



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년07월08일

(11) 등록번호 10-2418765

(24) 등록일자 2022년07월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/55 (2006.01) A61K 31/506 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류
A61K 31/55 (2013.01)
A61K 31/506 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2018-7032285

(22) 출원일자(국제) 2017년04월05일

심사청구일자 2020년04월03일

(85) 번역문제출일자 2018년11월07일

(65) 공개번호 10-2018-0129918

(43) 공개일자 2018년12월05일

(86) 국제출원번호 PCT/US2017/026134

(87) 국제공개번호 WO 2017/180389

국제공개일자 2017년10월19일

(30) 우선권주장

62/321,311 2016년04월12일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

WO2013016081 A1

WO2012097039 A1

Bender et al., Cancer Res, vol 15, pp1131,
2013. 04

(73) 특허권자

일라이 릴리 앤드 캄파니

미국 46285 인디애나주 인디애나폴리스 릴리 코포
레이트 센터

(72) 발명자

베크만, 리차드 폴

미국 46206-6288 인디애나주 인디애나폴리스 피.
오. 박스 6288 일라이 릴리 앤드 캄파니 내

파텔, 브라빈 쿠마르

미국 46206-6288 인디애나주 인디애나폴리스 피.
오. 박스 6288 일라이 릴리 앤드 캄파니 내

(74) 대리인

장덕순, 김영

전체 청구항 수 : 총 23 항

심사관 : 신영신

(54) 발명의 명칭 암 치료를 위한 Notch 및 CDK4/6 억제제의 조합 요법

(57) 요약

4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물, 및 N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 동시에, 별도로 또는 순차적으로 투여함으로써, 환자에서 급성 골수 백혈병, 만성 골수 백혈병, 유방암, 난소암, 악성 흑색종, 폐암, 췌장암, 교모세포종, 육종, 데스모이드 종양, 선양 양성 암종 (ACC), 결장직장암, 전립선암, 또는 수모세포종의 치료에 사용하기 위한 의약.

(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물을 포함하는 폐암 치료에 사용하기 위한 제약 조성물이며, N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민, 또는 그의 제약상 허용되는 염과 조합하여 사용되는 제약 조성물.

청구항 2

N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하는 폐암 치료에 사용하기 위한 제약 조성물이며, 4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물과 조합하여 사용되는 제약 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 암의 치료는 4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물, 및 N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민, 또는 그의 제약상 허용되는 염의 동시, 별도 또는 순차적 투여에 의한, 제약 조성물.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물의 양은 2.5 mg 내지 75 mg인 제약 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물의 양은 5 mg 내지 50 mg인 제약 조성물.

청구항 6

제4항에 있어서, 4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물의 양은 25 mg인 제약 조성물.

청구항 7

제4항에 있어서, 4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물의 양은 50 mg인 제약 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서, 5일의 기간에 걸쳐 격일로 1일 1회 사용하고, 이어서 2일에 걸쳐 투여하지 않는 (T.I.W.) 제약 조성물.

청구항 9

제2항에 있어서, N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민, 또는 그의 제약상 허용되는 염은 1일 2회 (B.I.D.) 사용하기 위한 것인 제약 조성물.

청구항 10

제1항 또는 제2항에 있어서, N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민, 또는 그의 제약상 허용되는 염의 양은 75 mg 내지 200 mg인 제약 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서, N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민, 또는 그의 제약상 허용되는 염의 양은 100 mg 내지 150 mg인 제약 조성물.

청구항 12

제10항에 있어서, N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민, 또는 그의 제약상 허용되는 염의 양은 100 mg인 제약 조성물.

청구항 13

제10항에 있어서, N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민, 또는 그의 제약상 허용되는 염의 양은 150 mg인 제약 조성물.

청구항 14

제10항에 있어서, N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민, 또는 그의 제약상 허용되는 염은 1일 2회 (B.I.D.) 사용하기 위한 것인 제약 조성물.

청구항 15

제4항에 있어서, 4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물은 5일의 기간에 걸쳐 격일로 1일 1회 사용하고, 이어서 2일에 걸쳐 투여하지 않는 (T.I.W.) 것인 제약 조성물.

청구항 16

제1항 또는 제2항에 있어서, 4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물, 및 N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민, 또는 그의 제약상 허용되는 염은 경구 투여를 위해 제형화된 것인 제약 조성물.

청구항 17

제4항에 있어서, N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민 또는 그의 제약상 허용되는 염의 양은 75 mg 내지 200 mg인 제약 조성물.

청구항 18

제5항에 있어서, N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민 또는 그의 제약상 허용되는 염의 양은 100 mg 내지 150 mg인 제

약 조성물.

청구항 19

제1항 또는 제2항에 있어서, 4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물의 양은 25 mg 또는 50 mg이고, N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민, 또는 그의 제약상 허용되는 염의 양은 100 mg 또는 150 mg인 제약 조성물.

청구항 20

제17항에 있어서, N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민 또는 그의 제약상 허용되는 염은 1일 2회 (B.I.D.) 사용하기 위한 것이고, 4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물은 5일의 기간에 걸쳐 격일로 1일 1회 사용하고, 이어서 2일에 걸쳐 투여하지 않게 (T.I.W.) 사용하기 위한 것인 제약 조성물.

청구항 21

제18항에 있어서, N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민 또는 그의 제약상 허용되는 염은 1일 2회 (B.I.D.) 사용하기 위한 것이고, 4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물은 5일의 기간에 걸쳐 격일로 1일 1회 사용하고, 이어서 2일에 걸쳐 투여하지 않게 (T.I.W.) 사용하기 위한 것인 제약 조성물.

청구항 22

제19항에 있어서, N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민 또는 그의 제약상 허용되는 염은 1일 2회 (B.I.D.) 사용하기 위한 것이고, 4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물은 5일의 기간에 걸쳐 격일로 1일 1회 사용하고, 이어서 2일에 걸쳐 투여하지 않게 (T.I.W.) 사용하기 위한 것인 제약 조성물.

