



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0039951
(43) 공개일자 2019년04월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/4523 (2006.01) *A61K 31/5025*

(2006.01)

A61K 31/519 (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)*A61P 35/00* (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/4523 (2013.01)*A61K 31/5025* (2013.01)

(21) 출원번호 10-2019-7004431

(22) 출원일자(국제) 2017년08월22일

심사청구일자 **없음**

(85) 번역문제출일자 2019년02월14일

(86) 국제출원번호 PCT/US2017/047985

(87) 국제공개번호 WO 2018/039211

국제공개일자 2018년03월01일

(30) 우선권주장

62/378,322 2016년08월23일 미국(US)

(71) 출원인

세넨테크, 임크.

미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우쓰 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1

(72) 별명자

세틀멘 제프

미국 캘리포니아 94080 사우쓰 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1 씨/오

사후 니세비타

미국 캘리포니아 94080 사우쓰 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1 씨/오

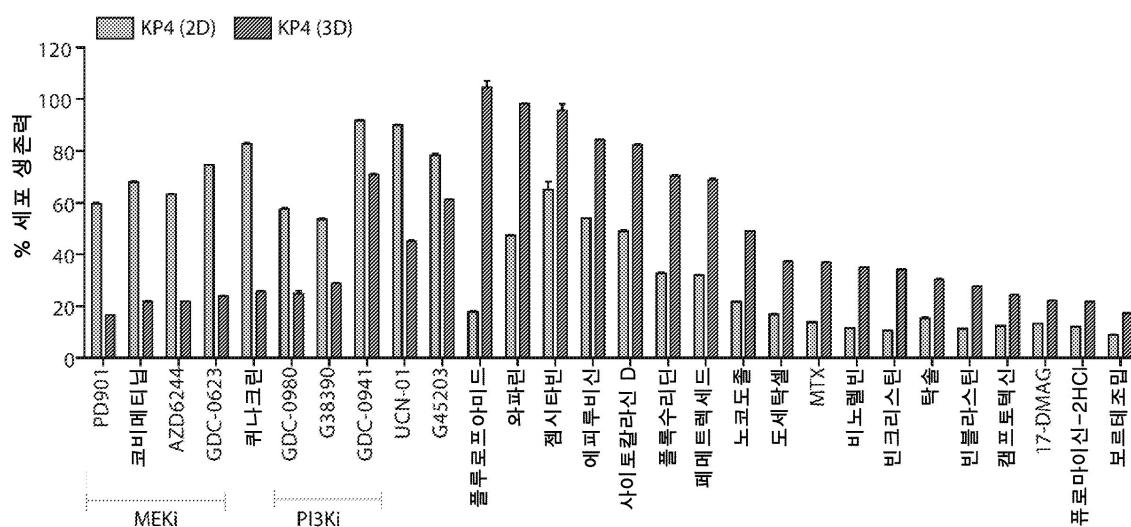
(74) 대리인

강명구

전체 청구항 수 : 총 27 항

(54) 발명의 명칭 **췌장암의 치료를 위한 병용요법****(57) 요 약**

본 명세서에서 기재된 요지는 MEK 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 및 PDGFR α , S6 및 STAT3을 표적으로 하는 다중-키나제 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함하는 조성물; 및 췌장암을 치료하는데 있어서 이의 용도에 대한 것이다. 또 다른 양태에서, 본 명세서에서는 MEK 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 및 다중-키나제 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 투여함에 의해 췌장암을 치료하는 방법이 개시된다. 또 다른 양태에서, 코비메티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염과, 포나티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 조합이 조성물로 투여되거나 또는 상기 조합은 별도로 투여되어 췌장암을 치료한다.

대 표 도

(52) CPC특허분류

A61K 31/519 (2013.01)

A61K 45/06 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

그것을 필요로 하는 대상체에서, 치료적 유효량의 활성제의 조합을 상기 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 췌장암을 치료하는 방법으로서, 상기 조합은 MEK 억제제와 PDGFR α , S6 및 STAT3을 표적으로 하는 다중-키나제 제제를 포함하는, 방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 MEK 억제제는 코비메티닙, GDC-0623, 트라메티닙, 비니메티닙, 셀루메티닙, 피마세르티닙, 레파메티닙, PD-0325901 및 BI-847325, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염으로 구성된 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 3

청구항 2에 있어서, 상기 MEK 억제제는 코비메티닙, 및 트라메티닙, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염으로 구성된 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 4

청구항 3에 있어서, 상기 MEK 억제제는 코비메티닙, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염인, 방법.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 상기 다중-키나제 제제는 포나티닙, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염인, 방법.

청구항 6

청구항 1에 있어서, 상기 췌장암은 내분비인, 방법.

청구항 7

청구항 1에 있어서, 상기 췌장암은 외분비인, 방법.

청구항 8

청구항 7에 있어서, 상기 췌장암은 선암종, 샘꽈리세포암종, 선편평세포암종, 콜로이드암종, 파골세포-유사 거대 세포를 갖는 미분화된 암종, 간장암종, 도관내 유두상-점액성 신생물, 점액성낭포성신생물, 췌장모세포종, 장액난선종, 인환세포암종, 고형 및 의사유두상종양, 췌관암종, 및 미분화된 암종인, 방법.

청구항 9

청구항 8에 있어서, 상기 췌장암은 췌관선암종인, 방법.

청구항 10

청구항 1에 있어서, 상기 조합은 상승작용이 있는, 방법.

청구항 11

청구항 1에 있어서, 상기 활성제는 순차적으로 투여되는, 방법.

청구항 12

청구항 1에 있어서, 상기 활성제는 동시에 투여되는, 방법.

청구항 13

청구항 1에 있어서, 상기 MEK 억제제 및 상기 다중-키나제 억제제는 조합된 제형으로 투여되는, 방법.

청구항 14

청구항 1에 있어서, 상기 MEK 억제제는 약 45 mg 내지 약 75 mg의 양으로 투여되고 상기 다중-키나제 억제제는 약 30 mg 내지 약 60 mg의 양으로 투여되는, 방법.

청구항 15

청구항 14에 있어서, 상기 양은 1일 1회 투여되는, 방법.

청구항 16

청구항 1에 있어서, 상기 MEK 억제제는 코비메티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염이고, 상기 다중-키나제 억제제는 포나티닙, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염인, 방법.

청구항 17

췌장암의 치료를 위한, a) MEK 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염과, b) PDGFR α , S6 및 STAT3을 표적으로 하는 다중-키나제 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 조합.

청구항 18

MEK 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염과, PDGFR α , S6 및 STAT3을 표적으로 하는 다중-키나제 제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염과, 약제학적으로 허용가능한 부형제와의 조합의 유효량을 포함하는 약제학적 조성물로서, 상기 조성물은 췌장암의 치료를 위한 것인, 약제학적 조성물.

청구항 19

청구항 18에 있어서, 상기 MEK 억제제는 코비메티닙, GDC-0623, 트라메티닙, 비니메티닙, 셀루메티닙, 피마세르티닙, 레파메티닙, PD-0325901 및 BI-847325, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염으로 구성된 군으로부터 선택되는, 조성물.

청구항 20

청구항 19에 있어서, 상기 MEK 억제제는 코비메티닙 및 트라메티닙, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염으로 구성된 군으로부터 선택되는, 조성물.

청구항 21

청구항 20에 있어서, 상기 MEK 억제제는 코비메티닙, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염인, 조성물.

청구항 22

청구항 18에 있어서, 상기 다중-키나제 제제는 포나티닙, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염인, 조성물.

청구항 23

청구항 18에 있어서, 코비메티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 및 포나티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 조성물.

청구항 24

청구항 18에 있어서, 상기 MEK 억제제, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염은 약 45 mg 내지 약 75 mg의 양으로 존재하고, 상기 다중-키나제 억제제, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염은 약 30 mg 내지 약 60 mg의 양으로 존재하는, 조성물.

청구항 25

MEK 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염; PDGFR α , S6 및 STAT3을 표적으로 하는 다중-키나제 제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염; 용기; 및 포장 삽입물 또는 표지를 포함하는 키트.

청구항 26

청구항 1에 있어서, 상기 MEK 억제제는 약 1 mg/kg 내지 약 50 mg/kg 사이의 용량으로 투여되고 상기 다중-키나제 억제제는 약 1 mg/kg 내지 약 50 mg/kg 사이의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 27

청구항 26에 있어서, 상기 MEK 억제제는 약 1 mg/kg 내지 약 10 mg/kg 사이의 용량으로 투여되고 상기 다중-키나제 억제제는 약 10 mg/kg 내지 약 40 mg/kg 사이의 용량으로 투여되는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 명세서에서 기재된 주제는 MEK 억제제와 RTKs, S6 및 JAK/STAT를 표적으로 하는 다중-표적 제제의 조합으로 체장암을 치료하는 것에 관한 것이다.

[0002]

EFS-WEB을 통해 텍스트 파일로서 제출된 서열목록에 대한 참조

[0003]

서열목록의 공식 사본은 EFS-Web을 통해, 2017년 8월 10일에 작성되고 471바이트의 크기를 가지는 501159SEQLIST.TXT로 명명된 파일과 함께 ASCII 형식의 서열목록으로 전자방식으로 제출되고, 본 명세서와 동시에 제출된다. 이 ASCII 형식의 문서에 함유된 서열목록은 본 명세서의 일부이며, 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다.

배경 기술

[0004]

체장 관상 선암종 (PDAC)은 가장 악성 암 중 하나이며, 수 많은 치료적 접근법이 배양 모델에서 시험된 체장암 세포로부터 약물반응 결과를 기반으로 탐구되었다. PDAC 종양의 대부분은 MAPK 신호전달의 KRAS 돌연변이-유도 활성화에 의해 유도되고 (문헌 [Jones S, Zhang X, Parsons DW, Lin JC, Leary RJ, Angenendt P, Core signaling pathways in human pancreatic cancers revealed by global genomic analyses, *Science*, 2008;321(5897):1801-6, Epub 2008/09/06]; 문헌 [Biankin AV, Waddell N, Kassahn KS, Gingras MC, Muthuswamy LB, Johns AL, Pancreatic cancer genomes reveal aberrations in axon guidance pathway genes, *Nature*, 2012;491(7424):399-405, Epub 2012/10/30]; 문헌 [Cid-Arregui A, Juarez V, Perspectives in the treatment of pancreatic adenocarcinoma, *World Journal of Gastroenterology*, 2015;21(31):9297-316, Epub 2015/08/27]), 그렇게 함으로써 PDAC 환자에서 치료적 중재를 위한 중요한 후보 표적으로서 MEK를 강조했다. 그러나, 사전-임상 및 임상 연구는 잠재적으로 다양한 보상성 기전을 통한 MAPK 억제제에 대한 내성의 신속한 전개에 기인하여 MAPK 경로 억제 단독에 의한 효능의 결여를 크게 드러냈고, 그렇게 함으로써 억제제의 효능을 제한하고 약물 내성 종양의 출현을 초래했다. (문헌 [Baines AT, Xu D, Der CJ, Inhibition of Ras for cancer treatment: the search continues, *Future Medicinal Chemistry*, 2011;3(14):1787-808, Epub 2011/10/19]; 문헌 [McCubrey JA, Steelman LS, Chappell WH, Abrams SL, Franklin RA, Montalvo G, Ras/Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR cascade inhibitors: how mutations can result in therapy resistance and how to overcome resistance, *Oncotarget*, 2012;3(10):1068-111, Epub 2012/10/23]; 문헌 [Junttila MR, Devasthali V, Cheng JH, Castillo J, Metcalfe C, Clermont AC, Modeling targeted inhibition of MEK and PI3 kinase in human pancreatic cancer, *Molecular Cancer Therapeutics*, 2015;14(1):40-7, Epub 2014/11/08]).

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005]

MEK 억제제에 대한 감수성 및 내성의 기본 기전에 대한 증진된 이해는 체장암 세포를 표적화하는데 효과적인 MEK 억제제와 조합하여 사용하기 위한 억제제를 동정할 수 있다.

과제의 해결 수단

[0006]

일 양태에서, 본 명세서에서 기재된 요지는 그것을 필요로 하는 대상체에서 체장암을 치료하는 방법에 대한 것으로, 상기 방법은 상기 대상체에게 치료적 유효량의 활성제의 조합을 투여하는 것을 포함하고, 상기 조합은

MEK 억제제와 PDGFR α , S6 및 STAT3을 표적으로 하는 다중-키나제 제제를 포함한다.

[0007] 또 다른 양태에서, 본 명세서에서 기재된 요지는 췌장암의 치료를 위한 a) MEK 억제제, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 및 b) PDGFR α , S6 및 STAT3을 표적으로 하는 다중-키나제 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 조합에 대한 것이다.

[0008] 또 다른 양태에서, 본 명세서에서 기재된 요지는 MEK 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염과 PDGFR α , S6 및 STAT3을 표적으로 하는 다중-키나제 제제, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 및 약제학적으로 허용가능한 부형제의 유효량의 조합을 포함하는 약제학적 조성물에 대한 것으로, 상기 조성물은 췌장암의 치료를 위한 것이다.

[0009] 또 다른 양태에서, 본 명세서에서 기재된 요지는: a) MEK 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염과 PDGFR α , S6 및 STAT3을 표적으로 하는 다중-키나제 억제제, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염; 및 b) 췌장암에 대한 치료를 지시하는 포장 삽입물 또는 표지를 포함하는, 췌장암을 치료하기 위한 키트에 대한 것이다.

[0010] 이들 양태 및 다른 양태는 아래에서 자세히 기재되어 있다.

도면의 간단한 설명

도 1은 2D 단일층 및 3D 회전타원체 배양에서 KP4 PDAC 세포에 의한 MEK 억제: 2D 및 3D 배양에서 KP4 암세포의 소분자 억제제 스크린에 대한 차별적인 반응을 도시한다.

도 2는 2D 단일층 및 3D 회전타원체 배양에서 KP4 PDAC 세포에 의한 MEK 억제: 어두워진 패널 C에서 차별적으로 활성화된 단백질의 위치를 갖는 포스포-키나제 배열 레이아웃에 대한 차별적인 반응을 도시한다.

도 3은 2D 단일층 및 3D 회전타원체 배양에서 KP4 PDAC 세포에 의한 MEK 억제: 2D 및 3D에서 KP4 세포의 포스포-키나제 배열에 대한 차별적인 반응을 도시한다.

도 4는 2D 단일층 및 3D 회전타원체 배양에서 KP4 PDAC 세포에 의한 MEK 억제: 2D 또는 3D에서 배양되고 24시간 동안 코비메티닙으로 처리된 KP4 세포의 RT-PCR에 의한 단백질 키나제 배열에 대한 차별적인 반응을 도시한다. 샘플은 DMSO-처리된 KP4 2D 대조군에 대해 표준화하였다.

도 5는 2D 단일층 및 3D 회전타원체 배양에서 KP4 PDAC 세포에 의한 MEK 억제: 2D 또는 3D에서 배양되고 24시간 동안 코비메티닙으로 처리된 KP4 세포의 루시퍼라아제 리포터 검정에 대한 차별적인 반응을 도시한다. 루시퍼라아제 활성의 배수-변화에서 유의차를 갖는 전사 인자는 적색으로 도시되어 있다.

도 6A-B는 MEK 억제가 PDGFR α , S6 및 STAT3 활성화를 유도한다는 것을 도시한다: (도 6A) KP4 세포 내 코비메티닙 처리에 의한 PDGFR α , S6 및 STAT3의 활성화를 검증하는 면역블랏. (도 6B) 웨스턴 블랏에 의한 PDAC 세포주 및 KPP GEMM-유래된 세포주에서 코비메티닙 처리에 의한 p-STAT3 증가의 검증.

도 7은 MEK 억제가 PDGFR α , S6 및 STAT3 활성화를 유도한다는 것을 도시한다: IL-6 분비의 수준은 24시간 동안 코비메티닙으로 처리된 PDAC 세포주의 2D 배양 상청액에서 측정되었다.

도 8은 MEK 억제가 PDGFR α , S6 및 STAT3 활성화를 유도한다는 것을 도시한다: KP4 및 MIA-PACA2 세포 생존력에 대한 코비메티닙과 조합한 Dox-유도성 STAT3 녹다운의 효과를 측정하는 CTG 검정.

도 9는 MEK 억제가 PDGFR α , S6 및 STAT3 활성화를 유도한다는 것을 도시한다: Dox ($1\mu\text{g}/\text{mL}$)로 72시간 처리 후 STAT3의 효율적인 녹다운을 확인하는 웨스턴 블랏.

도 10은 MEK 억제가 PDGFR α , S6 및 STAT3 활성화를 유도한다는 것을 도시한다: 매트리겔 침습 검정에서 10% FBS에 반응하여 2D 및 3D에서 배양된 췌장암 세포의 침습 잠재성의 정량화.

도 11은 코비메티닙과 조합하여 S6 및 STAT3의 억제가 췌장암 세포의 사망을 증가시킨다는 것을 도시한다: 신호전달 수용체 및 다운스트림 표적의 활성화에 대한 코비메티닙과 조합한 다중-RTK 억제제 포나티닙의 효과는 웨스턴 블랏에 의해 입증되었다.

도 12는 코비메티닙과 조합하여 S6 및 STAT3의 억제가 췌장암 세포의 사망을 증가시킨다는 것을 도시한다: 코비메티닙 +/- 포나티닙 또는 JAK 억제제에 의한 절단된 PARP의 유도 및 STAT3 활성화에 대한 효과는 웨스턴 블랏에 의해 입증되었다.

도 13은 코비메티닙과 조합하여 S6 및 STAT3의 억제가 췌장암 세포의 사망을 증가시킨다는 것을 도시한다: 2D

및 3D 배양에서 코비메티닙 +/- 포나티닙으로 사전처리된 KP4 세포의 PathScan 다중 웨스턴 블랏 분석.

도 14는 코비메티닙과 조합하여 S6 및 STAT3의 억제가 췌장암 세포의 사망을 증가시킨다는 것을 도시한다: 코비메티닙 +/- 포나티닙/S6/PDGFR α 억제제에 의한 절단된 PARP의 유도 및 S6 활성화에 대한 효과는 웨스턴 블랏에 의해 입증되었다.

도 15는 코비메티닙과 조합하여 S6 및 STAT3의 억제가 췌장암 세포의 사망을 증가시킨다는 것을 도시한다: KP4 세포 생존력에 대하여 코비메티닙 및 룩솔리티닙과 조합한 PDGFR 억제제 크레놀라닙의 효과는 CTG 검정을 사용하여 측정되었다.

도 16 및 17은 코비메티닙과 조합하여 S6 및 STAT3의 억제가 췌장암 세포의 사망을 증가시킨다는 것을 도시한다: 코비메티닙과 포나티닙 사이의 동반상승효과는 블리스 분석을 사용하여 췌장암 세포주에서 분석되었다.

도 18은 코비메티닙과 조합하여 S6 및 STAT3의 억제가 췌장암 세포의 사망을 증가시킨다는 것을 도시한다: KP4 세포에서 코비메티닙과 S6 억제제 라파마이신 사이의 동반상승효과의 블리스 분석.

도 19는 코비메티닙과 조합하여 S6 및 STAT3의 억제가 췌장암 세포의 사망을 증가시킨다는 것을 도시한다: KP4 세포에서 코비메티닙과 GDC-0980 사이의 동반상승효과의 블리스 분석.

도 20A-B는 PDGFR α/S6/STAT3 및 MEK의 억제가 종양 성장을 저해하고 혈청 PDGF α를 감소시킨다는 것을 도시한다: (도 20A) 코비메티닙 (5mg/kg, PO, QD) 및/또는 포나티닙 (30mg/kg, PO, QD)으로 24시간마다 처리된 KP4 이종이식 모델의 종양 성장 곡선 (평균 ± S.E.M) (각각의 집단에 대해 n = 10); (도 20B) (도 20A)에서와 같이 처리된 KPP 이종이식 모델의 종양 성장 곡선 (평균 ± S.E.M).

도 21은 PDGFR α/S6/STAT3 및 MEK의 억제가 종양 성장을 저해하고 혈청 PDGF α를 감소시킨다는 것을 도시한다: IHC에 의해 p-STAT3, p-Erk 및 절단된 카스파제 3을 검출하기 위해 염색되거나, 또는 IF에 의해 p-STAT3 및 F4/80 또는 p-PDGFR α에 대한 항체와 함께 염색된 KP4 이종이식으로부터의 대표적인 종양 부분. 기준 자: IHC 슬라이드의 경우 20 μ m, IF 슬라이드의 경우 50 μ m.

도 22는 PDGFR α/S6/STAT3 및 MEK의 억제가 종양 성장을 저해하고 혈청 PDGF α를 감소시킨다는 것을 도시한다: KP4 이종이식 종양의 코비메티닙/포나티닙 처리에 의한 PDGFR α, S6 및 STAT3의 활성화를 검증하는 면역블랏.

도 23은 PDGFR α/S6/STAT3 및 MEK의 억제가 종양 성장을 저해하고 혈청 PDGF α를 감소시킨다는 것을 도시한다: KP4 이종이식 마우스의 혈장 샘플의 성장 인자 및 사이토카인에 대한 루미넥스 검정.

도 24는 PDAC 환자 샘플로부터 췌장 종양 및 전이에서 p-Erk 및 p-STAT3의 분석을 도시한다: 82 PDAC 환자로부터 원발성 종양 및 전이에서 악성종양의 상이한 단계에서 p-Erk- 및 p-STAT3-양성 샘플의 분포.

도 25는 PDAC 환자 샘플로부터 췌장 종양 및 전이에서 p-Erk 및 p-STAT3의 분석을 도시한다: PDAC 환자 샘플에서 p-Erk 및 p-STAT3에 대해 염색된 대표적인 원발성 종양 및 간 분절. 기준 자: 20 μ m.

도 26은 PDAC 환자 샘플로부터 췌장 종양 및 전이에서 p-Erk 및 p-STAT3의 분석을 도시한다: PDAC 환자 종양 샘플에서 PDGFR 및 IL-6R의 발현의 마이크로어레이 분석.

도 27A-B는 미세전이의 조직병리적 특징을 갖는 KP4-유래된 3D 회전타원체가 소분자 억제제에 대해 차별적인 감수성을 나타낸다는 것을 도시한다: KP4 세포는 3일 동안 10% 정상 FBS (2D 배양용) 또는 10% 사전-가열된 FBS (3D 배양용)를 함유하는 RPMI 배지에서 배양되었고 IHC는 Ki67, p-STAT3 및 절단된 카스파제-3에 대해 2D 세포 펠릿 또는 3D 회전타원체 상에서 수행되었다.

도 28은 미세전이의 조직병리적 특징을 갖는 KP4-유래된 3D 회전타원체가 소분자 억제제에 대해 차별적인 감수성을 나타낸다는 것을 도시한다: 10% 사전-가열된 FBS를 사용하여 형성된 회전타원체는 다른 통상적인 3D 배양 방법에서 나타난 것과 유사한 약물 감수성 프로파일을 나타낸다.

도 29는 미세전이의 조직병리적 특징을 갖는 KP4-유래된 3D 회전타원체가 소분자 억제제에 대해 차별적인 감수성을 나타낸다는 것을 도시한다: 상이한 3D 배양 방법으로부터 형성된 회전타원체의 세포 생존력 검정 및 콜로니 계수 검정.

도 30은 코비메티닙/포나티닙 공동-처리가 종양 성장을 저해하고 종양-관련된 대식세포 침윤을 감소시킨다는 것을 도시한다: IHC에 의해 p-Erk 및 p-STAT3 항체로 검사되거나 또는 면역 형광에 의해 항-p-STAT3 및 항-F4/80

으로 공동-염색된 KPP 이종이식으로부터 대표적인 종양 부분. 기준 자: IHC 슬라이드의 경우 $20\mu\text{m}$, IF 슬라이드의 경우 $50\mu\text{m}$.

도 31A-B는 코비메티닙/포나티닙 공동-처리가 종양 성장을 저해하고 종양-관련된 대식세포 침윤을 감소시킨다는 것을 도시한다: KP4 및 KPP 이종이식 모델에서 코비메티닙 +/- 포나티닙으로 처리된 마우스의 체중의 변화.

도 32는 코비메티닙/포나티닙 공동-처리가 종양 성장을 저해하고 종양-관련된 대식세포 침윤을 감소시킨다는 것을 도시한다: KP4 이종이식 마우스의 혈장 샘플의 성장인자의 루미넥스 검정.

도 33은 코비메티닙/포나티닙 공동-처리가 종양 성장을 저해하고 종양-관련된 대식세포 침윤을 감소시킨다는 것을 도시한다: KPP 이종이식 종양의 코비메티닙/포나티닙 처리에 의한 PDGFR α , S6 및 STAT3의 활성화를 검증하는 면역블랏.

도 6-23에서의 데이터는 평균 \pm S.E.M. * $P < 0.05$, 스튜던트 t-시험으로서 표시되어 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0012]

췌장 관상선암종 (PDAC)은 가장 치명적인 인간 질환 중 하나이며, 이용가능한 약물 치료에 크게 내성이 있다. KRAS-유도된 MEK 경로는 대부분의 췌장암에서 돌연변이적으로 활성화되며 치료제에 대한 중요한 목표이다. 그러나, 공지된 종양발생 드라이버의 불충분한 표적화 및 보상성 피드백 루프의 활성화와 전이성 확산을 방지할 수 없는 능력은 이 질환에 대한 나쁜 예후에 기여한다.

[0013]

막관통 수용체 티로신 키나제 (RTK)의 활성화는 세포 운명의 조절에서 절정을 이루는 수많은 생화학적 캐스케이드를 유발시킨다. 이 활성화는 세포외 환경에서의 분자, 주로 성장인자, 세포외 기질 (ECM) 단백질 및 인접하는 세포의 표면상에 나타나는 접착 분자에 의해 조절된다. 이를 신호에 대한 세포 반응은 분자가 세포의 표면에 존재하는 특이적 수용체에 결합할 때 발생한다. 많은 성장인자 (GF)는 수용체 티로신 키나제 (RTK) 계열의 막관통 단백질에 결합하고 이를 활성화시킨다.

[0014]

RTK는 세포외 리간드 결합 도메인, 단일 막관통 도메인, 및 티로신 키나제 도메인과 몇 개의 조절 티로신을 함유하는 세포내 성분을 함유한다. RTK는 세포질 STAT-계열 전사 인자를 인산화시키고 활성화시킬 수 있다. 이들 활성화된 STAT는 핵으로 전위한다. 일단 핵 내부에 있으면, STAT는 세포증식과 관련된 유전자의 전사를 증가시킨다.

[0015]

혈소판-유래된 성장인자 수용체 (PDGFR)는 혈소판-유래된 성장인자 (PDGF) 계열의 구성원에 대한 세포 표면 티로신 키나제 수용체이다. PDGFR α 및 PDGFR β 동형체는 세포 증식, 세포 분화, 세포 성장 및 발달을 조절하는 인자이다. 결합 시, 2개의 동형체가 이량체화되어 PDGFR의 키나제 활성 및 인산화를 활성화시킨다. 성장인자 수용체 내의 티로신 인산화 부위는 키나제의 활성 수준을 조절하고 하류 신호 형질도입을 위한 결합 부위이며, 많은 경우에서 또한 키나제의 기질이다. 하류 신호전달 분자 예컨대 S6 리보솜 단백질을 포함하는 이 신호전달 캐스케이드는 암을 포함한 많은 질환에 연루된다.

