



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0016858
(43) 공개일자 2017년02월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/551 (2006.01) *A61K 31/436* (2006.01)
A61K 31/4545 (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)
A61K 47/32 (2017.01) *A61K 47/38* (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01) *A61K 9/16* (2006.01)
A61K 9/48 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/551 (2013.01)
A61K 31/436 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2016-7034744

(22) 출원일자(국제) 2015년06월12일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2016년12월12일

(86) 국제출원번호 PCT/IB2015/054457

(87) 국제공개번호 WO 2015/189814

국제공개일자 2015년12월17일

(30) 우선권주장

62/012,042 2014년06월13일 미국(US)
(뒷면에 계속)

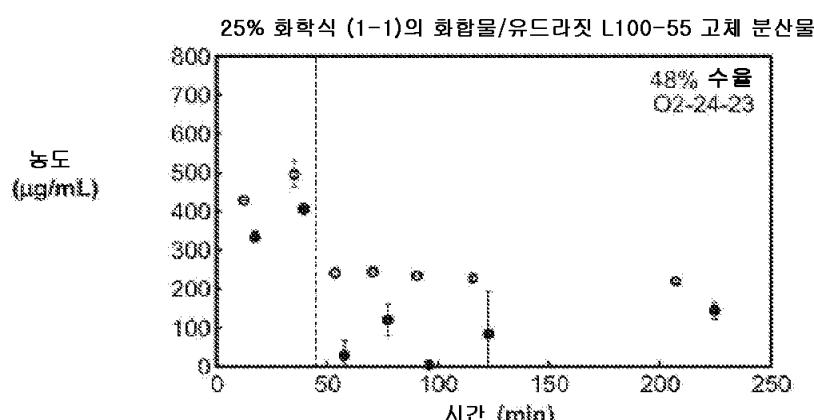
전체 청구항 수 : 총 22 항

(54) 발명의 명칭 티에노트리아졸로디아제핀 화합물을 사용하는 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료 방법

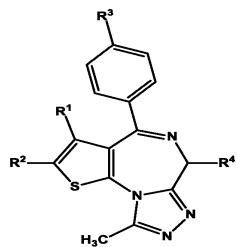
(57) 요약

본 발명은 포유 동물에서의 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료 방법으로서, 약학적으로 허용되는 양 (뒷면에 계속)

대 표 도



의, 하기 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 수화물 또는 용매화물을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 치료 방법을 제공한다:



(1)

상기 식 중, R^1 은 1~4의 탄소수를 갖는 알킬이고, R^2 는 수소 원자; 할로겐 원자; 또는 임의로 할로겐 원자 또는 히드록실기로 치환된 1~4의 탄소수를 갖는 알킬이며, R^3 은 할로겐 원자; 임의로 할로겐 원자, 1~4의 탄소수를 갖는 알킬, 1~4의 탄소수를 갖는 알콕시 또는 시아노로 치환된 폐닐; $-NR^5-(CH_2)_m-R^6$ (식 중, R^5 는 수소 원자 또는 1~4의 탄소수를 갖는 알킬이고, m 은 0~4의 정수이며, R^6 은 임의로 할로겐 원자로 치환된 폐닐 또는 피리딜 임); 또는 $-NR^7-CO-(CH_2)_n-R^8$ (식 중, R^7 은 수소 원자 또는 1~4의 탄소수를 갖는 알킬이고, n 은 0~2의 정수이며, R^8 은 임의로 할로겐 원자로 치환된 폐닐 또는 피리딜임)이고, R^4 는 $-(CH_2)_a-CO-NH-R^9$ (식 중, a 는 1~4의 정수이고, R^9 는 1~4의 탄소수를 갖는 알킬임); 1~4의 탄소수를 갖는 히드록시알킬; 1~4의 탄소수를 갖는 알콕시; 또는 임의로 1~4의 탄소수를 갖는 알킬, 1~4의 탄소수를 갖는 알콕시, 아미노 또는 히드록실 기 또는 $-(CH_2)_b-COOR^{10}$ (식 중, b 는 1~4의 정수이고, R^{10} 은 1~4의 탄소수를 갖는 알킬임)으로 치환된 폐닐 또는 피리딜이다.

(52) CPC특허분류

- A61K 31/4545** (2013.01)
- A61K 45/06** (2013.01)
- A61K 47/32** (2013.01)
- A61K 47/38** (2013.01)
- A61K 9/146** (2013.01)
- A61K 9/1652** (2013.01)
- A61K 9/4858** (2013.01)
- A61K 9/4866** (2013.01)
- A61K 2300/00** (2013.01)

(30) 우선권주장

62/012,051	2014년06월13일	미국(US)
62/080,760	2014년11월17일	미국(US)
62/080,779	2014년11월17일	미국(US)
62/086,466	2014년12월02일	미국(US)

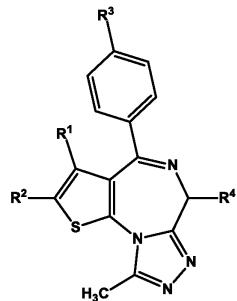
명세서

청구범위

청구항 1

포유 동물에서의 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료 방법으로서,

약학적으로 허용되는 양의, 하기 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 수화물 또는 용매화물인 화합물을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 치료 방법:



상기 식 중,

R¹은 1~4의 탄소수를 갖는 알킬이고,

R²는 수소 원자; 할로겐 원자; 또는 임의로 할로겐 원자 또는 히드록실기로 치환된 1~4의 탄소수를 갖는 알킬이며,

R³은 할로겐 원자; 임의로 할로겐 원자, 1~4의 탄소수를 갖는 알킬, 1~4의 탄소수를 갖는 알콕시 또는 시아노로 치환된 폐닐; -NR⁵-(CH₂)_m-R⁶(식 중, R⁵는 수소 원자 또는 1~4의 탄소수를 갖는 알킬이고, m은 0~4의 정수이며, R⁶은 임의로 할로겐 원자로 치환된 폐닐 또는 피리딜임); 또는 -NR⁷-CO-(CH₂)_n-R⁸(식 중, R⁷은 수소 원자 또는 1~4의 탄소수를 갖는 알킬이고, n은 0~2의 정수이며, R⁸은 임의로 할로겐 원자로 치환된 폐닐 또는 피리딜임)이고,

R⁴는 -(CH₂)_a-CO-NH-R⁹(식 중, a는 1~4의 정수이고, R⁹는 1~4의 탄소수를 갖는 알킬임); 1~4의 탄소수를 갖는 히드록시알킬; 1~4의 탄소수를 갖는 알콕시; 또는 임의로 1~4의 탄소수를 갖는 알킬, 1~4의 탄소수를 갖는 알콕시, 아미노 또는 히드록실 기 또는 -(CH₂)_b-COOR¹⁰(식 중, b는 1~4의 정수이고, R¹⁰은 1~4의 탄소수를 갖는 알킬임)으로 치환된 폐닐 또는 피리딜이다.

청구항 2

제1항에 있어서, 포유 동물에서의 비소세포성 폐암 또는 소세포성 폐암의 치료 방법인 치료 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, mTOR 억제제 및 ALK 억제제로 이루어진 군에서 선택되는 약물을 투여하는 것을 더 포함하는 치료 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 및 약물은 동시에 투여되는 치료 방법.

청구항 5

제3항에 있어서, 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 및 약물은 순차로 투여되는 치료 방법.

청구항 6

제3항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 약물은 mTOR 억제제인 치료 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, mTOR 억제제는 라파마이신, 템시롤리무스, 리다포롤리무스 및 에베로리무스로 이루어진 군에서 선택되는 치료 방법.

청구항 8

제7항에 있어서, mTOR 억제제는 에베로리무스인 치료 방법.

청구항 9

제3항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 약물은 ALK 억제제인 치료 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, ALK 억제제는 크리조티닙인 치료 방법.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물을 하기로 이루어진 군에서 선택되는 치료 방법:

(i) (S)-2-[4-(4-클로로페닐)-2,3,9-트리메틸-6H-티에노[3,2-f][1,2,4]트리아졸로-[4,3-a][1,4]디아제핀-6-일]-N-(4-히드록시페닐)아세트아미드 또는 이의 이수화물;

(ii) 메틸 (S)-{4-(3'-시아노비페닐-4-일)-2,3,9-트리메틸-6H-티에노[3,2-f][1,2,4]트리아졸로[4,3-a][1,4]디아제핀-6-일}아세테이트;

(iii) 메틸 (S)-{2,3,9-트리메틸-4-(4-페닐아미노페닐)-6H-티에노[3,2-f][1,2,4]트리아졸로[4,3-a][1,4]디아제핀-6-일}아세테이트; 및

(iv) 메틸 (S)-{2,3,9-트리메틸-4-[4-(3-페닐프로피오닐아미노)페닐]-6H-티에노[3,2-f][1,2,4]트리아졸로[4,3-a][1,4]디아제핀-6-일}아세테이트.

청구항 12

제11항에 있어서, 화학식 (1)로 표시되는 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 (S)-2-[4-(4-클로로페닐)-2,3,9-트리메틸-6H-티에노[3,2-f][1,2,4]트리아졸로-[4,3-a][1,4]디아제핀-6-일]-N-(4-히드록시페닐)아세트아미드 이수화물인 치료 방법.

청구항 13

제11항에 있어서, 화학식 (1)로 표시되는 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 (S)-2-[4-(4-클로로페닐)-2,3,9-트리메틸-6H-티에노[3,2-f][1,2,4]트리아졸로-[4,3-a][1,4]디아제핀-6-일]-N-(4-히드록시페닐)아세트아미드인 치료 방법.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 고체 분산물로서 형성된 것인 치료 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 고체 분산물은 화학식 (1)의 비정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 수화물; 및 약학적으로 허용되는 중합체를 포함하는 치료 방법.

청구항 16

제15항에 있어서, 약학적으로 허용되는 중합체는 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 대 히드록시프로필메틸셀룰로오스 아세테이트 숙시네이트(HPMCAS) 중량비가 1:3 내지 1:1인 히드록시프로필메틸셀룰로오스 아세테이트 숙시네이트인 치료 방법.

청구항 17

제14항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 고체 분산물은 결정질의 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물과 관련된 회절선이 실질적으로 없는 X선 분말 회절 패턴을 나타내는 치료 방법.

청구항 18

제14항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 고체 분산물은 약 130°C 내지 약 140°C 범위의 단일의 유리 전이 온도(Tg) 변곡점을 나타내는 치료 방법.

청구항 19

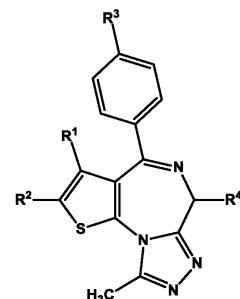
제14항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 고체 분산물은 (S)-2-[4-(4-클로로페닐)-2,3,9-트리메틸-6H-티에노[3,2-f][1,2,4]트리아졸로-[4,3-a][1,4]디아제핀-6-일]-N-(4-히드록시페닐)아세트아미드 이수화물의 비정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물; 및 약학적으로 허용되는 중합체를 포함하는 치료 방법.

청구항 20

제19항에 있어서, 고체 분산물은 (S)-2-[4-(4-클로로페닐)-2,3,9-트리메틸-6H-티에노[3,2-f][1,2,4]트리아졸로-[4,3-a][1,4]디아제핀-6-일]-N-(4-히드록시페닐)아세트아미드 이수화물의 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물과 관련된 회절선이 실질적으로 없는 X선 분말 회절 패턴을 나타내는 치료 방법.

청구항 21

비소세포성 폐암 또는 소세포성 폐암의 치료에 사용하기 위한, 하기 화학식 (1)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 수화물 또는 용매화물:



상기 식 중,

R¹은 1~4의 탄소수를 갖는 알킬이고,

R²는 수소 원자; 할로겐 원자; 또는 임의로 할로겐 원자 또는 히드록실기로 치환된 1~4의 탄소수를 갖는 알킬이며,

R³은 할로겐 원자; 임의로 할로겐 원자, 1~4의 탄소수를 갖는 알킬, 1~4의 탄소수를 갖는 알콕시 또는 시아노로 치환된 폐닐; -NR⁵-(CH₂)_m-R⁶(식 중, R⁵는 수소 원자 또는 1~4의 탄소수를 갖는 알킬이고, m은 0~4의 정수이며, R⁶은 임의로 할로겐 원자로 치환된 폐닐 또는 피리딜임); 또는 -NR⁷-CO-(CH₂)_n-R⁸(식 중, R⁷은 수소 원자 또는 1~4의 탄소수를 갖는 알킬이고, n은 0~2의 정수이며, R⁸은 임의로 할로겐 원자로 치환된 폐닐 또는 피리딜임)이고,

R^4 는 $-(CH_2)_a-CO-NH-R^9$ (식 중, a는 1~4의 정수이고, R^9 는 1~4의 탄소수를 갖는 알킬임); 1~4의 탄소수를 갖는 히드록시알킬; 1~4의 탄소수를 갖는 알콕시; 또는 임의로 1~4의 탄소수를 갖는 알킬, 1~4의 탄소수를 갖는 알콕시, 아미노 또는 히드록실 기 또는 $-(CH_2)_b-COOR^{10}$ (식 중, b는 1~4의 정수이고, R^{10} 은 1~4의 탄소수를 갖는 알킬임)으로 치환된 페닐 또는 피리딜이다.

청구항 22

비소세포성 폐암 또는 소세포성 폐암의 치료에 사용하기 위한, 제21항에 따른 화합물 및 약학적으로 허용되는 중합체의 고체 분산물.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 개시는 용해도 및 생체이용률이 개선되고, 고체 분산물(dispersion) 형태로 제공될 수 있는 티에노트리아졸로디아제핀 화합물을 사용하여 소세포성 폐암을 치료하는 방법을 기술한다.

배경 기술

[0002]

지난 20년 동안 진전된 소세포성 폐암("SCLC")에 대한 표준 화학 요법은 실질적으로 변화하지 않았다. 신규한 SCLC 요법을 확인할 때의 도전 과제는 종양 억제자 유전자(TP53, PTEN, RBI)에서의 비활성 돌연변이의 유병율, 및 PIK3CA 또는 MYC 패밀리 멤버와 같은 종양 유전자에서의 단지 드문 기능 획득 돌연변이이다. 브로모도메인 및 엑스트라터미널(bromodomain and extraterminal, BET)-브로모도메인(BRD) 단백질의 억제제는 히스톤 단백질 상의 아세틸화 리신에의 BRD 결합의 억제를 거쳐, MYC 패밀리와 같은 종양 유전자의 전사를 조정하여 표적 유전자 촉진자 상의 전사 공동 조절 인자(coregulator)의 조립을 방해할 수 있다.

[0003]

본원 하기에 기재된 화학식 (1)의 화합물은 BRD2, BRD3 및 BRD4를 비롯한, BET(브로모도메인 및 엑스트라터미널) 단백질로서 공지된 전사 조절 인자의 텐덤 브로모도메인(BRD) 함유 패밀리에의 아세틸화된 히스톤 H4의 결합을 억제시키는 것으로 나타났다. 미국 특허 출원 공개 번호 2010/0286127 A1(상기 출원은 그 전체가 본원에서 참고로 인용됨)을 참조할 수 있다. BET 단백질은 증식 및 분화의 주요 후생유전학적 조절인자로서 출현하였고, 이는 또한 문헌 [Denis, G.V. "Bromodomain coactivators in cancer, obesity, type 2 diabetes, and inflammation," *Discov Med* 2010; 10:489-499](상기 문헌은 그 전체가 본원에서 참고로 인용됨)에 보고된 바와 같이, 이상지질혈증에 걸릴 소질 또는 지질 생성의 부적절한 조절, 염증성 프로파일 증가 및 심혈관 질환 및 2형 당뇨병에 대한 위험성, 및 자가면역 질환, 예컨대, 류마티스성 관절염 및 전신성 홍반성 루프스에 대한 감수성 증가와 관련이 있는 것으로 생각되어 왔다. 따라서, 화학식 (1)의 화합물은 각종 암, 심혈관 질환, 2형 당뇨병, 및 자가면역 질환, 예컨대, 류마티스성 관절염 및 전신성 홍반성 루프스 치료에 유용할 수 있다.

발명의 내용

과제의 해결 수단

[0004]

일부 실시양태에서, 본 개시는 본원에 기재된 조성물을 사용하는 소세포성 폐암의 치료 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 개시는 본원에 기재된 조성물을 사용하는 비소세포성 폐암의 치료 방법을 제공한다.

[0005]

일부 실시양태에서, 본 개시는 약학적으로 허용되는 양의, 본원에 기재된 섹션 III, IV, V 및 VI에 기재된 조성물 중 어느 하나를 포함하는 조성물을 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 포유 동물에서의 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료 방법을 제공한다.

[0006]

일부 실시양태에서, 본 개시는 약학적으로 허용되는 양의, 본원에 기재된 섹션 III, IV, V 및 VI에 기재된 조성물 중 어느 하나에 따른 고체 분산물을 포함하는 조성물을 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 포유 동물에서의 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료 방법을 제공한다.

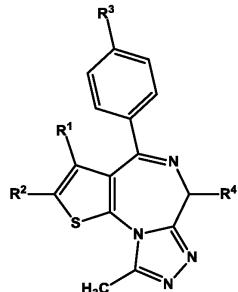
[0007]

일부 실시양태에서, 본 개시는 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료에 사용하기 위한, 화학식 (1),

특히 화학식 (1A)의 화합물을 제공한다.

[0008] 일부 실시양태에서, 본 개시는 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료에 사용하기 위한, 본원에 기재된 섹션 III, IV, V 및 VI에 기재된 조성물 중 어느 하나에 따른 고체 분산물을 제공한다.

[0009] 일부 실시양태에서, 본 개시는 하기 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 수화물 또는 용매화물을 사용하는, 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료 방법을 제공한다:



(1)

[0010]

[0011] 상기 식 중,

[0012] R¹은 1~4의 탄소수를 갖는 알킬이고,

[0013] R²는 수소 원자; 할로겐 원자; 또는 임의로 할로겐 원자 또는 히드록실기로 치환된 1~4의 탄소수를 갖는 알킬이며,

[0014]

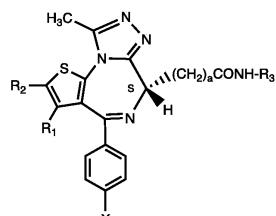
R³은 할로겐 원자; 임의로 할로겐 원자, 1~4의 탄소수를 갖는 알킬, 1~4의 탄소수를 갖는 알콕시 또는 시아노로 치환된 폐닐; -NR⁵-(CH₂)_m-R⁶(식 중, R⁵는 수소 원자 또는 1~4의 탄소수를 갖는 알킬이고, m은 0~4의 정수이며, R⁶은 임의로 할로겐 원자로 치환된 폐닐 또는 피리딜임); 또는 -NR⁷-CO-(CH₂)_n-R⁸(식 중, R⁷은 수소 원자 또는 1~4의 탄소수를 갖는 알킬이고, n은 0~2의 정수이며, R⁸은 임의로 할로겐 원자로 치환된 폐닐 또는 피리딜임)이고,

[0015]

R⁴는 -(CH₂)_a-CO-NH-R⁹(식 중, a는 1~4의 정수이고, R⁹는 1~4의 탄소수를 갖는 알킬임); 1~4의 탄소수를 갖는 히드록시알킬; 1~4의 탄소수를 갖는 알콕시; 또는 임의로 1~4의 탄소수를 갖는 알킬, 1~4의 탄소수를 갖는 알콕시, 아미노 또는 히드록실기 또는 -(CH₂)_b-COOR¹⁰(식 중, b는 1~4의 정수이고, R¹⁰은 1~4의 탄소수를 갖는 알킬임)으로 치환된 폐닐 또는 피리딜이다.

[0016]

일부 실시양태에서, 화학식 (1)의 화합물은 하기 화학식 (1A)의 화합물, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 수화물에서 선택된다:



[0017]

[0018] 상기 식 중, X는 할로겐이고, R¹은 C₁-C₄ 알킬이며, R²는 C₁-C₄ 알킬이고, a는 1~4의 정수이며, R³은 C₁-C₄ 알킬, C₁-C₄ 히드록시알킬, C₁-C₄ 알콕시, 화학식 (1)에서 R⁹에 대해 정의된 바의 치환기(들)를 임의로 갖는 폐닐, 또는 화학식 (1)에서 R⁹에 대해 정의된 바의 치환기(들)를 임의로 갖는 헤테로아릴이다.

[0019]

하나의 이러한 실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 비정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 및

약학적으로 허용되는 중합체를 포함하는 고체 분산물로서 제제화된다.

- [0020] 일실시양태에서, 화학식 (1)의 화합물은 하기로 이루어진 군에서 선택된다: (i)(S)-2-[4-(4-클로로페닐)-2,3,9-트리메틸-6H-티에노[3,2-f][1,2,4]트리아졸로-[4,3-a][1,4]디아제핀-6-일]-N-(4-히드록시페닐)아세트아미드 또는 이의 이수화물; (ii) 메틸 (S)-{4-(3'-시아노비페닐-4-일)-2,3,9-트리메틸-6H-티에노[3,2-f][1,2,4]트리아졸로[4,3-a][1,4]디아제핀-6-일}아세테이트, (iii) 메틸 (S)-{2,3,9-트리메틸-4-(4-페닐아미노페닐)-6H-티에노[3,2-f][1,2,4]트리아졸로[4,3-a][1,4]디아제핀-6-일}아세테이트; 및 (iv) 메틸 (S)-{2,3,9-트리메틸-4-[4-(3-페닐프로파오닐아미노)페닐]-6H-티에노[3,2-f][1,2,4]트리아졸로[4,3-a][1,4]디아제핀-6-일}아세테이트.
- [0021] 일실시양태에서, 화학식 (1)로 표시되는 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 (S)-2-[4-(4-클로로페닐)-2,3,9-트리메틸-6H-티에노[3,2-f][1,2,4]트리아졸로-[4,3-a][1,4]디아제핀-6-일]-N-(4-히드록시페닐)아세트아미드 이수화물이다.
- [0022] 일실시양태에서, 화학식 (1)로 표시되는 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 (S)-2-[4-(4-클로로페닐)-2,3,9-트리메틸-6H-티에노[3,2-f][1,2,4]트리아졸로-[4,3-a][1,4]디아제핀-6-일]-N-(4-히드록시페닐)아세트아미드이다.
- [0023] 일부 실시양태에서, 본 개시는 mTOR 억제제 및 ALK 억제제로 이루어진 군에서 선택되는 1 이상의 화학 요법 약물과 조합하여 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물을 사용하는, 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료 방법을 제공한다.
- [0024] 일부 실시양태에서, 본 개시는 mTOR 억제제 및 ALK 억제제로 이루어진 군에서 선택되는 1 이상의 화학 요법 약물과 조합하여 화학식 (1A)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물을 사용하는, 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료 방법을 제공한다.
- [0025] 일부 실시양태에서, 본 방법은 환자에게 mTOR 억제제를 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 하나의 이러한 실시양태에서, mTOR 억제제는 라파마이신, 템시롤리무스, 리다포롤리무스 및 에베로리무스로 이루어진 군으로부터 선택된다. 하나의 이러한 실시양태에서, mTOR 억제제는 에베로리무스이다. 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 및 mTOR 억제제는 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 및 mTOR 억제제의 이러한 조합은 상승 작용 효과를 낳는다.
- [0026] 일부 실시양태에서, 본 방법은 환자에게 ALK 억제제를 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 하나의 이러한 실시양태에서, ALK 억제제는 세리티닙 및 크리조티닙으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 하나의 이러한 실시양태에서, ALK 억제제는 크리조티닙이다. 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 및 ALK 억제제는 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 및 ALK 억제제의 이러한 조합은 상승 작용 효과를 낳는다.
- [0027] 일실시양태에서, 비소세포성 폐암은 EML4-ALK 양성인 것이다. 하나의 이러한 실시양태에서, 비소세포성 폐암은 치료 후 N-MYC mRNA 수준의 하향 조절(down regulation)을 나타냈다. 다른 이러한 실시양태에서, 비소세포성 폐암은 BRD4/3/2, c-MYC, BCL-2, p21 및 사이클린 D1을 발현하였다. 또 다른 실시양태에서, 치료는 24시간 내지 최대 72시간의 노출 후 STAT3의 일시적인 상향 조절(upregulation)을 유도한 후, 이어서, 하향 조절을 유도하였다.
- [0028] 또 다른 실시양태에서, 비소세포성 폐암은 EML4-ALK 음성인 것이다. 하나의 이러한 실시양태에서, 비소세포성 폐암은 BRD4/3/2, c-MYC, BCL-2, p21 및 사이클린D1을 발현하였다. 다른 이러한 실시양태에서, 치료는 24시간 내지 최대 72시간의 노출 후 STAT3의 일시적인 상향 조절을 유도한 후, 이어서, 하향 조절을 유도하였다.
- [0029] 일실시양태에서, NMyc는 하향 조절된다. 일실시양태에서, HEXIM는 상향 조절된다.
- [0030] 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료 방법의 일부 실시양태에서, EFR3B 유전자는 상향 조절된다. 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료 방법의 일부 실시양태에서, FOS 유전자는 상향 조절된다. 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료 방법의 일부 실시양태에서, IL7R 유전자는 하향 조절된다. 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료 방법의 일부 실시양태에서, IL6 관련 유전자는 하향 조절된다. 일부 실시양태에서, EFR3B 및 FOS 유전자는 상향 조절되고, IL7R 및 IL6 관련 유전자는 하향 조절된다.
- [0031] 일실시양태에서, 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 고체 분산물로서 형성된다. 일실시양태에서, 고체 분산물은 화학식 (1)의 비정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 수화물; 및 약학적으로 허용되는 중합체를 포함한다. 일실시양태에서, 고체 분산물은 결정질의 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물과 관련된 회절선이 실질적으로 없는 X선 분말 회절 패턴을 나타낸다.

일실시양태에서, 약학적으로 허용되는 중합체는 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 대 히드록시프로필메틸셀룰로오스 아세테이트 숙시네이트(HPMCAS) 중량비가 1:3 내지 1:1인 히드록시프로필메틸셀룰로오스 아세테이트 숙시네이트이다. 일실시양태에서, 고체 분산물을 약 130°C 내지 약 140°C 범위의 단일의 유리 전이 온도(Tg) 변곡점을 나타낸다.

[0032] 일실시양태에서, 고체 분산물은(S)-2-[4-(4-클로로페닐)-2,3,9-트리메틸-6H-티에노[3,2-f][1,2,4]트리아졸로-[4,3-a][1,4]디아제핀-6-일]-N-(4-히드록시페닐)아세트아미드 이수화물의 비정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물; 및 약학적으로 허용되는 중합체를 포함한다. 일실시양태에서, 고체 분산물은 (S)-2-[4-(4-클로로페닐)-2,3,9-트리메틸-6H-티에노[3,2-f][1,2,4]트리아졸로-[4,3-a][1,4]디아제핀-6-일]-N-(4-히드록시페닐)아세트아미드 이수화물의 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물과 관련된 회절선이 실질적으로 없는 X선 분말 회절 패턴을 나타낸다. 일실시양태에서, 약학적으로 허용되는 중합체는 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 대 히드록시프로필메틸셀룰로오스 아세테이트 숙시네이트(HPMCAS) 중량비가 1:3 내지 1:1인 히드록시프로필메틸셀룰로오스 아세테이트 숙시네이트이다. 일실시양태에서, 고체 분산물은 약 130°C 내지 약 140°C 범위의 단일의 유리 전이 온도(Tg) 변곡점을 나타낸다.

[0033] 본원에 기재된 화학식 (1)에 따른 화합물의 임의의 실시양태는 달리 지시되지 않는 한, 본원에 기재된 약학 조성물의 임의의 실시양태에서 사용될 수 있음을 이해해야 한다. 또한, 본 발명의 실시양태로서 본원에 기재된 임의의 화합물 또는 약학 조성물은 달리 지시되지 않는 한, 약제로서, 특히 본원의 실시양태에 기재된 바의 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료를 위한 약제로서 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0034] 본 발명의 티에노트리아졸로디아제핀 제제를 포함하는 약학 조성물 및 방법의 실시양태에 관한 상기 요약 뿐만 아니라 하기의 상세한 설명은, 예시적인 실시양태의 첨부된 도면과 함께 숙독할 때 더 잘 이해될 것이다. 그러나, 본 발명은 제시된 정확한 방식 및 수단으로 한정되지 않는다는 것을 이해해야 한다.

