것을 얻는다. 적합한 부형제는, 특히, 충전제 예컨대 락토오스, 글루코스, 수크로오스, 만니톨, 또는 소르비톨; 셀룰로오스 제제, 예를 들면, 옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분, 감자 전분, 젤라틴, 트라가칸스검, 메틸 셀룰로오스, 하이드록시프로필메틸-셀룰로오스, 나트륨 카복시메틸셀룰로오스 (CMC), 및/또는 폴리비닐피롤리돈 (PVP: 포비돈)을 포함하는 당; 식물 및 동물 오일, 예컨대 해바라기 오일, 올리브 오일, 또는 대구 오일을 포함하는 유성 부형제이다. 경구 복용 제형은 또한, 붕해제, 예컨대 가교결합된 폴리비닐피롤리돈, 한천, 또는 알긴산, 또는 그것의 염 예컨대 나트륨 알기네이트; 윤활제, 예컨대 탈크 또는 마그네슘 스테아레이트; 가소제, 예컨대 글리세롤 또는 소르비톨; 감미제 예컨대 수크로오스, 푸룩토오스, 락토오스, 또는 아스파르탐; 천연 또는 인공 풍미제, 예컨대 박하, 윈터그린의 오일, 또는 체리 풍미제; 또는 염료 또는 안료를 함유할 수 있고, 이들은 상이한 용량 또는 조합의 확인 또는 특성규명을 위해 사용될 수 있다. 적합한 코팅물을 갖는 당의정 코어가 또한 제공된다. 이러한 목적을 위해, 농축된 당 용액이 사용될 수 있고, 이 용액은 선택적으로, 예를 들면, 아라비아검, 탈크, 폴리-비닐피롤리돈, 카보폴 겔, 폴리에틸렌 글리콜, 및/또는 이산화티타늄, 래커 용액, 및 적합한 유기 용매 또는 용매 혼합물을 함유할 수 있다.

[0137]

경구로 사용될 수 있는 약제학적 제제는 젤라틴으로 만들어진 압입형 캡슐 ("젤라틴캡슐"), 뿐만 아니라 젤라틴, 및 가소제, 예컨대 글리세롤 또는 소르비톨로 만들어진 연질 밀봉 캡슐을 포함한다. 압입형 캡슐은 충전제 예컨대 락토오스, 결합제 예컨대 전분, 및/또는 윤활제 예컨대 탈크 또는 마그네슘 스테아레이트 및, 선택적으로, 안정제와의 혼합물 중 활성 성분을 함유할 수 있다. 연질 캡슐에서, 활성 성분, 예컨대 식 I 또는 식 II의 화합물은, 적합한 액체, 예컨대 지방 오일, 유동 파라핀, 또는 액체 폴리에틸렌 글리콜에 용해되거나 현탁



될 수 있다.

[0138] 일부 구현예에서, 주사 (비경구 투여)가 사용될 수 있고, 그 예는 근육내, 정맥내, 복강내, 및/또는 피하이다. 주사용의, 본 명세서에서 기재된 식 I 또는 II의 화합물은 멸균된 액체 용액, 바람직하게는 생리적으로 양립 가능한 완충액 또는 용액, 예컨대 염수 용액, 한스 용액, 또는 링거액에서 제형화될 수 있다. 분산물은 또한, 비수용액, 예컨대 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 에탄올, 액체 폴리에틸렌 글리콜, 트리아세틴, 및 식물성 오일에서 제조될 수 있다. 용액은 또한, 보존제, 예컨대 메틸파라벤, 프로필파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 소르브산, 티메로살, 및 기타 동종의 것을 함유할 수 있다. 또한, 본 명세서에서 기재된 식 I 또는 II의 화합물은 예를 들면, 동결건조된 형태를 포함하는 고형 형태로 제형화될 수 있고, 사용 전에 재용해되거나 현탁될 수 있다.

[0139] 일부 구현예에서, 경점막, 국소 또는 경피 투여가 사용될 수 있다. 본 명세서에서 기재된 식 I 또는 식 II의 화합물의 그와 같은 제형에서, 침투될 장벽에 적절한 침투제가 사용된다. 그와 같은 침투제는 일반적으로 당해 기술에서 공지되어 있고, 예를 들면, 경점막 투여를 위해, 담즙산염 및 후시딘산 유도체를 포함한다. 또한, 세제는 침투를 용이하게 하기 위해 사용될 수 있다. 경점막 투여는, 예를 들면, 비강 스프레이 또는 좌약 (직장 또는 질)을 통해서일 수 있다. 국소 투여를 위한 본 명세서에서 기재된 식 I 또는 식 II의 화합물의 조성물은 당해 기술에서 공지된 적절한 담체의 선택에 의해 오일, 크림, 로션, 연고, 등으로서 제형화될 수 있다. 적합한 담체는 식물유 또는 광유, 백색 바셀린 (백색 연질 파라핀), 분지쇄 지방 또는 오일, 동물성 지방 및 고분자량 알코올 ( $C_{12}$  초과)를 포함한다. 일부 구현예에서, 담체는, 활성 성분이 가용성하도록 선택된다. 유화제, 안정제, 휴멕턴트 및 산화방지제가 또한, 포함될 수 있을 뿐만 아니라 요망하는 경우, 색상 또는 방향 부여 제제가 포함될 수 있다. 국소 도포용 크림은 바람직하게는, 소량의 용매 (예를 들면, 오일)에 용해된 활성 성분의 혼합물을 혼합한, 광유, 자가에멀전화 밀랍 및 물의 혼합물로부터 제형화된다. 추가로, 경피 수단에 의한 투여는 경피 패치 또는 드레싱 예컨대 활성 성분 및 선택적으로 당해 기술에서 공지된 1종 이상의 담체 또는 희석제가 함침된 붕대를 포함할 수 있다. 경피 전달 시스템의 형태로 투여되기 위해, 투약은 복용 요법 전체에 걸쳐 간헐적이거나 또는 연속일 것이다.

[0140] 일부 구현예에서, 식 I 또는 II의 화합물, 또는 그것의 조성물은, 흡입제로서 투여된다. 본 명세서에서 기재된 식 I 또는 II의 화합물은 건조 분말 또는 적합한 용액, 현탁액, 또는 에어로졸로서 제형화될 수 있다. 분말 및 용액은 당해 기술에서 공지된 적합한 첨가제로 제형화될 수 있다. 예를 들면, 분말은 적합한 분말 기재 예컨대 락토오스 또는 전분을 포함할 수 있고, 용액은 프로필렌 글리콜, 멸균수, 에탄올, 염화나트륨 및 다른 첨가제, 예컨대 산, 알칼리 및 완충액 염을 포함할 수 있다. 그와 같은 용액 또는 현탁액은 스프레이, 펌프, 아토마이저, 또는 분무기, 및 기타 동종의 것을 통해 흡입으로 투여될 수 있다. 본 명세서에서 기재된 식 I 또는 식 II의 화합물은 또한, 하기와 함께 사용될 수 있다: 다른 흡입된 요법, 예를 들면 코르티코스테로이드 예컨대 플루티카손 프로피오네이트, 베클로메타손 디프로피오네이트, 트리암시놀론 아세토나이드, 부테소니드, 및 모메타손 푸로에이트; 베타 효능제 예컨대 알부테롤, 살메테롤, 및 포르모테롤; 항콜린성 제제 예컨대 이프라트로프륨 브로마이드 또는 티오토로프륨; 혈관확장제 예컨대 트레프로스티날 및 일로프로스트; 효소 예컨대 DNAase; 치료 단백질; 면역글로불린 항체; 올리고뉴클레오타이드, 예컨대 단일 또는 이중가닥 DNA 또는 RNA, siRNA; 항생제 예컨대 토브라마이신; 무스카린성 수용체 길항제; 류코트리엔 길항제; 사이토카인 길항제; 프로테아제 억제제; 크로몰린 나트륨; 네도크릴 나트륨; 및 나트륨 크로모글리케이트.

[0141] 투여될 식 I 또는 II의 양은 인자 예컨대 화합물 활성 (시험관내, 예를 들면 화합물  $IC_{50}$  대 표적, 또는 동물 효능 모델에서 생체내 활성), 동물 모델의 약력학적 결과 (예를 들면 생물학적 반감기 또는 생체이용률), 대상체의 연령, 크기, 및 체중, 및 대상체와 관련된 장애를 고려하여 표준 절차에 의해 결정될 수 있다. 이들 및 다른 인자의 중요성은 당해 분야의 숙련자에게 잘 알려져 있다. 일반적으로, 용량은 약 0.01 내지 50 mg/kg, 또한 약 0.1 내지 20 mg/kg 범위의 치료될 대상체에서 사용될 것이다. 다중 용량이 사용될 수 있다.

[0142] 본 명세서에서 기재된 식 I 또는 II의 화합물은 또한, 동일한 질환을 치료하기 위해 다른 요법과 함께 사용될 수 있다. 그와 같은 병용 사용은 상이한 시간에 식 I 또는 식 II의 화합물, 및 1종 이상의 다른 치료제의 투여, 또는 식 I 또는 식 II의 화합물, 및 1종 이상의 다른 요법의 공-투여를 포함한다. 일부 구현예에서, 복용량은 당해 분야의 숙련자에게 잘 알려진 방법, 본 개시내용의 화합물 또는 함께 사용된 다른 치료제 중 하나 이상, 예를 들면, 단독으로 사용된 화합물 또는 요법에 대해 복용된 양의 감소에 대해 변형될 수 있다.

[0143] 식 I 또는 II의 화합물, 또는 그것의 약제학적으로 허용가능한 염, 이성질체, 호변이성질체 또는 중수소화된 형태는, 동일한 질환을 치료하기 위해 본 명세서에서 기재된 또 다른 화학치료제 또는 약물 또는 키나제 억제제와 함께 사용될 수 있다. 그와 같은 조합은 고정 용량 조성물일 수 있거나 상이한 시간에 투여될 수 있거나, 식 I

또는 II의 화합물 및 또 다른 제제, 약물 또는 키나제 억제제의 공-투여는 동시 또는 개별적일 수 있다. 일부 구현예에서, 복용량은 당해 분야의 숙련자에게 잘 알려진 방법에 의해 안전성 및/또는 효능을 개선하기 위해 본 명세서에서 개시된 식 I 또는 II의 화합물 또는 함께 사용된 또 다른 제제, 약물 또는 키나제 억제제, 예를 들면, 단독으로 사용된 화합물에 대해 복용된 양의 감소 또는 증가에 대해 변형될 수 있다.