[0016]

본 명세서에서 기재된 바와 같이, 2-차원 단일층 배양 시스템뿐만 아니라 3-차원 회전타원체 배양 시스템을 사용하여, MEK 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염과 PDGFR α , S6 및 STAT3을 표적으로 하는 다중-표적 제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염으로의 병용치료는 단일층 및 회전타원체 둘 모두에서 췌장암 세포를 표적화하는데 효과적이었다는 것이 밝혀졌다. 이론에 구애됨이 없이 본 조합은 암세포에서 STAT3- 및 S6-매개된 보상성 피드백 루프의 활성화를 또한 막는 동시에 PDGFR α 및 MEK 키나제를 통한 신호전달을 효과적으로 차단할 수 있다. 게다가, 본 명세서에서 제시된 바와 같이, 이종이식 모델을 사용하여, MEK 억제제와 포나티닙으로 공동-치료는 종양 퇴화를 야기하고 동시에 췌장종양 미세환경에서 종양-관련 대식세포를 표적화함으로써 PDAC 종양진행을 촉진시키는 골수모집단을 억제하고, 그렇게 함으로써 이중기전을 통해 종양퇴화를 촉진시킨다는 것이 밝혀졌다. PDAC 환자 샘플은 종양에서 증가된 STAT3 활성화와 간 전이에서 Erk 활성화를 나타내어, STAT3 및 Erk가 각각 PDAC 종양 및 간 전이에서 중요한 동인으로 관련되었음을 나타낸다. 본 명세서에서 제시된 바와 같이, 이들 결과는 췌장암의 효과적인 치료를 위한 복합약물 치료 전략을 나타낸다. 추가로, 활성제는 단독 투여시 췌장암에 대해 효과가 없을 수도 있다.

[0017]

비록 전하는 바에 따르면 PDGFR β , MEK, S6 및 STAT3로 확인된 생존 경로가 다양한 암 모델에서 종양 형성 및 전이에 관여되지만 (문헌 [Lesina M, Kurkowski MU, Ludes K, Rose-John S, Treiber M, Kloppel G, Stat3/Socs3 activation by IL-6 transsignaling promotes progression of pancreatic intraepithelial neoplasia and development of pancreatic cancer, *Cancer Cell*, 2011;19(4):456-69, Epub 2011/04/13]; 문헌

[Yen TW, Aardal NP, Bronner MP, Thorning DR, Savard CE, Lee SP, Myofibroblasts are responsible for the desmoplastic reaction surrounding human pancreatic carcinomas, *Surgery*, 2002;131(2):129-34, Epub 2002/02/21]; 문헌 [Weissmueller S, Manchado E, Saborowski M, Morris JP, Wagenblast E, Davis CA, et al. Mutant p53 drives pancreatic cancer metastasis through cell-autonomous PDGF receptor beta signaling, *Cell*, 2014;157(2):382-94, Epub 2014/04/15]; 문헌 [Corcoran RB, Rothenberg SM, Hata AN, Faber AC, Piris A, Nazarian RM, TORC1 suppression predicts responsiveness to RAF and MEK inhibition in BRAF-mutant melanoma, *Science Translational Medicine*, 2013;5(196):196ra98, Epub 2013/08/02]; 문헌 [Corcoran RB, Cheng KA, Hata AN, Faber AC, Ebi H, Coffee EM, Synthetic lethal interaction of combined BCL-XL and MEK inhibition promotes tumor regressions in KRAS mutant cancer models, *Cancer Cell*, 2013;23(1):121-8, Epub 2012/12/19]; 문헌 [Deng J, Liu Y, Lee H, Herrmann A, Zhang W, Zhang C, S1PR1-STAT3 signaling is crucial for myeloid cell colonization at future metastatic sites, *Cancer Cell*, 2012;21(5):642-54, Epub 2012/05/26]; 문헌 [Corcoran RB, Contino G, Deshpande V, Tzatsos A, Conrad C, Benes CH, STAT3 plays a critical role in KRAS-induced pancreatic tumorigenesis, *Cancer Research*, 2011;71(14):5020-9, Epub 2011/05/19]), 1차적인 췌장 종양에서 MEK 억제는 PDGFRα, S6 및 STAT3를 통한 다른 신호전달 경로의 활성화를 유발하여, 단일 제제 MEK 억제에 대한 내성에 기여한다는 것이 이제 밝혀졌다. 특히, 개별적으로 세포 생존력에 대해 효과를 나타내지 않았던 개별 제제가 조합될 때 2D 및 3D 배양 둘 모두에서 세포 성장을 억제한다는 것이 나타났다. 따라서, MEK 억제와 조합하여 PDGFRα, S6 및 STAT3 활성화의 억제는 췌장 종양에서 MEK 억제제 코비메티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 내성의 유도를 방지했다. 일 구현예에서, 코비메티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염과 조합하여 다중-RTK 및 JAK2 억제제인 포나티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염으로 치료는, 전술한 바와 같이, 일반적으로 현재 클리닉에서 탐구중인 약물 치료 요법에 난치성인 췌장 종양을 표적화하는데 아주 효과적이었다.

[0018]

췌관의 암종 (PDAC)은 공격성 종양 성장, 전이, 면역 억제, 및 약물 내성에 기여하는 다양한 기질 요소의 주목 할만한 관여와 관련된다. (문헌 [Cid-Arregui A, et al., (2015); Hidalgo M. Pancreatic cancer, *The New England Journal of Medicine*, 2010;362(17):1605-17, Epub 2010/04/30]; 문헌 [Korc M. Pancreatic cancer-associated stroma production, *American Journal of Surgery*, 2007;194(4 Suppl):S84-6, Epub 2007/12/06]; 문헌 [Inman KS, Francis AA, Murray NR. Complex role for the immune system in initiation and progression of pancreatic cancer, *World Journal of Gastroenterology*, 2014;20(32):11160-81, Epub 2014/08/30]; 문헌 [Wormann SM, Diakopoulos KN, Lesina M, Algul H, The immune network in pancreatic cancer development and progression, *Oncogene*, 2014;33(23):2956-67, Epub 2013/07/16]; 문헌 [Moses AG, Maingay J, Sangster K, Fearon KC, Ross JA, Pro-inflammatory cytokine release by peripheral blood mononuclear cells from patients with advanced pancreatic cancer: relationship to acute phase response and survival, *Oncology Reports*, 2009;21(4):1091-5, Epub 2009/03/17]; 문헌 [Tjomsland V, Niklasson L, Sandstrom P, Borch K, Druid H, Bratthall C, The desmoplastic stroma plays an essential role in the accumulation and modulation of infiltrated immune cells in pancreatic adenocarcinoma, *Clinical & Developmental Immunology*, 2011;2011:212810, Epub 2011/12/23]; 문헌 [Silvestris N, Gnoni A, Brunetti AE, Vincenti L, Santini D, Tonini G, et al. Target therapies in pancreatic carcinoma, *Current Medicinal Chemistry*, 2014;21(8):948-65, Epub 2013/09/03]; 문헌 [Vaccaro V, Sperduti I, Vari S, Bria E, Melisi D, Garufi C, Metastatic pancreatic cancer: Is there a light at the end of the tunnel? *World Journal of Gastroenterology*, 2015;21(16):4788-801. Epub 2015/05/07]; 문헌 [Tuveson DA, Neoptolemos JP, Understanding metastasis in pancreatic cancer: a call for new clinical approaches, *Cell*, 2012;148(1-2):21-3, Epub 2012/01/24]). 종양-관련된 대식세포는 췌장 종양에 침투하여 환자의 열악한 결과와 상호관련이 있는 가장 흔한 간질 세포 유형 중 하나이다. (문헌 [Vonderheide RH, Bayne LJ, Inflammatory networks and immune surveillance of pancreatic carcinoma, *Current Opinion in Immunology*, 2013;25(2):200-5, Epub 2013/02/21]; 문헌 [Di Caro G, Cortese N, Castino GF, Grizzi F, Gavazzi F, Ridolfi C, Dual prognostic significance of tumour-associated macrophages in human pancreatic adenocarcinoma treated or untreated with chemotherapy, *Gut*, 2015. Epub 2015/07/15]; 문헌 [Chen SJ, Zhang QB, Zeng LJ, Lian GD, Li JJ, Qian CC, Distribution and clinical significance of tumour-associated macrophages in pancreatic ductal adenocarcinoma: a retrospective analysis in China, *Curr. Oncol.* 2015;22(1):e11-9, Epub 2015/02/17]). 최근 연구는 종양 진행뿐만 아니라 전이에서 TAM에 대한 중요한 역할을 추가로 시사한다. (문헌 [Noy R, Pollard JW. Tumor-associated macrophages: from mechanisms to therapy, *Immunity*, 2014;41(1):49-61, Epub

2014/07/19]; 문헌 [Melero I, Gaudernack G, Gerritsen W, Huber C, Parmiani G, Scholl S, Therapeutic vaccines for cancer: an overview of clinical trials, *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2014;11(9):509-24, Epub 2014/07/09]; 문헌 [Drake CG. Combination immunotherapy approaches, *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*, 2012;23 Suppl 8:viii41-6, Epub 2012/08/29]; 문헌 [Weden S, Klemp M, Gladhaug IP, Moller M, Eriksen JA, Gaudernack G, Long-term follow-up of patients with resected pancreatic cancer following vaccination against mutant K-ras, *International Journal of Cancer, Journal International du Cancer*, 2011;128(5):1120-8, Epub 2010/05/18]; 문헌 [Bronte V, Murray PJ. Understanding local macrophage phenotypes in disease: modulating macrophage function to treat cancer, *Nature Medicine*, 2015;21(2):117-9, Epub 2015/02/06]). 본 발명자들의 발견은 MEK 억제에 반응하여 PDAC에서 종양세포와 TAM 둘 모두에서 STAT3 신호전달축의 역할이 관련있음을 나타낸다. 본 발명자들의 결과는 MEK 억제제, 예를 들어, 코비메티닙/PDGFR α , S6 및 STAT3를 표적으로 하는 멀티키나제 억제제, 예를 들어, 포나티닙의 공동-치료가 원발성 종양 내 골수 및 암 세포 둘 모두를 표적으로 할 수 있어, 증가된 세포사 및 종양 퇴화를 야기한다는 것을 추가로 시사한다.

[0019]

현재 개시된 요지는 이하에서 보다 구체적으로 설명한다. 그러나, 본 명세서에 개시된 본 발명 주제의 많은 변형 및 다른 구현예는 전술한 설명에서 제시된 교시의 이점을 갖는 본 발명의 주제가 속하는 당해 분야의 숙련가에게 떠오를 것이다. 따라서, 본 개시된 주제가 개시된 특정 구현예들에 한정되지 않고 변형 및 다른 구현예들이 첨부된 청구항들의 범위 내에 포함되도록 의도되는 것으로 이해되어야 한다. 환언하면, 본 명세서에 기재된 요지는 모든 대안, 변형 및 등가물을 포함한다. 편입된 문헌, 특히 및 이와 유사한 자료 중 하나 이상이 비제한적으로 정의된 용어, 용어 사용, 설명된 기술 등을 포함하는 본원과 다르거나 모순되는 경우, 본원이 제어한다. 달리 정의되지않는 한, 본 명세서에서 사용되는 모든 기술 및 과학 용어는 이 분야에서의 숙련가에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본 명세서에 언급된 모든 공보, 특허출원, 특히 및 기타 참고문헌은 그 전체가 참고로 편입된다.

[0020]

I. 정의

[0021]

용어 "췌장암"은 췌장에서 유래한 신생물을 의미한다. 췌장암은 외분비 및 내분비 암을 포함한다. 대부분의 췌장암은 외분비 종양이다. 췌장 내분비 종양은 소위 소도세포 종양이라고도 한다. 불행하게도, 조기발견에서도 현재 췌장암의 예후는 좋지 않다. 본 명세서에서 기재된 방법으로 치료될 수 있는 췌장암은, 비제한적으로, 외분비 췌장암 및 내분비 췌장암을 포함한다. 외분비 췌장암은, 비제한적으로, 선암종, 샘파리세포암종, 선편평세포암종, 콜로이드암종, 파골세포-유사 거대 세포를 갖는 미분화된 암종, 간장암종, 도관내 유두상-점액성 신생물, 점액성낭포성신생물, 췌장모세포종, 장액난선종, 인환세포암종, 고형 및 의사유두상종양, 췌관암종, 및 미분화된 암종을 포함한다. 일부 구현예에서, 외분비 췌장암은 췌관암종이다. 내분비 췌장암은, 비제한적으로, 인슐린종 및 글루카곤종을 포함한다.

[0022]

일부 구현예에서, 췌장암은 임의의 초기단계 췌장암, 비-전이성 췌장암, 1차 췌장암, 절제된 췌장암, 진행된 췌장암, 국소적으로 진행된 췌장암, 전이성 췌장암, 절제 불가능 췌장암, 사해 췌장암, 재발성 췌장암, 아쥬반트 환경에서 췌장암, 또는 네오아쥬반트 환경에서 췌장암이다. 일부 구현예에서, 췌장암은 국소적으로 진행된 췌장암, 절제 불가능 췌장암, 또는 전이성 췌관암종이다. 일부 구현예에서, 췌장암은 쟈시타빈-계 요법에 내성이다. 일부 구현예에서, 췌장암은 쟈시타빈-계 요법에 난치성이다.

[0023]

본 명세서에서 기재된 방법은 하기 목적 중 임의의 하나 이상을 위해 사용될 수 있다: 췌장암의 하나 이상의 증상을 완화, 췌장암의 진행을 지연, 췌장암 종양 크기의 축소, 췌장암 기질의 파괴 (예컨대 붕괴), 췌장암 종양 성장을 억제, 전체적인 생존 연장, 무병 생존 연장, 췌장암 질환 진행까지의 시간 연장, 췌장암 종양 전이 예방 또는 지연, 기존의 췌장암 종양 전이 감소 (예컨대 근절), 기존의 췌장암 종양 전이의 발병률 또는 부하 감소, 췌장암의 재발 방지 및/또는 췌장암 환자의 임상적 이점의 개선.

[0024]

본 명세서에 기재된 췌장암 치료 방법은 원발성 종양(들) 및 전이성 종양(들)을 포함하는 췌장암의 성장, 발달 또는 전이를 억제하거나, 늦추거나 또는 역전시키기 위해 이를 필요로 하는 대상체 (인간 또는 동물)에게 MEK 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 및 PDGFR α , S6 및 STAT3를 표적으로 하는 다중-키나제 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 조합의 치료적 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 이러한 투여는 투여된 활성체 중 하나에 의해 억제된 생존경로 및 또는 하나 이상의 키나제에 의해 매개된 질환의 치료 또는 예방에 대한 방법을 구성한다. 본 명세서에서 개시된 바와 같은 화합물의 "투여" 또는 "투여하는 것"은 본 명세서에서 논의된 바와 같은 임의의 적합한 제형 또는 투여 경로를 사용하여 활성체, 또는 이들의 전구약물 또는 다른

약제학적으로 허용가능한 유도체의 수령체에게 전달을 포괄한다. MEK 억제제 및 다중-키나제 억제제는 연속적으로, 순차적으로, 또는 이 둘의 조합인, 어떤 순서로든 투여될 수 있다.

[0025] 용어 "대상체"는 비제한적으로, 영장류 (예를 들어, 인간), 소, 양, 염소, 말, 개, 고양이, 토끼, 랫트, 마우스 및 기타 동종의 것을 포함한, 동물 예컨대 포유동물을 지칭한다. 특정 구현예에서, 상기 대상체는 인간이다.

[0026] 용어 "예방" 또는 "예방적"은 병용 투여를 하지 않은 경우에 발생할 것으로 예상되는 질환 또는 병태의 증상이 계속적으로 없는 것을 지칭한다.

[0027] 본 명세서에서 사용된 바와 같은 용어 "상승작용"은 2종 이상의 단일 제제의 부가적 효과보다 더 효과적인 치료적 조합을 지칭한다. MEK 억제제와 PDGFR α , S6 및 STAT3을 표적으로 하는 다중-키나제 억제제 사이의 상승작용 상호작용의 결정은 본 명세서에서 기재된 검정으로부터 수득된 결과에 기반될 수 있다. 예를 들어, 생체내 또는 시험관내 방법이 본 명세서에 개시되었다. 이들 검정의 결과는 조합 지수를 얻기 위해 Chou 및 Talalay 조합 방법과 CalcuSyn 소프트웨어로 용량-효과 분석을 사용하여 분석될 수 있다 (문헌 [Chou and Talalay, 1984, *Adv. Enzyme Regul.* 22:27-55]). 제공된 조합은 하나 이상의 검정 시스템에서 평가될 수 있고, 그리고 데이터는 항암제 사이의 상승작용, 부형작용 및 길항작용을 정량화하기 위한 표준 프로그램을 사용하여 분석될 수 있다. 문헌 [Chou and Talalay, in *New Avenues in Developmental Cancer Chemotherapy*, Academic Press, 1987]의 2장에 기재된 예제 프로그램이 있다. 0.8 미만의 조합 지수 값은 동반상승효과를 나타내고, 1.2 초과의 값은 길항작용을 나타내며 0.8 내지 1.2 사이의 값은 부가적 효과를 나타낸다. 병용요법은 "동반상승효과"를 제공할 수 있고, 함께 사용되는 활성제가 화합물을 개별적으로 사용함으로써 발생하는 효과의 합보다 큰 경우에 달성되는 효과, 즉 "상승작용"을 입증할 수 있다. 상승작용효과는 활성제가: (1) 조합된, 단위 투약 제형으로 공동-제형화되고 투여되거나 또는 동시에 전달될 때; (2) 별개의 제형으로 교대로 또는 병렬로 전달될 때; 또는 (3) 일부 다른 레지멘에 의할 때 획득될 수 있다. 교호 요법으로 전달될 때, 상승작용효과는 화합물이, 예를 들어, 별도의 주사기에서 상이한 주사에 의해, 순차적으로 투여되거나 전달될 때 달성될 수 있다. 일반적으로, 교호 요법 동안, 각각의 활성제의 효과적인 투약량은 순차적으로, 즉, 연속으로 투여되고, 반면에 병용 요법에서, 2종 이상의 활성제의 효과적인 투약량은 함께 투여된다. 조합 효과는 BLISS 독립모델 및 최고 단일 제제 (HSA) 모델 둘 모두를 사용하여 평가될 수 있다 (문헌 [Lehar et al., *Molecular Systems Biology*, 3:80 (2007)]). BLISS 스코어는 단일 제제로부터의 강화작용의 정도를 정량화하고 양성 BLISS 스코어 (0보다 큼)는 단순한 가산성보다 더 큼을 시사한다. 250보다 더 큰 누적 양성 BLISS 스코어는 시험된 농도 범위 내에서 관측된 강한 동반상승효과로 간주된다. HSA 스코어 (0보다 큼)는 해당 농도에서 단일 제제 반응의 최대값보다 큰 조합효과를 시사한다.

[0028] "회전타원체"는 생물학적 세포가 그것의 주변 환경과 함께 모든 3차원으로 성장하거나 상호작용하는 인공환경에서 3-차원 (3D) 세포배양으로서 당해 기술분야에서 공지된 그대로의 세포배양을 지칭한다. 2D 환경, 예를 들어 페트리 접시와 달리, 3D 세포 배양은 시험관내 세포가 이들이 생체내에서 성장하는 방식에 유사하게 모든 방향에서 성장할 수 있게 한다. 인공 환경은 특정 영양소와 세포 성장을 가능하게하는 다른 요소를 제공하는 배지를 함유한다. 본 명세서에 기재된 배지는 신속한 세포배양을 위한 환경을 제공한다. 용어 "신속한"은 비교 배지에서 동일한 세포 팽창에 필요한 기간보다 짧은 기간을 지칭한다.

[0029] 용어 "접촉하다" 또는 "접촉하는"은 활성제가 효소 또는 생존 경로 표적에 충분히 근접하여 있을 수 있게 하여 활성제가 표적의 활성에 결합하고, 저해하거나 약화 또는 감소시킬 수 있도록 하는 것을 의미한다.

[0030] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "포유동물"은 인간뿐만 아니라 모든 다른 포유류 동물을 지칭한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "포유동물"은 "대상체" 또는 "환자"를 포함하고 온혈 동물을 지칭한다. 기니아 피그, 개, 고양이, 랫트, 마우스, 말, 염소, 소, 양, 동물원 동물, 가축, 영장류, 및 인간은 본 용어의 의미하는 범위 내의 동물의 모든 예이다는 것을 이해해야 한다.

[0031] 본 명세서에서 사용된 바와 같이 "이를 필요로 하는 포유동물"은 치료하고자 하는 특정 병태, 예를 들어, 체장암 또는 특이적 유형의 체장암을 앓고 있는 것으로 진단된 대상체이다.

[0032] 용어들 "치료한다" 및 "치료"는 대상체가 암의 발달 또는 전이와 같은 바람직하지 않은 생리학적 변화 또는 장애를 예방 또는 완화 (감소)되도록 하는 치료적 처치 및 예방적 또는 방지적 방안을 모두 의미한다. 본 개시내용의 목적을 위해, 유익한 또는 바람직한 임상결과는, 비제한적으로, 증상의 경감, 질환 정도의 감소, 질병 상태의 안정화 (즉, 악화시키지 않음), 질환 진행의 지연 또는 감속, 질환 상태의 완화 또는 일시적 처방, (부분적이든 또는 전체적이든 관계없이) 차도를 포함하고, 검출가능한지 또는 검출 불가능한지 무관하다. "치료"는 또한 치료를 받지 않을 경우 예상되는 생존과 비교하여 생존기간을 연장하는 것을 의미할 수 있다. 치료를 요하-

는 이들은 이미 그 병태 또는 장애가 있는 이들뿐만 아니라 그 병태 또는 장애가 있는 경향이 있는 이들 또는 그 병태 또는 장애가 예방되어야 하는 이들을 포함한다.

[0033] 본 명세서에서 "억제제"라는 단어의 사용은 표적 효소의 활성을 저해하는 분자를 의미하는 것으로 의도된다. 본 명세서에서 "억제하다"는 억제제의 부재하에 그 효소의 활성과 비교하여 표적 효소의 활성을 감소시키는 것을 의미한다. 일부 구현예에서, 용어 "억제하다"는 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 95%의 암세포의 특정 생존 경로의 감소 또는 MEK 활성에서의 감소를 의미한다. 다른 구현예에서, 억제는 약 5% 내지 약 25%, 약 25% 내지 약 50%, 약 50% 내지 약 75%, 또는 약 75% 내지 100%의 활성의 감소를 의미한다. 일부 구현예에서, 억제는 약 95% 내지 100%의 활성의 감소, 예를 들어, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 활성에서의 감소를 의미한다. 그와 같은 감소는 시험관내 키나제 검정을 포함하여, 당해 분야의 숙련가에 의해 인식가능한 다양한 기술을 사용하여 측정될 수 있다.

[0034] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "MEK 억제제"는 MEK (MEK1 및/또는 MEK2)의 생물학적 활성 중 하나 이상을 감소, 억제 또는 그렇지 않으면 약화시키는 분자이다. 활성은 예를 들어, 적절한 대조군에 비교하여 MEK의 활성의 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 95% 또는 100%의 감소를 포함하는, 통계적으로 상당한 양만큼의 감소일 수 있다.

[0035] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "다중-키나제 억제제"는 PDGFR α , S6 및 STAT3의 생물학적 활성을 감소, 억제 또는 그렇지 않으면 약화시키는 분자이다. 적합한 다중-키나제 억제제는 각각의 이들 3개의 표적에 대해 활성을 나타내고, 추가의 표적에 대해서 활성을 가질 수 있다. 예를 들어, 구현예들에서, 다중-키나제 억제제는 추가로 췌장 종양과 관련된 종양 관련된 대식세포에 작용한다. MEK 억제제와 병용할 때 각각의 이들 표적에 작용하는 다중-키나제 억제제의 능력은 췌장암에 대한 탁월한 효능을 제공한다. 활성은, 예를 들어, 적절한 대조군에 비교하여 표적의 활성의 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 95% 또는 100%의 감소를 포함하는, 통계적으로 상당한 양만큼의 감소일 수 있다.

[0036] 현재 개시된 화합물은 특이적 억제제일 수 있거나 또는 아닐 수 있다. "특이적 억제제"는 관련없는 표적의 것보다 더 큰 정의된 표적의 활성을 감소, 억제 또는 그렇지 않으면 약화시키는 제제인 것으로 의도된다. 예를 들어, MEK 특이적 길항제는 임의의 다른 단백질에 대한 길항제 (예를 들어, 다른 세린/트레오닌 키나제)의 억제성 효과보다 통계적으로 더 큰 양만큼 적어도 하나의 MEK의 생물학적 활성을 감소시킨다. 일부 구현예에서, 표적에 대한 길항제의 IC₅₀은 비-표적에 대한 길항제의 IC₅₀의 약 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 5%, 1%, 0.1%, 0.01%, 0.001% 또는 그 미만이다. 특이적 MEK 억제제는 임의의 다른 단백질에 대한 길항제 (예를 들어, 다른 세린/트레오닌 키나제)의 억제성 효과보다 통계적으로 더 큰 양만큼 적어도 하나의 MEK의 패밀리 일원의 생물학적 활성을 감소시킨다. 이를 구현예들 중 일부에서, RAF에 대한 MEK 억제제의 IC₅₀은 또 다른 세린/트레오닌 키나제, 다른 MEK 패밀리 일원 또는 다른 유형의 키나제 (예를 들어, 티로신 키나제)에 대한 MEK 억제제의 IC₅₀의 약 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 0.1%, 0.01%, 0.001% 또는 그 미만이다.

[0037] 용어 "표적화한다" 또는 "표적화하다"는 특이적 MEK 효소 또는 생존 경로와 관련된 특이적 효소에 대해 특이성으로 작용하는 활성제의 능력을 지칭한다. 활성제가 효소를 표적으로 하는 능력은 본 명세서에 기재된 바와 같은 일상적인 실험을 통해 또는 다른 공지된 방법을 사용하여 결정될 수 있다.

[0038] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "생존 경로"는 암 세포의 생존 및 증식을 촉진시키고 활성제에 내성이 되는 암 세포의 적응성 기전 또는 능력을 지칭한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 생존 경로는 PDGFR α , S6 및 STAT3과 관련된다.