청구항 23

4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물, 및 N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하는 폐암 치료에 사용하기 위한 제약 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물 (화합물 A) 및 N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민, 또는 그의 제약상 허용되는 염 (화합물 B)을 사용하는 조합물 암 요법, 및 급성 골수 백혈병, 만성 골수 백혈병, 유방암, 난소암, 악성 흑색종, 폐암, 췌장암, 교모세포종, 육종, 데스모이드 종양, 선양 양성 암종 (ACC), 결장직장암, 전립선암, 또는 수모세포종의 치료를 위해 조합물을 사용하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물은 Notch 경로 신호전달 억제제

화합물이다. Notch 신호전달은 발달 및 조직 항상성 동안에 중요한 역할을 한다. 리간드 및/또는 수용체의 돌연변이, 증폭 또는 과다발현으로 인한 Notch 신호전달의 조절 이상은 수많은 악성 종양과 관련이 있다. Notch 신호전달의 억제는 암 치료제의 개발을 위한 잠재적인 표적이다. T-세포 급성 림프모구성 백혈병, 급성 림프모구성 백혈병, 급성 골수 백혈병, 만성 골수 백혈병, 적백혈병, 유방암, 난소암, 흑색종, 폐암, 췌장암, 교모세포종, 결장직장암, 두경부암, 자궁경부암, 전립선암, 간암, 편평 세포 암종 (경구), 피부암 및 수모세포종의 치료를 위한 화합물 A, 및 상기 화합물의 제조 및 사용 방법은 WO 2013/016081에 개시되어 있다. 화합물 A는 정의된 분자 경로 변경 또는 조직 기반 악성 종양을 갖는 1상 임상 시험 및 확장 코호트에서, 및 T-세포 급성 림프모구성 백혈병 또는 T-세포 림프모구성 림프종 (T-ALL/T-LBL)을 가진 환자의 임상 시험에서 연구되고 있다.

[0003] N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민 (아베마시클립)은 시클린 의존성 키나제 4 및 6 (CDK4/6)의 억제제이다. 인간 종양을 비롯한 여러 포유류 종양은 변형을 획득하고, 이러한 변형은 시클린-의존성 키나제 (CDK) CDK4 및 CDK6의 활성화를 유도할 수 있다. 이들 변형에는 CDK4 및 CDK6을 직접적으로 활성화시키는 돌연변이, 다양한 단백질 활성화제, 예컨대 시클린 D의 발현을 증가시키는 유전자 증폭, 뿐만 아니라 단백질 억제제, 예컨대 p16의 발현을 감소시키는 유전자 손실이 포함된다. 이들 다양한 메커니즘 뿐만 아니라 망막모세포종 (Rb)의 손실은 정상적인 조건 하에 성장을 자극하는데 필요한 외부 성장 인자 및 분열촉진 신호전달 경로에 대한 의존성을 감소 시킴으로써 증식 잠재력을 강화시킬 수 있다. 결장직장암, 유방암, 난소암, 폐암, 특히 비소세포 폐암 (NSCLC), 전립선암, 흑색종, 예컨대 악성 흑색종 및 전이성 악성 흑색종, 췌장암, 교모세포종, 수모세포종, 맨틀 세포 림프종, 만성 골수 백혈병 (CML), 및 급성 골수 백혈병 (AML)의 치료를 위한 아베마시클립, 및 상기 화합물의 제조 및 사용 방법은 WO2010/075074에 개시되어 있다. 화합물 B는 전이성 유방암, 전이성 유방암 (풀베스트란트와 조합하여), KRAS 돌연변이성 비소세포 폐암 (NSCLC), 전이성 유방암 (레트로졸 또는 아나스트로졸과 조합하여) 및 맨틀 세포 림프종의 치료를 위한 임상 시험에서 연구되고 있다.

[0004] CDK4 및 CDK6 억제제 및 Notch 신호전달 경로 억제제의 조합물은 관련 기술분야에 공지되어 있다 (Joshi et al., *Blood*, 2009, 113(8): 1689-1698; Rao et al., *Cancer Res.*, 2009, 69(7): 3060-3068).

[0005] 암을 가진 환자에 대한 기존의 치료 옵션에도 불구하고, 치료 방식에서 강화된 효능 및 낮은 독성 중 하나 또는 둘 다를 제공하는 신규하고 상이한 치료제가 계속해서 요구되고 있다.

발명의 내용

[0006] 본 발명은 작용제 단독에 의해 제공되는 치료 효과에 비해 화합물 A 및 화합물 B의 조합된 활성으로부터 유익한 치료 효과를 제공한다고 믿는다.

[0007] 본 발명의 한 측면은 치료가 필요한 환자에게 유효량의 4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물, 및 유효량의 N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 환자에서 급성 골수 백혈병, 만성 골수 백혈병, 유방암, 난소암, 악성 흑색종, 폐암, 췌장암, 교모세포종, 육종, 데스모이드 종양, 선양 양성 암종 (ACC), 결장직장암, 전립선암, 또는 수모세포종을 치료하는 방법을 제공한다.

[0008] 본 발명의 추가의 측면은 치료가 필요한 환자에게 유효량의 4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물, 및 유효량의 N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 환자에서 폐암을 치료하는 방법을 제공한다.

[0009] 본 발명의 또 다른 측면은 치료가 필요한 환자에게 유효량의 4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물, 및 유효량의 N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 동시에, 별도로 또는 순차적으로 투여하는 것을 포함하는, 환자에서 급성 골수 백혈병, 만성 골수 백혈병, 유방암, 난소암, 악성 흑색종, 폐암, 췌장암, 교모세포종, 육종, 데스모이드 종양, 선양 양성 암종 (ACC), 결장직장암, 전립선암, 또는 수모세포종을 치료하는 방법을 제공한다.