[0144] 병용 사용은 다른 요법, 약물, 의료 절차 등과의 사용을 포함하는 것으로 이해되고, 상기 다른 요법 또는 절차는 본 명세서에서 기재된 식 I 또는 식 II의 화합물 보다 (예를 들면 단시간 내에, 예컨대 시간 (예를 들면 1, 2, 3, 4-24 시간) 내에, 또는 더 긴 시간 내에 (예를 들면 1-2 일, 2-4 일, 4-7 일, 1-4 주) 상이한 시간에, 또는 본 명세서에서 기재된 식 I 또는 II의 화합물과 동시에 투여될 수 있다. 병용 사용은 또한, 다른 요법 또는 절차 전 또는 후보다 단시간 또는 더 긴 시간 내에 투여된 본 명세서에서 기재된 식 I 또는 식 II의 화합물과 함께 한번 또는 드물게 투여된 요법 또는 의료 절차, 예컨대 수술과의 사용을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 개시내용은 상이한 투여 경로 또는 동일한 투여 경로에 의해 전달된 본 명세서에서 기재된 식 I 또는 II의 화합물 및 1종 이상의 다른 약물 치료제의 전달을 제공한다. 임의의 투여 경로에 대한 병용 사용은, 2종의 화합물이 투여될 때 그것의 치료 활성을 유지하는 방식으로 화학적으로 결합된 제형을 포함하는 임의의 제형으로 공동 투여의 동일한 투여 경로에 의해 전달된 본 명세서에서 기재된 식 I 또는 식 II의 화합물 및 1종 이상의 다른 약물 치료제의 전달에 포함한다. 일 측면에서, 다른 약물 요법은 본 명세서에서 기재된 식 I 또는 식 II의 화합물과 공-투여될 수 있다. 공-투여에 의한 병용 사용은 화학적으로 결합된 화합물의 공-제형 또는 제형의 투여, 또는 동일 또는 상이한 경로에 의해 투여된, 서로 단시간 내에 (예를 들면 1 시간, 2 시간, 3 시간, 최대 24 시간 내에) 별개의 제형으로 2종 이상의 화합물의 투여를 포함한다.

[0145] 별개의 제형의 공-투여는 하나의 디바이스, 예를 들면 동일한 흡입제 디바이스, 동일한 주사기, 등을 통한 전달 또는 서로 단시간 내에 별개의 장치로부터의 투여에 의한 공-투여를 포함한다. 본 명세서에서 기재된 식 I 또는 II의 화합물 및 동일한 경로에 의해 전달되는 1종 이상의 추가 약물 요법의 공-제형은 이들이 하나의 제형에 조합된 별개의 화합물, 또는 이들이 화학적으로 연결되지만 여전히 그것의 생물학적 활성을 유지하도록 변형된 화합물을 포함하는 하나의 디바이스에 의해 투여될 수 있도록 함께 물질의 제조를 포함한다. 이러한 화학적으로 연결된 화합물은 생체 내에서 실질적으로 유지되는 결합을 가질 수 있거나, 또는 본 연결은 생체 내에서 분해될 수 있어, 2개의 활성 성분을 분리한다.

#### [0146] VIII. 참조문헌

- [0147] Agaram, N. P. 등 Novel V600E *BRAF* mutations in imatinib-naive and imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumors. *Genes Chromosomes Cancer* **47**, 853-859 (2008).
- [0148] Anforth RM, Blumetti TCMP, Kefford RF, Sharma R, Scolyer R a, Kossard S, 등 Cutaneous manifestations of dabrafenib (GSK2118436): a selective inhibitor of mutant BRAF in patients with metastatic melanoma. *Br. J. Dermatol.* 2012 Nov;167(5):1153-1160.
- [0149] Badalian-Very, G. 등 Recurrent *BRAF* mutations in Langerhans cell histiocytosis. *Blood* **116**, 1919-1923 (2010).
- [0150] Bollag G, Hirth P, Tsai J, Zhang J, Ibrahim PN, Cho H, 등 Clinical efficacy of a RAF inhibitor needs broad target blockade in BRAF-mutant melanoma. *Nature*, 2010 Sep 30;467(7315):596-599.
- [0151] Brose, M. S. 등 *BRAF* and *RAS* mutations in human lung cancer and melanoma. *Cancer Res.* **62**, 6997-7000 (2002).
- [0152] Callahan MK, Rampal R, Harding JJ, Klimek VM, Chung YR, Merghoub T, 등 Progression of RAS-mutant leukemia during RAF inhibitor treatment. *N. Engl. J. Med.* 2012 Dec 13;367(24):2316-2321.
- [0153] Chapman, M. A. 등 Initial genome sequencing and analysis of multiple myeloma. *Nature* **471**, 467-472 (2011).
- [0154] Chapman PB, Hauschild A, Robert C, Haanen JB, Ascierto P, Larkin J, 등 for BRIM-3 Study Group. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. *N Engl J Med.* 2011 Jun 30;364(26):2507-2516.
- [0155] Cohen, Y. 등 *BRAF* mutation in papillary thyroid carcinoma. *J. Natl Cancer Inst.* **95**, 625-627 (2003).

- [0156] Colombino, M. 등 *BRAF* and *PIK3CA* genes are somatically mutated in hepatocellular carcinoma among patients from South Italy. *Cell Death Dis.* **3**, e259 (2012).
- [0157] Corcoran RB, Ebi H, Turke AB, Coffee EM, Nishino M, Cogdill AP, 등 EGFR-mediated re-activation of MAPK signaling contributes to insensitivity of BRAF mutant colorectal cancers to RAF inhibition with vemurafenib. *Cancer Discov.* 2012 Mar;2(3):227-235.
- [0158] Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, 등 Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature.* 2002 Jun 27;417(6892):949-954.
- [0159] Dias-Santagata, D. 등 *BRAF* V600E mutations are common in pleomorphic xanthoastrocytoma: diagnostic and therapeutic implications. *PLoS ONE* **6**, e17948 (2011).
- [0160] Flaherty KT, Puzanov I, Kim KB, Ribas A, McArthur GA, Sosman JA, 등 Inhibition of mutated, activated BRAF in metastatic melanoma. *N. Engl. J. Med.* 2010 Aug 26;363(9):809-819.
- [0161] Fukushima, T. 등 *BRAF* mutations in papillary carcinomas of the thyroid. *Oncogene* **22**, 6455-6457 (2003).
- [0162] Hatzivassiliou G, Song K, Yen I, Brandhuber BJ, Anderson DJ, Alvarado R, 등 RAF inhibitors prime wild-type RAF to activate the MAPK pathway and enhance growth. *Nature.* Nature Publishing Group; 2010 Mar 18;464(7287):431-435.
- [0163] Hauschild A, Grob J-J, Demidov L V, Jouary T, Gutzmer R, Millward M, 등 Dabrafenib in BRAF-mutated metastatic melanoma: a multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet.* Elsevier Ltd; 2012 Jul 28;380(9839):358-365.
- [0164] Heidorn SJ, Milagre C, Whittaker S, Nourry A, Niculescu-Duvas I, Dhomen N, 등 Kinase-dead BRAF and oncogenic RAS cooperate to drive tumor progression through CRAF. *Cell.* Elsevier Ltd; 2010 Jan 22;140(2):209-221.
- [0165] Huang V, Hepper D, Anadkat M, Cornelius L. Cutaneous toxic effects associated with vemurafenib and inhibition of the BRAF pathway. *Arch. Dermatol.* 2012 May;148(5):628-633.
- [0166] Jones, D. T. 등 Tandem duplication producing a novel oncogenic *BRAF* fusion gene defines the majority of pilocytic astrocytomas. *Cancer Res.* **68**, 8673-8677 (2008).
- [0167] Kimura, E. T. 등 High prevalence of *BRAF* mutations in thyroid cancer: genetic evidence for constitutive activation of the RET/PTC-RAS-BRAF signaling pathway in papillary thyroid carcinoma. *Cancer Res.* **63**, 1454-1457 (2003).
- [0168] Lacouture ME, Desai a, Soltani K, Petronic-Rosic V, Laumann a E, Ratain MJ, 등 Inflammation of actinic keratoses subsequent to therapy with sorafenib, a multitargeted tyrosine-kinase inhibitor. *Clin. Exp. Dermatol.* 2006 Nov;31(6):783-785.
- [0169] Lee, S. H. 등 *BRAF* and *KRAS* mutations in stomach cancer. *Oncogene* **22**, 6942-6945 (2003).
- [0170] Nazarian R, Shi H, Wang Q, Kong X, Koya RC, Lee H, 등 Melanomas acquire resistance to B-RAF(V600E) inhibition by RTK 또는 N-RAS upregulation. *Nature*, 2010 Dec 16;468(7326):973-977.
- [0171] Nikiforova, M. N. 등 *BRAF* mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic 또는 poorly differentiated carcinomas arising from papillary carcinomas. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **88**, 5399-5404 (2003).
- [0172] Oberholzer P a, Kee D, Dziunycz P, Sucker A, Kamsukom N, Jones R, 등 RAS mutations are associated with the development of cutaneous squamous cell tumors in patients treated with RAF inhibitors. *J. Clin. Oncol.* 2012 Jan 20;30(3):316-321.
- [0173] Pfister, S. 등 *BRAF* gene duplication constitutes a mechanism of MAPK pathway activation in low-grade astrocytomas. *J. Clin. Invest.* **118**, 1739-1749 (2008).
- [0174] Pollock, P. M. 등 High frequency of *BRAF* mutations in nevi. *Nature Genet.* **33**, 19-20 (2003).

- [0175] Poulikakos PI, Persaud Y, Janakiraman M, Kong X, Ng C, Moriceau G, 등 RAF inhibitor resistance is mediated by dimerization of aberrantly spliced BRAF(V600E). *Nature*. Nature Publishing Group; 2011 Dec 15;480(7377):387-390.
- [0176] Poulikakos PI, Zhang C, Bollag G, Shokat KM, Rosen N. RAF inhibitors transactivate RAF dimers and ERK signalling in cells with wild-type BRAF. *Nature*. Nature Publishing Group; 2010 Mar 18;464(7287):427-430.
- [0177] Prahallad A, Sun C, Huang S, Di Nicolantonio F, Salazar R, Zecchin D, 등 Unresponsiveness of colon cancer to BRAF(V600E) inhibition through feedback activation of EGFR. *Nature*. 2012 Mar 1;483(7387):100-103.
- [0178] Rajagopalan, H. 등 Tumorigenesis: RAF/RAS oncogenes and mismatch-repair status. *Nature* **418**, 934 (2002).
- [0179] Robert C, Arnault J-P, Mateus C. RAF inhibition and induction of cutaneous squamous cell carcinoma. *Curr. Opin. Oncol.* 2011 Mar;23(2):177-182.
- [0180] Schindler, G. 등 Analysis of *BRAF* V600E mutation in 1,320 nervous system tumors reveals high mutation frequencies in pleomorphic xanthoastrocytoma, ganglioglioma and extra-cerebellar pilocytic astrocytoma. *Acta Neuropathol.* **121**, 397-405 (2011).
- [0181] Serrano C, 등 BRAF V600E and KRAS G12S mutations in peripheral nerve sheath tumours. *Histopathology*, 2013 Feb; 62(3):499-504.
- [0182] Sievert, A. J. 등 Duplication of 7q34 in pediatric low-grade astrocytomas detected by high-density single-nucleotide polymorphism-based genotype arrays results in a novel *BRAF* fusion gene. *Brain Pathol.* **19**, 449-458 (2009).
- [0183] Singer, G. 등 Mutations in *BRAF* and *KRAS* characterize the development of low-grade ovarian serous carcinoma. *J. Natl Cancer Inst.* **95**, 484-486 (2003).
- [0184] Sommerer, F. 등 Mutations of *BRAF* and *KRAS2* in the development of Barrett's adenocarcinoma. *Oncogene* **23**, 554-558 (2004).
- [0185] Sosman JA, Kim KB, Schuchter L, Gonzalez R, Pavlick AC, Weber JS, 등 Survival in BRAF V600-mutant advanced melanoma treated with vemurafenib. *N. Engl. J. Med.* 2012 Feb 23;366(8):707-714.
- [0186] Stellwagen JC, Adjabeng GM, Arnone MR, Dickerson SH, Han C, Hornberger KR, 등 Development of potent B-RafV600E inhibitors containing an arylsulfonamide headgroup. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* Elsevier Ltd; 2011 Aug 1;21(15):4436-4440.
- [0187] Straussman R, Morikawa T, Shee K, Barzily-Rokni M, Qian ZR, Du J, 등 Tumour micro-environment elicits innate resistance to RAF inhibitors through HGF secretion. *Nature*. 2012 487:500-504.
- [0188] Su, F., Viros, A., Milagre, C., Trunzer, K., Bollag, G., Spleiss, O., Reis-Filho, J. S., 등 (2012). RAS mutations in cutaneous squamous-cell carcinomas in patients treated with BRAF inhibitors. *The New England journal of medicine*, 366(3), 207-15.
- [0189] Tannapfel, A. 등 Mutations of the *BRAF* gene in cholangiocarcinoma but not in hepatocellular carcinoma. *Gut* **52**, 706-712 (2003).
- [0190] Tiacci, E. 등 *BRAF* mutations in hairy-cell leukemia. *N. Engl. J. Med.* **364**, 2305-2315 (2011).
- [0191] Tsai, J., Lee, J. T., Wang, W., Zhang, J., Cho, H., Mamo, S., Bremer, R., 등 (2008). Discovery of a selective inhibitor of oncogenic B-Raf kinase with potent antimelanoma activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(8), 3041-6.
- [0192] Villanueva J, Vultur A, Lee JT, Somasundaram R, Fukunaga-Kalabis M, Cipolla AK, 등 Acquired resistance to BRAF inhibitors mediated by a RAF kinase switch in melanoma can be overcome by cotargeting MEK and