[0039] 어구 "치료적 유효량"은 (i) 췌장암을 치료 또는 예방하거나, (ii) 췌장암의 하나 이상의 증상을 감쇠, 개선 또는 제거하거나, (iii) 췌장암의 하나 이상의 증상의 개시를 예방 또는 지연시키는 활성제의 양을 의미한다. 약물의 치료적 유효량은 암세포의 수를 감소시킬 수 있고; 종양 크기를 감소시킬 수 있고; 주변 기관으로 암 세포 침윤을 억제시킬 수 있고 (즉, 어느 정도까지 늦추고 바람직하게는 중단시킨다); 종양 전이를 억제시킬 수 있고 (즉, 어느 정도까지 늦추고 바람직하게는 중단시킨다); 종양성장을 어느 정도까지 억제시킬 수 있고; 및/또는 암과 관련된 증상 중 하나 이상을 어느 정도까지 완화시킬 수 있다. 약물은 현존하는 암 세포를 성장을 예방하고 및/또는 죽일 수 있는 정도로 세포증식억제성 및/또는 세포독성일 수 있다. 암 요법의 경우 효능은, 예를 들어, 질환 진행까지의 시간 (TPP)을 평가하고 반응속도 (RR)를 결정함으로써 측정될 수 있다.

[0040] 용어 "약제학적으로 허용가능한 염"은 생물학적으로 또는 다른 방식으로 바람직하지 않지 않은 염을 의미한다.

약제학적으로 허용가능한 염은 산 및 염기 부가염 모두를 포함한다. 어구 "약제학적으로 허용가능한"은 물질 또는 조성물이 제형을 포함한 다른 성분 및/또는 이들로 치료되어 지는 포유동물과 화학적 및/또는 독물학적으로 양립할 수 있어야 하는 것을 나타낸다. 본 명세서에서 사용된 바와 같은, 어구 "약제학적으로 허용가능한 염"은 분자의 약제학적으로 허용가능한 유기 또는 무기 염을 지칭한다. 예시적인 염은, 비제한적으로, 설페이트, 시트레이트, 아세테이트, 옥살레이트, 염화물, 브로마이드, 아이오다이드, 니트레이트, 바이설레이트, 포스페이트, 산성 포스페이트, 이소니코티네이트, 락테이트, 살리실레이트, 산성 시트레이트, 타르트레이트, 올레아이트, 탄네이트, 판토테네이트, 바이타르트레이트, 아스코르베이트, 석시네이트, 말레아이트, 겐티시네이트, 푸마레이트, 글루코네이트, 글루쿠로네이트, 사카레이트, 포르메이트, 벤조에이트, 글루타메이트, 메탄설포네이트, 에탄설포네이트, 벤젠설포네이트, *p*-톨루엔설포네이트, 및 파모에이트 (즉, 1,1'-메틸렌-비스-(2-하이드록시-3-나프토네이트)) 염을 포함한다. 약제학적으로 허용가능한 염은 아세테이트 이온, 석시네이트 이온 또는 다른 반대 이온과 같은 또 다른 분자의 함입을 포함할 수 있다. 반대 이온은 모화합물의 전하를 안정화시키는 임의의 유기 또는 무기 부분일 수 있다. 또한, 약제학적으로 허용가능한 염은 그것의 구조내에 1 초파의 하전된 원자를 가질 수 있다. 다수의 하전된 원자가 약제학적으로 허용가능한 염의 일부인 경우 다수의 반대 이온을 가질 수 있다. 그러므로, 약제학적으로 허용가능한 염은 하나 이상의 하전된 원자 및/또는 하나 이상의 반대 이온을 가질 수 있다. 예는, 비제한적으로, 코비메티닙 및 포나티닙 HCl의 푸마레이트 염 또는 헤미푸마레이트 염을 포함한다.

[0041]

적절한 추가의 정의가 아래에 제공되어 있다.

[0042]

II. 생체내 방법

[0043]

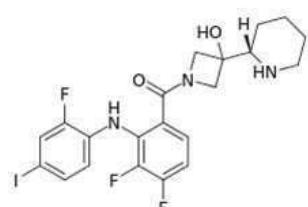
MEK 억제제와 PDGFR α , S6 및 STAT3를 표적으로 하는 다중-키나제 억제제의 현재 개시된 조합은 체장암을 치료하는데 유용하다.

[0044]

구현예에서, 그것을 필요로 하는 대상체에서 체장암을 치료하는 방법이 본 명세서에 개시되고, 상기 방법은 상기 대상체에 치료적 유효량의 활성체의 조합을 투여하는 것을 포함하고, 상기 조합은 MEK 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염과 PDGFR α , S6 및 STAT3을 표적으로 하는 다중-키나제 제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함한다. 이 구현예는 종양 관련된 대식세포의 증식을 억제하는 것을 추가로 포함할 수 있다.

[0045]

사용될 수 있는 MEK 억제제의 예는 코비메티닙, GDC-0623, 트라메티닙, 비니메티닙, 셀루메티닙, 피마세르티닙, 래파메티닙, PD-0325901 및 BI-847325, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함한다. 일 구현예에서, MEK 억제제는 코비메티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염이다. 코비메티닙은 하기 구조를 갖는다:

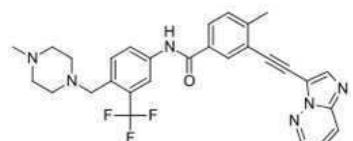


[0046]

코비메티닙은 Cotellie®으로 판매되며, 상업적 제형에서 헤미푸마레이트 염으로 발견된다.

[0047]

PDGFR α , S6 및 STAT3을 표적으로 하는 유용한 다중-키나제 제제는 포나티닙이다. 포나티닙은 하기 구조를 갖는다:



[0049]

포나티닙은 Iclusig®으로 판매되며, 상업적 제형에서 염산염으로 발견된다.

[0050]

체장암은 내분비 및 외분비 암을 포함한다. 구현예들에서, 체장암은 선암종, 샘파리세포암종, 선편평세포암종, 콜로이드암종, 파골세포-유사 거대 세포를 갖는 미분화된 암종, 간장암종, 도관내 유두상-점액성 신생물, 점액성낭포성신생물, 체장모세포종, 장액난선종, 인환세포암종, 고형 및 의사유두상종양, 체관암종, 및 미분화된 암

종으로 구성된 군으로부터 선택된다. 일 구현예에서, 췌장암은 췌장 관상선암종이다.

[0052] 구현예들에서, MEK 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염과 PDGFR α , S6 및 STAT3을 표적으로 하는 다중-키나제 억제제 또는 이들의 약제학적으로 허용가능한 염은 상승작용을 한다. 즉, 본 조합은 양 제제의 부가적 효과보다 더 큰 수준의 효능을 제공한다. 구현예들에서, 활성제 단독 중 하나 또는 둘 모두는 췌장암에 대하여 바람직한 효능을 나타내지 않는다. 코비메티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 및 포나티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 예에서, 단독제제는 어느 것도 췌장암에 효과적이지 않은 것으로 알려져 있다.

[0053] 구현예들에서, MEK 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염과 상기 다중-키나제 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염은 조합된 제형으로서 투여된다. 구현예들에서, 본 병용요법은 동시 또는 순차적인 요법으로 투여될 수 있다. 순차적으로 투여될 때, 본 조합은 2회 이상의 투여로 투여될 수 있다. 본 병용투여는 별도의 제형 또는 단일 약제학적 제형을 사용하는 동시투여 및 어떤 순서로든 연속 투여를 포함하며, 바람직하게는 양자 (또는 모든) 활성제가 동시에 그것의 생물학적 활성을 발휘하는 기간 동안 된다.

[0054] 췌장암을 치료하는 방법은 하나 이상의 표적 효소 또는 생존 경로의 활성을 감소, 억제 또는 감쇠시킨다. 췌장 종양과 관련된 종양 관련 대식세포도 또한 표적화될 수 있다. 조합의 활성을 결정하기 위해, 시험관내 키나제 검정, 인산화된 표적에 특이적인 항체를 갖는 면역블랏, 또는 활성의 하류 생물학적 효과의 측정을 포함한, MEK 활성 또는 PDGFR α , S6, STAT3 및 종양 관련 대식세포 활성화의 수준을 측정하기 위한 당해 분야에 공지된 임의의 방법이 사용될 수 있다.

[0055] 췌장암은 초기 단계 또는 후기 단계 일 수 있으며 또한 전이될 수도 있다. 본 명세서에서 기재된 조합은 전이된 암을 비롯한 임의의 단계에서의 암을 치료하기 위해 사용될 수 있다.

[0056] MEK 억제제와 PDGFR α , S6 및 STAT3을 표적으로 하는 다중-키나제 억제제 조합의 유효량으로 대상체의 치료는 단일 치료를 포함할 수고 일련의 치료를 포함할 수 있다.

[0057] 활성제의 유용한 양은 본 명세서에서 다른 곳에서 기재된 바와 같다. 특정 구현예에서, MEK 억제제는 약 5 mg 내지 약 100 mg, 또는 약 45 mg 내지 약 75 mg의 양으로 투여되고, 다중-키나제 억제제는 약 5 mg 내지 약 100 mg, 또는 약 30 mg 내지 약 60 mg의 양으로 투여된다. 구현예들에서, MEK 억제제는 약 60 mg의 양으로 투여되고, 다중-키나제 억제제는 약 45 mg의 양으로 투여된다. 구현예들에서, 병용요법의 투여는 1일 1회 경구 투여이다. 구현예들에서, 바람직하게는, MEK 억제제는 코비메티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염이고 다중-키나제 억제제는 포나티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염이다. 일부 구현예에서, 각각의 활성제는, 비제한적으로 약 0.001 μ g/kg, 0.01 μ g/kg, 0.05 μ g/kg, 0.1 μ g/kg, 0.5 μ g/kg, 1 μ g/kg, 10 μ g/kg, 25 μ g/kg, 50 μ g/kg, 100 μ g/kg, 250 μ g/kg, 500 μ g/kg, 1 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 25 mg/kg, 30 mg/kg, 40 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg, 및 200 mg/kg을 비롯하여, 약 0.001 μ g/kg 내지 약 1000 mg/kg의 용량으로 대상체에 투여된다. 투여되어 지는 복합 조성물 내에 존재하는 각각의 활성제의 양은 약 1 mg 내지 약 1000 mg, 또는 약 5 mg 내지 약 100 mg, 또는 약 10 mg 내지 약 80 mg, 또는 약 45 mg 내지 약 75 mg, 또는 약 30 mg 내지 약 60 mg일 수 있다. 활성화합물의 적절한 용량은 통상적으로 숙련된 의사 또는 수의사의 지식 내에서 수많은 인자에 의존한다는 것이 이해되어야 한다. 활성제의 용량(들)은 예를 들어, 대상체의 연령, 체중, 일반적인 건강, 성별 및 식이요법, 투여시간, 투여경로, 배설속도 및 임의의 약물 조합체에 따라 달라질 것이다. 또한, 치료에 사용되는 효과적인 투약량은 특정 치료 과정 동안 증가 또는 감소할 수 있음을 인정할 것이다. 투약량에서의 변화는 진단 검정의 결과로부터 초래될 수 있고 이로부터 분명해질 수 있다.

[0058] 일부 구현예에서, 그것을 필요로 하는 대상체에서 췌장암을 치료하는 방법이 본 명세서에 기재되고, 상기 방법은 상기 대상체에게 MEK 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염과 PDGFR α , S6 및 STAT3을 표적으로 하는 다중-키나제 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 치료적 유효량의 조합을 투여하는 것을 포함하고, 추가로 추가의 요법을 투여하는 것을 포함한다. 본 추가의 요법은 방사선 요법, 수술 (예를 들어, 유방소괴 절제술 및 유방절제), 화학요법, 유전자 요법, DNA 요법, 바이러스성 요법, RNA 요법, 면역요법, 골수이식, 나노요법, 단클론성 항체 요법, 또는 전술한 것의 조합일 수 있다. 본 추가의 요법은 아쥬반트 또는 네오아쥬반트 요법의 형태일 수 있다. 일부 구현예에서, 본 추가의 요법은 항-진이성 제제의 투여이다. 일부 구현예에서, 본 추가의 요법은 부작용 제한 제제 (예를 들어, 항-메스꺼움 제제, 등과 같이 치료의 부작용의 발생 및/또는 중증도를 줄이기 위해 의도된 제제)의 투여이다. 일부 구현예에서, 본 추가의 요법은 방사선 요법이다. 일부 구현예에서, 본 추가의 요법은 수술이다. 일부 구현예에서, 본 추가의 요법은 방사선 요법과 수술의 조합이다. 일부 구현예에서, 본 추가의 요법은 감마 조사이다.

- [0059] 일부 구현예에서, 치료는 치료의 중단 후에 상기 대상체에서 지속된 반응을 초래한다. "지속된 반응"은 치료의 중단 후 종양 성장을 감소시키는 지속적인 효과를 지칭한다. 예를 들어, 종양 크기는 투여 단계의 시작시의 크기와 비교하여 동일하거나 더 작게 유지될 수 있다. 일부 구현예에서, 지속된 반응은 치료 지속기간과 적어도 동일한 지속기간, 치료 지속기간의 적어도 1.5X, 2.0X, 2.5X 또는 3.0X 길이를 갖는다.
- [0060] 본 명세서에 개시된 치료 방법은 부분적인 또는 완전한 반응을 초래할 수 있다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "완전한 반응" 또는 "CR"은 모든 표적 병변의 소멸을 의미하고; "부분적인 반응" 또는 "PR"은 표적 병변의 가장 긴 지름 (SLD)의 합계가 기준선 SLD를 기준으로 적어도 30% 감소를 지칭하고; 그리고 "안정한 질환" 또는 "SD"는 치료를 시작한 아래 최소 SLD를 기준으로 하여 표적 병변이 PR에 대한 자격을 갖기에 충분한 수축도 아니고 PD에 대한 자격을 얻기에 충분한 증가도 아닌 것을 지칭한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "전체적인 반응 속도" (ORR)는 완전한 반응 (CR) 속도와 부분적인 반응 (PR) 속도의 합을 지칭한다.
- [0061] 본 명세서에 개시된 치료 방법은 병용 요법을 투여받는 대상체의 무진행 생존 및 전체적인 생존을 증가시킬 수 있다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "무진행 생존" (PFS)은 치료되는 질환 (예를 들어, 암)이 악화되지 않는 치료 중 및 치료 후 시간의 길이를 지칭한다. 무진행 생존은 환자가 완전한 반응 또는 부분적인 반응을 경험한 시간의 양뿐만 아니라 환자가 안정된 질병을 경험한 시간의 양을 포함할 수 있다.
- [0062] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "전체적인 생존"은 특정 지속시간 후에 살아있을 가능성이 있는 그룹 내 대상체의 백분율을 지칭한다.
- [0063] 일부 구현예에서, 본 조합이 투여되는 대상체는 포유동물, 예컨대 사육된 동물 (예를 들어, 소, 양, 고양이, 개, 및 말), 영장류 (예를 들어, 인간 및 비-인간 영장류 예컨대 원숭이), 토끼, 및 설치류 (예를 들어, 마우스 및 랫트)이다. 일부 구현예에서, 치료되는 대상체는 인간이다.
- [0064] 췌장암에 대한 치료가 필요한 대상체는 암의 증상을 나타내는 사람, 암으로 진단받은 사람, 췌장암에서 차도가 있는 대상체 또는 암 발병에 대해 증가된 위험 (예를 들어, 유전적 소인, 특정 식이 또는 환경 노출)이 있는 대상체일 수 있다.
- [0065] 본 명세서에서 기재된 많은 조합은 상승작용이 있는 것으로 결정될 것이다.
- [0066] 본 명세서에서 기재된 시험관내 방법은 상기 배양을 위한 배양 배지에 첨가하기 전에 비등된 혈청을 함유하는 배지에서 세포를 배양하는 것을 포함하는 회전타원체 세포 배양물을 제조하는 방법을 사용한다. 신속한 방식으로 3-D 회전타원체를 배양하기 위해 배지가 변형될 수 있음이 밝혀졌다. 변형된 배지는 배양되는 세포와 접촉시키기 전에 우태혈청 (FBS)을 비등함에 의해 제조된다. 구현예들에서, FBS는 95-100°C에서 10분 동안 비등되고 이 시점에서 혈청의 색이 황색으로 변한다. 비등된 FBS는 그런 다음 8000xg에서 20분 동안 원심분리되고 그리고 0.22 μ m의 필터 기공 크기를 갖는 멸균 Corning 진공 여과 장치를 통해 여과된다. 유용한 배지는 약 5% 내지 약 20% (v/v) 우태혈청을 포함한다. 회전타원체 배양용 배지는 2mM L-글루타민, 100 단위 ml⁻¹의 페니실린 및 스트렙토마이신으로 보충된 RPMI 배지에 10% (v/v)의 비등된 FBS를 부가함에 의해 제조된다. 회전타원체 배양 배지는 사용하기 전에 새롭게 준비될 필요가 있다. 비등된 FBS는 4°C에서 2-3개월 동안 저장될 수 있다. 단일층 배양용 배지는 2mM L-글루타민, 100 단위 ml⁻¹의 페니실린 및 스트렙토마이신으로 보충된 RPMI 배지에 10% (v/v)의 정상 FBS를 부가함에 의해 제조된다. 이동 검정을 위한 배지는 2mM L-글루타민, 100 단위 ml⁻¹의 페니실린 및 스트렙토마이신으로 보충된 RPMI 배지에 20% (v/v)의 정상 FBS를 부가함에 의해 제조된다.
- [0067] **III. 조합 약제학적 조성물**
- [0068] 구현예들에서, 본 명세서에서 기재된 요지는 췌장암의 예방적 또는 치료적 처치를 위한 a) MEK 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 및 b) PDGFR α , S6 및 STAT3을 표적으로 하는 다중-키나제 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 조합에 대한 것이다.
- [0069] 구현예들에서, 본 명세서에서 기재된 요지는 MEK 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염과 PDGFR α , S6 및 STAT3을 표적으로 하는 다중-키나제 제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 유효량의 조합, 및 약제학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 약제학적 조성물에 대한 것이다. 특정 구현예에서, 본 약제학적 조성물은 췌장암의 치료를 위한 것이다.
- [0070] 구현예들에서, 본 조성물은 코비메티닙, GDC-0623, 트라메티닙, 비니메티닙, 셀루메티닙, 페마세르티닙, 레파메티닙, PD-0325901 및 BI-847325, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염으로 구성된 군으로부터 선택된 MEK 억

제제를 포함한다. 일 구현예에서, 본 MEK 억제제는 코비메티닙, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염이다. 특정 구현예에서, 본 MEK 억제제는 코비메티닙 헤미푸마레이트이다.

[0071] 구현예들에서, 다중-키나제제제는 포나티닙, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염이다. 일 구현예에서, 다중-키나제 억제제는 포나티닙 하이드로클로라이드이다.

[0072] 구현예들에서, 본 조성물은 코비메티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 및 포나티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함한다. 구현예들에서, 본 조성물은 코비메티닙 헤미푸마레이트 및 포나티닙 하이드로클로라이드를 포함한다.

[0073] 조합 내에 존재하는 각각의 활성제의 양은 약 1 mg 내지 약 1000 mg, 또는 약 5 mg 내지 약 100 mg, 또는 약 10 mg 내지 약 80 mg, 또는 약 45 mg 내지 약 75 mg, 또는 약 30 mg 내지 약 60 mg일 수 있다. 구현예들에서, MEK 억제제는 약 45 mg 내지 약 75 mg의 양으로 존재하고 상기 다중-키나제 억제제는 약 30 mg 내지 약 60 mg의 양으로 존재한다.

[0074] 병용요법은 "동반상승효과"를 제공할 수 있고, 함께 사용되는 활성제가 활성제를 개별적으로 사용함으로써 발생하는 효과의 합보다 큰 경우에 달성되는 효과, 즉 "상승작용"을 입증할 수 있다. 상승작용효과는 활성제가: (1) 조합된, 단위 투약 제형으로 공동-제형화되고 투여되거나 또는 동시에 전달될 때; (2) 별개의 제형으로 교대로 또는 병렬로 전달될 때; 또는 (3) 일부 다른 레지멘에 의할 때 획득될 수 있다. 교호 요법으로 전달될 때, 상승작용효과는 활성제가, 예를 들어, 별도의 주사기에서 상이한 주사, 별개의 알약 또는 캡슐, 또는 별개의 주입에 의해, 순차적으로 투여되거나 전달될 때 달성될 수 있다. 일반적으로, 교호 요법 동안, 각각의 활성제의 효과적인 투약량은 순차적으로, 즉, 연속으로 투여되고, 반면에 병용 요법에서, 2종 이상의 활성제의 효과적인 투약량은 함께 투여된다.

[0075] MEK 억제제 및/또는 다중-키나제 억제제 각각은 또한 본 명세서에서 활성제로 언급되고, 약제학적 조성물로 표준 약제학적 관행에 따라 제형화될 수 있다. 예시적인 다중-키나제 억제제인 포나티닙은 15 mg, 30 mg 및 45 mg 강도로 경구 투여를 위한 정제로 이용가능하다. 예시적인 MEK 억제제인 코비메티닙은 20 mg 강도로 경구 투여를 위한 정제로 이용가능하다. 그러나, 이 양태에 따르면, 약제학적으로 허용가능한 부형제, 예컨대 담체 또는 희석제와 결합하여 MEK 억제제 또는 다중-키나제 억제제 또는 둘 모두를 포함하는 다른 약제학적 조성물이 제공된다.

[0076] 전형적인 제형은 활성제 및 하나 이상의 부형제를 혼합함에 의해 제조된다. 적합한 부형제는 당해 분야의 숙련가에게 잘 알려져 있고, 탄수화물, 왁스, 수용성 및/또는 팽윤성 중합체, 친수성 또는 소수성 물질, 젤라틴, 오일, 용매, 물 및 기타 동종의 것과 같은 물질을 포함한다. 사용되는 특정한 부형제는 활성제가 적용되는 수단 및 목적에 따라 달라질 것이다. 용매는 일반적으로 포유동물에게 투여되는 안전한 (GRAS) 것으로서 당해 분야의 숙련가에 의해 인식되는 용매에 기초하여 선택된다. 일반적으로, 안전한 용매는 무독성 수성 용매 예컨대 물 및 물에 가용성 또는 혼화성이 다른 무독성 용매이다. 적합한 수성 용매는 물, 에탄올, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 (예를 들어, PEG 400, PEG 300), 등과 이들의 혼합물을 포함한다. 제형은 또한 하나 이상의 완충액, 안정화제, 계면활성제, 습윤제, 유행제, 유화제, 혼탁화제, 보존제, 산화방지제, 불투명제, 활택제, 가공조제, 착색제, 감미제, 방향제, 풍미제 및 의약품 (즉, 약제)의 제조에 활성제 또는 보조제의 품격있는 제시를 제공하기 위한 다른 공지된 첨가제를 포함할 수 있다.

[0077] 제형은 통상적인 용해 및 혼합 절차를 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 벌크단위 약물 물질 (즉, 활성제 또는 활성제의 안정화된 형태 (예를 들어, 사이클로덱스트린 유도체 또는 다른 공지된 착화제와 복합체)은 상기에 기재된 하나 이상의 부형제의 존재에서 적합한 용매에 용해된다. 활성제는 전형적으로 약물의 용이하게 조절 가능한 투약량을 제공하고 환자가 처방된 요법을 따를 수 있도록 하기 위한 약제학적 투약 형태로 제형화된다.

[0078] 적용을 위한 약제학적 조성물 (또는 제형)은 약물을 투여하기 위해 사용되는 방법에 따라 다양한 방식으로 포장될 수 있다. 일반적으로, 분배용 제품은 적절한 형태로 약제학적 제형이 그 내부에 침착된 용기를 포함한다. 적합한 용기는 당해 분야의 숙련가에게 잘 알려져 있으며, 병 (플라스틱 및 유리), 샤프트, 앰풀, 비닐봉지, 금속 실린더, 및 기타 동종의 것과 같은 물질을 포함한다. 또한 용기는 포장 내용물에 대한 무분별한 접근을 막기 위해 쉽게 조작할 수 없는 조립체를 포함할 수 있다. 또한, 용기는 그 위에 용기의 내용물을 기술하는 표지를 부착하였다. 표지는 또한 적절한 경고를 포함할 수 있다. 일 구현예에서, 용기는 블리스터팩이다.

[0079] 약제학적 제형은 다양한 경로 및 유형의 투여를 위해 제조될 수 있다. 예를 들어, 원하는 정도의 순도를 갖는 활성제는 약제학적으로 허용가능한 부형제 (*Remington's Pharmaceutical Sciences* (1980) 16th edition, Ossol,

A. Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA)와 동결건조된 제형, 분쇄된 분말 또는 수용액의 형태로 선택적으로 혼합될 수 있다. 제형화는 주위 온도에서 적당한 pH에서, 그리고 원하는 정도의 순도에서 생리적으로 허용가능한 캐리어, 즉 이용된 투약량 및 농도에서 수령자에게 무독성인 캐리어와 혼합함으로써 수행될 수 있다. 제형의 pH는 주로 화합물의 특정 용도 및 농도에 의존하지만, 약 3 내지 약 8의 범위일 수 있다. pH 5에서 아세테이트 완충액에서 제형화는 적합한 구현예이다.

[0080] 활성제는 멸균일 수 있다. 특히, 생체내 투여에 사용되는 제형은 멸균이어야 한다. 이러한 멸균은 멸균 여과막을 통한 여과에 의해 용이하게 달성된다.

[0081] 활성제는 통상적으로 고체 조성물, 동결 건조된 제형 또는 수용액으로서 저장될 수 있다.

[0082] 활성제를 포함하는 약제학적 조성물은 양호한 의료적 실행과 일치하는 방식, 즉 양, 농도, 스케줄, 코스, 비히클 및 투여 경로로 제형화되고, 투약되고 투여될 수 있다. 이 문맥에서 고려해야 할 인자는 치료되는 특정한 질환, 치료되는 특정한 포유동물, 개별 환자의 임상 상태, 장애의 원인, 제제의 전달 부위, 투여 방법, 투여의 스케줄링, 그리고 의료 종사자들에게 알려진 다른 인자들을 포함한다. 투여되는 화합물의 "치료적 유효량"은 이러한 고려사항들에 의해 규율될 것이다. 허용가능한 부형제는 이용된 투약량 및 농도에서 수령체에게 비독성이고 완충액 예컨대 포스페이트, 시트레이트 및 다른 유기산; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함한 산화방지제; 보존제 (예컨대 옥타데실디메틸벤질 암모늄 염화물; 핵사메토늄 염화물; 벤즈알코늄 염화물, 벤즈에토늄 염화물; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 사이클로헥산올; 3-펜타놀; 및 m-크레졸); 저분자량 (약 10 잔기 미만) 폴리펩타이드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린; 친수성 중합체 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌, 또는 라이신; 글루코스, 만노스, 또는 텍스트린을 비롯한 단당류, 이당류 및 다른 탄수화물; 킬레이트제 예컨대 EDTA; 당류 예컨대 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염형성 반대 이온 예컨대 나트륨; 금속착물 (예를 들어, Zn-단백질 복합체); 및/또는 비-이온성 계면활성제 예컨대 폴리소르베이트 (예를 들어, TWEEN™), 폴록사며 (예를 들어, PLURONICS™) 또는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)를 포함할 수 있다. 활성제는 또한 예를 들어, 코아세르베이션 기술에 의하거나 또는 계면중합에 의해, 예를 들어, 각각 콜로이드성 약물 전달 시스템 (예를 들어, 리포좀, 알부민 마이크로구형체, 마이크로에멀션, 나노-입자 및 나노캡슐) 또는 매크로에멀션에, 하이드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타실레이트) 마이크로캡슐로 제조된 마이크로캡슐에 포획될 수 있다. 이러한 기술은 아래에서 개시되어 있다: *Remington's Pharmaceutical Sciences*.

