



공개특허 10-2020-0077518

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2020-0077518
(43) 공개일자 2020년06월30일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/52 (2006.01) *A61K 31/4412* (2006.01)
A61K 31/444 (2006.01) *A61K 31/4709* (2006.01)
A61K 31/496 (2006.01) *A61K 31/506* (2006.01)
A61K 31/517 (2006.01) *A61K 31/5377* (2006.01)
A61K 31/553 (2006.01) *A61K 31/704* (2006.01)
A61K 31/7068 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 31/52 (2013.01)
A61K 31/4412 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7011069
- (22) 출원일자(국제) 2018년09월27일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2020년04월16일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2018/053025
- (87) 국제공개번호 WO 2019/067666
국제공개일자 2019년04월04일
- (30) 우선권주장
62/563,991 2017년09월27일 미국(US)
(뒷면에 계속)
- (71) 출원인
에이아이 테라퓨틱스, 인코포레이티드
미국, 코네티컷 06437, 길퍼드, 530 올드 윗필드
스트리트
- (72) 발명자
리챈스타인 헨리
미국, 코네티컷 06437, 길퍼드, 530 올드 윗필드
스트리트
비해리 널
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인한얼

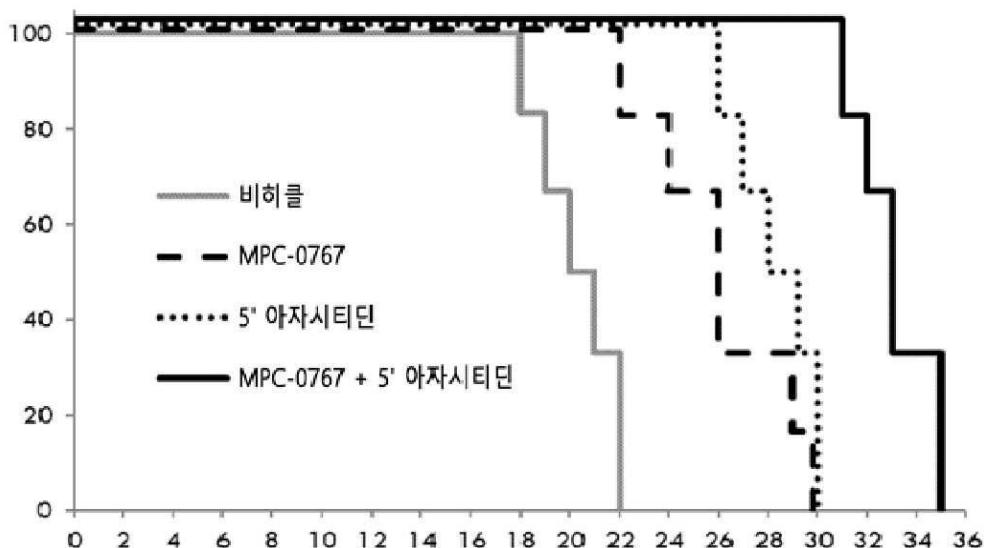
전체 청구항 수 : 총 85 항

(54) 발명의 명칭 HSP90 억제제에 관한 치료 방법

(57) 요약

본 개시는 HSP90 억제제, MPC-0767을 단독 요법으로 이용하고, 및 비제한적으로 Bcl-2의 억제제, EZH2 억제제, Ras/Raf/MEK/ERK 경로 억제제, 면역관문 억제제, DNMT 억제제, ATO 및 화학요법제를 포함한 추가적 활성제와 병용 요법으로 이용하여, 비제한적으로 혈액암 및 폐암을 포함한 암을 치료하는 방법을 제공한다. 본 개시는 또한 관련 조성물 및 이용 방법을 제공한다.

대 표 도 - 도25



(52) CPC특허분류

A61K 31/444 (2013.01)
A61K 31/4709 (2013.01)
A61K 31/496 (2013.01)
A61K 31/506 (2013.01)
A61K 31/517 (2013.01)
A61K 31/5377 (2013.01)
A61K 31/553 (2013.01)
A61K 31/704 (2013.01)
A61K 31/7068 (2013.01)

(72) 발명자

란드레네 션

미국, 코네티컷 06437, 길퍼드, 530 올드 윗필드
스트리트

케일 소피아

미국, 코네티컷 06437, 길퍼드, 530 올드 윗필드
스트리트

그로츠키 제프

미국, 코네티컷 06437, 길퍼드, 530 올드 윗필드
스트리트

헤르난데즈 메리렌스

미국, 코네티컷 06437, 길퍼드, 530 올드 윗필드
스트리트

영 피터 알.

미국, 코네티컷 06437, 길퍼드, 530 올드 윗필드
스트리트

로스버그 조나단 엠.

미국, 코네티컷 06437, 길퍼드, 530 올드 윗필드
스트리트

(30) 우선권주장

62/587,886 2017년11월17일 미국(US)
62/688,079 2018년06월21일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

암 치료가 필요한 피검자에게 치료 유효량의 MPC-0767 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 및 임의의 약학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 약학 조성물을 투여함을 포함하는, 상기 피검자에서 암을 치료하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 암이 적어도 하나의 치료제에 의한 치료에 불응성(refractory)하거나, 또는 상기 치료 후에 재발된 (relapsed) 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 약학 조성물이 MPC-0767의 메실레이트 염을 포함하는 방법.

청구항 4

제2항 또는 제3항에 있어서,

상기 적어도 하나의 치료제가 에를로티닙(erlotinib), 아파티닙(afatinib), 라파티닙(lapatinib), 다코미티닙(dacomitinib), 제피티닙(gefitinib), AP32788, 포지오티닙(poziotinib), 오시메르티닙(osimertinib) 및 EGF816으로 이루어지는 그룹 중에서 선택되는 방법.

청구항 5

제2항 또는 제3항에 있어서,

상기 적어도 하나의 치료제가 길테리티닙(gilteritinib), 크레놀라닙(crenolanib), 탄두티닙(tandutinib), 소라페닙(sorafenib), 미도스타우린(midostaurin) 및 퀴자르티닙(quizartinib)으로 이루어지는 그룹 중에서 선택되는 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 암이 상피성장인자 수용체(EGFR), 인간 상피성장인자 수용체 2(HER2), 및 fms-유사 티로신 키나제 3(FLT3) 중에서 선택된 적어도 하나의 단백질 키나제 중에 하나 이상의 활성화 돌연변이(activating mutations)를 갖는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 하나 이상의 활성화 돌연변이가 EGFR 또는 HER2 엑손 20 삽입 돌연변이(ins20)인 방법.

청구항 8

제6항에 있어서,

상기 하나 이상의 활성화 돌연변이가 FLT3 내부 텐덤 중복(internal tandem duplication; ITD)인 방법.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 암이 위암(gastric cancer), 결장암(colon cancer), 전립선암(prostate cancer), 소세포 폐암(small cell lung cancer), 비-소세포 폐암(non-small cell lung cancer; NSCLC), 난소암, 림프종(lymphoma), 급성 골수성 백혈병(acute myeloid leukemia; AML), 급성 전골수성 백혈병(acute promyelocytic leukemia), 만성 림프구성 백혈병(chronic lymphocytic leukemia; CLL), 다발성 골수종(multiple myeloma), 신장세포 암종(renal cell carcinoma), 위장관 기질 종양(gastrointestinal stromal tumor), 만성 골수성 백혈병(chronic myeloid leukemia), 다형성 교모세포종(glioblastoma multiforme), 성상세포종(astrocytoma), 수모세포종(medulloblastoma), 흑색종(melanoma), 유방암(breast cancer) 및 췌장암(pancreatic cancer) 중에서 선택되는 방법.

청구항 10

제7항에 있어서,

상기 암이 비-소세포 폐암(NSCLC)인 방법.

청구항 11

제8항에 있어서,

상기 암이 급성 골수성 백혈병(AML)인 방법.

청구항 12

제9항에 있어서,

상기 암이 만성 림프구성 백혈병(CLL)인 방법.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 피검자가 인간인 방법.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 약학 조성물이 경구(oral), 구강(buccal), 또는 비경구(parenteral) 투여에 적합한 방법.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 피검자에게 하나 이상의 추가적 활성 약학 성분(active pharmaceutical ingredients; APIs)을 투여함을 추가적으로 포함하는 방법.

청구항 16

제15항에 있어서,

상기 하나 이상의 추가적 API가 단백질 키나제 억제제(PKI), 화학요법제(chemotherapeutic agent), FLT3 억제제, PD-1/PD-L1 억제제, Bcl-2 경로(pathway) 억제제, Ras/Raf/MEK/ERK 경로(pathway) 억제제, 면역관문 억제제(checkpoint inhibitor), 항-종양 면역성(anti-tumor immunity)을 증대시키는 치료제, 또는 EZH2 억제제인 방법.

청구항 17

제16항에 있어서,

상기 PKI가 EGFR 또는 HER2 표적화된 PKI인 방법.

청구항 18

제17항에 있어서,

상기 PKI가 에를로티닙, 아파티닙, 라파티닙, 다코미티닙, 제피티닙, AP32788, 포지오티닙, 오시메르티닙 및 EGF816 중에서 선택되는 방법.

청구항 19

제16항에 있어서,

상기 화학요법제가 도세탁셀(docetaxel), 카르보플라틴(carboplatin), 시스플라틴(cisplatin) 및 페메트렉시드(pemetrexed) 중에서 선택되는 방법.

청구항 20

제16항에 있어서,

상기 FLT3 억제제가 크레놀라닙, 탄두티닙, 길테리티닙, 미도스타우린, 퀴자르티닙, 및 소라페닙 중에서 선택되는 방법.

청구항 21

제16항에 있어서,

상기 PD-1/PD-L1 억제제가 AMP-224, AMP-514/MEDI-0680, 아테졸리주맙(atezolizumab), 아벨루맙(avelumab), BGB-A317, BMS936559, 두르발루맙(durvalumab), JTX-4014, 니볼루맙(nivolumab), 펌브롤리주맙(pembrolizumab), 및 SHR-1210으로 이루어지는 그룹 중에서 선택되는 방법.

청구항 22

제16항에 있어서,

상기 Bcl-2 경로 억제제가 ABT-737, AT-101(고시풀(Gossypol)), APG-1252, A1155463, A1210477, 나비토클락스(navitoclax), 오바토클락스(obatoclax), 사부토클락스(sabutoclax), 베네토클락스(venetoclax), S 55746, WEHI-539, AMG-176, MIK665 및 S641315로 이루어지는 그룹 중에서 선택되는 방법.

청구항 23

제16항에 있어서,

상기 Bcl-2 경로 억제제가 BCL2, BCLXL, 또는 MCL1의 억제제인 방법.

청구항 24

제22항 또는 제23항에 있어서,

상기 Bcl-2 경로 억제제가 ABT-737, 나비토클락스 및 베네토클락스 중에서 선택되는 방법.

청구항 25

제15항에 있어서,

상기 하나 이상의 추가적 API가 다우노루비신(daunorubicin), 독소루비신(doxorubicin), 에피루비신(epirubicin), 미톡산트론(mitoxantrone), 이다루비신(idarubicin) 및 시타라빈(cytarabine)으로 이루어지는 그룹 중에서 선택되는 방법.

청구항 26

제15항에 있어서,

상기 하나 이상의 추가적 API가 크레놀라닙, 시타라빈, 다우노루비신, 길테리티닙, 소라페닙 및 베네토클락스 중에서 선택되는 방법.

청구항 27

제15항에 있어서,
하나 이상의 추가적 API가 베네토클락스인 방법.

청구항 28

제17항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 암이 비-소세포 폐암(NSCLC)인 방법.

청구항 29

제20항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 암이 급성 골수성 백혈병(AML)인 방법.

청구항 30

제24항 또는 제27항에 있어서,
상기 암이 만성 림프구성 백혈병(CLL)인 방법.

청구항 31

급성 골수성 백혈병(AML)의 치료가 필요한 피검자에게 치료 유효량의 MPC-0767 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 및 임의의 약학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 약학 조성물을 투여함을 포함하는, 상기 피검자에서 AML을 치료하는 방법.

청구항 32

제31항에 있어서,
상기 약학 조성물이 MPC-0767의 메실레이트 염을 포함하는 방법.

청구항 33

제31항 또는 제32항에 있어서,
상기 AML이 적어도 하나의 단백질 키나제 억제제(PKI)에 의한 치료에 불응성(refractory)하거나 또는 상기 치료 후에 재발된(relapsed) 방법.

청구항 34

제33항에 있어서,
상기 AML이 미도스타우린, 퀴자르티닙, 탄두티닙, 및 소라페닙 중 하나 이상에 의한 치료에 불응성이거나 또는 상기 치료 후에 재발된 방법.

청구항 35

제31항 또는 제32항에 있어서,
상기 AML이 질테리티닙, 크레놀라닙, 소라페닙, 미도스타우린, 다우노루비신, 독소루비신, 에피루비신, 미톡산트론, 이다루비신 및 시타라빈 중 하나 이상에 의한 치료에 불응성이거나 또는 상기 치료 후에 재발된 방법.

청구항 36

제31항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 AML이 FLT3에 하나 이상의 활성화 돌연변이(activating mutations)를 가짐을 특징으로 하는 방법.

청구항 37

제36항에 있어서,

상기 FLT3에 하나 이상의 활성화 돌연변이가 FLT3 ITD 돌연변이, FLT3 D835에서의 점 돌연변이, FLT3 I836에서의 점 돌연변이, 점 돌연변이 FLT3 N676K, 및 점 돌연변이 F691L 중에서 선택되는 방법.

청구항 38

제37항에 있어서,

상기 FLT3에 하나 이상의 활성화 돌연변이가 FLT3 ITD 돌연변이인 방법.

청구항 39

제31항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 피검자에게 하나 이상의 추가적 활성 약제(API)를 투여하는 단계를 추가적으로 포함하는 방법.

청구항 40

제39항에 있어서,

상기 하나 이상의 추가적 API가 단백질 키나제 억제제(PKI), 화학요법제, FLT3 억제제, PD-1/PD-L1 억제제, Ras/Raf/MEK/ERK 경로 억제제, Bcl-2 경로 억제제, 면역관문 억제제, 항-종양 면역성을 증대시키는 치료제, 또는 EZH2 억제제인 방법.

청구항 41

제40항에 있어서,

상기 FLT3 억제제가 크레놀라닙, 길테리티닙, 미도스타우린, 퀴자르티닙, 및 소라페닙 중에서 선택되는 방법.

청구항 42

제40항에 있어서,

상기 PD-1/PD-L1 억제제가 AMP-224, AMP-514/MEDI-0680, 아테졸리주맙, 아벨루맙, BGB-A317, BMS936559, 두르발루맙, JTX-4014, 니볼루맙, 펜브롤리주맙, 및 SHR-1210으로 이루어지는 그룹 중에서 선택되는 방법.

청구항 43

제40항에 있어서,

상기 Bcl-2 경로 억제제가 ABT-737, AT-101(고시풀), APG-1252, A1155463, A1210477, 나비토클락스, 오바토클락스, 사부토클락스, 베네토클락스, S 55746, WEHI-539, AMG-176, MIK665 및 S641315로 이루어지는 그룹 중에서 선택되는 방법.

청구항 44

제40항에 있어서,

상기 Bcl-2 경로 억제제가 BCL2, BCLXL, 또는 MCL1의 억제제인 방법.

청구항 45

제40항에 있어서,

상기 Bcl-2 경로 억제제가 ABT-737, 나비토클락스 및 베네토클락스 중에서 선택되는 방법.

청구항 46

제39항에 있어서,

상기 하나 이상의 추가적 API가 다우노루비신, 독소루비신, 에피루비신, 미톡산트론, 이다루비신 및 시타라빈으로 이루어지는 그룹 중에서 선택되는 방법.

청구항 47

제39항에 있어서,

상기 하나 이상의 추가적 API가 크레놀라닙, 시타라빈, 다우노루비신, 길테리티닙, 소라페닙 및 베네토클락스 중에서 선택되는 방법.

청구항 48

제39항에 있어서,

상기 하나 이상의 추가적 API가 베네토클락스인 방법.

청구항 49

MPC-0767 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 및 임의의 약학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 약학 조성물.

청구항 50

제49항에 있어서,

제31항 내지 제48항 중 어느 한 항의 방법에 따라 AML을 치료하는데 이용하기 위한 약학 조성물.

청구항 51

MPC-0767 및 하나 이상의 추가적 API를 포함하는 약학 조성물.

청구항 52

제51항에 있어서,

상기 하나 이상의 추가적 API가 크레놀라닙, 시타라빈, 다우노루비신, 길테리티닙, 소라페닙 및 베네토클락스로 이루어지는 그룹 중에서 선택되는 약학 조성물.

청구항 53

제51항에 있어서,

상기 하나 이상의 추가적 API가 ABT-737, 나비토클락스 및 베네토클락스 중에서 선택되는 약학 조성물.

청구항 54

제53항에 있어서,

상기 하나 이상의 추가적 API가 베네토클락스인 약학 조성물.

청구항 55

제31항 또는 제32항에 있어서,

상기 AML이 Bcl-2 경로 억제제에 의한 치료에 불응성이거나 또는 상기 치료 후에 재발된 방법.

청구항 56

제55항에 있어서,

상기 Bcl-2 경로 억제제가 베네토클락스인 방법.

청구항 57

제55항 또는 제56항에 있어서,

상기 피험자에게 하나 이상의 추가적 활성 약제(API)를 투여함을 추가적으로 포함하는 방법.

청구항 58

제57항에 있어서,

상기 하나 이상의 추가적 API가 단백질 키나제 억제제(PKI), 화학요법제, FLT3 억제제, PD-1/PD-L1 억제제, 또는 Bcl-2 경로 억제제인 방법.

청구항 59

제58항에 있어서,

상기 FLT3 억제제가 크레놀라닙, 길테리티닙, 미도스타우린, 퀴자르티닙, 및 소라페닙 중에서 선택되는 방법.

청구항 60

제58항에 있어서,

상기 PD-1/PD-L1 억제제가 AMP-224, AMP-514/MEDI-0680, 아테졸리주맙, 아벨루맙, BGB-A317, BMS936559, 두르발루맙, JTX-4014, 니볼루맙, 펜브롤리주맙, 및 SHR-1210으로 이루어지는 그룹 중에서 선택되는 방법.

청구항 61

제58항에 있어서,

상기 Bcl-2 경로 억제제가 ABT-737, AT-101(고시풀), APG-1252, A1155463, A1210477, 나비토클락스, 오바토클락스, 사부토클락스, 베네토클락스, S 55746, WEHI-539, AMG-176, MIK665 및 S641315로 이루어지는 그룹 중에서 선택되는 방법.

청구항 62

제58항에 있어서,

상기 Bcl-2 경로 억제제가 BCL2, BCLXL, 또는 MCL1의 억제제인 방법.

청구항 63

제58항에 있어서,

상기 Bcl-2 경로 억제제가 ABT-737, 나비토클락스 및 베네토클락스 중에서 선택되는 방법.

청구항 64

제57항에 있어서,

상기 하나 이상의 추가적 API가 다우노루비신, 독소루비신, 에피루비신, 미톡산트론, 이다루비신 및 시타라빈으로 이루어지는 그룹 중에서 선택되는 방법.

청구항 65

제57항에 있어서,

상기 하나 이상의 추가적 API가 크레놀라닙, 시타라빈, 다우노루비신, 길테리티닙, 소라페닙 및 베네토클락스 중에서 선택되는 방법.

청구항 66

제57항에 있어서,

상기 하나 이상의 추가적 API가 베네토클락스인 방법.

청구항 67

제31항 또는 제32항에 있어서,

Ras/Raf/MEK/ERK 경로 억제제를 투여함을 추가적으로 포함하는 방법.

청구항 68

제67항에 있어서,

상기 RAS 경로 억제제가 Raf 억제제, 예를 들어 베무라페닙(vemurafenib), 소라페닙(sorafenib), 또는 다브라페닙(dabrafenib), MEK 억제제, 예를 들어 AZD6244(셀루메티닙(Selumetinib)), PD0325901, GSK1120212(트라메티닙(Trametinib)), U0126-EtOH, PD184352, RDEA119(라파메티닙(Rafamatinib)), PD98059, BIX 02189, MEK162(비니메티닙(Binimetinib)), AS-703026(피마세르틴(Pimasertib)), SL-327, BIX02188, AZD8330, TAK-733, 코비메티닙(cobimetinib) 또는 PD318088, 및 ERK 억제제, 예를 들어 LY3214996, BVD-523 또는 GDC-0994 중에서 선택되는 방법.

청구항 69

제49항에 있어서,

상기 제55항 내지 제68항 중 어느 한 항의 방법에 따라 AML을 치료하는데 이용하기 위한 약학 조성물.