IGF-1R/PI3K. Cancer Cell. Elsevier Inc.; 2010 Dec 14;18(6):683-695.

- [0193] Weber, A. 등 Mutations of the *BRAF* gene in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Oncogene* **22**, 4757-4759 (2003).
- [0194] Xu, X., Quiros, R. M., Gattuso, P., Ain, K. B. & Prinz, R. A. High prevalence of *BRAF* gene mutation in papillary thyroid carcinomas and thyroid tumor cell lines. *Cancer Res.* **63**, 4561-4567 (2003).
- [0195] Zimmer L, Hillen U, Livingstone E, Lacouture ME, Busam K, Carvajal RD, 등 Atypical melanocytic proliferations and new primary melanomas in patients with advanced melanoma undergoing selective BRAF inhibition. *J Clin Oncol.* 2012 30:2375-2383.
- [0196] **실시예**
- [0197] 본 개시내용에 관련된 실시예가 아래에 기재되어 있다. 대부분의 경우, 대안적인 기술이 사용될 수 있다. 본 실시예는 예시적인 것으로 의도되고 본 개시내용의 범위를 한정하거나 제한하지 않는다.
- [0198] **실시예 1: 식 I 및 식 II의 화합물은 베무라페닙 및 다브라페닙에 비교하여 RAS 돌연변이체 세포주에서 pERK를 활성화시키지 않는다.**
- [0199] 베무라페닙, 식 I의 화합물, 및 식 II의 화합물을 포함하는 화합물이 포스포-ERK1/2 (T202/Y204, pERK)에서 화합물-유도된 변화를 위한 세포주의 패널에 대해 선별되었다. 각각의 화합물에 대해, 활성화로부터의 pERK 억제 ("ERK 경로 저해 지수" 또는 "EPII"로 칭함)의 해리는 3개의 RAS 돌연변이체 세포주 (췌장 cuSCC 세포주 B9, 인간 흑색종 세포주 IPC-298, 및 인간 결장 직장 암종 세포주 HCT116, 표 1)에서의 화합물의 평균 pERK 활성화 EC<sub>50</sub>과 2개의 BRAF<sup>V600E</sup> 흑색종 세포주 (A375 및 COLO829, 표 1)에서의 화합물의 평균 pERK 억제 IC<sub>50</sub> 사이의 비로 표현되었다.
- [0200] 베무라페닙 및 다브라페닙에 대한 EPII는 각각 11 및 4였다. 식 I 및 식 II의 화합물은 BRAF<sup>V600E</sup> 세포에서 pERK를 강력하게 억제했지만, 본질적으로 시험된 농도에서 RAS 돌연변이체 세포주에서의 pERK 활성화를 전혀 나타내지 않았다 (표 1 및 도 1(B)). 식 II의 화합물은 또한, 이들 세포가 (각각 EGFR 및 HER2의 과-발현을 통해) RAS로 공급되는 업스트림 신호에 의해 MAPK 경로 활성화를 달성하기 때문에 인간 SCC 세포주 A431 및 인간 유방 선암종 세포주 SKBR3에서 평가되었다. 베무라페닙과 달리, 식 II의 화합물은 이들 세포에서 pERK 수준을 증가시키지 않았다.
- [0201] **1. 시험관내 및 생체내 연구**
- [0202] **A. 생화학적 검정 및 키노메 선택성 프로파일링**
- [0203] 시험관내 RAF 키나제 활성은 문헌 [Tsai et al 2008]에 기재된 바와 같이 바이오티닐화된 기질 펩타이드의 인산화를 측정함에 의해 결정되었다. 식 II는 1 μM의 농도로 287 키나제의 패널에 대해 반복하여 시험되었다. 50% 이상 억제된 키나제는 IC<sub>50</sub> 결정에 의해 추적 조사되었다. 287 키나제는 키노메 계통발생적 트리의 모든 주요 분지를 대표한다. 287 키나제의 억제 스크린은 Invitrogen (Life Technologies, 미국 위스콘신주 소재)의 SelectScreen™ 프로파일링 서비스, DiscoverX (미국 캘리포니아주 소재)의 KINOMEScan™ 서비스 및 Reaction Biology Corporation (미국 펜실베이니아주 소재)의 Kinase HotSpot<sup>SM</sup> 서비스에서 상보적 패널로서 계약하에 수행되었다.
- [0204] **B. 세포 배양, pERK 검정, 성장 억제, 및 EGFR 신호전달 검정**
- [0205] B9 세포주는 Allan Balmain (미국 캘리포니아주 샌프란시스코 소재의 캘리포니아의 대학교)에서 취득되었다. SK-MEL-239 및 SK-MEL-239-C3 세포주는 David Solit 및 Neal Rosen (Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, 미국 뉴욕주 뉴욕 소재)에서 취득되었다. IPC-298 세포주는 DSMZ (독일 브라운슈바이크 소재)에서 취득되었다. 다른 모든 세포주는 ATCC로부터 취득되었다. 화합물 희석은 100% 디메틸설폭사이드 ("DMSO")에서 수행되었고, 이들 적정은 세포에 첨가될 때 배양 배지에서 500배 희석되어 최종 0.2% DMSO 농도를 얻었다.
- [0206] 포스포-ERK AlphaScreen® 검정: ERK 인산화 정도는 Thr202/Tyr204에서의 ERK1/2 인산화의 증가가 공여체 및 수용체 AlphaScreen® 비드를 가까이 근접하도록 가져와 정량화를 위한 신호를 생성하는 AlphaScreen® 검정을 사용하여 결정되었다. ERK1/2의 인산화에 대한 화합물 처리의 효과를 결정하기 위해, 세포를 96-웰 플레이트에



분주하고, 용해 전에 37℃에서 1시간 동안 화합물의 8-포인트 적정으로 처리하였다. pERK를 검출하기 위해, Thr202 및 Tyr204 상에서 인산화될 때만 ERK1/2를 인지하는 스트렙타비딘-코팅된 AlphaScreen® 공여체 비드, 항-마우스 IgG AlphaScreen® 수용체 비드, 바이오티닐화된 항-ERK1/2 토끼 항체, 및 마우스 항체로 세포 용해물이 인큐베이션되었다. 바이오티닐화된 ERK1/2 항체는 스트렙타비딘-코팅된 AlphaScreen® 공여체 비드 및 ERK1/2 (그것의 인산화 상태에 무관하게) 양자에 결합하며, 포스포-ERK1/2 항체는 Thr202/Tyr204에서 인산화된 ERK1/2와 수용체비드에 결합한다. Thr202/Tyr204에서 ERK1/2 인산화에서의 증가는 공여체 및 수용체 AlphaScreen® 비드를 가까이 근접하도록 가져와, EnVision 판독기 (Perkin Elmer)에서 정량화될 수 있는 신호를 생성한다. ERK 인산화의 억제제는 DMSO 대조군에 비교하여 신호의 손실을 초래한다.

[0207] 포스포-ERK 면역블랏 분석: 웨스턴 블랏은 표준기술에 의해 수행되고 Odyssey 적외선 스캐너 (Li-COR Biosciences) 상에서 분석되었다. 하기 항체가 사용되었다: pERK1/2 (T202/Y204) 및 ERK1/2 (세포 신호전달).

[0208] 성장 억제 검정: 세포는 96-웰플레이트에 3000 세포/웰의 밀도로 분주되었고 밤새 접촉되도록 하였다. 화합물은 DMSO에 용해되고, 3배 희석되어 8-포인트 적정을 생성하고 그리고 세포에 첨가되었다. 72시간 인큐베이션한 후, 세포 생존력은 CellTiter-Glo® (Promega)를 사용하여 검사되었다.

[0209] 식 II는 2개의 상기 언급된 흑색종 세포주 (A375 및 COLO829) 및 추가 인간 결장 직장암 세포주 COLO205의 *시/헵 관내* 성장을 억제하여, 동일한 검정에서 베무라페닙 IC<sub>50</sub> (각각 0.33 μM, 0.69 μM 및 0.25 μM)과 동등하게 각각 IC<sub>50</sub> 0.17 μM, 0.53 μM 및 0.16 μM로 BRAF<sup>V600E</sup>를 발현한다.

표 1. 역설 파괴체를 사용한 제 1 세대 BRAF 억제제의 시험관내 프로파일<sup>a</sup>의 비교.