도면에서,

도 1a는 25% 화합물 (1-1) 및 유드라짓 L100-55를 포함하는 고체 분산물을 포함하는 비교 제제의 용해 프로파일을 도시하고;

도 1b는 50% 화합물 (1-1) 및 유드라짓 L100-55를 포함하는 고체 분산물을 포함하는 비교 제제의 용해 프로파일을 도시하고;

도 1c는 25% 화합물 (1-1) 및 폴리비닐파롤리돈(PVP)을 포함하는 고체 분산물을 포함하는 예시적인 제제의 용해 프로파일을 도시하고;

도 1d는 50% 화합물 (1-1) 및 PVP를 포함하는 고체 분산물을 포함하는 예시적인 제제의 용해 프로파일을 도시하고;

도 1e는 25% 화합물 (1-1) 및 PVP-비닐 아세테이트(PVP-VA)를 포함하는 고체 분산물을 포함하는 예시적인 제제의 용해 프로파일을 도시하고;

도 1f는 50% 화합물 (1-1) 및 PVP-VA를 포함하는 고체 분산물을 포함하는 예시적인 제제의 용해 프로파일을 도시하고;

도 1g는 25% 화합물 (1-1) 및 히프로멜로스 아세테이트(HPMCAS-M)를 포함하는 고체 분산물을 포함하는 예시적인 제제의 용해 프로파일을 도시하고;

도 1h는 50% 화합물 (1-1) 및 HPMCAS-M을 포함하는 고체 분산물을 포함하는 예시적인 제제의 용해 프로파일을 도시하고;

도 1i는 25% 화합물 (1-1) 및 히프로멜로스 프탈레이트(HPMCP-HP55)를 포함하는 고체 분산물을 포함하는 예시적인 제제의 용해 프로파일을 도시하고;

도 1j는 50% 화합물 (1-1) 및 HPMCP-HP55를 포함하는 고체 분산물을 포함하는 예시적인 제제의 용해 프로파일을 도시하고;

도 2a는 25% 화합물 (1-1) 및 PVP의 고체 분산물을 포함하는 예시적인 제제의 생체내 스크리닝 결과를

도시하고;

도 2b는 25% 화합물 (1-1) 및 HPMCAS-M의 고체 분산물을 포함하는 예시적인 제제의 생체내 스크리닝 결과를 도시하고;

도 2c는 50% 화합물 (1-1) 및 HPMCAS-M의 고체 분산물을 포함하는 예시적인 제제의 생체내 스크리닝 결과를 도시하고;

도 3은 화합물 (1-1)의 고체 분산물의 분말 X선 회절 프로파일을 도시하고;

도 4a는 주변 조건하에서 평형화된 25% 화합물 (1-1) 및 PVP의 고체 분산물에 대한 변형된 시차 주사 열량 측정 트레이스를 도시하고;

도 4b는 주변 조건하에서 평형화된 25% 화합물 (1-1) 및 HPMCAS-M의 고체 분산물에 대한 변형된 시차 주사 열량 측정 트레이스를 도시하고;

도 4c는 주변 조건하에서 평형화된 50% 화합물 (1-1) 및 HPMCAS-M의 고체 분산물에 대한 변형된 시차 주사 열량 측정 트레이스를 도시하고;

도 5는 25% 화합물 (1-1) 및 PVP 또는 HPMCAS-M, 및 50% 화합물 (1-1) 및 HPMCAS-MG의 고체 분산물에 대한 유리 전이 온도(Tg) 대 상대 습도(RH: relative humidity)의 플롯을 도시하고;

도 6은 75% 상대 습도하에서 평형화된 25% 화합물 (1-1) 및 PVP의 고체 분산물에 대한 변형된 시차 주사 열량 측정 트레이스를 도시하고;

도 7은 25% 화합물 (1-1):PVP(흰색(open) 동그라미 표시), 25% 화합물 (1-1):HPMCAS-MG(흰색 삼각형 표시), 및 50% 화합물 (1-1):HPMCAS-MG(흰색 역삼각형 표시)로서 1 mg/kg 정맥내 투약(검은색(solid) 사각형 표시) 및 3 mg/kg 경구 투약 후의 화합물 (1-1)에 대한 혈장 농도 대 시간 곡선을 도시하고; 삽입 도면은 반로그 스케일로 플롯팅된 동일한 데이터를 도시하고;

도 8은 25% 화합물 (1-1):PVP(흰색 동그라미 표시), 25% 화합물 (1-1):HPMCAS-MG(흰색 삼각형 표시), 및 50% 화합물 (1-1):HPMCAS-MG(흰색 역삼각형 표시)로서 3 mg/kg 경구 투약 후의 화합물 (1-1)에 대한 혈장 농도 대 시간 곡선을 도시하고; 삽입 도면은 반로그 스케일로 플롯팅된 동일한 데이터를 도시하고;

도 9는 안정성 시험의 시점 0에서 HPMCAS-MG 중의 화합물 (1-1)의 고체 분산물의 분말 X선 회절 프로파일을 도시하고;

도 10은 40°C 및 75% 상대 습도에서 1개월 후 HPMCAS-MG 중의 화합물 (1-1)의 고체 분산물의 분말 X선 회절 프로파일을 도시하고;

도 11은 40°C 및 75% 상대 습도에서 2개월 후 HPMCAS-MG 중의 화합물 (1-1)의 고체 분산물의 분말 X선 회절 프로파일을 도시하고;

도 12는 40°C 및 75% 상대 습도에서 3개월 후 HPMCAS-MG 중의 화합물 (1-1)의 고체 분산물의 분말 X선 회절 프로파일을 도시하고;

도 13은 72h 후의 화합물 (1-1) 항증식성 효과, 및 NSCLC 세포에서 발견된 공통 돌연변이에 관한 특징 규명을 도시하고;

도 14는 24 h 간의 화합물 (1-1)에의 노출 후 S 기 세포 분획의 감소를 도시하고;

도 15a는 화합물 (1-1) 감도(GI₅₀ 끊) 순으로 분류된, NSCLC 세포에서의 BRD, C-MYC, N-MYC, BCL2 및 P21 mRNA 수준을 도시하고;

도 15b는 NSCLC 세포에서의 BRD2, BRD3, C-MYC, N-MYC, P21, BCL2 및 사이클린 D1의 기저 단백질 발현을 도시하고;

도 16a는 500 nM의 화합물 (1-1)에의 노출 이후의 HOP62, HOP92, H2228, H3122, 및 A549 세포 중의 C-MYC mRNA 수준을 도시하고;

도 16b는 500 nM의 화합물 (1-1)에의 노출 이후의 HOP62, HOP92, H2228, H3122, 및 A549 세포 중의 N-MYC mRNA 수준을 도시하고;

도 16c는 500 nM의 화합물 (1-1)에의 노출 이후의 HOP62, HOP92, H2228, H3122, 및 A549 세포 중의 C-MYC 단백질 및 N-MYC 단백질의 조절을 도시하고;

도 17은 NSCLC 세포주에서의 에베로리무스 또는 크리조티닙과 공동으로 조합된 화합물 (1-1)의 효과를 도시하고;

도 18a는 화합물 (1-1)이 비히를 대조군 처리된 마우스, 크리조티닙과 비교하여 H3122 종양을 보유하는 마우스에서 종양 진행을 저속화시켰다는 것을 도시하고;

도 18b는 3주 간의 화합물 (1-1) 처리 동안 체중 손실은 전혀 관찰되지 않았다는 것을 도시하고;

도 19는 NCI-H69, NCI-H82, DMS79 및 DMS114 세포주에서의 72 시간 후의 화합물 (1-1)(OTX015) 항증식 효과 및 이러한 세포주에서 확인된 공통 돌연변이의 특징 규명을 도시하며;

도 20a은 4 및 24 시간 동안 NCI-H69, NCI-H82, DMS79 및 DMS114 세포주를 화합물 (1-1)로 처리시 관찰된 C-MYC와 관련된 형광 강도를 도시하고;

도 20b는 4 및 24 시간 동안 NCI-H69, NCI-H82, DMS79 및 DMS114 세포주를 화합물 (1-1)로 처리시 관찰된 N-MYC와 관련된 형광 강도를 도시하고;

도 20c는 4 및 24 시간 동안 DMS114 세포주를 화합물 (1-1)로 처리시 관찰된 HEXM1, HIST2H2BE 및 HIST1H2BK와 관련된 형광 강도를 도시하며;

도 20d는 NCI-H69, NCI-H82 세포주에 있어서 0, 4, 24, 48 및 72 시간 동안 화합물 (1-1)로 치료시, C-MYC 및 β -액틴 수준에 대한 웨스턴 블롯 결과를 도시하며;

도 20e는 DMS79 및 DMS114 세포주에 있어서 0, 4, 24, 48 및 72 시간 동안 화합물 (1-1)로 치료시, C-MYC 및 β -액틴 수준에 대한 웨스턴 블롯 결과를 도시하며;

도 21a는 72 시간 동안 화합물 (1-1)로 처리된 NCI-H69, NCI-H82, DMS79 및 DMS114 세포주에서의 BRD2 수준에 대한 형광 강도를 도시하며;

도 21b는 72 시간 동안 화합물 (1-1)로 처리된 NCI-H69, NCI-H82, DMS79 및 DMS114 세포주에서의 BRD3 수준에 대한 형광 강도를 도시하며;;

도 21c는 72 시간 동안 화합물 (1-1)로 처리된 NCI-H69, NCI-H82, DMS79 및 DMS114 세포주에서의 BRD4 수준에 대한 형광 강도를 도시하며;

도 21d는 72 시간 동안 화합물 (1-1)로 처리된 NCI-H69, NCI-H82, DMS79 및 DMS114 세포주에서의 C-MYC 수준에 대한 형광 강도를 도시하며;

도 21e는 72 시간 동안 화합물 (1-1)로 처리된 NCI-H69, NCI-H82, DMS79 및 DMS114 세포주에서의 N-MYC 수준에 대한 형광 강도를 도시하며;

도 21f는 72 시간 동안 화합물 (1-1)로 처리된 NCI-H69, NCI-H82, DMS79 및 DMS114 세포주에서의 Bc12 수준에 대한 형광 강도를 도시하며;

도 21g는 72 시간 동안 화합물 (1-1)로 처리된 NCI-H69, NCI-H82, DMS79 및 DMS114 세포주에서의 p21 수준에 대한 형광 강도를 도시하며;

도 21h는 4 및 24 시간 동안 화합물 (1-1)로 처리된 NCI-H69, NCI-H82, DMS79 및 DMS114 세포주에서의 BRD2, BRD3, C-MYC, N-MYC, Bc12, p21 및 β -액틴 수준에 대한 웨스턴 블롯 결과를 도시하고;

도 22a는 72 시간 동안 화합물 (1-1)로 처리된 NCI-H69, NCI-H82, DMS79 및 DMS114 세포주 및 대조군에 대한 G1 기에서의 세포의 수를 도시하고;

도 22b는 72 시간 동안 화합물 (1-1)로 처리된 NCI-H69, NCI-H82, DMS79 및 DMS114 세포주 및 대조군에 대한 p27 및 β -액틴 수준의 웨스턴 블롯을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

본 발명의 주제는 이제 대표적인 실시양태를 제시하는 첨부된 도면 및 실시예를 참조하여 하기에서 더욱 상세하

게 기술될 것이다. 그러나, 본 발명의 주제는 상이한 형태로 구현화될 수 있으며, 본원에 기재된 실시양태로 한정하는 것으로 해석되지 않아야 한다. 오히려 이들 실시양태는 당업계의 기술들 중 하나를 기술하고, 그를 가능하게 하기 위하여 제공한다. 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용된 모든 기술 용어 및 과학 용어는 주제가 관련되어 있는 당업계의 속련자가 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다. 본원에서 언급된 모든 공개 문헌, 특히 출원, 특히 및 다른 참고 문헌은 그 전체가 본원에서 참고로 인용된다.

I. 정의:

[0036] 본원에서 사용되는 바, "알킬 기"라는 용어는 포화된 직쇄 또는 분지쇄 탄화수소를 의미한다.

[0037] "치환된 알킬 기"라는 용어는 탄화수소 골격의 수소 또는 하나 이상의 탄소를 대체하는 하나 이상의 치환기를 갖는 알킬 모이어티를 의미한다.

[0038] 단독으로, 또는 예를 들어, " C_{1-4} 알케닐(아릴)"과 같은 치환기인 기의 일부로서 사용될 때 "알케닐 기"라는 용어는, 이중 결합이 모체 알킬 분자의 인접한 두 탄소 원자 각각의 것으로부터 한 수소 원자가 제거됨으로써 유도되고, 라디칼은 단일 탄소 원자로부터 수소 원자 하나의 제거에 의해 유도된 것인, 1개 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 부분적으로 불포화된 분지쇄 또는 직쇄 1가 탄화수소 라디칼을 의미한다. 원자는 시스(Z) 또는 트랜스(E) 입체구조로 이중 결합에 대하여 배향될 수 있다. 전형적인 알케닐 라디칼은 에테닐, 프로페닐, 알릴(2-프로페닐), 부테닐 등을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 예로는 C_{2-8} 알케닐 또는 C_{2-4} 알케닐 기를 포함한다.

[0039] " $C_{(j-k)}$ "(여기서, j 및 k 는 지정된 탄소 원자수를 나타내는 정수임)라는 용어는 알킬, 알케닐, 알키닐, 알록시 또는 사이클로알킬 라디칼을 의미하거나, 또는 알킬이 j 내지 k 개의 탄소 원자를 포함하는 접두사 어근으로서 제시된 라디칼의 알킬 부분을 의미한다. 예를 들어, $C_{(1-4)}$ 는 1, 2, 3 또는 4개의 탄소 원자를 함유하는 라디칼을 나타낸다.

[0040] 본원에서 사용되는 바, "할로" 또는 "할로겐"이라는 용어는 F, Cl, Br, 또는 I를 의미한다.

[0041] "약학적으로 허용되는 염"이라는 용어는 당업계에서 인정받은 것으로서, 예를 들어, 본 발명의 조성물 내에 함유된 것을 비롯한, 비교적 비독성인, 화합물의 무기 및 유기 산 부가염, 또는 무기 또는 유기 염기 부가염을 의미한다.

[0042] 본원에서 사용되는 바, "고체 분산물"이라는 용어는 2 이상의 상이한 성분, 일반적으로 친수성 담체 및 소수성 약물(활성 성분)로 이루어진 고체 생성물 군을 의미한다.

[0043] "키랄"이라는 용어는 당업계에서 인정받은 것으로서, 거울상 파트너의 비중첩가능성인 특성을 갖는 분자를 의미하며, 한편 "아키랄(achiral)"이라는 용어는 그의 거울상 파트너 상에 중첩가능한 분자를 의미한다. "프로키랄(prochiral) 분자"는 특정 공정에서 키랄 분자로 전환될 수 있는 잠재능을 가진 분자이다.

[0044] 기호 "-----"는 단일, 이중 또는 삼중 결합일 수 있는 결합을 나타내기 위하여 사용된다.

[0045] 본원에서 사용되는 바, "거울상 이성체"라는 용어, 및 거울상 이성체를 도시한 구조식은 그의 광학 이성체가 없는 "순수한" 거울상 이성체 뿐만 아니라, 거울상 이성체가 거울상 이성체 과잉율로, 예컨대, 10%, 25%, 50%, 75%, 90%, 95%, 98%, 또는 99% 이상의 거울상 이성체 과잉율로 존재하는, 거울상 이성체 및 그의 광학 이성체의 혼합물을 포함하는 것을 의미한다.

[0046] 본원에서 사용될 때, "입체 이성체"라는 용어는 모든 기하 이성체, 거울상 이성체 또는 부분 입체 이성체로 이루어진다. 본 발명은 이들 화합물의 다양한 입체 이성체 및 그의 혼합물을 포함한다. 개시된 화합물의 형태 이성체 및 회전이성체 또한 고려된다.

[0047] 본원에서 사용되는 바, "입체 선택적 합성"이라는 용어는 단일 반응물이 새로운 입체중심이 생성되는 동안, 또는 기존 것이 변환되는 동안에 입체 이성체의 부등의 혼합물을 형성하는 화학적 또는 효소 반응을 나타내며, 이는 당업계에 널리 공지되어 있다. 입체 선택적 합성은 거울상선택적 및 부분 입체 선택적 변환, 둘 모두를 포함한다. 예를 들면, 문헌 [Carreira, E. M. and Kvaerno, L., *Classics in Stereoselective Synthesis*, Wiley-VCH: Weinheim, 2009]를 참조하라.

[0048] "분무 건조"라는 용어는 공급 혼탁액 또는 용액을 작은 액적으로 분무화시키고, 증발을 위한 강력한 구동력(예, 고온 건조 기체 또는 부분 진공 또는 그의 조합)이 존재하는 프로세서 챔버 내의 혼합물로부터 용매를 신속하게

제거하는 것을 포함하는 과정을 지칭한다.

[0050] 본원에서 사용되는 바, "치료 유효량"이라는 용어는 이러한 양의 티에노트리아졸로디아제핀 또는 다른 약학적 활성체를 받지 않은 상응하는 환자와 비교하였을 때, 질환, 장애, 또는 부작용의 치료, 치유, 예방, 또는 호전을 개선시키거나, 또는 질환 또는 장애의 진행 속도를 저속화시키는 본 발명의 티에노트리아졸로디아제핀 또는 임의의 다른 약학적 활성체의 임의의 양을 의미한다.

[0051] "약"이라는 용어는 +/- 10%를 의미한다. 일실시양태에서, 이는 +/- 5%를 의미한다.

[0052] 문맥상 달리 요구되지 않는 한, 본 출원 전역에 걸쳐 그리고 하기 청구범위에서 "포함한다(comprise)"라는 단어, 또는 예컨대, "포함한다(comprises)" 또는 "포함하는"과 같은 파생어는 임의의 다른 정수 또는 단계, 또는 정수 또는 단계의 군을 배제하는 것이 아니라, 언급된 정수 단계 또는 정수 또는 단계의 군을 포함한다는 것을 의미하는 것으로 이해하여야 한다. 또한, "포함한다"라는 용어는 "구성된다"를 의미하는 것으로 이해되어야 한다.

[0053] 현재 본원 하기에 기재되어 있는 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 위장관으로부터 순환으로의 약학 성분의 높은 흡수를 제공하는 경구용 제제를 제공하기 위해 약학적으로 허용되는 중합체와 함께 고체 분산물로서 제제화될 수 있다는 것이 밝혀져 있다. 일실시양태에서, 약학적으로 허용되는 중합체는 히프로멜로스 아세테이트 숙시네이트(이는 또한 히드록시프로필메틸셀룰로스 아세테이트 숙시네이트 또는 HPMCAS로도 지칭됨)이다. 일실시양태에서, 약학적으로 허용되는 중합체는 폴리비닐피롤리돈(PVP)이다.

[0054] 일부 실시양태에서, 히드록시프로필메틸 셀룰로오스 아세테이트 숙시네이트(HPMCAS)는 9% 아세틸/11% 숙시노일을 갖는 M 등급(예, 평균 입도가 5 μm 인 HPMCAS(즉, HPMCAS-MF, 미분 등급) 또는 평균 입도가 1 mm인 HPMCAS(즉, HPMCAS-MG, 과립 등급)), 12% 아세틸/6% 숙시노일을 갖는 H 등급(예, 평균 입도가 5 μm 인 HPMCAS(즉, HPMCAS-HF, 미분 등급) 또는 평균 입도가 1 mm인 HPMCAS(즉, HPMCAS-HG, 과립 등급)), 및 8% 아세틸/15% 숙시노일을 갖는 L 등급(예, 평균 입도가 5 μm 인 HPMCAS(즉, HPMCAS-LF, 미분 등급) 또는 평균 입도가 1 mm인 HPMCAS(즉, HPMCAS-LG, 과립 등급))을 포함할 수 있다.

[0055] 일부 실시양태에서, 폴리비닐 피롤리돈의 문자량은 약 2,500(콜리돈(Kollidon)® 12 PF, 중량 평균 문자량 2,000 내지 3,000), 약 9,000(콜리돈® 17 PF, 중량 평균 문자량 7,000 내지 11,000), 약 25,000(콜리돈® 25, 중량 평균 문자량 28,000 내지 34,000), 약 50,000(콜리돈® 30, 중량 평균 문자량 44,000 내지 54,000), 및 약 1,250,000(콜리돈® 90 또는 콜리돈® 90F, 중량 평균 문자량 1,000,000 내지 1,500,000)일 수 있다.

II. 치료 방법

[0056] 일부 실시양태에서, 본 개시는 본원에 기재된 조성물을 사용하는 소세포성 폐암(SCLC)의 치료 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 개시는 본원에 기재된 조성물을 사용하는 비소세포성 폐암(NSCLC)의 치료 방법을 제공한다.

[0057] 일부 실시양태에서, 본 개시는 본원에 기재된 조성물을 사용하는 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료 방법을 제공한다. 본 발명의 방법과 관련하여, 용어 "및/또는"은 1) 비소세포성 폐암 및 소세포성 폐암이 모두 환자에 존재하거나, 또는 2) 비소세포성 폐암 또는 소세포성 폐암 둘다가 아닌 둘중 어느 하나가 환자에 존재하는 병태를 치료하는 방법을 의미한다.

[0058] 일부 실시양태에서, 본 개시는 약학적으로 허용되는 양의, 본원에 기재된 섹션 III, IV, V 및 VI에 기재된 조성물 중 어느 하나에 따른 고체 분산물을 포함하는 조성물을 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 포유 동물에서의 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료 방법을 제공한다.

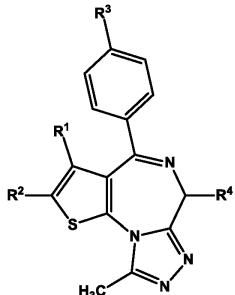
[0059] 일부 실시양태에서, 본 개시는 약학적으로 허용되는 양의, 본원에 기재된 섹션 III, IV, V 및 VI에 기재된 조성물 중 어느 하나에 따른 약학적 제제를 포함하는 조성물을 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 포유 동물에서의 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료 방법을 제공한다.

[0060] 일부 실시양태에서, 본 개시는 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료에 사용하기 위한, 화학식 (1), 특히 화학식 (1A)의 화합물을 제공한다.

[0061] 일부 실시양태에서, 본 개시는 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료에 사용하기 위한, 본원에 기재된

섹션 III, IV, V 및 VI에 기재된 조성물 중 어느 하나에 따른 고체 분산물을 제공한다.

- [0063] 일부 실시양태에서, 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료 방법은 하기 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물(이의 임의의 염, 이성체, 거울상 이성체, 라세미체, 수화물, 용매화물, 대사물 및 다형체 포함)을 사용한다:



[0064]

상기 식 중,

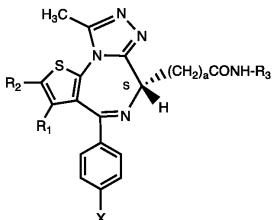
[0066] R¹은 1~4의 탄소수를 갖는 알킬이고,

[0067] R²는 수소 원자; 할로겐 원자; 또는 임의로 할로겐 원자 또는 히드록실기로 치환된 1~4의 탄소수를 갖는 알킬이며,

[0068] R³은 할로겐 원자; 임의로 할로겐 원자, 1~4의 탄소수를 갖는 알킬, 1~4의 탄소수를 갖는 알콕시 또는 시아노로 치환된 폐닐; -NR⁵-CO-(CH₂)_m-R⁶(식 중, R⁵는 수소 원자 또는 1~4의 탄소수를 갖는 알킬이고, m은 0~4의 정수이며, R⁶은 임의로 할로겐 원자로 치환된 폐닐 또는 피리딜임); 또는 -NR⁷-CO-(CH₂)_n-R⁸(식 중, R⁷은 수소 원자 또는 1~4의 탄소수를 갖는 알킬이고, n은 0~2의 정수이며, R⁸은 임의로 할로겐 원자로 치환된 폐닐 또는 피리딜임)이고,

[0069] R⁴는 -(CH₂)_a-CO-NH-R⁹(식 중, a는 1~4의 정수이고, R⁹는 1~4의 탄소수를 갖는 알킬임); 1~4의 탄소수를 갖는 히드록시알킬; 1~4의 탄소수를 갖는 알콕시; 또는 임의로 1~4의 탄소수를 갖는 알킬, 1~4의 탄소수를 갖는 알콕시, 아미노 또는 히드록실 기 또는 -(CH₂)_b-COOR¹⁰(식 중, b는 1~4의 정수이고, R¹⁰은 1~4의 탄소수를 갖는 알킬임)으로 치환된 폐닐 또는 피리딜이다.

[0070] 일부 실시양태에서, 화학식 (1)의 화합물은 하기 화학식 (1A)의 화합물, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 수화물에서 선택된다:



[0071]

[0072] 상기 식 중, X는 할로겐이고, R¹은 C₁-C₄ 알킬이며, R²는 C₁-C₄ 알킬이고, a는 1~4의 정수이며, R³은 C₁-C₄ 알킬, C₁-C₄ 히드록시알킬, C₁-C₄ 알콕시, 화학식 (1)에서 R⁹에 대해 정의된 바의 치환기(들)를 임의로 갖는 폐닐, 또는 화학식 (1)에서 R⁹에 대해 정의된 바의 치환기(들)를 임의로 갖는 헤테로아릴이다.

[0073] 하나의 이러한 실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 비정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 및 약학적으로 허용되는 중합체를 포함하는 고체 분산물로서 제제화된다.

[0074] 일부 실시양태에서, 소세포성 폐암은 조합된 소세포 암종이다. 조합된 소세포 암종은 소세포 암종 + 편평 세포

암종 또는 샘암종과 같은 폐암의 1 이상의 분화 형태를 지칭할 수 있다. 다른 실시양태에서, 소세포성 폐암은 소세포 암종(귀리 세포 암으로도 지칭됨)이다.

[0075] 본 발명의 방법의 일부 실시양태에서, 소세포성 폐암은 동종접합 돌연변이 C637C>T를 하버링(harbor ing)한다. 본 발명의 방법의 일부 실시양태에서, 치료는 HEXIM 소세포성 폐암의 상향 조절을 유도한다.

[0076] 일부 실시양태에서, 비소세포성 폐암은 EML4-ALK 양성이다. 일실시양태에서, 비소세포성 폐암은 치료 후 N-MYC mRNA 수준의 하향 조절을 나타낸다. 다른 실시양태에서, 비소세포성 폐암은 BRD4/3/2, c-MYC, BCL-2, p21, 사이클린 D1, 또는 이의 조합을 발현한다. 또 다른 실시양태에서, 치료는 노출 후 약 24 시간 내지 약 72 시간에 STAT3의 일시적인 상향 조절 및 후속 하향 조절을 유도한다.

[0077] 또 다른 실시양태에서, 비소세포성 폐암은 EML4-ALK 음성이다. 일실시양태에서, 비소세포성 폐암은 BRD4/3/2, c-MYC, BCL-2, p21, 사이클린 D1, 또는 이의 조합을 발현한다. 다른 실시양태에서, 치료는 노출 24 시간 내지 최대 72 시간 후 STAT3의 일시적인 상향 조절 및 후속 하향 조절을 유도한다.

[0078] 일부 실시양태에서, 비소세포성 폐암은 KRAS 유전자에 돌연변이를 갖는다. 일부 실시양태에서, 비소세포성 폐암은 LKB1 유전자에 돌연변이를 갖는다. 일부 실시양태에서, 비소세포성 폐암은 KRAS 및 LKB1 유전자 모두에 돌연변이를 갖는다.

[0079] 일부 실시양태에서, 치료는 N-MYC의 하향 조절을 유도한다(예컨대, 일부 실시양태에서, 비소세포성 폐암은 치료 동안 또는 치료 후 N-MYC mRNA 수준의 하향 조절을 나타냄). 일부 실시양태에서, 치료는 IL7R의 하향 조절을 유도한다. 일부 실시양태에서, 치료는 IL6 관련 유전자의 하향 조절을 유도한다. 일부 실시양태에서, 치료는 HEXIM의 상향 조절을 유도한다. 일부 실시양태에서, 치료는 FOS의 상향 조절을 유도한다. 일부 실시양태에서, 치료는 EFR3B의 상향 조절을 유도한다.

[0080] 일부 실시양태에서, 본 개시는 mTOR 억제제 및 ALK 억제제로 이루어진 군에서 선택된 약물과 조합된, 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물을 사용하는 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료 방법을 제공한다.

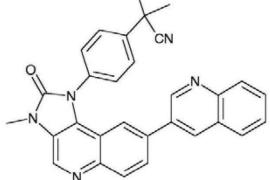
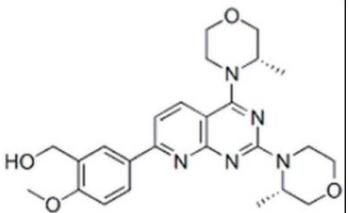
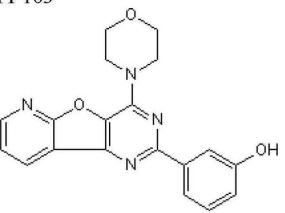
[0081] 일부 실시양태에서, 본 개시는 mTOR 억제제 및 ALK 억제제로 이루어진 군에서 선택된 약물과 조합된, 화학식 (1A)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물을 사용하는 비소세포성 폐암 및/또는 소세포성 폐암의 치료 방법을 제공한다.

[0082] 일부 실시양태에서, 본 방법은 환자에게 mTOR 억제제를 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 하나의 이러한 실시양태에서, mTOR 억제제는 라파마이신, 템시롤리무스, 리다포롤리무스 및 에베로리무스로 이루어진 군으로부터 선택된다. 하나의 이러한 실시양태에서, mTOR 억제제는 에베로리무스이다. 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 및 mTOR 억제제는 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 및 mTOR 억제제의 이러한 조합은 상승 작용 효과를 낳는다.

[0083] 본 발명의 방법에서 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀과 조합하여 사용되는 라파마이신(mTOR) 억제제의 포유 동물 표적의 예는 하기 표 A에 열거된 mTOR 억제제를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0084]

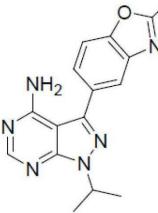
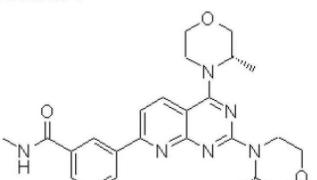
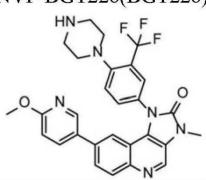
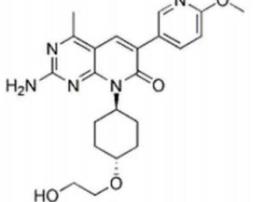
[표 A: 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀과 조합하여 사용될 수 있는 예시적인 mTOR 억제제 화합물]

번호	억제제명	설명	문헌 인용
1	BEZ235(NVP-BEZ235) 	BEZ235(NVP-BEZ235)는 각각 IC ₅₀ 0~4 nM, 5 nM, 7 nM 및 75 nM 인, p110 α , p110 γ , p110 δ 및 p110 β 의 이중 ATP 경쟁적 PI3K 및 mTOR 억제제이고, 또한 21 nM 의 IC ₅₀ 으로 ATR을 억제한다.	Nature, 2012, 487(7408):505-9; Blood, 2011, 118(14), 3911-3921; Cancer Res, 2011, 71(15), 5067-5074.
2	에베로리무스(RAD001)	에베로리무스(RAD001)는 IC ₅₀ 0~1.6-2.4 nM 인 FKBP12 의 mTOR 억제제이다.	Cell, 2012, 149(3):656-70;; Cancer Cell, 2012, 21(2), 155-167; Clin Cancer Res, 2013, 19(3):598-609.
3	라파마이신(시클리무스, AY22989, NSC226080)	라파마이신(시클리무스, AY-22989, WY-090217)은 IC ₅₀ 0~~0.1 nM 인 특이적인 mTOR 억제제이다.	Cancer Cell, 2011, 19(6), 792-804;; Cancer Res, 2013, ;Cell Res, 2012, 22(6):1003-21.
4	AZD8055 	AZD8055는 IC ₅₀ 0~0.8 nM 인 mTOR 의 신규한 ATP 경쟁적 억제제이다.	Autophagy, 2012, Am J Transplant, 2013, ;Biochem Pharmacol, 2012, 83(9), 1183-1194
5	PI-103 	PI-103은 각각 IC ₅₀ 0~2 nM, 8 nM, 20 nM, 26 nM, 48 nM, 83 nM, 88 nM 및 150 nM 인, DNA-PK, p110 α , mTORC1, PI3KC2 β , p110 δ , mTORC2, p110 β 및 110 γ 의 효능있는 ATP 경쟁적 PI3K	Leukemia, 2013, 27(3):650-60; Leukemia, 2012, 26(5):927-33; Biochem Pharmacol, 2012, 83(9), 1183-1194.

[0085]

번호	의제제명	설명	문헌 인용
	3-[4-(4-모르폴리닐피리도[3',2':4,5]푸로[3,2-d]피리미딘-2-일]페놀	의제제이다.	
6	템시룰리무스(CCI-779, NSC-683864)	템시룰리무스(CCI-779, Torisel)는 IC50 0이 1.76 μM 인 특이적인 mTOR 억제제이다.	Autophagy, 2011, 7(2), 176-187; Tuberc Respir Dis (Seoul), 2012, 72(4), 343-351; PLoS One, 2013, 8(5):e62104.
7	KU-0063794 	KU-0063794 는 IC50 가 ~10 nM 인, mTORC1 및 mTORC2 모두에 대해 효능있고 특이성이 높은 mTOR 억제제이다.	Cell Stem Cell, 2012, 10(2):210-7; Circ Res, 2010, 107(10), 1265-1274; J Immunol, 2013, 190(7), 3246-55.
8	GDC-0349 	GDC-0349 는 Ki 가 3.8 nM 인 mTOR 의 효능있고 선택적인 ATP 경쟁적 억제제이다.	
9	토린 2 	토린 2 는 IC50 0이 0.25 nM 인 높은 효능 및 선택성의 mTOR 억제제이며, 또한 각각 28 nM, 35 nM 및 118 nM 의 EC50 으로 ATM/ATR/DNA-PK 에 대해 효능있는 세포 활성을 나타낸다.	