[0083] 활성제의 지속-방출 제제가 제조될 수 있다. 지속-방출 제제의 적합한 예는 활성제를 함유하는 고체 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스를 포함하며, 매트릭스는 형상화된 물품, 예를 들어, 필름 또는 마이크로캡슐의 형태이다. 지속-방출 매트릭스의 예는 폴리에스테르, 하이드로겔 (예를 들어, 폴리(2-하이드록시에틸-메타크릴레이트), 또는 폴리(비닐알코올)), 폴리락타이드 (US 3773919), L-글루탐산과 감마-에틸-L-글루타메이트의 공중합체, 비-분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해성 락트산-글라이콜산 공중합체 예컨대 락트산-글라이콜산 공중합체와 류프롤라이드 아세테이트 (LUPRON DEPOT™) 및 폴리-D-(-)-3-하이드록시부티르산으로 구성된 주사 가능한 마이크로구형체를 포함한다.

[0084] 제형은 본 명세서에서 상세한 투여 경로에 적합한 것을 포함한다. 제형은 단위 투약 형태로 편리하게 제공될 수 있고, 약학분야에 잘 알려진 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 기술 및 제형은 일반적으로 *Remington's Pharmaceutical Sciences*에서 찾아볼 수 있다. 그와 같은 방법은 활성제를 하나 이상의 보조 성분을 구성하는 담체와 회합시키는 단계를 포함한다. 일반적으로, 제형은 활성제(들)를 액체 담체 또는 미세하게 분쇄된 고체 담체 또는 둘 모두와 균일하게 그리고 친밀하게 회합시키고 그 다음, 필요하다면 생성물을 성형함으로써 제조된다.

[0085] 경구 투여에 적합한 활성제의 제형은 사전결정된 양의 활성제를 각각 함유하는 알약, 캡슐, 카세 또는 정제와 같은 개별 단위로 제조될 수 있다.

[0086] 압축 정제는, 선택적으로 결합제, 윤활제, 불활성 희석제, 방부제, 표면 활성제 또는 분산제와 혼합된, 분말 또는 과립과 같은 자유-유동 형태인 활성제를 적합한 기계에서 압축함에 의해 제조될 수 있다. 성형된 정제는 적합한 기계에서 불활성 액체 희석제로 습윤화된 분말화된 활성제의 혼합물을 성형함으로써 제조될 수 있다. 정제는 선택적으로 코팅되거나 채점될 수 있으며, 선택적으로 이들로부터 활성제의 느리거나 제어된 방출을 제공하도록 제형화된다.

[0087]

정제, 트로키, 로젠지, 수성 또는 오일 서스펜션, 분산성 분말 또는 과립, 에멀션, 경질 또는 연질 캡슐, 예를 들어, 젤라틴 캡슐, 시럽 또는 엘리시르가 경구용으로 제조될 수 있다. 경구 사용을 위해 의도된 활성제의 제형은 약제학적 조성물의 제조를 위해 당업계에 공지된 임의의 방법에 따라 제조될 수 있으며, 이러한 조성물은 입에 맞는 조제품을 제공하기 위해 감미제, 풍미제, 착색제 및 보존제를 포함하는 하나 이상의 제제를 함유할 수 있다. 정제의 제조에 적합한 무독성 약제학적으로 허용가능한 부형제와 혼합하여 활성제를 함유하는 정제가 허용가능하다. 이들 부형제는, 예를 들어, 불활성 희석제, 예컨대 탄산칼슘 또는 탄산나트륨, 락토스, 인산칼슘 또는 인산나트륨; 과립화제 및 봉해제, 예컨대 옥수수 전분, 또는 알긴산; 결합제, 예컨대 전분, 젤라틴 또는 아카시아; 및 윤활제, 예컨대 스테아르산 마그네슘, 스테아르산 또는 탈크일 수 있다. 정제는 코팅되지 않거나 위장관에서의 붕해 및 흡착을 지연시켜 장기간에 걸쳐 지속된 작용을 제공하기 위해 미세캡슐화를 포함하는 공지된 기술에 의해 코팅될 수 있다. 예를 들어, 시간 지연 물질 예컨대 글리세릴 모노스테아레이트 또는 글리세릴 디스테아레이트가 단독으로 또는 왁스와 함께 이용될 수 있다.

[0088]

활성제의 수성 혼탁액은 수성 혼탁액의 제조에 적합한 부형제와 혼합된 제제를 함유한다. 이러한 부형제는 혼탁화제, 예컨대 나트륨 카복시메틸셀룰로스, 크로스카르멜로스, 포비돈, 메틸셀룰로스, 하이드록시프로필 메틸셀룰로스, 나트륨 알기네이트, 폴리비닐파롤리돈, 트라가칸쓰검 및 아카시아검, 및 분산제 또는 습윤제 예컨대 자연 발생 포스파타이드 (예를 들어, 레시틴), 지방산과 알킬렌 옥사이드의 축합 생성물 (예를 들어, 폴리옥시에틸렌 스테아레이트), 장쇄 지방족 알코올과 에틸렌 옥사이드의 축합 생성물 (예를 들어, 헵타데카에틸렌옥시세탄올), 지방산 및 헥시톨 무수물로부터 유래된 부분적 에스테르와 에틸렌 옥사이드의 축합 생성물 (예를 들어, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레이트)을 포함한다. 수성 혼탁액은 또한 하나 이상의 보존제 예컨대 에틸 또는 n-프로필 p-하이드록시벤조에이트, 하나 이상의 착색제, 하나 이상의 풍미제 및 하나 이상의 감미제, 예컨대 수크로스 또는 사카린을 함유할 수 있다.

[0089]

활성제(들)의 약제학적 조성물은 멸균 주사가능 제제, 예컨대 멸균 주사가능 수성 또는 지질생산성 혼탁액의 형태일 수 있다. 이 혼탁액은 상기 언급한 적합한 분산제 또는 습윤제 및 혼탁화제를 사용하여 공지된 기술에 따라 제형화될 수 있다. 멸균 주사가능 제제는 또한 1,3-부탄디올과 같은 무독성 비경구로 허용가능한 희석제 또는 용매에서 멸균 주사가능 용액 또는 혼탁액일 수 있다. 멸균 주사가능 제제는 또한 동결건조된 분말로 제조될 수 있다. 이용될 수 있는 허용가능한 비히클 및 용매 중에는 물, 림거액 및 등장성 염화나트륨 용액이 있다. 또한, 멸균 고정유가 용매 또는 분산매로서 통상적으로 이용될 수 있다. 이러한 목적을 위해 합성 모노- 또는 디글리세라이드를 비롯한 임의의 무자극 고정유가 이용될 수 있다. 또한, 지방산 예컨대 올레산이 마찬가지로 주사제의 제조에 사용될 수 있다.

[0090]

단일 투약 형태를 제조하기 위해 담체 물질과 조합될 수 있는 활성제의 양은 치료되는 숙주 및 특정한 투여 방식에 따라 달라질 것이다. 예를 들어, 인간에 경구 투여를 위해 의도된 적기 방출 제형은 총 조성물의 약 5 내지 약 95% (중량:중량)로 변화할 수 있는 적절하고 편리한 양의 담체 물질로 배합된 대략 약 1 내지 1000 mg의 활성제를 함유할 수 있다. 약제학적 조성물은 투여를 위해 쉽게 측정할 수 있는 양을 제공하도록 제조될 수 있다. 예를 들어, 정맥내 주입을 위한 수용액은 약 30 mL/hr의 속도로 적합한 용적의 주입이 발생할 수 있도록 용액의 밀리리터 당 약 3 내지 500 μg 의 활성제를 함유할 수 있다.

[0091]

비경구 투여를 위해 적합한 제형은 산화방지제, 완충액, 정균제 및 제형을 의도된 수령체의 혈액과 등장성으로 만드는 용질을 함유할 수 있는 수성 및 비-수성 멸균 주사 용액; 및 혼탁화제 및 증점제를 포함할 수 있는 수성 및 비-수성 멸균 혼탁액을 포함한다.

[0092]

직장투여를 위한 제형은 예를 들어 코코아 버터 또는 살리실레이트를 포함하는 적합한 염기를 갖는 좌약으로서 제공될 수 있다.

[0093]

폐내 또는 비강 투여를 위해 적합한 제형은 예를 들어 0.1 내지 500 마이크론의 범위 (0.5, 1, 30 마이크론, 35 마이크론, 등과 같은 마이크론 중분으로 0.1 내지 500 마이크론 사이의 범위인 입자 크기를 포함함)인 입자 크기를 갖고, 이는 비강을 통한 급속 흡입 또는 구강을 통한 흡입에 의해 폐포낭에 도달하도록 투여된다. 적합한 제형은 활성제의 수성 또는 유성 용액을 포함한다. 에어로졸 또는 건조 분말 투여에 적합한 제형은 통상적인 방법에 따라 제조될 수 있으며, 하기에 기술된 바와 같은 장애를 치료 또는 예방함에 지금까지 사용된 화합물과 같은 다른 치료제와 함께 전달될 수 있다.

[0094]

질 투여를 위해 적합한 제형은 활성제 이외에 당해 기술에서 적절한 것으로 알려진 그러한 담체를 함유하는 폐서리, 탐폰, 크림, 젤, 페이스트, 포옴 또는 스프레이 제형으로 제공될 수 있다.

[0095] 제형은 단위-용량 또는 다중-용량 용기, 예를 들어 밀봉된 앰플 및 바이알로 포장될 수 있으며, 멸균 액체 담체, 예를 들어 사용 직전 주사를 위해 물의 첨가만을 필요로 하는 냉동건조된 (동결건조된) 상태로 저장될 수 있다. 즉석 주사 용액 및 혼탁액은 전술한 종류의 멸균 분말, 과립 및 정제로부터 제조된다. 바람직한 단위 투약 제형은 상기 본 명세서에서 인용된 바와 같은, 활성제의 1일 용량 또는 단위 매일 하위-용량 또는 이들의 적절한 분획을 함유하는 것이다.

[0096] 본 요지는 수의과 담체와 함께 상기 정의된 바와 같은 적어도 하나의 활성제를 포함하는 수의과 조성물을 따라서 추가로 제공한다. 수의과 담체는 조성물을 투여하는 목적에 대해 유용한 물질이며, 그렇지 않으면 수의과 기술분야에서 불활성이거나 허용가능하고 활성제(들)와 상용성인 고체, 액체 또는 기체성 물질일 수 있다. 이들 수의과 조성물은 비경구로, 경구로 또는 임의의 다른 바람직한 경로로 투여될 수 있다.

IV. 제조 물품

[0098] 또 다른 양태에서, 제조 물품, 예를 들어, 췌장암의 치료에 유용한 물질을 함유하는 "키트"가 본 명세서에 기재된다. 본 키트는 췌장암의 치료를 위해, MEK 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 및 PDGFR α , S6 및 STAT3을 표적으로 하는 다중-키나제 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 조합을 포함하는 용기를 포함한다. 본 키트는 용기 상에 또는 용기와 결합된 표지 또는 포장 삽입물을 추가로 포함할 수 있다. 용어 "포장 삽입물"은 이러한 치료제품의 사용과 관련된 정후, 용법, 복용량, 투여, 사용 금지 사유 및/또는 경고에 관한 정보를 함유하는 치료제품의 상업적 패키지에 통상적으로 포함된 지침을 지칭하기 위해 사용된다. 적합한 용기는 예를 들어, 병, 바이알, 주사기, 블리스터 팩 등을 포함한다. 용기는 유리 또는 플라스틱과 같은 다양한 재료로 형성될 수 있다. 상기 용기는 병태를 치료하는데 효과적인 MEK 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 및 다중-키나제 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 또는 이들의 제형의 조합을 보유할 수 있으며, 멸균 접근 포트를 가질 수 있다 (예를 들어, 상기 용기는 피하 주사 바늘에 의해 관통할 수 있는 마개를 갖는 정맥내 용액 백 또는 바이알일 수 있다). 표지 또는 포장 삽입물은 조성물이 췌장암을 치료하는데 사용됨을 나타낸다. 대안적으로 또는 부가적으로, 제조물들은 주사용 정균물 (BWFI), 인산완충 식염수, 링거액 및 텍스트로스 용액과 같은 약제학적으로 허용가능한 완충액을 포함하는 제2 용기를 추가로 포함할 수 있다. 그것은 다른 완충제, 희석제, 필터, 바늘 및 주사기를 포함하여 상업적 및 사용자 관점에서 바람직한 다른 물질을 추가로 포함할 수 있다.

[0099] 본 키트는 MEK 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 및 별도로 제형화되는 경우, 다중-키나제 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 제형을 투여하기 위한 지침을 추가로 포함할 수 있다. 예를 들어, 만일 본 키트가 MEK 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함하는 제1 조성물, 및 다중-키나제 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함하는 제2 약제학적 제형을 포함하는 경우, 본 키트는 제1 및 제2 약제학적 조성물을 그것이 필요한 환자에게 동시, 순차적 또는 별개의 투여를 위한 지침을 추가로 포함할 수 있다.

[0100] 또 다른 구현예에서, 본 키트는 MEK 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염과 다중-키나제 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 조합의 고체 경구 형태의 전달에 적합하다. 그와 같은 키트는 바람직하게는 수많은 단위 투약량을 포함한다. 이러한 키트는 그것의 의도된 사용 순서로 배향된 투여량을 갖는 카드를 포함할 수 있다. 그러한 키트의 예는 "블리스터 팩"이다. 블리스터 팩은 포장 산업에서 잘 알려져 있으며 약제학적 단위 투약 형태를 포장하는데 널리 사용되고 있다. 요망하는 경우, 예를 들어 숫자, 문자 또는 다른 표식의 형태로, 또는 일정 삽입물과 함께 투여량을 투여할 수 있는 치료 계획의 일을 지정하는 기억 지원을 제공할 수 있다.

[0101] 일 구현예에 따르면, 키트는 (a) 그 안에 함유된 MEK 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 갖는 제1 용기; 및 선택적으로 (b) 그 안에 함유된 다중-키나제 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 제형을 갖는 제2 용기를 포함할 수 있다. 대안적으로, 또는 추가로, 본 키트는 주사를 위한 정균물 (BWFI), 인산완충 식염수, 링거액 및 텍스트로스 용액과 같은 약학적으로 허용가능한 완충액을 포함하는 제3 용기를 추가로 포함할 수 있다. 그것은 다른 완충제, 희석제, 필터, 바늘 및 주사기를 포함하여 상업적 및 사용자 관점에서 바람직한 다른 물질을 추가로 포함할 수 있다.

[0102] 키트가 MEK 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 및 다중-키나제 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 조성물을 포함하는 특정한 다른 구현예에서, 키트는 분할된 병 또는 분할된 호일 패킷과 같은 별개의 조성물을 함유하기 위한 용기를 포함할 수 있지만, 별개의 조성물은 또한 단일의 분할되지 않은 용기 내에 함유될 수 있다. 전형적으로, 키트는 별개의 성분의 투여에 대한 지침을 포함한다. 키트 형태는 별개의 성분이

바람직하게는 상이한 투약 형태 (예를 들어, 경구 및 비경구)로 투여되거나, 상이한 투약 간격으로 투여될 때, 또는 조합의 개별 성분의 적정이 처방의사에 의해 요구될 때 특히 유리하다.

[0103] 또 다른 구현예에서, 본 명세서에서 기재된 요지는 사전-비등된, 즉 배양 배지에서 사용하기 전에 일정시간 동안 비등된 혈청을 사용하는 배지에 대한 것이다. 본 배지는 끓지 않은 정상 혈청을 사용하는 배지와 비교할 때 회전타원체의 빠른 형성을 제공한다. 구현예들에서, 세포를 배양하기 위한 배지는 약 10%의 비등된 우태혈청을 포함하며, 상기 혈청은 배양 배지에 첨가하기 전에 95-100°C에서 10분 동안 비등되었다.

[0104] 본 명세서에서 기재된 요지는 하기 특정 구현예를 포함한다:

[0105] 1. 그것을 필요로 하는 대상체에서, 유효량의 활성체의 조합을 상기 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 체장암을 치료하는 방법으로서, 상기 조합은 MEK 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 및 PDGFR α , S6 및 STAT3을 표적으로 하는 다중-키나제 제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함한다.

[0106] 2. 구현예 1의 방법으로, 상기 MEK 억제제는 코비메티닙, GDC-0623, 트라메티닙, 비니메티닙, 셀루메티닙, 피마세르티닙, 레파메티닙, PD-0325901 및 BI-847325, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염으로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0107] 3. 임의의 상기 구현예의 방법으로, 상기 MEK 억제제는 코비메티닙, 및 트라메티닙, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염으로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0108] 4. 임의의 상기 구현예의 방법으로, 상기 MEK 억제제는 코비메티닙, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염이다.

[0109] 5. 임의의 상기 구현예의 방법으로, 상기 다중-키나제제제는 포나티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염이다.

[0110] 6. 임의의 상기 구현예의 방법으로, 상기 체장암은 내분비이다.

[0111] 7. 임의의 상기 구현예의 방법으로, 상기 체장암은 외분비이다.

[0112] 8. 임의의 상기 구현예의 방법으로, 상기 체장암은 선암종, 샘파리세포암종, 선편평세포암종, 콜로이드암종, 파골세포-유사 거대 세포를 갖는 미분화된 암종, 간장암종, 도관내 유두상-점액성 신생물, 점액성낭포성신생물, 체장모세포종, 장액난선종, 인환세포암종, 고형 및 의사유두상종양, 체관암종, 및 미분화된 암종이다.

[0113] 9. 임의의 상기 구현예의 방법으로, 상기 체장암은 관상 선암종이다.

[0114] 10. 임의의 상기 구현예의 방법으로, 상기 조합은 상승작용이다.

[0115] 11. 임의의 상기 구현예의 방법으로, 상기 활성제는 순차적으로 투여된다.

[0116] 12. 임의의 상기 구현예의 방법으로, 상기 활성제는 동시에 투여된다.

[0117] 13. 임의의 상기 구현예의 방법으로, 상기 MEK 억제제 및 상기 다중-키나제 억제제는 조합된 제형으로 투여된다.

[0118] 14. 임의의 상기 구현예의 방법으로, 상기 MEK 억제제는 약 45 mg 내지 약 75 mg의 양으로 투여되고 상기 다중-키나제 억제제는 약 30 mg 내지 약 60 mg의 양으로 투여된다.

[0119] 15. 임의의 상기 구현예의 방법으로, 상기 양은 1일 1회 투여된다.

[0120] 16. 임의의 상기 구현예의 방법으로, 상기 MEK 억제제는 코비메티닙, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 예컨대 코비메티닙 헤미푸마레이트이고, 상기 다중-키나제 억제제는 포나티닙, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 예컨대 포나티닙 HCl이다.

[0121] 17. 체장암의 예방적 또는 치료적 처치를 위한 a) MEK 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 및 b) PDGFR α , S6 및 STAT3을 표적으로 하는 다중-키나제 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 조합.

[0122] 18. MEK 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염과, PDGFR α , S6 및 STAT3을 표적으로 하는 다중-키나제 제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 및 약제학적으로 허용가능한 부형제의 조합의 유효량을 포함하는 약제학적 조성물로서, 상기 조성물은 체장암의 치료를 위한 것인, 약제학적 조성물.

[0123] 19. 임의의 상기 구현예의 조성물로, 상기 MEK 억제제는 코비메티닙, GDC-0623, 트라메티닙, 비니메티닙, 셀루

메티닙, 피마세르티닙, 레파메티닙, PD-0325901 및 BI-847325, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염으로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0124] 20. 임의의 상기 구현예의 조성물로, 상기 MEK 억제제는 코비메티닙, 및 트라메티닙, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염으로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0125] 21. 임의의 상기 구현예의 조성물로, 상기 MEK 억제제는 코비메티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염이다.

[0126] 22. 임의의 상기 구현예의 조성물로, 상기다중-키나제제제는 포나티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염이다.

[0127] 23. 코비메티닙, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 및 포나티닙, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 임의의 상기 구현예의 조성물.

[0128] 24. 임의의 상기 구현예의 조성물로, 상기 MEK 억제제, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염은 약 45 mg 내지 약 75 mg의 양으로 존재하고, 상기 다중-키나제 억제제, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염은 약 30 mg 내지 약 60 mg의 양으로 존재한다.

[0129] 25. MEK 억제제, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염과, PDGFR α , S6 및 STAT3을 표적으로 하는 다중-키나제 제제, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 용기, 및 포장 삽입물 또는 표지를 포함하는 키트.

[0130] 하기 실시예는 예시로서 제공되는 것이지 한정하기 위한 것은 아니다.

[0131] 실시예

[0132] 물질 및 방법

[0133] 세포주 및 시약:

[0134] 모든 세포주는 DSMZ으로부터의 것인 PA-TU-8988T 세포와 JCRB로부터의 것인 SUIT-2 세포를 제외하고는 ATCC에서 유래되었다. Genentech 세포주 핵심 시설에 모든 세포주를 백킹하여 SNP 및 STR 분석을 일상적으로 수행하여 세포주 동일성을 확인했다. 모든 세포주는 10% FBS, 2mM L-글루타민, 100 단위 mL^{-1} 의 폐니실린 및 스트렙토마이신이 보충된 RPMI 배지 (Gibco)에서 일상적으로 배양되었다. 라파마이신 및 포나티닙은 Selleckchem으로부터의 것이고, 크레놀라닙은 Arog Pharmaceuticals로부터의 것이고, 코비메티닙, GDC-0941 및 GDC-0980은 Genentech에서 합성되었다. 인간 포스포-키나제 어레이 키트는 R&D Systems (ARY003B)으로부터의 것이고, Cignal-45-Pathway 리포터 어레이는 Qiagen (CCA-901L)으로부터의 것이고, 인간 티로신 키나제 RT² 프로파일러 PCR 어레이는 Qiagen (PAHS-161Z)으로부터의 것이고, MDSC 단리 키트는 Miltenyi Biotec으로부터의 것이다. 이를 키트로의 모든 검정은 제조업체의 지침에 따라 수행되었다.

[0135] 웨스턴 블랏팅 및 세포 생존력 검정:

[0136] 세포를 10cm 접시에 심딩하고 24시간 동안 1 μM 의 소분자 억제제로 처리하였다. 세포용해물을 프로테아제 억제제 각테일 (Thermo Scientific)을 함유하는 RIPA 세포용해 완충액 (Thermo Scientific)에서 제조하고, SDS-PAGE를 수행하고 단백질을 니트로셀룰로오스 막으로 옮겼다. 면역블로팅은 표준방법을 사용하여 수행되었다. 단백질 랜드는 ImageJ 소프트웨어를 사용하여 정량화되었다. 1차 항체: p-Erk, p-STAT3, p-S6, 총-S6, p-PDGFR α , p-PDGFR β , p-RSK3, 절단된 PARP, Bcl-xL, Mc1, 서바이빈, Rab11, p-Akt, β -액틴, GAPDH (세포 신호전달), 총-STAT3, 총-PDGFR α (Santa Cruz Biotechnology), p-EphA7 (Gene Tex) 및 p-EphA2/3, EphA2/5 (MyBiosource).

[0137] 세포 생존력 검정은 72시간 동안 다양한 약리적 억제제의 용량 적정 (0.001 내지 10 μM) 또는 고정 용량 (1 μM)으로 세포를 처리하고 CellTiter Glo (Promega)를 사용하여 생존력을 측정함에 의해 수행되었다. 블리스 접수는 이전에 설명한 대로 계산되었다. (문헌 [Borisy AA, Elliott PJ, Hurst NW, Lee MS, Lehar J, Price ER, Systematic discovery of multicomponent therapeutics, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003;100(13):7977-82, Epub 2003/06/12]).

[0138] 렌티바이러스 감염:

[0139] shSTAT3에 대한 렌티바이러스 입자는 이전에 기재된 바와 같이 생성되었다. (문헌 [Moffat J, Grueneberg DA,

Yang X, Kim SY, Kloepfer AM, Hinkle G, A lentiviral RNAi library for human and mouse genes applied to an arrayed viral high-content screen, *CeII*, 2006;124(6):1283-98. Epub 2006/03/28]. Dox-유도성 시스템 내 shSTAT3은 LakePharma Inc.으로부터 수득되었다. shSTAT3에 대해 사용된 표적 서열은 AATCTTAGCAGGAAGGTGCCT였다. KP4 및 MIA-PACA2 세포를 렌티바이러스의 최적화된 역가로 형질도입시키고 1 µg/ml 퓨로마이신을 사용하여 선별하였다.

[0140] 루미넥스 검정 및 ELISA:

[0141] 72시간 동안 배양된 암 세포로부터의 배양 상청액 또는 동물연구로부터 종말점에 수집된 혈장 샘플에 대한 루미넥스 검정을 제조자의 지침에 따라 다중 키트 (Bio-Rad)를 사용하여 수행하였다. PDGF α ELISA는 R&D Systems으로부터의 키트를 사용하여 수행하였다.

[0142] 침습 검정:

[0143] 2% FBS를 함유하는 RPMI 내의 세포를 BD BioCoat 매트리겔 침습 챔버 (BD Biosciences)의 역전된 삽입물 상에 씌딩하였다. 하부 챔버는 화학유인물질로서 10% FBS가 보충된 RPMI로 채우고, 18시간의 인큐베이션 후 바닥 챔버에 진입한 세포의 수를 SpectraMax M5 (Molecular Devices)를 사용하여 측정하였다.