청구항 70

AML의 치료가 필요한 피검자에서 MPC-0767에 대한 치료학적 반응을 예측하는 방법으로서, 상기 피검자로부터 수득된 AML 암세포의 샘플에서 FLT3 및 RAS 상태를 결정함을 포함하고, 여기서 FLT3 정상/비-FLT3-ITD 및 RAS 돌연변이체의 상태는, 상기 암세포가 MPC-0767 단독 요법에 내성이 있고 MPC-0767 및 Ras/Raf/MEK/ERK 경로 억제제의 병용 요법에 반응성인 것으로 예측됨을 가리키고; FLT3-ITD의 상태는, 상기 암세포가 MPC-0767 단독 요법에 반응성인 것으로 예측됨을 나타내는 방법.

청구항 71

AML의 치료가 필요한 피검자에서 AML을 치료하는 방법으로서, 상기 피검자로부터의 AML 암세포의 샘플에서 FLT3 및 RAS 돌연변이체 상태를 결정하고, 상기 상태가 FLT3 정상/비-FLT3-ITD 및 RAS 돌연변이체인 경우, 상기 피검자를 MPC-0767 및 Ras/Raf/MEK/ERK 경로 억제제를 포함하는 병용 요법으로 치료함을 포함하는 방법.

청구항 72

제69항 또는 제70항에 있어서,

RAS 돌연변이체의 상태가 NRAS 또는 KRAS 중의 하나 이상의 활성화 돌연변이의 존재에 의해 한정되는 방법.

청구항 73

제71항에 있어서,

상기 NRAS 또는 KRAS 중의 하나 이상의 활성화 돌연변이가, KRAS의 A146T 및 G13D; 또는 NRAS의 Q61L, Q61H, 및 G12D로 이루어지는 그룹 중에서 선택된 아미노산 변화를 야기시키는 RAS 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열에서의 돌연변이인 방법.

청구항 74

제31항 또는 제32항에 있어서,

EZH2 억제제를 투여함을 추가적으로 포함하는 방법.

청구항 75

AML의 치료가 필요한 피검자에서 MPC-0767에 대한 치료학적 반응을 예측하는 방법으로서, 상기 피검자로부터의 AML 암세포의 샘플에서 EZH2 상태를 결정하거나 수신함을 포함하고, 여기서 기능 돌연변이(function mutation)의 EZH2 상실은, 상기 암세포가 MPC-0767 요법에 반응성인 것으로 예측됨을 나타내는 반면, 기능 돌연변이의 EZH2 획득은 상기 암세포가 MPC-0767 요법에 내성이 있는 것으로 예측됨을 나타내는 방법.

청구항 76

AML의 치료가 필요한 피검자에서 AML을 치료하는 방법으로서, 상기 피검자로부터의 AML 암세포의 생물학적 샘플에서 EZH2 상태를 결정하거나 수신하고, 상기 상태가 기능 돌연변이의 EZH2 상실인 경우 상기 피검자를 MPC-0767 요법으로 치료하거나, 또는 상기 EZH2 상태가 정상이거나 또는 기능 EZH2 돌연변이의 획득인 경우 상기 피검자를 MPC-0767 및 EZH2 억제제를 포함하는 병용 요법으로 치료함을 포함하는 방법.

청구항 77

AML의 치료가 필요한 피검자에서 MPC-0767에 대한 치료학적 반응을 예측하는 방법으로서, 상기 피검자로부터 수득한 AML 암세포의 샘플에서 KDM6A 상태를 결정하거나 수신함을 포함하고, 여기서 기능 돌연변이의 KDM6A 상실은 상기 암세포가 MPC-0767 요법에 내성이 있는 것으로 예측됨을 나타내는 방법.

청구항 78

제31항 또는 제32항에 있어서,

EZH2 억제제를 투여함을 추가적으로 포함하는 방법.

청구항 79

제78항에 있어서,

상기 EZH2 억제제가 GSK343, EPZ6438(타제메토스태트), CPI-1205, GSK2816126, 및 PF-06821497 중에서 선택되는 방법.

청구항 80

암 치료에 이용하기 위한, MPC-0767 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 및 임의의 약학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 약학 조성물.

청구항 81

제80항에 있어서,

상기 암이 혈액암 또는 고형 종양인 약학 조성물.

청구항 82

제80항 또는 제81항에 있어서,

상기 화학요법제, 항-종양 면역성을 증대시키는 작용제, 면역관문 억제제, Ras/Raf/MEK/ERK 경로 억제제 중에서 선택된 추가적 치료제와 함께 이용하기 위한 약학 조성물.

청구항 83

제82항에 있어서,

상기 화학요법제가 삼산화 비소 또는 아자시티딘 중에서 선택되는 약학 조성물.

청구항 84

제82항에 있어서,

상기 Ras/Raf/MEK/ERK 경로 억제제가 트라메티닙인 약학 조성물.

청구항 85

제82항에 있어서,

상기 면역관문 억제제가 PD-1/PD-L1 신호전달의 억제제 또는 CTLA-4 억제제인 약학 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 암 치료용 HSP90 억제제의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 열충격 단백질(HSP)은 다양한 세포 과정, 예를 들어 체온의 상승, 외부 스트레스 및 영양 결핍과 관련된 샤페론(chaperone) 단백질의 한 부류이다. 샤페론 단백질로서, 열충격 단백질의 기본적인 역할은 상기와 같은 스트레스 하에서 단백질을 안정화시키고 또한 클라이언트 단백질(client proteins)의 정확한 폴딩을 촉진하는 것이다.

[0003] HSP90은, 특히 스트레스에 반응하여 세포 단백질(종종 "클라이언트 단백질(client proteins)"이라 칭한다)의 번역-후 폴딩, 안정성 및 기능 조절에 중요한 역할을 하는, 고도로 보존되고(highly conserved), 편재 발현되는(ubiquitously expressed) 분자 샤페론이다(Whitesell and Lindquist, *Nature Rev. Cancer* 2005 5:761). 클라이언트 단백질의 폴딩은 HSP90의 ATPase 활성에 의존하며, 상기 ATP 부위에 결합하는 HSP90의 억제제는 유비퀴틴-프로테아솜 경로(ubiquitin-proteasome pathway)를 통해 클라이언트 단백질의 분해를 초래할 수 있다.

[0004] HSP90은 다양한 종양유전자를 포함하는 이의 클라이언트 단백질로 인해 암에 괄목할만한 관여를 한다(예; 문헌[Shrestha et al., 2016] 참조). 일부 클라이언트 단백질은 HSP90 억제제에 특히 반응성(responsive)으로서 급속히 분해가 된다. (Biamonte et al. *J. Med. Chem* 2010 53, 3-17). 가장 민감한 클라이언트 단백질의 예로서 HER2, 암생형 EGFR 및 돌연변이 EGFR, RAF-1, AKT, 돌연변이 BRAF, FLT3 및 돌연변이 FLT3를 들 수 있다.

[0005] HSP90의 발현은 종종 종양에서 상승되며(Valbuena et al., *Mod. Pathology* 2005 18: 1343; Guo et al., 2017), 좋지 않은 예후와 관련되어 왔다(Pick et al., *Cancer Res.* 2007; Wang, J. et al., *PLoS One* 2013 8: e62876). 다수의 종양 세포가 또한 종양 세포를 주도하는 것으로 알려진, 돌연변이되거나 변형된(altered) 형태의 단백질을 발현하며, 이들 단백질은 HSP90과의 회합(association)을 통해 안정화되고 이들의 기능을 위해 상기 회합에 의존한다. 이러한 회합은 세포 내에 거대 단백질 복합체의 형성을 유도하며, 상기 복합체는 HSP90 억제제에 대해 증대된 친화성을 갖는다(Goldstein et al., *J. Clin. Invest.* 2015 125(12): 4559-71; Rodina et al., *Nature* 2016 538: 397). 결과적으로, 종양 세포는 보다 높은 수준의 HSP90 억제제를 유지하며 HSP90 억제제의 투여는 강력한 클라이언트 단백질 분해 및 정상 세포에 대한 보다 제한된 활성과 함께 증식 및 생존의 감소를 초래한다(Barrott and Haystead, *FEBS J.* 2013 280:1381).

[0006] HSP90 억제제는 유방암, 결장암, 위장암, 백혈병, 림프종, 흑색종, 다발성 골수종, 난소암, 췌장암, 전립선암 및 신장암을 포함한 다양한 암에 관한 전-임상 및 초기 암상 연구에서 시험되었다. BIIB021, IPI-493, MPC-3100, Debio0932, DS-2248, HSP990, XL888, SNX5422, TAS-116, BIIB028, IPI-504, KW-2478, 알베스피마이신(alvespimycin), 타네스피마이신(alvespimycin), AT13387, AUY922, PU-H71 및 가네테스펩(ganetespib)을 포함한 18개의 HSP90 억제제가 임상 시험에서 연구되었다. 문헌[Bhat et al., *J. Med. Chem* 2014 57:8718-8728]; [Neckers and Workman *Clin. Cancer Res.* 2012, 18, 64]의 리뷰를 참조하시오. 지금까지, 이들 화합물 중 인체 이용에 대해 승인된 것은 없으며, 유전학적으로 확인된 짐단에서 시험된 HSP90 억제제도 없다.

[0007] 최근 수집되는 증거에 따르면 HSP90이 또한 종양 면역성에 영향을 미칠 가능성이 제시된다. 일부 비-임상 연구에서는 고용량의 HSP90 억제제가 종양 제거(tumor clearance)에 중요할 수 있는 면역계의 다양한 성분들을 억제할 수 있음을 제시한 바 있다(Bae et al., *J. Immunol.* 2007 178: 7730; Bae et al., *J. Immunol.* 2013 190:1360; Tukaj et al., *J. Inflammation* 2014 11:10). 또한, 다수의 종양 세포는 이들의 표면에서 면역관문 억제제 단백질 사멸 리간드 1(checkpoint inhibitor protein death ligand 1; PD-L1)을 발현하며, 상기 리간드는 국소적 세포독성 T 세포 활성을 억제할 수 있다. 예를 들어, PD-L1 발현이 환자의 AML 세포상에서 발견되고, 질병 진행과 함께 및 재발 중에 증가하고(Salih et al., *Exp. Hematol.* 2006 34:888; Chen et al., *Cancer Biol. Ther.* 2008 7:622; Berthon et al., *Cancer Immunol. Immunother.* 2010 59:1839) 더욱 저조한 전체 생존률과 관련된다(Brodska et al., *Blood* 2016 128:5229). AML 종양 세포 상에서의 PD-L1 세포 표면 발현은, 면역학적으로 활성인 종양 미세환경에서 발현되는 것으로 알려진 IFN- γ 에 의해 유도될 수 있다(Berthon et al., *Cancer Immunol. Immunother.* 2010 59:1839; Kronig et al., *Eur. J. Hematol.* 2013 92:195).

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 암을 치료하기 위한, 특히 현행 치료법에 불응성(refractory)이거나, 또는 치료 후에, 예를 들어 단백질 티로신

키나제 억제제를 기본으로 하는 치료 후에 재발된(relapsed) 암을 치료하기 위한 개선된 치료 및 약물 조합의 필요성이 지속적으로 제기되고 있다. 본 발명은 HSP90 억제제의 이용에 의해 상기 필요성을 다루고 있다.

과제의 해결 수단

[0009]

본 개시는 암 치료가 필요한 피검자, 바람직하게는 인간 피검자에서 암을 치료하기 위한 HSP90 억제제의 용도와 관련된 조성물 및 방법을 제공한다. 상기 방법은 일반적으로 암의 치료, 및 보다 특히 세포 성장 및/또는 생존이 활성화된 단백질 키나제 신호전달 경로에 의해 주도되거나 또는 상기 경로에 의존적인 것을 특징으로 하는 암, 및/또는 치료제에 의한 치료에 불응성이거나 또는 상기 치료 후에 재발된 암의 치료에서 MPC-0767의 용도에 관한 것이다. 이하 보다 상세히 기재되는 바와 같이, MPC-0767은 단독으로 이용 시 특정 암에 대해 강력한 항암 활성을 나타내며, 또한 다른 치료제와 병용 시 놀라운 효능을 나타낸다.

[0010]

본 개시는 암 치료가 필요한 피검자에게 치료 유효량의 MPC-0767 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 및 임의의 약학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 약학 조성물을 투여함을 포함하는, 상기 피검자에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 구현예에서, 상기 약학 조성물은 MPC-0767의 메실레이트(mesylate) 염을 포함한다. 구현예에서, 상기 약학 조성물은 하이드로클로라이드, 하이드로브로마이드, 설페이트, 포스페이트, 푸마레이트, 숙시네이트 또는 말리에이트 염 중에서 선택된 MPC-0767의 염을 포함한다. 구현예에서, 상기 치료가 필요한 피검자는 적어도 하나의 치료제에 의한 치료에 불응성이거나 또는 상기 치료 후에 재발된 암을 갖는 피검자이다. 구현예에서, 상기 암은 적어도 하나의 치료제에 의한 치료에 불응성이거나 또는 상기 치료 후 재발되었다. 구현예에서, 상기 치료제는 단백질 키나제 억제제이다. 구현예에서, 상기 치료제는 Bcl-2 억제제 또는 Bcl-2 경로 억제제이다. 구현예에서, 상기 치료제는 에를로티닙(erlotinib), 아파티닙(afatinib), 라파티닙(lapatinib), 다코미티닙(dacomitinib), 제페티닙(gefitinib), AP32788, 포지오타닙(poziotinib), 오시메르티닙(osimertinib) 및 EGF816 중에서 선택된다. 다른 구현예에서, 상기 치료제는 길테리티닙(gilteritinib), 탄두티닙(tandutinib), 크레놀라닙(crenolanib), 소라페닙(sorafenib), 미도스타우린(midostaurin) 및 퀴자르티닙(quizartinib) 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 치료제는 길테리티닙(gilteritinib)이다. 구현예에서, 상기 치료제는 미도스타우린(midostaurin)이다. 구현예에서, 상기 치료제는 소라페닙(sorafenib)이다. 구현예에서, 상기 치료제는 탄두티닙(tandutinib)이다.

[0011]

구현예에서, 상기 암은 상피성장인자 수용체(EGFR), 인간 상피성장인자 수용체 2(HER2), 및 fms-유사 티로신 키나제 3(FLT3) 중에서 선택된 적어도 하나의 단백질 키나제에 하나 이상의 활성화 돌연변이(activating mutations)를 갖는 것을 특징으로 한다. 구현예에서, 상기 하나 이상의 활성화 돌연변이는 EGFR 또는 HER2 엑손 20 삽입 돌연변이(ins20)이다. 구현예에서, 상기 하나 이상의 활성화 돌연변이는 FLT3 내부 텐덤 중복(internal tandem duplication; ITD)이다.

[0012]

구현예에서, 상기 암은 혈액암(hematologic malignancy) 또는 고형 종양(solid tumor)이다.

[0013]

구현예에서, 상기 암은 위암(gastric cancer), 결장암(colon cancer), 전립선암(prostate cancer), 소세포 폐암(small-cell lung cancer), 비-소세포 폐암(non-small cell lung cancer; NSCLC), 난소암(ovarian cancer), 림프종(lymphoma), 급성 골수성 백혈병(acute myeloid leukemia; AML), 만성 림프구성 백혈병(chronic lymphocytic leukemia; CLL), 다발성 골수종(multiple myeloma), 신장세포 암종(renal cell carcinoma), 위장관 기질 종양(gastrointestinal stromal tumor), 만성 골수성 백혈병(chronic myeloid leukemia), 다형성 교모세포종(glioblastoma multiforme), 성상세포종(astrocytoma), 수모세포종(medulloblastoma), 흑색종(melanoma), 유방암(breast cancer) 및 췌장암(pancreatic cancer) 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 암은 NSCLC이다. 구현예에서, 상기 암은 AML이다. 구현예에서, 상기 암은 CLL이다. 구현예에서, 상기 암은 EGFR 및 HER 중에서 선택된 적어도 하나의 단백질 키나제에 하나 이상의 활성화 돌연변이를 갖는 것을 특징으로 하며 상기 암은 NSCLC이다. 구현예에서, 상기 암은 FLT3에 하나 이상의 활성화 돌연변이를 갖는 것을 특징으로 하며 상기 암은 AML이다.

[0014]

선행 구현예 중 어느 하나에 따라, 상기 피검자는 인간이다.

[0015]

선행 구현예 중 어느 하나에 따라, 상기 약학 조성물은 경구(oral), 구강(buccal), 또는 비경구(parenteral) 투여에 적합하다.

[0016]

선행 구현예 중 어느 하나에 따라, 상기 방법은 상기 피검자에게 하나 이상의 추가적 활성 약학 성분(API)을 투여함을 추가로 포함한다.

- [0017] 구현예에서, 상기 하나 이상의 추가적 API는 단백질 키나제 억제제(PKI), FLT3 억제제, PD-1/PD-L1 억제제, CTLA-4 억제제, Ras/Raf/MEK/ERK 경로 억제제, Bcl-2 경로 억제제, 또는 EZH2 억제제이다.
- [0018] 구현예에서, 상기 하나 이상의 추가적 API는 PKI이다. 구현예에서, 상기 PKI는 EGFR 또는 HER2 표적화된(HER2 targeted) PKI이다. 구현예에서, 상기 PKI는 에를로티닙, 아파티닙, 라파티닙, 다코미티닙, 제피티닙, AP32788, 포지오티닙, 오시메르티닙 및 EGF816 중에서 선택된다. 상기 API가 PKI인 선행 구현예 중 어느 하나에 따라, 다른 구현예에서 상기 암은 NSCLC이다.
- [0019] 구현예에서, 상기 하나 이상의 추가적 API는 FLT3 억제제이다. 구현예에서, 상기 FLT3 억제제는 탄두티닙, 크레놀라닙, 길테리티닙, 미도스타우린, 퀴자르티닙, 및 소라페닙 중에서 선택된다. 상기 API가 FLT3 억제제인 선행 구현예 중 어느 하나에 따라, 다른 구현예에서 상기 암은 AML이다.
- [0020] 구현예에서, 상기 하나 이상의 추가적 API는 PD-1/PD-L1 억제제이다. 구현예에서, 상기 PD-1/PD-L1 억제제는 AMP-224, AMP-514/MEDI-0680, 아테졸리주맙(atezolizumab), 아벨루맙(avelumab), BGB-A317, BMS936559, 두르발루맙(durvalumab), JTX-4014, 니볼루맙(nivolumab), 펜브롤리주맙(pembrolizumab), 및 SHR-1210으로 이루어지는 그룹 중에서 선택된다. 상기 API가 PD-1/PD-L1 억제제인 선행 구현예 중 어느 하나에 따라, 다른 구현예에서 상기 암은 AML이다.
- [0021] 구현예에서, 상기 Ras/Raf/MEK/ERK 경로 억제제는 트라메티닙(trametinib)이다.
- [0022] 구현예에서, 상기 하나 이상의 추가적 API는 Bcl-2 경로 억제제이다. 구현예에서, 상기 Bcl-2 경로 억제제는 ABT-737, AT-101(고시풀(Gossypol)), APG-1252, A1155463, A1210477, 나비토클락스(navitoclax), 오바토클락스(obatoclax), 사부토클락스(sabutoclax), 베네토클락스(venetoclax), S 55746, WEHI-539, AMG-176, MIK665 및 S641315로 이루어지는 그룹 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 Bcl-2 경로 억제제는 BCL2, BCLXL, 또는 MCL1의 억제제이다. 구현예에서, 상기 Bcl-2 경로 억제제는 ABT-737, 나비토클락스 및 베네토클락스, 바람직하게는 베테노클락스 중에서 선택된다. 상기 API가 Bcl-2 경로 억제제인 선행 구현예 중 어느 하나에 따라, 다른 구현예에서 상기 암은 AML 또는 CLL이다.
- [0023] 구현예에서, 상기 하나 이상의 추가적 API는 EZH2 억제제이다. 구현예에서, 상기 EZH2 억제제는 EPZ6438, CPI-1205, GSK343, GSK2816126, MAK-683 및 PF-06821497 중에서 선택된다.
- [0024] 구현예에서, 상기 하나 이상의 추가적 API는 화학요법제이다. 구현예에서, 상기 화학요법제는 삼산화 비소(arsenic trioxide) 및 아자시티딘(azacytidine) 중에서 선택된다.
- [0025] 구현예에서, 상기 화학요법제는 도세탁셀, 카르보플라틴, 시스플라틴 및 페메트렉시드 중에서 선택된다. 상기 API가 화학요법제인 구현예에서, 상기 암은 NSCLC이다.
- [0026] 구현예에서, 상기 하나 이상의 추가적 API는 다우노루비신(daunorubicin), 독소루비신(doxorubicin), 에피루비신(epirubicin), 미톡산트론(mitoxantrone), 이다루비신(idarubicin) 및 시타라빈(cytarabine) 중에서 선택된다. 상기 하나 이상의 추가적 API가 다우노루비신, 독소루비신, 에피루비신, 미톡산트론, 이다루비신 및 시타라빈 중에서 선택되는 구현예에서, 상기 암은 AML이다.
- [0027] 구현예에서, 상기 하나 이상의 추가적 API는 크레놀라닙(crenolanib), 시타라빈(cytarabine), 다우노루비신(daunorubicin), 길테리티닙(gilteritinib), 소라페닙(sorafenib) 및 베네토클락스(venetoclax) 중에서 선택된다. 상기 하나 이상의 추가적 API가 크레놀라닙, 시타라빈, 다우노루비신, 길테리티닙, 소라페닙 및 베네토클락스 중에서 선택되는 구현예에서, 상기 암은 AML이다.
- [0028] 본 개시는 또한 급성 골수성 백혈병(AML)의 치료가 필요한 피검자에게 치료 유효량의 MPC-0767 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 및 임의의 약학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 약학 조성물을 투여함을 포함하는, 상기 피검자에서 AML을 치료하는 방법을 제공한다. 구현예에서, 상기 약학 조성물은 MPC-0767의 메실레이트 염을 포함한다. 구현예에서, 상기 약학 조성물은 하이드로클로라이드(hydrochloride), 하이드로브로마이드(hydrobromide), 셀페이트(sulfate), 포스페이트(phosphate), 푸마레이트(fumarate), 숙시네이트(succinate) 또는 말리에이트(maleate) 염 중에서 선택된 MPC-0767의 염을 포함한다. 구현예에서, 상기 AML은 적어도 하나의 단백질 키나제 억제제(PKI)에 의한 치료에 불응성이거나 또는 상기 치료 후 재발되었다. 구현예에서, 상기 AML은 미도스타우린, 퀴자르티닙 및 소라페닙 중 하나 이상에 의한 치료에 불응성이거나 또는 상기 치료 후 재발되었다. 구현예에서, 상기 AML은 길테리티닙, 크레놀라닙, 소라페닙, 미도스타우린, 다우노루비신, 독소루비신, 에피루비신, 미톡산트론, 이다루비신 및 시타라빈 중 하나 이상에 의한 치료에 불응성이거나 또는 상기 치료 후

재발되었다. 구현예에서, 상기 AML은 FLT3 중에 하나 이상의 활성화 돌연변이를 가짐을 특징으로 한다. 구현예에서, 상기 FLT3에 하나 이상의 활성화 돌연변이는 FLT3 ITD 돌연변이, FLT3 D835에서의 점 돌연변이, FLT3 I836에서의 점 돌연변이(point mutation), 점 돌연변이 FLT3 N676K, 및 점 돌연변이 F691L 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 FLT3에 하나 이상의 활성화 돌연변이는 FLT3 ITD 돌연변이이다.