화합물	생화학적 IC <sub>50</sub> (μM)			pERK 억제 IC <sub>50</sub> (μM)		pERK 활성화 EC <sub>50</sub> (μM) <sup>b</sup>			EPII <sup>c</sup>
	BRAF <sup>V600E</sup>	BRAF	CRAF	A375	COLO829	B9	IPC298	HCT116	
베무라페닙	0.031 (±0.004)	0.1 (±0.02)	0.048 (±0.004)	0.032 (±0.007)	0.041 (±0.008)	0.36 (±0.08)	0.54 (±0.12)	0.34 (±0.07)	11
식 I	0.0042 (±0.0006)	0.14 (±0.02)	0.091 (±0.014)	0.016 (±0.005)	0.018 (±0.005)	>200	>200	>200	>10,000
식 II	0.0038 (±0.0016)	0.014 (±0.004)	0.023 (±0.04)	0.0035 (±0.0012)	0.0021 (±0.0012)	>200	>200	>200	>50,000
소라페닙	0.35 (±0.04)	0.072 (±0.008)	0.011 (±0.002)	4.4 (±1.3)	2 (±1.2)	0.025 (±0.005)	0.019 (±0.01)	0.086 (±0.04)	0.01
다브라페닙	0.0054 (±0.0015)	0.0027 (±0.001)	0.0015 (±0.001)	0.001 (±0.001)	0.005 (±0.003)	0.01 (±0.005)	0.01 <sup>d</sup> (±0.005)	0.003 (±0.002)	~4

<sup>a</sup> 세포주의 돌연변이 상태: A375, BRAF<sup>V600E</sup>, 동종접합성; COLO829, BRAF<sup>V600E</sup>, 이종접합성; B9, HRAS<sup>G61L</sup>; IPC-298, NRAS<sup>G61L</sup>; HCT116, KRAS<sup>G13D</sup>. 각각의 값은 4 개 초과 실험의 평균이다. 괄호 내의 값은 표준 오차를 나타낸다.

<sup>b</sup> EC<sub>50</sub>, 농도는 양성 대조군, 10 μM PLX4720 (CAS No. 918505-84-7)과 비교하여 50% 로 pERK 를 증가시킨다.

<sup>c</sup> ERK 경로 억제 지수 (EPII), 평균 pERK 활성화 EC<sub>50</sub> 과 평균 pERK 억제 IC<sub>50</sub> 사이의 비.

<sup>d</sup> 농도-반응 곡선의 상승 부분을 사용함

도 1(A)에서 나타난 바와 같이, 식 II (원으로 채워짐; 하단 라인) 및 베무라페닙 (개방된 원; 대시기호로 된 상단 라인)은 인간 BRAF<sup>V600E</sup> 흑색종 세포 COLO829에서 pERK 신호 전달을 차단하는 유사한 효력을 나타낸다.

도 1(B)는 RAS 활성화된 인간 흑색종 세포주 IPC-298 (NRAS<sup>G61L</sup>)에서 베무라페닙 (개방된 원)은 역설적으로 MAPK 신호전달을 활성화하는 반면 식 II (원으로 채워짐)는 무시할만한 pERK 증가를 야기한다는 것을 보여준다.

이들 결과에 기초하여, 식 I 및 II의 화합물은 치료 농도에서 정상 조직에서 MAPK 경로에 영향 (역설적 활성화 또는 억제)을 미치는 것으로 예상되지 않는다. pERK 곡선은 AlphaScreen® 검정을 사용하여 생성되었다. 평균 ± s.d., n=5번의 독립적인 실험.

실시예 2: 식 I의 화합물은 BRAFV600 돌연변이체 세포에서 MEK 및 ERK 인산화를 억제하고 그리고 NRAS 돌연변이체 세포에서 역설적 MAPK 경로 활성화를 전혀 나타내지 않는다

MEK 및 ERK 키나제는 성장하는 세포에서 RAS/RAF의 다운스트림에서 작용한다. 그것의 촉매적 활성은 특이적 잔기에서 인산화와 밀접하게 관련되어 있다. MEK는 세린 217 및 221에서 RAF 키나제에 의해 인산화되어, 증가된

MEK 효소 활성을 초래한다. MEK는 그뒤에 트레오닌 202 및 티로신 204에서 ERK를 인산화시켜, ERK 촉매적 활성을 유도한다. V600에서 돌연변이된 BRAF를 발현하는 세포주는 높은 수준의 MEK 및 ERK 인산화 모두를 나타낸다. 제1 세대 RAF 억제제 (예를 들면 다브라페닙, 베무라페닙)는 BRAF-V600 돌연변이체 세포에서 MEK 및 ERK 인산화와 활성의 극적인 억제를 나타낸다 (Tsai 2008, Bollag 2010). 그러나, 이들 억제제는 또한 돌연변이체 RAS 또는 높은 수준의 구성적으로 활성인 성장 인자 수용체를 발현하는 세포에서 MEK 및 ERK의 역설적 활성화를 나타낸다 (Poulikakos 2010, Hatzivassiliou 2010). 이것은 특히 베무라페닙으로 치료받은 환자에서의 편평 상피 세포 암종의 전개에 비추어 우려된다 (Su 2012). 식 I의 화합물은 RAS 돌연변이체 세포에서 경로의 역설적 활성화를 회피하면서, BRAF-V600 돌연변이체 세포에서 MEK 및 ERK 인산화를 저해하는 능력을 보유하는 "역설 파괴제" 화합물로서 놀라운 활성을 갖는 것으로 밝혀졌다. 본 실시예는 식 I의 화합물의 이들 특정한 특징을 입증한다.

[0216] 세포에서의 ERK 및 MEK 인산화에 대한 식 I의 화합물의 효과를 결정하기 위해, AlphaScreen® 기술을 사용한 검정이 확립되었다. 돌연변이체 BRAF-V600을 발현하는 세포 (예를 들면 A375, COLO829, SK-MEL-3, HT-29)에서, BRAF의 구성적 촉매적 활성은 다운스트림 효과기 ERK 및 MEK의 증가된 인산화 수준을 초래한다. BRAF-V600의 억제제는 이들 세포에서 ERK 및 MEK 인산화의 억제를 초래한다. 돌연변이된 RAS를 발현하는 세포 (예를 들면 B9 및 IPC-298)에서, 제1 세대 RAF 억제제 (예를 들면 베무라페닙)로의 치료는 ERK 및 MEK의 증가된 인산화를 초래하는 반면, 식 1은 이 역설적 활성화를 나타내지 않았다.

[0217] AlphaScreen® 기술을 사용하여, 세포에서 ERK와 MEK의 인산화에 영향을 미치는 식 I의 능력이 정량적으로 측정되었다. 화합물로 처리한 후, 세포는 용해되고, 용해물의 샘플은 검정 플레이트로 옮겨졌다. 용해물은 총 ERK/MEK에 대한 항체, ERK/MEK 상에서 특정 인산화 부위를 인식하는 항체, AlphaScreen® 항-마우스 IgG 수용체 비드, 및 스트렙타비딘 공여체 비드와 혼합되었다. 680nm에서 레이저 광으로 공여체 비드의 여기에 의해, 단일 항 산소가 생성되었다. 이 단일항 산소는 AlphaScreen® 수용체 비드가 가까이 근접하지 않는 한 빠르게 급냉되어, 이 경우에 근접 신호는 580nm에서 측정될 수 있다. 인산화된 ERK/MEK가 존재하면, 매우 강한 근접 신호가 있다. BRAF-V600 억제제는 BRAF 효과기 ERK 및 MEK의 인산화에서 감소를 통해 BRAF-V600E를 발현하는 세포 (예를 들면 A375)에서 이 근접 신호에서의 감소에 영향을 준다. 추가로, 식 I은 베무라페닙과 달리 돌연변이체 RAS를 발현하는 세포 (예를 들면 B9 및 IPC-298)에서 근접 신호의 증가를 나타내지 않았다.

## [0218] 1. 물질 및 방법

### [0219] A. 시약

#### [0220] 1. 세포주

[0221] A375 흑색종은, 동종접합성 BRAF-V600E ATCC® CRL-1619™를 발현시킨다

[0222] COLO829 흑색종은, 이종접합성 BRAF-V600E ATCC® CRL-1974™를 발현시킨다

[0223] HT-29 결장직장 선암종은, 이종접합성 BRAF-V600E ATCC® HTB-38™를 발현시킨다

[0224] SK-MEL-3 흑색종은, 이종접합성 BRAF-V600E ATCC® HTB-69™를 발현시킨다

[0225] B9 편평상피 세포 암종은, Allan Balmain, Ph.D. (University of California, San Francisco)로부터 받은 HRAS-Q61L를 발현시킨다

[0226] IPC-298 흑색종은, NRAS-Q61L DSMZ #ACC 251을 발현시킨다

[0227] A431 편평상피 세포 암종은, 높은 수준의 EGFR, 야생형 BRAF & RAS ATCC® CRL-1555™을 발현시킨다

[0228] HCT116 결장직장 암종은, 높은 수준의 EGFR, KRAS-G13D, 야생형 BRAF ATCC® CCL-247™을 발현시킨다

#### [0229] 2. 세포 배양 배지

[0230] A375 & A431 돌베코 변형된 이글 배지 (DMEM), ATCC #30-2002 10% 우태 혈청, Invitrogen # 10438-026 1% 페니실린-스트렙토마이신, Invitrogen # 15140-122

[0231] B9 돌베코 변형된 이글 배지 (DMEM), Invitrogen # 10313-039 10% 우태 혈청, Invitrogen # 10438-026 1% L-글루타민, Invitrogen # 25030-081 1% 페니실린-스트렙토마이신, Invitrogen # 15140-122

[0232] COLO829 & IPC-298 RPMI Medium 1640, Invitrogen # 11875-119 10% 우태 혈청, Invitrogen # 10438-026 1% 페



니실린-스트렙토마이신, Invitrogen # 15140-122

[0233] SK-MEL-3 McCoy's 5A (변형된) Medium, Invitrogen # 16600-108 15% 우태 혈청, Invitrogen # 10438-026 1% 페니실린-스트렙토마이신, Invitrogen # 15140-122

[0234] HCT116 & HT-29 McCoy's 5A (변형된) Medium, Invitrogen # 16600-108 10% 우태 혈청, Invitrogen # 10438-026 1% 페니실린-스트렙토마이신, Invitrogen # 15140-122

[0235] **3. 완충액**

[0236] 세포 용해 완충액 (10X) 세포 신호전달 기술 #9803 (사용 전에 H<sub>2</sub>O로 1배 희석됨)

[0237] AlphaLISA 면역검정 완충액 (10X) Perkin Elmer #AL000F(사용 전에 H<sub>2</sub>O로 1배 희석됨)

[0238] **4. 항체**

[0239] p44/42 MAPK (Erk1/2) (137F5) 토끼 (바이오티닐화된) 공여체 항체 세포 신호전달 기술 #5013 최종 농도=1.25 nM

[0240] 포스포-p44/42 MAPK (Erk1/2) (Thr202/Tyr204) (E10) 마우스 수용체 항체 세포 신호전달 기술 #9106 최종 농도=0.17 nM

[0241] 포스포-MEK1/2 (Ser217/221) (41G9) 토끼 (바이오티닐화된) 공여체 항체 세포 신호전달 기술 #3958 최종 농도=0.625 nM

[0242] MEK1/2 (L38C12) 마우스 수용체 항체 세포 신호전달 기술 #4694 최종 농도=0.05 nM

[0243] **5. 검출 시약**

[0244] AlphaScreen® 마우스 IgG 검출 키트, 10,000 검정점 Perkin Elmer #6760606M 최종 농도=20 µg/mL

[0245] **B. 방법**

[0246] 1. 검정 1일 전에, 50,000 세포를 50 µL 용적의 96-웰 조직-배양-처리된 플레이트 (Corning #3610)의 각 웰에 분주시켰다. 세포를 37 °C에서 밤새 인큐베이션했다.

[0247] 2. 화합물을 DMSO에서 500X 최종 농도로 희석시켰다. 각각의 화합물을 DMSO 중 1:3 희석을 사용하여 8-포인트 적정으로서 분주시켰다. 최대 농도는 약 5 mM였다.