[0144] 동물 연구:

[0145] 모든 동물연구는 실험실 동물의 관리 및 사용에 관한 국립보건원 지침서에 따라 수행되었다. 모든 투약 요법은 이종이식에서 잘 용인되었다. 두 가지 이종이식 모델인: 인간 PDAC-유래된 세포주 KP4 및 KPP GEMM 마우스로부터 단리된 종양으로부터 유래된 세포가 사용되었다. 5×10^6 세포를 임의의 매트리겔을 사용함이 없이 면역-결핍 마우스 (Charles River Laboratories)의 오른쪽 옆구리 안으로 피하로 이식하였다. 종양이 ~200 mm³에 도달된 후 마우스를 무작위로 추출하고 그 다음 비히클 (MCT+25mM 시트레이트 완충액, pH 2.75), 코비메티닙 (5mg/kg) +/- 포니티닙 (30mg/kg), PO, QD로 처리하였다. 종양 부피는 지정된 간격으로 Ultra-Cal IV 캘리퍼스를 사용하여 측정하였다. 같은 동물로부터의 반복된 종양 부피의 측정을 경시적으로 적절하게 분석하기 위해, 혼합된 모델링 접근법을 사용하였다. (문헌 [Jose Pinheiro DB, Saikat DebRoy, Deepayan Sarkar, R Core team. Linear and Nonlinear mixed effects models. Package 'nlme' 2008]). 이 접근법은 연구 종료 전에 임의의 치료를 받지 않은 동물의 사망으로 인한 반복된 측정과 보통의 감소 둘 모두를 다룬다. 입방체 퇴행 스플라인을 사용하여 각각의 용량 수준에서 log₂ 종양 부피의 시간경과에 대한 비-선형 프로파일을 맞춘다. 이를 비-선형 프로파일은 그 다음 혼합된 모델 내 용량과 관련되었다. 비히클에 대한 종양성장억제 (%TGI)는 하기식을 사용하여 비히클과 관련하여 1일당 각각의 용량 그룹에 대한 맞춤 곡선 아래의 면적 (AUC)의 백분율로서 계산되었다:

$$\%TGI = 100 \times (1 - \frac{AUC_{용량}}{AUC_{비히클}}).$$

[0146] %TGI에 대한 불확실성 간격 (UI)을 결정하기 위해, 맞춤 곡선 및 적합화된 공변이 매트릭스를 사용하여 %TGI의 분포에 대한 근사치로서 무작위 표본을 생성했다. 무작위 표본은 각각의 실현에 대해 %TGI가 재계산된 적합화된 -혼합된 모델의 1,000개 모의실험된 실현으로 구성되었다. 보고된 UI는 %TGI의 재계산된 값이 이 영역에 속하는 시간의 95%가 적합화된 모델에 제공된 값이었다. 모의실험된 분포의 2.5 및 97.5 백분위수를 상위 UI 및 하위 UI로 사용했다. 종양 성장 억제 > 60%는 의미있는 것으로 간주되었다. (문헌 [Wong H, Choo EF, Alickie B, Ding X, La H, McNamara E, Antitumor activity of targeted and cytotoxic agents in murine subcutaneous tumor models correlates with clinical response, *Clinical Cancer Research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 2012;18(14):3846-55. Epub 2012/06/01]).

[0147] 플롯팅은 R, 버전 2.8.1 (R Development Core Team 2008; R Foundation for Statistical Computing; 오스트리아 비엔나 소재) 및 엑셀, 버전 12.0.1 (Microsoft Corporation)을 사용하여 수행되고 생성되었다. 데이터는 R, 버전 2.8.1을 사용하여 분석되었으며 혼합된 모델은 nlme 패키지, 버전 3.1-89(41)을 사용하여 R 내에 맞춤되었다.

[0148] 면역조직화학 및 면역형광:

[0149] 면역조직화학 및 면역형광은 포르말린-고정 파라핀-포매 세포 웰릿으로부터 절단된 4 µm 두께 부분, 전체의 조직 절편 및 TMA 블록 (US Biomax, Inc.) 상에서 수행되었다. 슬라이드는 탈파라핀화되고 표적 회수 용액 (Dako)으로 PT 모듈 (Thermo Scientific)에서 항원 비차단이 수행되었다. 내인성 폐록시다아제 활성은 3% H₂O₂로 차단되었고 3% BSA가 내인성 면역글로불린을 차단하는데 사용되었다. p-Erk 및 p-STAT3에 대한 1차 항체 (Cell

Signaling)는 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 로, p-PDGFR α (Cell Signaling)는 $0.4\mu\text{g}/\text{ml}$ 로, F4/80 (Serotec)은 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ 로, Gr-1 (BD Pharmingen)은 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 로, 절단된 카스파제 3 (Cell Signaling)는 $0.6\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 그리고 CD8 α (Genentech)는 $5\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 사용되었다. 항체 결합은 Vecstatin ABC 엘리트 홀스래디쉬 폐록시다아제 (Vector Laboratories) 또는 PowerVision Poly-HRP (Leica Biosystems)를 사용하고 그리고 IHC 염색에 대해 금속-강화 3,3'-디아미노벤자린 (Pierce)과 면역형광 염색에 대해 TSA 키트 (Life Technologies)와 함께 PowerVision Poly-HRP (Leica Biosystems)를 사용하여 검출되었다. IHC 슬라이드의 대조염색은 Mayer의 헤마톡실린 (Rowley Biochemical)을 사용하여 수행되었다.

[0151] 조직학:

[0152] 전체 슬라이드 이미지는 $200\times$ 최종 배율로 Nanozoomer XR 자동 슬라이드 스캐닝 플랫폼 (일본 시즈오카현 하마마쓰시 하마마쓰 소재)으로 획득되었다.

[0153] 마이크로어레이 및 RNA 서열분석:

[0154] Gene Logic 사의 Affymetrix HGU133P 어레이를 사용하여 정상 및 PDAC 인간 조직에서의 유전자 발현을 측정하였다. 유전자 발현 데이터는 강력한 멀티칩 평균 (RMA) 방법으로 표준화되었다. 인간 *PDGFR α* 에 대해 익스프레션 탐침 세트 203131_at가, 인간 *PDGFR β* 에 대해 202273_at가, 인간 IL6-R에 대해 205945_at가 사용되었고, 그리고 PRS6KB1에 대해 204171_at가 사용되었다.

[0155] 통계적인 분석:

[0156] 모든 데이터는 평균의 평균土표준오차 (S.E.M)로 표시된다. 두 그룹을 비교하고 Prism 또는 Excel을 사용하여 *P* 값을 계산하기 위해 스튜던트 *t*-시험 (2-테일드)을 사용했다. *P*<0.05는 유의한 것으로 간주되었다. 생존 곡선은 카풀란-마이어 방법을 사용하여 플로팅되었다.

[0157] 실시예 1: 췌장암세포 회전타원체 배양에서 MEK 억제에 대한 민감성

[0158] 2-차원 (2D) 및 3-차원 (3D) 배양에서 배양된 췌장암세포가 다양한 암치료 제제에 어떻게 반응하는지 비교하기 위해, 본 발명자들은 *KRAS* 돌연변이체 PDAC 암세포주 KP4를 공지된 화학치료제와 암-관련된 표적의 203 소분자 억제제의 패널로 처리했다 (표1).

표 1. 소분자 억제제

소분자억제제	표적
알로퓨리놀	종양학에서 승인된 의약품
아나스트로졸	종양학에서 승인된 의약품
보르테조닙	종양학에서 승인된 의약품
셀레콕십	종양학에서 승인된 의약품
클로로퀸 HCl	종양학에서 승인된 의약품
다사티닙	종양학에서 승인된 의약품
엑세메스탄	종양학에서 승인된 의약품
풀베스트란트	종양학에서 승인된 의약품
이마티닙	종양학에서 승인된 의약품
이미퀴모드	종양학에서 승인된 의약품
레날리도마이드	종양학에서 승인된 의약품
메클로레타민	종양학에서 승인된 의약품
메톡스살렌	종양학에서 승인된 의약품
미토란	종양학에서 승인된 의약품
MTX	종양학에서 승인된 의약품
탁솔	종양학에서 승인된 의약품
퀴나크린	종양학에서 승인된 의약품
SAHA	종양학에서 승인된 의약품
타목시펜	종양학에서 승인된 의약품
테모졸로마이드	종양학에서 승인된 의약품
테니포시드, VM-26	종양학에서 승인된 의약품
토레미펜	종양학에서 승인된 의약품
반데타닙	종양학에서 승인된 의약품
팔미드로네이트	종양학에서 승인된 의약품
졸레드로네이트	종양학에서 승인된 의약품
스트렙토조신	종양학에서 승인된 의약품
고세렐린아세테이트	종양학에서 승인된 의약품
알프라졸람	비-종양학에서 승인된 의약품
칼시포트리엔	비-종양학에서 승인된 의약품
다리페나신 하이드로브로마이드	비-종양학에서 승인된 의약품
디지톡신	비-종양학에서 승인된 의약품
딜티아펩 HCL	비-종양학에서 승인된 의약품
페노파이브레이트	비-종양학에서 승인된 의약품
플루바스타틴	비-종양학에서 승인된 의약품
하이드로코르티손	비-종양학에서 승인된 의약품
이반드로네이트	비-종양학에서 승인된 의약품
이부프로펜	비-종양학에서 승인된 의약품
라미프릴	비-종양학에서 승인된 의약품
시소마이신	비-종양학에서 승인된 의약품
설린타	비-종양학에서 승인된 의약품
수마트립탄석 시네이트	비-종양학에서 승인된 의약품

[0159]

소분자억제제	표적
텔미사르탄	비-동양학에서 승인된 의약품
트리암시놀론아세토나이드	비-동양학에서 승인된 의약품
바르데나필	비-동양학에서 승인된 의약품
와파린	비-동양학에서 승인된 의약품
메트포르민하이드로클로라이드	비-동양학에서 승인된 의약품
틸티아펩하이드로클로라이드	비-동양학에서 승인된 의약품
덱사메타손	비-동양학에서 승인된 의약품
SN-38	DNA 및 RNA 합성억제제
알트레타민	DNA 손상제제
아자시티딘	DNA 손상제제
블레오마이신	DNA 손상제제
부설판	DNA 손상제제
캄프토데신	DNA 손상제제
카페시타빈	DNA 손상제제
카무스틴	DNA 손상제제
클로르암부실	DNA 손상제제
시스플라틴	DNA 손상제제
클라드리빈	DNA 손상제제
클로파라빈	DNA 손상제제
사이클로포스파마이드	DNA 손상제제
사이타라빈	DNA 손상제제
다카바진	DNA 손상제제
도제타셀	DNA 손상제제
독소루비신	DNA 손상제제
에피루비신	DNA 손상제제
플록수리딘	DNA 손상제제
플루다라빈	DNA 손상제제
플루오로우라실-5-FU	DNA 손상제제
펩시타빈	DNA 손상제제
하이드록시우레아	DNA 손상제제
이다루비신	DNA 손상제제
이포스파마이드	DNA 손상제제
이리노데칸	DNA 손상제제
로무스틴	DNA 손상제제
멜글란, L-PAM	DNA 손상제제
메르캅토퓨린, 6-MP	DNA 손상제제
미토마이신 C	DNA 손상제제
옥살리플라틴	DNA 손상제제
페메트렉세드디나트륨	DNA 손상제제
프로카바진	DNA 손상제제
퓨로마이신-2HCl	DNA 손상제제
탈리도마이드	DNA 손상제제

[0160]

소분자억제제	표적
티오구아닌, 6-TG	DNA 손상제제
비노렐빈	DNA 손상제제
에토포시드포스페이트	DNA 손상제제
토포데칸	DNA 손상제제
악티노마이신 D	DNA 손상제제
데시타빈	DNA 손상제제
펜토스타틴	DNA 손상제제
빈블라스틴	DNA 손상제제
빈크리스틴	DNA 손상제제
카보플라틴	DNA 손상제제
NU7026	DNA-PK 억제제
도멘타손 푸로에이트	코르티코스테로이드
AM114	20S 프로테아솜 억제제
MG132	26S 프로테아솜 억제제
카르베딜롤	베타차단제
도네페질하이드로클로라이드	콜린에스테라제 억제제
데슬로라타딘	히스타민 H1-수용체 길항제
바이칼루타마이드	비스테로이드안티안드로겐
타달라필	포스포디에스테라제 억제제
오메프라졸	양성자펌프 억제제
랄록시펜	에스트로겐수용체조절물질
세르트알린 HC1	세로토닌재흡수 억제제
아토바스타틴, 칼슘염	HMG-CoA 환원효소 억제제.
카프토프릴	ACE 억제제
에날라프릴말레이이트-펠로디핀 ER	ACE 억제제
Akt 억제제 1/2	Akt 억제제
GDC-0068	Akt 억제제
탐설로신, 하이드로클로라이드	알파차단제
이트레사르탄	안지오텐신 II 수용체 차단제
레트로졸	방향화효소 억제제
로수바스타틴칼슘	HMG-CoA 환원효소 억제제
BAY 11-7082	사이토카인유도된 IKB-알파의 억제제
발사르탄	안지오텐신 II 수용체 길항제
벡사로텐	항-신생물성제제
에제티마이브	항고지혈증제제
강시클로비르	CMV 감염용 항바이러스
Ku55033	ATM 억제제
VX680	오로라 키나제 억제제
소라페닙	티로신키나제 억제제
닐로티닙	Bcr-Abl, c-키트, PDGFR 억제제
사이코칼라신 D	액틴하위단위의 회합 및 해리를 억제함
디아제팜	GAGAa, 효능제에 결합함

[0161]

소분자억제제	표적
PLX4032	BRAF 억제제
PD166793	MMP 억제제
G45203	c-Met 억제제
미 베프라닐 디하이드로클로라이드수화물	Ca ²⁺ 통로차단제
z-VAD-FMK	카스파제억제제
RO-3306	CDK1 억제제
GW8510	CDK2 억제제 (또한 CDK5를 억제함)
플라보피리돌	CDK2, CDK9 억제제
CHR265	키론 Raf 억제제
PD407824	Chk1 및 Wee1 억제제
플루티카손프로피오네이트	코르티코스테로이드
데니답	COX/5-LOX 억제제
제불라린	시티딘데아미나제억제제
에를로티닙	EGFR 억제제
게파티닙	EGFR 억제제
투니카마이신	ER 스트레스유발제
라파티닙	ERBB-2 및 EGFR 이중키나제억제제
PD173074	FGFR 억제제
트리코스타틴 A	HDAC 억제제
17-DMAG	Hsp90 억제제
메바스타틴	지방감소제제
IKK16	IKK 억제제
FK506	면역억제제
Eeyre 스타틴 I	ERAD 의 억제제
FTI-277	H- 및 K-Ras 파르네실전달효소의 억제제
타프시가르긴	SERCA 의 억제제
포르스콜린	아데닐레이트사이클라제를 억제함
로스코비틴	CDK1/CyclinB, CDK2, CDK5를 억제함
BML-250	cdk5, cdk2 를 억제함
풀린산	DHFR, Enhances 5-FU 를 억제함.
브레펠린 A	골지 이송을 억제함
로보스타틴	HMG-CoA 환원효소를 억제함
U0126	MEK1 및 MEK2 를 억제함
로니다민	미토콘드리아렉소키나제를 억제함
S(-)(-)Blebbi 스타틴	비근육미오신 II ATPase 를 억제함
SB202190	p38 MAP 키나제를 억제함
노고도졸	미세소관의 중합을 억제함
PP1	티로신키나제의 Src 계열을 억제함
스타우로스포린	키나제 억제제
뉴클린-3	MDM2 억제제
PD98059	MEK / ERK 억제제
GDC-0623	MEK 억제제

[0162]

소분자억제제	표적
XL-518	MEK 억제제
AZD6244	MEK 억제제
PD901	MEK 억제제
모나스트롤	유사분열제제
라파마이신	mTOR 억제제
솔리페나신하이드로클로라이드	무스카린성수용체 길항제
핀돌롤	비-특이적 베타-차단제
Vioxx	NSAID
(+)-클로페도그렐수소설페이트	P2Y ₁₂ 수용체 길항제
3-아미노벤즈아미드	PARP 억제제
실데나필시트레이트	PDE 억제제
GDC-0980	PI3K 억제제
G38390	PI3K 억제제
GDC-0464	PI3Ki p110 알파-특이적
GDC-0941	PI3Ki 팬-부류 I
H89	PKA 억제제
UCN-01	PKC 억제제
아나그렐라이드 HCl	PDE3 억제제
GDC-0879	Raf 억제제
메게스트롤아세테이트	프로게스테론 유도체
탁타시스틴	프로테아솜 억제제
에소메프라졸마그네슘	양성자펌프 억제제
란소프라졸	양성자펌프 억제제
L-744,832	Ras 파르네실전달효소 억제제
수니티닙	RTK 억제제
CGK733	ATR 및 ATM 키나제의 선택적 억제제
키모스타틴	세린 및 시스테인프로테아제 억제제
시탈로프립옥살레이트	세로토닌재흡수 억제제
알로콜산	스테로이드
프로게스테론	스테로이드
BAY 61-3606	Syk 억제제
로시글리타존말레이트	티오졸리딘디온
파오글리타존하이드로클로라이드	티오졸리딘디온
탄두티닙	유형 III RTK 억제제
플루로프아미드	우레아제 억제제

[0163]

3D 배양을 위해, 본 명세서에 기술된 것은 상대적으로 빠른 "고-처리량" 분석을 용이하게 하는 방법이다. 배양 배지에 부가하기 전에 95-100°C에서 10분간 미리 끓인 10% 우태혈청을 함유하는 배지에서 암세포를 일관되게 배양하는 것은 3D "회전타원체"의 신속형성을 초래하는 것이 관찰되었다. 이 방법을 사용하여 형성된 회전타원체는 외부 주변층에 Ki67 염색의 우세한 국재화뿐만 아니라 72시간에 의해 절단된 카스파제-3에 의해 표시된 세포 사멸사를 갖는 괴저성/세포자멸적 중심을 갖는, 낮은 수준의 중식을 포함하여 이전에 기술된 회전타원체의 모든 전형적인 특성을 나타냈다 (도 27). 그것의 약물 민감성 패턴은 또한 이전에 기재된 회전타원체와 유사하였다 (도 28 및 도 29).

[0165]

203 화합물의 패널로 2D 및 3D 배양 조건에서 KP4 세포의 처리는 몇몇 제제에 대해 상이한 민감성을 나타났다 (도 1). 3D 배양은 일반적으로 약물 치료에 내성이 더 강하고, KP4 회전타원체는 주로 화학치료제로 구성된 패널로부터의 18가지 억제제의 하위세트에 2D 배양보다 훨씬 더 내성이 있었다 (도 1). 예상외로, 본 발명자들은 또한 2D 배양보다 3D 배양에 더 효과적인 11가지 억제제를 확인하였다 (도 1). 이들 11가지 억제제는 다중 신호 전달 경로를 표적으로 하는 활성이 보고된 다양한 분자로 구성되어있다. 이들 억제제 중 4가지 (코비메티닙, GDC-0623, AZD6244, PD901)는 MEK 경로를 표적으로 하며, 3가지는 PI3K 경로를 표적으로 하며 (GDC-0941, GDC-0980, G38390) 그리고 하나는 MET 경로를 표적으로 한다 (G45203).

[0166]

실시예 2: 췌장암세포에서 2D 대 3D 배양에서 차별적으로 조절된

다중 신호전달 경로

[0168]

2D 대 3D에서 췌장암세포의 관측된 차별적인 치료 민감성에 잠재적으로 기여하는 신호전달 경로를 확인하기 위해, 본 발명자들은 포스포-키나제 어레이, 유전자발현 어레이, 및 루시퍼라아제 발현 리포터 검정을 수행하고,

그리고 2D 및 3D 조건에서 KP4 세포에서 신호전달 단백질의 발현 수준에서의 변화를 비교했다. 포스포-키나제 어레이는 2D에서 배양된 KP4 세포에 비하여 KP4 회전타원체에서 p38, ERK, EGFR, MSK, Akt, TOR, CREB, HSP-27, STAT2, STAT5α, Hck, Chk-2, c-Jun, RSK1/2/3, eNOS, p27 및 PLC-γ1을 포함한 몇 개의 신호전달 단백질의 증가된 티로신 인산화를 나타내어, 3D 조건에서 신호전달 경로의 실질적인 "재배선"을 시사한다 (도 2 및 도 3). KP4 단일층 배양에서, MEK 억제는 ERK, RSK, 및 PLC-γ1 인산화를 하향조절하였고, STAT 계열 단백질뿐만 아니라 Akt의 활성화를 증가시켰다 (도 3). 그에 반해서, KP4 회전타원체는 MEK 억제시에 ERK, RSK 및 PLC-γ1에 더하여 Akt 및 STAT 계열 단백질의 감소된 활성화를 나타냈다. MEK 억제는 단지 KP4 회전타원체에서 c-Jun의 활성화만을 유도했다.

[0169] KP4 단일층 및 회전타원체 배양에서 단백질 키나제에 상응하는 mRNA의 발현의 qRT-PCR 분석은 몇 개의 RTK; 현저히, FGFR3, EPHA1, EPHB6 및 INSR에 대한 KP4 회전타원체에서의 상승된 발현을 실증했다 (도 4). MEK 억제는 KP4 단일층 및 회전타원체 둘 모두에서 이들 대부분의 RTK의 하향-조절을 야기하였다. 그러나, PDGFRα 및 PDGFRβ의 발현은 코비메티닙 처리에 의해 KP4 단일층 배양에서 상당히 상향 조절되었다. 그에 반해서, EPHA1 및 EPHB1의 발현은 MEK 억제시 KP4 회전타원체에서 선택적으로 상승하였다 (도 4). 종합적으로 말하자면, 이들 발견은 표준 2D 조건에서 관찰된 것에 비해 약물 치료에 대해 관찰된 차별적인 민감성에 기여할 수 있는 PDAC-유래된 세포에 대한 3D 배양조건에 특이적인 약물 반응 프로파일을 나타낸다.

[0170] 루시퍼라아제 리포터 검정의 큰 패널을 사용하여 코비메티닙 처리시 전사 인자 경로 활성화에서의 변화에 대한 추가 평가는 KP4 단일층 배양이 STAT3, c-Myc, GRE, KLF4, ISRE 및 GAS 전사 인자의 증가된 활성화를 나타낸다는 것을 밝혔다 (도 5). 그에 반해서, KP4 회전타원체는 이들 전사 인자의 유사한 수준의 활성화를 입증하지 못했다. 이들 결과는 단일층 대 회전타원체 조건에서 MEK 경로억제에 반응하여 대안적인 예비-생존 신호전달 경로의 활성화에 기여할 수 있는 다중 전사 인자의 상이한 조절을 의미한다.

[0171] 포스포-키나제 어레이 및 유전자 발현 어레이 결과는 KP4 세포의 코비메티닙 처리시 p-PDGFRα, p-STAT3, p-Erk, p-S6 및 p-RSK에 대한 웨스턴 블랏에 의해 입증되었고, p-PDGFRα, p-STAT3 및 p-S6의 증가된 수준의 활성화가 관측되었다 (도 6A). 증가된 p-STAT3은 또한 다중 PDAC 인간 암 세포주에서 코비메티닙 처리시에 재생 가능하게 검출되었다 (도 6B). 상당하게, STAT3 활성화를 촉진할 수 있는 IL-6 리간드의 증가된 분비가 또한 다중 PDAC 세포주에서 관찰되었다 (도 7). STAT3 활성화에 대한 요건과 일치하여, KP4 및 MIA-PACA2 세포에서 STAT3의 RNAi 녹다운은 코비메티닙 치료시 세포사를 유도하였다 (도 8 및 도 9). 또한, 다중 PDAC 세포주 및 KPP GEMM 종양-유래된 세포주로의 시험관내 세포 침습 검정은 MEK 억제에 의해 암세포의 감소된 침습 가능성성을 실증했다 (도 10). 이들 결과는 단일 제제로서의 MEK 억제가 원발성 종양 퇴화를 일으키기에 충분하지 않더라도 암세포의 침습 가능성을 억제할 수 있음을 시사한다. 이와 함께, 이들 결과는 PDGFRα, S6, 및 STAT3에 의해 매개된 신호전달 경로는 췌장암세포에서 MEK 억제시 암세포 생존을 가능하게 할 수 있음을 시사한다.

[0172] 실시예 3: MEK 억제와 함께 PDGFRα, S6 및 STAT3의 억제는 PDAC 세포의 세포자멸사를 효과적으로 촉진한다

[0173] 이전의 연구는 MEK 억제가 "바이패스" 생존 기전으로서 다중 RTK 및 IL6/JAK/STAT 경로의 상향 조절 및 활성화를 유도할 수 있다고 보고했다 (문헌 [Duncan JS, Whittle MC, Nakamura K, Abell AN, Midland AA, Zawistowski JS, Dynamic reprogramming of the kinome in response to targeted MEK inhibition in triple-negative breast cancer, *Cell*, 2012;149(2):307-21, Epub 2012/04/17]; 문헌 [Lee HJ, Zhuang G, Cao Y, Du P, Kim HJ, Settleman J, Drug resistance via feedback activation of Stat3 in oncogene-addicted cancer cells, *Cancer Cell*, 2014;26(2):207-21, Epub 2014/07/30]; 문헌 [Dai B, Meng J, Peyton M, Girard L, Bornmann WG, Ji L, STAT3 mediates resistance to MEK inhibitor through microRNA miR-17, *Cancer Research*, 2011;71(10):3658-68, Epub 2011/03/30]). 그러나, 췌장암은 연루되어 있지 않았다. 단독으로 또는 코비메티닙과 조합하여, S6 및 JAK2/STAT3 캐스케이드 둘 모두를 표적으로 하는, 다중-RTK 억제제 포나티닙의 유효성은 종양세포 성장 검정에서 시험되었다. 코비메티닙 처리는 PDAC 세포주에서 STAT3 및 S6 활성화를 촉진시켰고 (도 6A), 코비메티닙/포나티닙으로 병용치료는 PDGFRα, STAT3, S6, ERK1/2, Akt의 활성화를 억제시키고, 예비-생존 단백질 Bcl-XL, Mcl-1, 서바이빈의 발현을 감소시키고, 그리고 2D뿐만 아니라 3D 배양에서 절단된 PARP의 수준을 증가시켰다 (도 11, 12 및 13). 비록 포나티닙이 PDAC 세포에서 다운스트림 신호전달 경로를 잠재적으로 조절할 수 있는 에프린 수용체의 키나제 활성을 억제하는 것이 이전에 보고되어 있었지만, 코비메티닙/포나티닙 병용치료는 PDAC 모델에서 에프린 수용체 (EphA2/3, EphA2/5 및 EphA7)의 활성에 영향을 미치지 않았다 (도 11).

[0174] 포나티닙은 FGFR, VEGFR, 에프린 수용체뿐만 아니라 S6 및 JAK2/STAT3 신호전달에 더하여 PDGFRα를 억제하기 때문에, 본 발명자들은 코비메티닙과 조합하여 다른 PDGFRα, S6 및 JAK2 억제제의 효과를 조사함에 의해 포나

티닙의 선택적 활성을 추가로 조사했다. EGFR 억제제인 에를로티닙 또는 PDGFR 억제제의 효과에 대조적으로, 코비메티닙과 S6 억제제로의 병용치료에 의해 S6 활성화의 다운-조절, 라파마이신 또는 GDC-0980은 KP4 세포에서 세포사를 촉진시켰다 (도 14, 18 및 19). PDGFR α 억제제, 크레놀라닙, JAK2 억제제인 룩솔리티닙, 및 코비메티닙으로 삼중 병용치료에 따른 PDGFR α 및 STAT3 활성화의 동시 다운-조절은 또한 KP4 세포 성장을 억제시켰고 상당한 세포사를 야기했다 (도 15). 그러나, 본 발명자들은 RTK, S6 및 JAK/STAT를 함께 표적으로 하고, PDAC 세포의 성장을 효과적으로 억제하는, 코비메티닙/포나티닙 치료로 가장 강력한 동반상승효과를 관측했다 (도 11, 12, 13, 14, 16 및 17). 코비메티닙 및/또는 포나티닙으로 PDAC 세포주의 처리는 단일 제제로서의 세포 생존력에 영향을 미치지 않았지만, 2D 및 3D 배양 둘 모두에서 조합하여 세포성장을 억제하는데 상승작용이 있어, 코비메티닙/포나티닙 조합이 PDAC에 대한 잠재적으로 효과적인 치료 전략임을 밝혔다 (도 12, 16 및 17).