- [0010] 본 발명의 추가의 측면은 치료가 필요한 환자에게 유효량의 4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물, 및 유효량의 N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 동시에, 별도로 또는 순차적으로 투여하는 것을 포함하는, 환자에서 폐암을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0011] 본 발명의 또 다른 측면은 급성 골수 백혈병, 만성 골수 백혈병, 유방암, 난소암, 악성 흑색종, 폐암, 췌장암, 교모세포종, 육종, 데스모이드 종양, 선양 양성 암종 (ACC), 결장직장암, 전립선암, 또는 수모세포종의 치료에서의 동시, 별도 또는 순차적 사용을 위한, 화합물 4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물; 및 화합물 N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다.
- [0012] 본 발명의 추가의 측면은 폐암의 치료에서의 동시, 별도 또는 순차적 사용을 위한 화합물 4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물; 및 화합물 N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다.
- [0013] 본 발명의 추가의 측면은
- [0014] 급성 골수 백혈병, 만성 골수 백혈병, 유방암, 난소암, 악성 흑색종, 폐암, 췌장암, 교모세포종, 육종, 데스모이드 종양, 선양 양성 암종 (ACC), 결장직장암, 전립선암, 또는 수모세포종의 동시, 별도 또는 순차적 치료를 위한,
- [0015] 의약의 제조를 위한 4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물의 용도; 및 의약의 제조를 위한 N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민, 또는 그의 제약상 허용되는 염의 용도를 제공한다.
- [0016] 본 발명의 또 다른 측면은 폐암의 동시, 별도 또는 순차적 치료를 위한 의약의 제조를 위한 4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물의 용도; 및 의약의 제조를 위한 N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민, 또는 그의 제약상 허용되는 염의 용도를 제공한다.
- [0017] 본 발명의 추가의 측면은 각각의 치료제의 별도의 조성물, 또는 본 발명의 치료제의 조합물을, 급성 골수 백혈병, 만성 골수 백혈병, 유방암, 난소암, 악성 흑색종, 폐암, 췌장암, 교모세포종, 육종, 데스모이드 종양, 선양 양성 암종 (ACC), 결장직장암, 전립선암, 또는 수모세포종을 치료하는데 사용하기 위한 동시, 별도 또는 순차적 투여에 대한 지침서와 함께 포함하는 상업용 패키지이다.
- [0018] 본 발명의 여전히 추가의 측면은 각각의 치료제의 별도의 조성물, 또는 본 발명의 치료제의 조합물을, 폐암을 치료하는데 사용하기 위한 동시, 별도 또는 순차적 투여에 대한 지침서와 함께 포함하는 상업용 패키지이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0019] 화합물
4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물, (화합물 A)는 CAS 등록 번호 142138-81-4를 갖는다. 대안적으로, 상기 화합물은 N-[(1S)-2-[[[(7S)-6,7-디히드로-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-5H-피리도[3,2-a][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소에틸]-4,4,4-트리플루오로부탄아미드로 명명될 수 있다. 화합물 A를 명료하게 확인하기 위해 다른 명칭이 사용될 수 있다.
- [0020] 화합물 N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민, 또는 그의 제약상 허용되는 염, (화합물 B)는 CAS 등록 번호 1231929-97-7을 갖는다. 상기 화합물의 일반명은 아베마시클립이다. 대안적인 화합물 명칭에는 2-피리미딘아민, N-[5-(4-에틸-1-피페라지닐)메틸]-2-피리디닐]-5-플루오로-4[4-플루오로-2-메틸-1-(1-메틸에틸)-1H-벤조이미다졸-

6-일]-, 1-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민, 및 [5-((4-에틸피페라진-1-일)메틸)피리딘-2-일]-5-플루오로-4-(4-플루오로-1-이소프로필-2-메틸-1H-벤조[d]이미다졸-6-일)피리미딘-2-아민이 포함된다. 화합물 B를 명료하게 확인하기 위해 다른 명칭이 사용될 수 있다.

[0021] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "환자"는 포유류, 바람직하게는 인간을 지칭한다.

[0022] "치료 유효량" 또는 "유효량"은 환자에서 종양 세포 성장을 억제하고 암의 진행을 제거하거나 늦추거나 정지시키기 위해 필요한 화합물 A 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물, 또는 화합물 A 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물을 함유하는 제약 조성물의 용량, 및 화합물 B 또는 그의 제약상 허용되는 염, 또는 화합물 B 또는 그의 제약상 허용되는 염을 함유하는 제약 조성물의 용량을 의미한다. 화합물 A 또는 그의 제약상 허용되는 염의 예상 용량은 2.5 mg/환자 내지 75 mg/환자의 범위의 T.I.W.이다. 화합물 B 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물의 예상 용량은 75 mg 내지 200 mg의 범위를 1일 2회 투여하는 것이다 (B.I.D.). 화합물 A 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물의 바람직한 용량은 5 mg 내지 50 mg 범위의 T.I.W로 예상되고, 화합물 B 또는 그의 제약상 허용되는 염은 1일 2회 100 mg 내지 150 mg의 범위로 예상된다. 환자의 치료를 위해 필요한 정확한 용량 및 치료 기간은 질환의 단계 및 중증도 뿐만 아니라 개별 환자의 구체적인 요구 및 반응의 측면에서 의사에 의해 결정될 것이다. 투여는 환자에게 더욱 최적의 치료 이익을 제공하고, 임의의 약물 관련 독성을 다루거나 개선시키도록 조정될 수 있다. 대안적인 투여 스케줄, 예컨대 1일 1회 (QD), 1일 2회 (B.I.D.), 1일 3회 (T.I.D.); 격일로 1일 1회 투여 (Q2D); 5일에 걸쳐 격일로 1일 1회 투여한 후, 2일에 걸쳐 투여하지 않음 (T.I.W.); 또는 3일마다 (Q3D)가 화합물 A 및 화합물 B 각각에 대해 적합할 것이다.

[0023] 본 발명의 조합 요법은 치료가 필요한 폐암 환자 또는 다른 명명된 암 환자에게 유효량의 화합물 A 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물을 14-28일 주기에 걸쳐 매주 (7일) 5일에 걸쳐 격일로 1일 1회 투여하고 2일에 걸쳐 투여하지 않고, 화합물 B 또는 그의 제약상 허용되는 염을 14-28일 주기에 걸쳐 1일 2회 투여함으로써 수행된다.

[0024] 용어 "치료", "치료하다" 및 "치료하는"은 암의 증상 중 하나 이상을 완화시키거나 늦추거나 중단시키거나 역전시키기 위해, 또는 암이 실제로 제거되지 않더라도 암의 진행을 지연시키거나 중단시키거나 역전시키기 위해 화합물 A 및 B를 투여하는 것과 같이, 환자가 고통받고 있는 암에 대한 모든 범위의 개입을 포함하는 것을 의미한다.