[0029] 일 구현예에서, 상기 AML은 FLT3에 대해 야생형이고 활성화 Ras 돌연변이가 없음을 특징으로 한다.

[0030] 구현예에서, 상기 AML의 치료 방법은 피검자에게 하나 이상의 추가적 활성 약제(API)를 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 구현예에서, 상기 하나 이상의 추가적 API는 단백질 키나제 억제제(PKI), 화학요법제, FLT3 억제제, PD-1/PD-L1 억제제, Bcl-2 경로 억제제, 또는 EZH2 억제제이다. 구현예에서, 상기 FLT3 억제제는 탄두티닙, 크레놀라닙, 길테리티닙, 미도스타우린, 퀴자르티닙, 및 소라페닙 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 PD-1/PD-L1 억제제는 AMP-224, AMP-514/MEDI-0680, 아테졸리주맙, 아벨루맙, BGB-A317, BMS936559, 두르발루맙, JTX-4014, 니볼루맙, 펜브롤리주맙, 및 SHR-1210 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 Bcl-2 경로 억제제는 ABT-737, AT-101(고시풀), APG-1252, A1155463, A1210477, 나비토클락스, 오바토클락스, 사부토클락스, 베네토클락스, S 55746, WEHI-539, AMG-176, MIK665 및 S641315 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 Bcl-2 경로 억제제는 BCL2, BCLXL, 또는 MCL1의 억제제이다. 구현예에서, 상기 EZH2 억제제는 EPZ6438, CPI-1205, GSK343, GSK2816126, MAK-683 또는 PF-06821497 중에서 선택된다.

[0031] 구현예에서, 상기 하나 이상의 추가적 API는 다우노루비신, 독소루비신, 에피루비신, 미톡산트론, 이다루비신 및 시타라빈 중에서 선택된다.

[0032] 구현예에서, 상기 하나 이상의 추가적 API는 크레놀라닙, 시타라빈, 다우노루비신, 길테리티닙, 소라페닙 및 베네토클락스 중에서 선택된다.

[0033] 구현예에서, 상기 하나 이상의 추가적 API는 베네토클락스이다.

[0034] 구현예에서, 상기 하나 이상의 추가적 API는 Raf/Ras/MAPK 경로 억제제이다.

[0035] 구현예에서, 상기 하나 이상의 추가적 API는 삼산화 비소(arsenic trioxide; ATO), 아자시티딘(azacytidine), 및 데시타빈(decitabine) 중에서 선택된 화학요법제이다.

[0036] 본 개시는 또한 MPC-0767 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 및 임의의 약학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 약학 조성물을 제공한다.

[0037] 본 개시는 또한 본원에 기재된 방법에 따라 AML을 치료하는데 이용하기 위한 MPC-0767 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 및 임의의 약학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 약학 조성물을 제공한다.

[0038] 본 개시는 또한 MPC-0767 및 하나 이상의 추가적 API를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 구현예에서, 상기 하나 이상의 추가적 API는 크레놀라닙, 시타라빈, 다우노루비신, 길테리티닙, 소라페닙 및 베네토클락스 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 하나 이상의 추가적 API는 ABT-737, 나비토클락스 및 베네토클락스 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 하나 이상의 추가적 API는 베네토클락스이다.

[0039] 구현예에서, 본 개시는 또한 급성 골수성 백혈병(AML)의 치료가 필요한 피검자에게 치료 유효량의 MPC-0767 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 바람직하게는 메실레이트 염, 및 임의의 약학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 약학 조성물을 투여함을 포함하는, 상기 피검자에서 AML을 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 상기 AML은 Bcl-2 경로 억제제에 의한 치료에 불응성이거나 또는 상기 치료 후 재발되었다. 구현예에서, 상기 AML은 베네토클락스에 의한 치료 후 재발되었다. 구현예에서, 상기 방법은 상기 피검자에게 하나 이상의 추가적 활성 약제(API)를 투여함을 추가로 포함한다. 구현예에서, 상기 하나 이상의 추가적 API는 단백질 키나제 억제제(PKI), 화학요법제, FLT3 억제제, PD-1/PD-L1 억제제, 및 Bcl-2 경로 억제제 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 FLT3 억제제는 크레놀라닙, 길테리티닙, 미도스타우린, 퀴자르티닙, 및 소라페닙 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 PD-1/PD-L1 억제제는 AMP-224, AMP-514/MEDI-0680, 아테졸리주맙, 아벨루맙, BGB-A317, BMS936559, 두르발루맙, JTX-4014, 니볼루맙, 펜브롤리주맙, 및 SHR-1210으로 이루어지는 그룹 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 Bcl-2 경로 억제제는 ABT-737, AT-101(고시풀), APG-1252, A1155463, A1210477, 나비토클락스, 오바토클락스, 사부토클락스, 베네토클락스, S 55746, WEHI-539, AMG-176, MIK665 및 S641315로 이루어지는 그룹 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 Bcl-2 경로 억제제는 BCL2, BCLXL, 또는 MCL1의 억제제이다. 구현예에서, 상기 Bcl-2 경로 억제제는 ABT-737, 나비토클락스 및 베네토클락스 중에서 선택된다. 구현예에

서, 상기 하나 이상의 추가적 API는 다우노루비신, 독소루비신, 에피루비신, 미톡산트론, 이다루비신 및 시타라빈으로 이루어지는 그룹 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 하나 이상의 추가적 API는 크레놀라닙, 시타라빈, 다우노루비신, 길테리티닙, 소라페닙 및 베네토클락스 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 하나 이상의 추가적 API는 베네토클락스이다.

[0040] 구현예에서, 본 개시는 Ras/Raf/MEK/ERK 경로 억제제를 투여함을 추가로 포함하는 병용 요법 섭생(combination therapy regimen)으로서, 급성 골수성 백혈병(AML)의 치료가 필요한 피검자에게 치료 유효량의 MPC-0767 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 바람직하게는 메실레이트 염, 및 임의의 약학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 약학 조성물을 투여함을 포함하는, 상기 피검자에서 AML을 치료하는 방법을 제공한다. 구현예에서, 상기 Ras 경로 억제제는 Raf 억제제, 예를 들어 베무라페닙(vemurafenib), 소라페닙(sorafenib), 또는 다브라페닙(dabrafenib), MEK 억제제, 예를 들어 AZD6244(셀루메티닙(Selumetinib)), PD0325901, GSK1120212(트라메티닙(Trametinib)), U0126-EtOH, PD184352, RDEA119(라파메티닙(Rafamatinib)), PD98059, BIX 02189, MEK162(비니메티닙(Binimetinib)), AS-703026(피마세르티닙(Pimasertib)), SL-327, BIX02188, AZD8330, TAK-733, 코비메티닙(cobimetinib) 또는 PD318088, 및 ERK 억제제 (예; LY3214996, BVD-523 또는 GDC-0994) 중에서 선택된다.

[0041] 구현예에서, 본 개시는 EZH2 억제제, 예를 들어 EPZ6438, CPI-1205, GSK343, GSK2816126, MAK-683 또는 PF-06821497을 투여함을 추가로 포함하는 병용 요법 섭생(combination therapy regimen)으로서, 급성 골수성 백혈병(AML)의 치료가 필요한 피검자에게 치료 유효량의 MPC-0767 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 바람직하게는 메실레이트 염, 및 임의의 약학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 약학 조성물을 투여함을 포함하는, 상기 피검자에서 AML을 치료하는 방법을 제공한다.

[0042] 구현예에서, 본 개시는 삼산화 비소(ATO), 아자시티딘 및 데시타빈 중에서 선택된 화학요법제를 투여함을 추가로 포함하는 병용 요법 섭생으로, 급성 골수성 백혈병(AML)의 치료가 필요한 피검자에게 치료 유효량의 MPC-0767 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 바람직하게는 메실레이트 염, 및 임의의 약학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 약학 조성물을 투여함을 포함하는, 상기 피검자에서 AML을 치료하는 방법을 제공한다.

[0043] 구현예에서, 본 개시는 본원에 기재된 MPC-0767 단독 요법 또는 병용 요법의 방법 중 어느 하나에 따라 AML을 치료하는데 이용하기 위한 MPC-0767 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 바람직하게는 메실레이트 염, 및 임의의 약학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 약학 조성물을 제공한다.

[0044] 본 개시는 또한 AML의 치료가 필요한 피검자로부터 수득된 AML 암세포의 샘플에서 FLT3 및 RAS 상태를 결정함을 포함하는, 상기 피검자에서 MPC-0767에 대한 치료학적 반응을 예측하는 방법을 제공하며, 여기서 FLT3 정상/비-FLT3-ITD 및 RAS 돌연변이체의 상태는, 상기 암세포가 MPC-0767 단독 요법에 내성이 있고 MPC-0767 및 Ras/Raf/MEK/ERK 경로 억제제의 병용 요법에 반응성인 것으로 예측됨을 가리키고; FLT3-ITD의 상태는, 상기 암세포가 MPC-0767 단독 요법에 반응성인 것으로 예측됨을 나타낸다.

[0045] 본 개시는 또한 AML의 치료가 필요한 피검자에서 AML을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 피검자로부터의 AML 암세포의 샘플에서 FLT3 및 RAS 돌연변이체 상태를 결정하고, 상기 상태가 FLT3 정상 또는 비-FLT3-ITD 및 RAS 돌연변이체인 경우, 상기 피검자를 MPC-0767 및 Ras/Raf/MEK/ERK 경로 억제제를 포함하는 병용 요법으로 치료함을 포함한다.

[0046] 상기 방법에 따라, Ras 돌연변이체의 상태를 NRAS 또는 KRAS 중의 하나 이상의 활성화 돌연변이의 존재에 의해 한정할 수 있다. 구현예에서, 상기 NRAS 또는 KRAS 중의 하나 이상의 활성화 돌연변이는 KRAS의 A146T 및 G13D로 이루어지는 그룹 중에서 선택되거나; 또는 NRAS의 Q61L, Q61H, 및 G12D 중에서 선택된 아미노산 변화를 야기시키는 RAS 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열에서의 돌연변이이다.

[0047] 본 개시는 또한 AML의 치료가 필요한 피검자에서 MPC-0767에 대한 치료학적 반응을 예측하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 피검자로부터의 AML 암세포의 샘플에서 EZH2 상태를 결정하거나 수신함을 포함하고, 여기서 기능 돌연변이(function mutation)의 EZH2 상실(loss)은 상기 암세포가 MPC-0767 요법에 반응성(responsive)인 것으로 예측됨을 나타내는 반면 기능 돌연변이의 EZH2 획득(gain)은 상기 암세포가 MPC-0767 요법에 내성이 있는 것으로 예측됨을 나타낸다. 구현예에서, 상기 MPC-0767 요법은 단독 요법(monotherapy) 또는 병용 요법(combination therapy)이다.

[0048] 본 개시는 또한 AML의 치료가 필요한 피검자에서 AML을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 피검자로

부터의 AML 암세포의 생물학적 샘플에서 EZH2 상태를 결정하거나 수신하고 상기 상태가 기능 돌연변이의 EZH2 상실인 경우 상기 피검자를 MPC-0767 요법으로 치료하거나, 또는 상기 EZH2 상태가 정상이거나 또는 기능 EZH2 돌연변이의 획득인 경우 상기 피검자를 MPC-0767 및 EZH2 억제제를 포함하는 병용 요법으로 치료함을 포함한다. 구현예에서, 상기 MPC-0767 요법은 단독 요법 또는 병용 요법이다.

[0049] 본 개시는 또한 AML의 치료가 필요한 피검자에서 MPC-0767에 대한 치료학적 반응을 예측하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 피검자의 AML 암세포의 샘플에서 KDM6A 상태를 결정하거나 수신함을 포함하고, 여기서 기능 돌연변이의 KDM6A 상실은 상기 암세포가 MPC-0767 요법에 내성이 있는 것으로 예측됨을 나타낸다. 구현예에서, 상기 MPC-0767 요법은 단독 요법 또는 병용 요법이다.

도면의 간단한 설명

[0050] 도 1A-D: MPC-0767은 EGFR 또는 HER2 중에 돌연변이를 갖는 비-소세포 폐암 세포주의 생존력(viability)을 억제한다. 도 1A: HCC-827; 도 1B: H1975; 도 1C: PC-9; 도_1D: H1781.

도 2: MPC-0767은 H1975 세포에서 세포사(cell death)를 유도한다.

도 3A-B: MPC-0767은 H1975 세포(A) 및 PC-9 세포(B)에서 세포 표면 EGFR 발현을 감소시킨다. 세포를 수확 전 24시간 동안 MPC-0767(1 μ M)로 처리하고 EGFR의 세포 발현을 유세포 분석(flow cytometry)에 의해 결정하였다.

도 4A-B: MPC-0767은 (A) 24시간 처리 후 BaF3 세포에서 EGFR WT 및 EGFR 엑손20 돌연변이체(V769_D770insAS V)의 세포 표면 발현 및 (B) 72시간 처리 후 모 BaF3 또는 EGFR 엑손20 돌연변이체(V769_D770insASV)를 발현하는 BaF3의 세포 생존력을 용량-의존적으로 감소시킨다.

도 5A-C: MPC-0767은 FLT3-ITD를 갖는 AML 세포에서 세포독성 활성을 갖는다. (A) FLT3 야생형 세포, ME-1 및 (B) FLT3-ITD를 갖는 MV-4-11 세포의 세포 생존력, (C) 72시간 동안 처리한 AML 세포주 및 1차(primary) AML 세포로부터의 EC₅₀ 값을 나타내는 요약 데이터.

도 6: MPC-0767은 72시간 처리 후 FLT3-ITD를 갖는 1차 AML 세포에서 용량-의존적인 세포사를 유도한다. 샘플 Y1265는 길테리티닙 치료 후 AML이 재발된 환자로부터 수득하였다.

도 7A-B: MPC-0767은 AML FLT3-ITD(MV-4-11 세포)의 마우스 이종이식(xenograft) 모델에서 항-종양 활성을 나타낸다. 종양 접종-후 7일째에, 마우스(그룹당 n=10)에 비히를 단독, 또는 200 mg/mg QD x 2일에 이어 150 mg/kg QD x 15일로 감소된 MPC-0767을 경구 투여하였다. 종양 크기(mm^3)(A) 및 체중 변화(B)를 도시하였다. MPC-0767 처리 그룹에서 5개의 종양 퇴행이 발견되었고 상기 처리에 의한 유의수준이 밝혀졌다, P<0.0001(스튜던트 t-검정).

도 8A-C: 미도스타우린 세포독성에 내성을 갖도록 생성된 AML FLT3-ITD 세포(MOLM-13-R-PKC412, 각 그래프에서 검은색 선)는 미도스타우린, 2-100 nM(A) 및 크레놀라닙, 0.2-100 nM(B)에 내성이 있으나, MPC-0767, 20-10000 nM(C)에 대해서는 내성이 없다. 각 그래프에서 회색 선은 MOLM-13-LUC을 나타낸다. 세포는 생존력 평가에 앞서 72시간 동안 처리하였다.

도 9A-C: MPC-0767은 FLT3 억제제에 내성을 부여하는 기질 조건(stromal conditions) 하에서 세포독성 활성을 유지한다. MOLM-14 세포는 비-기질 배지(non-stromal media; 각 그래프에서 검은색 선) 또는 기질 배지(각 그래프에서 회색 선) 중의 길테리티닙(A), 크레놀라닙(B), 또는 MPC-0767(C)로 처리하였다. 세포는 생존력 평가에 앞서 72시간 동안 처리하였다.

도 10A-D: MPC-0767은 FLT3의 세포 표면 발현을 감소시키고(A,B) 후속적으로 하류에 위치한 표적 S6의 인산화를 감소시킨다(C, D). MV-4-11 세포(A,C) 또는 MOLM-13 세포(B,D)는 24시간 동안 비히를 또는 MPC-0767로 처리한다.

도 11A-C: MPC-0767은 BaF3 세포에서 형질감염된 야생형 및 돌연변이 FLT3의 세포 표면 발현을 제거한다(A). 세포독성 분석에서, FLT3-ITD를 발현하고(각 그래프에서 회색 선) F691L 돌연변이를 갖는(각 그래프에서 검은색 선) 조작된 BaF3 세포주는 크레놀라닙에 내성을 가지나(B) MPC-0767에는 여전히 민감성(sensitive) 상태가 유지된다(C).

도 12: MPC-0767은 6개의 1차 AML 환자 샘플에서 인터페론-감마-유도된 PD-L1 세포 표면 발현을 감소시킨다. 세

포는 24시간 동안 인간 IFN- γ (50 ng/ml) 및/또는 MPC-0767(1 μ M)로 처리하였다.

도 13A-E: MPC-0767은 MV-4-11 세포에서 다우노루비신(A), 시타라빈(B), 크레놀라닙(C), 소라페닙(D) 및 베네토클락스(E)와 함께 상승작용적 세포독성 활성을 나타낸다.

도 14: MPC-0767은 베네토클락스와 함께 효능 있는 항-종양 활성을 나타낸다. 전신 생존 이종이식(systemic survival xenograft) 연구를 MOLM-13 FLT3-ITD를 갖는 AML 세포주를 이용하여 수행하였다. 비히클(회색 선), MPC-0767(파선) 100-60 mg/kg QD, 베네토클락스(점선) 45-33.84 mg/kg QD, 또는 MPC-0767과 베네토클락스의 조합(실선)으로 처리한 마우스에 대한 생존 곡선을 도시하였다. 조합 대(vs) MPC-0767 단독, 베네토클락스 단독, 또는 대(vs) 비히클 단독 P>0.001, 로그 순위(맨델 쿄스) 검정(Log Rank (Mantel Cox) test).

도 15: 모 및 베네토클락스-내성(Ven-R) MOLM-13 및 MV-4-11 세포에서 MPC-0767(좌측 4개 막대) 또는 베네토클락스(우측 4개 막대)의 EC₅₀ 값. 세포는 72h 동안 MPC-0767 또는 베네토클락스로 처리하였으며 세포 생존력을 CTG 분석을 이용하여 결정하였다. 실험은 최소 2회의 독립적 횟수로, 중복해서 수행하였으며, 평균 데이터±SD를 나타낸다.

도 16A-B: (A) 24시간 동안 MPC-0767(580 nM), 베네토클락스(2500 nM) 또는 조합으로 처리한 MV-4-11 베네토클락스-내성 세포의 웨스턴 블릿 분석. 용해물을 PARP에 대한 항체로 탐침처리하고(probed) 빈콜린(vinculin)을 로딩 대조용으로 이용하였다. 상부 및 하부 화살표는 각각 전장(full length) PARP 및 절단된 PARP를 나타낸다. 2회의 독립적 실험으로부터 전형적인 데이터를 도시하였다. (B) 셀타이터-글로(CellTiter-Glo)[®]를 이용하여 생존력을 분석하기 전에 72시간 동안 MPC-0767 및 베네토클락스의 조합으로 처리한 2개의 베네토클락스-내성 세포 주의 ED75에서의 표준화된 아이소볼로그램(normalized isobologram). 각각의 데이터 포인트(data point)는 각 세포주에 대해 중복 수행한 2회의 독립적 실험의 평균을 나타낸다.