[0175] 실시예 4: 코비메티닙/포나티닙 공동-치료는 마우스 모델에서 종양퇴화를 유도한다

[0176] 생체내 코비메티닙/포나티닙 조합의 효과를 시험하기 위해, 본 발명자들은 KP4 및 KPP GEMM-유래 종양 세포로 이종이식 연구를 수행했다. 코비메티닙 및 포나티닙 둘 모두는 KP4 이종이식에서 단일 제제로서는 효과가 없었지만, 코비메티닙과 포나티닙으로의 공동-치료는 종양 성장의 상당한 억제를 야기하였고 증가된 절단된 카스파제 3으로 세포사를 증가시켰다 (도 20 (KP4 세포), 21 및 22). 본 발명자들은 종양 퇴화와는 대조적으로 종양 성장에서의 현저한 지연을 주로 관찰했지만, KPP GEMM-유래 세포주 이종이식 종양에서도 유사한 결과가 얻어졌다 (도 20 (KPP 세포)). 코비메티닙/포나티닙 병용치료는 또한 KP4 이종이식에서 103% TGI (% 종양 성장억제) 및 KPP 이종이식에서 71% TGI를 초래했다 (표 2). 코비메티닙/포나티닙 병용치료는 KP4 이종이식 연구에서 마우스의 일부 조합 체중 감소를 유도했지만 KPP GEMM-유래 이종이식 연구에서는 그렇지 않았다. KP4 이종이식 연구에서, >20% 체중 감소에 기인하여 2마리의 마우스를 연구 초기에 제거해야 했다. 그러나, 병용치료 과정 동안 나머지 마우스에서 허용가능한 임계치를 초과하는 유의적인 체중 감소는 관찰되지 않았다 (도 31A). 이식된 종양의 조직병리적 분석, IHC 염색 및 면역블로팅은 코비메티닙 치료시 p-PDGFR α , p-STAT3 및 pS6의 기대된 유도를 확인하였고, 이것은 코비메티닙 및 포나티닙으로 공동-치료에 따라 상당히 다운-조절되었다 (도 21, 22, 30 및 33). PDGF α , PDGF β 의 상당히 상승된 혈청 수준, 및 IL-6의 증가된 수준이 또한 코비메티닙-치료된 마우스에서 관측되었다 (도 23). 코비메티닙/포나티닙 공동-치료는 혈청 PDGF α 와 PDGF β 수준을 감소시켰지만 VEGF 또는 FGF 수준을 그렇지 않아, PDAC 암 모델에서 포나티닙에 의한 PDGFR α 경로의 특이적 관련성을 강조한다 (도 23 및 32).

[0177] PDAC 종양 내의 골수 세포 구획의 분석은 F4/80⁺ 종양-관련된 대식세포 (TAM)가 가장 우세한 골수 모집단이었다는 것을 드러냈다 (도 21). 코비메티닙/포나티닙 공동-치료는 종양에서 TAM의 수를 상당히 감소시켰고, 대식세포 억제 인자 GCSF의 혈청 수준을 유도했고, 그리고 대식세포 활성 인자 GM-CSF 및 MCSF의 수준을 감소시켰다 (도 22 및 23). 이들 발견은 코비메티닙/포나티닙 공동-치료가 다운스트림 MEK, S6 및 STAT3 생존 경로 외에도 PDGFR α 경로를 표적으로 함에 의해 종양 세포 및 골수 세포 모집단 둘 모두를 폐기하는데 효과적이라는 것을 나타낸다. 또한 이 연구 결과는 이 병용치료가 종양 퇴화를 촉진할 수 있음을 시사한다.

표 2. KP4 및 KPP 이종이식의 종양 성장 억제 (%TGI)

KP4 이종이식 치료	n/그룹	n/마지막 날	종양부피(마지막 날)	%TGI (AUC vs. 비히클)	%TGI 95 th 백분위 수 상한 UI	%TGI 95 th 백분위 수 하한 UI	TTP 2X
비히클	10	10	1316	0	0	0	6
포나티닙 (30mg/kg, PO, QD)	10	9	408	56	-22	87	8.5
코비메티닙 (5mg/kg, PO, QD)	10	10	532	70	7	97	13
Cobi (5mg/kg, PO, QD)+Pon (30mg/kg, PO, QD)	10	7	217	103	76	123	NA
비히클	10	10	1305	0	0	0	4.5
포나티닙 (30mg/kg, PO, QD)	10	10	1045	29	3	50	7
코비메티닙 (5mg/kg, PO, QD)	10	10	917	31	5	50	6.5
Cobi (5mg/kg, PO, QD)+Pon (30mg/kg, PO, QD)	10	10	576	71	60	80	12.5

[0178]

[0179] AUC = 곡선하 면적

[0180] UI = 불확실성 간격

[0181] TTP = 종양 진행 시간 (2X 최초용적)

[0182] 실시예 5: PDAC 환자의 간 전이에서 Erk 및 STAT3의 차별적인 활성화

[0183] 이를 발견의 잠재적인 임상 관련성을 조사하기 위해, 본 발명자들은 p-Erk 및 p-STAT3에 대한 76가지 인간 PDAC 조직 샘플 및 4가지 간 전이의 IHC 분석을 수행했다. Erk는 PDAC 조직 샘플의 13% (10/76)에서 활성화되었는데, 대부분 I 및 II 악성 종양 환자에서 되었고, STAT3 활성화는 26%의 샘플 (20/76)에서 관찰되었고 6.5%의 샘플 (5/76)은 주로 단계 I 악성 종양에서 활성화된 Erk 및 STAT3 둘 모두를 나타내었다 (도 24 및 도 25). 또한, 간 전이의 50%는 Erk 활성화를 실증하였으며 (2/4), STAT3 활성화는 25%의 샘플 (1/4)에서 나타났다 (도 24 및 도 25). 또한, 유전자 발현 분석은 인간 환자로부터의 PDAC 종양은 정상 조직에 비해 증가된 수준의 RTK PDGFR α , PDGFR β , 뿐만 아니라 IL6-R을 나타냈다는 것을 추가로 밝혔다 (도 26, 표 3).

표 3. 유전자 발현 분석 데이터

PDGFR α Log2(탈침강도)	유전자_id	팀침 세트	샘플유형	조직그룹	조직진단	조직진단그룹
8.794943	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
9.279793	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
9.227017	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
8.889409	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
8.958932	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
8.993035	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
10.39963	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
10.50218	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
9.184865	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
8.808953	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
7.621978	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
8.470824	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
8.586969	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
7.883403	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
8.024827	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
8.687401	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
9.584143	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
9.421285	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
10.09945	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
10.1031	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
10.92539	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
11.56405	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
8.581601	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
10.75649	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
10.77969	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
10.46082	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
9.26923	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
11.24358	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
10.43788	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
10.45637	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
10.82082	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
10.61548	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
10.05359	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
10.88377	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
10.03931	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
10.43891	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
9.878045	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
10.63892	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
9.042114	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
10.11472	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
9.814041	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
10.32152	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
9.091601	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
9.222542	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암

PDGFR α Log2(탑침강도)	유전자_id	탑침 세트	샘플유형	조직그룹	조직진단	조직진단그룹
10.70983	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
8.636107	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
10.39972	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
7.513814	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
9.729338	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
9.566706	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
8.181587	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
8.138516	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
8.845604	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
10.00465	GeneID:5156	203131_at	조직	췌장	선암종	암
7.556889	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
5.260128	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
7.409171	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
6.764048	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
7.422604	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
7.341148	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
8.150971	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
8.320784	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
7.788783	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
7.156454	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
6.155598	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
6.50976	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
6.819837	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
5.95445	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
6.956264	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
6.647721	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
8.160778	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
7.726896	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
7.46055	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
8.502994	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
9.322616	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
9.374715	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
7.797891	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
8.995366	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
9.644044	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
8.891796	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
8.50103	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
9.229039	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
8.961214	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
9.122530	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
8.841867	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
8.608741	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
8.56492	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
8.615495	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
8.229863	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암

[0185]

PDGFR α Log2(탑침강도)	유전자_id	탑침 세트	샘플유형	조직그룹	조직진단	조직진단그룹
8.591798	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
9.707525	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
8.560279	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
7.758313	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
7.691537	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
8.339635	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
8.350952	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
7.564781	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
7.276369	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
8.803938	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
5.474688	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
7.747431	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
6.137455	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
8.855201	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
8.112997	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
7.976575	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
8.131375	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
7.670179	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
8.541986	GeneID:5159	202273_at	조직	췌장	선암종	암
5.553321	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
4.120181	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
3.985027	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
4.267829	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
4.991783	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
3.940651	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
4.715778	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
6.031536	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
5.290729	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
4.473181	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
4.173704	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
3.933525	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
5.157238	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
4.945232	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
3.684718	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
3.924458	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
4.979816	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	정상 췌장	정상
4.631535	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
5.525271	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
5.343428	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
5.365025	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
6.389725	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
6.064351	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
4.978231	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
5.265962	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
4.801198	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암

[0186]

PDGFR α Log2(탈침강도)	유전자_id	탑침 세트	샘플유형	조직그룹	조직진단	조직진단그룹
5.478386	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
6.81306	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
6.182141	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
4.817283	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
5.62403	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
5.553858	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
6.210491	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
5.7035	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
5.551391	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
7.040005	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
4.326793	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
6.092874	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
5.327012	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
4.138626	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
5.365025	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
5.924268	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
6.036687	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
5.053131	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
6.451621	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
2.964388	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
4.690464	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
7.824091	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
6.540267	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
3.617126	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
5.350239	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
8.541102	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
5.96024	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암
6.767234	GeneID:3570	205945_at	조직	췌장	선암종	암

[0187]

표 3의 데이터는 PDAC 종양이 PDGFR, IL-6 및 STAT3 신호전달에 의해 유도될 수 있다는 것과, 이를 경로가 MEK 경로 억제에 대한 반응을 제한할 수 있음을 시사한다. 이를 발견은 또한 MEK 경로가 인간 췌장암 환자에서 전이시 STAT3-매개된 생존 캐스케이드로 전환하지 않는 간 전이에서 종양 세포의 생존에 중요한 역할을 할 수 있음을 나타낸다.

[0188]

본 명세서에서 사용된 모든 기술 및 과학 용어들은 동일한 의미를 갖는다. 사용된 숫자 (예를 들어 양, 온도 등)에 대한 정확성을 확보하기 위한 노력이 있었지만 일부 실험상의 오류 및 편차가 고려되어야 한다.

[0189]

본 명세서 및 청구범위 전체에 걸쳐서, "포함하다", "포함한다" 및 "포함하는"이라는 단어는 문맥상 달리 요구되는 경우를 제외하고는 비-배타적인 의미로 사용된다. 본 명세서에 기재된 구현예는 구현예로 "구성되는" 및/ 또는 "본질적으로 구성되는"을 포함하는 것으로 이해된다.

[0190]

본 명세서에서 사용된 바와 같이, 값을 언급할 때 용어 "약"은 명시된 양으로부터 일부 구현예에서는 ± 50%, 일부 구현예에서는 ± 20%, 일부 구현예에서는 ± 10%, 일부 구현예에서는 ± 5%, 일부 구현예에서는 ± 1%, 일부 구현예에서는 ± 0.5%, 그리고 일부 구현예에서는 ± 0.1%의 변화를 포괄하는 것으로 의미되며, 그러한 변화는 개시된 방법을 수행하거나 개시된 조성을 사용하기에 적절하다.

[0191]

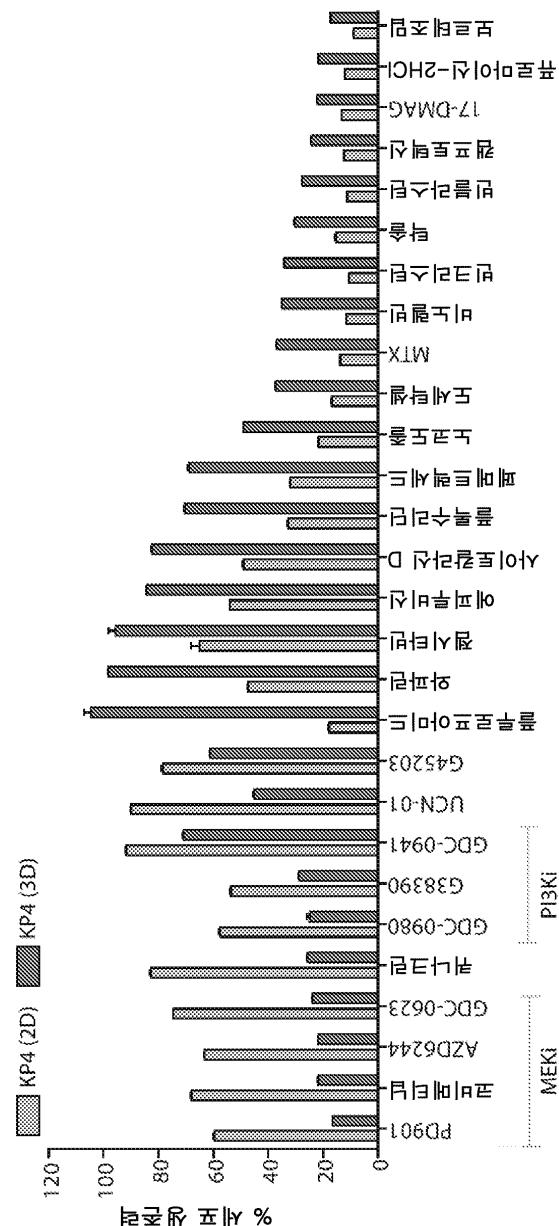
값의 범위가 제공되는 경우, 문맥상 분명하게 달리 지시하지 않는 한, 범위의 상한과 하한 사이에서, 하한 단위의 1/10까지의 각각의 개입 값을 그 언급된 범위 내의 임의의 다른 언급된 또는 개입 값을 포괄하는 것으로 이해해야한다. 더 작은 범위에 독립적으로 포함될 수 있는 이들 작은 범위의 상한 및 하한도 명시된 범위에서 임의의 특별히 배제된 한도를 조건으로 또한 포괄된다. 명시된 범위가 한도의 하나 또는 둘 모두를 포함하는 경우, 이들 포함된 한도 중 어느 하나 또는 둘 모두를 제외한 범위도 포함된다.

[0192]

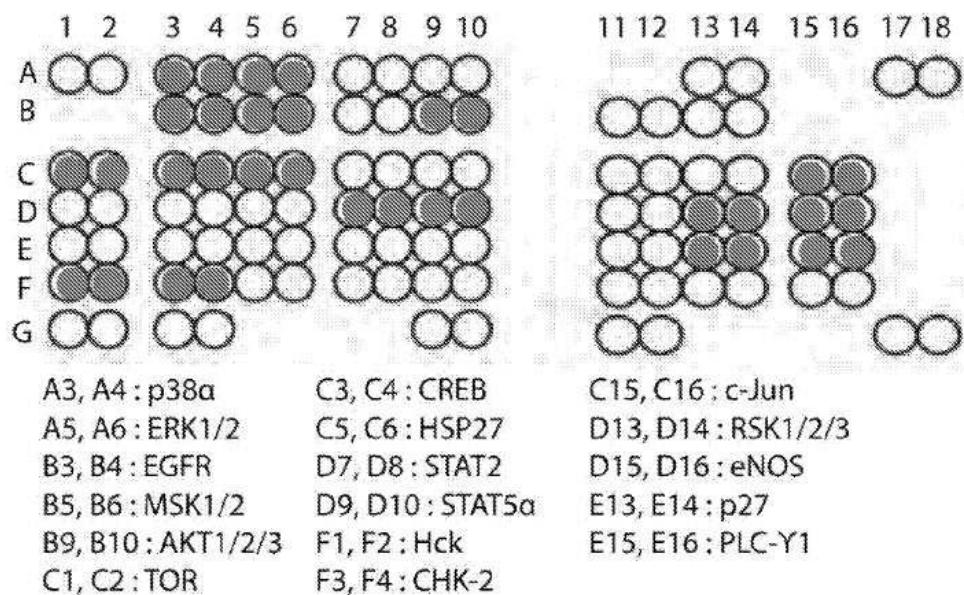
전술한 설명 및 관련된 도면에 제시된 교시의 이점을 갖는 본 명세서에서 제시된 많은 변형 및 다른 구현예가 이 요지가 속하는 당해 분야의 숙련가에게 떠오를 것이다. 따라서, 본 요지는 개시된 특정 구현예들에 한정되지 않으며 변형 및 다른 구현예들은 첨부된 청구항들의 범위 내에 포함되는 것으로 의도된다는 것을 이해해야 한다. 비록 본 명세서에서 특정 용어가 사용되었지만, 이들은 제한적인 목적이 아닌 일반적이고 설명적인 의미로 사용된다.

도면

도면1



도면2

A3, A4 : p38 α

A5, A6 : ERK1/2

B3, B4 : EGFR

B5, B6 : MSK1/2

B9, B10 : AKT1/2/3

C1, C2 : TOR

C3, C4 : CREB

C5, C6 : HSP27

D7, D8 : STAT2

D9, D10 : STAT5 α

F1, F2 : Hck

F3, F4 : CHK-2

C15, C16 : c-Jun

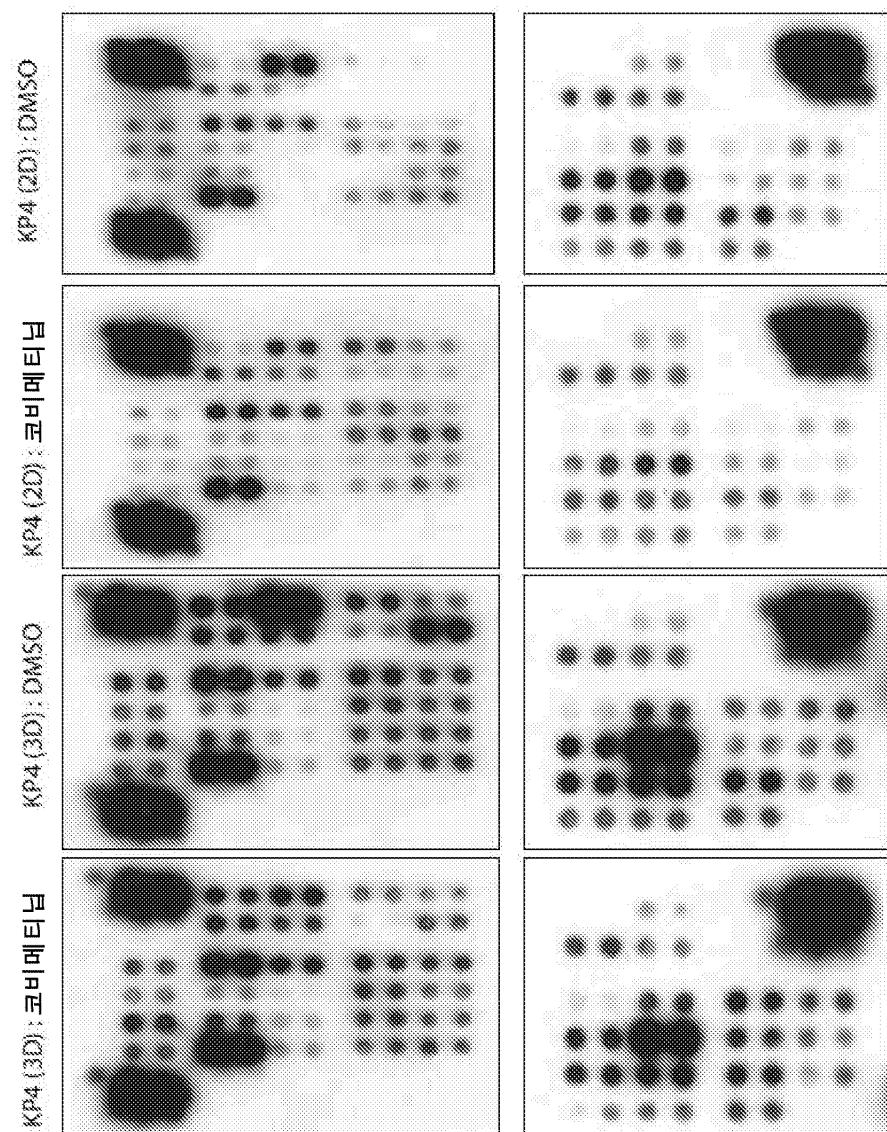
D13, D14 : RSK1/2/3

D15, D16 : eNOS

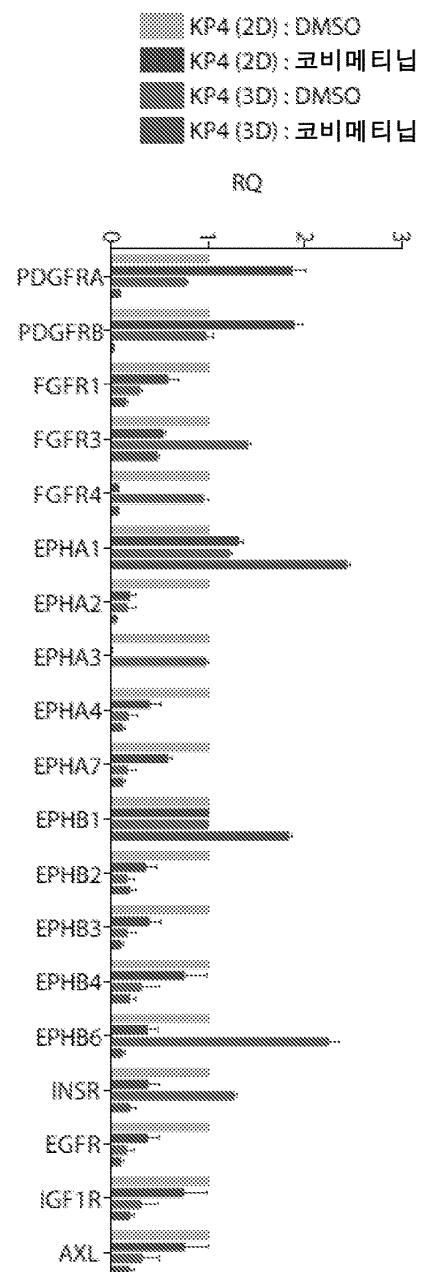
E13, E14 : p27

E15, E16 : PLC-Y1

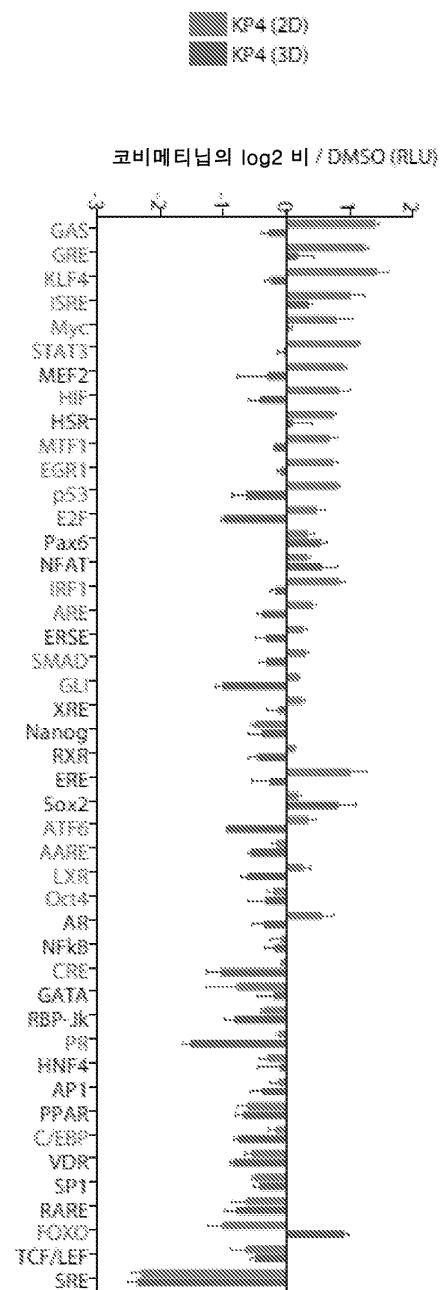
도면3



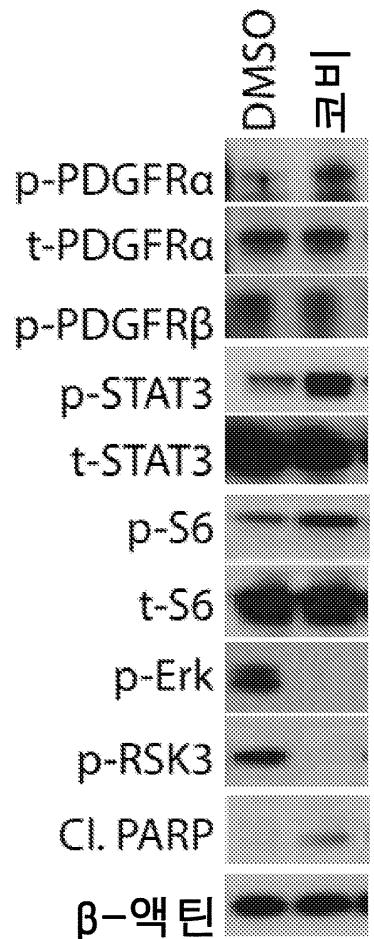
도면4



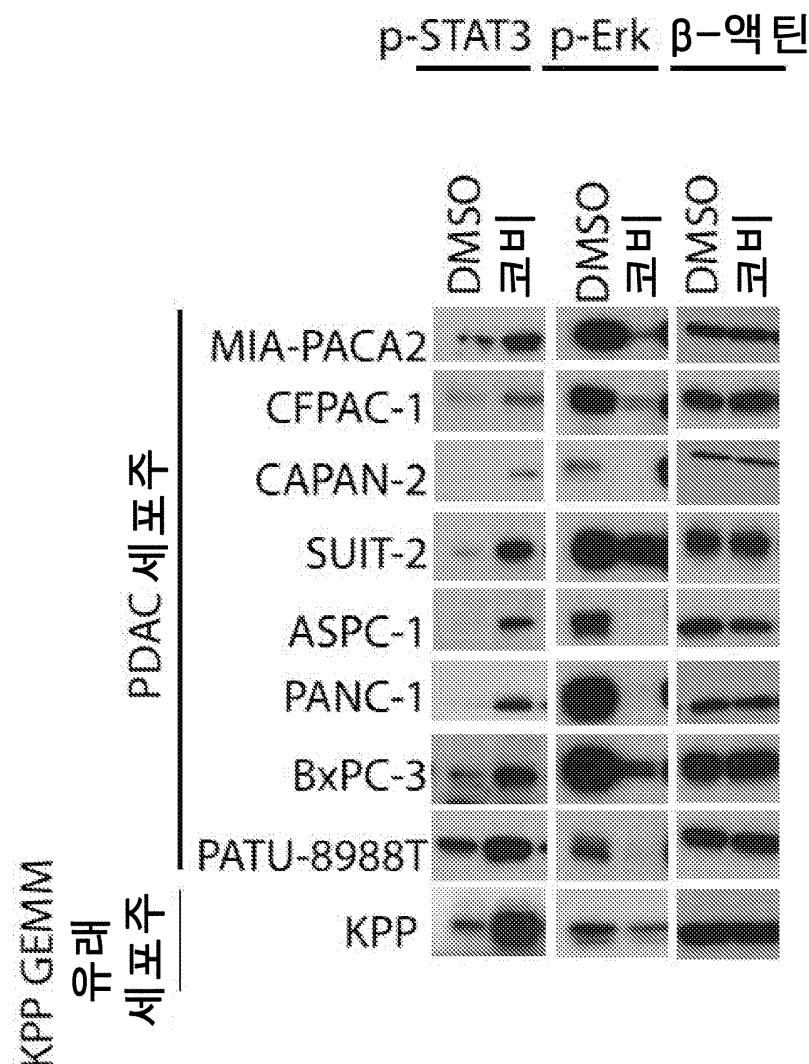
도면5



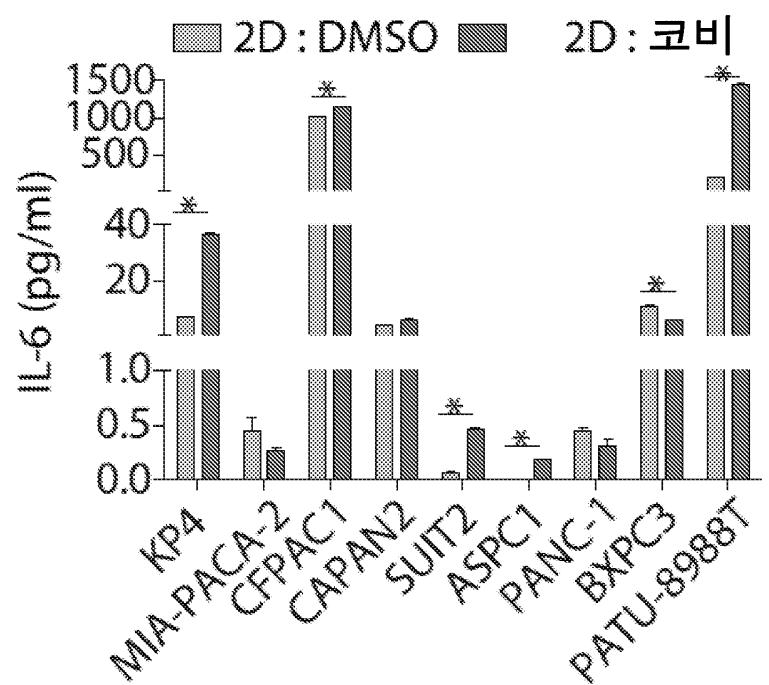
도면6a

KP4 (2D)