[0025] 화합물 A 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물은 바람직하게는 제약상 허용되는 담체를 사용하여 제약 조성물로서 제형화되고, 다양한 경로에 의해 투여된다. 바람직하게는, 이러한 조성물은 경구 투여용이다. 화합물 B 또는 그의 제약상 허용되는 염은 바람직하게는 제약상 허용되는 담체를 사용하여 제약 조성물로서 제형화되고, 다양한 경로에 의해 투여된다. 바람직하게는, 이러한 조성물은 경구 투여용이다. 이러한 제약 조성물 및 그의 제조 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS, 5th edition, Rowe et al., Eds., Pharmaceutical Press (2006); 및 REMINGTON: THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY (Troy, et al., Eds., 21st edition, Lippincott Williams & Wilkins (2006)]을 참고한다.

[0026] 화합물 A 및 화합물 B 각각은 제약상 허용되는 염을 형성하기 위해 수많은 무기 및 유기 반대이온과 반응할 수 있다. 이러한 제약상 허용되는 염 및 그의 제조에 대한 일반적인 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [P. Stahl, et al., HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL SALTS: PROPERTIES, SELECTION AND USE, (VCHA/Wiley-VCH, 2002); S.M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts, " *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 66, No. 1, January 1977]을 참고한다.

[0027] 본 발명의 조합물 치료의 효능은 암 치료를 평가하기 위해 흔히 사용되는 다양한 종료점, 예컨대 비제한적으로 종양 퇴행, 종양 중량 또는 크기 축소, 진행까지의 시간, 전체 생존, 무진행 생존, 전체 반응을, 반응 지속시간, 및 종양 퇴행없이 전이성 전파의 억제에 의해 측정될 수 있다.

[0028] 용어 "조합물" 및 "제약 조합물"은 1) 하나의 투약 단위 형태의 고정 용량 조합물; 또는 2) 임의적으로 조합된 투여를 위해 함께 패키징된, 비-고정 용량 조합물을 지칭한다

[0029] 용어 "동시에" 투여는 단일 작용으로 화합물 A 및 화합물 B 각각을 환자에게 투여하는 것을 의미하며, 예컨대 두 작용제를 투여를 위해 단일 투약 형태 (고정 용량 조합물)로 도입하고, 화합물 A 및 화합물 B 각각을 실질적

으로 동시에 독립적으로 투여하거나 또는 화합물 A 및 B가 협동 치료 효과를 나타낼 수 있게 하는 시간 간격 내에서 별도로 투여한다.

- [0030] 용어 "별도로" 투여는 비-고정 용량 조합물 투약 형태로부터 화합물 A 및 화합물 B 각각을 동시에, 실질적으로 공동으로, 또는 순차적으로 임의의 순서로 환자에게 투여하는 것을 의미한다. 각각의 화합물의 투여를 위한 구체적인 시간 간격이 있거나 없을 수 있다.
- [0031] 용어 "순차적으로" 투여는 별도의 작용으로 비-고정 (별도의) 투약 형태로부터 화합물 A 및 화합물 B 각각을 환자에게 투여하는 것을 의미한다. 2가지 투여 작용은 명시된 시간 간격에 의해 연결될 수 있다. 예를 들어, 화합물 A 매일 투여 및 화합물 B 격일 투여.
- [0032] 문구 "와 조합하여"는 화합물 A 및 화합물 B 각각을 치료가 필요한 암 환자에게의 동시, 별도 및 순차적 투여를 포함한다.
- [0033] 용어 "공동 투여" 또는 "조합된 투여"는 치료제들을 단일 환자에게 투여하는 것을 포괄하고, 작용제들이 상이한 투여 경로에 의해 또는 상이한 시간에서 투여될 수 있는 치료 방식을 포함한다.
- [0034] 단일 환자에서 단독으로 투여된 각각의 작용제의 단순한 상가적 효과보다 더 큰 효과를 나타내는 두 가지 치료제의 유익한 작용은 예를 들어 관련 기술분야에 공지된 적합한 방법, 예컨대 S자형-E_{max} 방정식 (Holford and Scheiner, *Clin. Pharmacokinet.*, 1981, 6: 429-453), 로에베 상가성의 방정식 (Loewe and Muischenk, *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.*, 1926, 114: 313-326), 중간 효과 방정식 (Chou and Talalay, *Adv. Enzyme Regul.*, 1984, 22: 27-55), 또는 블리스 인디펜던스(Bliss Independence) 방법을 이용하여 계산될 수 있다. 각각의 방정식 또는 분석을 실험 데이터에 적용하여, 약물 조합물의 효과를 평가하는데 도움이 되도록 상응하는 그래프를 생성할 수 있다. 상기 방정식과 관련된 상응하는 그래프에는 농도-효과 곡선, 이소볼로그래프 곡선 및 조합 지수 곡선이 포함된다.
- [0035] 암은 세포 및 조직 미세환경에서 DNA 복구, 게놈 안정성, 세포 증식, 세포 사망, 부착, 혈관신생, 침윤 및 전이를 조절하는 하나 이상의 유전자의 비정상적인 기능에 의해 개시 및 진행이 유도되는 질환의 다차원적인 집합으로서 점점 인식된다. "암" 유전자의 변이성 또는 비정상적 기능은 천연 발생 DNA 다형성, 게놈 카피 개수에서의 변화 (증폭, 결실, 염색체 손실, 또는 복제를 통해), 유전자 및 염색체 구조에서의 변화 (염색체 전좌, 역전, 또는 조절되지 않는 유전자 발현을 초래하는 다른 재배열을 통해), 및 점 돌연변이에 의해 발생할 수 있다. 암성 신생물은 하나의 비정상적인 유전자 기능에 의해 유도되어, 동일한 비정상적인 유전자 기능에 의해 유지될 수 있거나, 또는 추가의 비정상적인 유전자 기능에 의해 유지 및 진행이 악화될 수 있다.
- [0036] 상기 언급된 유전적 염색체 비정상을 넘어서서, 각각의 암은 또한 DNA 메틸화, 유전체 각인, 및 아세틸화, 메틸화 또는 인산화에 의한 히스톤 변형을 비롯한 게놈의 후성적 변형을 포함할 수 있다. 후성적 변형은 악성 종양의 유도 및/또는 유지에서 중요한 역할을 할 수 있다.
- [0037] 상기 언급한 바와 같이 암의 성질은 다원적이다. 적절한 상황 하에, 상이한 작용 메커니즘을 갖는 치료제를 조합할 수 있다. 그러나, 상이한 작용 방식을 갖는 치료제들의 조합물을 고려하는 것만으로는 반드시 유리한 효과를 갖는 조합물이 생성되는 것은 아니다. 입증된 유익한 효과 (치료 효과, 예컨대 강화된 효능 및/또는 낮은 독성)를 제공하는 특정한 치료제들이 각각의 치료제를 독립적으로 이용하는 단독요법에 비해 바람직하다.
- [0038] 본 발명의 조합물은 표준 요법이 실패했던 폐암 환자의 치료에 특히 적합하다. 여기에는 단독요법에 내성을 나타내거나 본 발명과 상이한 조합물에 대해 내성을 나타내는 폐암을 가진 환자가 포함된다.
- [0039] 용어 "완전 반응" (CR), "부분 반응" (PR), "진행성 질환" (PD), "안정한 질환" (SD), "객관적 반응" (OR)은 문헌 [RECIST v1.1, Eisenhauer et al., *European Journal of Cancer*, 2009, 45, 228-247]에 따른 정의와 일치하게 사용된다.
- [0040] 용어 "질환 진행까지의 시간" (TTP)은 초기 치료 시점에서부터 암이 진행될 때까지의 시간 (일반적으로 주 또는 개월 단위로 측정됨)이며 (진행성 질환에 대한 RECIST v1.1 정의 참고), 상기 진행은 연구시 가장 적은 합계 (여기에는 연구시 기준선 합계가 가장 적은 경우에는 기준선 합계가 포함됨)를 기준으로 하여 표적 병변의 직경의 합계가 적어도 20% 증가하는 것이다. 20%의 상대적인 증가 외에도, 상기 합계는 또한 적어도 5 mm의 절대적인 증가를 입증해야 한다. 1개 이상의 새로운 병변의 출현 또한 진행으로 고려된다. 이러한 진행은 임상적에 의해 평가된다.
- [0041] 용어 "TTP 연장"은 i) 치료되지 않은 환자 또는 ii) 화합물 A 및 화합물 B 둘 다보다 적게 치료된 환자에 비해,

