



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년12월12일
(11) 등록번호 10-2613106
(24) 등록일자 2023년12월08일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/506 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 31/506 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2017-7036772
- (22) 출원일자(국제) 2016년05월27일
심사청구일자 2021년04월28일
- (85) 번역문제출일자 2017년12월20일
- (65) 공개번호 10-2018-0011210
- (43) 공개일자 2018년01월31일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2016/034861
- (87) 국제공개번호 WO 2016/196385
국제공개일자 2016년12월08일
- (30) 우선권주장
62/168,530 2015년05월29일 미국(US)
62/263,582 2015년12월04일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
US20130040973 A1
WO2016004858 A1
WO2014004858 A1

- (73) 특허권자
포틀라 파마슈티컬스, 인코포레이티드
미국 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 슈트 22 그
랜드 애비뉴 270 이. (우편번호: 94080)
- (72) 발명자
판데이 안잘리
미국 94080 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 이
스트 그랜드 애비뉴 270 포틀라 파마슈티컬스, 인
코포레이티드 씨/오
코피 그레고리
미국 94080 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 이
스트 그랜드 애비뉴 270 포틀라 파마슈티컬스, 인
코포레이티드 씨/오
리즈 자넷
미국 94080 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 이
스트 그랜드 애비뉴 270 포틀라 파마슈티컬스, 인
코포레이티드 씨/오
- (74) 대리인
특허법인코리아나

전체 청구항 수 : 총 23 항

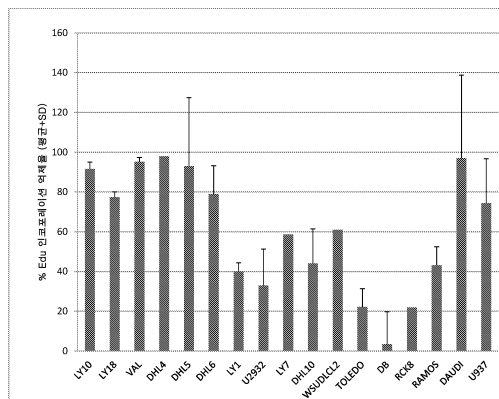
심사관 : 고일영

(54) 발명의 명칭 B-세포 악성종양의 치료를 위한 세르둘라티닙

(57) 요약

본 발명은 치료를 필요로 하는 인간 환자에서 재발성 또는 난치성 혈액암을 치료하기 위한 조성물 및 방법을 제 공한다. 상기 방법은 상기 환자에게 약 10 mg 내지 약 75 mg의 1일 투여량의 세르둘라티닙 또는 이의 약제학적으 로 허용가능한 염을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 환자는 B-세포 악성종양, 만성 림프구성 백혈병(CLL), 여포 성 림프종(FL), 미만성 거대 B-세포 림프종(DLBCL) 또는 기타 변형된 FL을 앓고 있고/있거나, 재발되었거나, 종 래의 화학요법에 반응하지 않았다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61P 35/00 (2018.01)

명세서

청구범위

청구항 1

10 mg 내지 75 mg의 1일 투여량의 세르둘라티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 혈액암의 치료를 필요로 하는 인간 환자에서 혈액암을 치료하기 위한 조성물로서,

상기 혈액암은 비-호지킨 림프종(NHL), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 소림프구성 림프종(SLL), 여포성 림프종(FL), 변형된 여포성 림프종(tFL), 미만성 거대 B-세포 림프종(DLBCL) 및 외투 세포 림프종(MCL)으로 구성된 군으로부터 선택되는, 조성물.

청구항 2

유효량의 세르둘라티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 재발성 또는 난치성 혈액암의 치료를 필요로 하는 환자에서 재발성 또는 난치성 혈액암을 치료하기 위한 조성물로서,

상기 혈액암은 비-호지킨 림프종(NHL), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 소림프구성 림프종(SLL), 여포성 림프종(FL), 변형된 여포성 림프종(tFL), 미만성 거대 B-세포 림프종(DLBCL) 및 외투 세포 림프종(MCL)으로 구성된 군으로부터 선택되는, 조성물.

청구항 3

유효량의 세르둘라티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 재발성 또는 난치성 혈액암의 치료를 필요로 하는 환자에서 재발성 또는 난치성 혈액암을 치료하기 위한 조성물로서,

상기 환자는 재발과 관련된 돌연변이 및/또는 혈액암 치료용 약물에 대한 내성을 가지며;

세르둘라티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 유효량은 세르둘라티닙 30 mg 내지 80 mg의 1일 투여량이고;

상기 혈액암은 비-호지킨 림프종(NHL), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 소림프구성 림프종(SLL), 여포성 림프종(FL), 변형된 여포성 림프종(tFL), 미만성 거대 B-세포 림프종(DLBCL) 및 외투 세포 림프종(MCL)으로 구성된 군으로부터 선택되는, 조성물.

청구항 4

청구항 1 또는 2에 있어서, 상기 환자는 재발과 관련된 돌연변이 및/또는 혈액암 치료용 약물에 대한 내성을 갖는, 조성물.

청구항 5

청구항 3에 있어서, 상기 환자는 de117p 돌연변이, P53 돌연변이, ATM 돌연변이, STAT 돌연변이, STAT6 돌연변이, C481S STAT6 돌연변이, NOTCH 경로와 관련된 돌연변이, 또는 카테린(Caderin) 경로와 관련된 돌연변이를 갖는, 조성물.

청구항 6

청구항 4에 있어서, 상기 환자는 de117p 돌연변이, P53 돌연변이, ATM 돌연변이, STAT 돌연변이, STAT6 돌연변이, C481S STAT6 돌연변이, NOTCH 경로와 관련된 돌연변이, 또는 카테린(Caderin) 경로와 관련된 돌연변이를 갖는, 조성물.

청구항 7

청구항 3에 있어서, 상기 환자는 P53, BTK 및 EP300 모두에서 돌연변이를 갖지 않는, 조성물.

청구항 8

청구항 3에 있어서, 상기 환자는 BTK 돌연변이를 갖는, 조성물.

청구항 9

청구항 3에 있어서, 상기 환자는 이브루티닙에 대한 내성을 갖는, 조성물.

청구항 10

청구항 1 내지 3 중 어느 한 항에 있어서, 상기 혈액암이 CLL인, 조성물.

청구항 11

청구항 1 내지 3 중 어느 한 항에 있어서, 상기 혈액암이 SLL인, 조성물.

청구항 12

청구항 1 내지 3 중 어느 한 항에 있어서, 상기 혈액암이 FL인, 조성물.

청구항 13

청구항 1 내지 3 중 어느 한 항에 있어서, 상기 혈액암이 tFL인, 조성물.

청구항 14

청구항 1 내지 3 중 어느 한 항에 있어서, 상기 혈액암이 DLBCL인, 조성물.

청구항 15

청구항 1 내지 3 중 어느 한 항에 있어서, 상기 혈액암이 MCL인, 조성물.

청구항 16

청구항 1 내지 3 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 알킬화제, 항-CD20 항체, BCL-2 억제제, BTK 억제제, P13K δ 억제제, 백금-계 약물, 항대사물질, 안트라사이클린, BCR 경로 억제제, 및 혈액암을 치료하는데 사용되는 또다른 제제로 구성된 군으로부터 선택된 약물을 사전에 투여받은, 조성물.

청구항 17

청구항 1 내지 3 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 베네토클락스, 리톡시맙, 이브루티닙, 이렐라리십 및 플루다라빈으로 구성된 군으로부터 선택된 약물을 사전에 투여받은, 조성물.

청구항 18

청구항 1 내지 3 중 어느 한 항에 있어서, 약제학적으로 허용가능한 부형제 또는 담체를 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 19

청구항 1에 있어서, 상기 세르둘라티닙의 1일 투여량은 70 mg인, 조성물.

청구항 20

청구항 1에 있어서, 상기 세르둘라티닙의 1일 투여량은 투여량당 35 mg으로 1일 2회 투여되는, 조성물.

청구항 21

청구항 2 또는 3에 있어서, 상기 유효량의 세르둘라티닙, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염은 1일 2회 15 mg 내지 40 mg의 투여량으로 투여되는, 조성물.

청구항 22

청구항 2 또는 3에 있어서, 상기 유효량의 세르둘라티닙, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염은 1일 2회 30 mg 내지 40 mg의 투여량으로 투여되는, 조성물.

청구항 23

청구항 2 또는 3에 있어서, 상기 유효량의 세르둘라티닙, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염은 1일 2회 35 mg의 투여량으로 투여되는, 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] **관련 출원에 대한 상호-참조**

[0002] 본 출원은 2015년 5월 29일에 출원된 미국 가출원 제62/168,530호 및 2015년 12월 4일자로 출원된 제 62/263,582호의 35 U.S.C. § 119(e) 하에 이점을 청구하며, 상기 모두는 본원에 참고문헌으로 포함된다.

[0003] **기술분야**

[0004] 본 발명은 일반적으로 B-세포 악성종양 및 재발성 또는 난치성 혈액암을 포함하는 혈액암을 치료하기 위한 세르둘라티닙(cerdulatib)의 사용 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 조혈 조직 및 림프 조직의 종양, 또는 조혈 및 림프성 악성종양은 혈액, 골수, 림프 및 림프계에 영향을 미치는 종양이다. 이러한 요소들이 모두 순환계와 면역계를 통해 밀접하게 연결되어 있기 때문에 한 요소에 영향을 미치는 질병이 다른 요소에도 영향을 미칠 것이며, 골수증식과 림프증식(및 따라서 백혈병과 림프종)이 밀접하게 관련되며, 종종 중복되는 문제가 발생한다.

[0006] 혈액학적 악성종양은 골수성 및 림프성 세포주와 같은 두 가지 주요 혈액 세포 계통에서 유래할 수 있다. 골수성 세포주는 정상적으로 과립구, 적혈구, 혈소판, 대식세포 및 비만 세포를 생성하며; 림프성 세포주는 B, T, NK 및 형질 세포를 생성한다. 림프종, 림프구성 백혈병 및 골수증이 림프구 계통에서 유래한 반면, 급성 및 만성 골수성 백혈병, 골수이형성 증후군 및 골수증식성 질병은 골수성 유래이다.

[0007] B-세포 림프종은 B 세포에 영향을 미치는 림프종의 유형이다. 림프종은 림프절의 "혈액암"이다. B-세포 림프종에는 호지킨 림프종과 대부분의 비-호지킨 림프종이 모두 포함된다.

[0008] 여포성 림프종(Follicular lymphoma, FL)은 일종의 혈액암이다. 그것은 전반적으로, 가장 흔한, 천천히 자라는 (느리게-성장하는) 비-호지킨 림프종과 두 번째로 흔한 형태의 비-호지킨 림프종이다. 그것은 적어도 부분적으로 여포성 패턴을 가지고있는, 여포 중심 B-세포(중심세포와 중심모세포)의 림프종으로 정의된다.

[0009] 만성 림프구성 백혈병(CLL)으로 알려진 B-세포 만성 림프구성 백혈병(B-CLL)은 성인에서 가장 흔한 유형의 백혈병(백혈구 암의 한 유형)이다. CLL은 골수에서 유래된 B 세포 림프구에 영향을 미치며, 림프절에서 발생하며, 일반적으로 항체 생산으로 감염과 싸운다. CLL은 주로 림프절에 나타나는 B-세포 림프종의 일종인 소림프구성 림프종(SLL)의 단계이다. CLL과 SLL은 외형이 상이한, 동일한 기저 질병으로 간주된다.

[0010] 미만성 거대 B-세포 림프종(DLBCL 또는 DLBL)은 B 세포의 암으로, 항체를 생산하는 백혈구의 한 종류이다. 미만성 거대 B-세포 림프종은 생물학적 및 임상적으로 다양한 질병 세트를 포함하며, 그 중 많은 세트는 잘 정의되고 널리 수용되는 기준에 의해 서로 분리될 수 없다.

[0011] 만성 림프구성 백혈병(CLL) 발병 이전에는 B-세포 수용체(BCR) 매개 신호전달이 필요하며, BCR 신호전달 복합체 내 키나아제를 표적으로 하는 약물은 본 질병의 치료를 변혁시키고 있다.

[0012] CLL 요법에 사용되는 일부 화학요법제는 BTK를 표적으로 하는 이브루티닙(ibrutinib)(IMBRUVICA®)과, PI3K δ를 표적으로 하는 이델라리십(idelalisib)(ZYDELIG®)을 포함한다. 그러나, 이러한 화합물은 질병을 억제하고, 일반적으로 치유력은 없다. 또한, CLL 환자는 BTK 또는 다운스트림 신호전달 단백질의 돌연변이 또는 다른 기작을 통해 상기 화학요법제에 대하여 내성이 생길 수 있다.

[0013] CLL, SLL, DLBCL 및 FL에 대한 표준 요법에 실패한 환자의 현재 치료 옵션은 제한적이다. 따라서, 혈액학적 악성종양에 대한 새로운 치료법이 필요하다.

[0014] **요약**

- [0015] 본원은 약 10 mg 내지 약 75 mg의 1일 투여량의 세르둘라티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 이룰 필요로 하는 인간 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 상기 인간 환자에서 혈액암 또는 B-세포 악성종양을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0016] 또한, 본 명세서에는 유효량의 세르둘라티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 이룰 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 상기 환자에서 재발성 또는 난치성 혈액암을 치료하는 방법이 제공된다.
- [0017] 일부 구현예는 유효량의 세르둘라티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 이룰 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 상기 환자에서 재발성 또는 난치성 혈액암을 치료하는 방법을 제공하며;
- [0018] 상기 환자는 재발과 관련된 돌연변이 및/또는 혈액암 치료용 약물에 대한 내성을 가지며; 및
- [0019] 세르둘라티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 유효량은 세르둘라티닙 약 30 mg 내지 약 80 mg의 1일 투여량이다.
- [0020] 일부 구현예에서, 혈액암은 만성 림프구성 백혈병(CLL), 소림프구성 림프종(SLL), 여포성 림프종(FL), 변형된 여포성 림프종(tFL), 미만성 거대 B-세포 림프종(DLBCL) 또는 외투 세포 림프종(MCL)이다.
- [0021] 일부 구현예에서, 이를 필요로 하는 환자는 여러 가지 이유로 혈액암에 대한 내약성 및/또는 재발성을 나타내는 환자이다. 예를 들어, 환자는 재발과 관련된 돌연변이 및/또는 혈액암 치료용 약물에 대한 내성을 가질 수 있다. 예를 들어, 환자는 del17p 돌연변이, P53 돌연변이, ATM 돌연변이, STAT 돌연변이, STAT6 돌연변이, C481S STAT6 돌연변이, NOTCH 경로와 관련된 돌연변이, 카데린(Caderin) 경로와 관련된 돌연변이 또는 이의 조합을 가질 수 있다. 일부 구현예에 따르면, 환자는 P53, BTK 및 EP300 모두에서 돌연변이를 갖지 않는다.