도 17A-B: (A) 24시간 동안 MPC-0767(1 μ M), 베네토클락스(20 nM) 또는 이들의 조합으로 처리한 MOLM-14 세포의 웨스턴 블릿 분석. 용해물을 표시된 항체로 탐침처리하였다. 빈콜린을 로딩 대조용으로 이용하였다. 2회의 독립적 실험으로부터 대표적 블렛을 도시하였다. (B) 24시간 동안 MPC-0767(580 nM), 베네토클락스(2500 nM) 또는 이들의 조합으로 처리한 MV-4-11 베네토클락스-내성 세포의 웨스턴 블릿 분석. 용해물을 AKT 및 MCL-1에 대한 항체로 탐침처리하였다. 빈콜린을 로딩 대조용으로 이용하였다. 2회의 독립적 실험으로부터 대표적 데이터를 도시하였다.

도 18: 야생형 FLT3를 갖는 AML 세포의 MPC-0767 감도(sensitivity). 72h 동안 MPC-0767로 처리하고 이어서 셀타이터-글로[®]를 이용하여 생존력을 결정한 AML 세포주 및 1차 AML 샘플로부터의 EC₅₀ 값의 도트-플롯. 세포주를 이용하는 실험을 각각 중복하여 2회의 독립적 횟수로 수행한 반면, 1차 AML 아세포는 중복해서 1회 분석하였다. 기하학적 평균을 수평선으로 나타내었다.

도 19A-B: CRISPR는 MPC-0767 감도의 핵심적인 결정인자로서 후성적 조절(epigenetic regulation)을 식별한다. (A) 상위 20개의 sgRNA의 유전자 온톨로지(ontology) 분석. (B) 비히클, 및 병용된 A 및 B GeCKO 하위라이브리로부터의 MPC-0767-처리한 CRISPR 풀에서 KDM6A의 표준화된 sgRNA 판독 카운트의 풍부성(enrichment)을 도시하는 산포도. KDM6A 표적화에 이용한 6개의 개별적 sgRNA를 검은색 원으로 도시하였다.

도 20A-B: MOLM-14 및 MV-4-11 세포주에서 3개의 독립적 sgRNA에 의한 KDM6A의 CRISPR-매개된 표적화(targeting)는 MPC-0767에 대한 내성을 부여한다. 표시된 비-표적화 sgRNA 또는 MPC-0767(1 μ M)로 처리한 KDM6A sgRNA를 갖는 MOLM-14(A) 또는 MV-4-11(B) 세포의 생존력. 72시간 동안 처리 후, 세포 생존력을 CTG를 이용하여 평가하였다. 제공된 데이터는 중복해서 2회 수행한, 각 세포주에 대한 개별적 sgRNA의 평균±SD를 나타낸다.

도 21: 셀타이터-글로[®]를 이용하여 생존력을 분석하기 전에 4일간 EZH2 억제제인 EPZ6438 또는 CPI-1205, 이어서 추가로 72시간 동안 EZH2 억제제 및 MPC-0767의 조합으로 처리한 FLT3-ITD를 갖는 세포주(MV-4-11)의 EC₇₅에서의 표준화된 아이소볼로그램. 각각의 데이터 포인트는 각 세포주에 대해 각각 중복하여 수행한, 3회의 독립적 실험의 평균을 나타낸다.

도 22: 72시간 동안 MPC-0767(527 nM), 삼산화 비소(ATO)(1250 nM) 또는 이들의 조합으로 처리한 MOLM-14 세포의 생존력을 도시하는 막대 그래프. CI값 결정은 상기 조합이 상승작용성임(즉, <1)을 입증하였다.

도 23: 24시간 동안 MPC-0767(800 nM), ATO(625 nM) 또는 이들의 조합으로 처리한 MOLM-13 세포에서 FLT3, pERK, pS6 수준의 정량분석.

도 24: 72시간 동안 IL-3가 추가로 보충되거나 또는 보충되지 않고 FLT3 억제제 크레놀라닙 및 길테리티닙 또는 MPC-0767로 처리한, FLT3-ITD를 발현하는 BaF3 세포의 EC₅₀ 값. 이후 CTG를 이용하여 세포 생존력을 결정하고, EC₅₀ 값을 결정하였다. 그래프는 각각 중복해서 수행한, 2회의 독립적 연구의 평균±SD을 나타낸다.

도 25: MPC-0767은 5' 아자시티딘과 병용 시 증대된 항-종양 활성을 나타낸다. 전신 생존 이종이식 연구를 MOLM-13 FLT3-ITD 포함 AML 세포주를 이용하여 수행하였다. 비히클(회색 선), MPC-0767(파선) 75 mg/kg(QDx5; 1일 휴식; QDx26), 5' 아자시티딘(점선) 2 mg/kg(QDx4), 또는 MPC-0767과 5' 아자시티딘의 조합(실선)으로 처리한 마우스에 대한 생존 곡선을 도시하였다. 조합 대(vs) MPC-0767 단독, 5' 아자시티딘 단독, 또는 대(vs) 비히클 단독 P<0.001, 로그 순위(맨델 쿠스) 검정.

도 26: MPC-0767로 예비-처리한 OCI-AML2 세포는 T 세포-매개된 사멸(T cell-mediated killing)에 보다 민감하다. DMSO를 비히클 대조용으로 이용하였다. 막대는 2회의 독립적 실험의 평균 +/-SD를 나타낸다.

도 27A-D: MPC-0767은 마우스 동계 모델(T cell-mediated killing; MC38 세포)에서 항-종양 활성을 나타낸다. 종양 접종 후 11일째에, 마우스(그룹당 n=6)에게 비히클 단독, 또는 150 mg/kg MPC-0767 QD x 17을 경구 투여하였다. 종양 크기(mm^3), P=0.01(스튜던트 t-검정)(A) 및 체중 변화 퍼센트(B)를 도시하였다. (C) PD-L1 수준을 150 mg/kg MPC-0767 투여 7일 후에 MC38 종양 침윤성 백혈구(tumor infiltrating leukocytes; CD45⁺, CD3⁻)에서 결정하였다, P<0.05(스튜던트 t-검정). (D) MC38 종양 중 CD4:TREG(좌측) 및 CD8:TREG(우측)의 비 ${}^*P<0.05$, ${}^{**}P<0.01$ (스튜던트 t-검정). CD4 T-세포는 CD45⁺, CD3⁺, CD4⁺로 정의하고; CD8 T-세포는 CD45⁺, CD3⁺, CD4⁻로 정의하고, TREG는 CD45⁺, CD3⁺, CD4⁺, FOXP3⁺로 정의하였다.

도 28: 72시간 동안 MPC-0767(351 nM), 트라메티닙(25 nM) 또는 이들의 조합으로 처리한 MOLM-13 세포의 생존력을 도시하는 막대 그래프. CI 값 결정은 상기 조합이 상승작용적임을 입증하였다(즉, <1).

도 29A-D: PD-L1 발현의 MPC-0767 억제는 T 세포 활성화를 증가시킨다. 막대 그래프는 항-CD3에 의한 주르켓 리포터 세포(Jurkat reporter cells)의 활성화(A) 및 IFN γ 처리 후 T 세포 활성화의 PD-L1-의존적인 억제(B)를 나타낸다. A&B에서 막대는 3회 중복 웰의 평균+/−SD를 나타내고 3회의 독립적 실험을 나타낸다. C&D에서 막대 그래프는 MPC-0767이 PD-L1의 세포 표면 발현을 감소시키고(C; IFN γ 단독에 비해 1 μM 에서 p=0.0113 및 2 μM 에서 <0.0001) 또한 T 세포 활성화의 억제를 감소시킴(D; IFN γ 단독에 비해 1 μM 에서 p=0.0198 및 2 μM 에서 <0.0323)을 입증한다. C&D에서 막대는 3회의 독립적 실험의 평균+/−SD를 나타낸다.

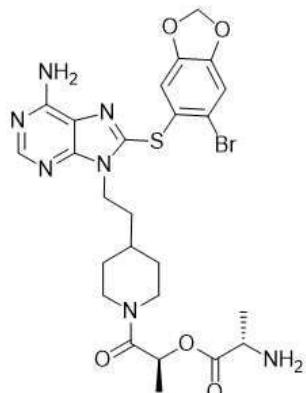
도 30: MPC-0767은 전신 생체 내 AML 모델에서 항-종양 활성을 나타낸다. 마우스에 비히클 또는 MPC-0767(매일 75 또는 150 mg/kg)을 경구 투여한 MOLM-13 전신 모델의 카플란 마이어 생존 분석(Kaplan-Meier survival analysis). 통계학적 유의수준을 로그 순위(맨델 쿠스) 검정을 이용하여 산출하였다. 75 mg/kg 및 150 mg/kg의 MPC-0767 대(vs) 비히클에 대해 P<0.01.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0051] 본 개시는 암 치료가 필요한 피검자, 바람직하게는 인간 피검자에서 암을 치료하기 위한 MPC-0767 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 용도와 관련된 조성물 및 방법을 제공한다.

[0052] WO 2011/060253은 인간에서의 경구 생체이용률(oral bioavailability)을 포함하여, MPC-0767의 모(parent) 화합물인 MPC-3100을 기재하고 있다. MPC-3100은 (2S)-1-[4-(2-{6-아미노-8-[6-브로모-1,3-벤조디옥솔-5-일]설파닐]-9H-퓨린-9-일}에틸)페페리딘-1-일]-2-하이드록시프로판-1-온으로서 식별될 수 있으며 문헌[Kim et al., *J. Med. Chem.* 2012 55, 7480-7501]에 기재되어 있다. 2014 리뷰에서 언급된 바와 같이, MPC-3100은 더 이상 활발히 개발되고 있지 않다(Bhat et al., *J. Med. Chem.* 2014 57:8718- 8724). MPC-3100은 1상 임상 연구를 성공적으로 완료하였지만, 이의 추가적 임상 개발은 불충분한 용해도로 인해 어려움을 겪었다(Kim et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 25:5254-5257)(2015). MPC-0767은 모 화합물에 대한 상기 문제를 다루고자 개발된 MPC-3100의 전구-약물(pro-drug)이다. MPC-0767은 개선된 수용해도(aqueous solubility), 적합한 화학 안정성, 및 신속한 생물전환(bioconversion)을 나타내었다. 동일문헌에서(Id.), MPC-0767 및 관련 화합물들이 WO 2012/148550(이의 내용 전체가 본 명세서에 참고로 인용된다)에 개시되어 있다. MPC-0767은 주로 효소-매개된

절단 과정(enzyme-mediated cleavage process)에 의해 이의 모 화합물로 전환된다. oral bioavailability의 경우 생체이용률은 2% 카복시메틸셀룰로스에서 제형화될 때 모 화합물(40% 캡티솔(Captisol)TM)의 경우와 유사하였다. MPC-0767은 또한 N-87 이종이식 종양 모델에서 모 화합물과 유사한 효능을 보였다. N-87 세포는 인간 HER2 양성 위암 세포(positive gastric cancer cells)이다. MPC-0767의 구조를 하기에 나타내었다.



[0053]

[0054] 본원에 기재된 조성물 및 방법의 구현예에서, MPC-0767의 약학적으로 허용가능한 염은 메실레이트 염이다. 따라서, 구현예에서, 본 개시는 암 치료가 필요한 피검자, 바람직하게는 인간 피검자에서 암을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 피검자에게 유효량의 MPC-0767의 메실레이트 염을 투여함을 포함한다. 구현예에서, 상기 MPC-0767의 메실레이트 염은 약학 조성물의 형태이다. 구현예에서, 상기 약학 조성물은 사이클로덱스트린을 포함하지 않는다. MPC-0767 및 이의 염을 포함하는 약학 조성물 및 제형을 하기에 보다 상세히 기재한다.

[0055]

MPC-0767에 의해 암을 치료하는 단독 요법 및 병용 요법이 모두 본 개시에 서 고려된다. 병용 요법은 하기에서 논의된다. MPC-0767 단독 요법의 경우, 전부가 아닌 일부 구현예에서, 치료가 필요한 피검자는 '표준 치료제(standard-of-care)' 또는 제1선 치료제(first-line therapeutic agent)에 의한 치료에 비-반응성(non-responsive)이거나 또는 불응성(refractory)이거나 또는 상기 치료 후에 재발된 암을 갖는 피검자이다. 이러한 문맥에서, "비-반응성(non-responsive)" 및 "불응성(refractory)"이란 용어는 본 명세서에서 상호 호환가능하게 이용되며, 예를 들어 하나 이상의 고형 종양의 크기를 안정화 또는 감소시키거나, 종양의 진행을 늦추거나, 새로운 종양 전이의 발생을 예방, 감소 또는 낮추거나, 또는 암과 관련된 하나 이상의 증상을 완화시키기에 임상적으로 적합하지 않은 바와 같은, 치료법에 대한 피검자의 반응을 의미한다. 특정 약물 요법에 불응성인 암을 약물-내성암으로도 기재할 수 있다. 암에 대한 표준 요법에서, 불응성 암은 능동적인 치료에도 불구하고 진행되는 질병을 포함하는 반면, "재발된" 암은 임의의 현행 요법의 부재 하에, 성공적인 초기 요법 이후 진행되는 암을 포함한다.

[0056]

따라서, 구현예에서, 상기 피검자는 하나 이상의 '표준 치료' 치료제에 의한 하나 이상의 선행 치료 섭생(regimens of therapy)을 겪은 피검자이다. 상기와 같은 경우에, 피검자의 암은 불응성이거나 재발된 것으로 간주될 수 있다. 구현예에서, 상기 암은 단백질 키나제 억제제(PKI)에 의한 치료에 불응성이거나 또는 상기 치료 후 재발되었다. 구현예에서, 상기 암은 하기의 키나제 중 하나 이상에 대해 표적화된 PKI에 의한 치료에 불응성이거나 또는 상기 치료 후 재발되었다: 절단점 군 영역-아벨슨(breakpoint cluster region-Abelson; BCR-ABL), B-빠르게 가속화된 섬유육종(B-rapidly accelerated fibrosarcoma; B-RAF), 상피성장인자 수용체(EGFR), 인간 상피성장인자 수용체 2(HER2), fms-유사 티로신 키나제 3(FLT3), 야누스(Janus) 키나제 2(JAK2), 간엽-상피 이행 인자(mesenchymal-epithelial transition factor; MET), 및 역형성 림프종 키나제(anaplastic lymphoma kinase ; ALK). 구현예에서, 상기 암은 EGFR, HER2 및 FLT3 중 하나 이상에 대해 표적화된 PKI에 의한 치료에 불응성이거나 또는 상기 치료 후 재발되었다. 구현예에서, 상기 암은 BCR-ABL, B-RAF, JAK2, MET 및 ALK 중 하나 이상에 대해 표적화된 PKI에 의한 치료에 불응성이거나 또는 상기 치료 후 재발되었다.

[0057]

구현예에서, 상기 암은 FLT3에 대해 표적화된 PKI에 의한 치료에 불응성이거나 또는 상기 치료 후 재발되었다. 구현예에서, 상기 암은 EGFR 또는 HER2에 대해 표적화된 PKI에 의한 치료에 불응성이거나 또는 상기 치료 후 재발되었다. 구현예에서, 상기 암은 에를로티닙, 아파티닙, 라파티닙, 다코미티닙, 제피티닙, AP32788, 포지오티닙, 오시메르티닙 및 EGF816으로 이루어지는 그룹 중에서 선택된 치료제에 의한 치료에 불응성이거나 또는 상기 치료 후 재발되었다. 구현예에서, 상기 암은 길테리티닙, 탄두티닙, 크레놀라닙, 소라페닙, 미도스타우린 및 퀴자르티닙으로 이루어지는 그룹 중에서 선택된 치료제에 의한 치료에 불응성이거나 또는 상기 치료 후 재발되었

다. 구현예에서, 상기 암은 FLT3에 하나 이상의 활성화 돌연변이를 특징으로 하는 급성 골수성 백혈병(AML)이다. 구현예에서, 상기 FLT3에 하나 이상의 활성화 돌연변이는 엑손 14 또는 엑손 15 중의 FLT3 내부 탠덤 중복(ITD) 돌연변이, FLT3 D835에서의 점 돌연변이, I836에서의 점 돌연변이, 점 돌연변이 FLT3 N676K, 및 게이트키퍼(gatekeeper) 잔기의 점 돌연변이 F691L 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 FLT3에 하나 이상의 활성화 돌연변이는 FLT3 ITD 돌연변이이다. 구현예에서, 상기 AML은 시타라빈, 다우노루비신 및 미도스타우린 중 하나 이상에 의한 치료에 불응성이거나 또는 상기 치료 후 재발되었다. AML과 관련된 추가 구현예를 하기에 기재한다.

[0058] 구현예에서, 상기 암은 5' 아자시티딘 또는 데시타빈에 의한 치료에 불응성이거나 또는 상기 치료 후 재발되었다. 구현예에서, 상기 암은 시타라빈 단독 치료 또는 시타라빈과 안트라사이클린과의 병용 치료에 불응성이거나 또는 상기 치료 후 재발되었다.

[0059] 구현예에서, 상기 치료가 필요한 피검자는 EGFR 및 HER2 중에서 선택된 단백질 키나제에 하나 이상의 활성화 돌연변이를 가짐을 특징으로 하는 암을 갖는 피검자이다. 구현예에서, 본원에 기재된 방법에 의해 치료된 암은 EGFR 또는 HER2의 과발현을 특징으로 한다. 구현예에서, 상기 암은 하나 이상의 EGFR ins20 돌연변이, 또는 하나 이상의 HER2 ins20 돌연변이, 또는 이 둘 모두를 특징으로 하는 비-소세포 폐암(NSCLC)이다.

[0060] 구현예에서, 상기 EGFR의 하나 이상의 활성화 돌연변이는 게이트키퍼 돌연변이 T790M을 포함하거나 또는 포함하지 않을 수 있는 L858R로 이루어지는 그룹 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 EGFR 돌연변이는 엑손 20 삽입 돌연변이(ins20) 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 EGFR ins20 돌연변이는 E746_A750del, D761_E762insEAFQ, A763_Y764insFQE, Y764_V765insHH, M766_A767insAI, A767_V769dupASV, A767_S768insTLA, S768_D770dupSVD, S768_V769insVAS, S768_V769insAWT, V769_D770insASV, V769_D770insGV, V769_D770insCV, V769_D770insDNV, V769_D770insGSV, V769_D770insGVV, V769_D770insMASVD, D770_N771insSVD, D770_N771insNPG, D770_N771insAPW, D770_N771insD, D770_N771insDG, D770_N771insG, D770_N771insGL, D770_N771insN, D770_N771insDPH, D770_N771insSVP, D770_N771insSVG, D770_N771insMATP, deIN770insGY, N771_PinsH, N771_P772insN, A771_H773dupNPH, deIN771insGW, deIN771insGF, P772_H773insPR, P772_H773insYNP, P772_H773insX, P772_H773insDPH, P772_H773insDNP, P772_H773insGV, P772_H773insN, P772_H773insV, H773_V774insNPH, H773_V774insH, H773_V774insPH, H773_V774insGNPH, H773_V774insdupHV, H773_V774insG, H773_V774insGH, 및 V774_C775insHV 중 하나 이상으로부터 선택된다.

[0061] 구현예에서, 상기 HER2 중의 하나 이상의 활성화 돌연변이는 ins20 돌연변이에서 선택된다. 구현예에서, 상기 HER2 ins20 돌연변이는 A775_G776insYVMA, G776>VC, G776_V777insCG, 및 P781_Y782insGSP 중에서 선택된다.

[0062] 구현예에서, 상기 피검자는 위암, 결장암, 전립선암, 소세포 폐암, 비-소세포 폐암(NSCLC), 난소암, 림프종, 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 다발성 골수종, 신장세포 암종, 위장관 기질 종양, 만성 골수성 백혈병, 다형성 교모세포종, 성상세포종, 수모세포종, 흑색종, 유방암 및 췌장암으로 이루어지는 그룹 중에서 선택된 불응성 또는 재발된 암을 갖는 피검자이다.