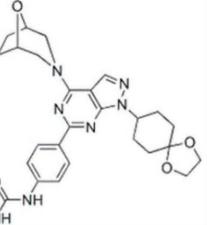
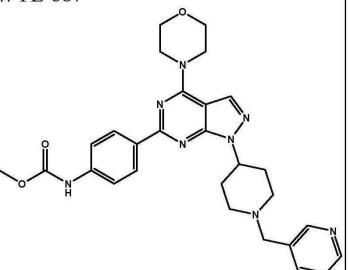
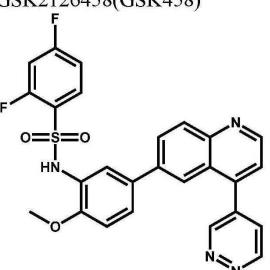
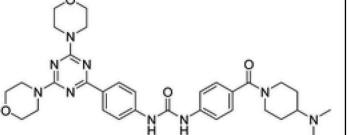
[0086]

번호	의제제명	설명	문헌 인용
10	INK 128(MLN-0128) 	INK 128은 IC50 0~1 nM인 효능있고 선택적인 mTOR 억제제이다.	
11	AZD2014 	AZD2014는 잠재적인 항종양 활성을 갖는 신규한 이중 mTORC1 및 mTORC2 억제제이다.	
12	NVP-BGT226(BGT226) 	NVP-BGT226은 IC50 0~1 nM인 신규한 이중 PI3K/mTOR 억제제이다.	
13	PF-04691502 	PF-04691502는 Ki 가 1.8 nM/2.1 nM/1.6 nM/1.9 nM 및 16 nM인, PI3K($\alpha/\beta/\delta/\gamma$)/mTOR 의 ATP 경쟁적 선택적 억제제이고, 또한 7.5 nM/3.8 nM의 IC50으로 T308/S473 상에서 Akt 인산화를 억제한다.	
14	CH5132799	CH5132799는 특히 14 nM의 IC50으로 PI3K α 에 대해 강한 억제 활성을	

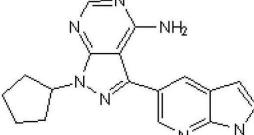
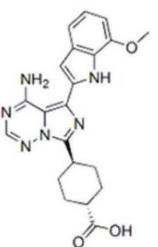
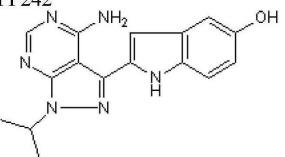
[0087]

번호	억제제명	설명	문헌 인용
		나타내며, 또한 1.6 μM 의 IC50 으로 mTOR 을 억제한다.	
15	GDC-0980(RG7422) 	GDC-0980(RG7422)은 IC50 0~5 nM, 27 nM, 7 nM 및 14 nM 인, PI3K α , PI3K β , PI3K δ 및 PI3K γ 의 효능있는 선택적 억제제, 및 또한 Ki 가 17 nM 인 mTOR 억제제이다.	
16	토린 1 1-[4-[4-(1-옥소프로필)-1-피페라지닐]-3-(트리플루오로메틸)페닐]-9-(3-퀴놀리닐)-벤조[h]-1,6-나프티리딘-2(1H)-온	토린 1 은 IC50 0~2-10 nM 인 mTOR 의 효능있는 억제제이다.	
17	WAY-600 	WAY-600 은 IC50 0~9 nM 인 mTOR 의 효능있는, ATP 경쟁적 및 선택적 억제제이다.	
18	WYE-125132(WYE-132)	WYE-125132 는	

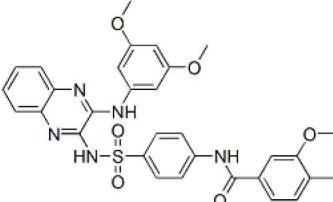
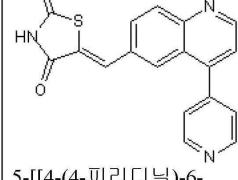
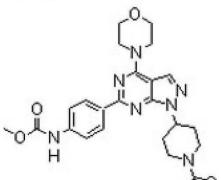
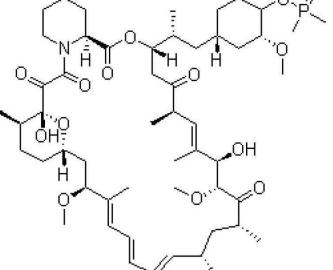
[0088]

번호	의제제명	설명	문현 인용
		IC50 이 0.19 nM 인, 효능 높은, ATP 경쟁적 및 특이적 mTOR 억제제이다.	
19	WYE-687		WYE-687은 IC50 0.7 nM 인 mTOR 의 ATP 경쟁적 및 선택적 억제제이다.
20	GSK2126458(GSK458)		GSK2126458은 각각 Ki 가 0.019 nM, 0.13 nM, 0.024 nM, 0.06 nM, 0.18 nM 및 0.3 nM 인, p110 α , p110 β , p110 γ , p110 δ , mTORC1 및 mTORC2의 높은 선택성 및 효능성 억제제이다.
21	PF-05212384(PKI-587)		PKI-587은 각각 IC50 0.4 nM, 5.4 nM 및 1.6 nM 인, PI3K α , PI3K γ 및 mTOR 의 효능 높은 이중 억제제이다.
22	PP-121		PP-121는 각각 IC50 0.2 nM, 8 nM, 10 nM, 12 nM, 14 nM 및 18 nM 인

[0089]

번호	의제제명	설명	문헌 인용
	 1-시클로펜틸-3-(1H-피롤로[2,3-b]p-피리딘-5-일)-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-4-아민	PDGFR, Hck, mTOR, VEGFR2, Src 및 Abi 의 다표적 억제제이며, 또한 60 nM 의 IC50 으로 DNA-PK 를 억제한다.	
23		OSI-027 은 각각 IC50 0이 22 nM 및 65 nM 인, mTORC1 및 mTORC2 의 선택적이고 효능있는 이중 억제제이다.	Exp Eye Res, 2013, 113C, 9-18
24	팔로미드 529(P529)	팔로미드 529 는 mTORC1 및 mTORC2 복합체 모두를 억제하며, MAPK 및 pAktT308 외의, pAktS473, pGSK3βS9, 및 pS6 의 인산화를 감소시킨다. 1 기.	
25	 2-[4-아미노-1-(1-메틸에틸)-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-3-일]-1H-인돌-5-올	PP242 는 IC50 0이 8 nM 인 선택적인 mTOR 억제제이다.	Autophagy, 2012, 8(6), 903-914
26	XL765(SAR245409)	XL765 는 각각 IC50 0이 157 nM, 39 nM, 113 nM, 9 nM 및 43 nM 인, mTOR, p110α, p110β, p110γ 및 p110δ 에 대한	Endocrinology, 2013, 154(3):1247-59

[0090]

번호	의제제명	설명	문헌 인용
		mTOR/PI3k 의 이중 억제제이다.	
27	GSK1059615  5-[(4-(4-피리디닐)-6-퀴놀리닐]메틸렌]-2,4-티아졸리덴디온	GSK1059615 는 각각 IC50 0 0.4 nM, 0.6 nM, 2 nM, 5 nM 및 12 nM 인 PI3K α , PI3K β , PI3K δ , PI3K γ 및 mTOR 의 신규한 이중 억제제이다.	Nature, 2012, 486(7404), 532-536
28	WYE-354 	WYE-354 는 IC50 0 5 nM 인 mTOR 의 효능있고 특이적이며 ATP 경쟁적인 억제제이다.	Mol Cancer Res, 2012, 10(6), 821-833.
29	데포롤리무스(리다포롤리무스, MK-8669) 	데포롤리무스(리다포롤리무스; AP23573; MK-8669; 42-(디메틸포스파이네이트)라파마이신; 리다포롤리무스)는 IC50 0 0.2 nM 인 선택적인 mTOR 억제제이다.	Mol Genet Meta, 2010, 100(4), 309-315.

[0091]

[0092] 일부 실시양태에서, 본 방법은 환자에게 ALK 억제제를 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 하나의 이러한 실시양태에서, ALK 억제제는 세리티닙 및 크리조티닙으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 하나의 이러한 실시양태에서, ALK 억제제는 크리조티닙이다. 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 및 ALK 억제제는 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 및 ALK 억제제의 이러한 조합은 상승 작용 효과를 낳는다.

[0093]

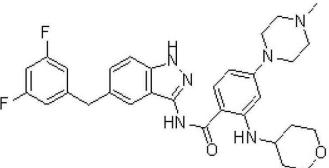
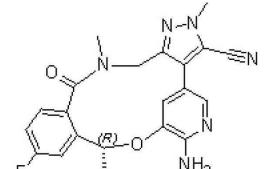
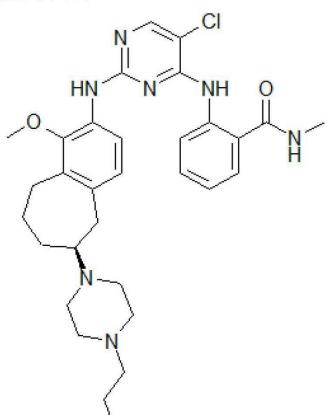
본 발명의 방법에서 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀과 조합하여 사용되는 ALK 억제제의 예는 하기 표 B에 열거된 ALK 억제제를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0094]

[표 B: 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀과 조합하여 사용될 수 있는 예시적인 ALK 억제제 화합물]

번호	억제제명	설명
30	크리조티닙 	크살코리(Xalkori); 3-[(1R)-1-(2,6-디클로로-3-플루오로페닐)에톡시]-5-(1-피페리딘-4-일피라졸-4-일)피리딘-2-아민
31	세리티닙 	지카디아(Zykadia); 5-클로로-N2-[2-이소프로포록시-5-메틸-4-(4-피페리디닐)페닐]-N4-[2-(이소프로필설포닐)페닐]-2,4-피리딘디아민
32	알렉티닙 	
33	브리간티닙 	

[0095]

번호	의제제명	설명
34	엔트렉티닙	
35	PF-06463922	
36	CEP-37440	 2-[[5-클로로-2-[(6S)-6-[4-(2-히드록시에틸)피페라진-1-일]-1-메톡시-6,7,8,9-테트라하드로-5H-벤조[7]아눌렌-2-일]아미노]피리미딘-4-일]아미노]-N-메틸-벤즈아미드

[0096]

[0097] 일실시양태에서, 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 고체 분산물로서 형성된다. 일실시양태에서, 고체 분산물은 비정질을 포함한다.

[0098]

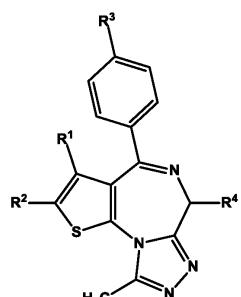
본 발명에서, "치료" 또는 "치료하다"는 의사에 의해 소세포성 폐암을 앓는다고 또는 소세포성 폐암의 발병 위험이 있다고 진단받은 사람(환자)에게, 예컨대 소세포성 폐암 또는 증상의 경감, 소세포성 폐암 또는 증상의 시작의 방지, 또는 소세포성 폐암의 시작 전의 상태로의 복원을 목적으로, 본 발명의 활성 성분의 투여를 행위하는 것 또는 이 행위를 지칭한다.

[0099]

III. 티에노트리아졸로디아제핀 화합물:

[0100]

일실시양태에서, 본 발명의 제제에 사용되는 티에노트리아졸로디아제핀 화합물의 임의의 염, 이성체, 거울상 이성체, 라세미체, 수화물, 용매화물, 대사산물, 및 다형체를 비롯한 상기 화합물은 하기 화학식 (1)로 표시된다:



[0101]

[0102] 상기 식 중,

[0103]

R¹은 1~4의 탄소수를 갖는 알킬이고,

[0104]

R²는 수소 원자; 할로겐 원자; 또는 임의로 할로겐 원자 또는 히드록실기로 치환된 1~4의 탄소수를 갖는 알킬이

며,

[0105] R^3 은 할로겐 원자; 임의로 할로겐 원자, 1~4의 탄소수를 갖는 알킬, 1~4의 탄소수를 갖는 알콕시 또는 시아노로 치환된 페닐; $-NR^5-(CH_2)_m-R^6$ (식 중, R^5 는 수소 원자 또는 1~4의 탄소수를 갖는 알킬이고, m 은 0~4의 정수이며, R^6 은 임의로 할로겐 원자로 치환된 페닐 또는 피리딜임); 또는 $-NR^7-CO-(CH_2)_n-R^8$ (식 중, R^7 은 수소 원자 또는 1~4의 탄소수를 갖는 알킬이고, n 은 0~2의 정수이며, R^8 은 임의로 할로겐 원자로 치환된 페닐 또는 피리딜임)이고,

[0106] R^4 는 $-(CH_2)_a-CO-NH-R^9$ (식 중, a 는 1~4의 정수이고, R^9 는 1~4의 탄소수를 갖는 알킬임); 1~4의 탄소수를 갖는 히드록시알킬; 1~4의 탄소수를 갖는 알콕시; 또는 임의로 1~4의 탄소수를 갖는 알킬, 1~4의 탄소수를 갖는 알콕시, 아미노 또는 히드록실 기 또는 $-(CH_2)_b-COOR^{10}$ (식 중, b 는 1~4의 정수이고, R^{10} 은 1~4의 탄소수를 갖는 알킬임)으로 치환된 페닐 또는 피리딜이다.

[0107] 일실시양태에서, 적합한 알킬 기로는 1개의 탄소 원자 내지 최대 4개의 탄소 원자를 포함한 선형 또는 분지형 알킬 라디칼을 포함한다. 일실시양태에서, 적합한 알킬 기로는 1개의 탄소 원자 내지 최대 3개의 탄소 원자를 포함한 선형 또는 분지형 알킬 라디칼을 포함한다. 일실시양태에서, 적합한 알킬 기로는 1개의 탄소 원자 내지 최대 2개의 탄소 원자를 포함한 선형 또는 분지형 알킬 라디칼을 포함한다. 일실시양태에서, 예시적인 알킬 라디칼로는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소부틸, sec-부틸, tert-부틸을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 일실시양태에서, 예시적인 알킬 기로는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 2-메틸-1-프로필, 및 2-메틸-2-프로필을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0108] 일부 실시양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 티에노트리아졸로디아제핀 화합물의 약학적으로 허용되는 염, 수화물을 비롯한 용매화물 및 동위 원소 표지 형태를 제공한다. 일실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물의 약학적으로 허용되는 염으로는 무기 산으로 형성된 산 부가 염을 포함한다. 일실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀의 약학적으로 허용되는 염으로는 유기 산으로 형성된 산 부가 염을 포함한다. 일실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀의 약학적으로 허용되는 유기 산 부가 염으로는 타르타르산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 시트르산, 말산, 락트산, 푸마르산, 벤조산, 포름산, 프로피온산, 글리콜산, 글루콘산, 말레산, 숙신산, 캄포르황산, 이소티온산, 점액산, 젠티스산, 이소니코틴산, 당산(saccharic acid), 글루쿠론산, 푸로산, 글루탐산, 아스코르브산, 안트라닐산, 살리실산, 페닐아세트산, 만델산, 엠본산(팜산), 메탄설폰산, 에탄설폰산, 판토텐산, 스테아르산, 세린산, 알긴산, 갈락투론산 및 아릴설폰산, 예를 들어, 벤젠설폰산 및 4-메틸 벤젠설폰산의 염을 포함한다.

[0109] 본 발명은, 1 이상의 원자가 동일한 원자수를 갖는 원자로 대체되지만 원자 질량 또는 질량수가 자연에서 보통 발견되는 원자 질량 또는 원자수와는 상이한, 본원에 기재된 티에노트리아졸로디아제핀 화합물의 약학적으로 허용되는 동위 원소 표지 형태를 제공한다. 티에노트리아졸로디아제핀 화합물에 포함되기에 적절한 동위 원소의 예는 수소의 동위 원소, 예컨대 2H 및 3H , 탄소의 동위 원소, 예컨대 ^{11}C , ^{13}C 및 ^{14}C , 염소의 동위 원소, 예컨대 ^{36}Cl , 불소의 동위 원소, 예컨대 ^{18}F , 요오드의 동위 원소, 예컨대 ^{123}I 및 ^{125}I , 질소의 동위 원소, 예컨대 ^{13}N 및 ^{15}N , 산소의 동위 원소, 예컨대 ^{15}O , ^{17}O 및 ^{18}O , 및 황의 동위 원소, 예컨대 ^{35}S 를 포함한다. 티에노트리아졸로디아제핀 화합물의 동위 원소 표지 형태는 일반적으로 당업계의 숙련자에게 공지된 종래의 기술에 의해 제조될 수 있다.

[0110] 화학식 (1)의 화합물의 특정 동위 원소 표지 형태, 예컨대 방사성 동위 원소를 포함하는 것들은 약물 및/또는 기질 조직 분포 연구에 유용하다. 방사성 동위 원소 삼중수소(3H) 및 탄소-14(^{14}C)는 혼입 용이성 및 용이한 검출 수단의 관점에서 이 목적에 특히 유용하다. 중수소(2H)와 같은 더 무거운 동위 원소로의 치환은 더 큰 대사 안정성, 예컨대 생체내 반감기의 증가 또는 용량 요구 감소로부터 오는 특정한 치료적 이점을 제공할 수 있고, 이에 따라 일부 환경에서 선호될 수 있다. ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O 및 ^{13}N 과 같은 양전자 방출 동위 원소로의 치환은 기질 수용체 점유를 검사하기 위한 양전자 방출 단층 촬영(PET) 연구에 사용될 수 있다.

- [0111] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 약학적으로 허용되는 용매화 형태 뿐 아니라 비용매화 형태로도 존재할 수 있다. 당업계의 숙련자는, 용매화물이 용질(이 경우, 본원에 기재된 티에노트리아졸로디아제핀 화합물) 및 용매에 의해 형성된 가변적 화학량론의 복합체임을 이해할 것이다. 이러한 용매는 용질(티에노트리아졸로디아제핀 화합물)의 생물학적 활성을 방해하지 않는 것이 바람직하다. 용매화물에 적절한 용매의 예는 물, 메탄올, 디메틸 셀프시드, 에탄올 및 아세트산을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 적절하게는, 사용되는 용매는 약학적으로 허용되는 용매이다. 적절하게는, 사용되는 용매는 물이다. 일실시양태에서, 본원에 기재된 티에노트리아졸로디아제핀 화합물의 약학적으로 허용되는 용매화물은 에탄올 용매화물, 이소프로판올 용매화물, 디옥솔란 용매화물, 테트라히드로푸란 용매화물, 디메틸 셀프시드 용매화물, tert-부탄올 용매화물, 2-부탄올 용매화물, 디옥솔란 용매화물, 1,3-디메틸-3,4,5,6-테트라히드로-2(1H)-페리미디논("DMPU") 용매화물, 1,3-디메틸이미다졸리디논("DMI") 용매화물 및 1,3-디메틸이미다졸리디논("DMP") 용매화물, 또는 이의 혼합물을 포함한다.
- [0112] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 1 이상의 키랄 중심 및/또는 이중 결합을 포함할 수 있으며, 이에 따라 기하학적 이성체, 거울상 이성체 또는 부분 입체 이성체로서 존재할 수 있다. 티에노트리아졸로디아제핀 화합물의 거울상 이성체 및 부분 입체 이성체는 각각의 입체 중심(종종 키랄 중심이라고도 지칭됨)에 "R" 또는 "S" 기술어를, 그리고 각각의 탄소-탄소 이중 결합에 E 또는 Z 기술어(기하학적 이성체로 지칭됨)를 할당하여, 전체 분자의 배열을 이의 통계적 명칭으로의 기술어를 포함시켜 독특하게 특정할 수 있는, 칸-인골드-프렐로그 관례에 따라 지칭될 수 있다.
- [0113] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 동일량의 키랄 분자의 원손 및 오른손 거울상 이성체를 포함하는 라세미 혼합물 또는 라세미체로서 존재할 수 있다. 이러한 라세미 혼합물은 텍스트로 및 레보 이성체의 동일한(1:1) 혼합물을 지칭하는 접두사 (±)- 또는 dl-로 지칭될 수 있다. 또한, 접두사 rac-(또는 racem-) 또는 기호 RS 및 SR을 라세미 혼합물의 지칭에 사용할 수 있다.
- [0114] 탄소-탄소 이중 결합 주위의 치환기의 배열 또는 시클로알킬 또는 복소환 주위의 치환기의 배열로부터 나오는 기하학적 이성체도 본 발명의 화합물에 존재할 수 있다. 일부 실시양태에서, 기호 ----는 단일, 이중 또는 삼중 결합일 수 있는 결합을 지칭하는 데에 사용될 수 있다. 탄소-탄소 이중 결합 주위의 치환기는 "Z" 또는 "E" 배열로 지칭할 수 있으며, 여기서 용어 "Z" 및 "E"는 IUPAC 표준에 따라 사용된다. 달리 특정되지 않으면, 이중 결합을 도시하는 구조는 "E" 및 "Z" 이성체 모두를 포함한다. 탄소-탄소 이중 결합 주위의 치환기는 대안적으로 "cis" 또는 "trans"로서 지칭될 수 있으며, 여기서 "cis"는 이중 결합의 동일 측 상의 치환기를 나타내고, "trans"는 이중 결합의 반대 측 상의 치환기를 나타낸다. 탄소환 주위의 치환기의 배열도 "cis" 또는 "trans"로서 지칭될 수 있다. 용어 "cis"는 고리의 평면의 동일 측 상의 치환기를 나타내고, 용어 "trans"는 고리의 평면의 반대 측 상의 치환기를 나타낸다. 치환기가 고리의 평면의 동일 측 및 반대 측 모두 위에 배치되는 화합물의 혼합물을 "cis/trans" 또는 "Z/E"로 지칭한다.
- [0115] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 단일 또는 다중 결정형 또는 다형체로서 존재할 수 있다. 일실시양태에서, 본원에 개시된 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 이의 비정질 형태를 포함한다. 일실시양태에서, 본원에 개시된 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 이의 단일 다형체를 포함한다. 다른 실시양태에서, 본원에 개시된 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 이의 다형체의 혼합물을 포함한다. 다른 실시양태에서, 화합물은 결정형으로 존재한다.
- [0116] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 단일 거울상 이성체로서 또는 거울상 이성체가 풍부한(enriched) 형태로서 존재할 수 있다. 일실시양태에서, 본원에 개시된 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 80% 초과의 거울상 이성체 과잉율로 존재한다. 일실시양태에서, 본원에 개시된 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 90% 초과의 거울상 이성체 과잉율로 존재한다. 일실시양태에서, 본원에 개시된 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 98% 초과의 거울상 이성체 과잉율로 존재한다. 일실시양태에서, 본원에 개시된 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 99% 초과의 거울상 이성체 과잉율로 존재한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 적어도 10%, 적어도 25%, 적어도 50%, 적어도 75%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 적어도 99%의 거울상 이성체 과잉율로 이루어진 군에서 선택되는 거울상 이성체 과잉율로 존재한다.
- [0117] 거울상 이성체의 쌍에 대해, 거울상 이성체 E2에 대한 거울상 이성체 E1의 거울상 이성체 과잉율(ee)은 하기 식(1)을 이용하여 산출할 수 있다:

$$\text{E1의 거울상 이성체 과잉율}(\%) = \frac{(E1 - E2) \times 100\%}{(E1 + E2)} \quad \text{식 (1)}$$

[0118]

[0119] E1 및 E2의 상대량은 키랄 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC), 핵 자기 공명(NMR) 또는 임의의 다른 적절한 방법에 의해 측정될 수 있다. 일부 실시양태에서, 거울상 이성체 화합물의 순도는 특히 부산물 및/또는 비반응 반응물 또는 시약을 포함할 수 있는 다른 재료의 양에 대한 거울상 이성체 E1 및 E2의 양을 나타낼 수 있다.

[0120]

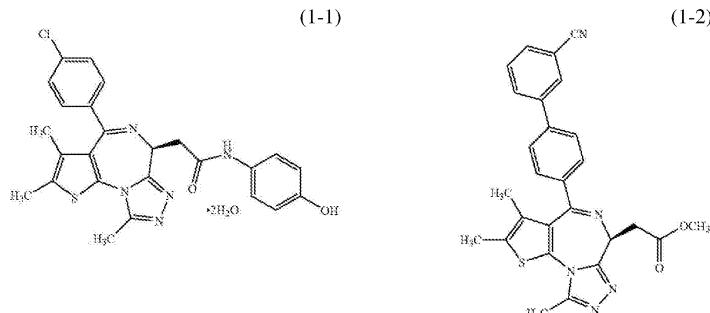
일부 실시양태에서, 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 하기 표 C에 열거된 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 (1-1) 내지 (1-18)을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0121]

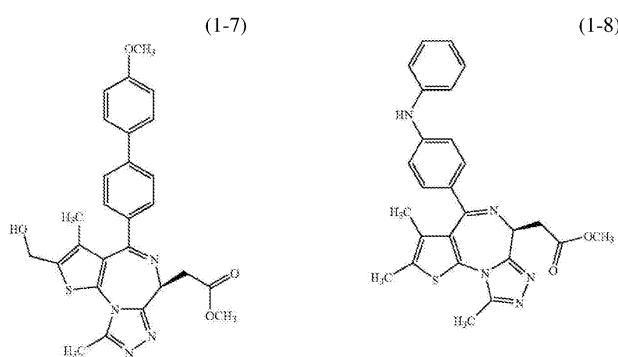
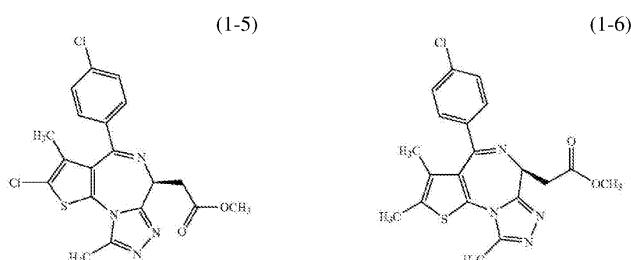
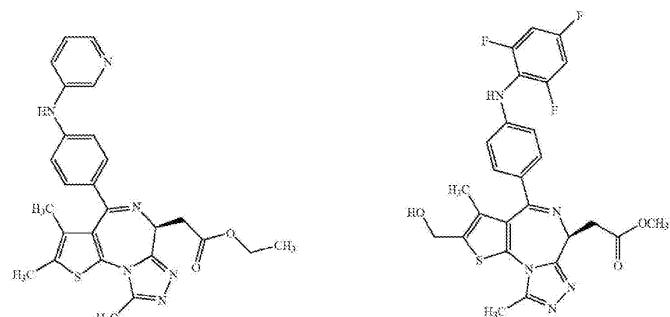
표 C의 화합물 (1-1)은 본원에서 OTX-015, OTX015 또는 Y803로 지칭될 것이다.

[0122]

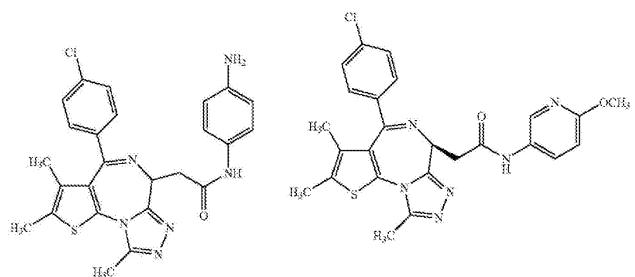
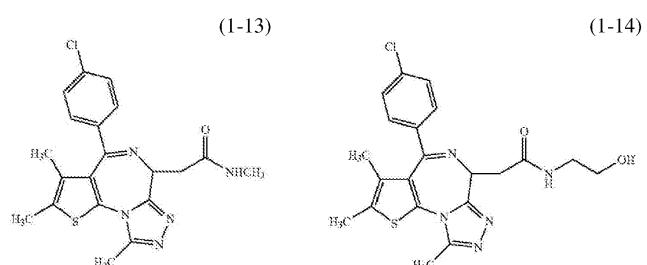
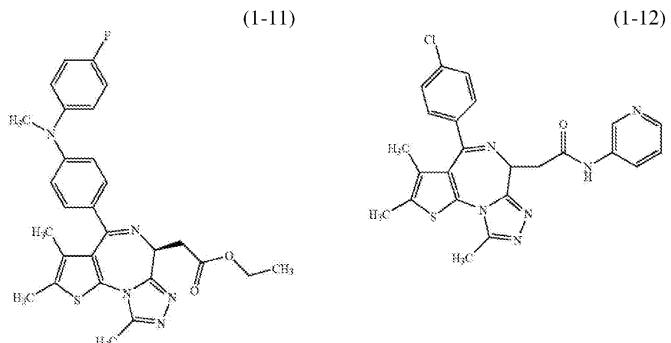
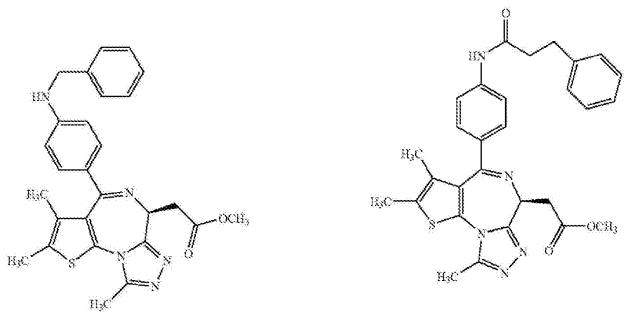
[표 C: 본원에 기재된 제제에 사용될 수 있는 예시적인 화합물]



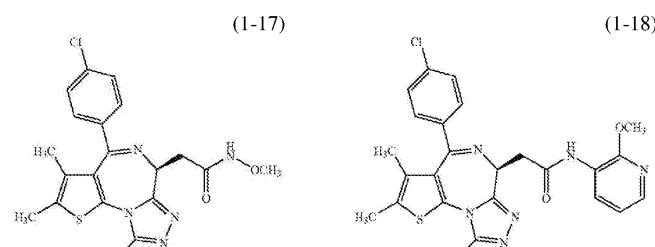
[0123]



[0124]



[0125]



[0126]

[0127]

일부 실시양태에서, 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물로는 (i) (S)-2-[4-(4-클로로페닐)-2,3,9-트리메틸-6H-티에노[3,2-f][1,2,4]트리아졸로- [4,3-a][1,4]디아제핀-6-일]-N-(4-히드록시페닐)아세트아미드 또는 그의 이수화물, (ii) 메틸 (S)-{4-(3'-시아노비페닐-4-일)-2,3,9-트리메틸-6H-티에노[3,2-f][1,2,4]트리아졸로[4,3-a][1,4]디아제핀-6-일}아세테이트, (iii) 메틸 (S)-{2,3,9-트리메틸-4-(4-페닐아미노페닐)-6H-티에노

[3,2-f][1,2,4]트리아졸로[4,3-a][1,4]디아제핀-6-일}아세테이트; 및 (iv) 메틸 (S)-{2,3,9-트리메틸-4-[4-(3-페닐프로파오닐아미노)페닐]-6H-티에노[3,2-f][1,2,4]트리아졸로[4,3-a][1,4]디아제핀-6-일}아세테이트를 포함한다.

[0128] 일부 실시양태에서, 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 (S)-2-[4-(4-클로로페닐)-2,3,9-트리메틸-6H-티에노[3,2-f][1,2,4]트리아졸로[4,3-a][1,4]디아제핀-6-일]-N-(4-히드록시페닐)아세트아미드를 포함한다.

[0129] 일부 실시양태에서, 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 (S)-2-[4-(4-클로로페닐)-2,3,9-트리메틸-6H-티에노[3,2-f][1,2,4]트리아졸로[4,3-a][1,4]디아제핀-6-일]-N-(4-히드록시페닐)아세트아미드 이수화물을 포함한다.

IV. 제제:

[0131] 화학식 (1)의 화합물은 특히 약물 생체이용률 및 환자간 및 환자내 용량 반응에서의 가변성인 특정한 문제점을 비롯한, 생약 조성물의 제조 및 일반적으로 투여와 관련하여 매우 특이적인 어려움을 나타내며, 이는 화합물의 실제로 수불용성인 특성과 관련된 비통상적인 투여 형태의 개발을 필요로 한다.

[0132] 앞서, 화학식 (1)의 화합물은 담체 에틸 아크릴레이트-메틸 메타크릴레이트-트리메틸암모니오에틸 메타크릴레이트 클로라이드 공중합체(유드라짓 RS, 롬 제조)와 함께 고체 분산물로서 제제화되어 염증성 장 질환, 예컨대, 채양성 대장염 및 크론병 치료를 위하여 장 하부에서 약학 성분을 우선적으로 방출시키는 경구용 제제를 제공할 수 있는 것으로 밝혀졌다(2009년 1월 8일 공개된, 미국 특허 출원 20090012064 A1). 동물 시험을 비롯한 다양한 실험을 통하여, 염증성 장 질환의 경우, 병변에서의 약물 방출 및 염증성 병변에서의 그의 직접적인 작용이 약물의 위장관으로부터 순환으로의 흡수보다 더 중요한 것으로 밝혀졌다.

[0133] 현재 예상 밖으로 화학식 (1)에 따른 티에노트리아졸로디아제핀 화합물, 그의 약학적으로 허용되는 염, 수화물을 비롯한 용매화물, 라세미체, 거울상 이성체 이성체, 및 동위 원소 표지 형태가 약학적으로 허용되는 중합체와 함께 고체 분산물로 제제화되어 염증성 장 질환 이외의 다른 질환의 치료를 위해 위장관으로부터의 순환으로 약학 성분의 높은 흡수를 제공하는 경구용 제제를 제공할 수 있다는 것이 밝혀졌다. 개 및 인간, 둘 모두에서의 연구를 통해, 앞서 염증성 장 질환의 치료를 위해 개발된 유드라짓 고체 분산물 제제에 비하여 본 고체 분산물의 경구 생체이용률이 높다는 것을 확인할 수 있었다.

[0134] 고체 분산물은 수난용성 약물의 경구 생체이용률을 개선시키기 위한 전략이다.

[0135] 본원에서 사용되는 바, "고체 분산물"이라는 용어는 2종 이상의 상이한 성분, 일반적으로 친수성 담체 및 소수성 약물인 화학식 (1)에 따른 티에노트리아졸로디아제핀 화합물을 포함하는 고체 생성물 군을 지칭한다. 분산물 내의 약물의 분자 배열에 기초하여, 6개의 상이한 유형의 고체 분산물로 구별될 수 있다. 보편적으로, 고체 분산물은 단순 공용 혼합물, 고체 용액, 유리 용액 및 혼탁액, 및 결정질 담체 중의 비정질 침전물로 분류된다. 또한, 예를 들어, 동일한 샘플 중에서 일부 분자는 클러스터 중에 존재할 수 있는 반면, 일부는 분자적으로 분산되어 있는 것과 같은 특정 조합이 발생할 수 있다.

[0136] 일실시양태에서, 화학식 (1)에 따른 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 비정질 입자(클러스터) 내에서 분자적으로 분산될 수 있다. 다른 실시양태에서, 화학식 (1)에 따른 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 결정질 입자로서 분산될 수 있다. 일실시양태에서, 담체는 결정질일 수 있다. 다른 실시양태에서, 담체는 비정질일 수 있다.