도면의 간단한 설명

- [0022] **도 1**은 72시간에서 2 μM의 세르둘라티닙에서 다양한 DLBCL 세포주에서의 FACS 분석에 의한 Edu 혼입의 억제를 나타내는 막대 그래프를 제공한다.
- 도 2**는 72시간에서 2 μM의 세르둘라티닙에서 다양한 DLBCL 세포주에서의 FACS 분석에 의한 카스파제3 분해의 선례 유도 억제를 나타내는 막대 그래프를 제공한다.
- 도 3**은 비히클 또는 다양한 투여량 수준의 세르둘라티닙으로 치료하는 동안 후속부 염증 점수(평균±평균의 표준오차("SEM")); y-축; 그룹당 n=8)를 시간(x-축)에 걸쳐 플롯팅한 것을 제공한다. 각 투여 그룹에 대한 평균 혈장 농도(C_{max})가 그래프의 오른쪽에 표시된다. 별표는 스튜던트 T 검정(p < 0.05)에 의한 비히클에 대한 통계적 유의성을 지칭한다.
- 도 4**는 WT BTK-형질감염된 TMD8 세포에서 이브루티닙과 세르둘라티닙의 효과 결과를 보여준다. 250 nM의 이브루티닙 또는 세르둘라티닙을 배양액에 첨가하고, 생존 세포수를 7일동안 매일 카운팅하였다. 도시된 결과는 4회 반복 실험의 평균±표준오차("SE")이다. 열린 원=디메틸설폭시드("DMSO"); 닫힌 원=이브루티닙("IBR"); 삼각형=세르둘라티닙("Cerd").
- 도 5**는 BTK^{C481S}-형질감염된 TMD8 세포에서 이브루티닙과 세르둘라티닙의 효과를 보여준다. 250 nM의 이브루티닙 또는 세르둘라티닙을 배양액에 첨가하고, 생존 세포수를 7일동안 매일 카운팅하였다. 도시된 결과는 4회 반복 실험의 평균±SE이다. 열린 원=디메틸설폭시드("DMSO"); 닫힌 원=이브루티닙("IBR"); 삼각형=세르둘라티닙("Cerd").
- 도 6**은 변이되지않은("UM") IGHV(N=33)를 갖는 CLL 세포가 IGHV 변이된("M") CLL(N=27)보다 세르둘라티닙에 더 민감하다는 것을 보여준다. 데이터는 스튜던트 T 검정으로 분석하였다. IC₅₀의 평균+SE가 플롯팅되어 있다. P=0.0395.
- 도 7**은 상이한 세포유전학적 이상을 갖는 CLL 세포의 세르둘라티닙 민감성을 나타낸다. 각 하위그룹의 사례 번호가 표시되어 있다. 데이터는 ANOVA 테스트로 분석하였으며, IC₅₀의 평균+SE가 플롯팅되어 있다. *, P < 0.05.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0023] 1. 정의
- [0024] 다르게 정의되지 않는 한, 본원에서 사용되는 모든 기술 용어 및 과학 용어는 본 개시 내용이 속하는 기술 분야

의 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본 명세서에서 사용된 하기 용어는 하기와 같은 의미를 갖는다.

- [0025] 본 명세서 및 첨부된 청구범위에서 사용되는 단수 형태는 문맥상 명확하게 다르게 지시하지 않는 한 복수 대상을 포함한다는 것을 유의해야 한다. 따라서, 예를 들어, "하나의 제제"에 대한 언급은 복수의 제제를 포함한다.
- [0026] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "포함하는" 또는 "포함한다"라는 용어는 상기 조성물 및 방법이 인용된 요소를 포함하지만, 다른 것들을 배제하지 않는 것을 의미하는 것으로 의도된다. 조성물 및 방법을 정의하는데 사용되는 경우 "본질적으로 구성된다"는 명시된 목적을 위해 임의의 본질적으로 중요한 다른 요소를 조합에 배제하는 것을 의미한다. 따라서, 본질적으로 본원에서 정의된 원소로 구성된 조성물은 청구된 기본 및 신규한 특성(들)에 실질적으로 영향을 미치지 않는 다른 물질 또는 단계를 배제하지 않을 것이다. "구성된다"는 것은 다른 성분의 미량 원소 및 실질적인 방법 단계를 배제한다는 것을 의미한다. 상기 각 전이 용어들에 의해 정의된 구현예들은 본 개시의 범위 내에 있다.
- [0027] 범위를 포함하여, 예를 들어, 온도, 시간, 양 및 농도와 같은 수치 지정 앞에 사용되는 용어 "약"은 (+) 또는 (-) 10%, 5% 또는 1%만큼 변할 수 있는 근사치를 나타낸다.
- [0028] 본원에서 사용된 "약제학적으로 허용가능한 염"이란 용어는 약학적 투여량의 염에서, 반대이온이 환자에게 무독성인 임의의 산 또는 염기 부가염을 지칭한다. 다수의 약제학적으로 허용가능한 염은 약학 분야에서 잘 알려져 있다. 본 개시 내용의 화합물의 약제학적으로 허용가능한 염이 상기 조성물에 사용되는 경우, 상기 염은 바람직하게는 무기 또는 유기 산 및 염기로부터 유도된다. 상기 산 염 중 하기: 아세테이트, 아디페이트, 알기네이트, 아스파르테이트, 벤조에이트, 벤젠 설포네이트, 비설페이트, 부티레이트, 시트레이트, 캄포레이트, 캄포 설포네이트, 시클로펜탄프로피오네이트, 디글루코네이트, 도데실설페이트, 에탄설포네이트, 푸마레이트, 루코헵타노에이트, 글리세로포스페이트, 헤미설페이트, 헵타노에이트, 헥사노에이트, 히드로클로라이드, 히드로브로마이드, 히드로요오다이드, 2-히드록시에탄설포네이트, 락테이트, 말레이트, 메탄설포네이트, 2-나프탈렌설포네이트, 니코티네이트, 옥살레이트, 파모에이트, 펙티네이트, 피설페이트, 3-페닐-프로피오네이트, 피크레이트, 피발레이트, 프로피오네이트, 숙시네이트, 타르트레이트, 티오시아네이트, 토실레이트, 운데카노에이트, 히드로할라이드 (예를 들어, 히드로클로라이드 및 히드로브로마이드), 설페이트, 포스페이트, 니트레이트, 설파메이트, 말로네이트, 살리실레이트, 메틸렌-비스-b-히드록시나프토에이트, 겐티세이트, 이세티오네이트, 디-p-톨루오일타르트레이트, 에탄설포네이트, 시클로헥실설파메이트, 퀴네이트 등이 포함된다. 약제학적으로 허용가능한 염기 부가염은 알칼리 또는 알칼리 토금속 염기 또는 중래의 유기 염기, 예컨대 트리에틸아민, 피리딘, 피페리딘, 모르폴린, N-메틸모르폴린, 암모늄 염, 알칼리 금속염, 예컨대 나트륨 및 칼륨염, 알칼리 토금속 염, 예컨대 칼슘 및 마그네슘 염, 유기 염기와 염, 예컨대 디시클로헥실아민 염, N-메틸-D-글루카민, 및 아르기닌, 리신 등과 같은 아미노산과의 염을 포함한다.
- [0029] 또한, 염기성 질소-함유 기는 저급 알킬 할라이드, 예컨대 메틸, 에틸, 프로필 및 부틸 클로라이드, 브로마이드 및 요오다이드; 디알킬 설페이트, 예컨대 디메틸, 디에틸, 디부틸 및 디아밀 설페이트, 장쇄 할라이드, 예컨대 데실, 라우릴, 미리스틸 및 스테아릴 클로라이드, 브로마이드 및 요오다이드; 아르알킬 할라이드, 예컨대 벤질 및 페넬 브로마이드 및 기타와 같은 제제에 의해 사차화될 수 있다. 이로써 물 또는 유용성 또는 분산성 생성물이 수득된다.
- [0030] 본원에 기술된 세르둘라티닙 또는 다른 화합물의 "프로드럭"이 또한 포함되며, 본 발명의 화합물을 제공하기 위해 생리학적 조건 하에서 화학적 변화를 용이하게 겪는 화합물이다. 또한, 프로드럭은 생체의 환경에서 화학적 또는 생화학적 방법에 의해 본 발명의 화합물로 전환될 수 있다. 예를 들어, 프로드럭은 적절한 효소 또는 화학적 시약을 갖는 경피 패치 저장소에 위치될 때 본 발명의 화합물로 천천히 전환될 수 있다. 프로드럭은 종종 유효성분으로 전환될 때까지 약리학적으로 불활성인 경우가 많지만, 반드시 그렇지는 않다. 프로드럭은 전형적으로 프로그룹(하기 정의됨)에 의한 활성화에 부분적으로 필요한 것으로 여겨지는 약물의 관능기를 마스킹하여, 관능기를 해제하기 위한 특정 사용조건 하에서 분해와 같은 변형을 겪는 프로모이어티(promoiety)와 활성화 약물을 형성한다. 프로모이어티의 분해는 자발적으로, 예를 들어 가수분해 반응에 의해 자발적으로 진행될 수 있거나, 다른 작용제에 의해, 예컨대 효소, 빛, 산 또는 염기에 의해 또는 온도변화와 같은, 물리적 또는 환경적 매개변수의 변화 또는 매개변수로의 노출에 의해 촉매되거나 유도될 수 있다. 상기 작용제는 프로드럭이 투여되는 세포에 존재하는 효소 또는 위장의 산성 조건과 같은 사용조건에 대하여 내인성일 수 있거나, 또는 외인성으로 공급될 수 있다.
- [0031] "프로그룹(progrouop)"은 활성화 약물 내에서 관능기를 마스킹하여 프로모이어티를 형성할 때, 이 약물을 프로드럭

으로 전환시키는 일종의 보호기를 지칭한다. 프로그램은 일반적으로 특정 사용조건 하에 분해가능한 결합을 통해 약물의 관능기에 부착된다. 따라서, 프로그램은 특정 사용조건 하에 관능기를 해제하기 위해 분해되는 프로모이어티의 부분이다. 특정 예로서, 구조식 $-NH-C(O)CH_3$ 의 아마이드 프로모이어티는 프로그램 $-C(O)CH_3$ 를 포함한다.

- [0032] 프로드럭을 생성하기 위해 본원에 기술된 화합물에서 관능기를 마스킹하기에 적합한 광범위한 프로그램뿐만 아니라 결과적인 프로모이어티는 당 분야에 잘 알려져있다. 예를 들어, 아마노 관능기는 아마이드, 카바메이트, 이민, 우레아, 포스페닐, 포스포릴 또는 설페닐 프로모이어티로 마스킹될 수 있으며, 이는 생체 내에서 가수분해되어 아미노기를 제공할 수 있다. 본 발명은 서방성 또는 프로드럭 제제로서 사용하기 위한 용해도 또는 가수분해 특성을 변형시키기 위해 당 분야에 공지된 에스테르 및 아실기를 포함한다. 적합한 프로그램 및 그 각각의 프로모이어티의 다른 특정 예는 당업자에게는 자명할 것이다.
- [0033] 본원에 사용된 바와 같이, "억제제"는 자극 또는 활성을 부분적으로 또는 전체적으로 차단하고, 활성화 또는 효소 활성을 감소, 종결(close), 방지, 지연시키거나, 또는 수용체의 활성을 불활성화, 탈감작 또는 하향 조절하기 위해, 억제 또는 결합하는 제제 또는 분자를 지칭한다.
- [0034] 용어 "약제학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제"는 일반적으로 안전하고, 무독성이며, 생물학적이지도 않거나 또는 기타 바람직하지 않은 약제학적 조성물을 제조하는데 유용한 담체 또는 부형제를 의미하며, 인간 약제용도 뿐만 아니라 수의학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 포함한다. 본원에서 사용된 "약제학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제"는 하나 이상의 상기 담체 또는 부형제 모두를 포함한다.
- [0035] 용어 "투여"는 경구 투여, 좌제로서의 투여, 국소 접촉, 정맥내, 복강내, 근육내, 병소내, 비강내 또는 피하 투여, 또는 서방용 장치, 예를 들어, 미니-삼투압 펌프를 대상에게 이식하는 것을 지칭한다. 투여는 비경구 및 점막관통(예를 들어, 협측, 설하, 구개, 치은, 비강, 질, 직장 또는 경피)을 포함하는 임의의 경로에 의한다. 비경구 투여는 예를 들어, 정맥내, 근육내, 동맥내, 피내, 피하, 복강내, 심실내 및 두개내를 포함한다. 다른 전달 방식은 리포솜 제제, 정맥내 주입, 경피 패치 등의 사용을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.
- [0036] "환자"는 인간 및 비인간 동물, 특히 포유 동물을 지칭한다. 환자의 예로는 인간, 암소, 개, 고양이, 염소, 양, 돼지 및 토끼가 포함되지만, 이에 한정되지 않는다.
- [0037] 본원에서 사용되는 용어 "치료하다", "치료하는", "치료" 및 상기의 문법적 변형은 질병 또는 질환의 하나 이상의 부수적인 증상의 강도를 부분적으로 또는 완전히 지연, 경감, 완화 또는 감소시키고, 및/또는 질병 또는 질환의 하나 이상의 원인을 경감, 완화 또는 방해하는 것을 포함한다. 본원에 기술된 치료법은 방지적으로, 예방적으로, 일시적으로 또는 교정적으로 적용될 수 있다.
- [0038] 본원에서 사용된 용어 "예방하다", "예방하는", "예방" 및 상기의 문법적 변형은 질병 또는 질환 및/또는 이의 부수적인 증상 중 하나 이상의 발병 또는 재발을 부분적으로 또는 완전히 지연시키거나 배제하는 방법, 또는 대상자가 질병 또는 질환을 얻거나 재획득하지 못하게 하거나, 대상이 질병 또는 질환, 또는 이의 부수적인 증상 중 하나 이상을 얻거나 재획득할 위험을 감소시키는 방법을 지칭한다.
- [0039] 본원에서, 용어 "치료학적으로 유효한" 또는 "유효량"은 투여될 때 화합물 또는 물질, 또는 화합물 또는 물질의 양이 치료받는 질병, 장애 또는 의도질환의 하나 이상의 증상을 예방, 완화 또는 개선하기에, 및/또는 치료받는 대상의 생존을 연장시키기에 충분하거나 효과적임을 나타낸다. 치료적 유효량은 화합물, 질병, 장애 또는 질환, 및 치료될 포유동물의 중증도 및 연령, 체중 등에 따라 달라질 것이다. 투여량은 예를 들어 1일 4회까지 분할된 투여량으로, 또는 서방형 형태로 편리하게 투여될 수 있다.
- [0040] 본 명세서에 사용된 바와 같이, "1일 투여량"은 24시간내에 섭취되는 치료 물질의 총량을 지칭한다.
- [0041] 본원에 기술된 방법 및 조성물은 전형적으로 인간 대상자를 위한 치료에 사용될 것이다. 그러나 다른 동물 대상에서 유사하거나 동일한 증상을 치료하는데 사용될 수도 있다. 이와 관련하여, "대상", "동물 대상" 등과 같은 용어는 인간 및 비-인간 척추 동물, 예를 들어 포유동물, 예컨대 비-인간 영장류, 스포츠 및 상업 동물, 예컨대 말, 소, 돼지, 양, 설치류 및 애완 동물, 예를 들면, 개와 고양이를 지칭한다.
- [0042] 2. 사용방법
- [0043] 악성 B 세포는 미세 환경에 존재하는 비-종양 세포뿐만 아니라 종양 자체로부터 기원하는 생존 신호를 받는다. B 세포 항원 수용체(BCR)와 사이토카인 수용체는 생존에 기여한다.