[0248] 3. 1 µl의 화합물을 96-웰 폴리프로필렌 플레이트 (Corning #363)의 각 웰에 첨가했다. A375, COL0829, SK-MEL-3, HCT116, 및 HT-29에 대해, 높은 대조군은 DMSO, 및 낮은 대조군은 10 µM PLX4720 (CAS No. 918505-84-7)였다. For B9 및 IPC-298에 대해, 높은 대조군은 3.33 µM PLX4720였고 낮은 대조군은 DMSO였다.

[0249] 4. 249 µL 성장 배지를 상기 화합물에 첨가하여 250-배로 희석시켰다.

[0250] 5. 50 µl의 희석된 화합물을, 500-배 최종 화합물 희석 (최대 농도는 전형적으로 10 µM)을 위해 50 µL 세포로 전달했다. 화합물을 37 °C에서 1시간 동안 세포와 함께 인큐베이션했다.

[0251] 6. 배지를 흡인하고, 세포를 50 µl의 빙랭 1X 세포 용해 완충액에 용해시켰다. 플레이트를 5 분 동안 얼음 위에서 인큐베이션하여 세포가 완전히 용해되도록 했다.

[0252] 7. 1X AlphaLISA 면역검정 완충액 중 바이오티닐화된 공여체 항체, 수용체 항체, 및 항-마우스 IgG AlphaScreen® 수용체 비드의 혼합물들을 제조했다.

[0253] 8. 5 µl의 용해물을 384-웰 검정 플레이트 (Perkin Elmer # 6005359)로 전달했다. 5 µl의 항체 및 수용체 비드 혼합물을 첨가했다. 플레이트를 회전시켰다.

[0254] ERK/MEK 인산화 및 성장 검정은 식 I이 SK-MEL-239 친계 및 베무라페닙-저항성 C3 세포주 모두에서 BRAF-V600E의 강력한 억제제임을 결정하기에 충분한 데이터를 산출한다. 구체적으로, 도 2(A) - 2(F)는 베무라페닙에 대조적으로 식 I이 RAS 돌연변이체 세포주에서 pERK 및 pMEK 수준을 증가시키지 않는다는 것을 입증한다.

[0255] **실시예 3: 식 I에 의한 다양한 BRAF V600 돌연변이체 단백질의 억제**

[0256] BRAF 단백질은 Plexxikon 사에서의 곤충 세포에서 키나제 도메인을 포함하는 N-말단으로 His-태그된 단편으로

생성되었다. V600A, V600G 또는 V600M 돌연변이를 함유하는 BRAF (S432 - R726)를 코딩하는 작제물과 V600E, V600K 또는 V600R 돌연변이를 함유하는 BRAF (D448 - K723)를 코딩하는 작제물이 사용되었다.

[0257] **BRAF**

[0258] BRAF, N-말단에 GST 태그와 융합된 잔기 L416 내지 H766은 곤충 세포에서 생성되었고, BRAF는 Millipore (Catalog # 14-530)로부터 구매되었다.

[0259] **CRAF**

[0260] CRAF, Y340/341의 이중 인산화를 모방한 Y340D 및 Y341D 활성화 치환체를 함유하는 잔기 Q307 내지 F648은 N-말단에서 GST 태그와 융합되었고 곤충 세포에서 생성되었고 그리고 CRAF는 Millipore (카탈로그 # 14-352)로부터 구매되었다.

[0261] **바이오티닐화된-MEK1**

[0262] MEK1, N-말단에서 GST 태그와, 그리고 C-말단에서 16 아미노산 바이오티닐화 태그와 융합된 키나제 불능화 돌연변이 K97A를 함유하는 잔기 M1 내지 V393은 Plexxikon 사에서의 E. 콜리에서 생성되었다

[0263] **키나제 완충액:**

[0264] 50mM HEPES, pH 7.5 50mM NaCl 2mM MgCl<sub>2</sub> 1mM MnCl<sub>2</sub> 1mM DTT 0.01% NP-40

[0265] **정지/검출 완충액:**

[0266] 50mM HEPES, pH 7.5 100mM EDTA 0.02% BSA 항-포스포-MEK1 (Cell Signal Technologies #9121) AlphaScreen™ 공여체 및 수용체 비드 (Perkin-Elmer #6760617)

[0267] **1. 방법**

[0268] 1) DMSO 내 시험 화합물을 연속으로 희석하고 384-웰 검정 플레이트에 1μL/웰로 도달한다.

[0269] 2) 키나제 완충액에 RAF 효소 및 바이오티닐화된-MEK1 기질 15μL/웰을 첨가한다.

[0270] 3) 키나제 완충액에 4μL의 ATP (500μM)를 첨가한다.

[0271] 4) 최종 DMSO는 약 5%였고; RAF 효소 및 MEK1의 농도를 각각의 검정에 대해 하기 표 2에 열거한다. 이들 조건에서, 효소는 기질로 포화되었다; ATP는 100μM이었다.

[0272] **표 2**

검정	키나제 (nM)	기질(nM)
BRAF_V600E	0.015	15
BRAF_V600A	0.56	28
BRAF_V600G	0.40	20
BRAF_V600K	0.21	21
BRAF_V600M	0.56	28
BRAF_V600R	0.4	20
BRAF	0.26	26
CRAF	0.15	15

[0273]

[0274] 5) 간단한 스핀 다운 후, 플레이트를 약 실온에서 40-50분 동안 인큐베이션한다.

[0275] 6) 최종 EDTA 20mM; 항-포스포-MEK1 1:2,500; 공여체/수용체 비드 3μg/mL에서 5μL의 정지 완충액을 첨가한다.

[0276] 7) 간단한 스핀 다운 후, 플레이트를 실온에서 약 3시간 동안 인큐베이션한다.

8) 플레이트를 Envision 다표지 플레이트 리더 (Perkin Elmer)에서 판독한다.

IC<sub>50</sub> 값을 하기 표 3에 나타낸다.

## 2. 결과

식 I은 V600E 및 모든 다른 시험된 비-V600E 돌연변이 BRAF 단백질에 대하여 강력한 억제제를 발휘한다 (표 3). 이것은 또한 야생형 BRAF와 활성화된 CRAF의 키나제 활성을 억제한다 (표 3).

**표 3: RAF 키나제의 상이한 형태에 대한 생화학적 IC<sub>50</sub>**

키나제	식 I IC <sub>50</sub> (μM)
BRAF	0.0143
CRAF	0.0226
BRAF_V600E	0.0044
BRAF_V600A	0.0142
BRAF_V600G	0.0063
BRAF_V600K	0.0039
BRAF_V600M	0.0098
BRAF_V600R	0.0035

**실시예 4: 야생형 BRAF를 발현하는 세포주, BRAFV600E 및 BRAFV600K 세포 (IC<sub>50</sub>, μM) 세포주에서 식 I의 화합물의 효력**

식 I의 화합물에 의한 BRAFV600E 유도된 종양 세포 증식의 선택적 억제는 BRAF 야생형 대립 유전자의 존재 또는 부재하에 돌연변이된 BRAF 유전자를 잠복시키는 세포의 패널에서 측정되었다. 베무라페닙 억제에 상대적으로 저항성이 있는 BRAFV600E 돌연변이체 세포주가 또한 포함되었다. 활성화된 BRAF 단백질의 억제를 통한 식 I의 화합물에 의한 선택적 작용 기전을 입증하기 위해, BRAF에서 돌연변이가 없고 KRAS 돌연변이 또는 대체 종양 유전자에 의해 형질전환된 종양 세포가 포함되었다. 요약하면, 식 I의 화합물은 돌연변이체 활성화된 BRAF 단백질 (V600E)을 잠복시키는 세포주의 성장의 강력하고 선택적인 억제제이다. 식 I의 화합물은 또한 베무라페닙 억제에 내성인 세포 (HT-29)를 억제하였다. 돌연변이체 KRAS 대립 유전자를 잠복시키는 세포의 증식 또는 다른 비-BRAF V600E 돌연변이 경로가 영향을 받지 않는 것으로 식 I의 선택성이 입증되었다.

증식에 대한 식 I의 효과를 결정하기 위해, 각각 BRAFV600E 돌연변이를 발현하는 흑색종 세포 (A375 및 COLO829) 및 결장 직장 암종 세포 (COLO205, HT-29)를 사용하여 성장 검정이 확립되었다. 야생형 BRAF에 대한 선택성을 나타내기 위해, 몇 개의 BRAF 야생형 세포주 (K562, NOMO-1, MV-4-11 및 ML-2)가 또한 성장 검정에서 검사되었다. 성장 검정은 세포 샘플에 존재하는 ATP의 양에 비례하는 발광성 판독을 제공하는, Promega CellTiter-Glo 발광성 세포 생존력 검정을 시행하였다. ATP 수준은 생존가능한 세포의 수와 직접적으로 관련되므로, 발광성 신호는 관심있는 세포주의 증식을 차단하는 식 I의 효력을 결정하기 위해 사용될 수 있다.