[0063] 구현예에서, 상기 피검자는 급성 과립구성 백혈병(acute granulocytic leukemia), 급성 림프구성 백혈병(acute lymphocytic leukemia), 급성 골수성 백혈병(acute myelogenous leukemia; AML), 부신피질암종(adrenal cortex carcinoma), 부신종양(adrenal tumor), 충수암(appendiceal cancer), B-세포 림프종(B-cell lymphoma), 방광암종(bladder carcinoma), 뇌암(brain cancer), 유방암종(breast carcinoma), 자궁경부암종(cervical carcinoma), 자궁경부증식증(cervical hyperplasia), 융모막암종(choriocarcinoma), 만성 과립구성 백혈병(chronic granulocytic leukemia), 만성 림프구성 백혈병(chronic lymphocytic leukemia; CLL), 만성 골수성 백혈병(chronic myelogenous leukemia; CML), 대장암종(colorectal carcinoma), 자궁내막암종(endometrial carcinoma), 식도암종(esophageal carcinoma), 본태성 혈소판증가증(essential thrombocythosis), 담낭암(gallbladder cancer), 위암(gastric cancer), 위장암(gastrointestinal cancer), 비뇨생식기암(genitourinary carcinoma), 신경교종(glioma), 털세포 백혈병(hairy cell leukemia), 두경부암종(head or neck carcinoma), 간세포암종/hepatocellular carcinoma, 호지킨 림프종(Hodgkin's lymphoma), 카포시 육종(Kaposi's sarcoma), 백혈병(leukemia), 폐암종(lung carcinoma), 악성 유암종(malignant carcinoid carcinoma), 악성 고칼슘혈증(malignant hypercalcemia), 악성 흑색종(malignant melanoma), 악성 췌장 인슐린종(malignant pancreatic insulinoma), 외투세포 림프종(mantle cell lymphoma), 중피종(mesothelioma), 다발성 골수종(multiple myeloma), 균상식육종(mycosis fungoides), 골수증식성 신생물(myeloproliferative neoplasms), 신경모세포종(neuroblastoma), 신경내분비 종양(neuroendocrine tumors), 비-호지킨 림프종(non-Hodgkin's lymphoma), 비-

소세포 폐암종(non-small cell lung carcinoma; NNSCLC), 골원성 육종(osteogenic sarcoma), 난소암(ovarian cancer), 난소암종(ovarian carcinoma), 췌장암종.pancreatic carcinoma), 음경암(penile cancer), 뇌하수체 종양(pituitary tumor), 진성적혈구증가증(polycythemia vera), 원발성 마크로글로불린혈증(primary macroglobulinemia), 원발성 골수섬유증(primary myelofibrosis), 전립선암종(prostatic carcinoma), 신장세포 암종(renal cell carcinoma), 횡문근육종(rhabdomyosarcoma), 육종(sarcoma), 피부암(skin cancer), 소세포 폐 암종(small-cell lung carcinoma), 연조직 육종(soft-tissue sarcoma), 위암종(stomach carcinoma), T-세포 림프종(T-cell lymphoma), 고환암(testicular cancer), 고환암종(testicular carcinoma), 갑상선암종(thyroid carcinoma), 갑상선종양(thyroid tumor), 및 빌름 종양(Wilms' tumor)으로 이루어지는 그룹 중에서 선택된 불 응성 또는 재발된 암을 갖는 피검자이다.

[0064] 본원에 기재된 방법에 따라, "피검자"는 포유동물을 포함한다. 상기 포유동물은 예를 들어 임의의 포유동물, 예 를 들어 인간, 영장류, 마우스, 래트, 개, 고양이, 소, 말, 염소, 낙타, 양 또는 돼지일 수 있다. 바람직하게, 상기 피검자는 인간이다. "환자"란 용어는 인간 피검자를 의미한다.

병용 요법

[0066] 본 개시는 또한 병용 요법을 포함하는 방법을 제공한다. 본원에서, 용어 "병용 요법(combination therapy)" 또는 "공동-요법(co-therapy)"은 치료 유효량의 MPC-076 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을, 상기 MPC-0767 및 적어도 하나의 추가적 활성제의 공동-작용으로부터 이로운 효과를 제공하고자 하는 치료 섭생(treatment regimen)의 일 부분으로서, 추가적 활성제(또한 본 명세서에서 "활성 약제"(API)로 지칭됨)와 함께 투여함을 포함한다. 하기에 기재되는 구현예에 따라, "추가적 API"는 MPC-0767과의 병용 요법 섭생(combination therapy regimen)으로 투여되는 적어도 하나의 추가적 API를 지칭하는 것으로 이해된다. 또한, 하나 초과의 하기에 기재 되는 추가적 API를 상기 섭생에 이용할 수 있는 것으로 이해된다. "병용 요법" 또는 "병용 요법 섭생"이란 용어는 의도되거나 예측되지 않은 이로운 효과를 우연히 및 임의로 생성시키는 별도의 단독 요법 섭생의 부분으로서 2개 이상의 치료학적 화합물을 투여함을 포함하고자 의도되는 것은 아니다.

[0067] 바람직하게, 본 명세서에 논의된 바와 같은 하나 이상의 추가적 API와 함께 MPC-0767을 포함하는 조성물의 투여는 치료되는 피검자에서 상승작용적 반응을 제공한다. 이러한 문맥에서, "상승작용적(synergistic)"이란 용어는 어느 한 단일 요법 단독의 부가적인 효과보다 더 유효한 조합의 효능을 의미한다.

[0068] 상승작용적 효과는 하기에 보다 상세히 논의되는 바와 같이, 시험관 내 및 전신 생존 이종이식 연구에서 종양 세포주에 대한 MPC-0767 및 베네토클락스 모두의 조합에 의해 예시된다. 다른 예는 예를 들어 하기 실시예 10의 표 1(다우노루비신, 시타라빈, 크레놀라닙, 소라페닙, 길테리닙 및 베네토클락스), 실시예 15(삼산화 비소), 실 시예 17(5' 아자시티딘) 및 실시예 20(트라메티닙)에 나타낸 바와 같은 5' 아자시티딘, 삼산화 비소(ATO), 시타 라빈, 안트라사이클린(예; 다우노루비신), FLT3 티로신 키나제 억제제(예; 크레놀라닙 및 길테리닙), EZH2 억제 제 및 Ras/RAF/MEK/ERK 경로 억제제(예; 트라메티닙)와 병용되는 MPC-0767의 상승작용적 활성을 포함한다.

[0069] 본 개시에 따른 병용 요법의 상승작용적 효과는, 상기 조합 밖의 용량 및/또는 빈도에 비해, 상기 조합 중 적어 도 하나의 작용제(agent)의 보다 낮은 투여량 및/또는 덜 빈번한 투여의 이용을 허용할 수 있다. 상기 조합의 추가적 이로운 효과는 상기 조합 중 어느 한 요법 단독의 이용(단독 요법으로도 지칭됨)과 관련된 불리거나 원 치않는 부작용의 회피 또는 감소에서 표출될 수 있다.

[0070] 병용 요법의 문맥에서, 상기 MPC-0767 조성물의 투여는 상기 하나 이상의 추가적 활성제 또는 API의 투여와 동 시적이거나 또는 순차적일 수 있다. 다른 구현예에서, 병용 요법의 상이한 성분의 투여는 상이한 빈도가 될 수 있다.

[0071] 일부 구현예에서, 상기 병용 요법은 상기 MPC-0767 조성물을, 환자의 내인성 면역계의 항-종양 세포독성 활성을 증대시키는 치료제와 함께 투여함을 포함한다. 상기와 같은 작용제는 예를 들어 자연살해 세포 및/또는 세포독 성 T 세포의 항-종양 활성을 증대시킴으로써 작용할 수 있다. 임의의 특정 이론에 구속됨 없이, 하기에 제공되 는 데이터는 MPC-0767이 암세포주 및 1차 암세포 모두에서 세포 표면 PD-L1 발현을 감소시켜, 상기 암세포에 대 해 증가된 T 세포 활성화를 유도함을 나타낸다. 또한, MPC-0767 치료는 암세포를 T 세포-매개된 세포독성에 민 감하게 한다. 따라서, 구현예에서 본 개시는 상기 MPC-0767 조성물을, 항-종양 면역성을 증대시키는 치료제(예; 예정세포사(programmed death) 1(PD-1) 수용체 및/또는 이의 리간드(PD-L1/2)를 수반하는 면역관문 신호전달 경로의 억제제) 및 T 세포 또는 자연살해 세포에 관여하는(engage) 다중 특이성을 갖는 치료 항체 또는 이의 단편 을 포함할 수 있는 치료제와 함께 투여함으로써 암을 치료하는 방법을 제공한다. 구현예에서, 상기 치료제는 이

중특이성(bispecific) 항체, BiTE(이중특이성 T 세포 관여자(engager)), scBsTaFv(단쇄 이중특이성 탠덤 가변성 단편), bsscFv(이중특이성 단쇄 Fv), BiKE(이중특이성 세포-사멸 관여자(killer-cell engager)), DART(이중-친화성 재-표적화(Dual-Affinity Re-Targeting)), TandAb(탠덤 디아바디(Tandem Diabodies)) sctb(단쇄 Fv 삼중항체) BIIf(이중특이성 scFv 면역융합(Immunofusion)), 및 DVD-Ig(이중 가변성-도메인 면역글로불린)를 포함할 수 있다.

[0072] 구현예에서, 본 개시는 상기 MPC-0767 조성물을 항-종양 면역성을 증대시키는 치료제, 예를 들어 CD3 및 CD19(Blincyto, MGD011), CD3 및 BCMA(EM801), 또는 CD3 및 CD20(REGN1979)에 대한 이중특이성 치료 항체 또는 이의 단편과 함께 투여함으로써 혈액암(hematologic cancer)을 치료하는 방법을 제공한다. 상기 암이 AML인 구현예에서, 상기 이중특이성 치료 항체 또는 이의 단편은 CD3 및 CD33(AMG-330, AMG-673, AMV-654), CD3 및 CD123(MGD006/S80880, JNJ-63709178), CD3 및 CLL-1, 또는 CD3 및 WT1을 표적화하는 것을 포함할 수 있다. 비-소세포 폐암(NSCLC) 및 유방암을 포함한 고형 종양의 문맥에서, 상기 이중특이성 치료 항체 또는 이의 단편은 CD3 및 EGFR(EGFRBi-aATC), CD3 및 HER2(에르투막소맙(erumaxomab)), 또는 CD3 및 EpCAM(카투막소맙(Catumaxomab), MT110/AMG 110/솔리토맙(Solitomab))을 표적화하는 것을 포함할 수 있다.

[0073] 구현예에서, 상기 추가적 API를 단일 투여형으로 MPC-0767 조성물과의 공동-투여를 위해 제형화할 수 있다. 상기 추가적 API(들)를 또한 상기 MPC-0767을 포함하는 투여형(dosage form)과 별도로 투여할 수 있다. 상기 추가적 활성제를 MPC-0767과 별도로 투여하는 경우, 이를 동일하거나 상이한 투여 경로에 의해서, 및/또는 동일하거나 상이한 시간에 수행할 수 있다.

[0074] 구현예에서, 상기 MPC-0767과의 병용 요법에 이용하기 위한 추가적 API는 화학요법제, 단백질 키나제 억제제(PKI), FLT3 억제제, PD-1/PD-L1 억제제, CTLA-4 억제제, Bcl-2 경로 억제제, Ras/Raf/MEK/ERK 경로 억제제, EZH2 억제제, 삼산화 비소(ATO), 및 DNA 메틸트랜스퍼라제 억제제(DNMT) 중에서 선택된다.

[0075] 구현예에서, 상기 화학요법제는 백금계 항-종양제(anti-neoplastic agent), 국소이성화효소(topoisomerase) 억제제, 뉴클레오시드 대사 억제제, 알킬화제, 삽입제(intercalating agent), 투불린 결합제(tubulin binding agent), DNA 복구(DNA repair)의 억제제, 및 이들의 조합이다. 구현예에서, 상기 화학요법제는 도세탁셀, 카르보플라틴, 시스플라틴 및 페메트렉시드 중에서 선택된다.

[0076] 구현예에서, 상기 PKI는 EGFR 또는 HER2 표적화된(HER2 targeted) PKI이다. 구현예에서 상기 PKI는 에를로티닙, 아파티닙, 라파티닙, 다코미티닙, 제피티닙, AP32788, 포지오티닙, 오시메르티닙, 및 EGF816, 및 이들의 조합 중에서 선택된다.

[0077] 구현예에서, 상기 FLT3 억제제는 크레놀라닙, 탄두티닙, 질테리티닙, 미도스타우린, 퀴자르티닙, 및 소라페닙 중에서 선택된다.

[0078] 구현예에서, 상기 PD-1/PD-L1 억제제는 PD-1 및 이의 리간드 PD-L1/2의 신호전달(signaling)을 억제하는 작용제이며 AMP-224, AMP-514/MEDI-0680, 아테졸리주맙(테넥트릭(Tenectriq[®]), MPDL3280A), 아벨루맙(MSB0010718C), BGB-A317, BMS936559, 세미플리펩(REGN2810), 두르발루맙(MEDI-4736), JTX-4014, 니볼루맙(옵디보(Opdivo[®]), BMS-936558), 펜브롤리주맙(키트루다(Keytruda[®]), MK-3475), 및 SHR-1210 중에서 선택된다.

[0079] 구현예에서, 상기 CTLA-4 억제제는 이필리무맙(예르보이(Yervoy[®]))이다.

[0080] 구현예에서, Bcl-2 경로 억제제는 ABT-737, AT-101(고시풀), APG-1252, A1155463, A1210477, 나비토클락스, 오바토클락스, 사부토클락스, 베네토클락스, S 55746, 및 WEHI-539 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 Bcl-2 경로 억제제는 BCL2, BCLXL, 또는 MCL1의 억제제이다. 구현예에서, 상기 Bcl-2 경로 억제제는 AMG-176, MIK665 및 S641315 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 Bcl-2 경로 억제제는 ABT-737, 나비토클락스 및 베네토클락스 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 Bcl-2 경로 억제제는 베네토클락스이다. 구현예에서, 상기 Bcl-2 경로 억제제는 TW-37(Wang *et al.*, *J Med Chem.* 2006 Oct 19;49(21):6139-42) 및 HA14-1(Wang *et al.*, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000 Jun 20;97(13):7124-9) 중에서 선택된다.

[0081] 구현예에서, 상기 Ras/Raf/MEK/ERK 경로 억제제는 Raf 억제제(예; 베무라페닙, 소라페닙, 또는 다브라페닙), MEK 억제제(예; AZD6244(셀루메티닙), PD0325901, GSK1120212(트라메티닙), U0126-EtOH, PD184352, RDEA119(라파메티닙), PD98059, BIX 02189, MEK162(비니메티닙), AS-703026(피마세르티닙), SL-327, BIX02188, AZD8330, TAK-733, 코비메티닙 또는 PD318088) 및 ERK 억제제(예; LY3214996, BVD-523 또는 GDC-0994)에서 선택된다.

- [0082] 구현예에서, EZH2 억제제는 EPZ6438, CPI-1205, GSK343, GSK2816126, MAK-683 및 PF-06821497 중에서 선택된다.
- [0083] 구현예에서, 상기 MPC-0767과의 병용 요법에 이용하기 위한 추가적 API는 삼산화 비소(ATO)이다.
- [0084] 구현예에서, 상기 DNA 메틸트랜스퍼라제 억제제(DNMT)는 5' 아자시티딘이다.
- [0085] 구현예에서, 상기 MPC-0767과의 병용 요법에 이용하기 위한 추가적 API는 CTLA-4 억제제, HDAC 억제제, ImiD, VEGF 억제제(예; 항-VEGFR 항체), mTOR 억제제(예; 에베롤리무스 또는 템시롤리무스), DNA 메틸화 억제제, 스테로이드 호르몬 작용물질(agonist) 또는 길항물질(antagonist), 대사효소 억제제, 프로테아솜 억제제, 항-CD20 항체, 아데노신 수용체 2A 길항물질, 톨-수용체(toll-receptor) 작용물질 또는 길항물질, 및 면역자극 사이토킨 중에서 선택된다.
- [0086] 구현예에서, 상기 MPC-0767과의 병용 요법에 이용하기 위한 추가적 API는 다우노루비신, 독소루비신, 에피루비신, 미톡산트론, 이다루비신 및 시타라빈, 및 이들의 조합 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 추가적 API는 크레놀라닙, 시타라빈, 다우노루비신, 길테리티닙, 소라페닙 및 베네토클락스 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 추가적 API는 베네토클락스이다.
- [0087] 구현예에서, 상기 MPC-0767과의 병용 요법에 이용하기 위한 추가적 API는 mTOR 경로의 억제제, PI3K 억제제, 이중(dual) PI3K/mTOR 억제제, SRC 억제제, VEGF 억제제, 야누스(Janus) 키나제(JAK) 억제제, Raf 억제제, Erk 억제제, Ras/Raf/MEK/ERK 경로 억제제, Akt 억제제, 파르네실트랜스퍼라제(farnesyltransferas) 억제제, c-MET 억제제, 히스톤-조절 억제제, 유사분열 방지제(anti-mitotic agent), 티로신 키나제 억제제(TKI) 억제제, 폴리에테르 항생제, CTLA-4 억제제, 다중약물 내성 유출 억제제(multi-drug resistance efflux inhibitor), 다중약물 내성 유출 억제제(multi-drug resistance efflux inhibitor), 및 치료학적 사이토킨(예; 인터류킨-2(IL-2)) 중에서 선택된다.
- [0088] 구현예에서, 상기 mTOR 억제제는 라파마이신(rapamycin)(시롤리무스(sirolimus)로도 불리움), 에베롤리무스(everolimus), 템시롤리무스(temsirolimus), 리다포롤리무스(ridaforolimus), 우미롤리무스(umirolimus), 조타롤리무스(zotarolimus), AZD8055, INK128, WYE-132, 토린-1(Torin-1), 피라졸로파리미딘(pyrazolopyrimidine) 유사체 PP242, PP30, PP487, PP121, KU0063794, KU-BMCL-200908069-1, Wyeth-BMCL-200910075-9b, INK-128, XL388, AZD8055, P2281, 및 P529로 이루어지는 그룹 중에서 선택된다(예; 문헌[Liu et al. *Drug Disc. Today Ther. Strateg.*, 6(2): 47-55 (2009)]을 참조).
- [0089] 구현예에서, 상기 mTOR 억제제는 트랜스-4-[4-아미노-5-(7-메톡시-1H-인돌-2-일)이미다조[5,1-f][1,2,4]트리아진-7-일]사이클로헥산 카복실산(OSI-027로도 알려짐) 및 이의 임의의 염, 용매화물, 수화물 및 기타 물리적, 결정성 또는 무정형 형태이다(US 2007/0112005 참조). OSI-027는 본 명세서에 참고로 인용된 US 2007/0112005에 따라 제조할 수 있다. 일 구현예에서, 상기 mTOR 억제제는 OXA-01이다(예; WO 2013152342 A1 참조).
- [0090] 구현예에서, 상기 PI3K 억제제는 GS-1101(이델랄리십(Idelalisib)), GDC0941(픽틸리십(Pictilisib)), LY294002, BKM120(부파를리십(Buparlisib)), PI-103, TGX-221, IC-87114, XL 147, ZSTK474, BYL719, AS-605240, PIK-75, 3-메틸아데닌, A66, PIK-93, PIK-90, AZD6482, IPI-145(두벨리십(Duvelisib)), TG100-115, AS-252424, PIK294, AS-604850, GSK2636771, BAY 80-6946(코판리십(Copanlisib)), CH5132799, CAY10505, PIK-293, TG100713, CZC24832 및 HS-173으로 이루어지는 그룹 중에서 선택된다.
- [0091] 구현예에서, 상기 이중(dual) PI3K/mTOR 억제제는 GDC-094, WAY-001, WYE-354, WAY-600, WYE-687, Wyeth-BMCL-200910075-16b, Wyeth-BMCL-200910096-27, KU0063794 및 KUBMCL-200908069-5, NVP-BEZ235, XL-765, PF-04691502, GDC-0980(아피톨리십(Apitolisib)), GSK1059615, PF-05212384, BGT226, PKI-402, VS-558 및 GSK2126458로 이루어지는 그룹 중에서 선택된다(예; 문헌[Liu et al. *Drug Disc. Today Ther. Strateg.*, 6(2): 47-55 (2009)](본 명세서에 참고로 인용됨) 참조).
- [0092] 구현예에서, 상기 mTOR 경로 억제제는 mTOR 경로에서 단백질(또는 상기 단백질을 코딩하는 핵산)에 결합하고 이들의 발현 수준 또는 활성을 억제하는 폴리펩티드(예; 항체 또는 이의 단편) 또는 핵산(예; 이중-가닥 작은 간섭 RNA(double-stranded small interfering RNA), 짧은 헤어핀 RNA(short hairpin RNA), 미세-RNA(micro-RNA), 안티센스 올리고뉴클레오티드, 잠금 핵산(locked nucleic acid), 또는 앱타머)이다. 예를 들어, 상기 폴리펩티드 또는 핵산은 mTOR 복합체 1(mTORC1), mTOR의 조절-관련 단백질(랩터(Raptor)), 포유동물 치명적인 SEC13 단백질 8(mammalian lethal with SEC13 protein; MLST8), 40 kDa의 프롤린-풍부 Akt 기질(PRAS40), DEP

도메인-포함 mTOR-상호작용 단백질(DEPTOR), mTOR 복합체 2(mTORC2), mTOR의 라파마이신-둔감성 짹(rapamycin-insensitive companion of mTOR; RICTOR), G 단백질 베타 서브유닛-유사(G β L), 포유동물 스트레스-활성화된 단백질 키나제 상호작용 단백질 1(mammalian stress-activated protein kinase interacting protein 1; mSIN1), 팩실린(paxillin), RhoA, Ras-관련 C3 보툴리눔 독소 기질 1(Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1; Rac1), 세포분열 조절 단백질 42 동족체(Cell division control protein 42 homolog; Cdc42), 단백질 키나제 C α (PKC α), 세린/쓰레오닌 단백질 키나제 Akt, 포스포이노시티드 3-키나제(phosphoinositide 3-kinase; PI3K), p70S6K, Ras, 및/또는 진핵생물 번역 개시 인자 4E(eIF4E)-결합 단백질(eukaryotic translation initiation factor 4E (eIF4E)-binding proteins; 4EBP), 또는 이들 단백질 중 하나를 코딩하는 핵산을 억제한다.