[0044] B 세포 림프종의 서브셋은 생존을 위한 BCR 및/또는 사이토카인 JAK/STAT 신호전달에 대한 의존성을 입증한다. SYK는 BCR 신호전달 경로 상에서 BTK, PI3K δ 및 PLC γ 2의 상류에 위치하여, 잠재적인 치료 표적이 된다. 추가 생존 지원은 사이토카인-유도된 JAK/STAT 경로에 의해 매개되는 것으로 보이며, 이는 종양 자가분비 신호전달 루프에 의해, 또는 종양 미세 환경에 존재하는 비-종양 침윤성 백혈구에서 유래하는 전-염증성 사이토카인에 의해 활성화될 수 있다.

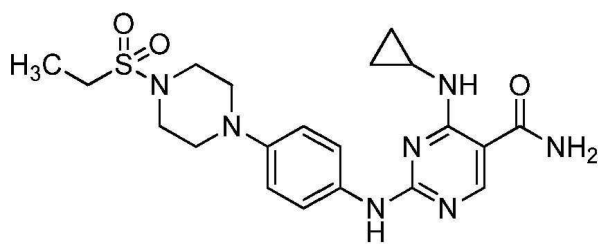
[0045] CLL과 비-호지킨 림프종("NHL")에서 여러 사이토카인의 증가된 혈청 농도가 관찰되며, 보다 공격적인 질병 진행이 예측된다. 상기 사이토카인의 원인은 자가분비 자극 방식의 종양 그 자체로부터, 또는 종양 미세환경내에서 비효율적인 면역 반응을 일으킨 비-종양 백혈구로부터 유래될 수 있다. 실험적으로, IL4는 배양액내 CLL B-세포의 생존을 촉진하고, 플루다라빈(fludarabine) 및 클로람부실(chlorambucil) 치료에 의해 사망으로부터 보호되는 것으로 나타났다. 이러한 생존을 뒷받침하는 메커니즘은 BCL2 계열 구성원의 사이토카인-유도된 상향 조절인 것으로 보인다.

[0046] 만성 림프구성 백혈병(CLL)의 발병기전에서 B 세포 수용체(BCR) 매개된 신호전달의 중요성은 최근 더욱 더 분명해졌으며, BCR 신호전달 복합체내 키나아제를 표적으로 하는 약물은 이 질병의 치료에 혁명을 일으키고 있다. 최근에 승인된 재발성/난치성 CLL 제제에는 이브루티닙(BTK 억제제) 및 이델라리십(PI3K δ 억제제)가 포함된다. 현재까지, 상기 화합물은 부분적으로 종양으로부터의 신호에 의해 매개될 수 있는 치료제를 입증하지 못했다. 중요한 점은, 일정 비율의 환자가 이브루티닙에 대한 BTK 또는 PLC γ 의 돌연변이를 통해, 또는 아직 알려지지 않은 메커니즘으로 인해 상기 새로운 제제에 내성을 보이고 있다는 점이다. 비장 티로신 키나아제(SYK)는 SYK/ZAP70 계열의 비-수용체 키나아제에 속하며, B-세포내의 BCR, 케모카인 및 인테그린 수용체의 다운스트림 활성화 신호 전달에 중심 역할을 하며, 특정 B 세포 악성종양 및 자가면역 질병 치료를 위한 흥미로운 목표로 남아 있다.

[0047] CLL 세포는 미세 환경을 구성하는 다양한 세포로부터의 신호에 의존한다. 림프구에서 IL-4 신호는 야누스(Janus) 단백질 티로신 키나아제 JAK1 및 JAK3을 통해 타입 1 IL-4 수용체(IL-4R)를 통해 주로 유도되어, STAT6(pSTAT6)의 인산화를 얻는다.

[0048] 만성 림프구성 백혈병(CLL), 소림프구성 림프종(SLL) 및 여포성 림프종(FL)에 대한 표준 요법에 실패한 환자의 현재 치료 옵션은 제한적이다.

[0049] 본 발명은 세르둘라티닙의 투여에 의해 혈액암을 치료하는 방법을 제공한다. 세르둘라티닙은 두 SYK 및 JAK 계열 구성원의 소분자, ATP-경쟁적, 가역적 억제제이다. 이전에 기술된 세르둘라티닙(예를 들어, 미국 특허 제 8,138,339호 참조)은 화학명 4-(시클로프로필아미노)-2-(4-(4-(에틸설포닐)피페라진-1-일)페닐아미노)피리미딘-5-카르복사미드를 가지며, 그리고 하기 구조식을 가진다:



[0050]

[0051] 본원에 기술된 구현예에서, 세르둘라티닙은 또한 그것의 약제학적으로 허용가능한 염 또는 프로드럭을 지칭할 수 있다.

[0052] 세르둘라티닙은 CLL, FL, NHL 및 DLBCL을 포함하지만, 이에 한정되지 않는 심하게 전처리된 환자 및/또는 재발성/난치성 혈액암에 유용할 수 있다. 세르둘라티닙은 또한 변이되지않은 IGHV, 높은 CD49d, ZAP-70 또는 표면 IgM 발현과 같은 나쁜 예후의 경우에, 우발적인 활성화로 원발성 CLL에서 세포자멸사를 유도한다.

[0053] 본원은 약 10 mg 내지 약 75 mg의 세르둘라티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 1일 투여량, 또는 세르둘라티닙 약 10 mg 내지 75 mg 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 및 약제학적으로 허용가능한 부형제 또는 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 이를 필요로 하는 인간 환자의 혈액암을 치료하는 방법을 제공한다.

[0054] 또한, 유효량의 세르둘라티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 또는 약 10 mg 내지 약 75 mg의 1일 투여

량의 세르둘라티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용가능한 부형제 또는 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 치료를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 치료를 필요로 하는 환자의 재발성 또는 난치성 혈액암을 치료하는 방법이 제공된다.

- [0055] 일부 구현에는 유효량의 세르둘라티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 또는 유효량의 세르둘라티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용가능한 부형제 또는 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 치료를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 치료를 필요로 하는 환자의 재발성 또는 난치성 혈액암을 치료하는 방법을 제공하며,
- [0056] 세르둘라티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 유효량은 세르둘라티닙 약 30 mg 내지 약 80 mg의 1일 투여량이다.
- [0057] 일부 구현에는 유효량의 세르둘라티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 또는 유효량의 세르둘라티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용가능한 부형제 또는 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 치료를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 치료를 필요로 하는 환자의 재발성 또는 난치성 혈액암을 치료하는 방법을 제공하며,
- [0058] 상기 환자는 재발과 관련된 돌연변이, 및/또는 혈액암 치료용 약물에 대한 내성을 가지며; 및
- [0059] 세르둘라티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 유효량은 세르둘라티닙 약 30 mg 내지 약 80 mg의 1일 투여량이다.
- [0060] 본원에서 제공되는 일부 구현에는 B-세포 비-호지킨 림프종(NHL), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 여포성 림프종 (FL), 미만성 거대 B-세포 림프종(DLBCL) 또는 다른 변형된 FL을 앓는 환자의 치료방법에 관한 것이다.
- [0061] 일부 구현예에서, 환자는 B-세포 악성종양, 만성 림프구성 백혈병(CLL), 여포성 림프종(FL) 또는 변형된 FL 중 하나 이상을 앓고 있다.
- [0062] 일부 구현예에서, 환자는 진행성 악성종양을 앓고 있다.
- [0063] 일부 구현예에서, 환자는 재발하였거나, 이전의 화학 요법에 반응하지 않는다. 일부 구현예에서, 환자는 이전 치료법에 적어도 2회 실패하였다. 일부 구현예에서, 환자는 이전 치료법에 적어도 1회 실패하였다.
- [0064] 일부 구현예에서, 환자는 B 세포 악성종양을 갖는다. 일부 구현예에서, 본원에서 제공된 방법은 만성 림프구성 백혈병(CLL), 소림프구성 림프종(SLL), 여포성 림프종(FL), 변형된 여포성 림프종(tFL), 미만성 거대 B-세포 림프종(DLBCL) 및/또는 외투 세포 림프종(MCL)과 같은 혈액암을 치료하는데 사용된다. 일부 구현예에서, 본원에서 제공된 방법은 비-호지킨 림프종(NHL), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 소림프구성 림프종(SLL), 여포성 림프종 (FL), 변형된 여포성 림프종(tFL), 미만성 거대 B-세포 림프종(DLBCL) 및/또는 외투 세포 림프종(MCL)과 같은 혈액암을 치료하는데 사용된다.
- [0065] 일부 구현예에 따르면, 혈액암은 CLL이다. 일부 구현예에 따르면, 혈액암은 DLBCL이다. 일부 구현예에 따르면, 혈액암은 FL이다. 일부 구현예에 따르면, 혈액암은 SLL이다. 일부 구현예에 따르면, 혈액암은 NHL이다. 일부 구현예에 따르면, 혈액암은 tFL이다. 일부 구현예에 따르면, 혈액암은 MCL이다.
- [0066] 일부 화학요법제는 예를 들어, 혈액암을 보호하는, BCR IL-4 매개된 신호전달 및/또는 BCR 활성화 경로로 인해 환자에서 약물 내성이 있다. 본 발명의 구현 예에 따르면, 세르둘라티닙은 약물 내성을 유도하는 이러한 보호 기작을 극복할 수 있다.
- [0067] 일부 구현예에서, 이를 필요로 하는 환자는 여러 가지 이유로 혈액암에 대한 약물 내성 및/또는 재발을 나타내는 환자이다. 예를 들어, 환자는 재발과 관련된 돌연변이, 및/또는 혈액암을 치료하기 위한 약물에 대한 내성을 가질 수 있다. 예를 들어, 환자는 del17p 돌연변이, P53 돌연변이, ATM 돌연변이, STAT 돌연변이, STAT6 돌연변이, C481S STAT6 돌연변이, NOTCH 경로와 관련된 돌연변이, 또는 카데린 경로와 관련된 돌연변이를 가질 수 있다.
- [0068] 일부 구현예에서, 환자는 STAT에서 S86A 돌연변이를 가질 수 있다.
- [0069] 일부 구현예에서, 환자는 del17p 돌연변이, del11q 돌연변이, P53 돌연변이, ATM 돌연변이, STAT 돌연변이, STAT6 돌연변이, C481S STAT6 돌연변이, NOTCH 경로와 관련된 돌연변이, 카데린 경로와 관련된 돌연변이 또는 이의 조합을 가질 수 있다.

- [0070] 일부 구현예에 따르면, 환자는 P53, BTK 및 EP300 중 각각에서 돌연변이를 갖지 않는다.
- [0071] 일부 구현예에서, 환자는 MYD88 돌연변이, CARD11 돌연변이 또는 A20 돌연변이를 갖는다. 일부 구현예에서, 환자는 del11q, 삼염색체성 12 및 del17p를 포함하는 고위험 유전자 이상을 갖는다. 일부 구현예에서, 환자는 del17p 돌연변이를 갖는다. 일부 구현예에서, 환자는 del11q 돌연변이를 갖는다.
- [0072] 일부 구현예에서, 환자는 BTK 돌연변이를 갖는다.
- [0073] 일부 구현예에서, 환자는 변이되지않은 IGHV, 높은 CD49d, ZAP-70 또는 표면 IgM 발현과 같은 불량한 예후를 가질 수 있다.
- [0074] 일부 구현예에서, 환자는 세르둘라티닙이 아닌 약물에 내성이 있다. 상기 약물의 비-제한적 예로는 항-CD20 항체, BCL-2 억제제, BTK 억제제, P13K δ 억제제, 리툭시맙, 백금-계 약물, 항대사물질, 이브루티닙, 이텔라리십, 플루다라빈(플루다라빈 포스페이트, FLUDARA®), 안트라사이클린, BCR 경로억제제, ABT-199(베네토클락스(Venetoclax)) 또는 혈액암 치료에 사용되는 또다른 화학요법제가 있다. 화학요법제의 다른 비-제한적인 예는 알킬화제, 세포골격 분해제, 에포티올론, 히스톤 데아세틸라제 억제제, 토포이소머라제 I의 억제제, 토포이소머라제 II의 억제제, 뉴클레오티드 유사체 및 전구체 유사체, 항생제, 백금-계 제제, 레티노이드, 빈카 알칼로이드, 또는 이의 조합을 포함한다.
- [0075] 일부 구현예에서, 환자는 항-CD20 항체, BCL-2 억제제, BTK 억제제, P13K δ 억제제, 백금-계 약물, 항대사물질, 안트라사이클린, BCR 경로 억제제, 또는 혈액암 치료에 사용되는 또다른 화학요법제에 대한 내성을 갖는다. 일부 구현예에서, 환자는 ABT-199(베네토클락스), 리툭시맙, 이브루티닙, 이텔라리십 및 플루다라빈(플루다라빈 포스페이트, FLUDARA®)으로 이루어진 군으로부터 선택된 약물에 대한 내성을 갖는다. 일부 구현예에서, 환자는 이브루티닙에 대한 내성을 갖는다.
- [0076] 일부 구현예에서, 환자는 혈액암을 치료하기 위한 약물을 이전에 투여받았다. 비-제한적인 예로서, 약물은 알킬화제, 항-CD20 항체, BCL-2 억제제, BTK 억제제, P13K δ 억제제, 리툭시맙, 백금-계 약물, 항대사물질, 이브루티닙, 이텔라리십, 플루다라빈(플루다라빈 포스페이트, FLUDARA®), 안트라사이클린, BCR 경로 억제제, ABT-199(베네토클락스) 및 혈액암을 치료하는데 사용되는 또다른 제제를 포함한다. 화학요법제의 다른 비-제한적인 예는 세포골격 파괴물질, 에포티올론, 히스톤 데아세틸라제 억제제, 토포이소머라제 I의 억제제, 토포이소머라제 II의 억제제, 뉴클레오티드 유사체 및 전구물질 유사체, 항생제, 백금-계 제제, 레티노이드, 빈카 알칼로이드 또는 이의 조합을 포함한다.
- [0077] 일부 구현예에서, 환자에게는 알킬화제, 항-CD20 항체, BCL-2 억제제, BTK 억제제, P13K δ 억제제, 백금-계 약물, 항대사물질, 안트라사이클린, BCR 경로 억제제 및 혈액암 치료에 사용되는 또다른 화학요법제로 구성된 군으로부터 선택되는 약물을 이전에 투여하였다. 일부 구현예에서, 환자에게는 베네토클락스, 리툭시맙, 이브루티닙, 이텔라리십 및 플루다라빈으로 구성된 군으로부터 선택된 약물이 이전에 투여되었다. 일부 구현예에서, 약물은 R-CHOP(리툭시맙; 시클로포스파미드; 독소루비신 하이드로클로라이드; 온코빈(빈크리스틴); 프레드니손)이다. 일부 구현예에서, 약물은 R-CVP(리툭시맙; 시클로포스파미드; 빈크리스틴; 프레드니손)이다. 일부 구현예에서, 약물은 베바시주맙(bevacizumab)이다. 일부 구현예에서, 약물은 플루다라빈과 리툭시맙의 조합, 벤다무스틴과 리툭시맙의 조합, 또는 베바시주맙과 리툭시맙의 조합이다.
- [0078] 특정 구현예에서, 환자는 60세 이상이고, 1차 암 치료 후에 재발한다. 특정 구현예에서, 환자는 18세 이상이고, 2차 암 치료 후에 재발 또는 난치성이다. 특정 구현예에서, 환자는 60세 이상이고, 1차 암 치료법에 대하여 1차적으로 난치성이다. 특정 구현예에서, 환자는 70세 이상이고, 이전에 치료되지 않았다. 특정 구현예에서, 환자는 70세 이상이고, 부적격이고/이거나, 암 치료로부터 이익을 얻지 못할 같다.
- [0079] 투여될 다양한 화합물의 양은 화합물 IC₅₀, 화합물의 생물학적 반감기, 대상의 연령, 크기 및 중량, 및 치료되는 징후와 같은 인자를 고려하여 표준 절차에 의해 결정될 수 있다. 상기 및 다른 인자의 중요성은 당업자에게 잘 알려져있다. 일반적으로, 투여량은 치료되는 대상의 약 0.01 내지 50 mg/kg, 또는 0.1 내지 20 mg/kg 일 것이다. 다중 투여량이 사용될 수 있다.
- [0080] 일부 구현예에서, 재발성 또는 난치성 혈액암을 치료할 필요가 있는 인간 환자의 상기 혈액암 치료 방법은 약 10 mg 내지 약 75 mg의 1일 투여량의 세르둘라티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 또는 약 10 mg 내지 약 75 mg의 1일 투여량의 세르둘라티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.