## 1. 물질 및 방법

### A. 시약

#### 1. 세포주

A375 흑색종은, 동종접합성 BRAFV600E; ATCC® CRL-1619™를 발현시킨다

COLO829 흑색종은, 이종접합성 BRAFV600E; ATCC® CRL-1974™를 발현시킨다

COLO205 결장직장 선암종은, 이종접합성 BRAFV600E; ATCC® CCL-222™를 발현시킨다

- [0292] HT-29 결장직장 선암종은, 이중접합성 BRAFV600E; ATCC® HTB-38™를 발현시킨다
- [0293] K562 만성 골수성 백혈병 (CML)은, BCR-ABL을 생성하는 9;22 염색체 전좌인 필라델피아 염색체를 발현시킨다. 또한 야생형 BRAF 및 KRAS; ATCC® CCL-243™를 발현시킨다
- [0294] ML-2 급성 골수단구 백혈병은, 활성화된 KRAS-A146T 및 야생형 BRAF; DSMZ # ACC 15를 발현시킨다
- [0295] MV-4-11 양표현형 B 골수단구 백혈병은, FLT-3 ITD, 야생형 BRAF 및 야생형 KRAS; ATCC® CRL-9591™를 발현시킨다
- [0296] NOMO-1 급성 골수 백혈병, 활성화된 KRAS-G13D, 및 야생형 BRAF; DSMZ # ACC 542를 발현시킨다
- [0297] SK-MEL-3 흑색종은, 이중접합성 BRAF-V600E; ATCC® HTB-69™를 발현시킨다
- [0298] **2. 세포 배양 배지**
- [0299] A375 & COLO829 돌베코 변형된 이글 배지 (DMEM), ATCC #30-2002 10% 우태 혈청, Invitrogen # 10438-026 1% 페니실린-스트렙토마이신, Invitrogen # 15140-122
- [0300] COLO205 & NOMO-1 & ML-2 RPMI Medium 1640, Invitrogen # 11875-119 10% 우태 혈청, Invitrogen # 10438-026 1% 페니실린-스트렙토마이신, Invitrogen # 15140-122
- [0301] HT-29 McCoy's 5A (변형된) Medium, Invitrogen # 16600-108 10% 우태 혈청, Invitrogen # 10438-026 1% 페니실린-스트렙토마이신, Invitrogen # 15140-122
- [0302] K562 & MV-4-11 이스코브 변형 돌베코 배지 (IMDM), Invitrogen # 16600-108
- [0303] 10% 우태 혈청, Invitrogen # 10438-026 1% 페니실린-스트렙토마이신, Invitrogen # 15140-122
- [0304] SK-MEL-3 McCoy's 5A (변형된) Medium, Invitrogen # 16600-108 15% 우태 혈청, Invitrogen # 10438-026 1% 페니실린-스트렙토마이신, Invitrogen # 15140-122
- [0305] **3. 배양판**
- [0306] Corning® 96 웰 깨끗한 V-바닥면 폴리프로필렌 비처리 마이크로플레이트(, 백당 25, 비멸균된 뚜껑 없음) (제품 #3363)
- [0307] Corning® 96 웰 편평 맑은 바닥면 백색 폴리스티렌 TC-처리 마이크로플레이트(멸균된 뚜껑으로 개별적으로 랩핑됨) (제품 #3610)
- [0308] **4. 검출 시약**
- [0309] CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay, Promega #G7573
- [0310] **B. 방법**
- [0311] 1. 3,000 세포를 세포주 A375, COLO205, COLO829, HT-29, 및 SK-MEL-3에 대한 각각의 웰에서 분주시켰다. 25,000 세포를 50  $\mu$ L 용적의 96-웰 조직-배양-처리된 플레이트 (Corning #3610)의 세포주 K562, ML-2, MV-4-11, 및 NOMO-1에 대한 각각의 웰에서 분주시켰다. 세포를 밤새 37 °C에서 인큐베이션했다.
- [0312] 2. 각각의 시험 화합물을 DMSO 중 1:3 희석을 사용하여 8-포인트 적정으로서 분주시켰다. 최대 농도는 약 5 mM였다. DMSO 및 식 I의 시험 화합물을 1:250로 성장 배지에서 희석시켰다.
- [0313] 3. 50  $\mu$ L의 희석된 화합물을, 500-배 최종 화합물 희석을 위해 50  $\mu$ L 세포로 전달했다 (최대 농도는 전형적으로 10  $\mu$ M 및 DMSO 농도는 0.2%였다). 세포를 5% CO<sub>2</sub>에서 3 일 동안 37 °C에서 DMSO/화합물과 함께 인큐베이션했다.
- [0314] 4. 세포 Titer-Glo 발광성 검정 시약을 실온이 되도록 하고 제품 매뉴얼에서 지향된 바와 같이 재구성했다. 세포 배양물을 또한 약 20-30 분 동안 실온이 되도록 했다. 25  $\mu$ L 용적의 재구성된 세포 Titer-Glo 시약을 세포에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 약 10 분 동안 인큐베이션하여 세포가 용해되도록 했다.
- [0315] 5. 발광을 Tecan Safire 플레이트 리더 상에서 측정했다.
- [0316] **2. 결과**

[0317] 결과는 아래의 표 4에서 요약된다.

[0318] 표 4

세포주	원발 종양	BRAF (유전자형)	RAS (유전자형)	식 I (IC <sub>50</sub> , μM)
K562	만성 골수 백혈병	WT	WT	> 10
ML-2	급성 골수단구 백혈병	WT	KRAS-A146T	> 10
MV-4-11	양표현형 B 골수단핵구성 백혈병	WT	WT	> 10
NOMO-1	급성 골수 백혈병	WT	KRAS-G13D	> 10
A375	흑색종	V600E	WT	0.05
Colo205	결장직장 선암종	V600E/WT	WT	0.01
Colo829	흑색종	V600E/WT	WT	0.1
HT-29	결장직장 선암종	V600E/WT	WT	0.84

[0319]

[0320] 식 I의 화합물은 이중접합성 (COLO205, COLO829, HT-29) 및 동종접합성 BRAFV600E (A375) 발현 세포주에서 강력한 억제제였다. 구체적으로, 상기 결과는 식 I이 BRAFV600E를 발현하는 2개의 흑색종 세포주 (A375 및 COLO829) 및 추가 결장 직장암 세포주 COLO205 및 HT29의 시험관내 성장을 억제했다는 것을 입증한다. 식 I의 선택성은 BRAF 야생형 세포주 K562, ML-2, NOMO-1 및 MV-4-11에서 억제제의 결여에 의해 명확히 실증되었다.

[0321] 실시예 5: KIAA1549-BRAF 융합을 안정적으로 발현하는 NIH/3T3 세포는 PLX4720의 존재에서 가속화된 종양 성장을 나타내는 반면에 식 I은 BRAF 융합 이중이식의 성장을 억제한다

[0322] KIAA1549-BRAF 융합 (융합-1, 융합-2, 융합-3, 및 융합-4)을 안정적으로 발현하는 NIH/3T3 (ATCC® CRL-1658™)세포가 balb/c nu/nu 마우스의 옆구리로 주사되었다. 종양성장은 캘리퍼스로 측정되었다. 타원체 종양 부피가 다음 식을 사용하여 계산되었다: 부피 = 1/2 · 길이 · 폭<sup>2</sup>.

[0323] 4개의 KIAA1549-BRAF 융합 중 3개를 발현하는 NIH/3T3 세포는 PLX4720 (CAS No. 918505-84-7; PLX4720는 문헌 [Tsai 등 2008]에 기재된 바와 같이 합성될 수 있음) 섭취로 복용된 면역-결핍된 balb/c nu/nu 마우스의 옆구리에 주사될 때 생체내에서 저항을 실증했으며 종양 성장을 증가시켰다. 식 I의 화합물은 모든 3개의 이중 이식 (4개 KIAA1549-BRAF 융합 중 3개를 발현하는 NIH/3T3 세포)의 성장을 50% 이상 억제하였다 (도 3; y 축은 종양 부피를 입방 밀리미터로 나타내고; x 축, 주사 이후 일수). 이들 데이터는 식 I의 화합물이 소아 별아교세포종을 특징짓는 KIAA1549-BRAF 융합을 성공적으로 표적화할 수 있고, BRAF-융합-매개된 암에서 이 화합물의 적용에 대한 지지를 제공한다는 것을 시사한다.

[0324] 실시예 6: 식 I 및 식 II의 화합물에 대한 합성예

[0325] 모든 용매 및 시약을 상업적 공급원으로 취득하여 사용했다. 개시 물질을 상업적 공급원으로부터 구매하거나 문헌에서 보고된 방법에 따라 제조했다. 공기 또는 수분 감수성 시약을 수반하는 반응물을 질소 분위기 하에서 수행했다. NMR 스펙트럼을, Oxford AS400 자석이 구비된 Agilent 400 MHz MR DD2 분광기 시스템으로 중수소화된 용매에서 기록했다. 화학적 이동은 특수기호 단위로 표현되고 잔차를 기준으로 한다 <sup>1</sup>H 용매 신호. 모든 결합 상수 (J)는 Hertz로 보고된다 (s = 단일항, d = 이중항, t = 삼중항, q = 사중항, m = 다중항, br = 확산 피크, dd = 이중항의 이중항, ddd = 이중항의 이중항의 이중항, dm = 다중항의 이중항). 질량 스펙트럼 분석적 순도를, 역방식으로 작동하는 Shimadzu 20A HPLC 시스템에 커플링된 Shimadzu LCMS-2020로 측정했다. 분석적 순도는 최종 화합물에 대해 95% 초과였고, 하기 고성능 액체 크로마토그래피 ("HPLC") 방법을 사용하여 결정되었다: 완충액 A: 5% 아세트ونی트릴, 95% 물, 0.01% 포름산, 완충액 B: 95% 아세트ونی트릴, 5% 물, 0.01% 포름산, SiliaChrom XDB C18, 5 μm, 2.1 x 50 mm, 5-95% B in 6 분, 1.0 ml/분, 220 nm 및 254 nm, ESI 양성, 300 -



800 amu.