치료된 환자에서 질환 진행까지의 시간의 증가를 지칭한다.

- [0042] 용어 "생존"은 살아남은 환자를 지칭하며, 전체 생존 뿐만 아니라 무진행 생존을 포함한다.
- [0043] 용어 "전체 생존"은 진단 또는 치료 시점에서부터 1년, 5년 등과 같이 정의된 시간 동안 살아남은 환자를 지칭한다.
- [0044] 용어 "무진행 생존"은 암의 진행이 없이 살아남은 환자를 지칭한다.
- [0045] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "생존 연장"은 i) 치료되지 않은 환자, ii) 화합물 A 및 화합물 B 둘 다보다 적게 치료된 환자 또는 iii) 대조군 치료 프로토콜에 비해, 치료된 환자에서 전체 또는 무진행 생존의 증가를 의미한다. 생존은 치료 시작후 또는 암의 초기 진단후 1개월, 6개월, 1년, 5년 또는 10년 등과 같이 정의된 시간 동안 모니터링된다.
- [0046] 용어 "원발성 종양" 또는 "원발성 병변"은 환자의 신체에서 또 다른 조직, 장기 또는 위치에 있는 전이성 종양 또는 병변이 아니라 원래의 암을 의미한다.
- [0047] 한 실시양태에서, 화합물 A의 용량은 최대 허용 용량에 도달할 때까지 증가되고, 본 발명의 화합물 B는 고정 용량으로 투여된다. 대안적으로, 화합물 A는 고정 용량으로 투여될 수 있고, 화합물 B의 용량을 증가시킬 수 있다. 각각의 환자는 매일 또는 간헐적으로 화합물 A 및/또는 화합물 B의 용량을 제공받을 수 있다. 치료 효능은 이러한 연구에서 예를 들어 12, 18 또는 24주 후에 6주마다 증상 점수를 평가함으로써 측정될 수 있다.
- [0048] 4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[[[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 수화물은 WO 2013/016081에 기재된 절차에 따라 제조될 수 있다.
- [0049] N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민 또는 그의 제약상 허용되는 염은 WO2010/075074에 개시된 절차에 따라 제조될 수 있다.
- [0050] 하기 생물학적 실시예는 화합물 A 단독, 화합물 B 단독, 및 화합물 A 및 화합물 B의 조합물 각각의 활성을 예시한다.
- [0051] 생물학적 실시예 1
- [0052] 비소세포 폐암 (NSCLC) 세포주 NCI-H441 (HTB-174로서 ATCC®) 및 NCI-H2122 (CRL-5985로서 ATCC®)를 37°C에서 대기 중의 습도를 갖는 5% CO₂ 하에 2 mM L-글루타민, 10 mM HEPS, 1 mM 피루브산나트륨, 4500 mg/L 글루코스, 1500 mg/L 중탄산나트륨, 및 10% 태아 소 혈청 (FBS)으로 보충된 RPMI-1640 배지에서 성장시켰다. 세포를 ATCC 절차에 따라 계대 배양하고, 1 μM의 화합물 A의 존재 또는 부재 하에 증가하는 농도의 아베마시클립 메실레이트 (화합물 B)로 처리하였다. 세포의 성장을 48시간 후에 셀타이터-글로(CellTiter-Glo) 검정 (프로메가 (Promega))에 의해 정량화하였다. 각각의 농도에서의 성장 억제제를 계산하고, IC₅₀ 값은 4-파라미터 농도-반응 곡선으로부터 결정하였다. 성장 곡선은 상기 조합물이 두 세포주 모두에서가 아니라 하나 (H2122)에서 성장 억제를 적당히 강화시켰음을 나타내었다. NCI-H441: 화합물 B IC₅₀ = 0.97 μM; 화합물 B + 화합물 A IC₅₀ = 0.78 μM. NCI-H2122: 화합물 B IC₅₀ = 0.45 μM; 화합물 B + 화합물 A IC₅₀ = 0.14 μM.
- [0053] 시간 곡선 연구: NCI-H441 및 NCI-H2122 NSCLC 세포주를 1 μM의 화합물 A로 4 또는 24시간 동안 처리하고, 수확하여, 세포 주기 억제제 p21 및 p27을 비롯한 세포 주기 바이오마커 발현, 뿐만 아니라 세포 주기 진행에 대한 마커, 예컨대 포스포-히스톤 H3 (pHH3) (M 상에 대한 마커), Topo 2A (S 상에 대한 마커), 포스포-ser780-RB (G1 뿐만 아니라 CDK4/6 억제에 대한 마커) 및 시클린 D1에 대한 효과를 평가하였다. 치료 24시간 후에 pHH3, Topo2A, pRB 및 전체 RB의 한계적 감소가 H2122 세포에서 관찰되었고, 이는 세포 주기의 가능한 억제를 나타낸다. 이들 데이터는 성장 억제에 대해 H2122 세포에서 관찰된 것 (조합물이 세포 성장에 대해 적당한 영향을 미침)과 상관관계가 있다.
- [0054] 농도-반응 연구: H2122 세포를 1 μM의 화합물 A의 존재 또는 부재 하에 다양한 농도 (0.05, 0.1, 0.2, 0.4 및 0.8 μM)의 화합물 B로 처리하였고, 여기서 상기 두 화합물을 배양물에 동시에 첨가하였다. 세포를 치료 24시간 후에 수확하고, 면역블롯팅에 의해 다양한 세포 주기 바이오마커의 발현에 대해 평가하였다. 선택적 CDK4/6 억제제로서, 화합물 B는 pRB (포스포-ser780-Rb), 전체 RB, Topo IIa 및 pHH3의 농도-의존성 억제를 나타내었