- [0081] 일부 구현예에서, 재발성 또는 난치성 혈액암을 치료할 필요가 있는 인간 환자의 상기 혈액암 치료 방법은 약 45 mg의 세르둘라티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 투여량을 환자에게 1일 2회 투여하는 단계를 포함한다.
- [0082] 일부 구현예에서, 재발성 또는 난치성 혈액암을 치료할 필요가 있는 인간 환자의 상기 혈액암 치료 방법은 약 35 mg의 세르둘라티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 투여량을 환자에게 1일 2회 투여하는 단계를 포함한다.
- [0083] 본원에 제공된 일부 구현예에서, 세르둘라티닙의 1일 투여량은 약 10 mg 내지 약 75 mg이다. 본원에 제공된 일부 구현예에서, 세르둘라티닙의 1일 투여량은 약 25 mg 내지 약 45 mg이다. 일부 구현예에서, 세르둘라티닙의 1일 투여량은 약 15 mg, 30 mg, 45 mg 또는 50 mg이다.
- [0084] 일부 구현예에서, 세르둘라티닙의 1일 투여량은 약 15 mg, 약 20 mg, 약 25 mg, 약 30 mg, 약 35 mg, 약 40 mg, 약 45 mg, 약 50 mg, 약 55 mg, 약 60 mg, 약 65 mg, 약 70 mg, 약 75 mg, 약 80 mg, 약 90 mg, 약 95 mg, 약 100 mg, 약 105 mg 또는 약 110 mg이다. 일부 구현예에서, 세르둘라티닙의 1일 투여량은 약 90 mg이다. 일부 구현예에서, 세르둘라티닙의 1일 투여량은 약 70 mg이다. 일부 구현예에서, 세르둘라티닙의 1일 투여량은 1회 투여량 당 약 35 mg으로 1일 2회 투여된다.
- [0085] 일부 구현예에서, 세르둘라티닙의 투여는 1일 1회이다. 일부 구현예에서, 투여는 1일 2회이다. 일부 구현예에서, 투여는 1일 3회이다.
- [0086] 특정 구현예에서, 본 명세서에 제공된 방법에 사용되는 세르둘라티닙의 치료적 유효량은 하루에 적어도 약 10 mg이다. 일 구현예에서, 세르둘라티닙의 치료적 유효량은 투여량 당 적어도 약 10, 20, 30, 40 또는 50mg이다. 일 구현예에서, 세르둘라티닙의 치료적 유효량은 하루에 적어도 약 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 100 mg이다.
- [0087] 일 구현예에서, 세르둘라티닙의 치료적 유효량은 하루에 적어도 30mg, 35mg, 40mg, 45mg, 50mg, 55mg, 60mg 또는 65mg이다. 일 구현예에서, 세르둘라티닙의 치료적 유효량은 적어도 약 15 mg, 20 mg, 25 mg, 30 mg 또는 35 mg이고, 1일 2회 투여된다.
- [0088] 특정 구현예에서, 세르둘라티닙의 치료적 유효량은 하루에 약 500, 400, 300, 200, 150, 120 또는 100 mg 이하이다. 일 구현예에서, 세르둘라티닙의 치료적 유효량은 투여량 당 약 300, 200, 150, 120, 100, 90, 80, 70, 60, 55 또는 50 mg 이하이다.
- [0089] 특정 구현예에서, 세르둘라티닙의 치료적 유효량은 하루에 약 100 mg, 95 mg, 90 mg, 85 mg, 80 mg 또는 75 mg 이하이다. 특정 구현예에서, 세르둘라티닙의 치료적 유효량은 45 mg, 40 mg, 35 mg 또는 30 mg 이하이며, 1일 2회 투여된다.
- [0090] 일 구현예에서, 치료적 유효량의 세르둘라티닙은 단독으로 또는 다른 제제와 조합하여, 하루에 약 10 mg 내지 200 mg, 약 25 mg 내지 150 mg, 약 50 내지 120 mg, 약 80 내지 약 100 mg 투여된다.
- [0091] 일 구현예에서, 치료적 유효량의 세르둘라티닙은 단독으로 또는 다른 제제와 조합하여, 1일당 25 mg 내지 120 mg이다. 일부 구현예에서, 세르둘라티닙의 유효량은 1일 2회 25 mg 내지 50 mg이다.
- [0092] 일 구현예에서, 치료적 유효량의 세르둘라티닙은 단독으로 또는 다른 제제와 조합하여, 약 10 mg 내지 150 mg, 약 25 mg 내지 120 mg, 약 30 내지 80 mg, 약 40 내지 50 mg의 투여량으로, 1일 1회 또는 2회 투여된다. 특정 구현예에서, 세르둘라티닙은 단독으로 또는 다른 제제와 조합하여, 1일 1회, 2회, 3회 또는 4회 투여된다.
- [0093] 일 구현예에서, 세르둘라티닙은 단독으로 또는 다른 제제와 조합하여, 약 30 mg 내지 약 80 mg, 1일 1회 투여된다. 일 구현예에서, 세르둘라티닙은 단독으로 또는 다른 제제와 조합하여, 약 15 mg 내지 약 40 mg, 1일 2회 투여된다.
- [0094] 일 구현예에서, 세르둘라티닙 45 mg은 단독으로 또는 다른 제제와 조합하여, 1일 2회 투여된다. 일 구현예에서, 세르둘라티닙 35 mg은 단독으로 또는 다른 제제와 조합하여, 1일 2회 투여된다.
- [0095] 일부 구현예에서, 세르둘라티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 유효량은 1일 2회 투여된 약 40 mg 내지 약 50 mg이다.
- [0096] 일부 구현예에서, 세르둘라티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 유효량은 1일 2회 투여된 약 30 mg 내

지 약 40 mg이다.

- [0097] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 암을 치료하는데 효과적인 하나 이상의 다른 치료법 또는 의학적 처치와 함께, 세르둘라티닙을 포함하는 조성물의 유효량을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 치료를 필요로 하는 대상의 암을 치료하는 방법을 제공한다. 다른 치료법 또는 의학적 처치에 적합한 항암 요법(예를 들어, 약물 요법, 백신 요법, 유전자 요법, 광역학 요법) 또는 의료 처치(예를 들어, 수술, 방사선 치료, 온열 치료, 골수 또는 줄기세포 이식)가 포함된다. 일 구현예에서, 하나 이상의 적합한 항암 요법 또는 의학적 처치는 화학요법제(예를 들어, 화학요법 약물), 방사선 치료(예를 들어, x-선, -선 또는 전자, 양성자, 중성자 또는 입자 빔), 온열 치료(예를 들어, 마이크로파, 초음파, 고주파 절제), 백신 치료(예를 들어, AFP 유전자 간세포 암 백신, AFP 아테노바이러스 벡터 백신, AG-858, 동종이형 GM-CSF-분비 유방암 백신, 수지상 세포 펩티드 백신), 유전자 요법(예를 들어, Ad5CMV-p53 벡터, MDA7을 코딩하는 아테노바이러스 5-종양 괴사인자 알파), 광역학 요법(예를 들어, 아미노레볼린산, 모텍사틴 루테슘(motexatin lutetium)), 수술, 또는 골수 및 줄기세포 이식을 포함한다.
- [0098] 3. 약제학적 조성물 및 키트
- [0099] 본원에 제공된 일부 구현예는 유효량의 세르둘라티닙 및 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다.
- [0100] 담체 또는 부형제는 조성물을 제조하는데 사용될 수 있다. 담체 또는 부형제는 세르둘라티닙과 같은 화합물의 투여를 용이하게 하도록 선택될 수 있다. 담체의 예로는 탄산 칼슘, 인산 칼슘, 다양한 당, 예컨대 락토스, 글루코스 또는 수크로스, 또는 여러 종류의 전분, 셀룰로스 유도체, 젤라틴, 식물성 오일, 폴리에틸렌 글리콜 및 생리학적으로 상용성인 용매가 포함된다. 생리학적으로 상용성인 용매의 예로는 주사 용수(WFI), 식염수 및 텍스트로스의 멸균 용액이 포함된다.
- [0101] 적합한 투여 형태는 부분적으로 투여 용도 또는 투여 경로, 예를 들어 경구, 경피, 경점막, 흡입제 또는 주사(비경구)에 의존한다. 이러한 투여 형태는 화합물이 표적 세포에 도달할 수 있게 해야 한다. 다른 인자는 당해 기술 분야에 잘 알려져 있으며, 화합물 또는 조성물이 그 효과를 발휘하는 것을 지연시키는 독성 및 투여 형태와 같은 고려 사항을 포함한다. 기술 및 제형은 일반적으로 The Science and Practice of Pharmacy, 21st edition, Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, PA, 2005(본원에 참조로 포함됨)에서 찾을 수 있다.
- [0102] 세르둘라티닙은 정맥내, 복강내, 피하, 근육내, 경구, 경점막, 직장, 경피 또는 흡입제를 포함하는 상이한 경로로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 세르둘라티닙은 경구 투여에 의해 투여될 수 있다. 경구 투여를 위해, 예를 들어, 세르둘라티닙은 캡슐, 정제 및 액체 제제, 예컨대 시럽, 엘릭서 및 농축액과 같은 통상적인 경구 투여 형태로 제형화될 수 있다.
- [0103] 흡입제의 경우 세르둘라티닙은 건조 분말 또는 적합한 용액, 현탁액 또는 에어로졸로 제형화될 수 있다. 분말 및 용액은 당 분야에 공지된 적합한 첨가제로 제형화될 수 있다. 예를 들어, 분말은 락토스 또는 전분과 같은 적합한 분말 베이스를 포함할 수 있으며, 용액은 프로필렌 글리콜, 멸균수, 에탄올, 염화나트륨 및 다른 첨가제, 예컨대 산, 알칼리 및 완충 염을 포함할 수 있다. 이러한 용액 또는 현탁액은 스프레이, 펌프, 애틀마이저 또는 네블라이저 등을 통해 흡입함으로써 투여될 수 있다. 세르둘라티닙은 또한 다른 흡입 치료법, 예를 들어 코르티코스테로이드, 예컨대 플루티카손 프로피오네이트, 베클로메타손 디프로피오네이트, 트리암시놀론 아세토니드, 부데소니드 및 모메타손 푸로에이트; 베타 작용제, 예컨대 알부테롤, 살메테롤 및 포르모테롤; 항콜린성 제제, 예컨대 이프라트로퓜 브로마이드 또는 티오토로퓜; 혈관 확장제, 예컨대 트레프로스티날 및 일로프로스트; 효소, 예컨대 DNA분해효소; 치료용 단백질; 면역글로불린 항체; 단일 또는 이중 가닥 DNA 또는 RNA, siRNA와 같은 올리고뉴클레오티드; 항생제, 예컨대 토브라마이신(tobramycin); 무스카린 수용체 길항제; 류코트리엔 길항제; 사이토카인 길항제; 프로테아제 억제제; 크로몰린 나트륨; 네도크릴 나트륨; 및 나트륨 크로모글리케이트(cromoglycate)와 함께 조합하여 사용될 수 있다.
- [0104] 경구 사용을 위한 약학적 제제는 예를 들어 세르둘라티닙을 고체 부형제와 배합하고, 생성된 혼합물을 임의로 분쇄하고, 원한다면 적합한 보조제를 첨가한 후에 과립의 혼합물을 가공하여, 정제 또는 당의정 코어를 수득함으로써 얻어질 수 있다. 적합한 부형제는 특히, 락토스, 수크로스, 만니톨 또는 소르비톨을 포함하는 당과 같은 충전제; 셀룰로오스 제제, 예를 들어 옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분, 감자 전분, 젤라틴, 트라가칸트 검, 메틸셀룰로스, 히드록시프로필메틸-셀룰로스, 소듐 카르복시메틸셀룰로스(CMC), 및/또는 폴리비닐피롤리돈(PVP: 포

비돈)이다. 원한다면, 가교결합된 폴리비닐피롤리돈, 한천 또는 알긴산, 또는 이의 염, 예컨대 알긴산 나트륨과 같은 붕해제가 첨가될 수 있다.

[0105] 당의정 코어에는 적절한 코팅이 제공된다. 이 목적을 위해, 예를 들어, 아라비아 검, 탈크, 폴리비닐피롤리돈, 카르보폴 겔, 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 및/또는 이산화티탄, 래커 용액 및 적합한 유기 용매 또는 용매 혼합물을 선택적으로 함유할 수 있는 농축 당 용액이 사용될 수 있다. 활성 화합물 투여량의 상이한 조합을 확인하거나 특성화하기 위해, 염료 또는 안료가 정제 또는 당의정 코팅에 첨가될 수 있다.

[0106] 경구로 사용될 수 있는 약학적 제제는 젤라틴으로 제조된 푸쉬-핏(push-fit) 캡슐("젤캡") 뿐만 아니라 젤라틴으로 제조된 연질의, 밀봉 캡슐 및 가소제, 예컨대 글리세롤 또는 소르비톨을 포함한다. 푸쉬-핏 캡슐은 유효 성분을 락토스와 같은 충전제, 전분과 같은 결합제 및/또는 탈크 또는 마그네슘 스테아레이트와 같은 윤활제 및 임의로 안정화제와 혼합하여 함유할 수 있다. 연질 캡슐에서, 세르둘라티닙은 지방유, 액체 파라핀 또는 액체 폴리에틸렌 글리콜(PEG)과 같은 적합한 액체에 용해되거나 현탁될 수 있다. 또한, 안정화제가 첨가될 수 있다.

[0107] 대안적으로, 주사(비경구 투여), 예를 들어, 근육내, 정맥내, 복강내 및/또는 피하 주사가 사용될 수 있다. 주사의 경우, 세르둘라티닙은 멸균 용액, 예를 들어 생리 식염수, 헵크 용액 또는 링거 용액과 같은 생리학적으로 적합한 완충액 또는 용액으로 제형화된다. 또한, 세르둘라티닙은 고체 형태로 제형화될 수 있으며, 사용 직전에 재용해 또는 현탁될 수 있다. 동결건조된 형태도 생산될 수 있다.