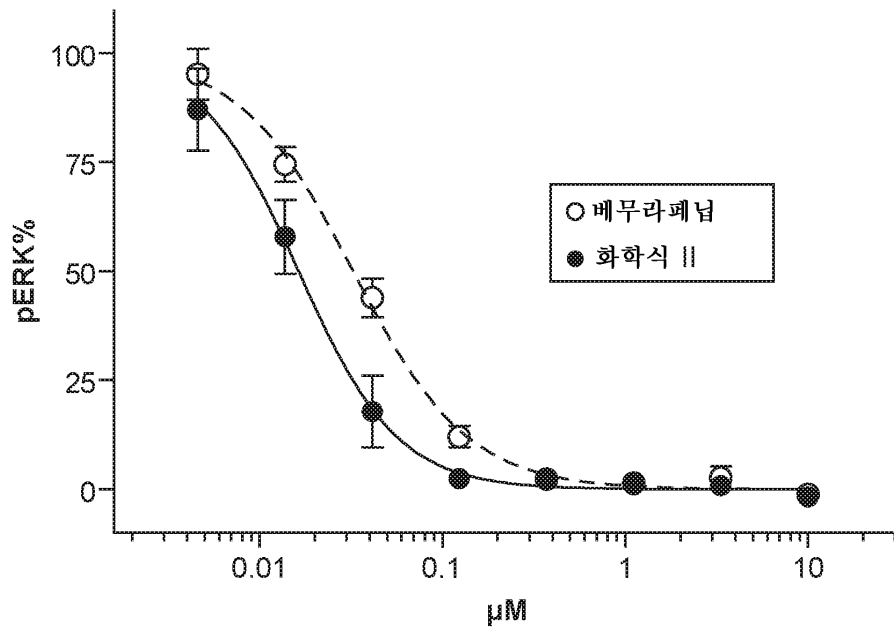
- [0326] 2,6-디플루오로-3-니트로벤조일 염화물의 합성. 2,6-디플루오로-3-니트로벤조산 (200 g, 0.985 mol)을 티오닐 염화물 (737 mL, 10.2 mol)에 첨가하고, 반응을 80 °C에서 16시간 동안 교반하고, 그 다음 실온으로 냉각되도록 했다. 휘발성물질을 감압 하에서 제거하고, 수득한 오일을 톨루엔에 용해시키고, 톨루엔을 감압 하에서 제거하고, 톨루엔의 첨가 및 제거를 몇 번 반복하여 표제 화합물을 오일로서 제공했고, 이것을 다음 단계에서 직접적으로 사용했다 (218 g).
- [0327] (2,6-디플루오로-3-니트로페닐)(5-아이오도-1H-피롤로[2,3-b]피리딘-3-일)메탄온의 합성. 니트로메탄 (1640 mL) 중 5-아이오도-1H-피롤로[2,3-b]피리딘 (160 g, 0.656 mol) 및 알루미늄 염화물 (525 g, 3.94 mol) 을 실온에서 1시간 동안 교반되도록 하고, 그 다음 니트로메탄 (1640 mL) 중 2,6-디플루오로-3-니트로벤조일 염화물 (218 g, 0.985 mmol)을 첨가하고 혼합물을 50 °C에서 4 일 동안 가열하고, 0 °C로 냉각시킨 후, 반응을 메탄올 (1.5 L)의 적가로 켄칭하여, 침전물을 얻었다. 혼합물을 물 (2 L)로 희석하고, 여과했다. 조 생성물을 메틸 tert-부틸 에테르로 분쇄하고, 여과시켜 표제 화합물을 황갈색 고형물로서 얻었고, 이것을 다음 단계에서 직접적으로 사용했다 (281 g).
- [0328] (3-아미노-2,6-디플루오로페닐)(5-아이오도-1H-피롤로[2,3-b]피리딘-3-일)메탄온의 합성. 아세트산에틸 (10.9 L) 및 테트라하이드로푸란 (10.9 L) 중 (2,6-디플루오로-3-니트로페닐)(5-아이오도-1H-피롤로[2,3-b]피리딘-3-일)메탄온 (281 g, 656 mmol)에, 60 °C에서 가열하면서 주석(II) 염화물 이수화물 (517 g, 2.72 mol)을 나누어서 첨가하고, 반응 혼합물을 이 온도에서 밤새 유지하고, 실온으로 냉각시킨 후, 반응 혼합물을 50% 포화된 수성 중탄산나트륨 (1:1 물 및 포화된 수성 중탄산나트륨)으로 켄칭하고, 셀라이트를 통해 여과하고 상기 케이크를 아세트산에틸로 세정하고, 층들을 분리하고 유기층을 염수로 세정하고, 그 다음 감압 하에서 농축하여 조 생성물을 얻었고, 이것을 메틸 tert-부틸 에테르로 분쇄하고, 여과시켜 표제 화합물을 황갈색 고형물 (216 g, 541 mmol, 83 % 수율, ~85% 순도)로서 얻었다.
- [0329] (3-아미노-2,6-디플루오로페닐)(5-(2-사이클로프로필피리미딘-5-일)-1H-피롤로[2,3-b]피리딘-3-일)메탄온의 합성. 디옥산 (930 mL) 및 물 (465 mL) 중 (3-아미노-2,6-디플루오로페닐)(5-아이오도-1H-피롤로[2,3-b]피리딘-3-일)메탄온 (93 g, 233 mmol), 2-사이클로프로필-5-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란-2-일)피리미딘 (229 g, 466 mmol, ~50% 순도), 탄산칼륨 (97 g, 700 mmol) 및 [1,1'-비스(디페닐포스포노)페로센]디클로로팔라듐(II) (19.0 g, 23.3 mmol)의 혼합물을 100 °C에서 몇 시간 동안 가열했다. 냉각 시에, 반응 혼합물을 물로 희석하고 테트라하이드로푸란 및 아세트산에틸의 혼합물로 추출하고, 유기층을 분리하고 감압 하에서 농축하여 조 생성물을 얻었고, 이것을 디클로로메탄/메틸 tert-부틸 에테르로 분쇄하고, 여과하고, 메틸 tert-부틸 에테르로 세정하여 표제 화합물을 황갈색 고형물 (71 g, 78% 수율)로서 얻었다.
- [0330] 5-(2-사이클로프로필피리미딘-5-일)-3-[3-[[에틸(메틸)설파모일]아미노]-2,6-디플루오로-벤조일]-1H-피롤로[2,3-b]피리딘 (식 II)의 합성. 피리딘 (1375 mL) 중 (3-아미노-2,6-디플루오로페닐)(5-(2-사이클로프로필피리미딘-5-일)-1H-피롤로[2,3-b]피리딘-3-일)메탄온 (53.8 g, 138 mmol)에 에틸(메틸)설파모일 염화물 (65.0 g, 412 mmol)을 첨가하고 반응을 65 °C에서 밤새 가열했다. 휘발성물질을 감압 하에서 제거하고, 잔류물을 물 및 아세트산에틸/테트라하이드로푸란 사이에서 분배시키고, 유기층을 감압 하에서 농축하고 조 생성물을 얻었고, 이것을 실리카겔 상에 건조 장입시키고, 0-10% 메탄올/디클로로메탄로 2회 용출시키고, 그 다음 아세트산에틸로 1회 용출하는 실리카겔 칼럼 크로마토그래피로 정제시켰다. 요망된 생성물을 함유하는 분획을 모으고 감압 하에서 농축했다. 수득한 고형물을 메틸 tert-부틸 에테르로 분쇄하고, 여과시켜 표제 화합물을 백색 고형물(21 g)로써 얻었다. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 13.07 (br s, 1H), 9.71 (br s, 1H), 9.03 (s, 2H), 8.76 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.59 (ddd, J = 5.9 Hz, 9.0 Hz, 9.0 Hz, 1H), 7.27 (dd, J = 9.0 Hz, 9.0 Hz, 1H), 3.12 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 2.74 (s, 3H), 2.29 (m, 1H), 1.09 (m, 4 H), 0.95 (t, J = 7.0 Hz, 3H). LC/MS (ESI+) m/z: 513.3 (M+H<sup>+</sup>).
- [0331] (3R)-N-[3-[5-(2-사이클로프로필피리미딘-5-일)-1H-피롤로[2,3-b]피리딘-3-카보닐]-2,4-디플루오로-페닐]-3-플루오로-피롤리딘-1-설폰아미드 (식 I)의 합성. 이러한 물질을, (3R)-3-플루오로피롤리딘-1-설폰일 염화물 대신에 에틸(메틸)설파모일 염화물을 사용하여 식 II와 유사한 방식으로 제조했다. 생성물을 역상 HPLC로 정제하여 동결건조 후, 표제 화합물을 백색 고형물로서 제공했다. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 13.05 (br s, 1H), 9.84 (br s, 1H), 9.01 (s, 2H), 8.73 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.62 (ddd, J = 5.9 Hz, 9.0 Hz, 9.0 Hz, 1H), 7.26 (dd, J = 9.0 Hz, 9.0 Hz, 1H), 5.29 (dm, J = 51.6 Hz (H-F), 1H), 3.43 (dm, 2H), 3.33 (m,

2H), 2.27 (m, 1H), 2.04 (m, 2H), 1.06 (m, 4H). LC/MS (ESI+)  $m/z$ : 542.9 ( $M+H^+$ ).

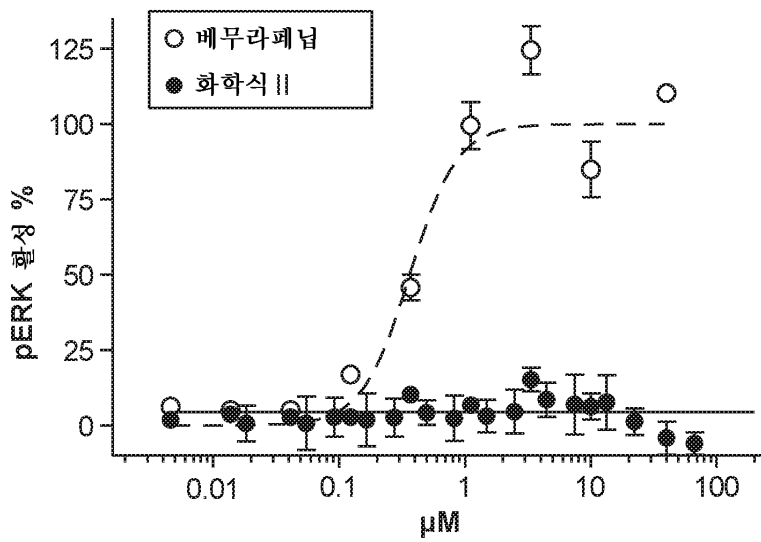
- [0332] 본 명세서에 인용된 모든 특허 및 다른 참조문헌은 본 개시내용이 속하는 당해분야의 숙련가의 기술 수준을 나타내며, 각각의 참조문헌은 그 전문이 개별적으로 참고로 편입되는 바와 같은 동일한 정도로 각각의 표 및 도면을 포함하여, 그것의 전체가 참고로 편입된다.
- [0333] 당해 분야의 숙련가는 본 개시내용이 여기에 고유한 것들뿐만 아니라 여기에 언급된 목적 및 이점을 얻도록 잘 적응된다는 것을 쉽게 이해할 것이다. 현재 바람직한 구현예의 대표로서 본 명세서에 기재된 방법, 변동 및 조성물은 예시적인 것이며 본 개시내용의 범위를 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 본 개시내용의 사상 내에 포괄되고 청구항의 범위에 의해 한정되는, 여기에서의 변경 및 다른 사용이 당해 분야의 숙련가에게 일어날 것이다.
- [0334] 본 명세서에 예시적으로 기재된 개시내용은 본 명세서에서 구체적으로 개시되지 않은 임의의 요소 또는 요소들, 제한 또는 제한들의 부재에서 적합하게 실시될 수 있다. 따라서, 예를 들면, 본 명세서에 각각의 사례에서 임의의 용어들 "포함하는", "본질적으로 구성되는" 및 "구성되는"은 다른 2개의 용어들 중 어느 하나로 대체될 수 있다. 따라서, 용어들 중 하나를 사용하는 개시내용의 구현예에 대해, 본 개시내용은 또한 또 다른 구현예를 포함하고 여기서 이들 용어들 중 하나는 이들 용어들 중 또 다른 것으로 대체된다. 각각의 구현예에서, 용어들은 그것의 확립된 의미를 갖는다. 따라서, 예를 들면, 하나의 구현예는 일련의 단계를 "포함하는" 방법을 포괄할 수 있고, 또 다른 구현예는 동일한 단계로 "본질적으로 구성되는" 방법을 포괄할 것이며, 제3 구현예는 동일한 단계로 "구성되는" 방법을 포괄할 것이다. 이용된 용어들 및 표현들은 제한이 아닌 설명의 용어들로 사용되고, 그리고 특징의 임의의 증가물을 배제하는 이러한 용어들 및 표현들의 사용에 있어서 나타나고 기재된 어떠한 의도 또는 그것의 일부도 없지만, 청구된 개시내용의 범위 내에서 다양한 변형이 가능하다는 것이 인식된다. 따라서, 비록 본 개시내용이 바람직한 구현예 및 선택적인 특징에 의해 구체적으로 개시되었지만, 본 명세서에 개시된 개념들의 변형 및 변동이 당해 분야의 숙련가에 의해 재분류될 수 있고, 그러한 변형 및 변동이 첨부된 청구항들에 의해 한정된 바와 같은 본 개시내용의 범위 내에 있는 것으로 간주된다고 이해되어야 한다.
- [0335] 또한, 본 개시내용의 특징 또는 측면이 마쿠쉬 그룹 또는 대안의 다른 그룹화의 관점에서 기재되는 경우, 당해 분야의 숙련가는 본 개시내용이 또한 이로써 마쿠쉬 그룹 또는 다른 그룹의 구성원의 임의의 개별적인 구성원 또는 하위 그룹의 관점에서 기재되었다는 것을 인식할 것이다.
- [0336] 또한, 상반되게 나타내지 않는 한, 다양한 수치가 구현예에 제공되는 경우, 추가 구현예가 범위의 종점과 같은 임의의 2개의 상이한 값을 취함으로써 기재된다. 이러한 범위는 또한 기재된 개시내용의 범위 내이다.
- [0337] 따라서, 추가 구현예는 본 개시내용의 범위 및 하기 청구항 내에 있다.