다. RB는 CDK4/6의 직접적인 키나제 표적이며, pRB의 억제제는 CDK4/6 억제제의 직접적인 척도를 제공한다. Topo IIA 및 pHH3의 억제제는 각각 세포 주기의 S 및 M 상을 통한 세포 주기 진행의 억제에 대한 지표이다. 결과는 화합물 A가 화합물 B에 의한 억제에 대한 이들 바이오마커의 민감성을 약간 증가시킨 것으로 나타났다. 1 μ M의 화합물 A 단독은 이들 바이오마커의 발현에 대한 효과가 없었다. 동일한 연구를 H441 세포주에서 수행하였다. 이 세포주에서는, 화합물 B 단독요법을 화합물 A와의 조합물 치료와 비교할 때, 세포 주기 바이오마커 발현에서 변화가 없었다. 이는 화합물 A의 조합물이 화합물 B에 의한 성장 억제를 강화시키지 않았음을 나타내는 세포 성장 연구와 일치한다.

[0055] 농도-반응 연구: H2122 세포를 1 μ M의 화합물 A의 존재 또는 부재 하에 다양한 농도 (0.05, 0.1, 0.2, 0.4 및 0.8 μ M)의 화합물 B로 처리하였고, 여기서 화합물 A는 화합물 B보다 하루 전에 배양물에 첨가하였다. 세포를 첨가 24시간 후에 수확하고, 면역블롯팅에 의해 다양한 세포 주기 바이오마커의 발현에 대해 평가하였다. 선택적 CDK4/6 억제제로서, 화합물 B는 pRB (포스포-ser780-Rb), 전체 RB, Topo IIA 및 pHH3의 농도-의존성 억제를 나타내었다. RB는 CDK4/6의 직접적인 키나제 표적이며, pRB의 억제제는 CDK4/6 억제제의 직접적인 척도를 제공한다. Topo IIA 및 pHH3의 억제제는 각각 세포 주기의 S 및 M 상을 통한 세포 주기 진행의 억제에 대한 지표이다. 결과는 화합물 A가 화합물 B에 의한 억제에 대한 이들 바이오마커의 민감성을 약간 증가시킨 것으로 나타났다. 1 μ M의 화합물 A 단독은 이들 바이오마커의 발현에 대한 효과가 없었다. 이들 데이터는 두 화합물을 동시에 첨가한 연구와 상이하지 않았다.

[0056] 생물학적 실시예 2

[0057] NCI-H2122는 인간 선암종 비소세포 폐암 세포주 (CRL-5985로서 ATCC®)이다. 세포를 37°C에서 공기 중의 습도를 갖는 5% CO₂ 하에 배양 배지에서 성장시켰다. NCI-H2122에 대한 세포 배양 배지는 2 mM L-글루타민, 10 mM 2-[4-(2-히드록시에틸)피페라진-1-일]에탄술포산 (HEPES), 1 mM 피루브산나트륨, 4500 mg/L 글루코스, 1500 mg/L 중탄산나트륨, 및 10% 태아 소 혈청 (FBS)을 갖는 RPMI-1640이다.

[0058] 생체내 효능을 평가하기 위해, 1:1 매트릭셀(Matrigel)® 믹스 (0.2 mL 부피) 중 5 x 10⁶ NCI-H2122 세포를 6-8 주령의 무홍선 누드 암컷 마우스 (할란 래버러토리즈(Harlan Laboratories))의 뒷다리에 피하 주사에 의해 이식하였다. 이식하기 직전에, 동물들을 방사선 조사하였다 (450 전선 방사선 조사). 마우스에게 정상적인 음식을 자유롭게 제공하였다. 종양 크기가 150 \pm 50 mm³에 도달하였을 때, 0.25% 트윈(Tween)®-80 중 1% 나트륨 카르복시메틸셀룰로스 (Na-CMC) 중의 화합물 A, 또는 인산염 완충제 (pH 2.0) 중 1% 히드록시에틸 셀룰로스 (HEC) 중의 화합물 B 또는 이들 각각의 비히클을 0.2 mL 부피로 경구 투여 (위관 영양)함으로써 치료를 개시하였다. 화합물 A는 2주 동안 수요일, 금요일 및 월요일 스케줄로 (TIW) 5 또는 8 mg/kg으로 투여하였고, 화합물 B는 14 일 동안 매일 25 또는 50 mg/kg으로 투여하였다.