[0108] 투여는 또한 경점막, 국소, 경피 또는 흡입 수단에 의해 수행될 수 있다. 경점막, 국소 또는 경피 투여의 경우, 침투되는 장벽에 적절한 침투제가 제형에 사용된다. 이러한 침투제는 당 분야에 일반적으로 공지되어 있으며, 예를 들어, 경점막 투여, 담즙산염 및 푸시딘산 유도체를 포함한다. 또한, 세제는 침투를 촉진시키는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 경점막 투여는 비강 분무 또는 좌약(직장 또는 질)을 통해 이루어질 수 있다.

[0109] 본 발명의 국소 조성물은 당 분야에 공지된 적절한 담체의 선택에 의해 오일, 크림, 로션, 연고 등으로 제형화된다. 적합한 담체는 식물성 오일 또는 광유, 백색 바셀린(백색 연질 파라핀), 분지쇄 지방 또는 오일, 동물성 지방 및 고분자량 알콜(C₁₂ 이상)을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 담체는 유효 성분이 가용성인 것들이다. 원한다면 유화제, 안정화제, 보습제 및 산화방지제 뿐만 아니라 색상 또는 향료를 부여하는 체제도 포함될 수 있다. 국소 도포용 크림은 미네랄 오일, 자기-유화 밀랍 및, 소량의 용매(예를 들어, 오일)에 용해된 유효 성분의 혼합물을 혼합한 물의 혼합물로부터 제형화된다. 또한, 경피 수단에 의한 투여는 경피 패치 또는 드레싱, 예컨대 유효 성분 및 임의로 당 분야에 공지된 하나 이상의 담체 또는 희석제가 함침된 붕대를 포함할 수 있다. 경피 전달 시스템의 형태로 투여되기 위해, 투여량 투여는 물론 투여량 요법 전체에 걸쳐 간헐적이기보다는 연속적 일 것이다.

[0110] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 세르둘라티닙 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 또는 이의 약제학적 조성물을 포함하는 키트를 제공한다. 일부 구현예에서, 화합물 또는 조성물은, 예를 들어, 상자, 봉투 또는 백 내에 추가로 포장될 수 있는 바이알, 병, 플라스크에 포장되며; 화합물 또는 조성물은 포유 동물, 예를 들어 인간에게 투여하기 위해 미국 식품 의약품 안전청(Food and Drug Administration) 또는 유사한 규제 기관에 의해 승인되며; 화합물 또는 조성물은 단백질 키나아제 매개 질병 또는 질환에 대하여 포유 동물, 예를 들어 인간에게 투여하기 위해 승인되고; 본원에 기술된 키트는 화합물 또는 조성물이 본원에 기술된 바와 같은 혈액암과 같은 질병 또는 질환에 대해 포유 동물, 예를 들어 인간에게 투여하기에 적합하거나 승인된 용도 및/또는 기타 징후에 대한 서면 설명서를 포함할 수 있으며; 화합물 또는 조성물은 단위 투여 또는 단일 투여 형태, 예컨대 단일 투여 알약, 캡슐 등으로 포장될 수 있다.

[0111] **실시예**

[0112] **실시예 1: 전임상 모델, 임상적 PK/PD 및 종양 반응**

[0113] **재료 및 방법**

[0114] 정제 키나아제 검정: 300 nM ATP의 고정 농도로 밀리포어(Millipore)에서 수행된다. 10점 농도 곡선을 사용하여 IC(억제 농도)를 측정하였다.

[0115] 인간 전혈 검사 : SYK- 및 JAK-의존적이며, 독립적인 신호전달의 억제는 BCR 및 사이토카인 수용체에 대한 다양한 작용제로 인간 전혈을 자극함으로써 측정되었다. IC₅₀을 측정하기 위해 8점 농도 곡선을 사용하여, 이전에 기술된 바와 같이 해파린화된 건강한 인간 전혈의 100 μL 분취량을 자극하였다(Coffey et al, J. of Pharm. and Experimental Therapeutics, 351:538-548, 2014). 신호전달 및 활성화 반응은 형광-활성화 세포 분류("FACS")

에 의해 측정되었다. 임상 실험을 위해 투여 전후에 전혈 샘플을 채취했다. 투여-전 자극 반응에 대해 정규화함으로써 억제율%를 계산하였다.

[0116] DLBCL 세포주 생존력 검정: IC₅₀을 생성하기 위한 10점 농도 반응 곡선을 사용하여 384 웰 플레이트에서 CellTiter Glo(Promega) 검정법을 사용하여, ATCC로부터 구입한 세포주를 스크리닝하였다. 각각의 IC₅₀ 값은 적어도 4번의 반복 실험의 평균치이다. FACS 기반 카스파제 3 분해 검출 키트(BD Biosciences) 및 Edu 인코포레이션을 사용한 후속 분석을 수행하였다.

[0117] 래트 콜라겐 유도성 관절염: 래트의 콜라겐 유도성 관절염 모델을 사용하여 세르둘라티닙의 생체내 항-염증 활성을 측정하였으며, 다른 곳에 기술된 것과 똑같이 수행되었다(Coffey et al, J. of Pharm. and Experimental Therapeutics, 340: 350-359, 2012). 콜라겐 항체를 ELISA(R&D Systems)로 측정하였다. 정상 상태 혈청 Cmax는 액체 크로마토그래피-탠덤 질량 검정을 사용하여 측정하였다.

[0118] 사이토카인 분석: 인간 염증지도(Human Inflammation Map)를 사용하여, Myriad RBM(Austin, TX)에 의해 혈청 단백질을 분석하였다.

[0119] 임상 연구 디자인. 이것은 재발성/난치성 CLL/SLL 또는 B-세포 NHL 환자의 세르둘라티닙에 대한 1단계 공개-라벨, 다중-투여량, 투여량 단계적 확대 연구이다. 연구는 15 mg QD(1일 1회)에서 시작되었고, 28일간의 안전성 창이 있는 3+3 디자인에서 투여량-단계적 증가되었다. 환자들은 PK 평가 72시간 동안 1일 1회 투여를 받았다. 이어서 4일째에 연속 투여가 시작되었다.

[0120] **결과**

[0121] 건강한 전혈 생체의 스파이크 실험에서, 세르둘라티닙은 IC₅₀이 0.2-0.9 μM인 BCR/SYK 및 사이토카인(IL2, IL4, IL6) JAK/STAT 신호전달을 선택적으로 억제하고(15 mg 내지 40 mg의 임상 투여량에서 달성됨), 0.3 μM 평균 혈장 농도에서 래트 콜라겐-유도성 관절염 모델에서 염증 및 관절 파괴를 막고(30 mg 이상의 투여량에서 달성됨), 2 μM의 세포주의 대다수에서 세포자멸사를 유도하였다(40 mg 이상의 투여량에서 달성됨). ~1 μM의 정상 상태 Cmin을 유지하면서, 2 μM 이상의 혈장 농도는 1일 1회 경구 투여 후 암 환자에서 안전하게 달성되었다.

[0122] **SYK 및 JAK 신호전달에 대한 세르둘라티닙 효능 및 특이성**

[0123] 표 1은 270 키나아제 패널 스크린(Millipore)에서, > 80% 억제된 정제 키나아제에 대한 세르둘라티닙 IC₅₀을 나타낸다. 효소 반응의 억제에도 불구하고, AMPK, JAK2, TBK-1, RSK2 및 RSK4에 대한 세포 수준 및/또는 환자에서 억제의 증거는 없다.

표 1

[0124]

정제된 키나아제 분석	
키나아제	IC ₅₀ (nM)
TYK2	0.5
MST1	4
ARK5	4
MLK1	5
FMS	5
AMPK	6
JAK2	6
JAK3	8
TBK1	10
MARK1	10
JAK1	12
PAR1B-a	13
TSSK	14
MST2	15
GCK	18
JNK3	18
RSK2	20

RSK4	28
SYK	32
CHK1	42
FLT4	51
FLT3	90
RET	105
ITK	194

[0125] 표 2는 다양한 건강한 정상인 전혈 분석에서의 세르둘라티닙 IC의 요약이다. 이 데이터는 SYK, JAK1/3 및 JAK1/TYK2 의존 경로에 대한 선택성을 입증한다. SYK 및 JAK1/3/TYK2 경로에 대한 효능은 비슷하다.

표 2

[0126]

건강한 정상인 전혈분석				
세포유형	자극	키나아제	판독	IC ₅₀ (μM)
B-세포	BCR	SYK	CD69	0.1
	BCR	SYK	pERK Y204	0.5
	IL4	JAK1/3	pSTAT6 Y641	0.92
	PMA	PKC	pERK Y204	>4
호염기구	Fc ε R1	SYK	CD63	0.12
T-세포	IL2	JAK1/3	pSTAT5 Y694	0.2
	IL4	JAK1/3	pSTAT6 Y641	0.58
	TCR	Zap70	pERK Y204	>4
	PMA	PKC	pERK Y204	>4
단핵구	IL6	JAK1/TYK2	pSTAT3 Y705	0.35
	GMCSF	JAK2	pSTAT5 Y694	>4

[0127]

세르둘라티닙은 2 μM에서 15 DLBCL 세포주에 대해 광범위하게 활성이다.

[0128]

세르둘라티닙은 더욱 정확한 제제에 대해 DLBCL 세포주에서 광범위한 항-종양 활성을 입증하였다. 하기 표 3은 다른 관련 키나아제 억제제: PRT06318(미국특허 제6,432,963호에 기술된 Syk 억제제); InSolution™ JAK 억제제 I(CAS 457081-03-7, 표 3의 "Pan-Jak"); CP-690550(Jak3 억제제); 이텔라리십(PI3K δ 억제제); IPI-145(PI3K δ 및 γ 억제제); 및 독소루비신("Doxo"; 안트라사이클린)과 비교된 세르둘라티닙의 IC₅₀ 값을 요약하고 있다. 상기 억제제는 상업적으로 입수가능하거나, 당업자에게 공지된 합성 방법에 따라 제조된다.

표 3

[0129]

세포주	CellTiter Glo 검정법에서 키나아제 억제제의 IC ₅₀						
	세르둘라티닙	PRT06-318	Pan-Jak	CP690550	이텔라리십	IPI-145	Doxo
LY18	1.0	2.8	0.8	50	3.8	0.96	0.06
VAL	2.7	4.5	5.2	50	29	21	0.22
DHL6	1.2	0.9	2.63	50	0.03	0.002	0.14
LY10	0.29	0.31	5.1	50	12	5.7	0.04
DHL4	1.4	1.1	50	28	12	3.7	0.10
DHL5	0.31	0.44	39	41	1.3	0.33	0.03
U2932	2.6	8	3.9	50	40	27	0.35
LY1	4.4	10	0.7	50	4.9	1.3	0.19
DHL10	2.3	20	40	50	12	4.1	0.30
LY7	1.9	9	34	50	13	25	0.14
DHL8	3.1	19	28	38	49	45	0.15
DLCL2	5.4	9	42	50	15	5	0.18
DB	14	30	21.4	50	42	50	0.37
TOLEDO	6.9	15	5.9	41	50	18	0.44
RCK8	15.6	22	43	50	50	50	0.20

- [0130] ABC 및 GCB 아형 모두를 나타내는 15개의 세포주 패널에서, 9개는 세포자멸사를 경험했으며, 추가 2개는 세포주기 정지를 경험했다. SYK 및 JAK 억제제의 협동 효과는 4개의 세포주에서 관찰되었지만, 3개의 세포주는 SYK에는 민감했지만 JAK 억제에는 민감하지 않았고, 1개의 세포주는 JAK에 민감했지만 SYK 억제에는 민감하지 않았다. 15개의 세포주 중 3개(DB, TOLEDO, 및 RCK8)가 세르둘라티닙에 내성을 보였다.
- [0131] **도 1 및 도 2**는 각각 FACS 분석에 의한 Edu 인코포레이션의 억제율 및 카스파제 3 분해의 유도율을 나타내는 막대 그래프를 도시한다.
- [0132] 상기 데이터는 세르둘라티닙이 2 μ M에서 DLBCL 세포주에 대해 광범위하게 활성이고, 세포자멸사를 유도함으로써 지배적으로 작용함을 입증한다.
- [0133] **세르둘라티닙은 래트에서 0.52 μ M C_{max} 에서 자가면역 매커니즘을 정지시킨다.**
- [0134] **도 3**은 래트 콜라겐 유도성 관절염 모델의 데이터를 나타낸다. 비히클 또는 세르둘라티닙의 다양한 투여량 수준으로 치료하는 동안 후족부 염증 점수(평균 \pm SEM; y-축; 그룹당 n=8)를 시간(x-축)에 걸쳐 플롯팅한다. 각 투여 그룹에 대한 평균 혈장 농도(C_{max})가 그래프의 오른쪽에 표시된다. 별표는 스튜던트 T 검정(p < 0.05)에 의한 비히클에 대한 통계적 유의성을 의미한다.
- [0135] 래트의 염증 및 자가-항체 생성은 세르둘라티닙 혈장 농도 0.5-0.6 μ M C_{max} (~0.3-0.4 μ M $C_{평균}$ 에 해당)에서 완전히 정지되었다. 이러한 노출은 30 mg 1일 1회 투여량에서 인간에게 안전하게 이루어지며, 말초 전혈 분석에서 SYK 및 JAK의 약 50% 억제에 해당한다. 임상 시험된 모든 투여량 수준에서 혈청 β 2M(및 다른 염증 표지자)의 감소에 대한 명확한 증거가 관찰되었다.
- [0136] **환자에게 경구 투여 후 SYK 및 JAK 억제 효능.**
- [0137] 환자의 경구 투여 후, SYK 및 JAK 경로는 건강한 지원자 생체의 스파이크 실험에서 관찰된 것과 유사한 효능으로 억제되었으며, SYK 및 JAK의 > 90% 억제는 다중 치료 사이클에 대해 안전하게 달성되었다.
- [0138] CT 스캔으로 측정된 종양 반응은 환자-유래 전혈에서의 SYK 및 JAK 신호전달의 억제율 및 염증의 혈청 표지자(예를 들어, β 2M, CRP, IL10, VCAM1, sTNFR, CCL3)의 억제율과 유의미하게 관련되어 있었다.
- [0139] **결론**
- [0140] 세포자멸사 및/또는 세포주기 정지를 유도하는 데 필요한 세르둘라티닙 농도는 다양하지만, 일반적으로 2 μ M에서 관찰된다. 1-2 μ M C_{min} 에서 C_{max} 의 정상 상태 농도는 40 mg QD에서 안전하게 얻을 수 있다. CT 스캔으로 평가한 환자의 종양 감소는 SYK 및 JAK의 억제율(%), 여러 혈청 염증 표지자의 억제율(%), 유의미하게 관련되어 있으며, 세르둘라티닙 혈장 농도와도 관련되어 있다. 투여량 증가는 최대 100mg QD까지 우수한 내약성으로 계속된다.
- [0141] 이러한 결과에 기초하여, 세르둘라티닙은 DLBCL과 같은 B-세포 림프종의 치료에 유용하다는 것이 고려된다.
- [0142] **실시예 2: 1차 인간 CLL 세포에 대한 세르둘라티닙의 효과**
- [0143] **24개의 1차 CLL 샘플내 세르둘라티닙**
- [0144] CLL 세포 분리 및 배양: 인간 B-세포 농축 각테일 키트(Stemcell Technologies, Vancouver, BC, Canada)를 사용하여 CLL 세포(ATCC에서 상업적으로 입수가능)를 정제하고, 항-CD5/CD19로 염색하여 순도를 확인하였으며, 모든 경우에 대해 95%보다 컸다. 2.5 mg/mL CpG, 100 ng/mL CD40L, 10 ng/mL IL-4의 존재 또는 부재하에, 상기 분리된 CLL 세포를 15% 소태아혈청(Gibco, Grand Island, NY, USA), 페니실린(100 IU), 및 스트렙토마이신(100 μ g/mL)을 포함하는 RPMI-1640에서 1×10^7 세포/mL의 밀도로 배양하였다. 항-IgM 자극은 플레이트-결합된 항-IgM(10 μ g/mL)으로 수행하였다. JAK1/JAK2(Cell Signaling Technology, Danvers, MA) 및 STAT3(Cell Signaling Technology, Danvers, MA, USA)의 인산화를 검출하기 위해 10 ng/mL IL-6(R&D Systems, Minneapolis, MN)으로 CLL 세포를 자극하였다.
- [0145] 세포 생존율 분석 및 IC₅₀ 측정 : 세르둘라티닙(10^1 - 10^5 nM)의 농도를 증가시키거나 증가시키지 않으면서, CLL 환자의 분리된 CD5⁺/CD19⁺ 세포를 72시간동안 배양하고, 이미 기술된 바와 같이, 2 μ g/mL 요오드화 프로피듐(PI)(분자 프로브(Molecular Probe))으로 염색하여, 세포 생존력을 측정하였다. 생 세포 게이트에서 1만 건의 반응

을 FACS LSR2(BD Biosciences)에 의해 계수하고, 데이터를 각 표본(100%)에 대한 일치된 비히클 대조군으로 정규화하였다. GraphPad Prism 6 프로그램(San Diego, CA, USA)을 사용하여 IC₅₀을 생성하였다.