[0137] 일실시양태에서, 본 발명은 화학식 (1)에 따른 티에노트리아졸로디아제핀 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 수화물을 비롯한 용매화물, 라세미체, 거울상 이성체, 이성체, 또는 동위 원소 표지 형태; 및 약학적으로 허용되는 중합체로 이루어진 고체 분산물을 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 일실시양태에서, 약학적으로 허용되는 중합체는 히프로멜로스 아세테이트 숙시네이트(이는 또한 히드록시프로필메틸셀룰로스 아세테이트 숙시네이트 또는 HPMCAS로도 명명됨)이다. 일실시양태에서, 분산물은 1:3 내지 1:1의 중량비의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 대 히드록시프로필메틸셀룰로스 아세테이트 숙시네이트(HPMCAS)를 가진다. 일실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물의 적어도 일부분은 고체 분산물 전역에 걸쳐 균질하게 분산되어 있다. 다른 실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 고체 분산물 전역에 걸쳐 균질하게 분산되어 있다. 일부 실시양태에서, 고체 분산물은 유리 전이 온도(Tg)에 대하여 단일 변곡점을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 단일 Tg는 130°C 내지 140°C에서 발생한다. 다른 이러한 실시양태에서, 단일 Tg는 약 135°C에서 발생한다. 일부 이러한 실시양태에서, 고체 분산물을 1개월 이상 동안 40°C에서 75%의 상대 습도에 노출시켰다. 일부 실시양태에서, 고체 분산물은 화학식 (1)의 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물과 연관된 회절선이 실질적으로 없는 X선 분말

회절 패턴을 나타낸다. 본 출원의 목적을 위하여, "실질적으로 없는"이라는 것은 화학식 (1)의 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물과 연관된 약 21° 2-쎄타에서 비정질 할로 상의 회절선의 부재를 의미하여야 한다.

[0138] 일실시양태에서, 본 발명은 약학적으로 허용되는 중합체 중의 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 수화물을 비롯한 용매화물, 라세미체, 거울상 이성체, 이성체, 또는 동위 원소 표지 형태로 이루어진 고체 분산물을 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 일실시양태에서, 약학적으로 허용되는 중합체는 폴리비닐피롤리돈(이는 또한 포비돈 또는 PVP로도 명명됨)이다. 일실시양태에서, 분산물은 1:3 내지 1:1의 중량비의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 대 PVP를 가진다. 일실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물의 적어도 일부분은 고체 분산물 전역에 걸쳐 균질하게 분산되어 있다. 다른 실시양태에서, 고체 분산물은 유리 전이 온도(Tg)에 대하여 단일 변곡점을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 단일 Tg는 175°C 내지 약 185°C에서 발생한다. 다른 이러한 실시양태에서, 단일 Tg는 약 179°C에서 발생한다. 일부 이러한 실시양태에서, 고체 분산물을 1개월 이상 동안 40°C에서 75%의 상대 습도에 노출시켰다. 일부 실시양태에서, 고체 분산물은 화학식 (1)의 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물과 연관된 회절선이 실질적으로 없는 X선 분말 회절 패턴을 나타낸다. 본 출원의 목적을 위하여, "실질적으로 없는"이라는 것은 화학식 (1)의 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물과 연관된 약 21° 2-쎄타에서 비정질 할로 상의 회절선의 부재를 의미하여야 한다.

[0139] 일실시양태에서, 본 발명의 약학 조성물은 화학식 (1)의 비정질 형태의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 수화물을 비롯한 용매화물, 라세미체, 거울상 이성체, 이성체, 또는 동위 원소 표지 형태 및 약학적으로 허용되는 중합체로 이루어진 고체 분산물을 포함한다. 일실시양태에서, 약학적으로 허용되는 중합체는 히프로멜로스 아세테이트 숙시네이트이다. 일실시양태에서, 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 대 히프로멜로스 아세테이트 숙시네이트의 중량비는 1:3 내지 1:1 범위이다. 일실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물의 적어도 일부분은 고체 분산물 전역에 걸쳐 균질하게 분산되어 있다. 다른 실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 고체 분산물 전역에 걸쳐 균질하게 분산되어 있다. 일부 실시양태에서, 고체 분산물은 유리 전이 온도(Tg)에 대하여 단일 변곡점을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 단일 Tg는 130°C 내지 140°C에서 발생한다. 다른 이러한 실시양태에서, 단일 Tg는 약 135°C에서 발생한다. 일부 이러한 실시양태에서, 고체 분산물을 1개월 이상 동안 40°C에서 75%의 상대 습도에 노출시켰다. 일부 실시양태에서, 고체 분산물은 화학식 (1)의 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물과 연관된 회절선이 실질적으로 없는 X선 분말 회절 패턴을 나타낸다. 본 출원의 목적을 위하여, "실질적으로 없는"이라는 것은 화학식 (1)의 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물과 연관된 약 21° 2-쎄타에서 비정질 할로 상의 회절선의 부재를 의미하여야 한다.

[0140] 일실시양태에서, 본 발명의 약학 조성물은 화학식 (1)의 비정질 형태의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 수화물을 비롯한 용매화물, 라세미체, 거울상 이성체, 이성체, 또는 동위 원소 표지 형태 및 약학적으로 허용되는 중합체로 이루어진 고체 분산물을 포함한다. 일실시양태에서, 약학적으로 허용되는 중합체는 폴리비닐피롤리돈이다. 일실시양태에서, 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 대 폴리비닐피롤리돈의 중량비는 1:3 내지 1:1 범위이다. 일실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물의 적어도 일부분은 고체 분산물 전역에 걸쳐 균질하게 분산되어 있다. 다른 실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 고체 분산물 전역에 걸쳐 균질하게 분산되어 있다. 일부 실시양태에서, 고체 분산물은 유리 전이 온도(Tg)에 대하여 단일 변곡점을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 단일 Tg는 175°C 내지 약 185°C에서 발생한다. 다른 이러한 실시양태에서, 단일 Tg는 약 179°C에서 발생한다. 일부 이러한 실시양태에서, 고체 분산물을 1개월 이상 동안 40°C에서 75%의 상대 습도에 노출시켰다. 일부 실시양태에서, 고체 분산물은 화학식 (1)의 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물과 연관된 회절선이 실질적으로 없는 X선 분말 회절 패턴을 나타낸다. 본 출원의 목적을 위하여, "실질적으로 없는"이라는 것은 화학식 (1)의 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물과 연관된 약 21° 2-쎄타에서 비정질 할로 상의 회절선의 부재를 의미하여야 한다.

[0141] 일실시양태에서, 본 발명의 약학 조성물은 화학식 (1)의 결정형의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 수화물을 비롯한 용매화물, 라세미체, 거울상 이성체, 이성체, 또는 동위 원소 표지 형태 및 약학적으로 허용되는 중합체로 이루어진 고체 분산물을 포함한다. 일실시양태에서, 약학적으로 허용되는 중합체는 히프로멜로스 아세테이트 숙시네이트이다. 일실시양태에서, 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 대 히프로멜로스 아세테이트 숙시네이트의 중량비는 1:3 내지 1:1 범위이다.

[0142] 일실시양태에서, 본 발명의 약학 조성물은 화학식 (1)의 결정형의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 수화물을 비롯한 용매화물, 라세미체, 거울상 이성체, 이성체, 또는 동위 원소 표지 형태 및 약학적으로 허용되는 중합체로 이루어진 고체 분산물을 포함한다. 일실시양태에서, 약학적으로 허용되

는 중합체는 폴리비닐파를리돈이다. 일실시양태에서, 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 대 폴리비닐파를리돈의 중량비는 1:3 내지 1:1 범위이다.

[0143] 일부 실시양태에서, 고체 분산물을 포함하는 약학 조성물은 분무 건조에 의해 제조된다.

[0144] 일실시양태에서, 본 발명의 약학 조성물은 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 수화물을 비롯한 용매화물, 라세미체, 거울상 이성체, 이성체, 또는 동위 원소 표지 형태, 및 약학적으로 허용되는 중합체로 이루어진 분무 건조된 고체 분산물을 포함한다. 일실시양태에서, 약학적으로 허용되는 중합체는 히프로멜로스 아세테이트 숙시네이트이다. 일실시양태에서, 화합물 (1) 대 히프로멜로스 아세테이트 숙시네이트의 중량비는 1:3 내지 1:1 범위이다. 일실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물의 적어도 일부분은 고체 분산물 전역에 걸쳐 균질하게 분산되어 있다. 다른 실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 고체 분산물 전역에 걸쳐 균질하게 분산되어 있다. 일부 실시양태에서, 고체 분산물은 유리 전이 온도(Tg)에 대하여 단일 변곡점을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 단일 Tg는 130°C 내지 140°C에서 발생한다. 하나의 이러한 실시양태에서, 단일 Tg는 약 135°C에서 발생한다. 일부 이러한 실시양태에서, 고체 분산물을 1개월 이상 동안 40°C에서 75%의 상대 습도에 노출시켰다. 일부 실시양태에서, 고체 분산물은 화학식 (1)의 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물과 연관된 회절선이 실질적으로 없는 X선 분말 회절 패턴을 나타낸다. 본 출원의 목적을 위하여, "실질적으로 없는"이라는 것은 화학식 (1)의 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물과 연관된 약 21° 2-쎄타에서 비정질 할로 상의 회절선의 부재를 의미하여야 한다.

[0145] 일실시양태에서, 본 발명의 약학 조성물은 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 수화물을 비롯한 용매화물, 라세미체, 거울상 이성체, 이성체, 또는 동위 원소 표지 형태, 및 약학적으로 허용되는 중합체로 이루어진 분무 건조된 고체 분산물을 포함한다. 일실시양태에서, 약학적으로 허용되는 중합체는 폴리비닐파를리돈이다. 일실시양태에서, 화합물 (1) 대 폴리비닐파를리돈의 중량비는 1:3 내지 1:1 범위이다. 일실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물의 적어도 일부분은 고체 분산물 전역에 걸쳐 균질하게 분산되어 있다. 다른 실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 고체 분산물 전역에 걸쳐 균질하게 분산되어 있다. 일부 실시양태에서, 고체 분산물은 유리 전이 온도(Tg)에 대하여 단일 변곡점을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 단일 Tg는 175°C 내지 185°C에서 발생한다. 다른 이러한 실시양태에서, 단일 Tg는 약 179°C에서 발생한다. 일부 이러한 실시양태에서, 고체 분산물을 1개월 이상 동안 40°C에서 75%의 상대 습도에 노출시켰다. 일부 실시양태에서, 고체 분산물은 화학식 (1)의 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물과 연관된 회절선이 실질적으로 없는 X선 분말 회절 패턴을 나타낸다. 본 출원의 목적을 위하여, "실질적으로 없는"이라는 것은 화학식 (1)의 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물과 연관된 약 21° 2-쎄타에서 비정질 할로 상의 회절선의 부재를 의미하여야 한다.

[0146] 일실시양태에서, 본 발명의 약학 조성물은 화학식 (1)의 비정질 형태의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 수화물을 비롯한 용매화물, 라세미체, 거울상 이성체, 이성체, 또는 동위 원소 표지 형태, 및 약학적으로 허용되는 중합체로 이루어진 분무 건조된 고체 분산물을 포함한다. 일실시양태에서, 약학적으로 허용되는 중합체는 히프로멜로스 아세테이트 숙시네이트이다. 일실시양태에서, 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 대 히프로멜로스 아세테이트 숙시네이트의 중량비는 1:3 내지 1:1 범위이다. 일실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물의 적어도 일부분은 고체 분산물 전역에 걸쳐 균질하게 분산되어 있다. 다른 실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 고체 분산물 전역에 걸쳐 균질하게 분산되어 있다. 일부 실시양태에서, 고체 분산물은 유리 전이 온도(Tg)에 대하여 단일 변곡점을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 단일 Tg는 130°C 내지 140°C에서 발생한다. 일부 이러한 실시양태에서, 고체 분산물을 1개월 이상 동안 40°C에서 75%의 상대 습도에 노출시켰다. 하나의 이러한 실시양태에서, 단일 Tg는 약 135°C에서 발생한다. 일부 실시양태에서, 고체 분산물은 화학식 (1)의 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물과 연관된 회절선이 실질적으로 없는 X선 분말 회절 패턴을 나타낸다. 본 출원의 목적을 위하여, "실질적으로 없는"이라는 것은 화학식 (1)의 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물과 연관된 약 21° 2-쎄타에서 비정질 할로 상의 회절선의 부재를 의미하여야 한다.

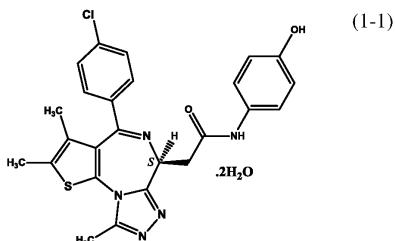
[0147] 일실시양태에서, 본 발명의 약학 조성물은 화학식 (1)의 비정질 형태의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 수화물을 비롯한 용매화물, 라세미체, 거울상 이성체, 이성체, 또는 동위 원소 표지 형태, 및 약학적으로 허용되는 중합체로 이루어진 분무 건조된 고체 분산물을 포함한다. 일실시양태에서, 약학적으로 허용되는 중합체는 폴리비닐파를리돈이다. 일실시양태에서, 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 대 폴리비닐파를리돈의 중량비는 1:3 내지 1:1 범위이다. 일실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물의 적어도 일부분은 고체 분산물 전역에 걸쳐 균질하게 분산되어 있다. 다른 실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀

로디아제핀 화합물은 고체 분산물 전역에 걸쳐 균질하게 분산되어 있다. 일부 실시양태에서, 고체 분산물은 유리 전이 온도(T_g)에 대하여 단일 변곡점을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 단일 T_g 는 175°C 내지 185°C에서 발생한다. 다른 이러한 실시양태에서, 단일 T_g 는 약 179°C에서 발생한다. 일부 이러한 실시양태에서, 고체 분산물을 1개월 이상 동안 40°C에서 75%의 상대 습도에 노출시켰다. 일부 실시양태에서, 고체 분산물은 화학식 (1)의 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물과 연관된 회절선이 실질적으로 없는 X선 분말 회절 패턴을 나타낸다. 본 출원의 목적을 위하여, "실질적으로 없는"이라는 것은 화학식 (1)의 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물과 연관된 약 21° 2-쎄타에서 비정질 할로 상의 회절선의 부재를 의미하여야 한다.

[0148] 일실시양태에서, 본 발명의 약학 조성물은 화학식 (1)의 결정형의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 수화물을 비롯한 용매화물, 라세미체, 거울상 이성체, 이성체, 또는 동위 원소 표지 형태, 및 약학적으로 허용되는 중합체로 이루어진 분무 건조된 고체 분산물을 포함한다. 일실시양태에서, 약학적으로 허용되는 중합체는 히프로멜로스 아세테이트 숙시네이트이다. 일실시양태에서, 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 대 히프로멜로스 아세테이트 숙시네이트의 중량비는 1:3 내지 1:1 범위이다.

[0149] 일실시양태에서, 본 발명의 약학 조성물은 화학식 (1)의 결정형의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 수화물을 비롯한 용매화물, 라세미체, 거울상 이성체, 이성체, 또는 동위 원소 표지 형태, 및 약학적으로 허용되는 중합체로 이루어진 분무 건조된 고체 분산물을 포함한다. 일실시양태에서, 약학적으로 허용되는 중합체는 폴리비닐피롤리돈이다. 일실시양태에서, 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 대 폴리비닐피롤리돈의 중량비는 1:3 내지 1:1 범위이다.

[0150] 한 바람직한 실시양태에서, 본 발명은 2-[$(6S)$ -4-(4-클로로페닐)-2,3,9-트리메틸-6H-티에노[3,2-f]-[1,2,4]트리아졸로[4,3-a][1,4]디아제핀-6-일]-N-(4-히드록시페닐)아세트아미드 이수화물, 화합물 (1-1):



[0151] 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 수화물을 비롯한 용매화물, 라세미체, 거울상 이성체, 이성체, 또는 동위 원소 표지 형태, 및 약학적으로 허용되는 중합체로 이루어진 고체 분산물을 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 일실시양태에서, 약학적으로 허용되는 중합체는 HPMCAS이다. 일실시양태에서, 분산물은 1:3 내지 1:1의 중량비의 화합물 (1-1) 대 HPMCAS를 가진다. 일실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물의 적어도 일부분은 고체 분산물 전역에 걸쳐 균질하게 분산되어 있다. 다른 실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 고체 분산물 전역에 걸쳐 균질하게 분산되어 있다. 일실시양태에서, 고체 분산물은 분문 건조된 것이다. 일부 실시양태에서, 고체 분산물은 유리 전이 온도(T_g)에 대하여 단일 변곡점을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 단일 T_g 는 130°C 내지 140°C에서 발생한다. 다른 이러한 실시양태에서, 단일 T_g 는 약 135°C에서 발생한다. 일부 이러한 실시양태에서, 고체 분산물을 1개월 이상 동안 40°C에서 75%의 상대 습도에 노출시켰다. 일부 실시양태에서, 고체 분산물은 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 (1-1)과 연관된 회절선이 실질적으로 없는 X선 분말 회절 패턴을 나타낸다. 본 출원의 목적을 위하여, "실질적으로 없는"이라는 것은 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 (1-1)과 연관된 약 21° 2-쎄타에서 비정질 할로 상의 회절선의 부재를 의미하여야 한다.

[0153] 다른 실시양태에서, 약학 조성물은 화합물 (1-1) 또는 약학적으로 허용되는 염, 수화물을 비롯한 용매화물, 라세미체, 거울상 이성체, 이성체, 또는 동위 원소 표지 형태; 및 약학적으로 허용되는 중합체로 이루어진 고체 분산물을 포함한다. 일실시양태에서, 약학적으로 허용되는 중합체는 PVP이다. 일실시양태에서, 분산물은 1:3 내지 1:1의 중량비의 화합물 (1-1) 대 PVP를 가진다. 일실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물의 적어도 일부분은 고체 분산물 전역에 걸쳐 균질하게 분산되어 있다. 다른 실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 고체 분산물 전역에 걸쳐 균질하게 분산되어 있다. 일실시양태에서, 고체 분산물은 분무 건조된 것이다. 일부 실시양태에서, 고체 분산물은 유리 전이 온도(T_g)에 대하여 단일 변곡점을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 단일 T_g 는 175°C 내지 185°C에서 발생한다. 다른 이러한 실시양태에서, 단일 T_g 는 약 179°C에서 발생한다. 일부 이러한 실시양태에서, 고체 분산물을 1개월 이상 동안 40°C에서 75%의 상대 습도에 노출시켰다. 일부 실시양태에서, 고체 분산물은 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 (1-1)과 연관된 회절선이 실질적으로 없는 X선

분말 회절 패턴을 나타낸다. 본 출원의 목적을 위하여, "실질적으로 없는"이라는 것은 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 (1-1)과 연관된 약 21° 2-쎄타에서 비정질 할로 상의 회절선의 부재를 의미하여야 한다.

[0154] 일실시양태에서, 본 발명의 약학 조성물은 비정질 형태의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 (1-1), 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 수화물을 비롯한 용매화물, 라세미체, 거울상 이성체, 이성체, 또는 동위 원소 표지 형태; 및 약학적으로 허용되는 중합체로 이루어진 고체 분산물을 포함한다. 일실시양태에서, 약학적으로 허용되는 중합체는 HPMCAS이다. 일실시양태에서, 분산물은 1:3 내지 1:1의 중량비의 화합물 (1-1) 대 HPMCAS를 가진다. 일실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물의 적어도 일부분은 고체 분산물 전역에 걸쳐 균질하게 분산되어 있다. 다른 실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 고체 분산물 전역에 걸쳐 균질하게 분산되어 있다. 일실시양태에서, 고체 분산물은 분무 건조된 것이다. 일부 실시양태에서, 고체 분산물은 유리 전이 온도(Tg)에 대하여 단일 변곡점을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 단일 Tg는 130°C 내지 140°C에서 발생한다. 하나의 이러한 실시양태에서, 단일 Tg는 약 135°C에서 발생한다. 일부 이러한 실시양태에서, 고체 분산물을 1개월 이상 동안 40°C에서 75%의 상대 습도에 노출시켰다. 일부 실시양태에서, 고체 분산물은 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 (1-1)과 연관된 회절선이 실질적으로 없는 X선 분말 회절 패턴을 나타낸다. 본 출원의 목적을 위하여, "실질적으로 없는"이라는 것은 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 (1-1)과 연관된 약 21° 2-쎄타에서 비정질 할로 상의 회절선의 부재를 의미하여야 한다.

[0155] 일실시양태에서, 본 발명의 약학 조성물은 비정질 형태의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 (1-1), 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 수화물을 비롯한 용매화물, 라세미체, 거울상 이성체, 이성체, 또는 동위 원소 표지 형태; 및 약학적으로 허용되는 중합체로 이루어진 고체 분산물을 포함한다. 일실시양태에서, 약학적으로 허용되는 중합체는 PVP이다. 일실시양태에서, 분산물은 1:3 내지 1:1의 중량비의 화합물 (1-1) 대 PVP를 가진다. 일실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물의 적어도 일부분은 고체 분산물 전역에 걸쳐 균질하게 분산되어 있다. 다른 실시양태에서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 고체 분산물 전역에 걸쳐 균질하게 분산되어 있다. 일실시양태에서, 고체 분산물은 분무 건조된 것이다. 일부 실시양태에서, 고체 분산물은 유리 전이 온도(Tg)에 대하여 단일 변곡점을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 단일 Tg는 175°C 내지 185°C에서 발생한다. 다른 이러한 실시양태에서, 단일 Tg는 약 189°C에서 발생한다. 일부 이러한 실시양태에서, 고체 분산물을 1개월 이상 동안 40°C에서 75%의 상대 습도에 노출시켰다. 일부 실시양태에서, 고체 분산물은 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 (1-1)과 연관된 회절선이 실질적으로 없는 X선 분말 회절 패턴을 나타낸다. 본 출원의 목적을 위하여, "실질적으로 없는"이라는 것은 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 (1-1)과 연관된 약 21° 2-쎄타에서 비정질 할로 상의 회절선의 부재를 의미하여야 한다.

[0156] 일실시양태에서, 본 발명의 약학 조성물은 결정형의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 (1-1), 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 수화물을 비롯한 용매화물, 라세미체, 거울상 이성체, 이성체, 또는 동위 원소 표지 형태; 및 약학적으로 허용되는 중합체로 이루어진 고체 분산물을 포함한다. 일실시양태에서, 약학적으로 허용되는 중합체는 HPMCAS이다. 일실시양태에서, 분산물은 1:3 내지 1:1의 중량비의 화합물 (1-1) 대 HPMCAS를 가진다. 일실시양태에서, 고체 분산물은 분무 건조된 것이다.

[0157] 일실시양태에서, 본 발명의 약학 조성물은 결정형의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 (1-1), 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 수화물을 비롯한 용매화물, 라세미체, 거울상 이성체, 이성체, 또는 동위 원소 표지 형태; 및 약학적으로 허용되는 중합체로 이루어진 고체 분산물을 포함한다. 일실시양태에서, 약학적으로 허용되는 중합체는 PVP이다. 일실시양태에서, 분산물은 1:3 내지 1:1의 중량비의 화합물 (1-1) 대 PVP를 가진다. 일실시양태에서, 고체 분산물은 분무 건조된 것이다.

[0158] 본원에 기재된 본 발명의 고체 분산물은 경구 투여시 특허 이로운 특성을 나타낸다. 고체 분산물의 이로운 특성의 예로는 동물 또는 인간에서의 표준 생체이용률 시험에서의 투여시 일정하고 높은 수준의 생체이용률을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 본 발명의 고체 분산물은 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 및 중합체 및 첨가제를 포함하는 고체 분산물을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 약물은 물 및 대부분의 수성 매질 중에서 무시해도 될 정도의 용해도를 가지기 때문에, 고체 분산물은 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물을 첨가제와 단순 혼합해서는 얻을 수 없는 혼류 내로의 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물의 흡수를 달성할 수 있다. 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물, 또는 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 (1-1)의 생체이용률은 다양한 시험관내 및/또는 생체내 연구를 사용하여 측정될 수 있다. 생체내 연구는 예를 들어, 래트, 개 또는 인간을 사용하여 수행될 수 있다.

[0159] 생체이용률은 가로축(X축)을 따른 시간에 대한 세로축(Y축)을 따른 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화

합물 또는 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 (1-1)의 혈청 또는 혈장 농도를 플롯팅하여 얻은 곡선하 면적(AUC) 값에 의하여 측정될 수 있다. 이어서, 고체 분산물로부터 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 또는 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 (1-1)의 AUC 값을 중합체가 없는, 등가 농도의 화학식 (1)의 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 또는 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 (1-1)의 AUC 값과 비교한다. 일부 실시양태에서, 고체 분산물은 개에게 경구 투여시, 개에게 정맥내로 투여된 대조군 조성물에 의해 제공되는 상응하는 곡선하 면적(AUC) 값의 0.4배, 0.5배, 0.6배, 0.8배, 1.0배 이상인 값으로부터 선택되는 AUC 값을 제공하며, 여기서, 대조군 조성물은 등가량의 화학식 (1)의 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물을 포함하는 것이다.

[0160] 생체이용률은 위 환경 및 장 환경의 pH 값을 모의하는 시험관내 시험에 의하여 측정될 수 있다. 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 또는 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 (1-1)의 고체 분산물을 pH가 1.0 내지 2.0인 수성 시험관내 시험 매질 중에 혼탁시킴으로써 측정될 수 있고, 이어서, 대조군 시험관내 시험 매질 중에서 pH를 pH 5.0 내지 7.0으로 조정한다. 화학식 (1)의 비정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 또는 비정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 (1-1)의 농도는 pH 조정 후 처음 2시간 동안 어느 때나 측정될 수 있다. 일부 실시양태에서, 고체 분산물은 pH가 5.0 내지 7.0인 수성 시험관내 시험 매질 중에서, 중합체가 없는 화학식 (1)의 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 또는 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 (1-1)의 농도와 비교하여 5배 이상 더 큰, 6배 이상 더 큰, 7배 이상 더 큰, 8배 이상 더 큰, 9배 이상 더 큰, 또는 10배 이상 더 큰 농도로부터 선택되는, 화학식 (1)의 비정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 또는 비정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 (1-1)의 농도를 제공한다.

[0161] 다른 실시양태에서, pH가 1.0 내지 2.0인 수성 시험관내 시험 매질 중에 배치된 고체 분산물로부터의 화학식 (1)의 비정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 또는 비정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 (1-1)의 농도는 중합체가 없는 화학식 (1)의 결정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물의 농도보다 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상; 80% 이상 높다. 일부 이러한 실시양태에서, 고체 분산물의 중합체는 HPMCAS이다. 일부 이러한 실시양태에서, 고체 분산물의 중합체는 PVP이다.

[0162] 다른 실시양태에서, 고체 분산물로부터의 화학식 (1)의 비정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 또는 비정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 (1-1)의 농도는 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물, 및 히프로멜로스 프탈레이트 및 에틸 아크릴레이트-메틸 메타크릴레이트-트리메틸암모니오에틸 메타크릴레이트 클로라이드 공중합체로 이루어진 군으로부터 선택되는 약학적으로 허용되는 중합체로 이루어진 고체 분산물로부터의 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물의 농도와 비교하여 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상; 80% 이상 더 높고, 여기서, 각 고체 분산물은 pH가 1.0 내지 2.0인 수성 시험관내 시험 매질 중에 배치된 것이다. 일부 이러한 실시양태에서, 고체 분산물의 중합체는 HPMCAS이다. 일부 이러한 실시양태에서, 고체 분산물의 중합체는 PVP이다.

[0163] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 고체 분산물은 시간 경과에 따라 습도 및 온도에 노출시 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 또는 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 (1-1)의 재결정화에 대하여 안정성을 나타낸다. 일실시양태에서, 비정질 상태를 유지하는 화학식 (1)의 비정질 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 또는 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 (1-1)의 농도는 90% 이상, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 및 99% 이상인 것으로부터 선택된다.

V. 투여 형태

[0165] 본 발명의 고체 분산물과 함께 사용될 수 있는 적합한 투여 형태로는 캡슐제, 정제, 미니 정제, 비드렛, 펠릿, 과립제, 과립화물 및 분체를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 적합한 투여 형태는 예를 들어, 장용 코팅제를 사용하여 코팅될 수 있다. 적합한 코팅제로는 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트, 히드록시프로필메틸셀룰로스(HPMC), 히드록시프로필메틸셀룰로스 프탈레이트, 폴리메틸아크릴산 공중합체, 또는 히드록실프로필메틸셀룰로스 아세테이트 숙시네이트(HPMCAS)를 포함할 수 있지만, 이에 한정되지 않는다. 일부 실시양태에서, 예를 들어, 동일한 샘플 중에서 본 발명의 티에노트리아졸로디아제핀의 일부 분자는 클러스터 중에 존재할 수 있는 반면, 일부는 단체와 함께 분자적으로 분산되어 있는 것과 같은 특정 조합이 발생할 수 있다.

[0166] 일부 실시양태에서, 본 발명의 고체 분산물은 정제, 캐플렛 또는 캡슐제로서 제제화될 수 있다. 하나의 일부 실시양태에서, 본 발명의 고체 분산물은 미니 정제 또는 입 안으로 주입하는 과립제 또는 구성용의 경구용 분체로서 제제화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 고체 분산물은 다른 부형제(예컨대, 재결정화/침전 억제 중합체, 미각 차폐 성분 등)와 함께 조합된 적절한 회석제 중에 분산되어 즉석 혼탁제 제제를 생성한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 고체 분산물은 소아과 치료용으로 제제화될 수 있다.