[0059] 종양 성장 및 체중을 시간에 걸쳐 모니터링하여, 효능 및 독성 징후를 평가하였다. 종양의 이차원 측정을 1주 2회 수행하였고, 종양 부피를 하기 식에 기초하여 계산하였다: (종양 부피) = [(L) x (W²) x (π /6)] (여기서, L은 중간 축 길이이고, W는 중간 축 폭임). 종양 부피 데이터를 로그 규모로 변환하여, 시간 및 치료 그룹에 따른 변량을 동등하게 하였다. 로그 부피 데이터는 SASTM 소프트웨어 (버전 8.2)의 믹스드(MIXED)TM 절차를 이용하여 시간 및 치료에 의한 변량의 이원 반복 측정 분석으로 분석하였다. 반복 측정에 대한 상관관계 모델은 공간적 파워(spatial power)이다. 종양 부피 규모로 역대수화된, 반복 측정 분석으로부터의 최소 제곱 평균을 표 1에 나타내었다. 연구 27일째에 각각의 그룹 쌍을 비교하기 위한 P-값을 표 2에 나타내었다. 시험 그룹은 다음과 같다:

[0060] 1: 25 mM 인산염 완충제 (pH 2) 중 1% HEC, QD x14, PO / 1% CMC/0.25% 트윈 80/0.05% 소포제, / W-F-M x2, PO

[0061] 3: 화합물 B, 50 mg/kg, QD x 14, PO

[0062] 4: 화합물 A, 5 mg/kg, W-F-M x2, PO

[0063] 5: 화합물 A, 8 mg/kg, W-F-M x2, PO

[0064] 7: 화합물 B, 50 mg/kg, QD x 14, PO / 화합물 A, 5 mg/kg, W-F-M x2, PO

[0065] 8: 화합물 B, 50 mg/kg, QD x 14, PO / 화합물 A, 8 mg/kg, W-F-M x2, PO

[0066] 그룹 7 및 그룹 9를 합하여, 그룹 7로 표지하였는데, 왜냐하면 이들이 시험 절차와는 달리 동일한 치료 방식을 제공받았기 때문이다. 그룹 6은 감염으로 인해 조기에 종료되었고, 평가가능한 결과를 제공하지 않았다. 그룹

2는 그룹 6 조합물 치료에서의 화합물 B와 동일한 치료 방식으로 화합물 B의 단독 치료였기 때문에 나타내지 않았다.

인간 NCI-H2122 이종이식

표 1	기하 평균						
	연구 일수						
	6	9	13	16	20	23	27
그룹							
01	86.43	129.64	203.02	402.98	755.22	800.27	955.37
03	136.94	188.32	191.75	321.32	376.59	489.72	491.92
04	110.18	129.04	189.14	289.03	447.05	585.69	761.24
05	127.60	165.23	199.00	301.93	492.37	481.31	570.39
07	102.19	138.73	196.00	246.20	254.14	266.66	211.81
08	124.82	173.30	191.98	256.87	306.45	276.42	293.62

[0068] 표 2 그룹간 P-값 (반복 측정 ANOVA)

그룹	3	4	5	7	8	연구 일수
1	<0.001	0.212	0.005	<0.001	<0.001	27
3		0.017	0.415	<0.001	0.006	27
4			0.113	<0.001	<0.001	27
5				<0.001	<0.001	27
7					0.141	27

[0069]

[0070] 표 2는 50 mg/kg의 화합물 B 및 5 mg/kg의 화합물 A의 조합물 (그룹 7)이 이 시험에서 50 mg/kg의 화합물 B (그룹 3) 및 5 mg/kg의 화합물 A (그룹 4) 각각의 단독에 비해 통계적으로 유의한 종양 성장 억제 결과를 입증하였음을 나타낸다. 표 5는 또한 50 mg/kg의 화합물 B 및 8 mg/kg의 화합물 A의 조합물 (그룹 8)이 이 시험에서 50 mg/kg의 화합물 B (그룹 3) 및 8 mg/kg의 화합물 A (그룹 5) 각각의 단독에 비해 통계적으로 유의한 종양 성장 억제 결과를 입증하였음을 나타낸다.

[0071] **조합물 분석**

[0072] 이전에 기재된 반복 측정 분석을 이용하고 조합된 2가지 특정한 치료 (그룹 7)를 이용하여 연구 27일째에 상호 작용 효과에 대해 시험하기 위해 대조 성명을 사용하였다. 이 시험은 $p = 0.026$ 으로서 그룹 7에 대해 통계적으로 유의하였고, 이는 조합물 그룹에서 추정된 평균 종양 부피 (212 mm^3)가 블리스 인디펜던스 방법에 따라 예상된 상가적 종양 부피 ($492 \times 761 / 955 = 392 \text{ mm}^3$)보다 작기 때문에 상가적인 것보다 더 양호한 또는 상승작용적 활성을 입증하였다.

[0073] **임상적 평가**

[0074] 진행성 또는 전이성 고체 암 종양을 가진 환자에서 N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민과 조합된 4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일)아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드 수화물의 연구.

[0075] **연구 설계**

[0076] 이 연구는 다양한 고체 종양으로부터의 진행성/전이성 암을 가진 환자에서 용량 증가 단계에 이어서, 특정한 종양 유형에서 용량 확인 단계로 이루어지는 다기관 비무작위 개방-표지 연구이다. 용량 증가 단계에서, 적절한 환자는 28일 주기에 걸쳐, 경구 T.I.W.로 제공되는 화합물 A를, 경구로 12시간마다 제공되는 시클린-의존성 키나제 4 및 6 (CDK4/6) 억제제 (아베마시클립; 화합물 B)와 조합하여 제공받을 것이다. PK 평가를 위해 아베마시클립의 단일 용량이 3일 도입부 기간 동안 1일째에도 제공될 것이다 (용량 증가 단계에서만). 용량 확인 단계에서, Notch 경로 신호전달과 관련된 돌연변이, 증폭 또는 유전자 발현 변경을 갖는 전이성 유방암을 가진 대략 15명의 환자를 치료할 것이다.

[0077] **연구 목적**

[0078] 이 연구의 일차 목적은 아베마시클립 (화합물 B) 항암제와 조합된 화합물 A의 권장된 2상 용량을 결정하는 것이다.