- [0146] 공동-배양 조건: 인간 골수 간질 세포주 HS-5는 ATCC에서 얻었고, NK-Tert(NKTert)는 Dr. Jan A. Burger(MD Anderson)에 의해 친절하게 제공되었으며, CLL 세포와 간질 세포 공동-배양 검정법은 이전에 기술되었다(예를 들어, Cheng et al., *Leukemia*. 2014;28(3):649-657). 간략하게, 간질 세포를 24-웰 플레이트에 5×10^4 세포/웰의 농도로 시딩하고, 세포가 부착되도록 24시간동안 배양하였다. 이어서 RPMI 배지내 간질 세포의 용합층 상에 100:1(5×10^6 세포/mL)의 비율로 CLL 세포를 배양물에 첨가하였다. CLL 세포를 부드러운 피펫팅으로 수확하여, 부착성 간질 세포층을 온전한 채로 남겨 두었다.
- [0147] 연속희석된 세르둘라티닙을 갖는 1차 CLL 샘플과 PI/7AAD 유동 세포계측법을 이용하여 72시간 후에 세포 생존력을 측정하였다.
- [0148] IL-4/CD40L의 존재 또는 부재하에 이중 SYK/JAK 억제제인 세르둘라티닙으로 24개의 1차 CLL 샘플을 처리하고, 요오드화 프로피듐/아넥신 V 염색 및 PARP 절단을 사용하여 세포자멸사를 평가하였다. 세르둘라티닙이 B-세포 수용체 및 사이토카인 수용체 유도 신호전달에 미치는 효과를 면역블롯팅 및 유동 세포계측법으로 평가하였다.
- [0149] 24명의 환자로부터의 CLL 세포를 세르둘라티닙으로 24시간, 48시간 및 72시간동안 치료하였고, 요오드화 프로피듐과 아넥신 V 염색을 사용하여 생존력을 평가하였다. 세르둘라티닙은 농도와 시간의존적 방식으로 세포자멸사를 유도했다.
- [0150] 변이되지않은 IGHV와 CD49d의 높은 발현은 진행성 질병 및 CLL의 악화된 예후와 관련되어 있다. 중요한 치료 목적으로, 세르둘라티닙은 CD49d 또는 ZAP70 발현이 낮은(30% 미만) CLL 세포와 비교하여 높은 CD49d 또는 ZAP70 발현(> 30%)을 보이는 CLL 세포 및 M-CLL과 비교하여, U-CLL에서 유의미하게 더 큰 세포자멸사를 유도했다.
- [0151] CLL 세포를 세르둘라티닙으로 처리하면 전-세포자멸사 카스파제 3 단백질의 분해/활성화가 유도되고, 세포자멸사의 표지자인 85 kDa PARP 서브-단편의 수준도 증가하는 것으로 밝혀졌다. 세르둘라티닙 유도된 세포자멸사는 카스파제 억제제 ZVAD와의 병용 치료에 의해 억제되었는데, 이는 세르둘라티닙에 의한 CLL 세포의 세포자멸사 유도가 카스파제 의존성 메커니즘을 통해 일어난다는 사실을 보여준다. 또한, 세포자멸사 전 단백질인 NOXA의 수준은 ZVAD의 존재 하에서 세르둘라티닙 처리후 24시간후 증가하였고, 반면에 항-세포자멸사 단백질 MCL1은 감소하였다.
- [0152] 림프절에서 BCR의 연결은 CLL 생존과 화학 요법에 대한 내성을 향상시킨다. 세르둘라티닙 전처리는 가용성 항-IgM 및 고정화 항-IgM 유도된 신호전달 경로 모두를 억제할 수 있었다. IL-4는 CLL 세포에서 JAK/STAT-6 경로를 통해 신호전달하며, 화학요법으로 인한 보호 중재에 중요한 역할을 하는 것으로 나타났다. 세르둘라티닙에 의한 CLL 세포의 치료는 IL-4 유도성 STAT6 인산화를 폐기하였다. 또한, 세르둘라티닙은 IL-4를 억제하여 ZVAD의 존재 하에서 24 시간 후에 표면 IgM 발현을 증가시켰다.
- [0153] 환자의 림프절 조직 부위는 CLL 세포를 세포자멸사로부터 보호하는 다양한 신호를 제공한다. 따라서, 본 발명자들은 IL-4와 CD40L을 사용하여 신체외에서 림프절 환경을 모방했다. IL-4/CD40L 처리는 24시간 후, 처리하지 않은 세포에 비해 CLL 세포의 생존력을 증가시켰다.
- [0154] 본 실시예는 세르둘라티닙에 의한 1차 인간 CLL 세포의 처리가 CLL 샘플에서 증가된 효능과 함께 불량한 예후 표지자를 나타내는 카스파제 의존성 세포자멸사를 유도했고; 세르둘라티닙은 환자에서 달성할 수 있는 농도(~2.2 μM)에서 BCR 및 IL-4 매개 신호전달을 극복했고; 세르둘라티닙은 IL-4/CD40L 지지체의 존재 또는 부재 하에서 세포자멸사를 유도하였음을 보여준다.
- [0155] **60개의 CLL 샘플내 세르둘라티닙**
- [0156] 상기한 방법에 따라 분석된 60개의 CLL 샘플에서, 60개의 CLL에서의 IC₅₀은 0.37 내지 10.02 μM 범위였다. 코호트에 대한 세르둘라티닙의 평균 IC₅₀은 2.57 μM이며, 임상적으로 달성가능하다.
- [0157] 세르둘라티닙에 의한 세포 살해가 공지된 예후 인자로 증화된 CLL 하위 집단간에 다른지에 대해서도 연구하였다. 돌연변이된 IGHV(N=33) 대 변이된 IGHV(N=27)의 CLL 세포는 IC₅₀이 낮아서, 세르둘라티닙 (P=0.0395)에 더 민감한 것으로 나타났다(스튜던트 검정으로 분석한 데이터)(도 6). 고위험 유전자 이상 (del(11q), 3염색체 12, del(17p) 포함)을 가진 CLL 세포는 del(13q)를 가진 환자 또는 상기 특정 유전자 변이

가 없는 환자보다 세르둘라티닙에 더 민감하였다(도 7). 따라서 CLL 세포는 특히 IGHV와 세포유전학에 의한 예후가 나쁜 경우에 세르둘라티닙에 민감하다.

[0158] 또한, 예를 들어, Zap70에 의해 입증된 바와 같이, 예후가 나쁜 경우에도 세르둘라티닙이 유용할 것으로 예상된다.

[0159] **실시예 3: 세르둘라티닙의 I 상 연구의 임상 및 상관 결과**

[0160] 재발성/난치성 CLL/SLL 또는 B-세포 비-호지킨 림프종(NHL) 환자에서 세르둘라티닙에 대한 최초의 인체 연구가 수행되었다. 28일 주기의 3+3 투여량 단계적확대 연구가 수행되었으며; 연구된 용량 범위는 1일 1회 15mg 내지 65mg, 1일 2회 45mg 이하였다. 환자들은 PK 평가 72시간동안 1일 단일투여량을 받았다. 연속 투여가 4일째에 시작되었다. CLL/SLL 또는 B-세포 NHL 환자 43명이 투여받았다. 중간 연령은 67세(23-85세 범위)였고, 중간의 이전의 치료법(tx)은 3(범위 1-8)이었다.

[0161] 약동학("PK"), 약물역학("PD") 및 안전성을 모니터링했다. 표준 기준에 따라 반응을 평가하였다. SYK 및 JAK의 억제 수준은 B-세포 항원인 IL2, IL4, IL6 및 GM-CSF에 대한 수용체를 통한 신호전달을 측정하는 다양한 전혈 검사를 사용하여 측정하였다. CCL3, CCL4 및 기타 염증 표지자(β 2M 및 CRP)를 포함한 중앙 부하의 혈청 표지자도 측정하였다.

[0162] PK가 12-16시간의 반감기 및 2:1 최대-최저효과비(peak-trough ratio)로 1일 1회 투여하는데 적합하다는 것이 관찰되었다. 1주기의 28일째, 순환하는 림프구(80-90% 억제) 및 혈청 염증 표지자(예를 들어, β 2M, CRP, CCL4; 50-90% 억제)에서 SYK 및 JAK의 포화 억제는 약 0.6 내지 1 μ M의 혈장농도에서 일어나며, 40 mg 투여량의 C_{min} 에서 달성되었다. 65 mg 투여량에서, 상기 파라미터는 1주기의 1일째에 80-90% 억제되어 저용량에 비해 보다 즉각적인 효과를 나타냈다. 65 mg 투여량에서 정상 상태 C_{min} 및 C_{max} 농도는 각각 약 1 및 2 μ M이었고, 시험된 대다수의 B 세포 림프종 세포주에서 세포자멸사를 유도하기에 충분하였다.

[0163] 일반적으로 세르둘라티닙은 잘 견딜 수 있다. 총 10명의 환자가 세르둘라티닙에 200일 이상 남아있었으며, 그 중 2명은 1년 이상 있었다.

[0164] 표 4는 n=28인 경우 투여 후의 정상 상태의 약동학 데이터를 요약한 것이다.

표 4

[0165]

경구투여후 정상 상태 PK					
투여 그룹	SS C _{min} μ M	SS C _{max} μ M	SS C _{ave} μ M	AUC_타우(τ) μ M*hr	T _{1/2} hr
15 mg/일	0.12 \pm 0.04	0.38 \pm 0.04	0.19 \pm 0.03	4.5 \pm 0.8	11.5 \pm 3.9
30 mg/ 일	0.21 \pm 0.12	0.63 \pm 0.18	0.31 \pm 0.12	7.5 \pm 3.0	12.3 \pm 6.8
40 mg/ 일	0.87 \pm 0.07	1.48 \pm 0.15	1.14 \pm 0.03	27.3 \pm 0.8	32.8 \pm 17.0
45 mg/ 일 *	0.82 \pm 0.6	1.69 \pm 0.6	1.11 \pm 0.6	26.6 \pm 13.9	22.3 \pm 15.5
50 mg/ 일	0.90 \pm 0.14	2.07 \pm 0.54	1.31 \pm 0.41	31.36 \pm 9.95	NA
1일 2회 ("BID") 요법					
15 mg/1일 2회	0.29 \pm 0.11	0.53 \pm 0.13	0.39 \pm 0.11	4.7 \pm 1.3	11.2 \pm 4.3
20 mg/1일 2회	0.38 \pm 0.02	0.89 \pm 0.16	0.52 \pm 0.09	6.2 \pm 1	8.4 \pm 1.8

[0166] *PK 이상치(0.15 μ M의 정상상태 C_{max})는 그룹으로부터 제거됨.

[0167] n=20인 경우, BID 45mg 투여 그룹에서 다음이 관찰되었다: C_{min}=1.27 \pm 0.6 μ M; C_{max}=2.16 \pm 0.5 μ M; C_{ave}=1.4 \pm

0.7 μm; AUC_타우(tau)=33.3±15.9 μM*hr; T_{1/2}-27.5±22.5 시간.

[0168] 세르둘라티닙의 단일 65mg 투여량 이후 FL 환자의 전혈에서 BCR 신호전달의 완전한 억제에 관찰되었음이 관찰되었다.

[0169] 표 5는 n=43인 PK/PD 데이터를 요약한 것이다.

표 5

[0170]

투여 그룹의 PK/PD							
투여 그룹	SS C _{min} μM	SS C _{max} μM	SS C _{ave} μM	AUC_타우(tau) μM*hr	T _{1/2} hr	% Inh. BCR (C _{min} -C _{max})	% Inh. IL4 (C _{min} -C _{max})
						모든 데이터의 PK/PD 피트로부터 외삽됨	
15 mg/일	0.12 ± 0.04	0.38 ± 0.04	0.19 ± 0.03	4.5 ± 0.8	11.5 ± 3.9	22 - 55%	16 - 42%
30 mg/ 일	0.21 ± 0.12	0.63 ± 0.18	0.31 ± 0.12	7.5 ± 3.0	12.3 ± 6.8	31 - 83%	26 - 57%
40 mg/ 일	0.87 ± 0.07	1.48 ± 0.15	1.14 ± 0.03	27.3 ± 0.8	32.8 ± 17.0	92 - 100%	63 - 78%
45 mg/ 일	0.82 ± 0.6	1.69 ± 0.6	1.11 ± 0.6	26.6 ± 13.9	22.3 ± 15.5		
50 mg/ 일	0.79 ± 0.37	1.57 ± 0.94	0.99 ± 0.62	23.8 ± 14.9	39.0 ± 12.4		
65 mg/ 일	0.76 ± 0.04	1.67 ± 0.09	1.01 ± 0.03	24.2 ± 0.7	25.1 ± 6.5		
100 mg/ 일 (환자 1명)	0.37	1.11	0.68	16.3	14.4	53 - 98%	41 - 72%
15 mg/1일 2회	0.29 ± 0.11	0.53 ± 0.13	0.39 ± 0.11	4.7 ± 1.3	11.2 ± 4.3	42 - 74%	34 - 51%
20 mg/1일 2회	0.38 ± 0.02	0.89 ± 0.16	0.52 ± 0.09	6.2 ± 1	8.4 ± 1.8	55 - 95%	42 - 66%
45 mg/1일 2회	1.48 ± 0.33	1.8 ± 0.7	1.5 ± 0.45			100 - 100%	95 - 95%

[0171] 40-100 mg의 QD 투여량의 검토에서, 평균 정상 상태(SS) C_{min} 및 C_{max} 농도는 각각 0.77±0.41 및 1.63±0.56 μM에서 안정상태를 유지했으며, 평균 정상 상태(SS) C_{ave} 농도는 1.07±0.44 μM이었으며, BCR 억제율 %(C_{min}-C_{max})은 92-100%이고, IL4의 억제율 %(C_{min}-C_{max})은 63-78%였다. 40-100 mg의 QD 투여는 말초 혈액에서 SYK 및 JAK 신호전달의 50 내지 100%(정상 상태 C_{min} 내지 C_{max}) 억제 및 염증의 혈청 표지자의 유의미한 억제를 초래하였다.