도면

도면1a

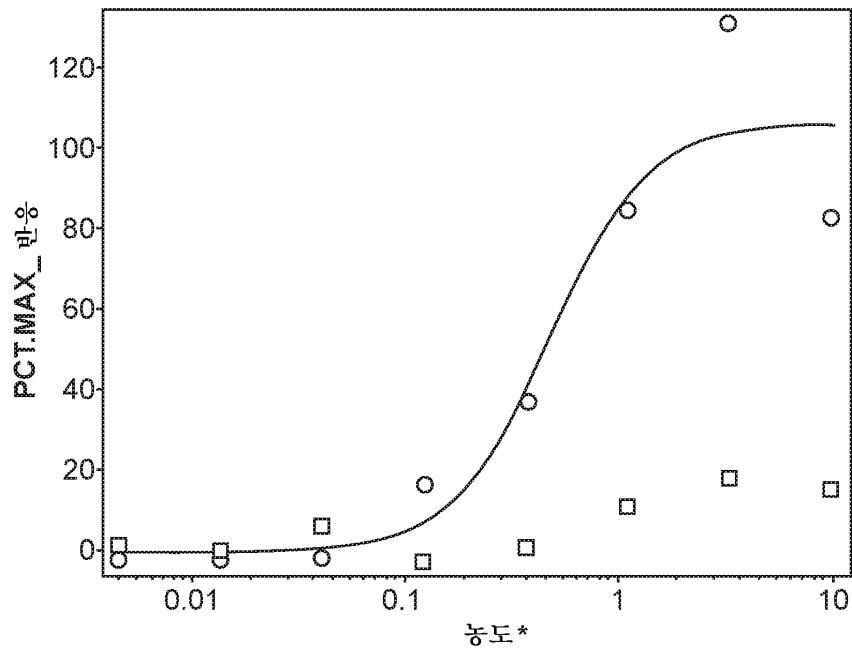


도면1b

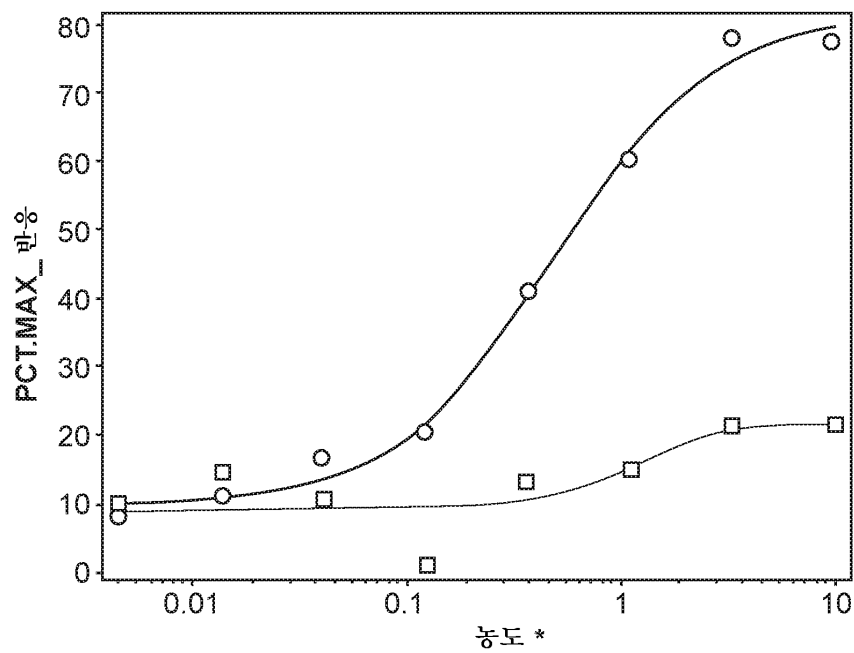




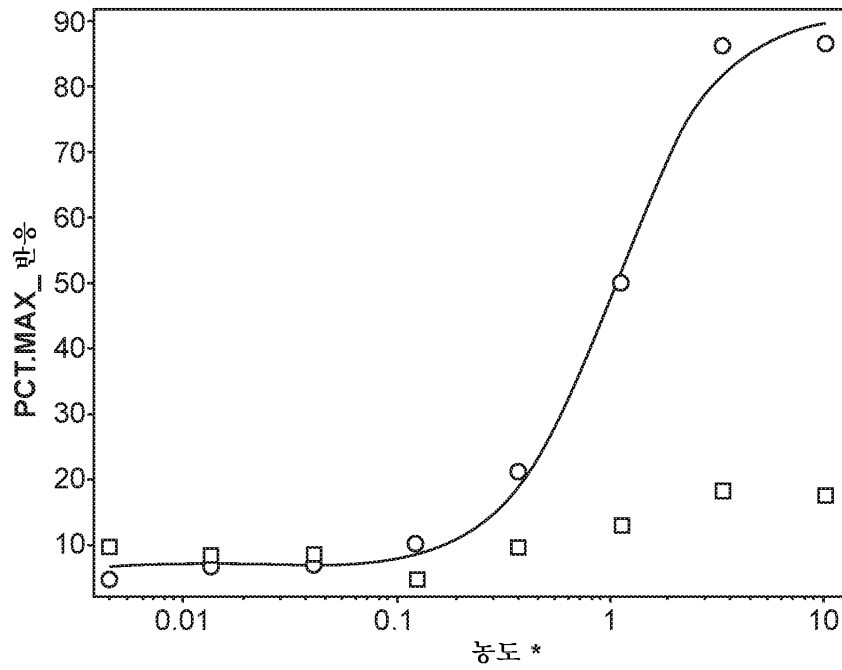
도면2a



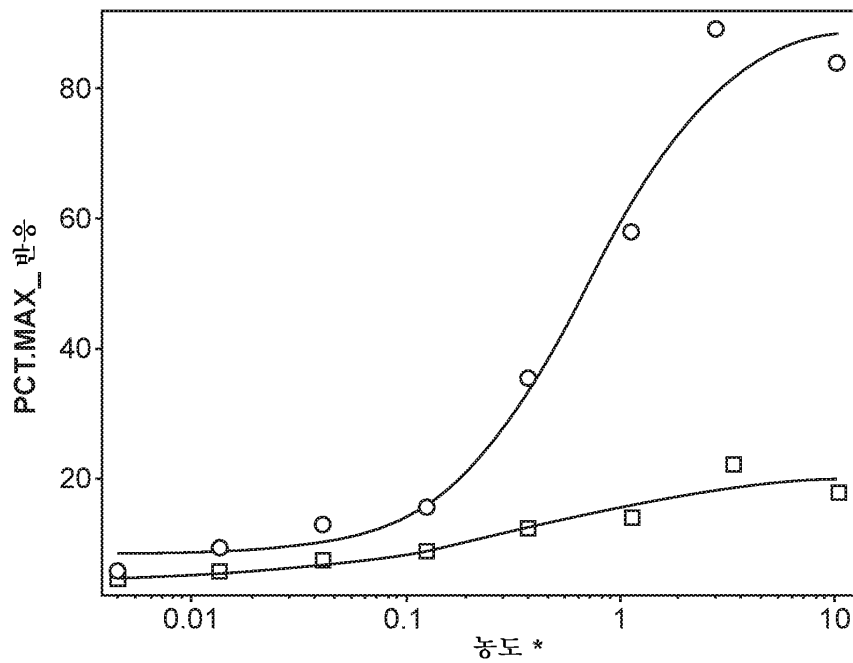
도면2b



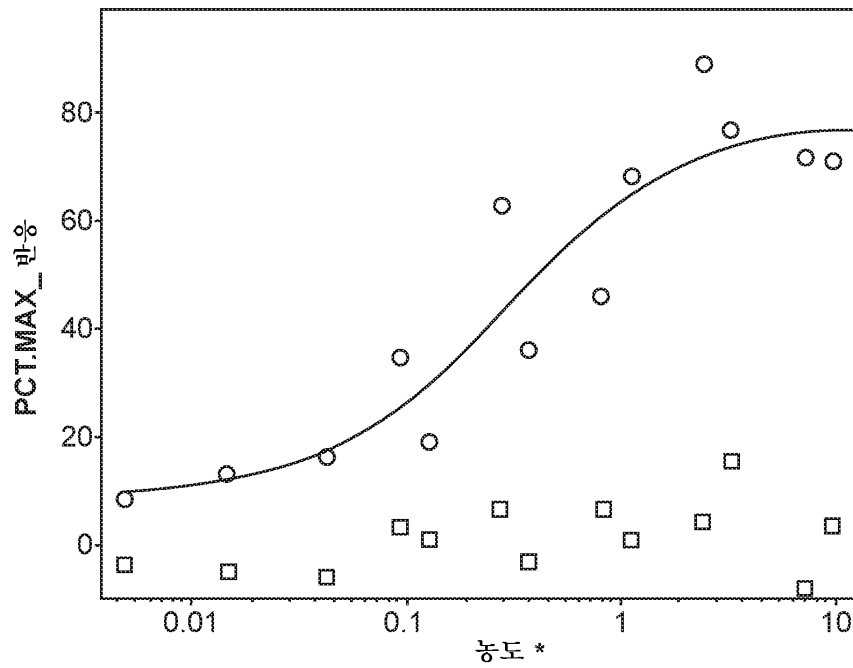
도면2c



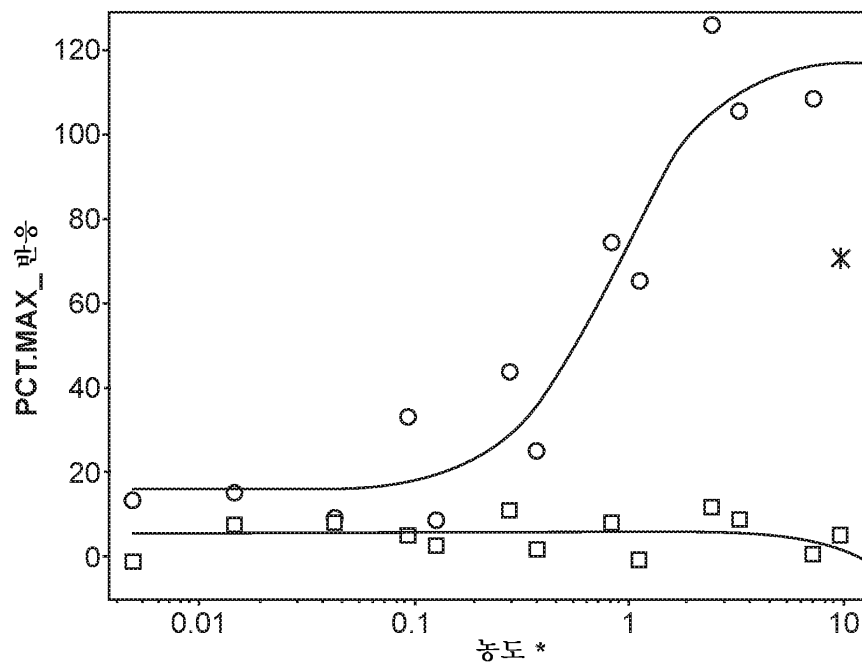
도면2d



도면2e



도면2f



도면3

KIAA1549-BRAF 융합 NIH/3T3 세포: 옆구리 종양