[0079] 이 연구의 이차 목적은 국립 암 연구소 (National Cancer Institute, NCI)의 부작용에 대한 일반적인 용어 기준 (Common Terminology Criteria for Adverse Events, CTCAE) v4.0에 의해 평가되는 화합물 B와 조합된 화합물 A의 안전성 및 독성 프로파일을 특징분석하고; 화합물 A와 조합된 아베마시클립 및 그의 주요 활성 대사물인 5-플루오로-4-[4-플루오로-2-메틸-1-(1-메틸에틸)-1H-벤즈이미다졸-6-일]-N-[5-(피페라진-1-일메틸)피리딘-2-일]피리미딘-2-아민 및 {6-[2-(5-[(4-에틸피페라진-1-일)메틸]피리딘-2-일)아미노]-5-플루오로피리미딘-4-일]-4-플루오로-1-(프로판-2-일)-1H-벤즈이미다졸-2-일}메탄올의 PK 파라미터를 추정하고; 아베마시클립과 조합된 화합물 A에서 관찰되는 임의의 항종양 활성을 입증하고; 반응 지속기간 및 무진행 생존 (PFS)을 평가하기 위한

것이다.

[0080] 탐구적 목적은 Notch 활성의 지표인 바이오마커 또는 아베마시클립에 대한 화합물 A의 약력학적 (PD) 효과를 탐구하고; 아베마시클립과 조합된 화합물 A의 치료 효과를 평가하기 위한 양전자 방출 단층촬영 (PET) 스캔의 유용성을 탐구하고; 시토크롬 P450 (CYP) 효소, 예컨대 코티솔 및 6β-히드록시코티솔의 유도와 관련된 예상 바이오마커를 탐구하고; Notch 신호전달 경로 및 약물 표적 경로, 면역 기능, 연구 약물(들)의 작용 메카니즘 또는 질환 상태와 관련된 바이오마커 및 연구 목적과 관련된 그들의 잠재적인 연관성에 대해 종양 조직 및 혈액을 평가하기 위한 것이다.

[0081] 시험 약물

[0082] 28일 주기 동안 1주 (7일의 주) 3회로 캡슐로서 경구로 제공되는 25-50 mg 용량 범위의 4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드 수화물.

[0083] 28일 주기 동안 QD로 캡슐로서 경구로 제공되는 50 mg 용량의 N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민.

[0084] 4,4,4-트리플루오로-N-[(1S)-2-[(7S)-5-(2-히드록시에틸)-6-옥소-7H-피리도[2,3-d][3]벤즈아제핀-7-일]아미노]-1-메틸-2-옥소-에틸]부탄아미드 수화물은 경구 소모를 위해 보틀 내의 캡슐로서 공급된다. 이들 캡슐은 표지 상에 명시된 온도 범위 내에서 실온에서 보관되어야 한다.

[0085] N-[5-(4-에틸-피페라진-1-일메틸)-피리딘-2-일]-[5-플루오로-4-(7-플루오로-3-이소프로필-2-메틸-3H-벤조이미다졸-5-일)-피리미딘-2-일]-아민은 50 mg 하이포멜로스 캡슐로서 공급된다. 이들 캡슐은 표지 상에 명시된 온도 범위 내에서 실온에서 보관되어야 한다.

[0086] 계획된 치료 기간/투여

[0087] 용량 증가 연구의 특성상, 조합물의 최대 허용 용량 (MTD)이 결정될 때까지 데이터를 지속적으로 평가할 것이다. 용량 증가는 3+3 방법에 의해 진행될 것이다.

[0088] 각각의 새로운 용량 수준에서 최소 3명의 환자를 등록시킬 것이다. 화합물 A의 제1 주기 내에서 임의의 용량 수준에서 1명의 환자가 용량 제한 독성 (DLT)을 경험하는 경우에는, 해당 용량 수준에서 3명까지의 추가 환자를 등록시킬 것이다. 임의의 용량 수준에서 2명 이상의 환자에서 DLT가 관찰되는 경우에는, 용량 증가를 중단할 것이고, 이전의 용량 수준을 최대 허용 용량 (MTD)으로 선언하거나 또는 후원자와 연구자간의 논의에 따라 이전의 용량 수준과 현재의 용량 수준 사이의 중간 용량에서 추가의 환자를 치료할 수 있다.

[0089] 용량 증가 동안에, 화합물 A의 출발 용량은 25 mg TIW일 것이고, 화합물 B의 출발 용량은 100 mg BID일 것이다. 용량 증가는 표 3에 따라 진행될 것이다.

[0090] 표 3

[0091] 용량 증가 방식

용량 수준	화합물 A 용량 (mg)	화합물 B 용량 (mg)
1	25	100 BID
2	50	100 BID
3	50	150 BID

[0092]

[0093] 약어: BID = 1일 2회.

[0094] 평가 기준

[0095] 안전성: NCI CTCAE, 버전 4.0, 용량 제한 독성 (DLT).

[0096] 효능: 각각의 환자는 종양 측정에 대한 하기 방사선 시험 중 하나 이상에 의해 평가될 것이다: 컴퓨터 단층촬영 (CT) 스캔; 자기 공명 영상화 (MRI); 및 PET 스캔 (투여전 및 투여후). 각각의 환자의 전체 질병 범위 또한 다음과 같이 평가될 것이다:

[0097] RECIST 1.1 (Eisenhauer et al., *Eur. J. Cancer*, 2009; 45(2): 228-247)에 의한 종양 측정. 연조직 육종을

가진 환자에서 종양 측정 평가를 위해, RECIST 1.1 이외에도 Choi et al., *J. Clin. Oncol.*, 2007; 25(13): 1753-1759 반응 기준이 이용될 것이다. 교모세포종 환자에 대해서는 신경종양학 (RANO) 기준의 반응 평가가 이용될 것이다 (Wen et al., *J. Clin. Oncol.*, 2010; 28(11): 1963-1972);

[0098] 종양 마커의 평가 (표시된 경우);

[0099] 성능 상태의 평가 (동부 종양학 협력 그룹 (Eastern Cooperative Oncology Group, ECOG); Oken et al., *Am. J. Clin. Oncol.*, 1982; 5: 649-655).

[0100] 객관적 반응을 확인하기 위해, 모든 병변을 방사선학적으로 평가해야 하고, 기준선에서 사용된 샘플 방법을 이용하여, 초기 반응 결정을 위해 사용된 것과 동일한 방사선학적 방법을 객관적 반응의 초기 평가 이후 적어도 4 주째에 반복해야 한다. 환자가 연구를 중단한 경우에는, 진행성 질환의 명확한 임상적 징후가 존재한다면 반복 방사선 평가를 생략할 수 있다.