[0172] 이러한 결과에 기초하여, 세르둘라티닙의 10 mg 내지 약 75 mg의 1일 투여량은 치료를 필요로 하는 환자에서의 혈액암 치료에 유용하다는 것이 고려된다.

[0173] 염증의 혈청 표지자의 억제 뿐만 아니라 SYK 및 JAK 신호전달의 억제 정도는 종양 반응과 유의미하게 관련되어 있었다. PK가 12-16시간의 t_{1/2} 및 2:1 최대-최저효과비를 갖는 QD 투여에 적당한 반면, pH-의존성 저용해도 한 정된 용해 및 생리적 모델링은 BID 투여가 전반적인 노출을 증가시킴을 제시한다는 것이 고려된다.

[0174] 이것은 말초 혈액 검사에서 SS C_{min}에서 SYK 및 JAK의 완전한 억제가 관찰되는 45mg BID 용량으로 수행되었으며, 이것은 노출의 대략 2배와 일치한다. 45mg BID 투여량에서, SS C_{min}은 1차 세포 및 세포주 모두를 사용하여 전-임상 종양 모델에서 세포자멸사를 유도하기에 충분한 농도인 약 1.5 μM으로 증가되었다. 환자에서 45mg BID 투여량을 평가한 결과, 이 투여량 수준에서 치료된 모든 환자의 C_{min}, C_{max} 및 AUC 값이 더 높았으며, PD 표지자는 두 경로의 완전한 억제를 나타냈다.

[0175] 연구와 관련되고, 및 2명 이상의 환자에서 발생하는 것으로 간주된 3등급 이상의 치료관련 이상반응(treatment

emergent adverse events)("AE")은: 피로감(n=5), 빈혈과 백혈구감소증(각각 n=3), 및 복부 통증, 호중구 개수 감소, 및 폐렴(각각 n=2)이었다. 가장 높은 전체 노출은 45mg BID 투여량에서 달성되었는데, 2가지 투여량 제한 독성(DLTs)이 발생했다: 3등급 체장염과 3등급 피로감.

[0176] PK/AE 프로파일에 근거하여, SS C_{min} 에서 1.25-1.5 μM 이상의 고 등급의 이상 반응이 있는 것으로 나타났다. PK 모델링은 35mg BID의 투여량이 1.02 μM 의 SS C_{min} , 1.3 μM 의 SS C_{max} , 1.2 μM 의 SS C_{ave} , 100-100%의 BCR 억제율($C_{min}-C_{max}$) 및 90-95%의 IL4의 억제율($C_{min}-C_{max}$)을 생성하는 것을 가리키며, 이는 허용가능하고, 효과적인 것으로 예측되며, 일관된 항-종양 활성을 제공한다.

[0177] 일관된 종양 반응은 0.7 μM 의 SS C_{min} 을 가진 재발성/난치성 CLL 및 FL 환자에서 관찰되었다.

[0178] 30-65 mg QD의 투여량 범위로 CLL, FL 및 변형된 DLBCL을 가진 5명의 심하게 전처리된 환자에서 부분 반응이 관찰되었다. 45mg BID 투여그룹에서 2명의 부분 반응이 관찰되었고, 1명은 FL 환자이고, 다른 하나는 CLL 환자였다. 반응은 전형적으로 2주기의 치료 후에 발생했다. 다수의 환자들이 1년 이상동안 결절 경감을 입증했으며, 임상적 이익을 유지했다.

[0179] **결론**

[0180] 세르둘라티닙은 림프성 악성종양이 있는 환자에서 잘 견뎠다. 세르둘라티닙은 높은 수준의 SYK 및 JAK 억제에서 양호한 PK 프로파일 및 양호한 내약성을 입증했다. PK 데이터는 1일 1회 투여를 뒷받침하였으며, C_{min} 에서 실질적인 억제를 유지한다. 최대 억제에 의한 SYK/JAK 신호전달의 용량-의존적 및 선택적 억제는 80%보다 컸으며; JAK2 또는 PKC의 억제는 검출되지 않았다. BCR 신호전달 경로는 정상 상태 C_{min}/C_{max} 에서 90-100% 억제되었으며, JAK/STAT 신호전달은 60-80% C_{min}/C_{max} 억제한다. PK 데이터는 40 mg 내지 100 mg 경구 1일 1회 노출의 안정기를 나타내었고, 그 결과 정상 상태 C_{min} 에서 서브마이크로몰 노출(약 0.7 μM)이 얻어졌다. 용해성이 그 이유일 수 있다고 생각된다. BID 투여는 노출시 이 안정기를 극복하고, PD 효과를 향상시킨다.

[0181] 세르둘라티닙은 염증의 표지자, 예컨대 $\beta 2\text{M}$, CRP, TNFR 및 CCL3/4인 혈액내 여러 혈청 단백질을 현저하게 감소시켰다. 종양 반응과 염증의 혈청 표지자(예를 들어, $\beta 2\text{M}$ 및 CCL4)의 억제간에 유의미한 상관 관계가 관찰되었다.

[0182] 세르둘라티닙은 심하게 전처리된 환자에서 유망한 활동을 한다. 이 데이터는 재발성/난치성 B-세포 악성종양 환자에 대한 이 연구에서 임상 활동의 증거를 입증하였다. 현재까지 CLL, FL 및 DLBCL 환자를 포함하여 부분 반응이 관찰되었다. 다른 BCR 경로 억제제에 질병이 진행된(또는 견딜 수 없었던) 환자를 포함하여 여러 환자에서 종양 감소가 관찰되었다. 다른 BCR 경로 억제제에서 보여지는 바와 같이 림프구증가증의 증거가 관찰되었다. 결과는 또한 심하게 전처리된 환자들에서 서둘라티닙이 잘 관용된다는 것을 보여 주었다.

[0183] 부분적인 반응을 포함한, 상기 결과는 세르둘라티닙이 재발성 또는 난치성 혈액암 환자에서 활성이고, 잘 관용된다는 추가적인 증거를 제공한다.

[0184] **실시예 4 : 세르둘라티닙은 이브루티닙-민감성 및 이브루티닙-내성 1차 CLL 세포 및 BTK^{C481S} 형질감염된 세포주**의 증식을 차단하는 것으로 밝혀졌다.

[0185] 이브루티닙은 Selleckchem(Houston, TX, USA)에서 구입했다.

[0186] 세포분리 및 배양: 인간 B 세포농축 카테일 키트(Stemcell Technologies, Vancouver, BC, Canada)를 사용하여 CLL 세포를 정제하고, 순도 확인을 위한 항 CD5/CD19(클론 HIB19 및 UCHT2, 각각 eBioscience, San Diego, CA)로 염색하였으며, 이는 모든 경우에 95% 초과였다. 2.5mg/mL CpG(ODN2006, 자극성 CpG-ODN 타입 B, 인간 특이성, Invivogen(San Diego, CA)로부터 구입), 100 ng/mL CD40L(Enzo Life Sciences, Plymouth Meeting, PA), 10 ng/mL IL-4 CD40L(Enzo Life Sciences, Plymouth Meeting, PA)의 존재 또는 부재하에, 1×10^7 세포/mL의 밀도로 15% 소태아혈청(Gibco, Grand Island, NY), 페니실린(100 IU) 및 스트렙토마이신(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)을 갖는 RPMI-1640에서, 분리된 CLL 세포를 배양하였다. 항-IgM 자극은 플레이트-결합된 항-IgM(10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)으로 수행하였다.

[0187] 세포 증식 분석: 조합된 자극(2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ CpG, 100 ng/mL CD40L, 10 ng/mL IL-4 및 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 플레이트-결합된 항-IgM)과 함께 8-일 배양시에 브로모데옥시우리딘(BrdU)을 첨가하였다. 제조사의 지시에 따라 BrdU 플로우 키

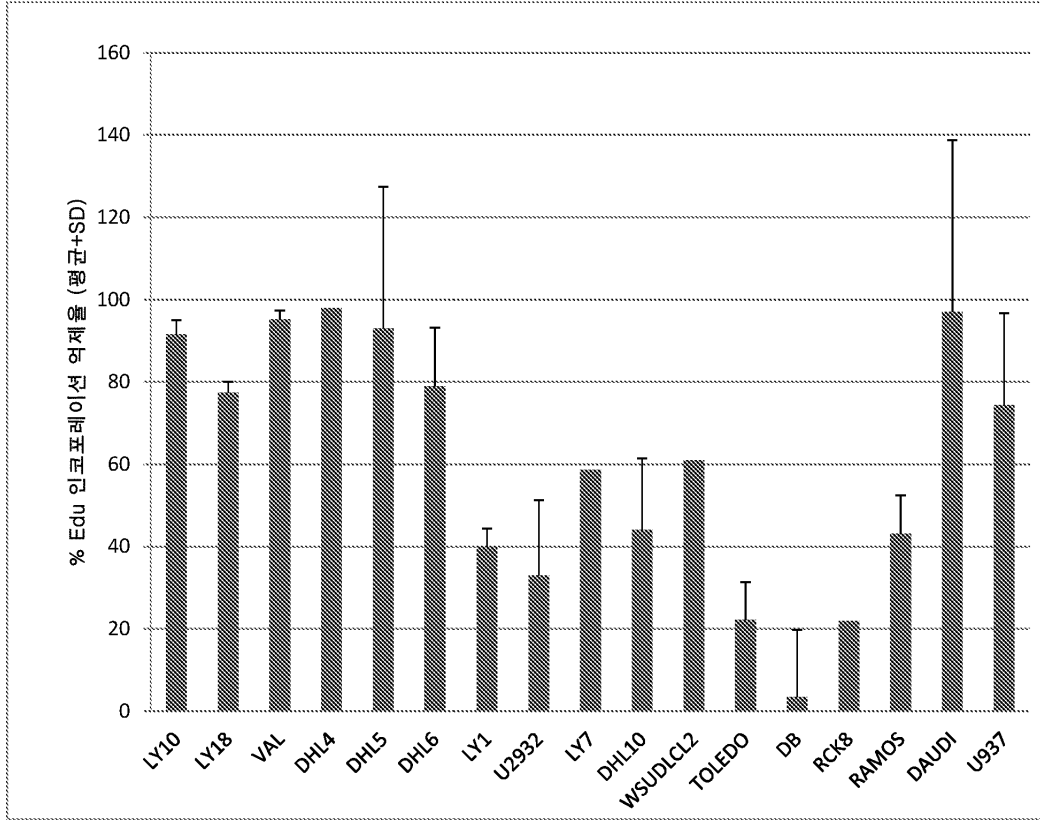
트(BD Biosciences)를 사용하여 유동 세포분석기로 BrdU⁺ 세포의 백분율을 분석하였다.

- [0188] BTK C481S 및 T316A 변이체 구조물의 생성: pCMV6 발현 벡터에서 BTK 야생형(WT) cDNA 클론을 ORIGENE(Rockville, MD USA)로부터 구입하였다. QuikChange II 특정부위 돌연변이유도 키트(Site-Directed Mutagenesis Kit)(Agilent Technologies, Cedar Creek, TX, USA)를 사용하여 제조자의 지시에 따라 BTK^{C481S} 및 BTK^{T316A} 변이체 벡터를 생성하였다. 생어 시퀀싱(Sanger sequencing)에 의해 변이체 구조물의 정체 확인되었다.
- [0189] 세포 형질감염, 세포 계수 및 생존도 분석: 제조사의 프로토콜(Amaxa, Cologne, Germany)에 따라 Amaxa Nucleofector에 대한 키트 V, 프로그램 U-13을 사용하여 WT BTK 또는 BTK^{C481S} 변이체의 구조물로 TMD8 세포를 형질감염시켰다. 형질감염 후, 세포를 24-웰 플레이트에서 NKTert 세포와 함께 24시간 동안 공동 배양하여 회수하였다. 이어서, 형질감염된 TMD8 세포에 이브루티닙, 세르둘라티닙 및 비히클(DMSO)을 첨가하고, Muse 세포분석기(Millipore, Hayward, CA, USA)를 사용하여 Muse™ Count & Viability 키트로 세포 생존력을 측정하였다.
- [0190] 유동 세포계측법: 상기한 바와 같은 형광색소 접합된 mAb의 최적량으로 FACS 분석을 위한 세포 염색을 수행하였다(예를 들어, Cheng et al., *Leukemia*. 2014;28(3):649-657). 간단히, 세척 버퍼(1× PBS, 0.5% BSA, 0.1% NaN₃)로 2회 세척한 후, 1×10⁶ 세포를 100 μL 세척 완충액에 현탁시키고, 형광색소 접합된 mAb로 염색하고, 실온에서 20분 동안 배양하였다. 유동 세포분석기로 스캐닝하기 전에 세포를 Perm/Wash 완충액으로 2회 세척하였다. 세포내 인흐름(phosphoflow) 분석을 위해, 신선하게 분리된 CLL 세포를 2-4% 파라포름알데히드로 즉시 고정시키고, -80°C에서 저장하였다. 저온보존된 세포를 실온에서 해동시키고, 얼음상에서 50% 메탄올로 4시간 동안 침투시켰다. 1×10⁶ 세포를 100 μL 세척 버퍼에 현탁시키고, 형광색소 접합된 mAb로 염색하고, 실온에서 20분 동안 배양하였다. 그런 다음 LSR2 유동 세포계측기(BD Biosciences)로 유동 세포계측법을 수행하고, FlowJo 소프트웨어(FLOWJO LLC, Ashland, OR, USA)를 사용하여 데이터를 분석했다.
- [0191] 이브루티닙에 반응한 환자에게서 이브루티닙 치료 전에 분리된 1차 세포를 조합된 자극 조건 하에, 250nM의 이브루티닙 또는 세르둘라티닙으로 치료하였다. 8일째에 BrdU 혼입을 측정하였다. 이 세포들은 상기 농도에서 어느 약물에도 똑같이 반응했다.
- [0192] 3명의 이브루티닙-재발 환자로부터 분리된 세포에 대한 유사한 실험도 수행되었다. 이 샘플들은 이브루티닙 내성을 부여하는 BTK 돌연변이를 가지고 있다. 이 중 2명은 알려진 돌연변이인 BTK^{C481S}를 가지고 있었고, 다른 한 명은 BTK^{T316A}를 가지고 있었다. 7일 동안 매일 생세포수를 카운팅하였다.
- [0193] 상기 변이된 세포를 이브루티닙 및 세르둘라티닙에 대해 시험하였을 때, 이브루티닙 처리 후에도 많은 수의 BrdU⁺ CLL 세포가 남은 반면, 세르둘라티닙은 세 가지 경우 모두에서 BrdU⁺ 세포 집단의 출현을 거의 완전히 차단하였다. 이 실험은 세르둘라티닙이 이브루티닙-민감한 세포 뿐만 아니라 이브루티닙-내성 CLL 세포에서도 세포 증식을 차단함을 입증한다.
- [0194] 세르둘라티닙이 이브루티닙-내성 세포의 성장을 직접 억제하는지 여부를 테스트하기 위해, BTK^{C481S} 및 야생형 BTK(WT) 발현 벡터를 모두 제작하고, 복제한 다음, 이브루티닙-민감성 림프종 세포주 TMD8에 형질감염시켰다. 이브루티닙 또는 세르둘라티닙에 노출된 후 세포 성장을 평가하였다.
- [0195] WT BTK-형질감염된 TMD8 세포의 성장이 250nM의 이브루티닙 및 세르둘라티닙에 의해 유사하게 억제된다는 것이 관찰되었다(도 4). 그러나, BTK^{C481S}-형질감염된 세포는 예상대로 이브루티닙에 덜 민감했다(도 5). 한편, 이러한 세포의 성장은 WT BTK 세포에서 관찰된 차단과 유사하게 세르둘라티닙에 의해 효과적으로 차단되었다.
- [0196] **실시예 5 : 여포성 림프종 환자에 대한 사례 연구**
- [0197] **사례 연구 1(환자 1):** 환자는 변형된 여포성 3B 임파구(IHC에 의해 양성인 MYC/BCL2/BCL6)를 가진 71세의 백인 여성이었다. 종양은 CD20+, CD10-, BCL2(강함), cMYC(50%), 및 Ki67(80%)이었다.
- [0198] 환자의 이전 치료는: R-CHOP(리툽시맙; 시클로포스파미드; 독소루비신 하이드로클로라이드; 온코빈; 프레드니손)(2013년 11월 ~ 2014년 2월)를 포함하였다. 환자는 2015년 2월에 재발했다. 환자는 2015년 3월에 하루에 한 번씩 세르둘라티닙 65 mg을 경구("PO QD") 복용하기 시작했다.