[0093] 구현예에서, 상기 SRC 억제제는 보수티닙(bosutinib), 사라카티닙(saracatinib), 다사티닙(dasatinib), 포나티닙(ponatinib), KX2-391, XL-228, TG100435/TG100855, 및 DCC2036으로 이루어지는 그룹 중에서 선택된다(예; 문헌[Puls et al. *Oncologist*. 2011 May; 16(5): 566-578] 참조). 일 구현예에서, 상기 SRC 억제제는 SRC 단백질 또는 상기 SRC 단백질을 코딩하는 핵산에 결합하여 이들의 발현 수준 또는 활성을 억제하는 폴리펩티드(예; 항체 또는 이의 단편) 또는 핵산(예; 이중가닥 작은 간섭 RNA, 짧은 헤어핀 RNA, 미세-RNA, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 모르폴리노(morpholino), 잠금 핵산, 또는 앱타머)이다.

[0094] 구현예에서, 상기 VEGF 억제제는 악시티닙(axitinib), 베바시주맙(bevacizumab), 카보잔티닙(cabozantinib), 렌바티닙(lenvatinib), 모테사닙(motesanib), 파조파닙(pazopanib), 레고라페닙(regorafenib), 소라페닙(sorafenib) 및 수니티닙(sunitinib) 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 VEGF 억제제는 VEGF 단백질, VEGF 수용체 단백질, 또는 이들 단백질 중 하나를 코딩하는 핵산에 결합하여 이들의 발현 수준 또는 활성을 억제하는 폴리펩티드(예; 항체 또는 이의 단편) 또는 핵산(예; 이중가닥 작은 간섭 RNA, 짧은 헤어핀 RNA, 미세-RNA, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 모르풀리노(morpholino), 잠금 핵산, 또는 앱타머)이다. 예를 들어, 상기 VEGF 억제제는 용해성 VEGF 수용체(예; 용해성 VEGF-C/D 수용체(sVEGFR-3))이다.

[0095] 구현예에서, 상기 JAK 억제제는 파시티닙(facitinib), 루솔리티닙(ruxolitinib), 바리시티닙(baricitinib), CYT387(CAS 넘버 1056634-68-4), 레스타우르티닙(lestaurtinib), 패크리티닙(pacritinib), 및 TG101348(CAS 넘버 936091-26-8) 중에서 선택된다. 일 구현예에서, 상기 JAK 억제제는 JAK(예; JAK1, JAK2, JAK3, 또는 TYK2) 또는 상기 JAK 단백질을 코딩하는 핵산에 결합하여 이들의 발현 수준 또는 활성을 억제하는 폴리펩티드(예; 항체 또는 이의 단편) 또는 핵산(예; 이중가닥 작은 간섭 RNA, 짧은 헤어핀 RNA, 미세-RNA, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 모르풀리노, 잠금 핵산, 또는 앱타머)이다.

[0096] 구현예에서, 상기 Raf 억제제는 PLX4032(베무라페닙(vemurafenib)), 소라페닙(sorafenib), PLX-4720, GSK2118436(다브라페닙(dabrafenib)), GDC-0879, RAF265, AZ 628, NVP-BHG712, SB90885, ZM 336372, GW5074, TAK-632, CEP-32496 및 LGX818(엔코라페닙(Encorafenib)) 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 Raf 억제제는 Raf(예; A-Raf, B-Raf, C-Raf) 또는 상기 Raf 단백질을 코딩하는 핵산에 결합하여 이들의 발현 수준 또는 활성을 억제하는 폴리펩티드(예; 항체 또는 이의 단편) 또는 핵산(예; 이중가닥 작은 간섭 RNA, 짧은 헤어핀 RNA, 미세-RNA, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 모르풀리노, 잠금 핵산, 또는 앱타머)이다.

[0097] 구현예에서, 상기 ERK 억제제는 LY3214996, BVD-523 및 GDC-0994 중에서 선택된다.

[0098] 구현예에서, 상기 Ras/Raf/MEK/ERK 경로 억제제는 상술한 바와 같은 Raf 억제제 또는 Erk 억제제이다. 구현예에서, 상기 Ras/Raf/MEK/ERK 경로 억제제는 AZD6244(셀루메티닙(Selumetinib)), PD0325901, GSK1120212(트라메티닙(Trametinib)), U0126-EtOH, PD184352, RDEA119(라파메티닙(Rafametinib)), PD98059, BIX 02189, MEK162(비니메티닙(Binimetinib)), AS-703026(피마세르틴(Pimasertib)), SL-327, BIX02188, AZD8330, TAK-733, 코비메티닙(cobimetinib) 및 PD318088 중에서 선택된 MKE 억제제이다. 구현예에서, 상기 MEK 억제제는 MEK(예; MEK-1, MEK-2) 또는 상기 MEK 단백질을 코딩하는 핵산에 결합하여 이들의 발현 수준 또는 활성을 억제하는 폴리펩티드(예; 항체 또는 이의 단편) 또는 핵산(예; 이중가닥 작은 간섭 RNA, 짧은 헤어핀 RNA, 미세-RNA, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 모르풀리노, 잠금 핵산, 또는 앱타머)이다.

[0099] 구현예에서, 상기 Akt 억제제는 MK-2206, KRX-0401(페리포신(perifosine)), GSK690693, GDC-0068(이파타세르틴(Ipatasertib)), AZD5363, CCT128930, A-674563, PHT-427 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 Akt 억제제는 Akt(예; Akt-1, Akt-2, Akt-3) 또는 Akt 단백질을 코딩하는 핵산에 결합하여 이들의 발현 수준 또는 활성을 억제하는 폴리펩티드(예; 항체 또는 이의 단편) 또는 핵산(예; 이중가닥 작은 간섭 RNA, 짧은 헤어핀 RNA, 미세-RNA, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 모르풀리노, 잠금 핵산, 또는 앱타머)이다.

- [0100] 구현예에서, 상기 파르네실트랜스퍼라제(farnesyltransferase) 억제제는 LB42708 또는 티피파르닙(tipifarnib) 중에서 선택된다. 일 구현예에서, 상기 파르네실트랜스퍼라제 억제제는 파르네실트랜스퍼라제 또는 상기 파르네실트랜스퍼라제 단백질을 코딩하는 핵산에 결합하여 이들의 발현 수준 또는 활성을 억제하는 폴리펩티드(예; 항체 또는 이의 단편) 또는 핵산(예; 이중가닥 작은 간섭 RNA, 짧은 헤어핀 RNA, 미세-RNA, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 모르풀리노, 잡금 핵산, 또는 앱타머)이다.
- [0101] 구현예에서, 상기 c-MET 억제제는 크리조티닙(crizotinib), 티반티닙(tivantinib), 카보잔티닙(cabozantinib), 포레티닙(foretinib) 중에서 선택된다. 일 구현예에서, 상기 c-MET 억제제는 c-MET 또는 상기 c-MET 단백질 또는 HGF 리간드(예; 피클라투주맙(ficlatuzumab) 또는 릴로투무맙(rilotumumab))에 결합하여 이들의 발현 수준 또는 활성을 억제하는 폴리펩티드(예; 항체 또는 이의 단편, 오나르투주맙으로 예시됨) 또는 핵산(예; 이중가닥 작은 간섭 RNA, 짧은 헤어핀 RNA, 미세-RNA, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 모르풀리노, 잡금 핵산, 또는 앱타머)이다.
- [0102] 구현예에서, 상기 히스톤-조절 억제제(histone-modulating inhibitor)는 아나카르드산(anacardic acid), C646, MG149(히스톤 아세틸트랜스퍼라제), GSK J4 Hcl(히스톤 테메틸라제), MAK-683(PRC2 억제제), BIX 01294(히스톤 메틸트랜스퍼라제), MK0683(보리노스태트(Vorinostat)), MS275(엔티노스태트(Entinostat)), LBH589(파노비노스 태트(Panobinostat)), 트리코스타틴 A(Trichostatin A), MGCD0103(모세티노스태트(Mocetinostat)), 타스퀴니모드(Tasquinimod), TMP269, 넥스투라스태트 A(Nexturastat A), RG2833, 및 PDX101(벨리노스태트(Belinostat)) 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 히스톤-조절 억제제는 GSK343, EPZ6438(타제메토스태트(Tazemetostat)), CPI-1205, GSK2816126, 및 PF-06821497 중에서 선택된 EZH2 억제제이다.
- [0103] 구현예에서, 상기 유사분열 방지제(anti-mitotic agent)는 그리세오플빈(Griseofulvin), 비노렐빈 타르트레이트(vinorelbine tartrate), 패클리탁셀(paclitaxel), 도세탁셀(docetaxel), 빙크리스틴(vincristine), 빈블라스틴(vinblastine), 에포ти론 A(Epothilone A), 에포ти론 B(Epothilone B), ABT-751, CYT997(렉시불린(Lexibulin)), 빈플루닌 타르트레이트(vinflunine tartrate), 포스브레타불린(Fosbretabulin), GSK461364, ON-01910(리고세르티닙(Rigosertib)), Ro3280, BI2536, NMS-P937, BI 6727(볼라세르티닙(Volasertib)), HMN-214 및 MLN0905 중에서 선택된다.
- [0104] 구현예에서, 상기 티로신 키나제 억제제(TKI)는 보트리엔트(Votrient), 액시티닙(Axitinib), 보르테조닙(Bortezomib), 보수티닙(Bosutinib), 카르필조닙(Carfizomib), 크리조티닙(Crizotinib), 다브라페닙(Dabrafenib), 다사티닙(Dasatinib), 에를로티닙(Erlotinib), 제피티닙(Gefitinib), 이브루티닙(Ibrutinib), 이마티닙(Imatinib), 라파티닙(Lapatinib), 닐로티닙(Nilotinib), 페가프타닙(Pegaptanib), 포나티닙(Ponatinib), 레고라페닙(Regorafenib), 루솔리티닙(Ruxolitinib), 소라페닙(Sorafenib), 수니티닙(Sunitinib), 트라메티닙(Trametinib), 반데타닙(Vandetanib), 베무라페닙(Vemurafenib), 및 비스모데깁(Vismodegib) 중에서 선택된다.
- [0105] 일 구현예에서, 상기 폴리에테르 항생제는 나트륨 모넨신(monensin), 니제리신(nigericin), 발리노마이신(valinomycin), 살리노마이신(salinomycin) 중에서 선택된다.
- [0106] 구현예에서, 상기 CTLA-4 억제제는 트램리무맙(tremelimumab) 및 이필리무맙(ipilimumab) 중에서 선택된다.
- [0107] 구현예에서, 상기 적어도 하나의 추가적 API(들)는 면역관문 억제제이다. 이들 화합물에 의한 치료는 면역 반응에 대한 관문 및 밸런스(checks and balances)로서 작용하는 분자를 표적화함으로써 작용한다. 이들 치료는 이들 억제 분자를 차단하거나 또는 대안으로서, 자극 분자를 활성화시킴으로써, 기존의 항암 면역 반응을 촉발하거나 증대시키도록 설계된다. 구현예에서, 상기 면역관문 억제제는 항체, 예를 들어 항-CD27 항체, 항-B7-H3 항체, 항-KIR 항체, 항-LAG-3 항체, 항-4-1BB/CD137 항체, 항-GITR 항체(예; TRX518, MK-4166), 펌брول리주맙(pembrolizumab; 키트루다™(Keytruda™), PD-1 항체), MPDL3280A(PD-L1 항체), 발릴루맙(varlilumab; CDX-1127, 항-CD27 항체), MGA217(B7-H3을 표적화하는 항체), 리릴루맙(lirilumab; KIR 항체), BMS-986016(LAG-3 항체), 우렐루맙(urelumab; 4-1BB/CD137 항체), 항-TIM3 항체, MEDI-0562(OX40 항체), SEA-CD40(항-CD40 항체), 트레멜리무맙(tremelimumab; 항-CTLA4 항체), 항-OX40 항체, 및 항-CD73 항체 중에서 선택될 수 있다. 구현예에서, 상기 면역관문 억제제는 CD73의 소분자 억제제 중에서 선택된다(예; 문헌[Cancer Immunol Res 2016;4 (11 Suppl):Abstract nr PR10]에 기재된 바와 같음). 구현예에서, 상기 면역관문 억제제는 발릴루맙(varlilumab), MGA217, 리릴루맙(lirilumab), BMS-986016, 우렐루맙(urelumab), MEDI-0562, SEA-CD40, TRX518, 또는 MK-4166 중에서 선택된다.

- [0108] 구현예에서, 상기 추가적 API는 올라파립(olaparib), 루카파립(rucaparib), 니라파립(niraparib), 탈라조파립(talazoparib) 벨리파립(veliparib), CEP-9722, 및 CEP-8983 중에서 선택된 DNA 복구(repair) 억제제이다.
- [0109] 구현예에서, 추가적 API(들)는 ddAc, 파노비노스태트(panobinostat), 엑스메스탄(exemestane), 레트로졸(letrozole), 에사르티닙(esartanib), 메레스티닙(merestinib), 모세티노스태트(mocetinostat), 에티노스태트(etinostat), 모톨리모드(motolimod), 이브루티닙(ibrutinib), 레날리도미드(lenalidomide), 이델랄리십(idelalisib), 엔잘루타미드(enzalutamide), 프레드니손(prednisone), 덱사메타손(dexamethasone), 빈플루닌(vinflunine), 보리노스태트(vorinostat), 갈루니세르틴(galunisertib), 벤다머스틴(bendamustine), 옥살리플라틴(oxaliplatin), 류코보린(leucovorin), 구아데시타빈(guadecitabine), 트라메티닙(trametinib), 베무라페닙(vemurafenib), 다카바진(dacarbazine), 아파티닙(apatinib), 포말리도미드(pomalidomide), 카르필조맙(carfilzomib), 소라페닙(sorafenib), 5-플루오로우라실(5-fluorouracil), CB-839, CB-1158, GDC-0919, LXH254, AZD4635, AZD9150, PLX3397, LCL161, PBF-509, Sym004, 트라스투주맙(trastuzumab), 오비누투주맙(obinutuzumab), B-701, 우토밀루맙(utomilumab), 리툭시맙(rituximab), NKTR-214, PEG인터페론 2A, RO7009789, MEDI9447, MK-1248, LY2510924, ARRY-382, MEDI0562, LAG525, NIS793, GWN323, JTX-2011, TSR-022, 및 REGN3767 중에서 선택된다.
- [0110] 구현예에서, 상기 추가적 API는 표적화된 요법을 지향하며, 여기서 상기 치료는 암의 성장 및 생존에 기여하는 암의 특정한 유전자, 단백질 또는 환경을 표적화한다. 이러한 유형의 치료는 건강한 세포들에 대한 손상을 제한하면서 암세포의 성장 및 확산을 차단한다. 구현예에서, 상기 적어도 하나의 추가적 API는 혈관형성 방지 요법(anti-angiogenesis therapy)을 지향하며, 여기서 상기 치료는 새로운 혈관을 만드는 과정인 혈관형성(angiogenesis)을 중지시키는데 초점을 둔다. 종양은 성장 및 확산을 위해 혈관에 의해 전달되는 양분들을 필요로 하기 때문에, 혈관형성 방지 요법의 목적은 종양을 "굶기는(starve)" 것이다. 혈관형성 방지 약물의 하나인 베바시주맙(bevacizumab; 아바스틴(Avastin))이 전이성 신장암종(metastatic renal carcinoma)을 가진 사람에서 종양 성장을 지연시키는 것으로 나타났다. 인터페론과 병용된 베바시주맙은 종양의 성장 및 확산 속도를 감소시킨다.
- [0111] 구현예에서, 상기 추가적 API는, 암에 대항하기 위해 신체의 자연 방어를 부양하도록 설계된 생물학적 요법이라 또한 지칭되는 면역요법을 지향한다. 이는 면역계 기능을 개선시키거나, 표적화하거나 또는 복원시키기 위해 신체에 의해 또는 실험실에서 제조된 물질을 이용한다. 예를 들어, 인터류킨-2(IL-2)뿐 아니라 AM0010 및 인터류킨-15는 신장암을 치료하는데 이용한 약물이다. 이들은 백혈구에 의해 생성된 사이토킨이라 부르는 세포 호르몬으로서 종양 세포의 파괴를 포함한 면역계 기능에 중요하다. 알파-인터페론은 확산된 신장암을 치료하는데 이용되는 또 다른 유형의 면역요법이다. 인터페론은 암세포 표면상의 단백질을 변화시키고 이들의 성장을 느리게하는 것으로 보인다. 화학요법제와 병용된, 진행된 신장암이 있는 환자를 위한 IL-2 및 알파-인터페론의 다수의 병용 요법이 IL-2 또는 인터페론 단독 요법보다 더 유효하다.
- [0112] 구현예에서, 상기 추가적 API는 종양-특이성 또는 종양-관련 항원에 대한 면역 반응을 이끌어내어, 이를 항원을 갖는 암세포를 공격하도록 면역계를 이끌어내도록 설계된 암 백신(cancer vaccine)이다. 구현예에서, 상기 암 백신은 AGS-003, DCVax, NY-ESO-1 또는 환자의 암세포로부터 유래된 개인 맞춤형 백신(personalized vaccine)이다.
- [0113] 구현예에서, 상기 추가적 API는 암세포를 공격하도록 면역계를 활성화시키는데 이용되는 면역자극제(immunostimulant), 예를 들어 재조합 단백질이다. 구현예에서, 상기 면역자극제는 테네니코킨(denenicokin; 재조합 IL-21)이다.
- [0114] 구현예에서, 상기 추가적 API는 암세포의 제거를 이끌어내도록 면역계를 조절하는 소분자이다. 구현예에서, 상기 소분자는 에파카도스태트(epacadostat) 또는 나복시모드(navoximod)(둘 다 IDO 억제제임), 또는 PLX3397(CSF-1R의 억제제)이다.
- [0115] 구현예에서, 상기 추가적 API는 환자로부터 제거되고, 유전학적으로 변형되거나 또는 활성을 증대시키기 위해 화학물질로 처리된 후, 면역계의 항암 반응을 개선시킬 목적으로 상기 환자에게 재도입된 상기 환자 자신의 면역 세포일 수 있다.
- [0116] "병용 요법"은 또한 추가로 비-약물 요법(예; 수술 또는 방사선 치료)과 병용되는 MPC-0767의 투여를 포함한다. 상기 병용 요법이 비-약물 치료를 추가로 포함하는 경우, 상기 비-약물 치료는 상기 치료학적 화합물 및 비-약물 치료의 조합의 공동-작용(co-action)으로부터 이로운 효과가 성취되는 한 임의의 적합한 시기에 수행될 수

있다. 예를 들어, 적합한 경우에, 상기 이로운 효과는 상기 비-약물 치료가 상기 치료학적 화합물의 투여로부터 일시적(대략 몇 일 또는 몇 주까지도)으로 제거되는 경우에도 여전히 성취된다.

[0117] 상기 비-약물 치료는 화학요법, 방사선 요법, 호르몬 요법, 항-에스트로겐 요법, 유전자 요법, 수술(예; 근치적 신장절제술(radical nephrectomy), 부분 신장절제술(partial nephrectomy), 복강경(laparoscopic) 및 로봇 수술), 고주파 절제술(radiofrequency ablation) 및 냉각절제술(cryoablation) 중에서 선택될 수 있다. 예를 들어 비-약물 요법은 난소의 제거(예; 신체 중 에스트로겐의 수준 감소 목적), 흉강천자(thoracentesis, 예; 흉부로부터 흉수를 제거 목적), 복수천자(paracentesis, 예; 복부로부터 복수 제거 목적), 혈관근육지방종(angiomylipomas)의 제거 또는 수축을 위한 수술, 폐 이식(및 임의로 이식으로 인한 감염 예방 목적으로 항생제와 같이), 또는 산소 요법(예; 양쪽 콧구멍에 놓인 2개의 작은 플라스틱 튜브 또는 프롱(prongs)을 포함하는 코 캐뉼러(nasal cannula)를 통해; 코 및 입 위에 맞게 착용되는 안면 마스크를 통해; 또는 목의 전방을 관통하여 기관(windpipe) 내에 삽입된 작은 튜브를 통해(경기관 산소 요법(transtracheal oxygen therapy)으로도 불리움))이다.