- [0167] 일실시양태에서, 본 발명의 약학 조성물은 경구 투여용으로 제제화된다. 일실시양태에서, 약학 조성물은 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 수화물을 비롯한 용매화물, 라세미체, 겨울상 이성체, 이성체, 또는 동위 원소 표지 형태; 및 중합체 담체를 포함하는, 본원에 기재된 다양한 실시양태에 따른 고체 분산물을 포함한다. 일실시양태에서, 약학 조성물은 하나 이상의 첨가제, 예컨대, 봉해제, 윤활제, 활택제, 결합제, 및 충전제를 추가로 포함한다.
- [0168] 약학 조성물과 함께 사용하는 데 적합한 약학적으로 허용되는 윤활제 및 약학적으로 허용되는 활택제의 예로는 콜로이드성 실리카, 마그네슘 트리실리케이트, 전분, 탈크, 3염기 인산칼슘, 스테아르산마그네슘, 스테아르산알루미늄, 스테아르산칼슘, 탄산마그네슘, 산화마그네슘, 폴리에틸렌 글리콜, 분말 셀룰로스, 글리세릴 베헤네이트, 스테아르산, 경화 피마자유, 글리세릴 모노스테아레이트, 및 나트륨 스테아릴 푸마레이트를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0169] 약학 조성물과 함께 사용하는 데 적합한 약학적으로 허용되는 결합제의 예로는 전분; 셀룰로스 및 그의 유도체, 예컨대, 미세결정질 셀룰로스(예컨대, FMC로부터의 아비셀 PH(AVICEL PH)), 히드록시프로필 셀룰로스, 히드록시에틸 셀룰로스, 및 히드록실프로필메틸셀룰로스(HPMC, 예컨대, 다우 케미칼(Dow Chemical)로부터의 메토셀(METHOCEL)); 수크로스, 텍스트로스, 옥수수 시럽; 다당류; 및 젤라틴을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0170] 약학 조성물과 함께 사용하는 데 적합한 약학적으로 허용되는 충전제 및 약학적으로 허용되는 희석제의 예로는 가루 백당, 압축 백당, 텍스트레이트, 텍스트린, 텍스트로스, 락토스, 만니톨, 미세결정질 셀룰로스(MCC), 분말 셀룰로스, 소르비톨, 수크로스 및 탈크를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0171] 일부 실시양태에서, 부형제는 약학 조성물 중에서 1 초파의 기능을 수행할 수 있다. 예를 들어, 충전제 또는 결합제는 또한 봉해제, 활택제, 부착방지제, 윤활제, 감미제 등일 수 있다.
- [0172] 일부 실시양태에서, 본 발명의 약학 조성물은 첨가제 또는 성분, 예컨대, 항산화제(예컨대, 아스코르빌 팔미테이트, 부틸화된 히드록실아니솔(BHA), 부틸화된 히드록시톨루엔(BHT), α -토코페롤, 프로필 갈레이트 및 푸마르산), 항미생물제, 효소 억제제, 안정제(예컨대, 말론산) 및/또는 보존제를 추가로 포함할 수 있다.
- [0173] 일반적으로, 본 발명의 약학 조성물은 임의의 적합한 고체 투여 형태로 제제화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 고체 분산물은 투여용의 단위 투여 형태로, 예컨대, 캡슐제, 또는 정제, 또는 다중 미립자 시스템, 예컨대, 과립제, 또는 과립화물, 또는 분제로서 배합된다.
- [0174] 일실시양태에서, 약학 조성물은 본원에 기재된 고체 분산물의 다양한 실시양태에 따른 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물, 및 히드록시프로필메틸셀룰로스 아세테이트 숙시네이트(HPMCAS)로 이루어진 고체 분산물을 포함하고, 여기서, 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 고체 분산물 중 비정질이며, 1:3 내지 1:1의 중량비의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 대 히드록시프로필메틸셀룰로스 아세테이트 숙시네이트(HPMCAS); 45-50 중량%의 락토스 일수화물; 35-40 중량%의 미세결정질 셀룰로스; 4-6 중량%의 크로스카멜로스 나트륨; 0.8-1.5 중량%의 콜로이드성 이산화규소; 및 0.8-1.5 중량%의 스테아르산 마그네슘을 가진다.
- [0175] VI. 투여:**
- [0176] 일실시양태에서, 본 발명은 임의의 적합한 고체 투여 형태로 제제화될 수 있는 약학 조성물을 제공한다. 일실시양태에서, 본 발명에 따른 약학 조성물은 본원에 기재된 다양한 실시양태의 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 중 하나 이상의 것을 약 10 mg 내지 약 100 mg 범위의 투여량으로 포함한다. 일실시양태에서, 본 발명의 약학 조성물은 본원에 기재된 다양한 실시양태의 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 중 하나 이상의 것을 약 10 mg 내지 약 100 mg, 약 10 mg 내지 약 90 mg, 약 10 mg 내지 약 80 mg, 약 10 mg 내지 약 70 mg, 약 10 mg 내지 약 60 mg, 약 10 mg 내지 약 50 mg, 약 10 mg 내지 약 40 mg, 약 10 mg 내지 약 30 mg, 및 약 10 mg 내지 약 20 mg으로 이루어진 군으로부터 선택되는 투여량으로 포함한다. 일실시양태에서, 본 발명의 약학 조성물은 본원에 기재된 다양한 실시양태의 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 중 하나 이상의 것을 약 10 mg, 약 50 mg, 약 75 mg, 약 100 mg으로 이루어진 군으로부터 선택되는 투여량으로 포함한다.
- [0177] 일부 실시양태에서, 본 발명의 약학 조성물은 그를 필요로 하는 피험체에게 본원에 기재된 다양한 실시양태의 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 중 하나 이상의 것을 약 1 mg, 약 2 mg, 약 2.5 mg, 약 3 mg, 약 4 mg, 약 5 mg, 약 7.5 mg, 약 10 mg, 약 20 mg, 약 25 mg, 약 30 mg, 약 35 mg, 약 40 mg, 약 45 mg, 약 50 mg, 약 55 mg, 약 60 mg, 약 65 mg, 약 70 mg, 약 75 mg, 약 80 mg, 약 85 mg, 약 90 mg, 약 95 mg, 약 100 mg, 약 110 mg, 약 120 mg, 약 130 mg, 약 140 mg, 및 약 150 mg으로 이루어진 군으로부터 선택되

는 투여량으로, 그리고 주 1회, 매 6일마다 한번씩 1일 1회, 매 5일마다 한번씩 1일 1회, 매 4일마다 한번씩 1일 1회, 매 3일마다 한번씩 1일 1회, 매 2일마다 한번씩 1일 1회, 1일 1회, 1일 2회, 1일 3회, 1일 4회 및 1일 5회로 이루어진 군으로부터 선택되는 투여 형태로 투여하는 단계를 포함한다. 다른 실시양태에서, 상기 투여량 또는 투여 형태 중 임의의 것은 주기적으로 감소되거나, 또는 주기적으로 증가된다. 일실시양태에서, 본 발명의 약학 조성물은 그를 필요로 하는 피험체에게 화합물을 (1-1), (1-2), (1-3), (1-4), (1-5), (1-6), (1-7), (1-8), (1-9), (1-10), (1-11), (1-12), (1-13), (1-14), (1-15), (1-16), (1-17), 및 (1-18)로 이루어진 군으로부터 선택되는 티에노트리아졸로디아제핀을 약 1 mg, 약 2 mg, 약 2.5 mg, 약 3 mg, 약 4 mg, 약 5 mg, 약 7.5 mg, 약 10 mg, 약 15 mg, 약 20 mg, 약 25 mg, 약 30 mg, 약 35 mg, 약 40 mg, 약 45 mg, 약 50 mg, 약 55 mg, 약 60 mg, 약 65 mg, 약 70 mg, 약 75 mg, 약 80 mg, 약 85 mg, 약 90 mg, 약 95 mg, 약 100 mg, 약 110 mg, 약 120 mg, 약 130 mg, 약 140 mg, 및 약 150 mg으로 이루어진 군으로부터 선택되는 투여량으로, 그리고 주 1회, 매 6일마다 한번씩 1일 1회, 매 5일마다 한번씩 1일 1회, 매 4일마다 한번씩 1일 1회, 매 3일마다 한번씩 1일 1회, 매 2일마다 한번씩 1일 1회, 1일 1회, 1일 2회, 1일 3회, 1일 4회 및 1일 5회로 이루어진 군으로부터 선택되는 투여 형태로 투여하는 단계를 포함한다. 다른 실시양태에서, 상기 투여량 또는 투여 형태 중 임의의 것은 주기적으로 감소되거나, 또는 주기적으로 증가된다.

[0178] 상기 단위 투여 형태는 요법의 특정한 목적, 요법의 단계 등에 따라 1일 1 내지 5회 투여하는 데 적합하다. 일실시양태에서, 투여 형태는 그를 필요로 하는 피험체에게 적어도 2일 연속으로 그 기간 동안 1일 1회 이상으로 투여될 수 있다. 일실시양태에서, 투여 형태는 그를 필요로 하는 피험체에게 격일로 1일 1회 이상 투여될 수 있다. 일실시양태에서, 투여 형태는 그를 필요로 하는 피험체에게 적어도 매주 동일하거나 및/또는 동일하지 않은 용량으로 분할되어 투여될 수 있다. 일실시양태에서, 투여 형태는 그를 필요로 하는 피험체에게 매주 투여될 수 있고/거나, 3일마다 교대로 및/또는 주 6회로 제공될 수 있다. 일실시양태에서, 투여 형태는 그를 필요로 하는 피험체에게 격일로, 매 3일마다, 매 4일마다, 매 5일마다, 매 6일마다 및/또는 매주 분할된 용량으로 투여될 수 있다. 일실시양태에서, 투여 형태는 그를 필요로 하는 피험체에게 1개월당 2회 이상 동일하거나 또는 동일하지 않은 분할된 용량으로 투여될 수 있다.

[0179] 사용된 투약 형태, 예컨대, 캡슐제, 정제, 미니 정제, 비드, 비들렛, 펠릿, 과립제, 과립화물, 또는 분제는 예를 들어, 장용 코팅제를 사용하여 코팅될 수 있다. 적합한 코팅제로는 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트, 히드록시프로필메틸셀룰로스(HPMC), 히드록시프로필메틸셀룰로스 프탈레이트, 폴리메틸아크릴산 공중합체, 또는 히드록실프로필메틸셀룰로스 아세테이트 숙시네이트(HPMCAS)를 포함할 수 있지만, 이에 한정되지 않는다.

VII. 공정:

[0181] 본원에 개시된 티에노트리아졸로디아제핀 화합물은 유리 염기로서 또는 산 부가 염으로서 존재할 수 있다. 이들은 미국 특허 출원 공개 번호 2010/0286127(상기 특허는 그 전체가 본원에서 참고로 인용됨)에 기술되어 있거나, 또는 본 출원에 기술되어 있는 방법에 따라 수득될 수 있다. 본 발명의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물의 개별 거울상 이성체 및 부분 입체 이성체는 비대칭 또는 입체 발생 중심을 함유하는 상업상 이용가능한 출발 물질로부터, 또는 라세미 혼합물의 제조에 이어 진행되는 당업계의 숙련가에게 널리 공지된 분할 방법에 의하여 합성적으로 제조될 수 있다. 이를 분할 방법은 (1) 거울상 이성체의 혼합물의 키랄 보조체에의 부착, 결과로 나오는 부분 입체 이성체의, 재결정화 또는 크로마토그래피에 의한 분리, 및 보조체로부터 광학적으로 순수한 생성물의 유리, (2) 광학 활성 분할제를 사용하는 염 형성, (3) 키랄 액체 크로마토그래피 컬럼 상의 광학 거울상 이성체의 혼합물의 직접 분리, 또는 (4) 입체 선택적 화학 또는 촉매 시약을 사용하는 동적 분할에 의해 예시된다. 라세미 혼합물도 키랄-상 가스 크로마토그래피 또는 키랄 용매 중에의 화합물의 결정화와 같은 널리 공지된 방법에 의해 이의 성분 거울상 이성체로 분할될 수 있다.

[0182] 필요할 경우, 본원에 개시된 티에노트리아졸로디아제핀 화합물의 특정한 거울상 이성체는 비대칭 합성에 의해, 또는 결과로 나오는 부분 입체 이성체 혼합물을 분리하고 보조기를 제거하여 순수한 소정의 거울상 이성체를 제공하는, 키랄 보조체로의 유도체와에 의해 제조될 수 있다. 대안적으로, 분자가 아미노와 같은 염기성 작용기 또는 카르복실과 같은 산성 작용기를 포함하는 경우, 적절한 광학 활성 산 또는 염기로 부분 입체 이성체 염을 형성한 후, 부분 입체 이성체를 분할하여 당업계에 널리 공지된 분별 결정화 또는 크로마토그래피 수단에 의해 형성하고, 이어서 순수한 거울상 이성체를 회수한다. 당업계에 널리 공지된 다양한 방법을, 거울상 이성체 과잉율이 일반적으로 약 80% 초과인 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 화합물의 제조에 사용할 수 있다. 유리하게는, 바람직한 거울상 이성체 과잉율은 80% 초과, 바람직하게는 90% 초과, 더욱 바람직하게는 95% 초과, 가장 바람직하게는 99% 이상이다.

- [0183] 본 발명의 고체 분산물은 용융 및 용매 증발을 포함하는 다수의 방법에 의해 제조할 수 있다. 본 발명의 고체 분산물을 또한 문헌[Chiou WL, Riegelman S: "Pharmaceutical applications of solid dispersion systems", J. Pharm. Sci. 1971; 60:1281-1302; Serajuddin ATM: "Solid dispersion of poorly water-soluble drugs: early promises, subsequent problems, and recent breakthroughs", J. Pharm. Sci. 1999; 88:1058-1066; Leuner C, Dressman J: "Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions", Eur. J. Pharm. Biopharm. 2000; 50:47-60; 및 Vasconcelos T, Sarmento B, Costa P: "Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs", Drug Discovery Today 2007; 12:1068-1075]에 기재된 절차에 따라 제조할 수 있으며, 이들은 그 전체를 본원에서 참고로 인용한다.
- [0184] 일실시양태에서, 본 발명의 고체 분산물은 용융 공정에 의해 제조된다. 일실시양태에서, 용융 공정은 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀의 다양한 실시양태 중 1 이상을 담체에 용융시키는 것을 포함한다. 일실시양태에서, 용융 공정은 본 발명의 용융된 화합물 및 담체를 냉각시키는 것을 포함한다. 일실시양태에서, 용융 공정은 용융된 화합물 및 담체의 분쇄를 포함한다. 일실시양태에서, 본 발명의 용융된 화합물 및 담체는 냉각 단계 후에 분쇄한다.
- [0185] 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀 또는 그의 약학적으로 허용되는 염, 수화물을 비롯한 용매화물, 라세미체, 거울상 이성체, 이성체, 또는 동위 원소 표지 형태 및 담체가 비혼화성인 경우, 가열된 혼합물 중 혼탁액 또는 2개의 액상의 형성을 방지하기 위해 용융 단계 동안 계면 활성제를 첨가할 수 있다. 일부 실시양태에서, 용융된 상태의 약물 및 담체 모두를 사용하는 대신, 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀의 다양한 실시양태 중 1 이상을 이미 용융된 담체에 혼탁시켜 공정 온도를 감소시킨다. 일실시양태에서, 용융된 약물 및 담체 혼합물을 빙욕 교반 냉각시킨다. 일실시양태에서, 용융된 약물 및 담체 혼합물을 냉각시키고, 분무 냉각(대안적으로 분무 응고)에 의해 고화시킨다.
- [0186] 일실시양태에서, 용융된 약물 및 담체 혼합물을 냉각시키고, 주위 온도 또는 냉각된 저온 공기가 통과하는 냉각챔버에 용융물을 분무하여 용융물을 입자로 형성시켜 고화시킨다. 일실시양태에서, 용융된 약물 및 담체 혼합물을 냉각시키고, 적절한 유동층 프로세서에서의 용융된 분산물의 분무화 및 재고화에 의해 고화시킨다. 일실시양태에서, 용융된 약물 및 담체 혼합물을 냉각시키고, 가열 가능한 고전단 막서에서의 용융 과립화에 의해 고화시킨다.
- [0187] 일부 실시양태에서, 약물의 용융 제한을 회피하기 위해 핫스테이지 압출 또는 용융 응고를 이용할 수 있다. 핫스테이지 압출은 단기간 동안 용융 온도에서 이미 혼합된 약물 및 담체를 높은 회전 속도로 압출하는 것으로 이루어지며; 실온에서의 냉각 후 결과로 나온 생성물을 수집하고 분쇄한다.
- [0188] 일실시양태에서, 임의의 열 불안정성 화합물의 분해를 회피하기 위해, 화학식 (1)의 티에노트리아졸로디아제핀의 다양한 실시양태 중 1 이상을 감소된 가공 온도에서 가공한다. 일실시양태에서, 핫스테이지 압출을 이산화탄소와 같은 일시적 가소화제와 연합시킴으로써 감소된 가공 온도를 달성한다. 일실시양태에서, 종래의 고전단 막서 또는 회전 프로세서에서 본 발명에 따른 고체 분산물의 제조에 용융 응고가 이용된다. 일실시양태에서, 본 발명에 따른 고체 분산물은, 본 발명에 따른 티에노트리아졸로디아제핀 화합물을 포함하는 용융 담체를 가열된 부형제에 첨가하여 제조된다. 일실시양태에서, 본 발명에 따른 고체 분산물은, 본 발명에 따른 티에노트리아졸로디아제핀과 1 이상의 부형제의 가열된 혼합물에 용융된 담체를 첨가하여 제조된다. 일실시양태에서, 본 발명에 따른 고체 분산물은, 본 발명에 따른 티에노트리아졸로디아제핀 화합물, 담체 및 1 이상의 부형제의 혼합물을, 담체의 용융 범위 내 또는 그 위의 온도로 가열하여 제조된다.
- [0189] 일부 실시양태에서, 화학식 (1)에 따른 티에노트리아졸로디아제핀의 제제에 대한 다양한 실시양태 중 1 이상은 용매 증발 방법에 의해 제조된다. 일실시양태에서, 용매 증발 방법은 추후에 증발되는 휘발성 용매 중에 화학식 (1)에 따른 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 및 담체를 가용화시키는 것을 포함한다. 일실시양태에서, 휘발성 용매는 하나 이상의 부형제일 수 있다. 일실시양태에서, 하나 이상의 부형제는 점착 방지제, 불활성 충전제, 계면활성제, 습윤제, pH 조절제 및 첨가제를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 일실시양태에서, 부형제는 휘발성 용매 중에 용해될 수 있거나, 또는 혼탁된 상태 또는 팽윤 상태일 수 있다.
- [0190] 일실시양태에서, 본 발명에 따른 고체 분산물의 제조는 휘발성 용매 중에 혼탁된 하나 이상의 부형제를 건조시키는 것을 포함한다. 일실시양태에서, 건조는 진공 건조, 저온에서의 휘발성 용매의 저속 증발, 회전 증발기의 사용, 분무 건조, 분무 과립화, 동결 건조, 또는 초임계 유체의 사용을 포함한다.
- [0191] 일실시양태에서, 조성물의 혼탁액 또는 용액의 작은 액적으로의 분무화, 이어서, 제제로부터 용매의 빠른 제거

를 포함하는 화학식 (1)에 따른 티에노트리아졸로디아제핀 조성물을 위한 제제의 분무 건조 제조가 사용된다. 일실시양태에서, 본 발명에 따른 제제의 제조는 용매 중 조성물의 용액 또는 혼탁액이 화학적으로 및/또는 물리적으로 불활성인 적합한 충전제, 예컨대, 락토스 또는 만니톨 상에 분무되는 분무 과립화를 포함한다. 일실시양태에서, 조성물의 용액 또는 혼탁액의 분무 과립화는 2 방향 또는 3 방향 노즐을 통해 달성된다.

[0192] 일부 실시양태에서, 본 발명에 따른 고체 분산물의 제조는 초임계 유체의 사용을 포함한다. 용어 "초임계 유체"는 이의 임계 온도 및 임계 압력 위에서 단일 유체 상으로서 존재하는 물질을 지칭한다. 일실시양태에서, 본 발명에 따른 제제의 제조는 초임계 이산화탄소 유체의 사용을 포함한다. 일실시양태에서, 초임계 유체 기술을 이용하는 본 발명에 따른 제제의 제조는, 이산화탄소와 동시에, 노즐을 통해 입자 형성 용기에 도입된 공통 용매에 화학식 (1)에 따른 티에노트리아졸로디아제핀 화합물 및 담체를 용해시키는 단계; 및 용액을 분무하여 용매를 초임계 유체에 의해 빠르게 추출시켜, 용기의 벽에 고체 분산물 입자의 침전을 형성시키는 단계를 포함한다.

[0193] 일부 실시양태에서, 본 발명에 따른 고체 분산물의 제조는 공침전(co-precipitation) 방법을 이용한다. 일실시양태에서, 일정하게 교반하면서 비용매를 화학식 (1)에 따른 티에노트리아졸로디아제핀 조성물 및 담체 용액에 적가한다. 일실시양태에서, 비용매의 첨가 동안 화학식 (1)에 따른 티에노트리아졸로디아제핀 조성물 및 담체를 공침전시켜 미립자를 형성시킨다. 일실시양태에서, 결과로 나온 미립자를 여과 및 건조시켜 소정의 고체 분산물을 제공한다.

[0194] 혼합되는 화학식 (1)의 화합물 및 중합체 담체(들)의 비율은, 화학식 (1)의 화합물의 생체 이용률을 개선할 수 있는 한, 특별히 한정되지 않으며, 중합체의 종류에 따라 달라진다.

[0195] 본 발명은 하기 비제한적인 실시예에서 예시된다.

VIII. 실시예:

실시예 1: 화합물 (1-1)의 고체 분산물의 시험관내 스크리닝

[0196] 화합물 (1-1), 및 히프로멜로스 아세테이트 숙시네이트(HPMCAS-M), 히프로멜로스 프탈레이트(HPMCP-HP55), 폴리비닐피롤리돈(PVP), PVP-비닐 아세테이트(PVP-VA), 및 유드라짓 L100-55를 비롯한 5종의 중합체 중 하나를 각각의 중합체에 대하여 25% 및 50%의 화합물 (1-1) 로딩, 둘 모두에서 사용하여 10종의 고체 분산물을 제조하였다. 분무 건조, 이어서, 저온 대류 오븐에서의 2차 건조를 사용하여 용매 증발 방법에 의해 고체 분산물을 제조하였다. 시간 경과에 따른 약물의 총량 및 용액 중에 존재하는 유리 약물의 양, 둘 모두를 측정하는 비싱크 용해 성능 시험을 통해 각 고체 분석물에 대한 성능을 평가하였다. 비싱크 용해가 가용성이 낮은 화합물에 대한 생체내 상황을 가장 잘 나타내기 때문에 이를 선택하였다. 본 시험은 생체내 조건을 모의하는 것으로, 시험 매질로의 분산물의 도입 후 대략 30 내지 40분째에 위 pH(0.1 N NaCl, pH 1.0)로부터 장 pH(FaFSSIF, pH 6.5)로의 분산물의 "위 전이"를 포함된다. [FaFSSIF는 3 mM 나트륨 타우로콜레이트, 0.75 mM 레시틴, 0.174 g NaOH 펠릿, 1.977 g NaH₂PO₄.H₂O, 3.093 g NaCl, 및 500 mL가 되도록 하는 충분량의 정제수로 구성된, 공복 상태를 모의한 장액이다]. 용해된 약물의 양은 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC) 방법 및 애질런트(Agilent) 1100 시리즈 HPLC를 사용하여 정량하였다. 제제의 용해 프로파일(도 1a-1j)에서는 동일한 매질 중 제제화되지 않은 화합물과 비교하여 모든 분산물 후보에서 약물 용해도가 크게 증가한 것으로 나타났다. 장 pH에서 방출된 유래 약물의 수준이 더 높다는 관찰 결과에 기초하여 고체 분산물 중, PVP 중 25% 화합물 (1-1), HPMCAS-M 중 25% 화합물 (1-1), 및 HPMCAS-M 중 50% 화합물 (1-1) 분산물이 제제화되지 않은 화합물과 비교하였을 때 증진된 경구 흡수를 제공하였다.

실시예 2: 화합물 (1-1)의 고체 분산물의 생체내 스크리닝

[0200] 생체내 연구를 위해 화합물 (1-1)의 고체 분산물, 즉, PVP 중 25% 화합물 (1-1), HPMCAS-MG 중 25% 화합물 (1-1), 및 HPMCAS-M 중 50% 화합물 (1-1) 분산물을 대규모로 제조하였다. 각 제제를 실시예 1에 기재된 시험관내 용해 시험에서 평가하였다. 상기 분산물이 비정질이고, 균질성이라는 둘 모두를 확인하기 위하여, 각각의 분산물을 분말 X선 회절(PXRD) 및 변형된 시차 주사 열량 측정(mDSC: modulated differential scanning calorimetry)에 의하여 평가하였다. X선 회절계는 브루커(Bruker) D-2 페이저(Phaser)였다. 추가로, 각 분산물에 대한 유리 전이 온도(Tg)에 대한 물의 효과를 이해하기 위하여, 우선 설정된 상대 습도(즉, 25%, 50% 및 75% RH)에서 18시간 이상 동안 평형화된 샘플에 대하여 mDSC를 수행하였다. 물은 고체 분산물에 대한 가소화제로서 작용할 수 있으며, 활성 화합물 또는 중합체에 기인하는 시스템의 흡습성은 이를 시스템에 의하여 흡수하는 물

의 양에 영향을 줄 수 있다.

[0201] 비성크 용해 결과(도 2a-2c)는 실시예 1의 분산물에 대해 관찰된 것과 유사하였다. PXRD 결과(도 3)는 분산물 중 어느 것에서도 결정질 화합물에 대한 증거는 나타나지 않았고, mDSC 결과(도 4a-4c)는 각 분산물에 대한 단일 유리 전이 온도(Tg)를 나타내었으며, 이는 각 분산물이 균질성임을 나타내는 것이었다. 각각에 대하여 Tg 및 상대 습도 사이의 역관계가 관찰되었다(도 5). 특히, 75% RH에서 평형화된 PVP 고체 분산물 중의 25% 화합물(1-1)의 경우, 2개의 Tg가 존재하는 것으로 나타났는데, 이는 상 분리가 발생하였다는 것을 나타내며, 이러한 분산물은 또한 75% RH에서의 용융 이벤트를 나타내었는데, 이는 RH 평형화 동안 결정화가 발생하였다는 것을 제안하는 것이다(도 6). 이러한 관찰 결과는 PVP 중 25% 화합물(1-1) 분산물이 HPMCAS-M 분산물보다 덜 안정할 수 있다는 것을 제안한다.

[0202] 3종의 분산물의 생체이용률을 평가하기 위하여, 비글 개 수컷 군(군당 3마리)에게 3 mg/kg 용량의 화합물(1-1)의 고체 분산물을 경구 급식에 의한 투여에 의해 제공하거나, 또는 1 mg/kg 용량의, 물:에탄올:폴리에틸렌 글리콜(PEG) 400(60:20:20) 중에 용해된 화합물(1-1)을 정맥내 볼루스로서 두부 정맥에 투여하였다. 혈액 샘플을 각 동물의 경정맥으로부터 정맥 투여 후 0(투약 전), 5, 15 및 30분째 및 1, 2, 4, 8, 12 및 24시간째에, 및 경구 급식 투여 후 0(투약 전), 15 및 30분째 및 1, 2, 4, 8, 12 및 24시간째에 수집하였다. 정량 하한을 0.5 ng/mL로 하여 적격의 LC-MS/MS 방법을 이용하여 각 샘플 중에 존재하는 화합물(1-1)의 양을 검출하였다. 무한대로의 말단 제거 단계의 외삽 없이 최종 측정 가능한 농도까지 선형 사다리꼴 법칙을 사용하여 혈장 농도-시간 곡선하 면적(AUC)을 측정하였다. 제거 반감기($t_{1/2}$)는 로그 농도-시간 곡선의 말단 선형 부분의 최소 자승 회귀 분석에 의하여 계산하였다. 최대 혈장 농도($C_{\text{최대}}$) 및 $C_{\text{최대}}$ 까지의 시간($t_{\text{최대}}$)은 혈장 농도 데이터로부터 직접 유도되었다. 경구 생체이용률(F)은 경구 투여 후의 용량 정규화된 AUC를 정맥내 투여 후의 용량 정규화된 AUC로 나누어 계산하였고, 이를 비율(%)로 기록하였다. 하기 표 1에 요약된 결과는 PVP 중 25% 화합물(1-1), HPMCAS-M 중 25% 화합물(1-1) 및 HPMCAS-M 중 50% 화합물(1-1) 고체 분산물의 평균 경구 생체이용률이 각각 58%, 49% 및 74%라고 제공하였다.

표 1

표 1: 개에게로의 경구(po) 및 정맥내(iv) 투여 후의 화합물(1-1)의 약동학적 파라미터
(값은 개 3마리로부터 얻은 값의 평균이다)

화합물(1-1) 제제	용량 & 경로	$C_{\text{최대}}$ (ng/L)	$t_{\text{최대}}$ (hr)	AUC (ng•min/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	F (%)
물:에탄올:PEG400(60:20:20) 증의 용액	1 mg/kg IV	769	0.083	53,312	1.5	----
25% 화합물(1-1)/PVP 고체 분산물로 이루어진 수성 혼탁액	3 mg/kg PO	487	1.0	93,271	1.6	58
25% 화합물(1-1)/HPMCAS-M 고체 분산물로 이루어진 수성 혼탁액	3 mg/kg PO	228	0.5	78,595	2.0	49
50% 화합물(1-1)/HPMCAS-M 고체 분산물로 이루어진 수성 혼탁액	3 mg/kg PO	371	1.0	118,174	1.5	74

AUC: 혈장 농도-시간 곡선하 면적; $C_{\text{최대}}$: 최대 혈장 농도; F: 생체이용률; HPMCAS: 히프로멘로스 아세테이트 소듐; IV: 정맥내; PEG: 폴리에틸렌 글리콜; PO: per os, 경구; PVP: 폴리비닐피롤리돈;
 $t_{\text{최대}}$: $C_{\text{최대}}$ 의 시간; $t_{1/2}$: 혈장 제거 반감기

[0203]

[0204] 실시예 3: 화합물(1-1)의 고체 분산물을 함유하는 캡슐제의 제조 및 임상적 사용

[0205] 10 mg 강도의 젤라틴 캡슐제를 혈액암 환자에서의 초기 임상 연구를 위하여 제조하였다. 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, 화합물(1-1)의 고체 분산물의 시험관내 및 생체내 시험 결과에 기초하여, 캡슐제 개발을 위하여 HPMCAS-M 고체 분산물 중의 50% 화합물(1-1)을 선택하였다. 캡슐제 개발은 크기 3 경질 젤라틴 캡슐제 내에서 190 mg의 충전 중량을 표적으로 하여 개시하였는데, 이러한 구성은 약학 조성을 유지하면서 더 큰 크기의 캡슐제를 충전시킴으로써 캡슐제 강도를 잠재적으로 증가시키도록 한다. 경험에 기초하여, 상이한 양의 봉해제를 사용하고, 습윤제를 사용하면서, 및 사용하지 않고, 4개의 캡슐제 제제를 디자인하였다. 4개의 제제는 모두 유사한 봉해 시험 및 용해 시험 결과를 보였는 바, 제조를 위하여 (습윤제 없이, 최소의 봉해제를 사용하는) 가장

간단한 제제를 선택하였다. 고체 분산물에 대한 분무 건조 공정 및 건조 후 시간; 블렌딩 파라미터; 대략 0.60 g/cc의 표적 벌크 밀도를 달성하기 위한 블렌드의 롤러 압착 및 분쇄; 및 캡슐제 충전 조건을 확인하기 위하여 제조 공정 개발 및 규모 확대 연구를 수행하였다.

[0206] 결정질 화합물 (1-1) 및 중합체 히프로멜로스 아세테이트 숙시네이트(HPMCAS-M)를 아세톤 중에 용해시키고, 분무 건조시켜 50% 화합물 (1-1) 로딩을 함유하는 고체 분산물 중간체(SDI: solid dispersion intermediate) 과립제를 수득하였다. SDI는 PXRD 분석에 의하여 비정질인 것으로 나타났으며, mDSC 분석에 의하여 균질한(즉, 주위 조건하에서 단일 Tg) 것으로 나타났다. HPMCAS-M 고체 분산물(1,000 g), 및 미세결정질 셀룰로스-결합제 (4,428 g), 크로스카멜로스 나트륨 봉해제(636 g), 콜로이드성 이산화규소 분산제/윤활제(156 g), 스테아르산 마그네슘 분산제/윤활제(156 g) 및 락토스 일수화물 충전제(5,364 g)를 비롯한 부형제 중의 50% 화합물 (1-1)을 V 블렌더 내에서의 단계에서 블렌딩하였다. 이어서, 블렌드를 압착시키고, 과립화하여 대략 0.6 g/mL의 벌크 밀도를 수득하였다. 자동 충전기를 사용하여 블렌드를 크기 3 경질 젤라틴 캡슐제(표적 충전 중량: 190 mg)로 분배하고, 캡슐 연마기를 사용하여 마감 처리된 캡슐을 연마하였다.

[0207] HPMCAS 고체 분산물 중의 50% 화합물 (1-1)을 함유하는 10 mg 캡슐제의 경구 투약 후 약동학적 평가를 수행하고, 결과를 화합물 (1-1)의 유드라짓 고체 분산물을 함유하는 4×10 mg 캡슐제를 건강한 지원자에게 경구 투약한 후 수행된 약동학적 평가와 비교하였다.

[0208] 2종의 약학 조성물의 비교는 하기 표 2A 및 2B에 제시되어 있다. 유드라짓 제제는 이미 2009년 1월 8일자로 공개된 미국 특허 출원 2009/0012064 A1의 실시예 5에 기술되어 있다. 상기 출원은 화학식 (A)의 티에노트리아졸로디아제핀, 및 암모니오 메타크릴레이트 공중합체 타입 B(유드라짓 RS), 메타크릴산 공중합체 타입 C(유드라짓 L100-55), 탈크 및 마그네슘 알루미노실리케이트를 비롯한 코팅 부형제를 물 및 에탄올의 혼합물 중에 용해 및/ 또는 분산시켜 유드라짓 고체 분산물 제제를 제조하였다는 점에 유의하였다. 이어서, 원심분리 유동층 과립화기를 사용하여 상기 비균질 혼합물을 미세결정질 셀룰로스 구체(논파레일(Nonpareil) 101, 프로인트(Freund))에 적용하여 크기 2 힐드록시프로필 메틸셀룰로오스 캡슐제로 분배된 과립제를 수득하였다.

[0209] 두 임상 연구 모두에서, 화합물 (1-1)의 혈중 농도는 입증된 LC-MS/MS 방법을 사용하여 측정하고, 캡슐제 투여 후 24시간에 걸쳐 다양한 시점에서 측정된 화합물 (1-1)의 혈장 농도에 기초하여 약동학적으로 분석을 수행하였다. 하기 표 3에 요약한 결과는 HPMCAS-M 고체 분산물 제제가 AUC(924*4/1140, 투여량의 차이에 대하여 조정)를 기준으로 하여 유드라짓 고체 분산물 제제보다 인간에서의 생체이용률이 3배 더 높았다는 것을 나타냈다. 추가로, 관찰된 T_{최대}에 기초하여, HPMCAS 제제는 유드라짓 제제보다 더 신속하게 흡수되었다(T_{최대} 1 h 대 4-6 h). HPMCAS-M 고체 분산물 제제를 사용한 전신 노출에서 현저히 개선되었다는 점은 예상하지 못했던 것이다.