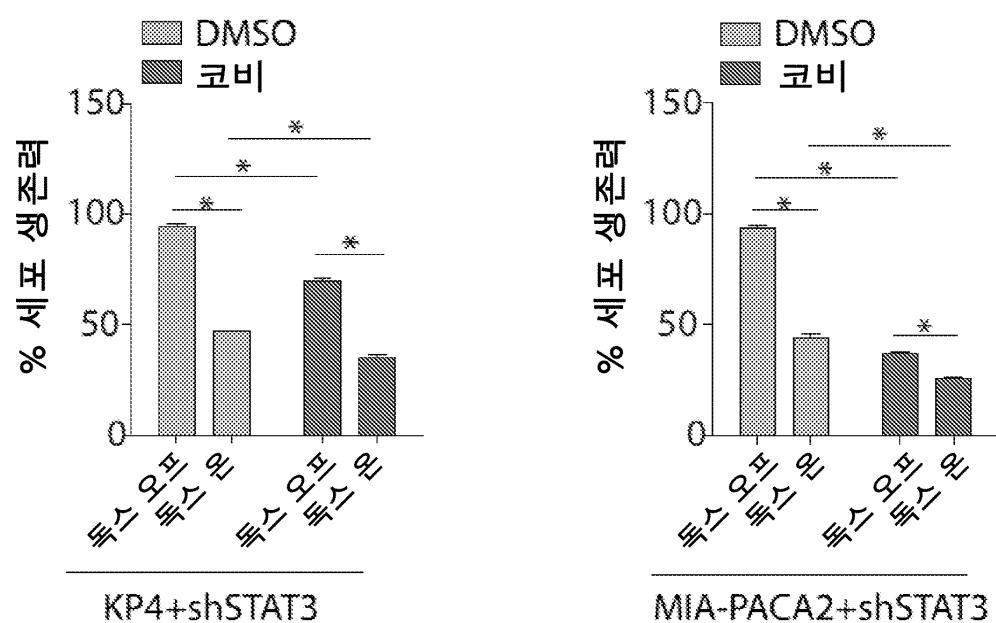
도면6b



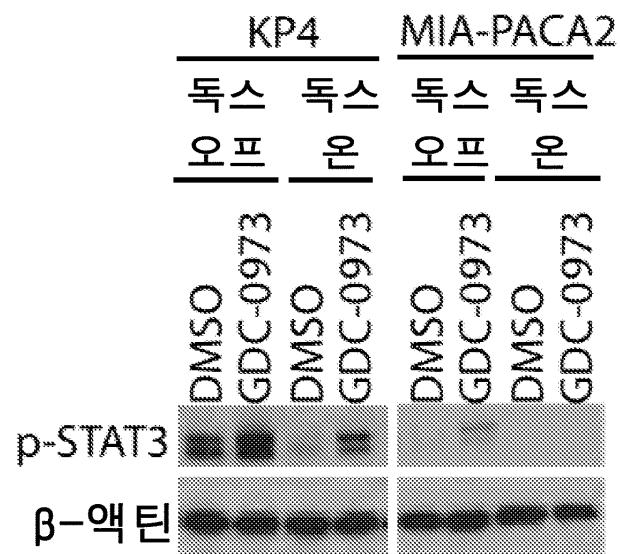
도면7



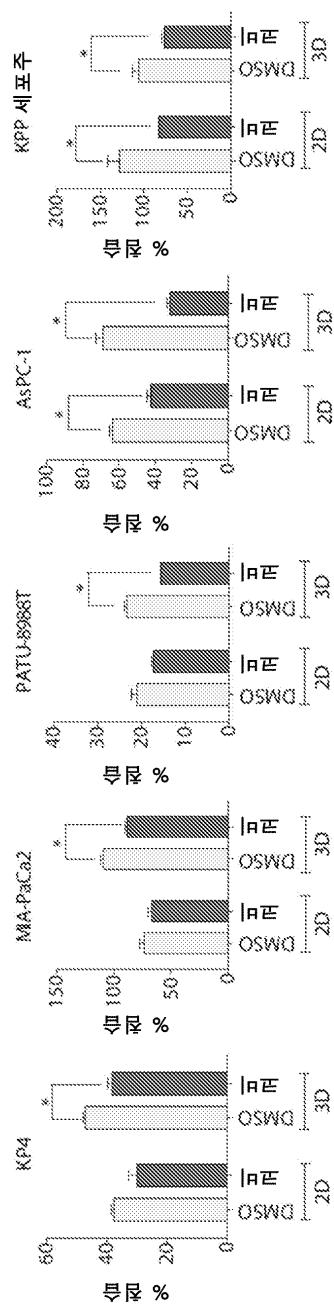
도면8



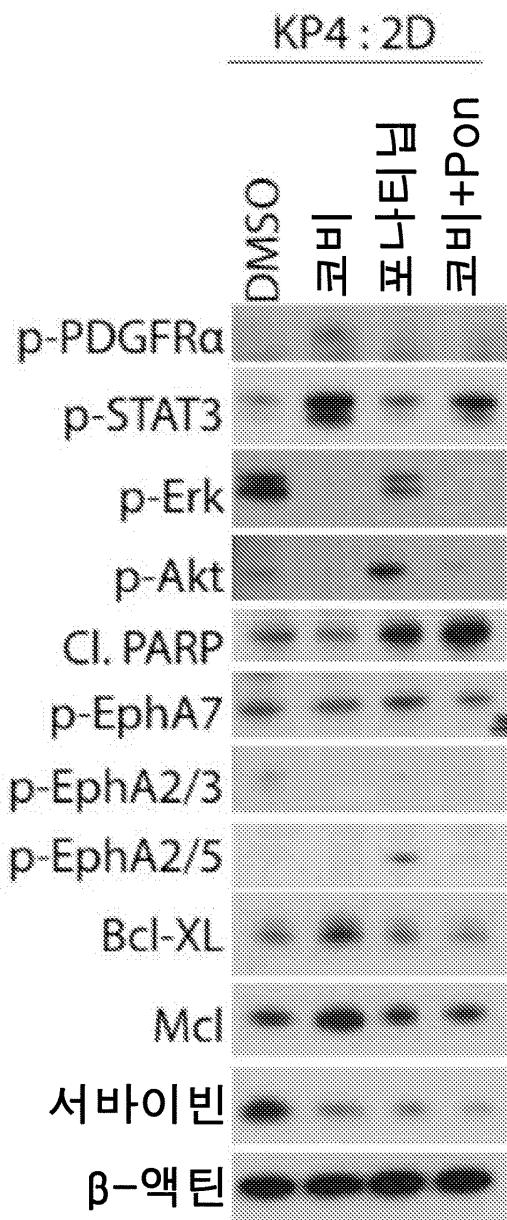
도면9



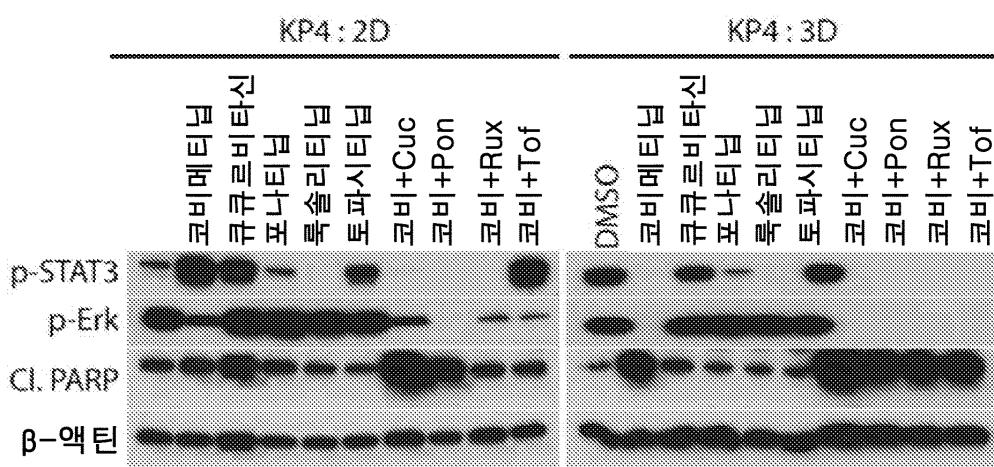
도면10



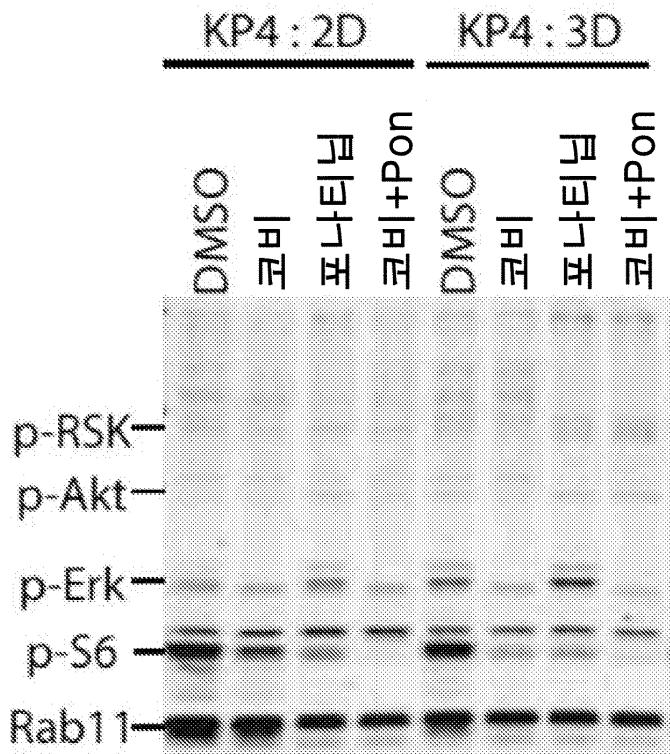
도면11



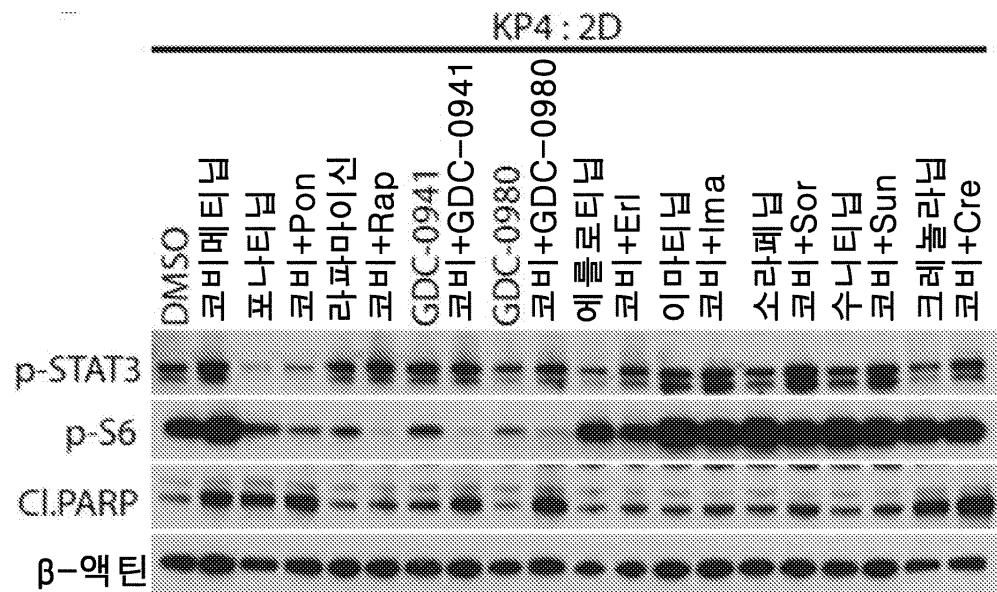
도면12



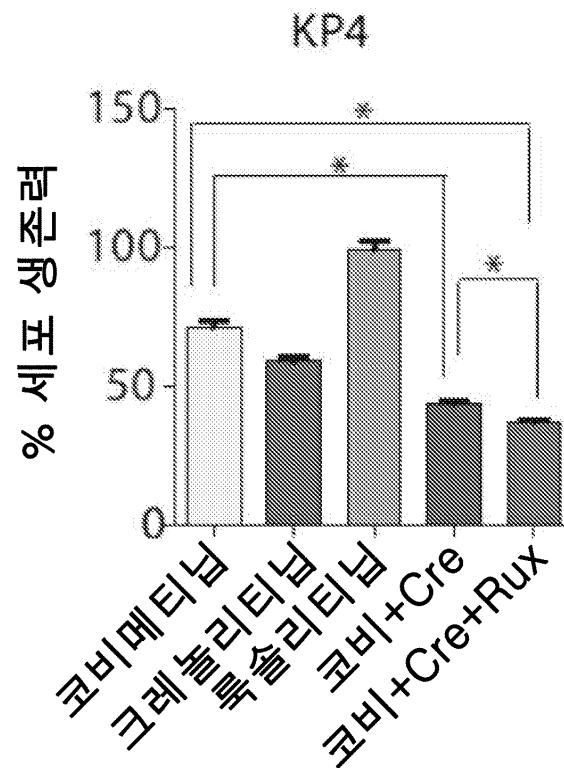
도면13



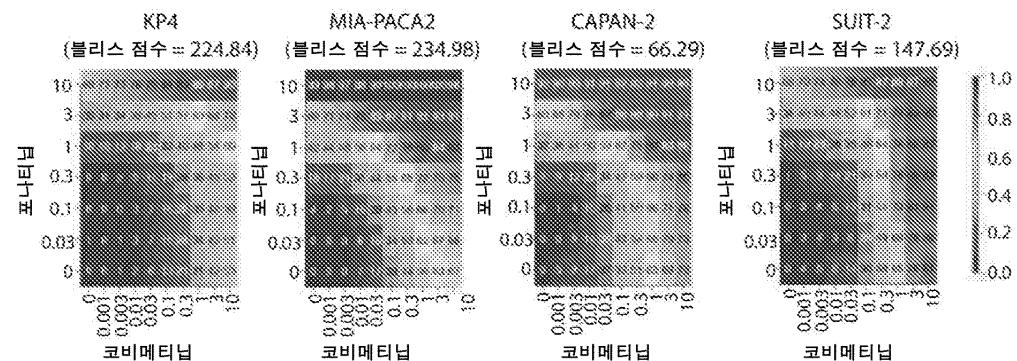
도면14



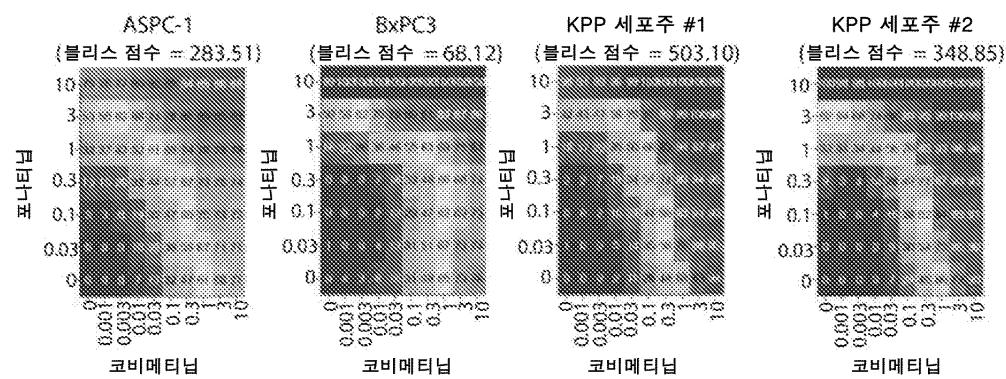
도면15



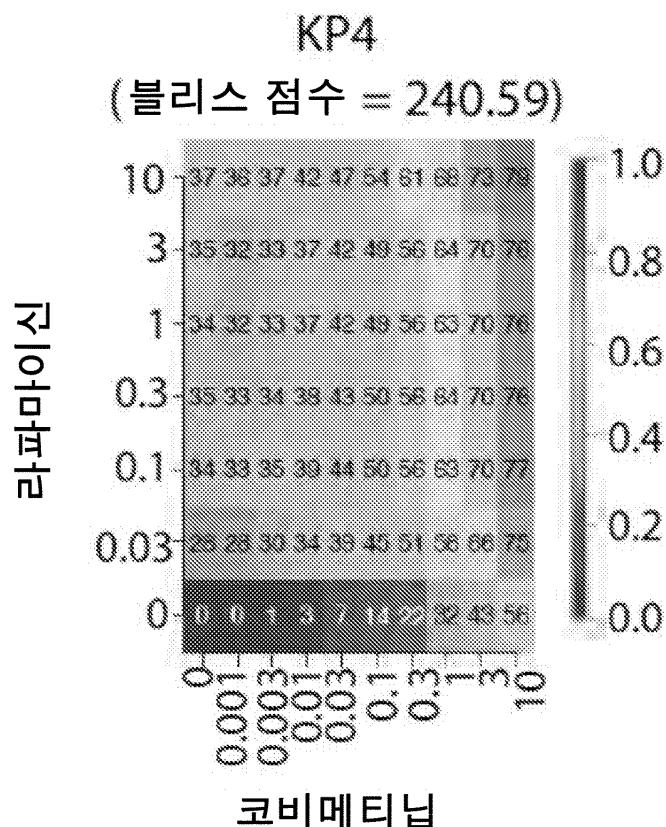
도면16



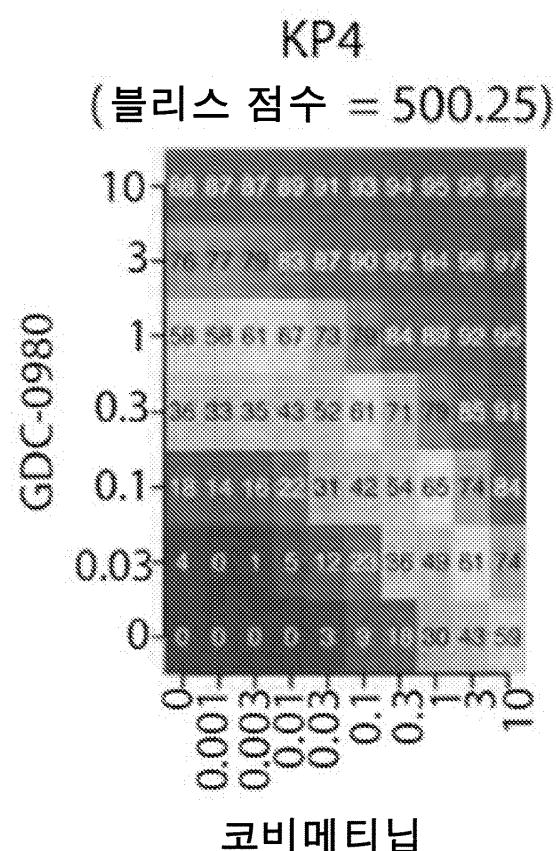
도면17



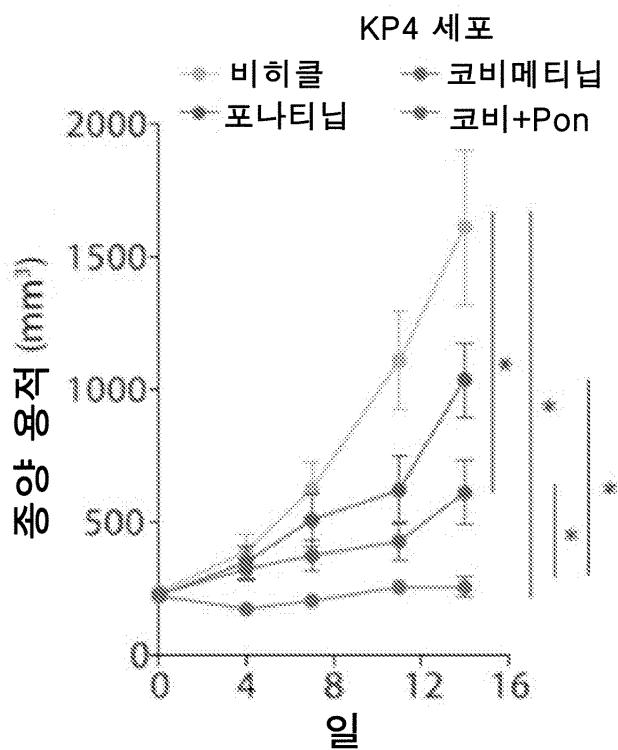
도면18



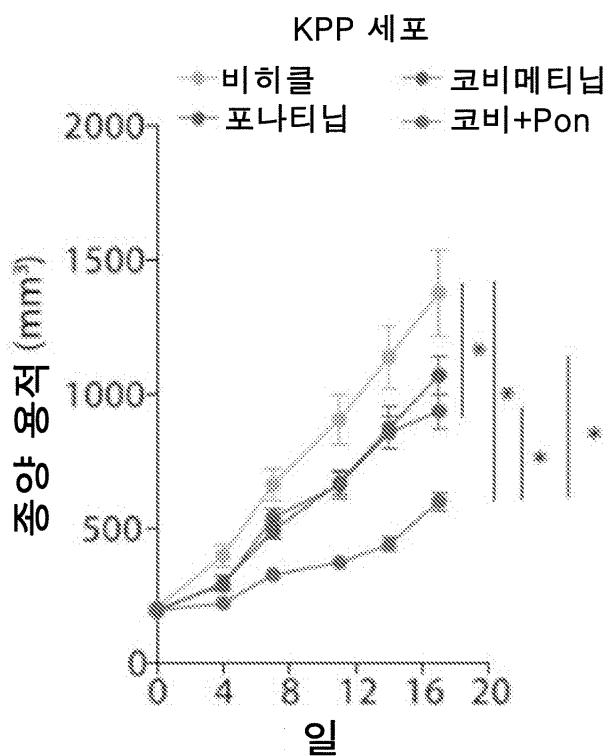
도면19



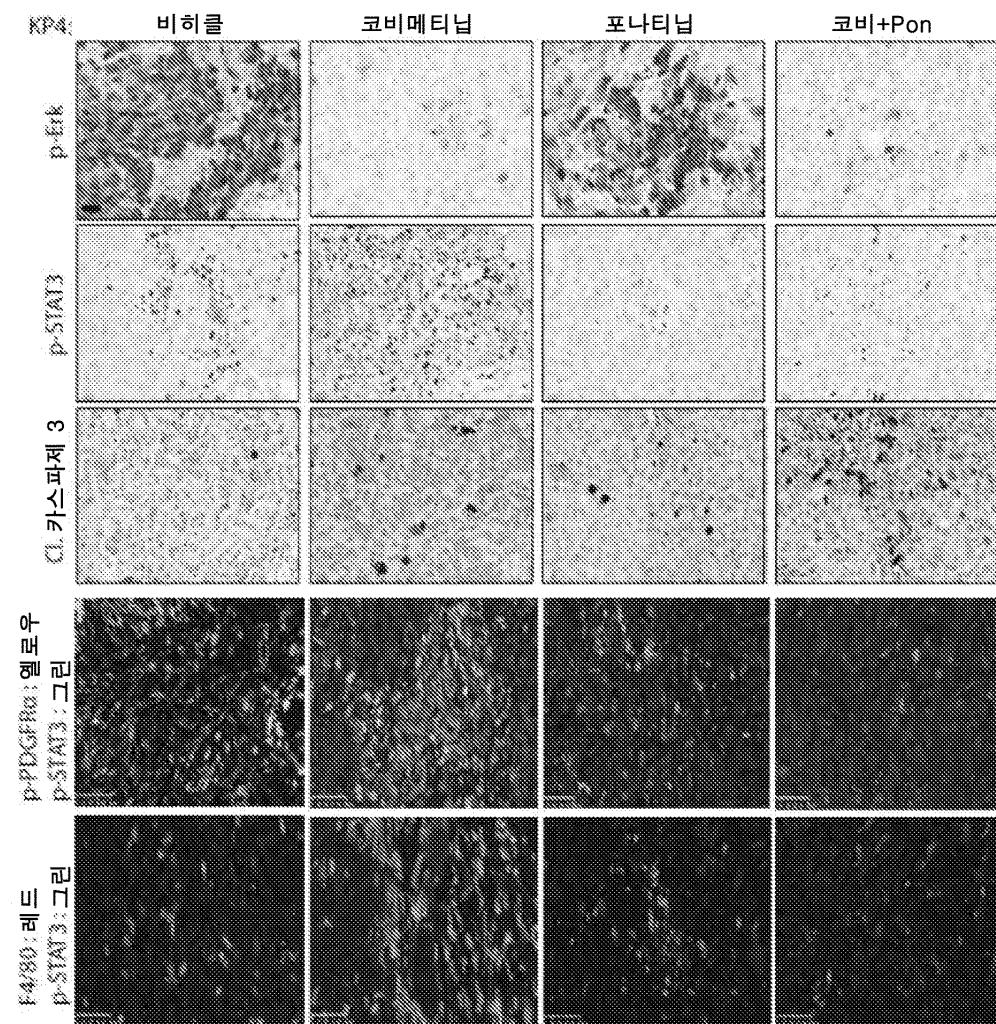
도면20a



도면20b

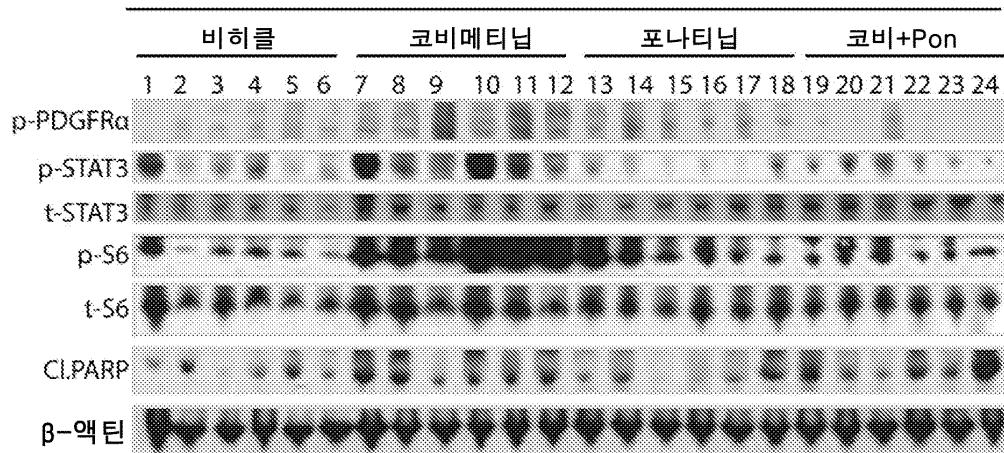


도면21

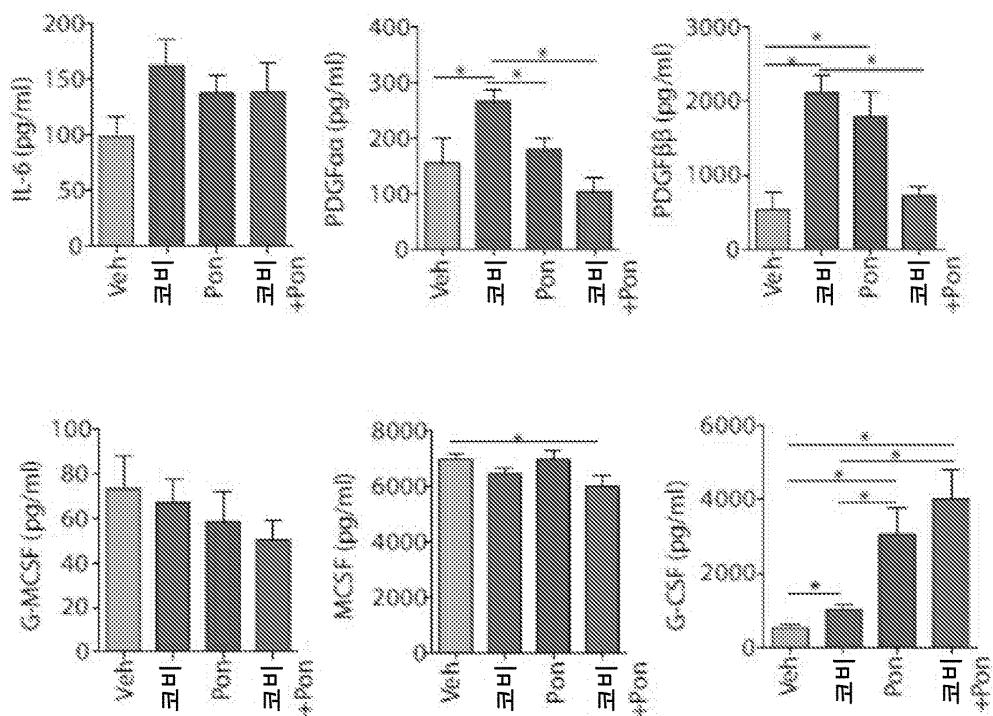


도면22

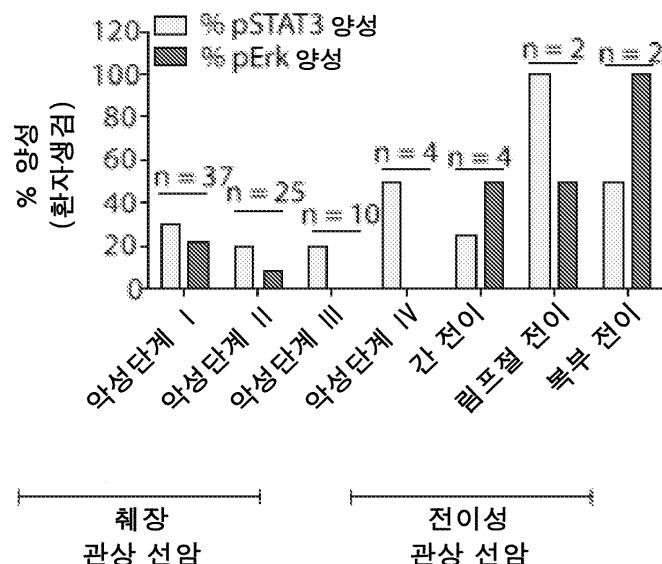
KP4 이종이식 종양