조단 및 치료를 위한 바이오마커 분석

[0119] 구현예에서, 본 개시는 HSP90 억제제에 의한 치료에 대한 암의 민감도(sensitivity), 및 특히 MPC-0767에 대한 민감도를 예측하는데 이용될 수 있는 바이오마커를 제공한다. 이러한 문맥에서, '민감도(sensitivity)'는 치료법에 대한 반응, 또는 예를 들어 하기의 "암 치료" 표제의 색션에 기재된 바와 같은, 암 치료와 관련된 치료학적 반응성(responsiveness)을 의미한다. MPC-0767과 같은 항암 요법에 대한 반응의 문맥에서 '반응성(responsiveness)' 및 MPC-0767과 같은 항암 요법에 의한 치료에 대한 민감도의 상황에서 '민감도'란 용어는 본 명세서에서 호환 가능하게 이용한다.

[0120] 구현예에서, 본 개시는 암을 치료하거나 또는 HSP90 억제제에 의한 치료에 대한 암의 반응성, 및 특히 MPC-0767에 대한 민감도를 예측하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 MPC-0767 내성 또는 민감도의 하나 이상의 바이오마커의 상태를 결정하거나 수신함을 포함한다. 예를 들어, 본 명세서에 개시된 바와 같이, FLT3에 활성화 돌연변이(activating mutations) 및 특히 FLT3-ITD 돌연변이를 갖는 AML 암세포는 MPC-0767의 세포독성 활성에 고도로 민감하다. 따라서, 본 개시는 AML을 치료하는 방법 및 HSP90 억제제에 의한 치료에 대한 암의 반응성, 및 특히 MPC-0767에 대한 민감도를 예측하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 AML의 FLT3 상태의 결정 또는 수신을 포함한다.

[0121] 추가 구현예에서, 상기 MPC-0767 내성 또는 민감도의 하나 이상의 바이오마커는 정상 또는 야생형 FLT3 상태를 갖는 AML 세포에서의 NRAS 또는 KRAS의 활성화 돌연변이이다. 이런 문맥에서, '정상' 및 '야생형'이란 용어는 정상적인 활성을 갖는 단백질을 생성시키는 유전자의 야생형 대립유전자를 의미하는 용어로서 상호 호환 가능하다. 본원에 기재된 바와 같이, 정상 FLT3 상태를 갖는 AML 세포에서의 NRAS 또는 KRAS에서의 활성화 돌연변이는 암세포가 MPC-0767에 의한 치료에는 내성을 갖고 MPC-0767 및 Ras/Raf/MEK/ERK 경로 억제제를 포함하는 병용 요법에 의한 치료에는 반응성(responsive)을 보일 것으로 예상된다.

[0122] 추가 구현예에서, 상기 MPC-0767 내성 또는 민감도에 대한 하나 이상의 바이오마커는 FLT3-ITD 돌연변이 또는 FLT3 티로신 키나제 도메인(FLT3-TKD) 돌연변이이다.

[0123] 추가 구현예에서, 상기 MPC-0767 내성 또는 민감도에 대한 하나 이상의 바이오마커는 KDM6A 또는 EZH2이다. 본원에 기재된 바와 같이, KDM6A에서의 기능 돌연변이의 상실은 암세포가 MPC-0767에 의한 치료에는 내성을 보이고 MPC-0767 및 EZH2 억제제를 포함하는 병용 요법에 의한 치료에는 반응성을 보일 것으로 예상된다. 구현예에서, 기능 돌연변이의 EZH2 상실은 MPC-0767 단독 요법에 반응성인 암을 초래할 것으로 예상되고, 기능 돌연변이의 EZH2 획득은 MPC-0767 단독 요법에 내성인 암을 초래할 것으로 예상된다.

[0124] 본 개시는 MPC-0767의 세포독성 효과에 대한 암세포의 높은 민감도를 나타내는 바이오마커를 제공한다. 구현예에서, 본 개시는 유전자를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 중 하나 이상의 변형 형태의 유전학적 바이오마커, 예를 들어 FLT3, NRAS, KRAS, KDM6A, 및 EZH2를 제공한다. 구현예에서, 상기 폴리뉴클레오티드 변형은 상기 코딩된 단백질에서 아미노산 변화를 야기시킬 수 있다. 구현예에서, 상기 바이오마커는 유전자 발현, 예를 들어 mRNA 또는 단백질 풍부성(protein abundance)(예; KRAS 또는 NRAS의 발현 수준)의 마커이다.

[0125] 구현예에서, 상기 NRAS 또는 KRAS에서 하나 이상의 활성화 돌연변이는 KRAS의 A146T 및 G13D; 또는 NRAS의 Q61L, Q61H, 및 G12D로 이루어지는 그룹 중에서 선택된 아미노산 변화를 야기시키는 Ras 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열에서의 돌연변이이다. 구현예에서, 상기 KRAS 중의 하나 이상의 활성화 돌연변이는 KRAS

G12(V,C,S,R,D,N,A), G13(D,C), Q22K, Q61(H,L,R), 및 K117NA146(T/V)(여기서 문자 명칭은 IUPAC-IUB 생화학 명명법 위원회에 의해 권장되는 1-문자 아미노산 기호를 의미함) 중에서 선택된다.

[0126] 구현예에서, 상기 하나 이상의 변형(variant)은 분자 신호전달 또는 합성 경로(예; Ras/Raf/MEK/ERK 경로, Bcl-2 경로 또는 히스톤 메틸트랜스퍼라제/데메틸라제 경로)의 일부인 유전자의 폴리뉴클레오티드 서열에서의 변형이다.

[0127] 구현예에서, 본원에 기재된 방법은 피검자로부터의 암세포의 생물학적 샘플에서 본 명세서에 개시된 바이오마커 중 하나 이상의 존재를 결정함을 포함할 수 있다. 상기에서 언급한 바와 같이, 상기 바이오마커는, 코딩된 단백질에서 아미노산 변화를 야기시킬 수 있는, 폴리뉴클레오티드 서열에서 하나 이상의 변형(variant)의 형태의 유전학적 바이오마커일 수 있다. 따라서, 본원에 기재된 방법은 폴리뉴클레오티드 서열에서 하나 이상의 변형(variant)을 검출하는 단계를 포함할 수 있다. 상기 변형이 단백질을 코딩하는 유전자의 엑손에 있는 경우, 상기 변형은 암세포의 게놈 DNA 또는 RNA에서 검출될 수 있다.

[0128] 구현예에서, 상기 방법은 유전학적 바이오마커 중 하나 이상의 존재를 검출하기 위해 피검자의 유전자형을 결정함을 포함할 수 있다. 유전자형은 당해 분야에 공지된 기법, 예를 들어 PCR-기반 방법, DNA 서열분석, 5' 엑손 뉴클레오티드 형광 분석, 탐침 하이브리드화(probe hybridization)에 의한 서열분석, 도트 블러팅(dot blotting), 및 올리고뉴클레오티드 배열 하이브리드화 분석, 예를 들어 고속처리(high-throughput) 또는 저밀도 배열 기술(low density array technologies; 미세배열(microarrays) 및 유전자칩(gene chips)으로도 불리움), 및 이들의 조합에 의해 결정될 수 있다. 다른 특정한 기법은 동적인 대립유전자-특이성 하이브리드화(dynamic allele-specific hybridization), 분자 비콘(molecular beacons), 제한 단편 길이 다형성(RFLP)-기반 방법, 플랩(flap) 엔도뉴클레오티드-기반 방법, 프라이머 연장, 5'-뉴클레오티드-기반 방법, 올리고뉴클레오티드 리가제 분석, 단일가닥 배치 다형성 분석(single-stranded conformation polymorphism assays; SSCP), 온도-구배 겔 전기영동, 변성(denaturing) 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC), 고해상 용융 분석(high-resolution melting analysis), DNA-불일치-결합 방법(DNA mismatch-binding methods), 모세관 전기영동, 및 차세대 서열분석(NGS) 방법을 포함할 수 있다. SNP 검출에 이용할 수 있는 실시간 PCR 방법은 예를 들어 태크만(Taqman) 또는 분자 비콘-기반 분석(molecular beacon-based assays)을 포함한다(미국특허 제 5,210,015; 5,487,972 호; 및 PCT WO 95/13399). 유전자형분석 기술은 예를 들어 어플라이드 바이오시스템스 인코포레이티드(Applied Biosystems, Inc)(미국 캘리포니아주 포스터 시티 소재)와 같은 회사로부터 상업적으로 입수할 수도 있다.

[0129] 구현예에서, 유전자형은 직접 수동 서열분석, 자동화된 형광 서열분석, 단일가닥 배치 다형성 분석(single-stranded conformation polymorphism assays; SSCP), 고정된 변성 겔 전기영동(clamped denaturing gel electrophoresis; CDGE), 변형(denaturing) 구배 겔 전기영동(DGGE), 이동성 이동 분석(mobility shift analysis), 제한 효소 분석, 이종듀플렉스 분석(heteroduplex analysis), 화학적 불일치 절단(chemical mismatch cleavage; CMC), 및 RNase 보호 분석 중에서 선택된 방법에 의해 결정될 수 있다.

[0130] 구현예에서, 바이오마커 존재의 검출 방법은 SNP-특이성 프라이머 세트를 피검자의 암세포 샘플로부터 추출한 DNA와 접촉시켜, 상기 프라이머가 상기 DNA에 결합되게 하고, 종합효소연쇄 반응(PCR)을 이용하여 상기 DNA의 영역을 포함하는 SNP를 증폭시키는 단계를 포함할 수 있다.

[0131] 구현예에서, 본원에 기재된 방법은 컴퓨터 시스템에서, 본원에 기재된 바이오마커 중 하나 이상에 대한 환자의 유전자형을 수신함을 포함할 수 있다. 일 구현예에서, 이용자는 상기 컴퓨터 시스템에 상기 환자의 유전자형을 입력한다. 일 구현예에서, 상기 환자의 유전자형을 상기 환자의 유전자형 결정에 이용한 장비로부터 직접 수신한다.

[0132] 추가 구현예에서, 상기 바이오마커는 유전자 발현(예; mRNA 또는 단백질 풍부성)의 마커일 수 있다. 본원에 기재된 바이오마커의 유전자 발현 검출에 적합한 방법은 미세배열 발현 분석(microarray expression analysis), PCR-기반 방법, 인시투(in-situ) 하이브리드화, 노던 면역블러팅 및 관련 탐침(related probe) 하이브 기법, 단일 분자 영상화 기술(single molecule imaging technologies)(예; nCounter[®]) 또는 차세대 서열분석 방법(예; RNA-seqTM(라이프 테크놀로지스) 및 SAGE 테크놀로지스TM) 및 상기의 조합을 포함하는 방법을 포함한다. 구현예에서, 상기 방법은 면역조직화학, 질량 분광광도 측정, 유세포 분석, 효소-결합된 면역흡수분석, 웨스턴 면역블러팅 및 관련된 탐침 하이브리드화 기법, 멀티플렉스 면역분석(예; 루미넥스(Luminex[®]), 메조스케일(MesoScaleTM) 디스커버리(Discovery), SIMOATM), 단일분자 영상화 기술(예; nCounter[®]), 및 앱타머-기반 멀티

플렉스 프로테오믹 기술(예; SOMAscan[®]) 중 하나 이상을 포함하는 적합한 방법을 이용하는 단백질 발현의 검출을 포함할 수 있다.

[0133] 구현예에서, 상기 방법들은 예를 들어 생검(biopsy) 시술에 의해, 치료가 필요한 피검자로부터 암세포의 생물학적 샘플을 수득함을 추가로 포함할 수 있다. 이러한 문맥에서, 생검 시술은 피검자로부터 암세포의 샘플 또는 암세포를 포함하는 조직을 추출함을 포함한다. 상기 생검은, 예를 들어 절개 생검(incisional biopsy), 코어 생검(core biopsy), 또는 흡출 생검(aspiration biopsy)(예; 미세바늘 흡출(fine needle aspiration))로 수행할 수 있다.

[0134] 구현예에서, 상기 방법들은 전혈로부터 암세포의 생물학적 샘플을 수득함을 추가로 포함할 수 있다.

급성 골수성 백혈병(AML)

[0135] AML은 상당히 충족되지 못한 의학적 요구 및 제한된 치료 옵션을 갖는 혈액암(hematopoietic cancer)이다. AML에서의 질병 이질성(disease heterogeneity)에 기여하고 새로운 표적 요법 개발에 있어서 역사적 어려움도 설명할 수 있을 것으로 예상되는 다수의 유전학적 병변들(genetic lesions)이 밝혀졌다(예; 하기 문헌 참조: Cancer Genome Atlas Research Network, NEJM 2013 368: 2059; Grimwade *et al.*, Blood 2016 129:29; Papaemmanuil *et al.*, NEJM 2016; 374: 2209; Breitenbuecher *et al.*, Blood 2009 113:4074; Kindler *et al.*, Blood 2005 105:335). 세포 표면 수용체 fms-유사 티로신 키나제(FLT3)의 돌연변이가 AML 환자의 ~30%에서 발견되며 상당히 불량한 예후와 관련된다(Papaemmanuil *et al.*, NEJM 2016; 374: 2209). FLT3 돌연변이는 2개의 일반적인 범주 내에 있다. 첫 번째는 구성적 활성화(constitutive activation)를 유도하는 티로신 키나제 도메인의 활성화 고리(activation loop) 내에서, 예를 들어 D835에서 발생하는 점 돌연변이이다. 구성적으로 활성인 FLT3를 유도하는 구체적인 점 돌연변이는 잔기 F691, D835, N676, I836, 및 Y842에서의 돌연변이를 포함한다(Kindler *et al.*, Blood 2005). 두 번째는 수용체의 막근접 도메인(juxtamembrane domain)에서 또는 상기 도메인에 인접하여 발생하는 내부 탠덤 중복(FLT3 ITD)이다. 이를 돌연변이는 크기가 3 내지 400 초과 염기쌍 범위로 다양할 수 있다. 이들은 항상 3의 배수로 발생하기 때문에, 판독 프레임이 유지된다. 이를 중복은 대개 FLT의 잔기 590-600 부근의 엑손 14 내에 포함된다. ITD는 또한 키나제 도메인내에서도 관찰되었다(Breitenbuecher *et al.*, Blood 2009). 상기 FLT3 ITD 돌연변이를 갖는 수용체는 구성적으로 자가인산화되며(consistutively autophosphorylated), 따라서 구성적으로 활성이다. 상기 FLT3 경로는 JAK2, STAT3, STAT5, PI3-K, 및 AKT를 포함한, 세포 생존 및 세포 증식에 관련된 하류에 위치한 키나제를 활성화시킨다. PKI 미도스타우린은 AML 치료 용으로 FDA-승인되었다. FLT3는 HSP90의 클라이언트 단백질로서 HSP90은 상기 FLT3 ITD 돌연변이 단백질을 안정화시킨다. 보다 높은 HSP90 수준은 유도 요법(induction therapy) 후 AML 환자의 더 낮은 생존률과 관련된다.

[0136] AML의 표준 치료법(standard-of-care treatment)은 시타라빈 및 안트라사이클린(예; 다우노루비신)에 의한 초기 유도 요법(initial induction therapy)에 이어 추가적 세포독성제(예; 시타라빈, 미트란트론, 및/또는 에토포시드)에 의한 강화 요법(consolidation therapy)을 조합하는 방법이다(문헌[Ramos *et al.*, J. Clin. Med. 2015 6: 665; Pratz and Levis, Blood 2017 129:565] 참조). 최근, 미도스타우린이 "표준 치료법(standard-of-care treatment)", 시타라빈 및 안트라사이클린 유도와 함께 제1선 요법(first line therapy)으로서 미국 식품 의약품 안전청에 의해 승인되었다. 추가적 FLT3 억제제는 현재 임상 개발 중에 있으나(Stone *et al.*, NEJM 2017 377: 454) 일반적으로 단백질 티로신 키나제 억제제의 경우처럼, FLT3 억제제에 대한 내성의 발생이 여전히 우려가 된다(예; 문헌[Weisberg *et al.*, Oncogene 2010 19: 5120] 참조). 약물 내성의 한 가지 핵심 기전은 억제제 결합을 감소시키는 FLT3에서의 획득된(acquired) 돌연변이이다. 예를 들어, 미도스타우린으로 치료받은 FLT3 ITD 환자는 키나제 도메인 내 N676K 위치에서의 돌연변이로 인해 내성을 나타내었으며(Heidel *et al.*, Blood. 2006), FLT3 D835 및 게이트키퍼 F691L 돌연변이는 퀴자르티닙 및 소라페닙에 대한 내성을 부여한다. 또한, 크레놀라닙에 불응성인 환자로부터의 AML 아세포(blasts)는 F691L 돌연변이를 포함하였고, 상기 아세포의 생체 외(ex-vivo) 분석은 크레놀라닙 및 길테리티닙에 대한 내성을 확인하였다(Lee *et al.*, Blood 2017). 이러한 발견은 F691L 돌연변이가 크레놀라닙 및 길테리티닙의 효능을 감소시킨다는 개념을 뒷받침한다. 약물 내성을 발생시키는 또 다른 기전은 세포 미세환경 중 기질 인자(stromal factors)에 대한 반응에서와 같이, 다른 신호전달 경로의 활성화를 통하는 것이다.

[0137] 하기 실시예에 보다 상세히 기재되는 바와 같이, FLT3 ITD 돌연변이를 갖는 AML 세포는 예상과 달리 시험관 내 및 생체 내 모두에서 MPC-0767에 의한 치료에 민감하다. 놀랍게도, 다수의 상이한 기전(예; FLT3에서 기질 신호 전달을 통한 돌연변이의 획득)을 통해 다른 단백질 티로신 키나제 억제제에 대한 내성이 발생한 AML 세포는 MPC-0767에도 여전히 민감한 상태로 유지된다. 또한, MPC-0767은 1차 AML 세포에서 인터페론 감마 유도된 PD-L1

발현을 제거한다. 더욱이, MPC-0767은 AML 치료에 이용되는 다수의 다른 활성제들(예; 다우노루비신, 베네토클락스, 시타라빈, 크레놀라닙, 길테리티닙, 및 소라페닙)과 상승작용적으로 작용한다. MPC-0767은 또한 FLT3-ITD AML 세포를 이용하는 전신 이종이식 연구에서 베네토클락스와 상승작용하는 놀라운 능력과 상당히 개선된 동물 생존률을 나타내었다. 종합해보면, 상기 결과들은 MPC-0767의 단독 요법 및 다른 API와의 병용요법 모두가 AML 및 기타 암을 치료하기 위한 매력적 신규 요법임을 뒷받침한다.

[0139] 따라서, 본 개시는 AML의 치료가 필요한 피검자에게 치료 유효량의 MPC-0767을 투여함으로써 상기 피검자에서 AML을 치료하는 방법을 제공한다. 구현예에서, 상기 치료가 필요한 피검자는 FLT3 ITD 돌연변이, FLT3 D835, FLT3 I836, 및 FLT3 N676K 중에서 선택된 FLT3에서, 또는 게이트키퍼 잔기 F691에서 하나 이상의 활성화 돌연변 이를 가짐을 특징으로 하는 AML을 갖는 피검자이다. 구현예에서, 상기 AML은 단백질 키나제 억제제에 의한 치료에 재발/불응성이 있다. 구현예에서, 상기 AML은 FLT3 단백질 키나제 억제제에 의한 치료에 재발/불응성이 있다. 구현예에서, 상기 AML은 길테리티닙, 크레놀라닙, 탄두티닙, 미도스타우린, 퀴자르티닙 및 소라페닙 중 하나 이상에 의한 치료에 재발/불응성이 있다.

[0140] 구현예에서, 본 개시는 또한 AML에 대한 표준 치료법과 함께 MPC-0767을 포함하는 병용 요법의 방법을 제공한다. 구현예에서, MPC-0767을 시타라빈 및 안트라사이클린에 의한 초기 유도 요법에 이어서 투여한다. 구현예에서, MPC-0767을 초기 유도 요법에 이어서 단독으로, 또는 미도스타우린, 퀴자르티닙, 길테리티닙, 크레놀라닙, 탄두티닙, 베네토클락스, 및 소라페닙 중 하나 이상과 함께 투여한다. 구현예에서, MPC-0767를 베네토클락스와 함께 투여한다.

[0141] 구현예에서, MPC-0767을 DNA 메틸트랜스퍼라제 억제제(예; 5' 아자시티딘 또는 데시타빈)를 포함하는 초기 요법에 이어서 투여한다. 구현예에서, 상기 MPC-0767을 단독으로 또는 DNA 메틸트랜스퍼라제 억제제와 함께 투여한다.