표 2

표 2A: 임상적 사용을 위한 화합물 (1-1)의 고체 분산물 캡슐제

화합물 (1-1)의 50% HPMCAS 고체 분산물을 함유하는 제약 조성물:
10 mg 강도, 크기 3 경질 젤라틴 캡슐제

성분	기능	캡슐제 함량	
		mg	Wt %
화학식 (II)의 화합물	활성제	10.0*	5.56
히프로멜로스 아세테이트 숙시네이트 (HPMCAS-M)	고체 분산물을 위한 담체	10.0	5.56
락토스 일수화물	충전제	85.0	47.22
미세결정질 셀룰로스	충전제-결합제	70.0	38.89
크로스카멜로스 소듐	봉해제	10.0	5.56
콜로이드성 이산화규소	분산제/윤활제	2.5	1.39
스테아르산 마그네슘	분산제/윤활제		
	총 합계	190.0	100.0

[0210]

표 2B: 화합물 (1-1)의 유드라켓 L100-55 고체 분산물을 함유하는 제약 조성물:
10 mg 강도, 크기 2 경질 켐라틴 캡슐제

성분	기능	캡슐제 함량	
		mg	Wt %
화합물 (1-1)	활성제	10.0*	3.8
코아:			
미세결정 젤 셀룰로스 구체 (논파레일 101, 프로인트, 잉크.)	비히클	100.0	38.5
화합물/증합체 총:			
암모니오 메타크릴레이트 공중합체, 타입 B (NF, PhEur) (유드라켓 RS, 애보닉)	코팅제	10.8	4.2
메타크릴산 공중합체, 타입 C(NF)/ 메타크릴산-에틸 아크릴레이트 공중합체(1:1) 타입 A (PhEur) (유드라켓 L100-55, 애보닉)	코팅제	25.2	9.7
탈크	코팅제	88.2	33.9
마그네슘 알루미노메타실리케이트 (뉴슬린(Neuslin), 후지 케미칼(Fuji Chemical))	코팅제	20.0	7.7
트리에틸 시트레이트	가소화제	5.0	1.9
이산화규소	유동화제	0.8	0.3
		260.0	100.0

* 무수물로서의 것

표 3

표 3: 화합물 (1-1)의 고체 분산물의 인간에게로의 경구 투여 이후의 약동학적 파라미터

화합물 (1-1) 제제	# 환자	용량 및 경로	C _{최대} (ng/mL)	T _{최대} (hr)	AUC _{0-24h} (ng•h/mL)
유드라켓 고체 분산물 제제	7	40 mg PO	83	4 내지 6	1140
50% HPMCAS-M 고체 분산물 제제	7	10 mg PO	286	1	925

AUC_{0-24h}: 24시간 동안에 걸친 화합물 (1-1) 혈장 농도 대 시간 곡선하 면적

C_{최대}: 혈장 중 최대 농도

hr: 시간

HPMCAS: 히프로멜로스 아세테이트 속시네이트

mL: 밀리리터

ng: 나노그램

PO: per os, 경구

T_{max}: C_{최대}의 시간

[0211]

실시예 4: 래트에서의 경구 노출

[0212]

래트에서 화합물 (1-1)의 고체 분산물의 3종의 제제의 경구 생체이용률을 측정하였다. 선택된 3종의 분산물은 PVP 중의 화합물 (1-1)의 25% 분산물, HPMCAS-MG 중의 화합물 (1-1)의 25% 분산물 및 HPMCAS-MG 중의 화합물 (1-1)의 50% 분산물이었다. 연구에 사용한 동물은 투르쿠 대학(University of Turku: 핀란드)의 중앙 동물 실험실(Central Animal Laboratory)로부터 입수한 특정 무병원체(SPF: Specific Pathogen Free) Hsd:스프라그 돌리 래트였다. 래트는 원래 네덜란드 할란으로부터 구입되었던 것이다. 래트는 10주령된 암컷이었고, 본 연구에서 12마리의 래트를 사용하였다. 동물을 폴리카보네이트 마크론(Makrolon) II 케이지(케이지당 동물 3마리씩)에 하우징시키고, 동물 실내 온도는 21±3°C였고, 동물 실내 상대 습도는 55±15%였고, 동물 실내 조명은 인공 조명으로, 12시간 명기 및 암기(암기는 18:00내지 06:00 사이)로 순환시켰다. 사시나무 칩(타프베이 오위(Tapvei Oy: 에스토니아))을 배딩에 사용하였으며, 배딩은 주 1회 이상 교체해주었다. 동물에게 투약하기 전에 음식물과 물을 제공하였지만, 투약 후 처음 2시간 동안은 제거하였다.

[0213]

0.75 mg/mL 농도의 화합물 (1-1)을 수득하는 데 적절한 양을 사용하여 미리 계산된 양의 주사용 멸균수를 분산물을 보유하는 용기에 첨가하여 PVP 중의 화합물 (1-1)의 25% 분산물, HPMCAS-MG 중의 화합물 (1-1)의 25% 분산물 및 HPMCAS-MG 중의 화합물 (1-1)의 50% 분산물을 함유하는 경구 투약용 용액을 제조하였다. 각 투여 전 20초 동안 경구 투약용 용액을 와류 혼합하였다. 정맥내 투여를 위한 투약용 용액은 0.25 mg/mL의 화합물 (1-1)을 함유하였으며, 5 mg의 화합물 (1-1)을, 평균 분자량이 400 Da인 폴리에틸렌 글리콜(PEG400) 4 mL, 4 mL의 에탄올(96% 순도) 및 12 mL의 주사용 멸균수를 함유하는 혼합물 중에 용해시켜 제조하였다. PVP 중의 화합물 (1-1)의 25% 분산물을 함유하는 투약용 용액을 물 첨가 후 30분 이내에 사용하였다. HPMCAS-MG 중의 화합물 (1-1)의 25%

분산물 및 HPMCAS-MG 중의 화합물 (1-1)의 50% 분산물을 함유하는 투약용 용액을 물 첨가 후 60분 이내에 사용하였다. 정맥내 투여의 경우, 1 mg/kg 및 경구 투여의 경우, 3 mg/kg의 화합물 (1-1)의 용량 수준을 얻기 위하여 4 mL/kg의 투약 부피를 사용하였다. 투약 방식은 하기 표 4에 제시되어 있다.

표 4

표 4. 래트 경구 노출 연구를 위한 투약 방식

래트	체중	용량(mL)	시험 항목	경로
1	236.5	0.95	화합물 (1-1)	정맥내
2	221	0.88	화합물 (1-1)	정맥내
3	237.5	0.95	화합물 (1-1)	정맥내
4	255.5	1.02	PVP 중의 화합물 (1-1)의 25% 분산물	경구
5	224.2	0.90	PVP 중의 화합물 (1-1)의 25% 분산물	경구
6	219.2	0.88	PVP 중의 화합물 (1-1)의 25% 분산물	경구
7	251.6	1.01	HPMCAS-MG 중의 화합물 (1-1)의 25% 분산물	경구
8	240.4	0.96	HPMCAS-MG 중의 화합물 (1-1)의 25% 분산물	경구
9	238	0.95	HPMCAS-MG 중의 화합물 (1-1)의 25% 분산물	경구
10	226.6	0.91	HPMCAS-MG 중의 화합물 (1-1)의 50% 분산물	경구
11	228.4	0.91	HPMCAS-MG 중의 화합물 (1-1)의 50% 분산물	경구
12	228.5	0.91	HPMCAS-MG 중의 화합물 (1-1)의 50% 분산물	경구

[0216]

투약 후 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 및 24시간인 시점에 5 μL 의 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA) 용액을 함유하는 에펜도르프 시험관으로 대략 50 μL 의 혈액 샘플을 수집하였으며, 여기서, 각 샘플은 규정된 시점으로부터 5분 이내에 수집되었다. 각 샘플로부터, 20 μL 의 혈장을 수득하고, 분석을 위하여 드라이 아이스 온도에서 보관하였다. 화합물 (1-1)의 농도에 대한 각각의 샘플의 분석은 입증된 액체 크로마토그래피 텐덤 질량 분석법 (LC-MS/MS) 방법을 사용하여 수행하였으며, 여기서, 정량 하한은 0.5 ng/mL였다.

[0218]

약동학적 파라미터는 피닉스 WinNonlin(Phoenix WinNonlin) 소프트웨어 패키지(버전 6.2.1, 파사이트 코포레이션(Pharsight Corp.: 미국 캘리포니아주))를 이용하여 표준 비구획 방법으로 계산하였다. 제거 단계 반감기 ($t_{1/2}$)는 로그 농도-시간 곡선의 말단 선형 부분의 최소 자승 회귀 분석에 의해 계산하였다. 혈장 농도-시간 곡선하 면적(AUC)은 최종 측정가능한 농도까지 선형 사다리꼴 법칙을 사용하고, 그후 말단 제거 단계의 무한대로의 외삽에 의하여 측정하였다. 화합물이 구획 또는 계내에 잔존하는 시간의 평균량을 나타내는 평균 체류 시간 (MRT: mean residence time)은 약물 농도 프로파일을 무한대로 외삽하여 계산하였다. 최대 혈장 농도($C_{\text{최대}}$) 및 $C_{\text{최대}}까지의 시간($t_{\text{최대}}$)은 혈장 농도 데이터로부터 직접 도출하였다. 시험적 경구 생체이용률(F)은 경구 투여 후 용량으로 정규화된 AUC를 정맥내 투여 후 용량으로 정규화된 AUC로 나누어 계산하였으며, 즉, $F = (\text{AUC(경구)} / \text{용량(경구)}) / (\text{AUC(정맥내)} / \text{용량(정맥내)})$ 였고, 이는 비율(%)로 보고하였다.$

[0219]

약동학적 파라미터는 하기 표 5에 제시되어 있으며, 혈장 농도 대 시간 플롯은 도 7 및 8에 제시되어 있다.

표 5

표 5. 경구 및 정맥내 투여 이후의 화합물 (1-1)의 약동학적 파라미터. 값은 3마리의 동물로부터의 평균이다.

화합물	파라미터	1 mg/kg 정맥내	3 mg/kg 경구	F(%)
화합물 (1-1) 물:에탄올:PEG 400 (60:20:20)	AUC (min*ng/ml) C _{최대} (ng/ml) T _{최대} (hr) t _{1/2} (hr) 8.5 CI/F (ml/min/kg) MRT (hr)	74698 730 0.25 8.5 13.4 7.4		
PVP 중의 화합물 (1-1)의 25% 분산물	AUC (min*ng/ml) C _{최대} (ng/ml) T _{최대} (hr) t _{1/2} (hr) 8.5 CI/F (ml/min/kg) MRT (hr)		39920 77.9 1 13.8 75.2 18.0	18
HPMCAS-MG 중의 화합물 (1-1)의 25% 분산물	AUC (min*ng/ml) C _{최대} (ng/ml) T _{최대} (hr) t _{1/2} (hr) 8.5 CI/F (ml/min/kg) MRT (hr)		35306 48.3 0.5 11.0 85.0 17.1	16
HPMCAS-MG 중의 화합물 (1-1)의 50% 분산물	AUC (min*ng/ml) C _{최대} (ng/ml) T _{최대} (hr) t _{1/2} (hr) 8.5 CI/F (ml/min/kg) MRT (hr)		40238 67.0 2 9.5 74.6 12.8	18

[0220]

실시예 5: 분무 건조된 분산물의 제조

[0221]

5종의 선택된 중합체: HPMCAS-MG(신 에츠 케미칼 컴파니, 리미티드(Shin Etsu Chemical Co., Ltd.)), HPMCP-HP55(신 에츠 케미칼 컴파니, 리미티드), PVP(ISP, 애쉬랜드, 인크.(Ashland, Inc.)의 분사), PVP-VA(바스프 코포레이션(BASF Corp.)), 및 유드라짓 L100-55((에보닉 인더스트리즈 아게(Evonik Industries AG))를 사용하여 화합물 (1-1)의 분무 건조된 분산물을 제조하였다. 각 중합체를 이용하여 25 중량% 및 50 중량%로 모두 분무 건조된 용액을 제조하였다. 모든 용액은 아세톤 중에서 제조하였고, 단, 예외적으로, PVP 용액의 경우, 이는 에톤을 중에서 제조하였다. 각 용액에 대해, 1.0 g의 고체(중합체 및 화합물 (1-1))를 10 g의 용매 중에서 제조하였다. 1.5 mm 노즐이 장착된 부치(Buechi) B-290, PE-024 분무 건조기 및 부치 B-295, P-002 응축기를 사용하여 용액을 분무 건조시켰다. 분무 건조기 노즐 압력은 80 psi로 설정하였고, 표적 출구 온도는 40°C로 설정하였고, 냉각기 온도는 -20°C로 설정하였고, 펌프 속도는 100%로 설정하였고, 흡인기 설정은 100%였다. 분무 건조 후, 고체 분산물을 수집하고, 저온 대류 오븐에서 밤새도록 건조시켜 잔류 용매를 제거하였다.

[0222]

실시예 6: 습도 및 온도와의 안정성

표 6

시험	질차	적용 기준	$T=0$ (초기)	$T=1$ 개월		$T=2$ 개월		$T=3$ 개월	
				시험일/Ref: 2012년8월6일 /02-41-2-	(40°C/75%RH에서 보관)	시험일/Ref: 2012년9월24일 /02-41-1-	(40°C/75%RH에서 보관)	시험일/Ref: 2012년10월24일 /02-41-2-	(40°C/75%RH에서 보관)
외관	AM-0002	백색 내지 회백색 분말	시험일/Ref: 2012년8월6일 /02-41-2-	백색 분말					
효능 (HPLC)	AM-0028	45.0 ~ 55.0 wt%	시험일/Ref: 2012년7월25일 /02-37-21	시험일/Ref: 2012년9월25일 /02-41-2-	시험일/Ref: 2012년10월24일 /02-41-2-	시험일/Ref: 2012년11월29일 /02-34-107	시험일/Ref: 2012년11월29일 /02-34-107	시험일/Ref: 2012년11월29일 /02-34-107	시험일/Ref: 2012년11월29일 /02-34-107
개개의 관련 물질 (HPLC)	AM-0029	결과 보고	50.0	시험일/Ref: 2012년7월25일 /02-34-49	시험일/Ref: 2012년9월26일 /02-41-64	시험일/Ref: 2012년10월24일 /02-41-64	시험일/Ref: 2012년11월29일 /02-37-105	시험일/Ref: 2012년11월29일 /02-37-105	시험일/Ref: 2012년11월29일 /02-37-105
전체 관련 물질 (HPLC)	AM-0029	결과 보고	보고 가능한 관련 물질 없음	RRT % 면적					
물질유형 (KF)	AM-0030 USP <921>	결과 보고 (wt%)	보고 가능한 관련 물질 없음	보고 가능한 관련 물질 없음	0.88	0.06	0.68	0.07	0.07
X선 분말 회절 (XRPD)	USP <941>	비정질 형태와 일치함 도 9점조	비정질 형태와 일치함 도 10점조	비정질 형태와 일치함 도 11점조 도 12점조	0.12%	0.10	2.70	3.43	0.16%
변형된 시차 주사 열량측정 (mDSC)	USP <891> (n = 2 반복)	개개의 및 평균 유리 전이 온도 (T _g , °C) 보고	시험일/Ref: 2012년7월24일 /02-24-130	시험일/Ref: 2012년9월26일 /02-37-98	시험일/Ref: 2012년10월24일 /02-41-107	시험일/Ref: 2012년11월29일 /02-37-120	시험일/Ref: 2012년12월17일 /02-37-120	시험일/Ref: 2012년12월17일 /02-37-120	시험일/Ref: 2012년12월17일 /02-37-120

[0224]

[0225]

승온에서 수분에 노출시 힘으로써 HPMCAS-MG 중의 화합물 (1-1)의 분무 건조된 분산물을 안정성에 대하여 평가하였다. 상대 습도에 대한 함수로서 유리 전이 온도(Tg)를 1, 2 및 3개월 동안 75% 상대 습도, 40°C에서 측정하였다. 벌크 제품 패키징을 모의하기 위해 분무 건조된 분산물을 HDPE 병 안 LDPE 백에 보관하였다. 결과는 표 6에 요약되어 있다. 시점 0에서, T-g는 134°C였고, 1개월째 Tg는 134°C였고, 2개월째 Tg는 135°C였고, 3개월째 Tg는 134°C였고, 각 측정에 대하여 오직 단 하나의 단일 변곡점만이 관찰되었다. 각 샘플에 대하여 X선 회절 패턴 또한 수득하였다. 도 9는 안정성 시험의 시점 0에서 HPMCAS-MG 중의 화합물 (1-1)의 고체 분산물의 분말 X선 회절 프로파일을 도시한다. 도 10, 11 및 12는 40°C 및 75% 상대 습도에서의, 각각 1개월, 2개월 및 3개월 후 HPMCAS-MG 중의 화합물 (1-1)의 고체 분산물의 분말 X선 회절 프로파일을 도시한다. 패턴은 화합물 (1-1)과 관련된 어떤 회절선도 나타내지 않았다.

[0226] 실시예 7: NSCLC 세포주의 시험관내 처리

5개의 확립된 NSCLC 세포주(즉, H2228, H3122, A549, HOP62 및 HOP92)를, 용량을 증가시켜 가면서 화합물 (1-1)(온코에티스 SA(OncoEthix SA: 스위스))에 노출시켰다. 세포 생존가능성에 미치는 효과를 72 h 노출 후 MTT 검정법에 의해 측정하였다. 그레프패드 프리즘(GraphPad Prism) 5.0 소프트웨어에 의해 성장 억제(GI: growth inhibition) 50% 값을 측정하였다. 그리고, 시판용 항체를 사용하여 웨스턴 블로트에 의해 단백질 수준을 분석하였다. 퀴아젠 RNA이지(Qiagen RNAEasy) 키트를 이용하여 RNA를 추출하고, RT-PCR 키트용 슈퍼스크립트 퍼스트-스트랜드 신테시스 시스템(Superscript First-Strand Synthesis System)을 사용하여 제조사의 설명서에 따라 역전사시켰다. 스텝원플러스 리얼-타임 PCR 시스템(StepOnePlus Real-Time PCR System) 상에서 패스트 SYBR 그린 마스터 믹스(Fast SYBR Green Master Mix)를 이용하여 RT-PCR을 수행하였다.

[0228] 화합물 (1-1)은 72 h 노출 후, 두 EML4-ALK-양성 NSCLC 세포 모두에서 항증식성 효과를 보였으며, 여기서, GI50 값은 H2228 및 H3122 세포에서 각각 629 및 627 nM이었다. 흥미롭게도, 화합물 (1-1)은 EML4-ALK-음성 (A549) 세포주에서 활성을 띠었고, 여기서, GI50 값은 432 nM이었다. BRD4/3/2, c-MYC, BCL-2, p21 및 사이클린D1의 발현은 모든 세포주에서 단백질 및 mRNA 수준으로 특징화되었다. 화합물 (1-1) 감수성 세포주 및 저항성 세포주, 둘 모두, 상기 언급된 단백질에 대하여 유사한 기저 발현 수준을 보였다. H3122 및 H2228 세포에서 각각 EML4-ALK 변이체 1 및 3이 확인되었다. 항증식성 활성의 세포 신호전달 경로 평가 결과, 화합물 (1-1)이 24 h 내지 최대 72 h의 노출 후 STAT3의 일시적인 상향 조절을 유도한 후, 이어서, 하향 조절을 유도한 것으로 나타났는데, 여기서, 상기 경로는 크리조티닙 저항성 세포주에서 빈번하게 상향 조절되는 ALK의 중요한 하류 이펙터이다. 흥미롭게도, C-MYC 단백질 및 mRNA 수준에 있어서는 화합물 (1-1)에 의해 변경되지 않은 것으로 보였다. EML4-ALK-양성 H3122 세포는 화합물 (1-1) 처리 후, N-MYC mRNA 수준의 하향 조절을 나타냈다.

[0229] 본 결과는, 하류 신호전달 경로의 억제와 함께 항증식성 효과가 명백하게 관찰되는 바, 게놈 ALK가 변경된 NSCLC 세포주가 화합물 (1-1)에 의한 BET-BRD 억제에 대하여 감수성이라는 것을 나타내며, 이는 ALK 양성 NSCLC 환자에서의 항암제로서의 그의 임상적 개발을 제안한다.

[0230] 실시예 8: NSCLC 세포주의 시험관내 처리

[0231] 5개의 확립된 NSCLC 세포주(H2228, H3122, A549, HOP62, HOP92) 중에서의 72 시간 노출 후의 MTM 분석으로 화합물 (1-1) 성장 억제 50%(GI50) 값을 측정하였다. 상업적 항체로 웨스턴 블로트에 의해 단백질 수준을 분석하였다; 기저선, 치료 후 4 시간 및 24 시간에서 Fast SYBR Green Master Mix on StepOnePlus Real-Time PCR System으로 RT-PCR을 수행하였다. 세포 사이를 분석을 위해, 세포를 요오드화프로피碇으로 염색하고, FACSscan 플로 사이토미터로 DNA 함량을 분석하였다. 화합물 (1-1)을 표적 제제인 에베로리무스 및 크리조티닙과 합하고, Chou-Talalay법에 의해 조합 지수(CI)를 결정하였다.

[0232] 화합물 (1-1)은 110 내지 940 nM의 GI50 값으로 5개의 NSCLC 세포주(2개는 융합 단백질 EML4-ALK+을 하버링함) 중 4개에서 항증식 효과를 가졌다. A549 세포에서, JQ1, 화합물 (1-1) 유사체에 대해 기재된 바와 같이 KRAS 및 LKB1 유전자 내 동시 돌연변이가 OTX015 효과를 없애는 반면, HOP92 및 HOP62는 LKB 1 야생형이다. S 기 내 세포 %는 500 nM에서 24 시간 노출 후에 각각 HOP92, H2226 및 H3122에서 40%, 42% 및 52% 감소하였다. ALK+-억제제 크리조티닙과 조합된 화합물 (1-1)은 H2288 세포 중에의 48 시간 동시 노출 후의 추가 효과(CI=0.98), 및 HOP62, HOP92, A549 및 H2228 중에서의 에베로리무스와의 추가/상승 작용 효과를 가졌다. 화합물 (1-1) 민감성 및 내성 세포주는 유사한 기저 mRNA 및 BRD2/3/4, HEXIM BCL-2 및 P21의 단백질 발현을 가졌고, CMYC 및 NMyc는 각각 HOP92 및 H3122에서 과발현되었다. 24 시간 후, 화합물 (1-1)(500 nM), CMYC 단백질 및 mRNA은 HOP92 세포에서 하향 조절되었고, NMyc는 H3122 및 HOP62 세포에서 하향 조절된 반면, HEXIM mRNA는 화합물 (1-1) 민감성 세포주에서 상향 조절되었다.

[0233] NSCLC 세포주는 화합물 (1-1) BET 억제에 민감하여, EML4-ALK 융합 유전자 또는 KRAS 돌연변이를 갖는 NSCLC 세포를 비롯한 HEXIM을 상향 조절하고, MYC 패밀리 멤버를 하향 조절하는데, 이는 NSCLC에서의 이의 치료 잠재성을 시사한다.

[0234] 실시예 9: 종양 돌연변이를 갖는 NSCLC

[0235] 물질 및 방법. KRAS, LKB1, TP53 및 ALK에 대하여 상이한 온코진 돌연변이를 보여주는 5개의 확립된 NSCLC 세포주, HOP62, HOP92, A549, H2228, 및 H3122(도 13)를, 용량을 증가시켜 가면서 화합물 (1-1)(온코에티스 SA(OncoEthix SA: 스위스))에 72 h 동안 노출시키고, 세포 증식을 MTT 검정법에 의해 평가하였다. 결과는 3종으로 수행된 3회 이상의 독립 실험의 평균 ± 95% CI이다. 시판용 항체를 사용하여 웨스턴 블로트에 의해 단백질 수

준을 분석하였다. 세포 주기 분석을 위해, 세포를 PI로 염색하고, 처리 24 h 후에 FACSscan 유세포 분석기를 사용하여 분석하였다. 스텝원플러스 리얼-타임 PCR 시스템 상에서 패스트 SYBR 그린 마스터 믹스를 이용하여 RT-PCR을 수행하였다. 결과는 2회 이상의 독립 실험의 평균 ± SD이고, 여기서, Anova에 이어서, 덴네트 다중 비교 검정(Dunnett's Multiple Comparison Test)을 이용하였을 때, 대조군 세포(0.1% DMSO)에 대해 *p<0.05. 화합물(1-1) 용량을 증가시켜 가면서 화합물(1-1) 단독으로, 또는 에베로리무스 또는 크리조티닙과 함께 조합하여 그에 48 h 동안 노출된 세포주에서 공동 화합물(1-1) 조합 연구를 수행하고, 쳐 & 텔러레이(Chou & Talalay) 방법을 이용하여 평가하였다. CalcuSyn 소프트웨어를 사용하여 중간값 효과 플롯 분석에 의해 조합 지수(CI: Combination Index)를 측정하였다. CI<1인 것은 상승 작용을 나타내고, CI=1인 것은 상가 작용을 나타내며, CI>1인 것은 길항제 효과를 나타낸다. 결과는 3종으로 수행된 3개의 독립 실험의 중간값 및 범위를 나타낸다.

[0236] 생체내 연구: 5×10^6 H3122 세포를 흥선이 없는 수컷 NMRI 누드 마우스의 옆구리에 주사하고, 종양 부피가 100 mm³에 도달하였을 때, 마우스를 3개의 군 (1군당 마우스 8마리): 비허클(PBS, 1일 1회, 경구로 연속), 화합물(1-1)(50 mg/kg/1일 2회, 급식, 연속), 또는 크리조티닙(25 mg/kg/1일 1회, 급식, 연속)인 것으로 무작위화하였다.

[0237] 결과. 화합물(1-1)은 5개의 NSCLC 세포주 중 4개에서 세포 증식 억제 효과를 보였는데, 그 중 둘은 융합 단백질 EML4-ALK+를 보여주는 것이었다. A549 세포에서, KRAS 및 LKB1 유전자에 돌연변이가 동시 발생하는 것은 화합물(1-1) 효과를 무효화시킨다. 본 발명자들의 세포주 패널에서, 화합물(1-1)에의 72 h 노출 후 GI50 값은 0.1~0.7 μM 범위였고, 이는 화합물(1-1)이 NSCLC 세포에서 광범위한 활성을 띤다는 것을 보여주는 것이다(도 13). 또한, 화합물(1-1) 처리 결과, S 기의 세포 비율은 감소되었다(도 14). NSCLC 세포주에서, 단백질 및 mRNA 수준에서의 BRD2/3/4, C-MYC, N-MYC, BCL-2 또는 P21 및 사이클린D1의 발현의 특징 규명 결과, 상기 단백질의 기저 수준과 화합물(1-1) 감수성 사이에는 어떤 상관 관계도 나타나지 않았다(도 15a 및 15b). 즉, NSCLC 세포에서 화합물(1-1) 감수성은 BRD, C-MYC, N-MYC, BCL2 또는 P21의 기저 수준과는 상관 관계가 없다. 화합물(1-1) 감수성 세포주에서, 본 발명자들은 4시간 후, HOP92 세포에서는 C-MYC mRNA 및 단백질 수준의 신속한 하향 조절, 및 HOP62 및 H3122 세포에서는 N-MYC mRNA 수준의 신속한 하향 조절을 관찰하였으며, 이는 24시간 후에도 유지되었다(도 16a~16c). ALK+-억제제 크리조티닙과 조합된 화합물(1-1)은 H2228 세포에서 48 h 동안의 동시 노출 후에 상가 효과(CI=0.9)를 보였고, 에베로리무스와 조합된 경우에는 HOP62, HOP92, A549 및 H2228 세포주에서 상가/상승 작용 효과를 보였다(도 17). H3122 종양을 보유하는 마우스에서, 화합물(1-1)은 EML4-ALK 억제제 억제제인 크리조티닙과 유사한 정도로 종양 성장을 억제시켰다(도 18a-b). 본 발명자들의 데이터는 EML4-ALK 융합 유전자 또는 KRAS 돌연변이를 보유하는 것을 비롯한, NSCLC 세포주가 시험관내 및 생체내 화합물(1-1) BET 억제에 대해 감수성이라는 것을 나타낸다.

[0238] 실시예 10: SCLC 세포주에서의 시험관내 연구

[0239] 4개의 확립된 NSCLC 세포주(H82, H69, DMS79, DMS114) 중에서의 72 시간 노출 후의 MTTM 분석으로 화합물(1-1) 성장 억제 50%(GI50) 값을 측정하였다. 상업적 항체를 사용하는 웨스턴 블로트에 의해 단백질 수준을 분석하고; 기저선 후 치료 후 4 시간 및 24 시간에서 Fast SYBR Green Master Mix on StepOnePlus Real-Time PCR System으로 RT-PCR을 수행하였다. 세포 사이를 분석을 위해, 세포를 요오드화프로파碇으로 염색하고, FACSscan 플로 사이토미터로 DNA 함량을 분석하였다.

[0240] DMS114 세포는 화합물(1-1)에 대한 용량 의존적 민감성을 나타낸 반면[GI50=120(84~172) nM], H82, H69, DMS79 세포는 CMYC 및/또는 NMYC 단백질을 과발현하기는 했지만 내성이 있었다[GI50>6 μM]. 모든 4개의 SCLC 세포주가 KRAS 야생형이었고 TP53 돌연변이화되었으며, 화합물(1-1) 내성 SCLC 세포주는 RB1에서 동종접합 돌연변이를 하버링한 반면, DMS144 세포는 RB1 야생형을 발현하였다. 모든 세포주는 유사한 BRD2/3/4, CMYC, NMYC, HEXIM, BCL-2 및 p21의 기저 mRNA 수준을 나타냈다. 500 nM로의 화합물(1-1) 처리 후, CMYC 및 NMYC mRNA 수준은 변하지 않은 반면, HEXIM의 mRNA 수준 및 히스톤에 대한 유전자 코딩(HIST1H2BK, HIST2H2BJ)은 모든 4개 세포주에서 상향 조절되었다. DMS114 세포에 있어서, 화합물(1-1)은 시간 의존적 방식으로 G1 내 세포 사이를 정지를 일으켰는데, 이론에 구속시키려는 것은 아니며, 이것은 세포 사이를 억제제 p27의 단백질 수준에서의 상향 조절에 의해 설명될 수 있다.

[0241] 특정 이론에 구속시키려는 것은 아니지만, MYC 패밀리는 SCLC 세포주에서 화합물(1-1) 항종양 효과를 매개하지 않는다. G1에서 세포 진행을 제어하는 기능적 RB1 단백질의 존재가 화합물(1-1)의 세포 증식 억제 효과를 설명할 수 있다.

- [0242] 실시예 11: SCLC 세포주에서의 시험관내 연구
- [0243] KRAS, PI3KCA, TP53 및 RB1에 대한 상이한 종양 발생 돌연변이를 하버링하고 C-MYC 및 N-MYC의 상이한 발현 수준(표 7)을 갖는 4개의 확립된 SCLC 세포주, NCI-H69, NCI-H82, DMS79 및 DMS114를 선택하여 화합물 (1-1)을 평가하였다.
- [0244] 세포주를 72 시간 동안 증가하는 용량의 화합물 (1-1)에 노출시키고, MTT 분석으로 세포 증식을 평가하였다. 윈도우용 Prism 5.00을 이용하여 S자형 용량 반응에 대한 식으로 GI50 및 Emax 값을 산출하였다. 결과는 삼중으로 수행된 적어도 3 회의 독립적인 실험의 평균 ± 95% CI를 나타낸다.
- [0245] 상업적인 항체를 사용하는 웨스턴 블로트에 의해 단백질 수준을 분석하였다. 세포 사이를 분석을 위해, 세포를 PI로 염색하고, 72 시간 노출 후 FACScan 플로 사이토미터를 이용하여 분석하였다. Fast SYBR Green Master Mix on StepOnePlus Real-Time PCR System을 이용하여 RT-qPCR을 수행하였다. 세포 사이를 결과는 적어도 3 회의 독립적인 실험의 평균 ± SD를 나타낸다. RT-qPCR 결과는 2개의 하우스키핑 유전자에 정규화된 형광 강도로서 표시되고, 이는 2회 또는 3회 수행된 하나의 실험의 평균 ± SD를 나타낸다.
- [0246] 화합물 (1-1)은 4개의 SCLC 세포주 중 하나에서 세포 증식 억제 효과를 나타냈다. DMS114 세포는 화합물 (1-1)에 대한 용량 의존적 민감성을 나타낸 반면 [GI50=120(84-172) nM], H82, H69, DMS79 세포는 내성이 있었다 [GI50>6 μM](도 19). 모든 4개의 SCLC 세포주는 KRAS 야생형이고 TP53 돌연변이화되었으며, 화합물 (1-1) 내성 SCLC 세포주는 RB1에서 동종접합 돌연변이를 하버링한 반면, DMS114 세포는 RB1 야생형을 발현하였다.
- [0247] 화합물 (1-1)은 C-MYC 발현의 하향 조절, 및 히스톤에 대한 유전자 코딩 및 HEXIM1의 상향 조절을 유도하였다. 도 20a는 NCI-H69, NCI-H82, DMS79 및 DMS114 세포주를 4 및 24 시간 동안 500 nM의 화합물 (1-1)로 처리시 관찰된 C-MYC와 관련된 형광 강도를 도시한다. 화합물 (1-1) 민감성 세포주 DMS114에서는, C-MYC mRNA의 빠른 하향 조절이 있었다. 도 20b는 NCI-H69, NCI-H82, DMS79 및 DMS114 세포주를 4 및 24 시간 동안 500 nM의 화합물 (1-1)로 처리시 관찰된 C-MYC와 관련된 형광 강도를 도시한다.
- [0248] 도 20c는 4 및 24 시간 동안 DMS114 세포주를 500 nM의 화합물 (1-1)로 처리시 관찰된 HEXM1, HIST2H2BE 및 HIST1H2BK와 관련된 형광 강도를 도시한다. DMS114 세포주에서의 히스톤에 대한 유전자 코딩(HIST2H2BE, HIST1H2BK) 및 HEXIM1의 mRNA 수준의 상향 조절이 있었다.
- [0249] 도 20d는 NCI-H69, NCI-H82 세포주 중에서 0, 4, 24, 48 및 72 시간 동안 500 nM의 화합물 (1-1)로 처리시 C-MYC 및 β-액틴 수준에 대한 웨스턴 블롯 결과를 도시한다. 도 20e는 DMS79 및 DMS114 세포주 중에서 0, 4, 24, 48 및 72 시간 동안 500 nM의 화합물 (1-1)로 처리시 C-MYC 및 β-액틴 수준에 대한 웨스턴 블롯 결과를 도시한다. 24 시간 노출 후 DMS114 세포에서 C-MYC 단백질 하향 조절이 관찰되었다.
- [0250] 4개의 SCLC 세포주 중 어느 것에서도 500 nM의 화합물 (1-1), 민감도와 BRD2/3/4, C-MYC, N-MYC, HEXIM1, Bcl-2 및 p21의 기저 mRNA 수준의 상관 관계는 보이지 않았다. 도 21a 내지 21g는 GI50 값에 따라 순서를 매긴, 72 시간 동안 화합물 (1-1)로 처리된 NCI-H69, NCI-H82, DMS79 및 DMS114 세포주에서의, 각각 BRD2, BRD3, BRD4, C-MYC, N-MYC, Bcl2 및 p21 수준에 대한 형광 강도를 도시한다. 도 21h는 4 시간 및 24 시간 동안 화합물 (1-1)로 처리된 NCI-H69, NCI-H82, DMS79 및 DMS114 세포주 중에서의 BRD2, BRD3, C-MYC, N-MYC, Bcl2, p21 및 β-액틴 수준의 기저 단백질 발현에 대한 웨스턴 블롯 결과를 도시한다.
- [0251] DMS114 세포에 있어서, 화합물 (1-1)은 시간 의존적 방식으로 G1 내 세포 사이를 정지를 일으켰는데, 이론에 구속시키려는 것은 아니며, 이것은 세포 사이를 억제제 p27의 단백질 수준에서의 상향 조절에 의해 설명될 수 있다. 도 22a는 72 시간 동안 화합물 (1-1)로 처리된 NCI-H69, NCI-H82, DMS79 및 DMS114 세포주 및 대조군에 대한 G1 기에서의 세포의 수를 도시한다. 화합물 (1-1)은 72 시간 노출 후 DMS114 세포 내 GI 기 세포 분획을 상당히 증가시켰다. 도 22b는 72 시간 동안 화합물 (1-1)로 처리된 NCI-H69, NCI-H82, DMS79 및 DMS114 세포주 및 대조군에 대한 p27 및 β-액틴 수준의 웨스턴 블롯을 도시한다.
- [0252] 특정 이론에 구속시키려는 것은 아니지만, MYC 패밀리는 SCLC 세포주에서 화합물 (1-1) 항종양 효과를 매개하지 않는다. G1에서 세포 진행을 제어하는 기능적 RB1 단백질의 존재가 화합물 (1-1)의 세포 증식 억제 효과를 설명할 수 있다. 민감성 세포주에 있어서, 하버링 야생형 RB1, 화합물 (1-1)은 C-MYC mRNA 및 단백질 발현을 감소시켰고, G1 기 세포 사이를 정지를 유도하였다. 이를 발견은, MYC 패밀리가 SCLC 환자의 10%에서 일어나는 비돌연변이화 RB1 단백질을 발현하는 SCLC 세포 내에서의 OTX015 세포 증식 억제 효과를 매개하는 역할을 함을 시사한다.