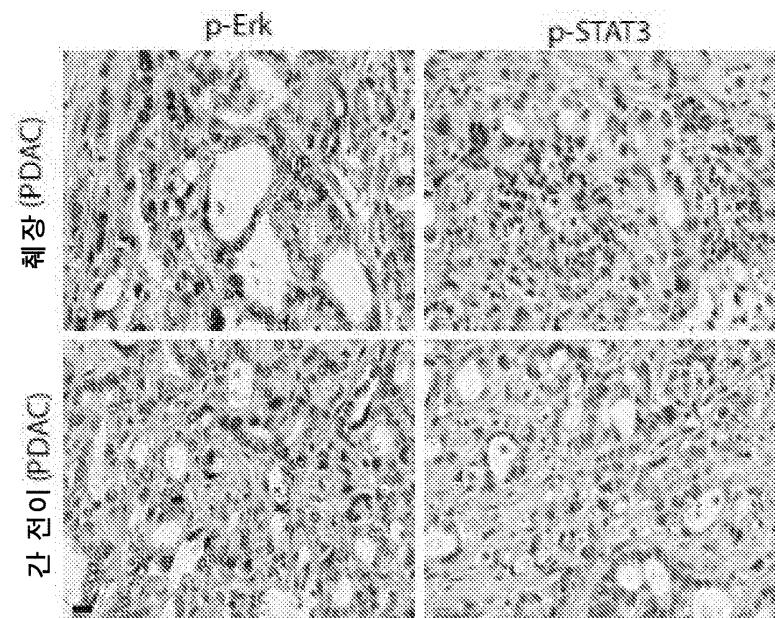
도면23



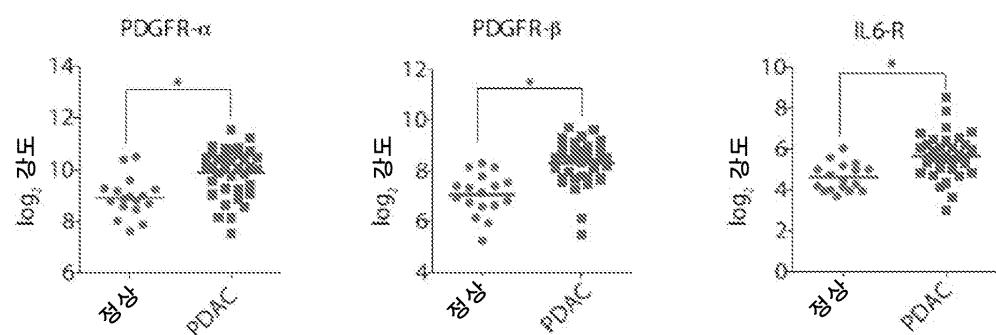
도면24



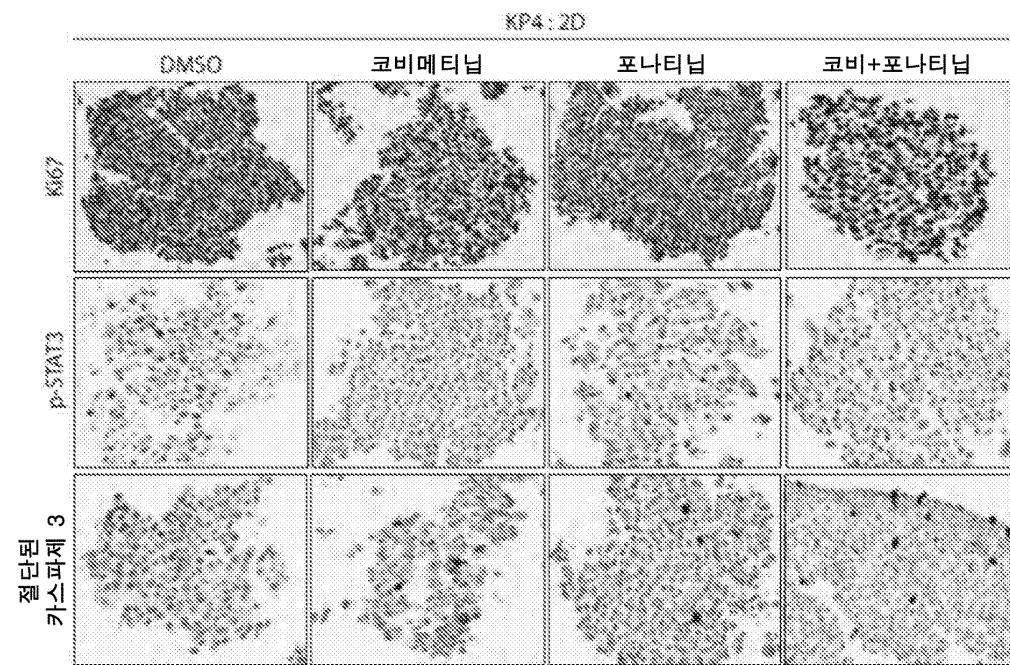
도면25



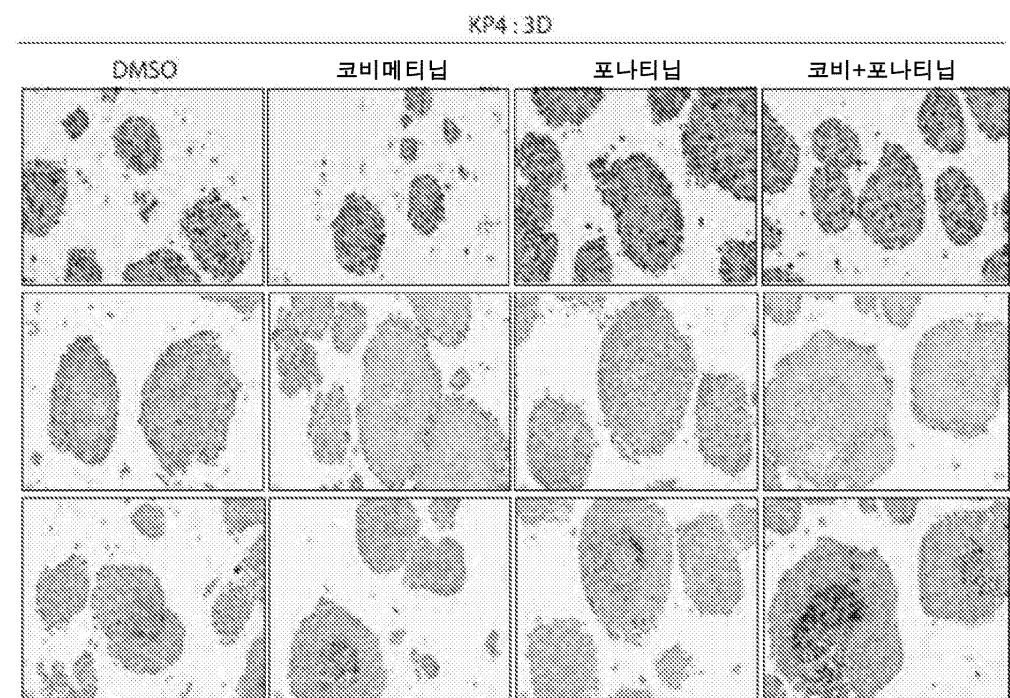
도면26



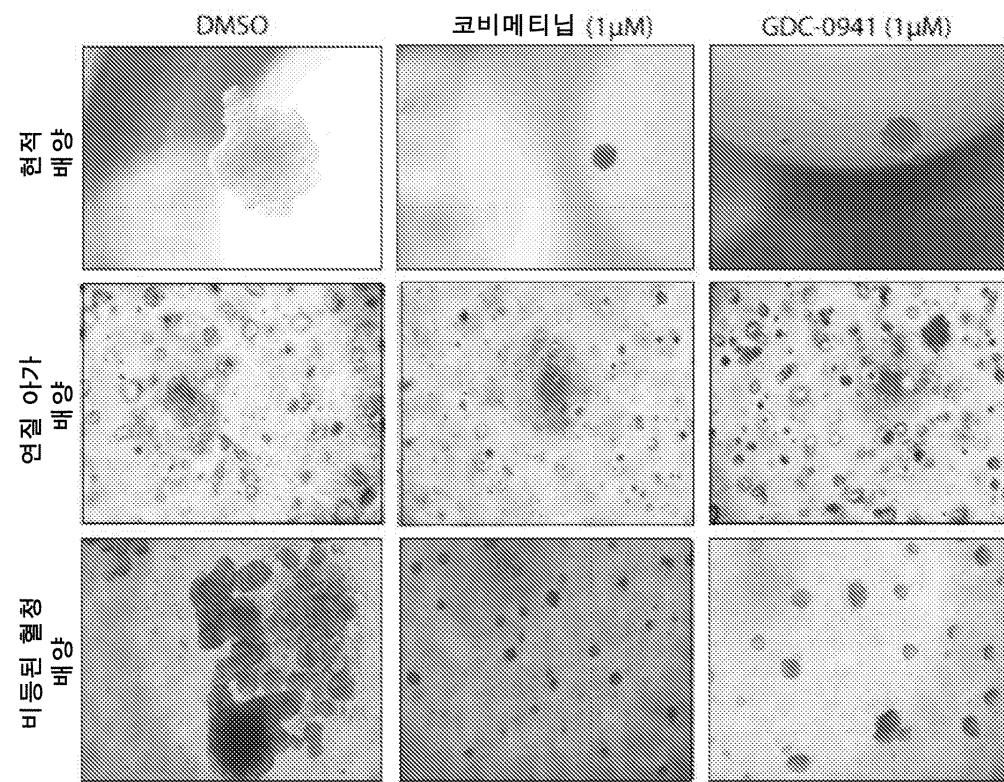
도면27a



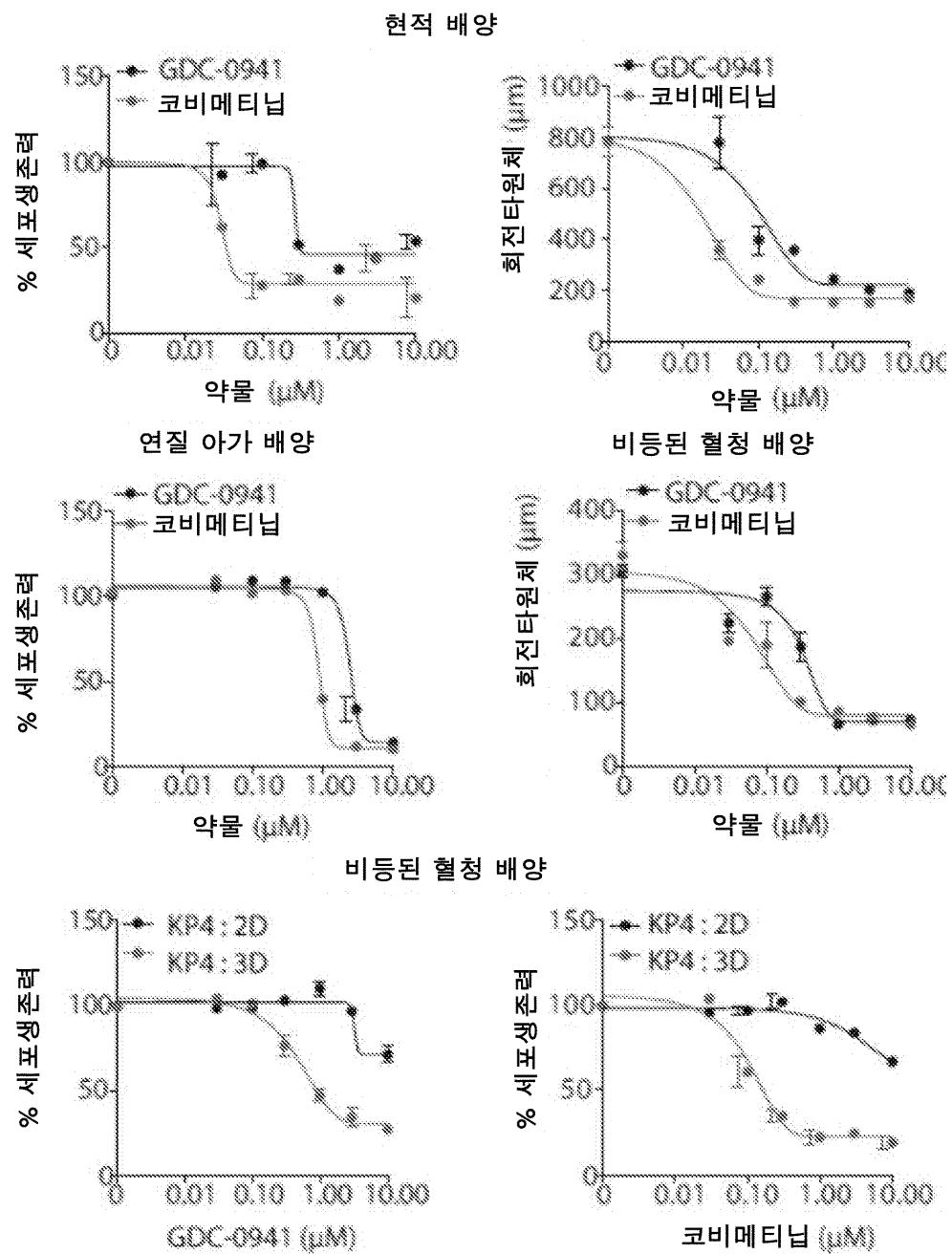
도면27b



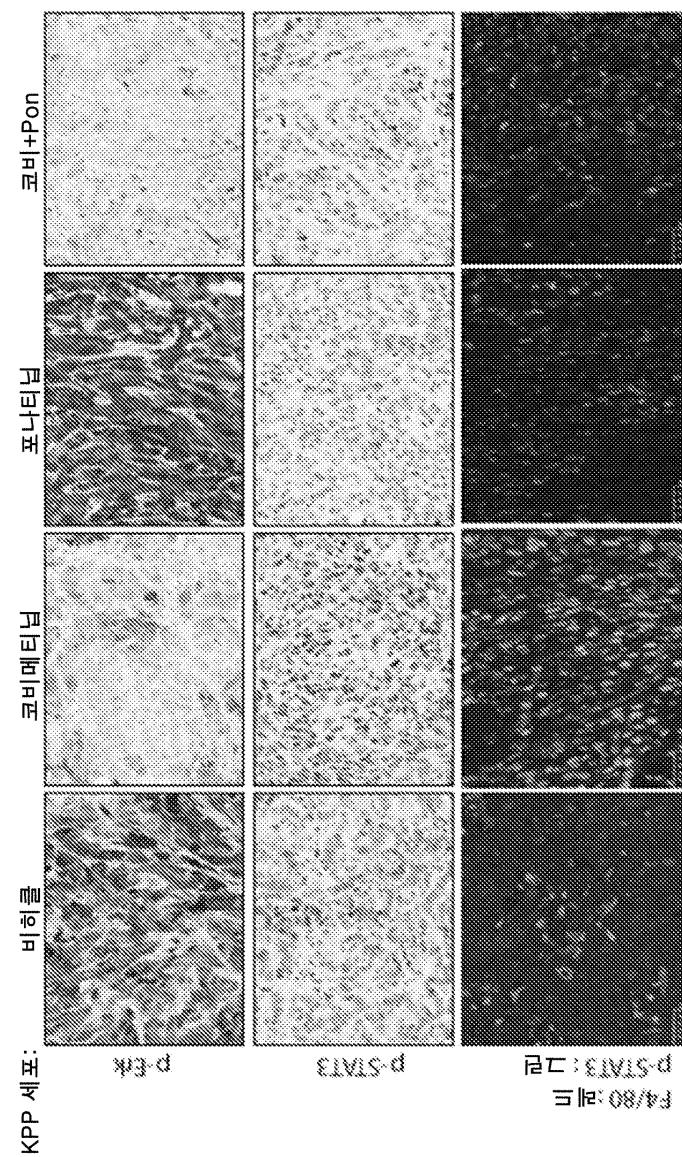
도면28



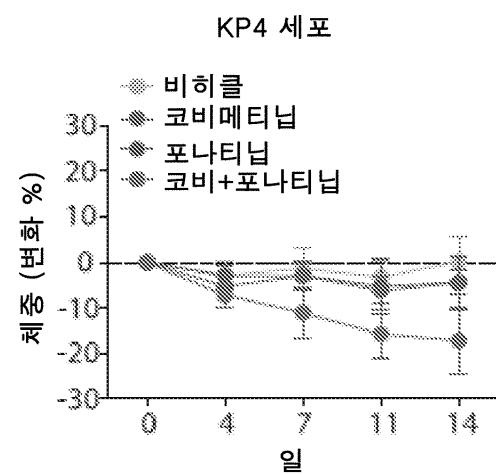
도면29



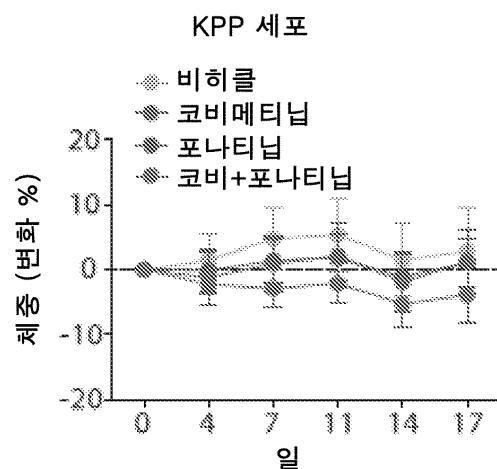
도면30



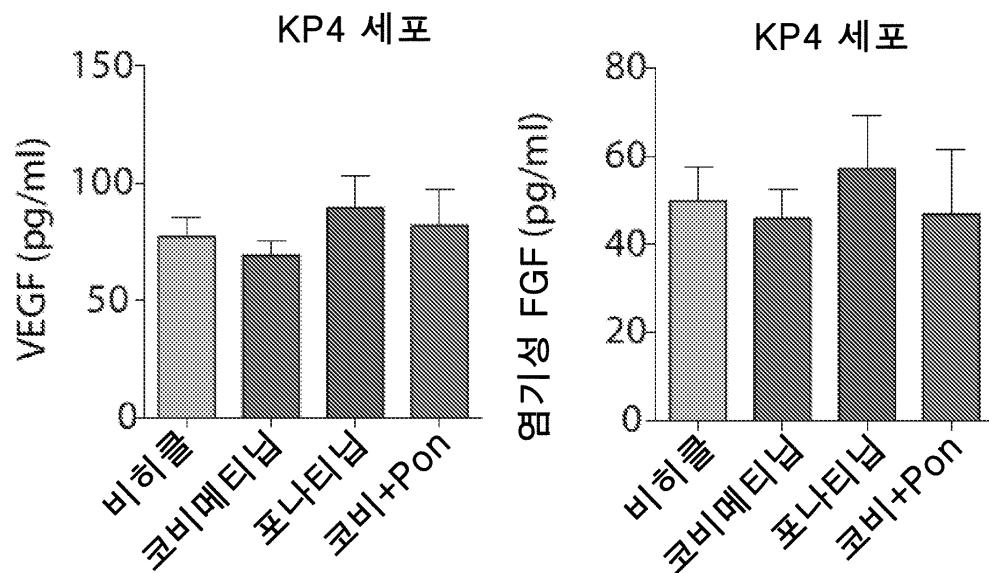
도면31a



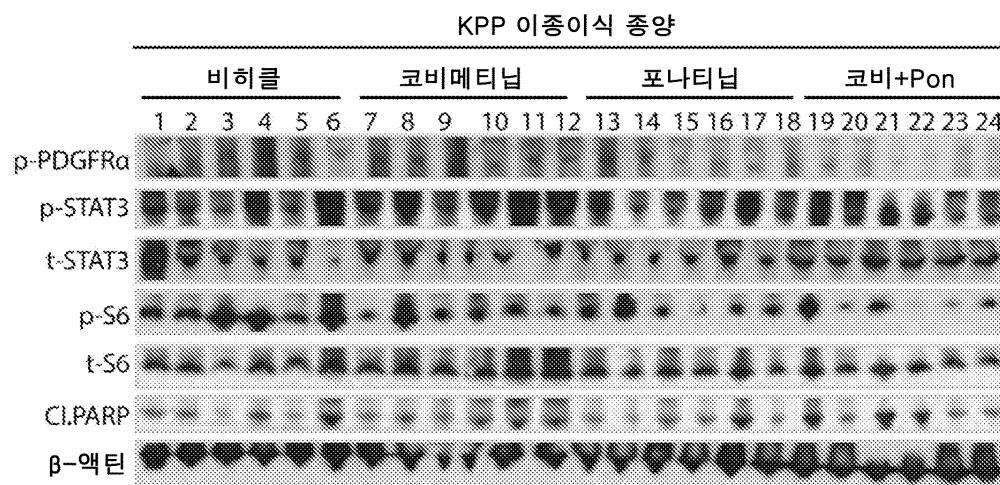
도면31b



도면32



도면33



서 열 목록

<110> Genentech, Inc.
Settleman, Jeff
Sahu, Nisebita
<120> COMBINATION THERAPY FOR THE TREATMENT OF PANCREATIC CANCER
<130> 047200/501159
<150> 62/378,322
<151> 2016-08-23
<160> 1
<170> KoPatent In version 3.0
<210> 1
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Sequence
<400> 1

aatcttagca ggaagggtgcc t

21