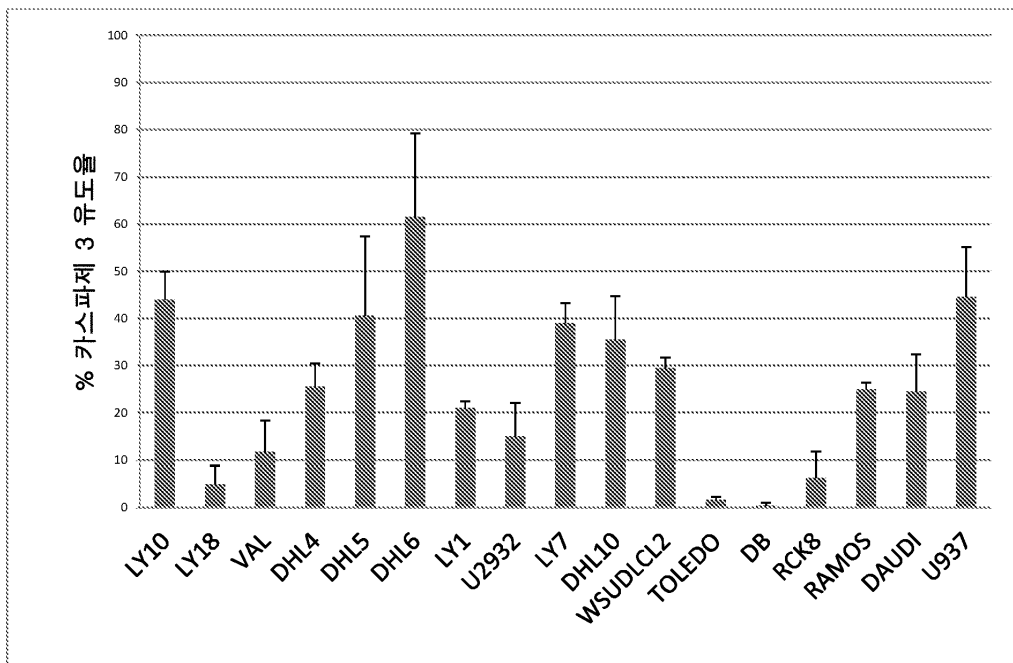
- [0199] 다음이 관찰되었다: 정상 상태 C_{min} - C_{max} 는 0.73-1.74 μ M이었으며; BCR 신호전달 억제율은 100%이었으며; IL2, IL4, IL6 신호전달 억제율은 60-100%이었으며; GM-CSF 억제율은 ~20%이었다. 환자는 2주기 후에 세르둘라티닙에 부분반응(69%)을 보였다.
- [0200] 환자 1은 2015년 8월에 진행되었다. 환자 1은 5주기의 치료 후에 재발하였다.
- [0201] **사례 연구 2(환자 2):** 환자는 여포성 림프종을 가진 71세의 백인 여성이었다.
- [0202] 환자의 이전 치료는: 클로람부실(1998; CR), 플루다라빈/리툭산(1999-2000, CR), 아바스틴/리툭산(2011년 3월 ~ 2012년 1월)을 포함하였다. 환자 2는 2014년 9월에 재발했다. 환자 2는 2014년 10월에 세르둘라티닙 45 mg PO QD를 시작했으며, 피로감으로 인해 투여량이 30 mg으로 감소했다.
- [0203] 다음이 관찰되었다: 정상 상태 C_{min} - C_{max} 는 0.25-0.63 μ M이었다. BCR 신호전달 억제율은: pSYK Y525/525의 경우 90%, pERK Y204의 경우 0%이었으며; IL2, IL4, IL6 신호전달 억제율은 60-100%이었으며; GM-CSF 억제율은 0%이었으며; 치료 2 주기후 세르둘라티닙에 대한 부분 반응(56%), 및 1년 후 76% 결절 감소가 있었다.
- [0204] 환자 2는 계속 약물 투여중이다.
- [0205] **사례 연구 3(환자 3) :** 환자는 여포성 림프종을 가진 79세의 백인 남성이었다. 환자의 종양에는 STAT에서 S86A 돌연변이가 있다.
- [0206] 환자의 이전 치료는: R-CVP(리툭시맙; 시클로포스파미드; 빈크리스틴; 프레드니손)(2006-2007), R-유지(2006-2008), BR(벤다무스틴; 리툭시맙)(5/2013-9/2013), 이브루티닙(10/2013-4/2014), R-CHOP(12/2013-4/2014)이다. 환자 3은 2014년 5월에 재발하였다. 환자 3은 2014년 6월에 세르둘라티닙 15 mg을 1일 2회 경구로 투여받기 시작했다("PO BID"). 세르둘라티닙 투여 중 6개월간 환자 3에게서 안정적인 질병이 관찰되었다(20% 결절 감소).
- [0207] 이러한 사례 연구에 따르면, 세르둘라티닙은 현재까지 잘 견디며, 여포성 림프종이 있는 심하게 전처리된 환자에서 유망한 활동을 한다는 사실이 입증되었다. 다른 비-호지킨 림프종(NHL)에서 반응들이 보였다.
- [0208] * * *
- [0209] 다르게 정의되지 않는 한, 본원에서 사용되는 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야의 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다.
- [0210] 본원에 예시적으로 기술된 발명은 본 명세서에 구체적으로 개시되지 않은 임의의 요소 또는 요소, 제한 또는 제한이 없는 한 적절하게 실시될 수 있다. 따라서, 예를 들어, "포함하는(comprising)", "포함하는(including)", "함유하는" 등의 용어는 제한없이 해석될 것이다. 또한, 본원에 사용된 용어 및 표현은 설명의 용어로서 사용되었지만, 한정된 의미는 아니며, 도시되고 설명된 특징 또는 그 일부의 균등물을 배제하는 용어 및 표현의 사용에 대한 의도는 없지만, 청구된 본 발명의 범주 내에서 다양한 변형이 가능하다는 것을 인식해야한다.
- [0211] 따라서, 본 발명이 바람직한 구현예들 및 선택적 특징들에 의해 구체적으로 개시되었지만, 본 명세서에 개시된 본 발명의 수정, 개선 및 변형이 당업자에 의해 가능할 수 있고, 그러한 수정, 개선 및 변형은 본 발명의 범주 내에 있는 것으로 고려된다. 본원에 제공된 재료, 방법 및 실시예는 바람직한 구현예를 대표하고, 예시적이며, 본 발명의 범주를 제한하려는 것이 아니다.
- [0212] 본 발명은 본 명세서에서 광범위하고 일반적으로 기술되었다. 일반적인 개시 내용에 속하는 더 좁은 종 및 하위 진제 그룹도 각각이 본 발명의 일부를 형성한다. 여기에는 배제된 물질이 본원에서 구체적으로 인용되는지의 여부와 무관하게 속으로부터 임의의 주제를 제거하는 단서 또는 부정적 제한을 갖는 본 발명의 일반적인 설명이 포함된다.
- [0213] 또한, 본 발명의 특징 또는 양태가 마커시 그룹으로 설명되는 경우, 당업자는 본 발명이 또한 마커시 그룹의 구성원의 개별 구성원 또는 서브 그룹의 관점에서 기술됨을 인식할 것이다.
- [0214] 본원에 언급된 모든 공보, 특허 출원, 특허 및 기타 참고문헌은 각각이 개별적으로 참조로 포함된 것과 동일한 정도로 참조로 전체적으로 명확하게 포함된다. 갈등이 있는 경우, 정의를 포함한 본 규격이 우선한다.
- [0215] 본 발명은 상기 구현예들과 관련하여 설명되었지만, 상기 설명 및 실시예들은 본 발명을 설명하기 위한 것이지만 본 발명의 범주를 제한하지 않는 것으로 간주되어야한다. 본 발명의 범주 내의 다른 양태, 이점 및 변형은 본 개시 내용과 관련된 당업자에게 명백할 것이다.

도면

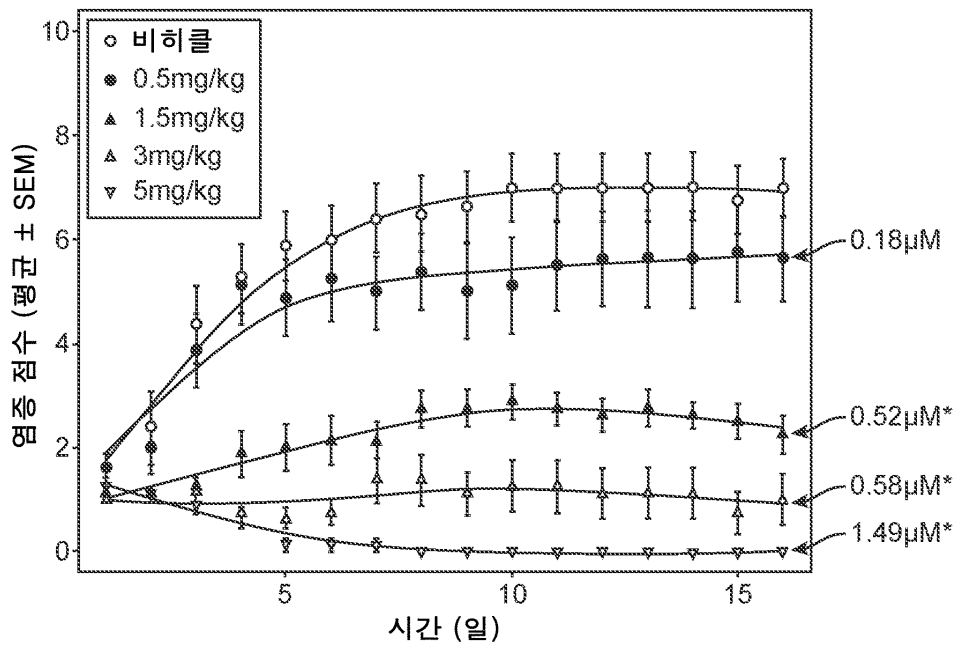
도면1



도면2

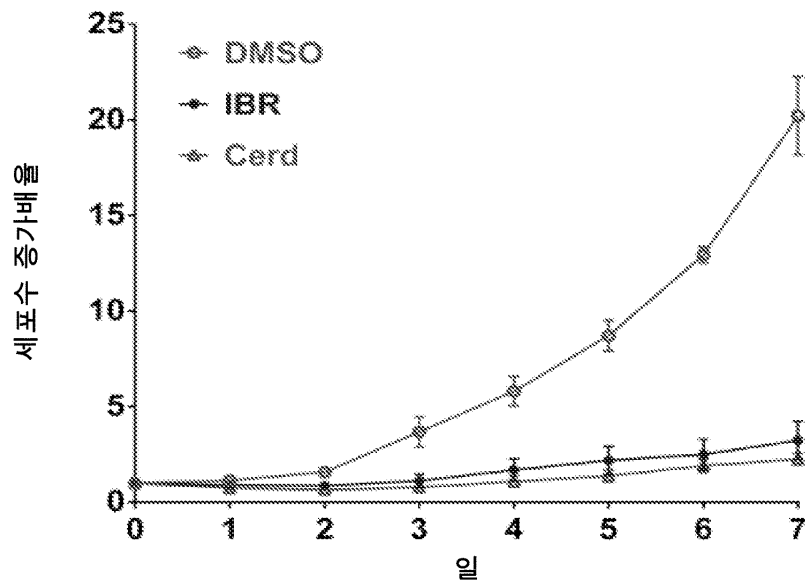


도면3



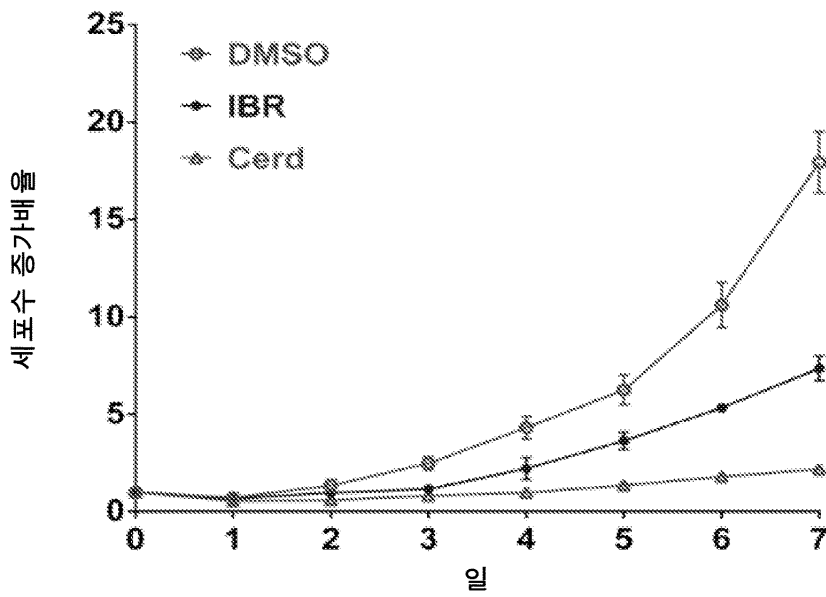
도면4

BTK 아생형

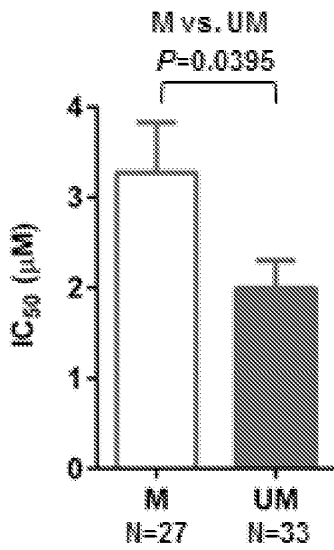


도면5

BTK C481S



도면6



도면7

세포유전학