[0253] 실시예 12: NSCLC 및 SCLC의 임상전 모델에서의 화합물 (1-1)

[0254] 5개의 NSCLC 세포주(H2228, H3122, A549, HOP62, HOP92) 및 4개의 SCLC 세포주(H82, H69, DMS79, DMS114) 중에 72 시간 노출시킨 후, MTT 분석으로 화합물 (1-1)(스위스 소재 OncoEthix SA), 성장 억제 50%(GI50) 값을 결정하였다. 세포 사이를 분석을 위해, 세포를 요오드화프로파碇으로 염색하고, FACScan 플로 사이토미터로 분석하였다. 2, 4, 8 또는 12 및 24 시간 동안 RNA를 DMSO 또는 OTX015(500 nM)로 처리한 후 단리하고, Illumina HumanHT-12 Expression BeadChips로 모든 NSCLC 및 2개의 2 SCLC(H82 및 DMS114) 세포주에서 유전자 발현 프로필(GEP)을 얻었다. LIMMA, GSEA, Metacore로 데이터 마이닝을 수행하였다.

[0255] 화합물 (1-1)은 110~940 nM의 GI50 값을 갖는 5개의 NSCLC 세포주 중 4개에서 항증식 효과를 나타낸 반면, JQ1에 대해 기재된 바와 같이 A549 세포(KRAS 및 LKB1 유전자에서의 하버링 돌연변이)는 화합물 (1-1)에 내성이 있었다. SCLC 모델 중에서, DMS114 세포는 화합물 (1-1)에 대한 용량 의존적 민감성을 나타낸 반면[GI50=120nM], H82, H69 및 DMS79 세포는 CMYC 및/또는 NMYC를 과발현함에도 불구하고 내성이 있었다[GI50>6 μM]. 민감성 NSCLC 모델에서는, 화합물 (1-1) 처리 후 S 기에서의 세포의 증가가 관찰된 반면, 민감성 DMS114 세포주에서는 GI 기의 증가가 관찰되었다. SCLC 세포에서의 화합물 (1-1) 처리 후의 전사 변화를 측정하기 위해, 전체 및 초기(2~8 시간) 또는 후기(12~24 시간) 기간에, 민감성 또는 내성 세포주에서 다르게 반형되는 전사를 확인하기 위한 GEP 분석을 수행하였다. 이는 RNA 생물 발생에 관련된 유전자 및 EFR3B가 화합물 (1-1)에 대한 민감성 감소와 상호 관련됨을 보여 주었다. 한편 히스톤 및 크로마틴 구조와 관련된 유전자는 민감성 세포주 및 내성 세포주 양쪽에서 화합물 (1-1) 노출 후 가장 다르게 발현되었다. NSCLC 모델에서, EFR3B, IRF7 및 FOS 유전자는 더 높은 화합물 (1-1) 민감성과 관련되어 있었고, 화합물 (1-1) 처리 후 EFR3B 및 FOS 유전자의 상향 조절과 함께 IL7R 및 IL6 관련 유전자의 하향 조절이 관찰되었다. 화합물 (1-1) 내성과 관련된 전사는 NSCLC 세포에서 RNA 처리, 염증 및 크로마틴 구조와 관련된 전사 인자인 FOXD1 및 유전자였다.

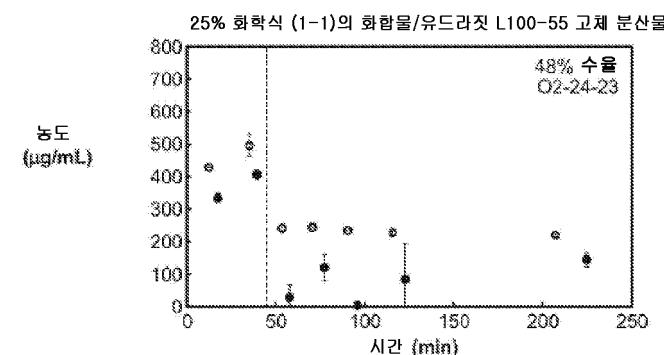
[0256] 당업자는 본 발명의 광의의 개념으로부터 벗어남이 없이 상기 제시되고, 기재된 예시적인 실시양태를 변경시킬 수 있다는 것을 이해할 것이다. 그러므로, 본 발명은 제시되고, 기재된 예시적인 실시양태로 한정되지 않지만, 청구범위에 의하여 정의된 바와 같은 본 발명의 정신 및 범주 내에 변형을 포함시키고자 하는 것을 이해한다. 예를 들어, 예시적인 실시양태의 구체적인 특징은 청구된 발명의 일부가 될 수 있거나, 또는 일부가 될 수 없으며, 개시된 실시양태의 특징은 조합될 수 있다. 본원에서 구체적으로 명시하지 않는 한, "하나"("a," "an") 및 "그"라는 용어는 하나의 요소로 한정되지 않으며, 그 대신 "1개 이상의" 것을 의미하는 것을 해석되어야 한다.

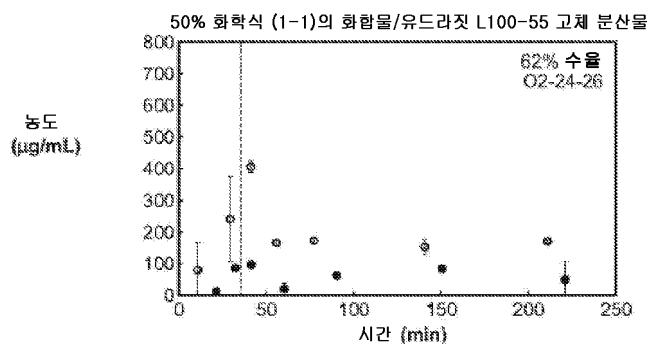
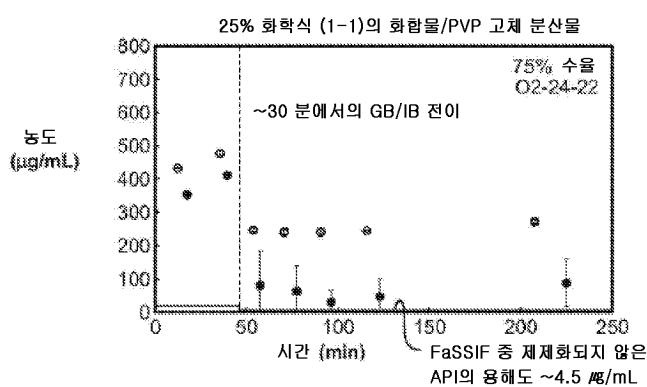
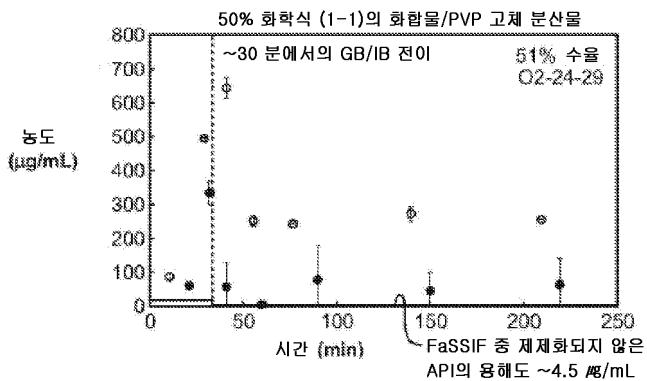
[0257] 본 발명의 도면 및 기술내용 중 적어도 일부는 명확성을 위하여 당업계의 숙련자가 또한 본 발명의 일부를 포함할 수 있는 다른 요소를 제외하면서, 본 발명의 명확한 이해를 위하여 관련되어 있는 요소에 집중하기 위하여 단순화된 것으로 이해하여야 한다. 그러나, 상기 요소는 당업계에 널리 공지되어 있으며, 이들이 본 발명의 더 나은 이해를 반드시 돋는 것은 아니기 때문에, 상기 요소의 기술은 본원에서 제공하지 않는다.

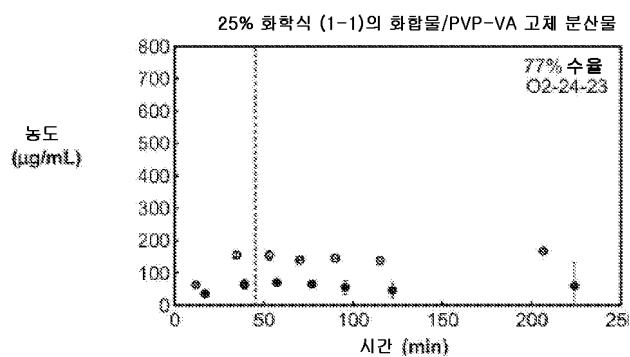
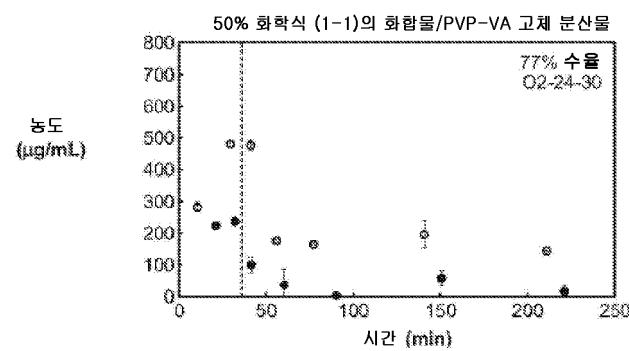
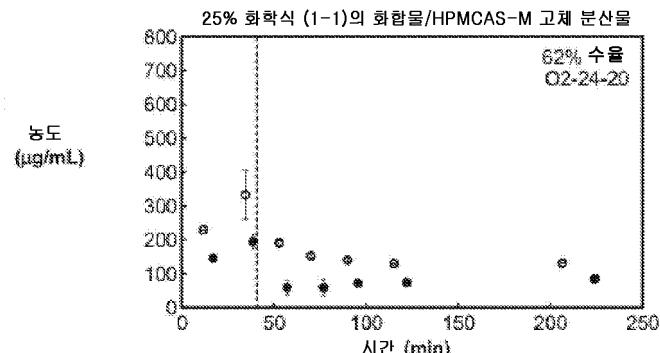
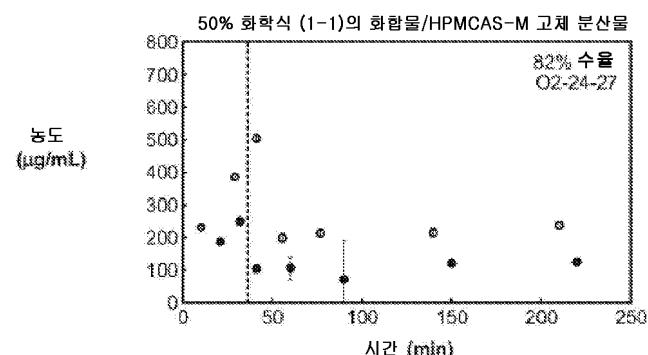
[0258] 추가로, 방법이 본원에 기재된 단계의 특정한 순서에 의존하는 정도로, 단계의 특정한 순서를 청구범위를 한정하는 것으로 해석하지 않아야 한다. 본 발명의 방법에 관한 청구항은 기재된 순서로 그의 단계 수행을 한정하지 않아야 하며, 당업자는 상기 단계가 변경될 수 있으며, 여전히 본 발명의 정신 및 범주에 속한다는 것을 쉽게 이해할 수 있다.

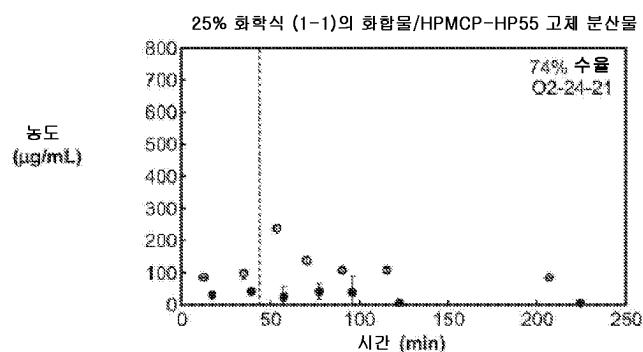
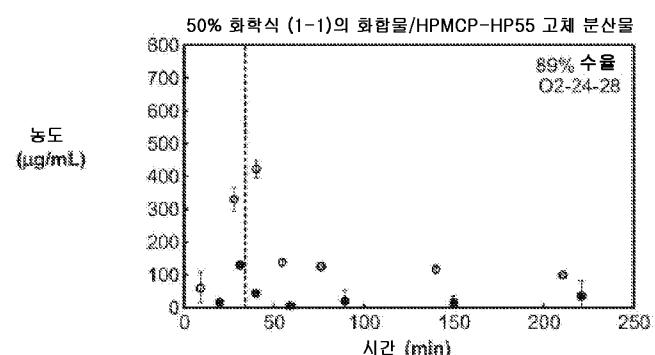
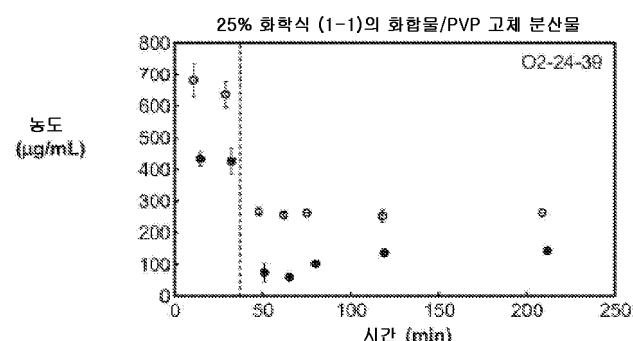
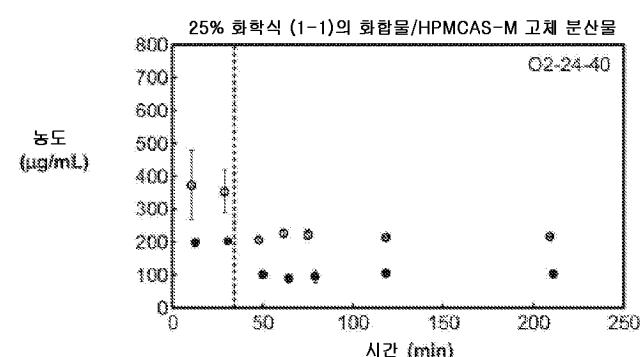
도면

도면1a

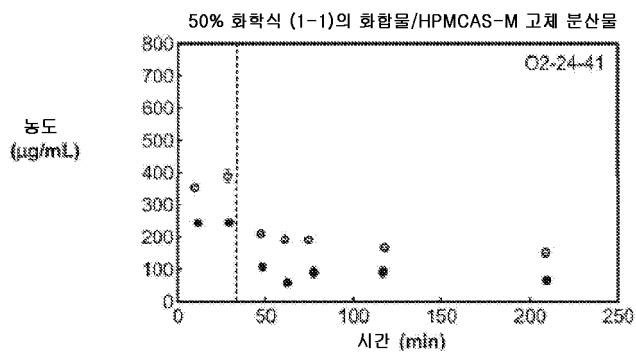


도면1b**도면1c****도면1d**

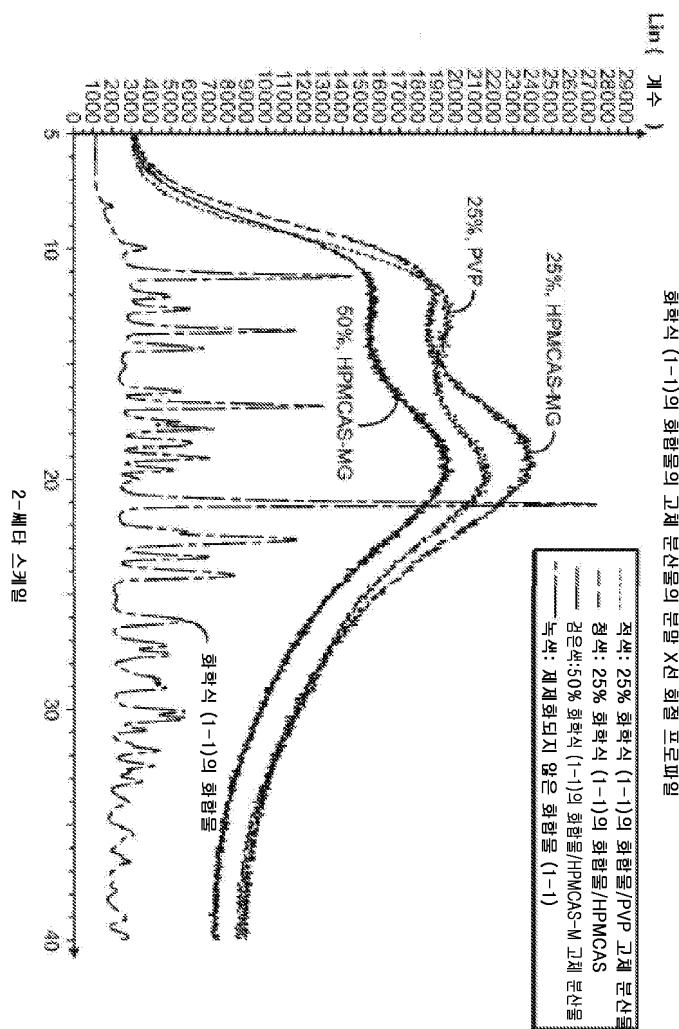
도면1e**도면1f****도면1g****도면1h**

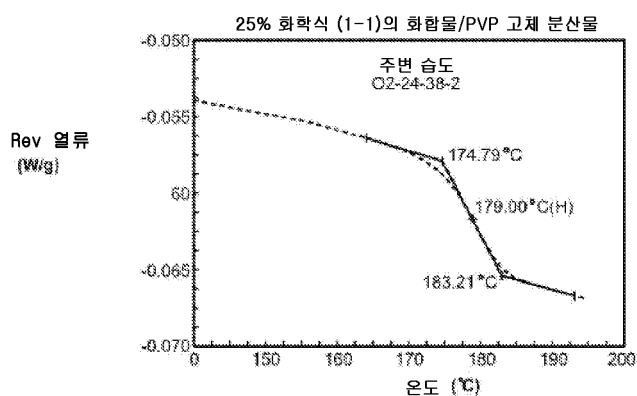
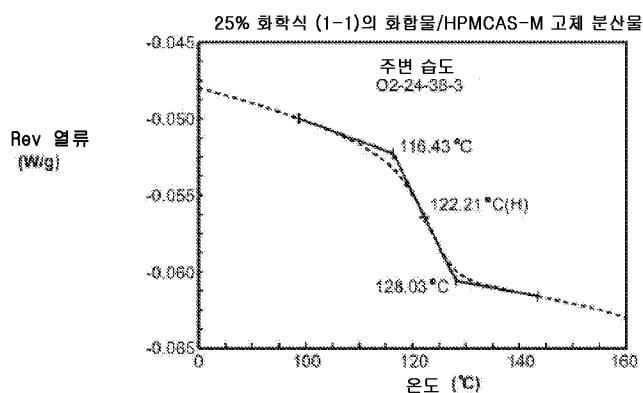
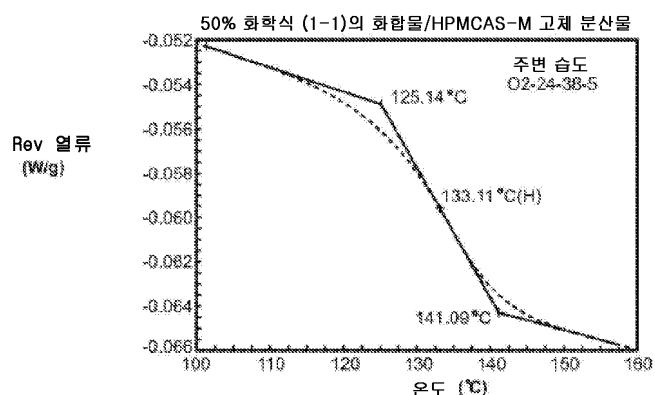
도면1i**도면1j****도면2a****도면2b**

도면2c

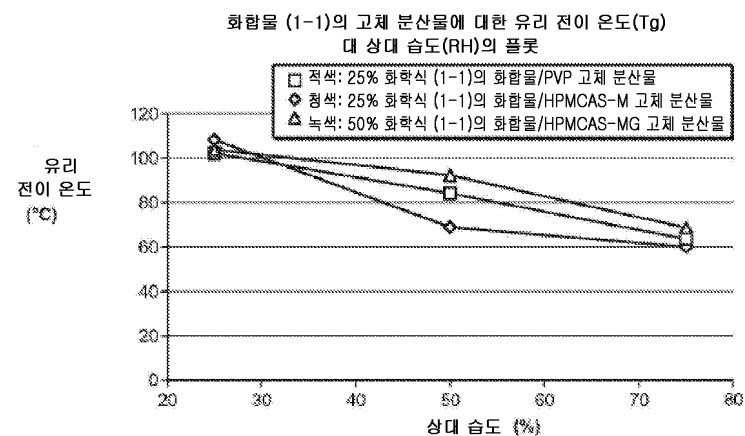


도면3

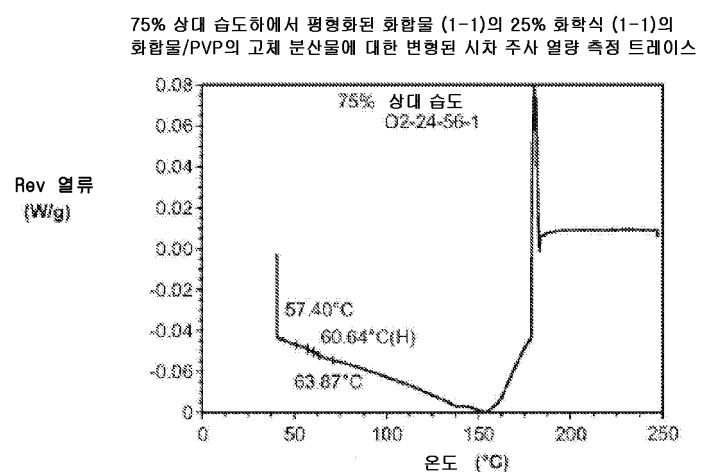


도면4a**도면4b****도면4c**

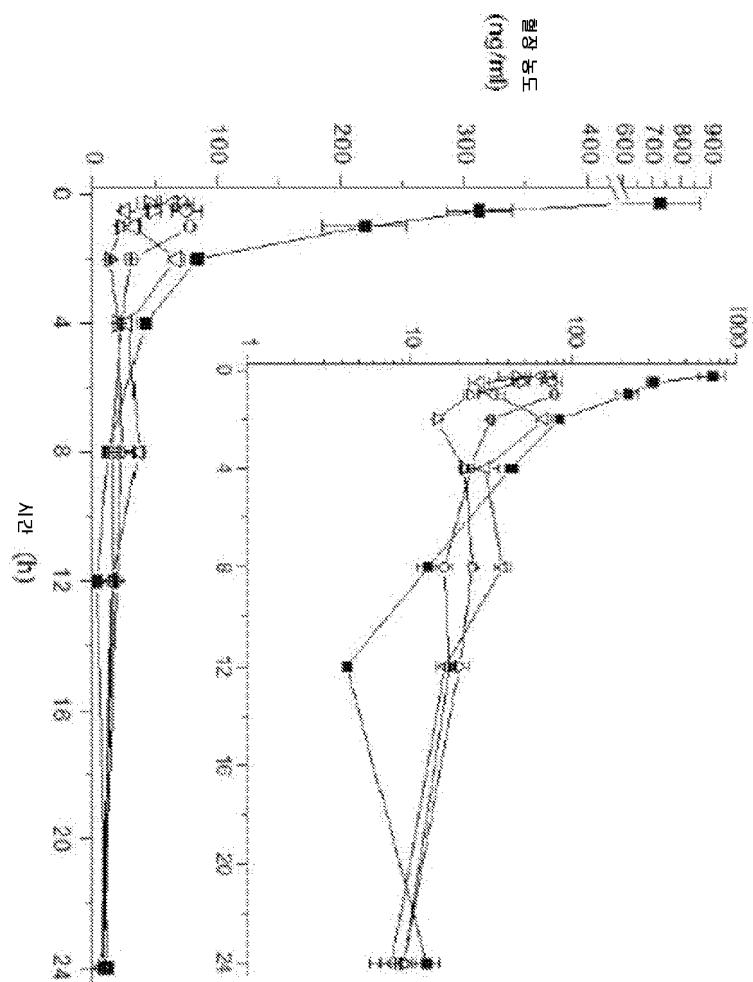
도면5



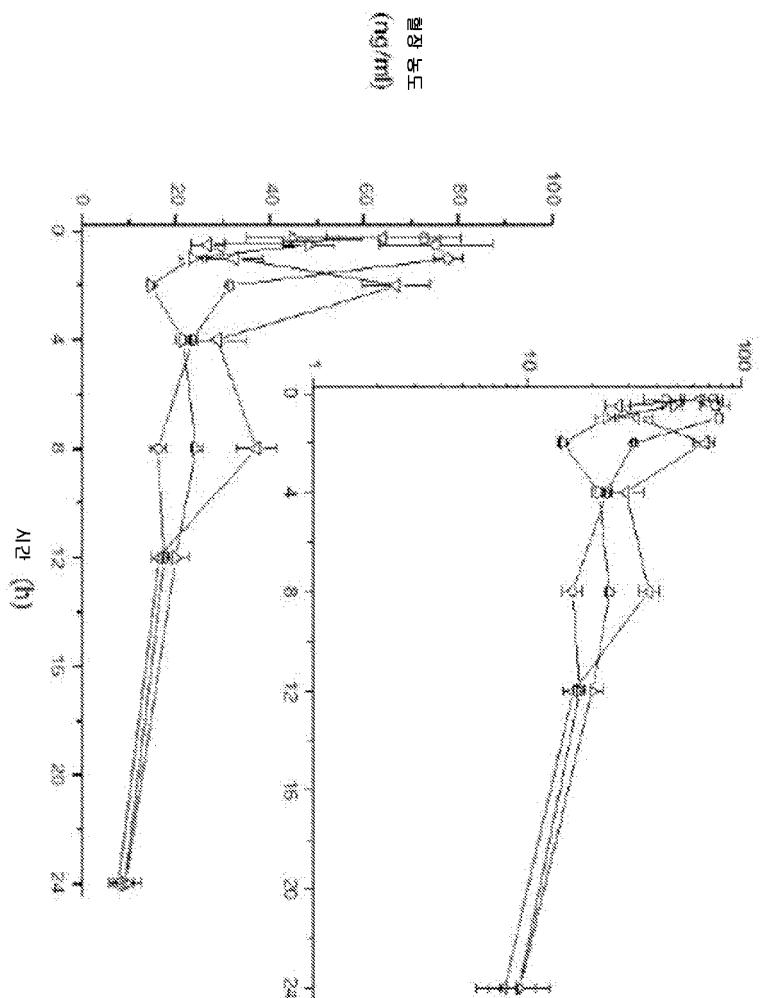
도면6



도면7

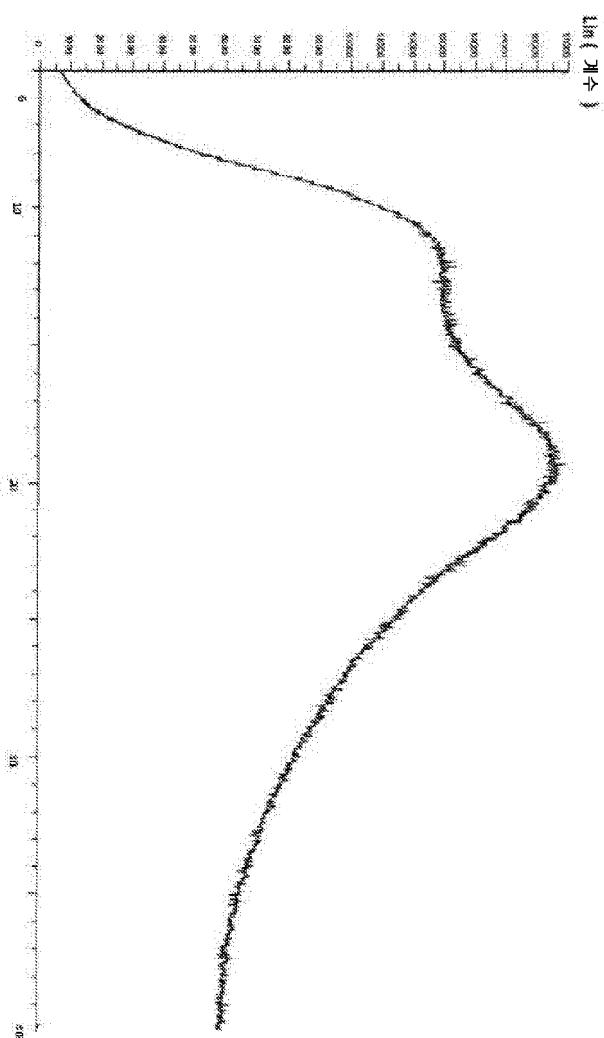


도면8



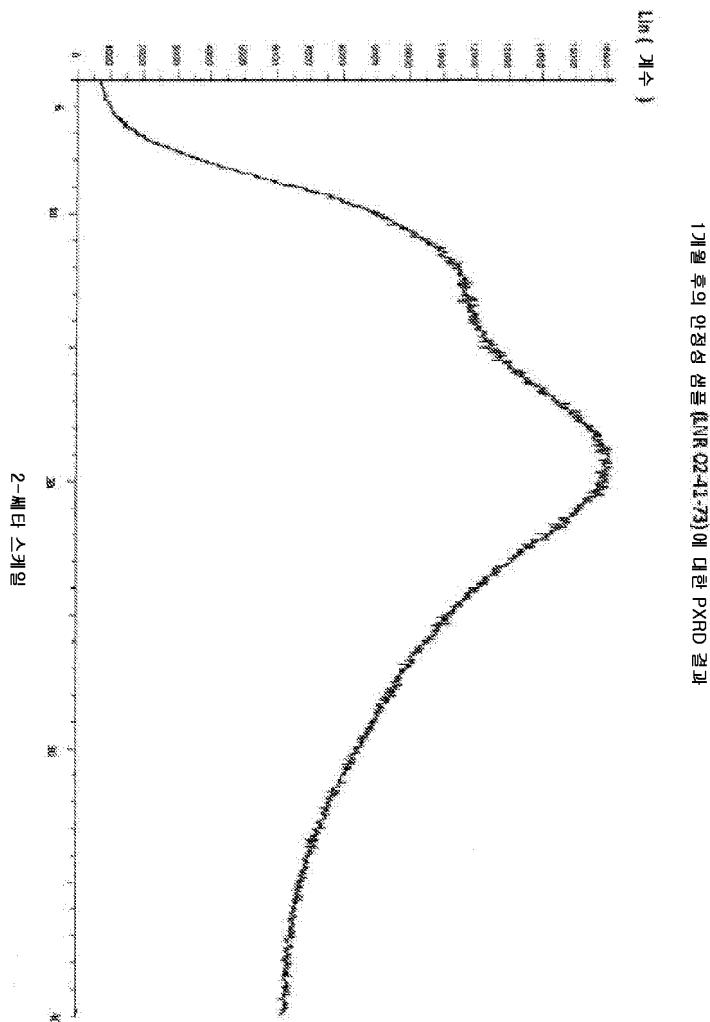
도면9

2-세타 스케일



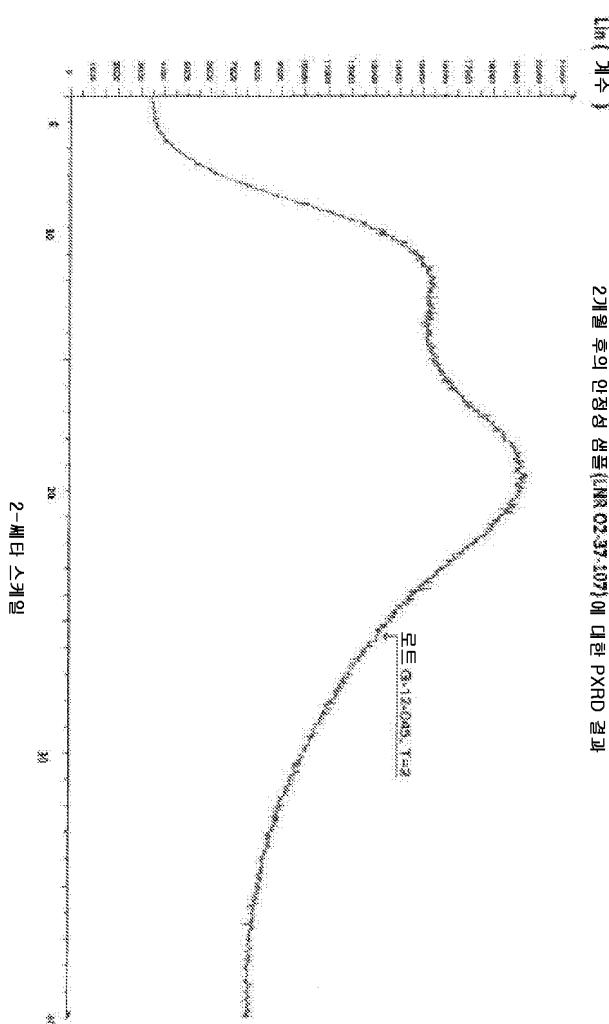
$T=0010$ K에서의 샘플 02-24-111에 대한 PXRD 결과

도면10

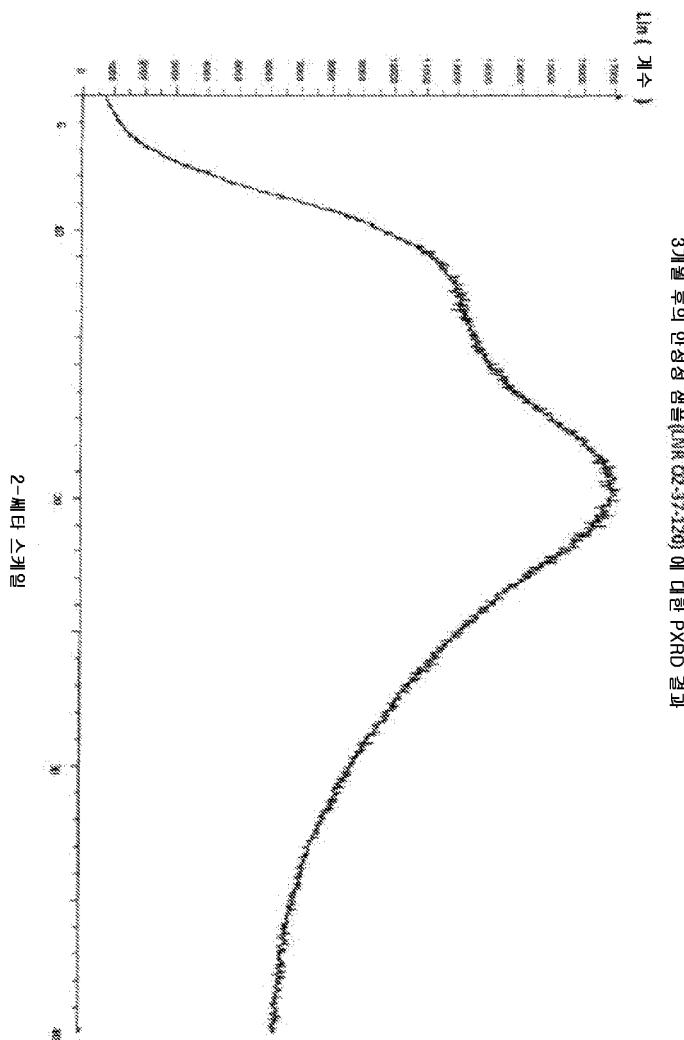


1기울 흑연 2-메테일-2-에틸-1-클로로-1-메틸-1-실리카이드에 대한 XRD 결과

도면11



도면12

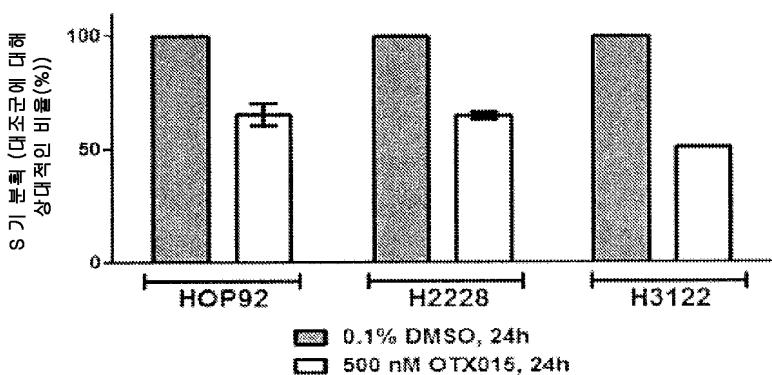


도면13

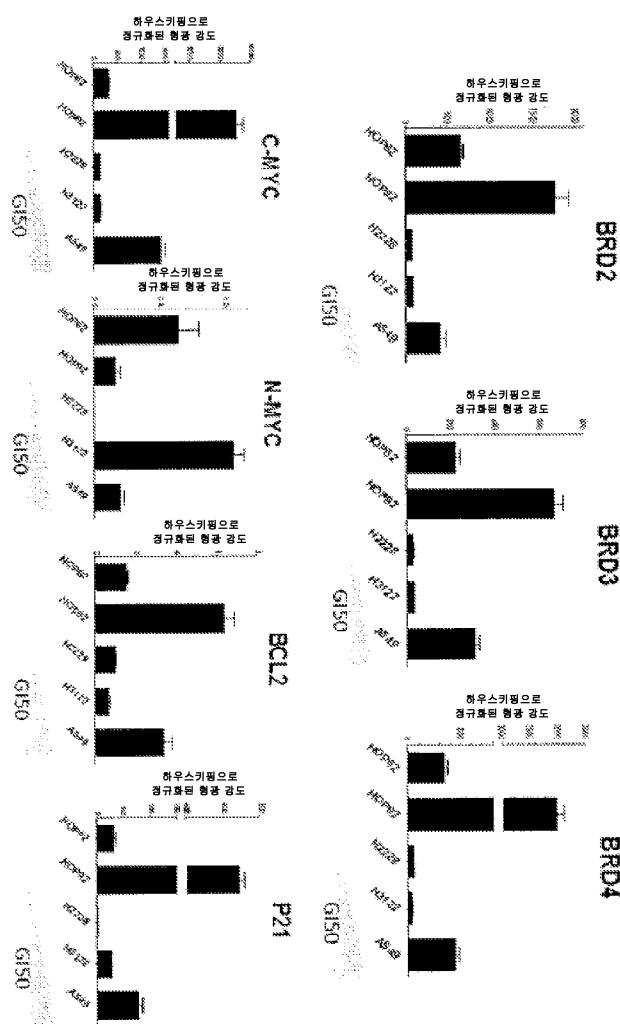
세포주	OTX015		NSCLC 세포주 중의 주요 단백질의 돌연변이 상태에 관한 특징 규명					
	G _{1/0} [μM]	E _{최대} [6 μM에서]	EML4-ALK	KRAS	KBS1 (*)	TP53 (**)	RAS1 (†)	MYC
HOP62	0.11 (0.08-0.17)	54	음성	이형집합성 돌연변이 <small>(<i>heterozygous mutation</i>)</small>	WT	동형집합성 돌연변이 <small>(<i>homozygous mutation</i>)</small>	WT	MYC 비증폭
HOP92	0.10 (0.06-0.16)	58	음성	WT	WT	동형집합성 돌연변이 <small>(<i>homozygous mutation</i>)</small>	WT	MYC 증폭
H2228	0.63 (0.42-0.95)	35	양성	WT	WT	이형집합성 돌연변이 <small>(<i>heterozygous mutation</i>)</small>	WT	MYC 증폭
H3122	0.70 (0.52-0.94)	41	양성	WT	WT	이형집합성 돌연변이 <small>(<i>heterozygous mutation</i>)</small>	WT	NE
A549	>6	82	양성 1 변이체 1	이형집합성 돌연변이 <small>(<i>heterozygous mutation</i>)</small>	WT	WT	WT	MYC 비증폭

(*): <http://www.sanger.ac.uk/petc/genetics/CGP/cosmic>. NE = 평가되지 않음

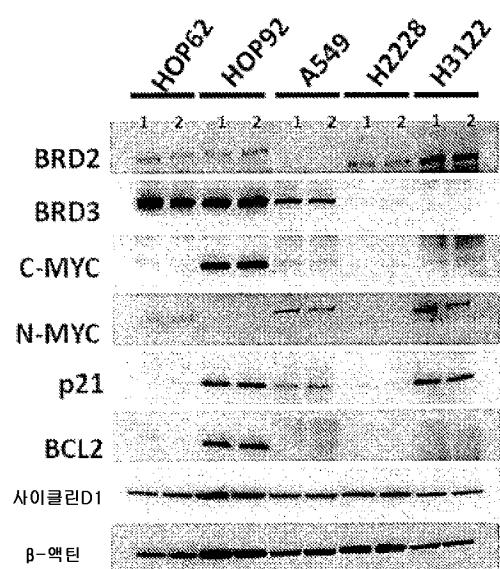
도면14



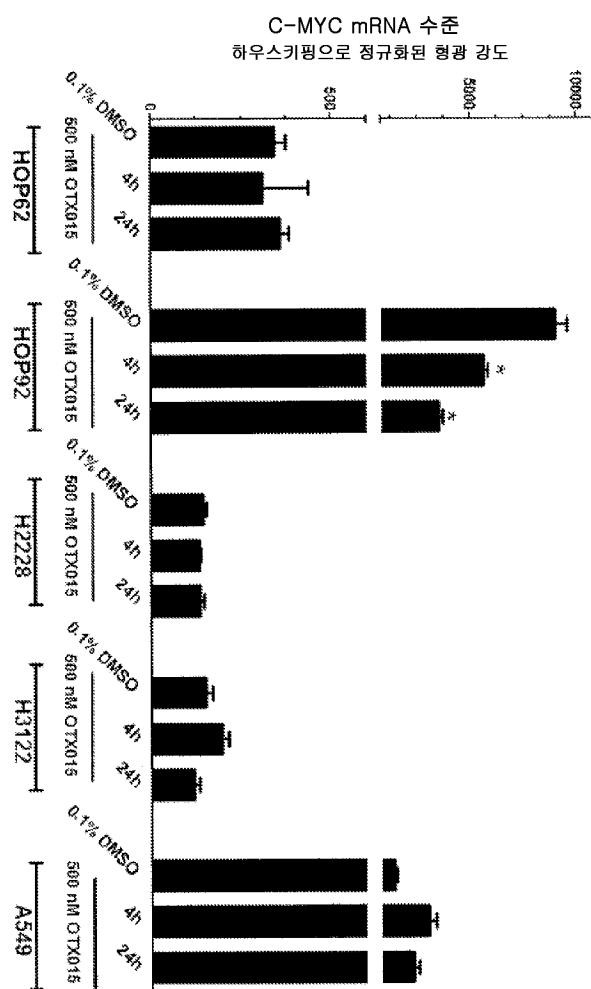
도면15a



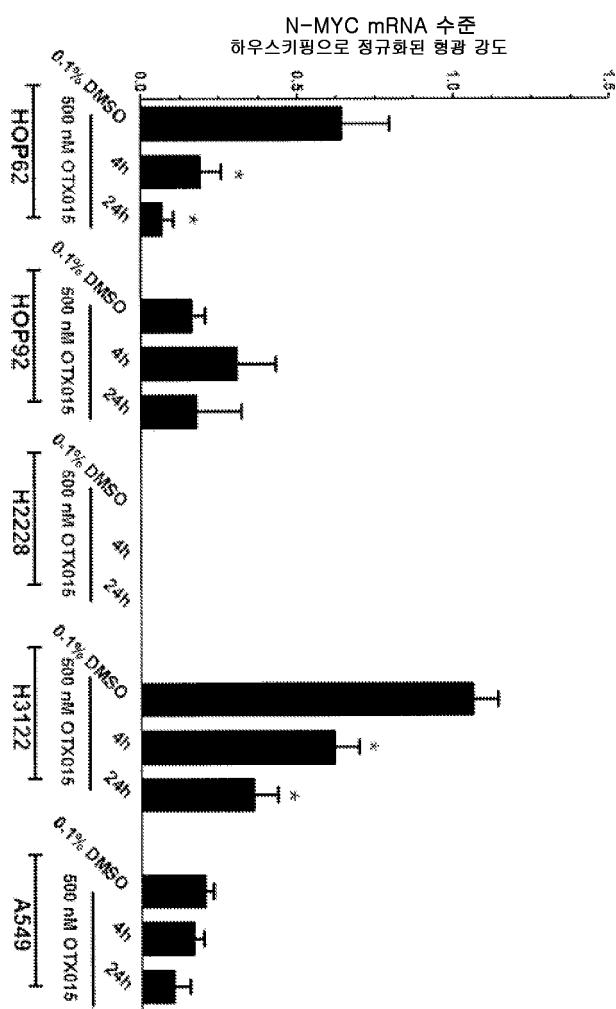
도면15b



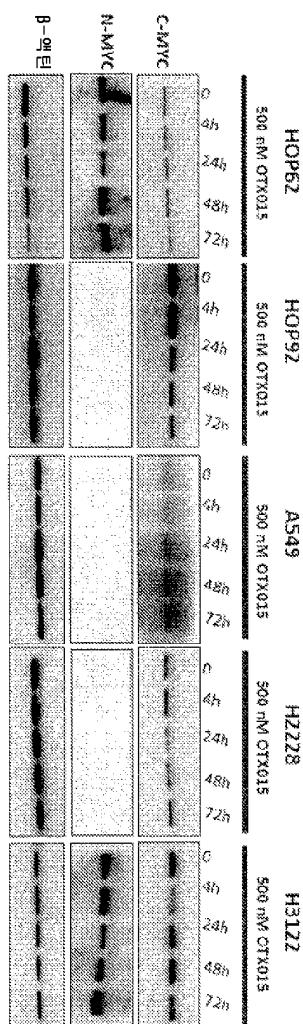
도면16a



도면16b

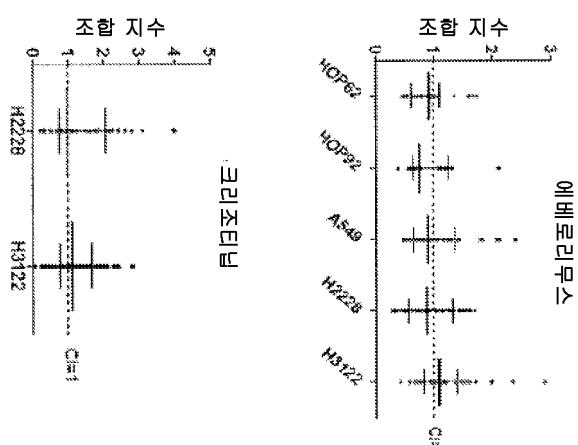


도면16c

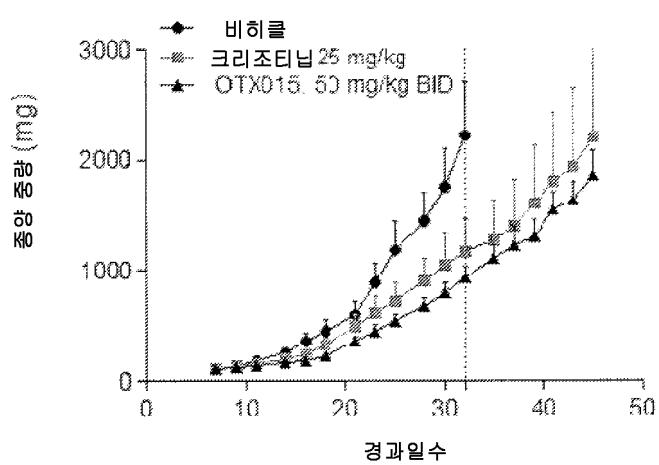


도면17

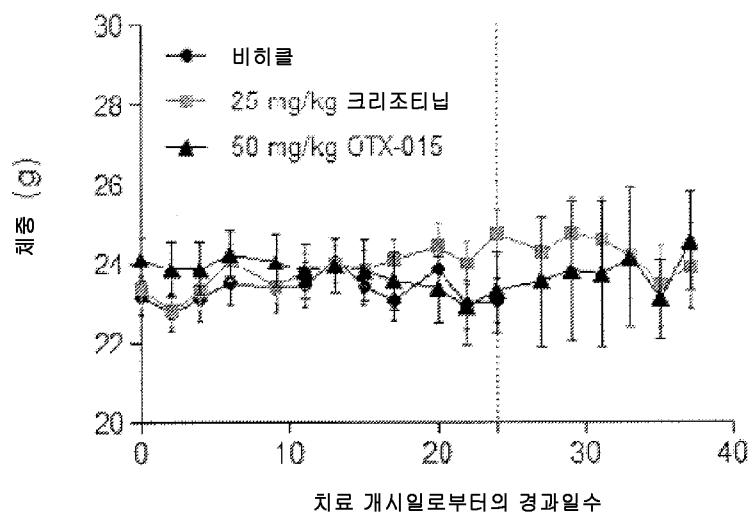
Cl 값	에베로리무스	크리조티닙
HOP62	중간값 최소값 최대값	0.9 ND ND
HOP92	증간값 최소값 최대값	0.8 ND ND
A549	증간값 최소값 최대값	0.9 0.4 2.1
H2228	증간값 최소값 최대값	0.9 0.3 1.7
H3122	증간값 최소값 최대값	1.1 0.4 2.9



도면18a



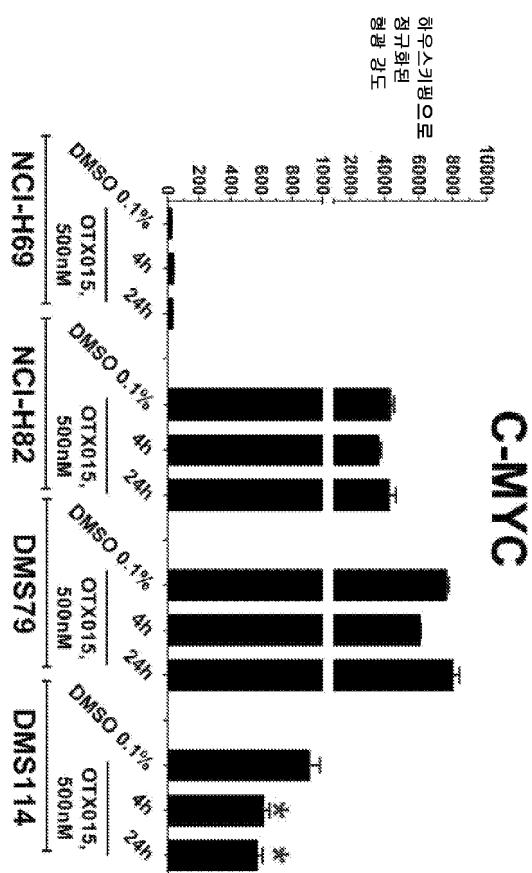
도면18b



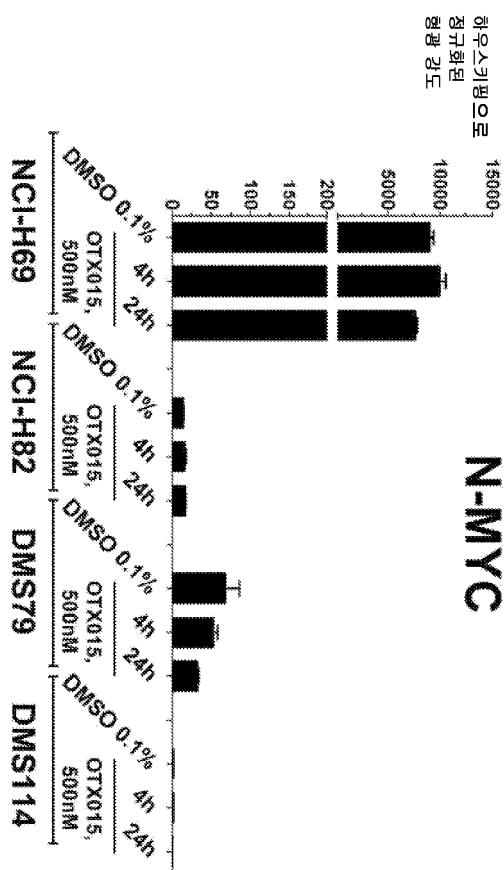
도면19

Cell line	CTX-015		GSK1197E		GSK1197E + CTX-015		GSK1197E + CTX-015 + Crizotinib		GSK1197E + Crizotinib	
	GSK1197E IC50 (nM)	Crizotinib (nM half)	WT	WT	Homozygous mutation: C373G-T	Heterozygous mutation: Substitution: C373G-T	Homozygous mutation: Substitution: C373A-T	Heterozygous mutation: Substitution: C373A-T	WT	WT
NCI-H69	>6	77	WT	WT	Homozygous mutation: Substitution: C373G-T	Heterozygous mutation: Substitution: C373G-T	Homozygous mutation: Substitution: C373A-T	Heterozygous mutation: Substitution: C373A-T	N-MYC Amplification	
NCI-H32	>6	92	WT	WT	Homozygous mutation: C373G-T	Heterozygous mutation: Substitution: C373A-T	Homozygous mutation: Substitution: C373A-T	Heterozygous mutation: Substitution: C373A-T	C-MYC Amplification	
DMS73	>6	84	WT	WT	Homozygous mutation: C373G-T	Heterozygous mutation: Substitution: C373A-T	Homozygous mutation: Substitution: C373A-T	Heterozygous mutation: Substitution: C373A-T	C-MYC and N- MYC Amplifications	
DMS114	0.12 (0.08-0.2)	58	WT	WT	Homozygous mutation: C373G-T		WT		MYC Amplification	

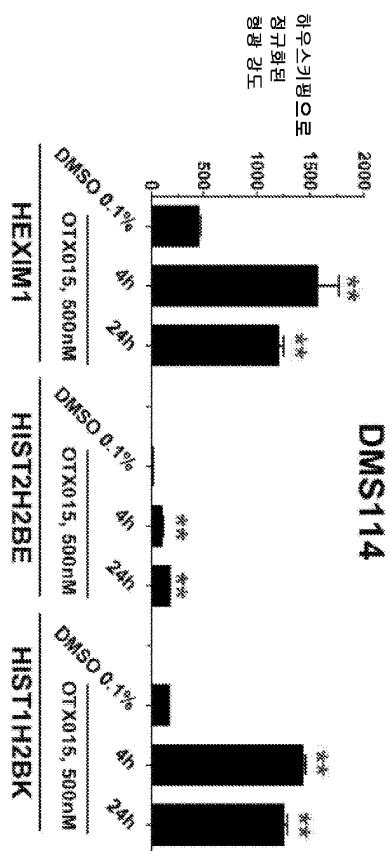
도면20a



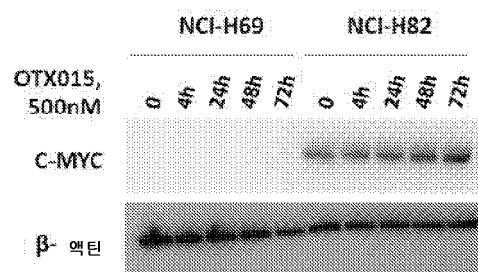
도면20b



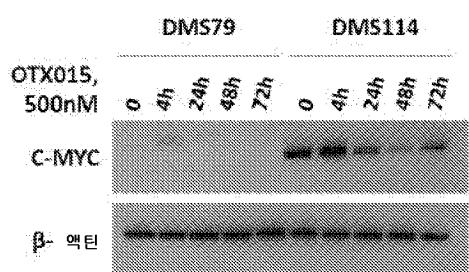
도면20c



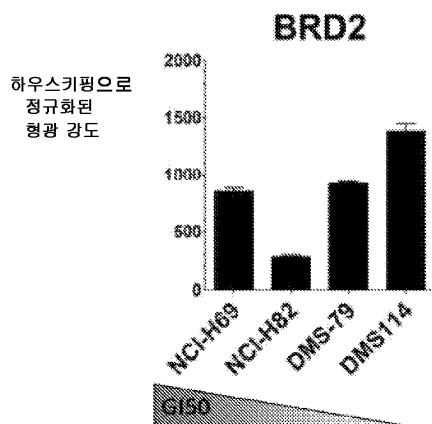
도면20d



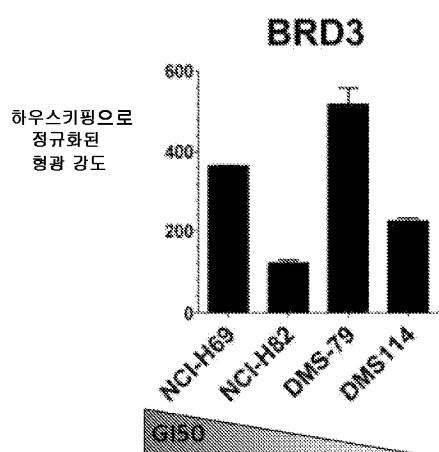
도면20e



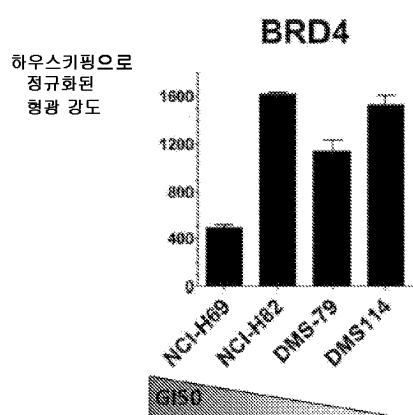
도면21a



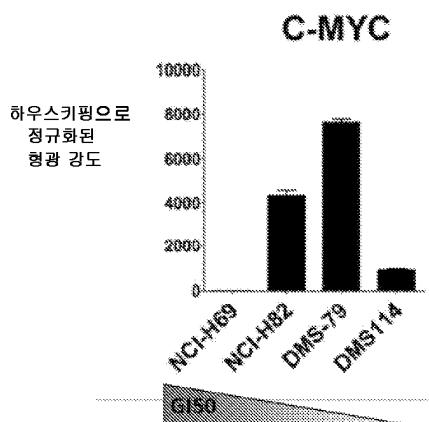
도면21b



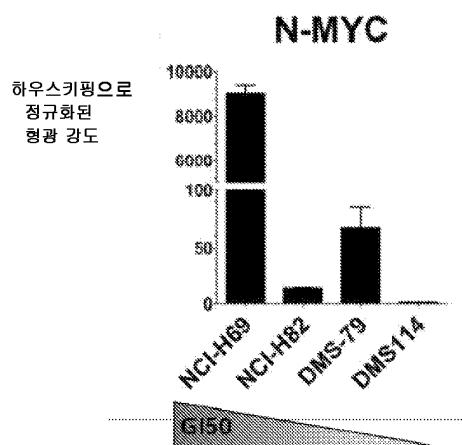
도면21c



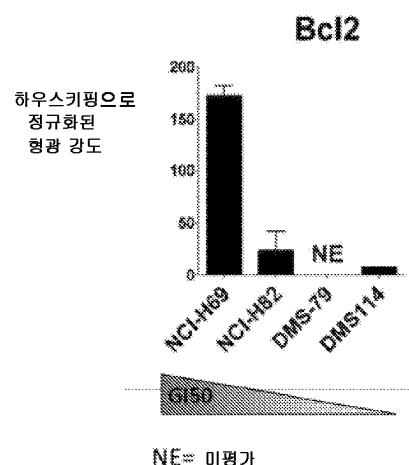
도면21d



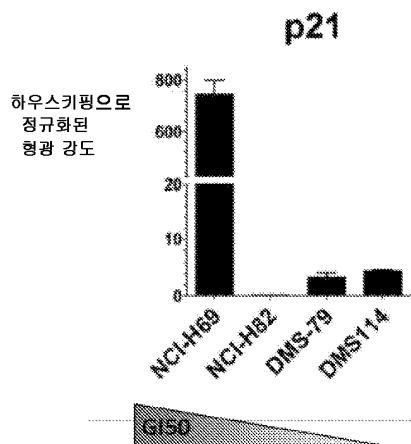
도면21e



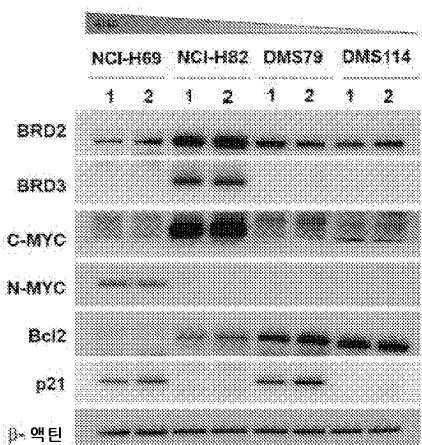
도면21f



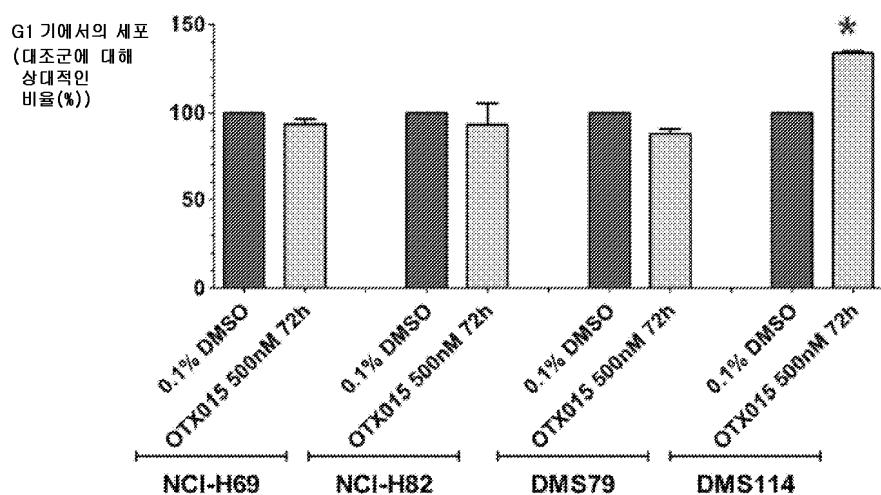
도면21g



도면21h



도면22a



도면22b