[0142] 구현예에서, 본 개시는 또한 MPC-0767을 안트라사이클린(예; 다우노루비신, 독소루비신, 에피루비신, 미톡산트론 및 이다루비신; 시타라빈) 티로신 키나제 억제제(TKI)(예; 미도스타우린, 소래페닙, 크레놀라닙, 퀴자르티닙, 탄두티닙, 길테리티닙, 레스타우르티닙, 도비티닙, 파크리티닙, 및 XL999; 에토포시드, 플루다라빈, G-CSF, 아자시티딘, 데시타빈, 베네토클락스, ABT-737, 나비토클락스, 오바토클락스, 사부토클락스, S 55746, AT-101(고시풀), 및 APG-1252) 및 상기 중 임의의 조합 중에서 선택된 하나 이상의 추가적 API(들)와 함께 포함하는 병용 요법의 방법을 제공한다.

[0143] 구현예에서, MPC-0767과의 병용 요법에서 투여를 위한 상기 하나 이상의 추가적 API(들)는 삼산화 비소(트리세녹스(trisenox)), 세루비딘(cerubidine; 노루비신 하이드로클로라이드), 클라펜(clafen; 클로포스파미드), 사이클로포스파미드, 시타라빈(cytarabine; 타라빈 PFS), 사이토사르-U(cytosar-U; 시타라빈), 사이토산(cytoxan; 사이클로포스파미드), 다우노루비신 하이드로클로라이드(루비도마이신(rubidomycin)), 독소루비신 하이드로클로라이드, 에나시데닙 메실레이트(enasidenib mesylate), 이다마이신(idamycin; 이다루비신 하이드로클로라이드), 이다루비신 하이드로클로라이드 이드히파(idarubicin hydrochloride idhifa; 에나시데닙 메실레이트), 미도스타우린(라이답트(Rydapt)), 미톡산트론(mitoxantrone) 하이드로클로라이드, 네오사르(neosar; 사이클로포스파미드), 티오구아닌(thioguanine; 타블로이드(Tabloid)), 빙크리스틴 설페이트(빈카사르 PFS)(vincasar PFS), 아자시티딘, 및 데시타빈, 및 상기 중 임의의 조합 중에서 선택된다.

[0144] 구현예에서, 상기 추가적 API(들)는 PD-1/PD-L1 억제제 또는 Bcl-2 경로 억제제이다. 구현예에서, 상기 PD-1/PD-L1 억제제는 AMP-224, AMP-514/MEDI-0680, 아테졸리주맙(MPDL3280A), 아벨루맙(MSB0010718C), BGB-A317, BMS936559, 세미플리맵(REGN2810), 두르발루맙(MEDI-4736), JTX-4014, 니볼루맙(BMS-936558), 펜브롤리주맙(키트루다, MK-3475), 및 SHR-1210으로 이루어지는 그룹 중에서 선택된다.

[0145] 구현예에서, 상기 Bcl-2 경로 억제제는 ABT-737, AT-101(고시풀), APG-1252, A1155463, A1210477, 나비토클락스, 오바토클락스, 사부토클락스, 베네토클락스, S 55746, 및 WEHI-539로 이루어지는 그룹 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 Bcl-2 경로 억제제는 BCL2, BCLXL, 또는 MCL1의 억제제이다. 구현예에서, 상기 Bcl-2 경로 억제제는 AMG-176, MIK665 및 S641315 중에서 선택된다. 구현예에서, Bcl-2 경로 억제제는 ABT-737, 나비토클락스 및 베네토클락스 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 Bcl-2 경로 억제제는 베네토클락스이다.

[0146] 구현예에서, 상기 Raf 억제제는 PLX4032(베무라페닙), 소라페닙, PLX-4720, GSK2118436(다브라페닙), GDC-0879, RAF265, AZ 628, NVP-BHG712, SB90885, ZM 336372, GW5074, TAK-632, CEP-32496 및 LGX818(엔코라페닙) 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 Raf 억제제는 Raf(예; A-Raf, B-Raf, C-Raf) 또는 상기 Raf 단백질을 코

딩하는 핵산에 결합하여 이들의 발현 수준 또는 활성을 억제하는 폴리펩티드(예; 항체 또는 이의 단편) 또는 핵산(예; 이중가닥 작은 간섭 RNA, 짧은 헤어핀 RNA, 미세-RNA, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 모르폴리노, 잡금 핵산, 또는 앱타머)이다.

[0147] 구현예에서, 상기 EZH2 억제제는 GSK343, EPZ6438(타제메토스태트), CPI-1205, GSK2816126, 및 PF-06821497 중에서 선택된다.

[0148] 구현예에서, 상기 AML은 FLT3-ITD 돌연변이를 특징으로 하며 상기 방법은 추가적 API로서 베네토클락스를 포함한다.

[0149] 구현예에서, 상기 치료가 필요한 피검자는 길테리티닙, 미도스타우린 또는 소라페닙에 의한 치료에 불응성이거나 또는 상기 치료 후에 재발된 암을 갖는 피검자이다.

만성 림프구성 백혈병(CLl)

[0151] CLL은 성인에서 가장 일반적인 유형의 백혈병 중 하나이다. CLL은 비정상적 림프구의 점진적인 축적을 특징으로 한다. 치료받지 않은 CLL 환자의 약 10%는 종양 억제인자 활성을 제거하는 17p 염색체 결실(chromosomal deletion)을 갖는다. 상기 돌연변이는 재발된 CLL을 갖는 환자의 약 20%에서 발생한다. 경구 베네토클락스는, 암이 재발되었거나 또는 불응성 암을 갖고 상기 17p 돌연변이를 갖는 환자의 CLL 치료에 대해 미국 식품의약품 안전청의 승인을 획득하였다.

[0152] 상기에 논의되고 하기에 보다 상세히 나타내는 바와 같이, MPC-0767은 베네토클락스와 병용 시 뛰어난 상승작용적 활성을 보였다. 이들 결과는 MPC-0767이 Bcl-2 억제제와 병용 투여 시 특히 효력이 있을 것임을 암시하고 있다. 상기에 언급되고 실시예에 추가로 기재된 바와 같이, MPC-0767은 또한 1차 AML 세포에서 인터페론 감마 유도된 PD-1 발현을 제거하며, 이는 MPC-0767이 PD-1/PD-L1 억제제와 병용 투여 시 특히 효력이 있을 것임을 암시하고 있다. 따라서, 본 개시는 또한 CLL의 치료가 필요한 피검자에게 치료 유효량의 MPC-0767을 하나 이상의 추가적 API(들)와 함께 투여함으로써 상기 피검자에서 CLL을 치료하는 방법을 제공한다. 구현예에서, 상기 추가적 API(들)는 PD-1/PD-L1 억제제 또는 Bcl-2 경로 억제제이다. 구현예에서, 상기 PD-1/PD-L1 억제제는 AMP-224, AMP-514/MEDI-0680, 아테졸리주맙(MPDL3280A), 아벨루맙(MSB0010718C), BGB-A317, BMS936559, 세미플리맵(REGN2810), 두르발루맙(MEDI-4736), JTX-4014, 니볼루맙(BMS-936558), 팜브롤리주맙(키트루다(Keytruda), MK-3475), 및 SHR-1210 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 Bcl-2 경로 억제제는 ABT-737, AT-101(고시풀), APG-1252, A1155463, A1210477, 나비토클락스, 오바토클락스, 사부토클락스, 베네토클락스, S 55746, 및 WEHI-539로 이루어지는 그룹 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 Bcl-2 경로 억제제는 BCL2, BCLXL, 또는 MCL1의 억제제이다. 구현예에서, 상기 Bcl-2 경로 억제제는 AMG-176, MIK665 및 S641315 중에서 선택된다. 구현예에서, Bcl-2 경로 억제제는 ABT-737, 나비토클락스 및 베네토클락스 중에서 선택된다. 구현예에서, 상기 Bcl-2 경로 억제제는 베네토클락스이다.

b)-소세포 폐암(NSCLC)

[0154] EGFR 및 HER2는 세포 분화, 증식, 이동성(motility) 및 생존을 조절하는 세포 내 신호전달 경로를 개시시키는 막관통 단백질 키나제 수용체이다. 이들 수용체의 이상 활성화(Aberrant activation)는 점 돌연변이, 결실 또는 삽입을 통해 발생하여 상기 이상 경로의 수용체 및 활성화에 의한 구성적 신호전달(constitutive signaling)을 야기시킬 수 있다. 이들 수용체의 이상 활성화는 NSCLC를 포함한 다양한 유형의 암에서의 종양형성(oncogenesis)과 직접적으로 연관된다.

[0155] EGFR 및 HER2 모두는 또한 HSP90의 클라이언트 단백질이다. EGFR 및 HER2는 각각 HSP90 억제제에 의해 치료 시 프로테아솜-의존적인 방식으로 분해되는 것으로 나타났다.

[0156] NSCLC의 약 4 내지 20%는 EGFR ins20 돌연변이임을 특징으로 한다. 이들 돌연변이를 갖는 암은 일반적으로 EGFR-표적화된 요법에 불응성이거나, 또는 EGFR-표적화된 PKI를 포함한 상기와 같은 요법 후에 재발된다.

[0157] 따라서, 본 개시는 HSP90의 약물학적 억제의 이용을 통해, 돌연변이 EGFR 및 HER를 안정화시키는 HSP90에 대한 특정 NSCLC 암의 의존성을 이용하고자 하는 방법을 제공한다. 특히, 상기 방법은 EGFR 및/또는 HER2의 액손 20에 돌연변이를 갖는 NSCLC 종양의 민감성(susceptibility)을 이용한다.

[0158] 구현예에서, 본 개시는 NSCLC의 치료가 필요한 피검자에서 상기 NSCLC의 치료 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 피검자에게 MPC-0767 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 투여함을 포함한다. 구현예에서, 상기 피검자는 NSCLC에 대한 '표준 치료법' 또는 제1선 치료제에 의한 치료에 비-반응성 또는 불응성이거나, 또는 상기 치료

후에 재발된 암을 갖는 피검자이다.

[0159] 구현예에서, 본 개시는 또한 상기에 논의된 바와 같이, MPC-0767 및 하나 이상의 추가적 API에 의한 병용 요법에 기반한 NSCLC의 치료 방법을 제공한다. 구현예에서, 상기 추가적 API(들)는 아파티닙, AP32788, 포지오티닙, 오시메르티닙, 에를로티닙, 제피티닙, 브라가티닙, 다코미티닙, 라파티닙, AP32788, 크리조티닙, 브리가티닙, 세리티닙, 알렉티닙, AP26113, PF-06463922, X-396, RXDX-101, 다브라페닙, 트레메티닙, 닌테다닙, 아베마시클립, ABP 215, 베바시주맙, 라무시루맙, 네시투무맙, 이필리무맙, 데노수맙, 트레멜리무맙, 바비툭시맙, 니불로맙, 아데졸리주맙, 펜브롤리주맙, 아벨루맙, 두르발루맙, 카르보플라틴, 시스플라틴, 도세탁센, 켐시타빈, Nab-페클리탁센, 페클리탁센(탁솔(Taxol)), 페메트렉시드, 비노렐빈(vinorelbine), 에토포시드(etoposide), 알독소루비신(aldoxorubicin), 토포테칸(topotecan), 이리노테칸(irinotecan), 및 상기 중 임의의 조합 중에서 선택된다.

MPC-0767의 치료학적 유효량

[0161] 본원에 기재된 방법의 상황에서, 피검자에게 투여되는 MPC-0767의 양은 치료 유효량이다. "치료학적 유효량(therapeutically effective amount)"이란 용어는 치료되는 질병 또는 질환을 치료하거나, 이의 증상을 개선시키거나, 이의 중증도를 감소시키거나 또는 이의 지속기간을 감소시키기에 충분한 양을 의미하거나, 또는 병용요법의 문맥에서, 상기 치료학적 유효량은 또한 다른 요법 또는 활성 약학 성분의 치료 효과를 개선시킬 수 있는 양을 포함할 수 있다. 본 개시의 문맥에서, 상기 치료 유효량은 여기에 본원에 기재된 바와 같이, 암 치료가 필요한 피검자에서 암을 치료하기에 충분한 양이다.

[0162] 구현예에서, 상기 MPC-0767, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 치료 유효량은 단일 또는 분할 용량으로, 인간 피검자의 전체 체중을 기준으로 하루에 0.01 mg/kg 내지 100 mg/kg의 범위이다. 구현예에서, 상기 범위는 10 내지 1000 mg 또는 50 내지 500 mg으로 매일 1, 2 또는 3회 전달된다.

[0163] 구현예에서, 상기 치료 유효량은 약 10 mg, 약 50 mg, 약 75 mg, 약 100 mg, 약 250 mg, 약 500 mg, 약 750 mg, 또는 약 1000 mg으로 매일 1, 2 또는 3회 전달된다.

[0164] 구현예에서, 상기 치료 유효량은 약 50 mg, 약 75 mg, 약 100 mg, 약 200 mg, 약 300 mg, 약 400 mg, 또는 약 500 mg으로 매일 1, 2 또는 3회 전달된다.

[0165] 구현예에서, 상기 MPC-0767, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 바람직하게는 메실레이트 염의 치료 유효량은 피검자에서 혈장 C_{max} 를 성취하기에 충분한 양이며, 1일 투여 범위는 1,500 ng/ml 내지 30,000 ng/ml, 바람직하게는 6,000 ng/ml 내지 30,000 ng/ml 또는 6,000 ng/ml 내지 15,000 ng/ml이다.

암 치료

[0167] 본원에서, "치료", "치료하는" 또는 "치료하다"는 질병, 상태 또는 질환에 대항할 목적으로 환자를 관리 및 돌봄을 기재하며 질병, 상태 또는 질환의 증상 또는 합병증을 완화시키거나, 또는 상기 질병, 상태 또는 질환을 제거하기 위해 MPC-0767을 투여함을 포함한다.

[0168] MPC-0767에 의한 단독 요법 및 하나 이상의 추가적 API와의 병용 요법을 모두 포함하여, 본원에 기재된 방법 중 어느 일 구현예에서, 상기 MPC-0767 또는 이들의 조합의 투여는 치료되는 암의 증상 또는 합병증을 제거하게 되지만, 암의 제거는 요구되지 않는다. 일 구현예에서, 상기 증상의 중증도가 감소된다. 암의 문맥에서, 상기와 같은 증상은 종양이 성장 인자를 분비하거나, 세포의 기질을 분해시키거나, 혈관형성화되거나(vascularized), 나란히 놓인 조직(juxtaposed tissues)에의 부착을 상실하거나, 전이하는 정도뿐만 아니라 전이(juxtaposed tissues)의 수 및 종양 크기 및/또는 부피의 감소를 포함한 중증도 또는 진행의 임상적 마커(clinical markers)를 포함할 수 있다.

[0169] 본원에 기재된 방법에 따른 암 치료는 종양 크기의 감소를 초래할 수 있다. 종양 크기의 감소를 또한 "종양 회행(tumor regression)"이라 부르기도 한다. 바람직하게, 치료 후의 종양 크기는 치료 전의 종양의 크기에 비해 5% 이상까지 감소되고; 보다 바람직하게는 종양 크기는 10% 이상까지 감소되고; 보다 바람직하게는 20% 이상까지 감소되고; 보다 바람직하게는 30% 이상까지 감소되고; 보다 바람직하게는 40% 이상까지 감소되고; 훨씬 더 바람직하게는 50% 이상까지 감소되고; 및 가장 바람직하게는 75% 이상까지 감소된다. 종양의 크기를 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정할 수 있다. 종양의 크기를 종양의 직경으로 결정할 수 있다.

[0170] 본원에 기재된 방법에 따른 암 치료는 종양 부피의 감소를 초래할 수 있다. 바람직하게, 치료 후에, 종양 부피

는 치료 전의 이의 크기에 비해 5% 이상까지 감소되고; 보다 바람직하게는 종양 부피는 10% 이상까지 감소되고; 보다 바람직하게는 20% 이상까지 감소되고; 보다 바람직하게는 30% 이상까지 감소되고; 보다 바람직하게는 40% 이상까지 감소되고; 훨씬 더 바람직하게는 50% 이상까지 감소되고; 가장 바람직하게는 75% 이상까지 감소된다. 종양 부피를 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정할 수 있다.

[0171] 본원에 기재된 방법에 따른 암 치료는 종양 수의 감소를 초래할 수 있다. 바람직하게, 치료 후의 종양 수는 치료 전의 종양 수에 비해 5% 이상까지 감소되고; 보다 바람직하게는 종양 수는 10% 이상까지 감소되고; 보다 바람직하게는 20% 이상까지 감소되고; 보다 바람직하게는 30% 이상까지 감소되고; 보다 바람직하게는 40% 이상까지 감소되고; 훨씬 더 바람직하게는 50% 이상까지 감소되고; 가장 바람직하게는 75% 이상까지 감소된다. 종양의 수를 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정할 수 있다. 종양의 수를 육안으로 보이거나 명시된 배율로 종양을 카운트함으로써 측정할 수 있다. 바람직하게, 상기 명시된 배율은 2x, 3x, 4x, 5x, 10x, 또는 50x이다. 혈액 암의 경우, 상기 카운트는 혈액 샘플 중 암에 관련된 세포(예; 림프종 또는 백혈병 세포)의 수일 수 있다.

[0172] 본원에 기재된 방법에 따른 암 치료는 원발성 종양 부위(primary tumor site)로부터 떨어진 다른 조직 또는 장기 중 전이성 병변의 수의 감소를 초래할 수 있다. 바람직하게, 치료 후에, 전이성 병변(metastatic lesions)의 수는 치료 전의 수에 비해 5% 이상까지 감소되고; 보다 바람직하게는 전이성 병변의 수는 10% 이상까지 감소되고; 보다 바람직하게는 20% 이상까지 감소되고; 보다 바람직하게는 30% 이상까지 감소되고; 보다 바람직하게는 40% 이상까지 감소되고; 훨씬 더 바람직하게는 50% 이상까지 감소되고; 가장 바람직하게는 75% 이상까지 감소된다. 전이성 병변의 수를 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정할 수 있다. 전이성 병변의 수를 육안으로 보이거나 명시된 배율로 전이성 병변을 카운트함으로써 측정할 수 있다. 바람직하게, 상기 명시된 배율은 2x, 3x, 4x, 5x, 10x, 또는 50x이다.

[0173] 본원에 기재된 방법에 따른 암 치료는 담체만 수용한 집단에 비해 치료된 피검자 집단의 평균 생존 시간의 증가를 초래할 수 있다. 바람직하게, 상기 평균 생존 시간은 30일 초과까지, 보다 바람직하게 60일 초과까지, 보다 바람직하게 90일 초과까지, 및 가장 바람직하게 120일 초과까지 증가된다. 집단의 평균 생존 시간의 증가는 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정할 수 있다. 집단의 평균 생존 시간의 증가는, 예를 들어 하나의 집단에 대해 치료 개시에 이어 평균 생존 길이를 산정함으로써 측정할 수 있다. 집단의 평균 생존 시간의 증가는 또한, 예를 들어 하나의 집단에 대해 첫 번째 라운드의 치료의 종료에 이어 평균 생존 길이를 산정함으로써 측정할 수 있다.

[0174] 본원에 기재된 방법에 따른 암 치료는 치료되지 않은 피검자의 집단에 비해 치료된 피검자 집단의 평균 생존 시간의 증가를 초래할 수 있다. 바람직하게, 상기 평균 생존 시간은 30일 초과까지, 보다 바람직하게 60일 초과까지, 보다 바람직하게 90일 초과까지, 및 가장 바람직하게 120일 초과까지 증가된다. 집단의 평균 생존 시간의 증가는 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정할 수 있다. 집단의 평균 생존 시간의 증가는, 예를 들어 하나의 집단에 대해 치료 개시에 이은 평균 생존 길이를 산정함으로써 측정할 수 있다. 집단의 평균 생존 시간의 증가는 또한, 예를 들어 하나의 집단에 대해 첫 번째 라운드의 치료의 종료에 이어 평균 생존 길이를 산정함으로써 측정할 수 있다.

[0175] 본원에 기재된 방법에 따른 암 치료는 MPC-0767이 아닌 약물에 의한 단독 요법을 수용한 집단에 비해 치료된 피검자 집단의 평균 생존 시간의 증가를 초래할 수 있다. 바람직하게, 상기 평균 생존 시간은 30일 초과까지, 보다 바람직하게 60일 초과까지, 보다 바람직하게 90일 초과까지, 및 가장 바람직하게 120일 초과까지 증가된다. 집단의 평균 생존 시간의 증가는 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정할 수 있다. 집단의 평균 생존 시간의 증가는, 예를 들어 하나의 집단에 대해 치료 개시에 이어 평균 생존 길이를 산정함으로써 측정할 수 있다. 집단의 평균 생존 시간의 증가는 또한, 예를 들어 하나의 집단에 대해 첫 번째 라운드의 치료의 종료에 이어 평균 생존 길이를 산정함으로써 측정할 수 있다.

[0176] 본원에 기재된 방법에 따른 암 치료는 담체만을 수용한 집단에 비해 치료된 피검자 집단의 사망률의 감소를 초래할 수 있다. 본원에 기재된 방법에 따른 질환, 질병 또는 상태의 치료는 치료되지 않은 집단에 비해 치료된 피검자 집단의 사망률의 감소를 초래할 수 있다. 본원에 기재된 방법에 따른 질환, 질병 또는 상태의 치료는 MPC-0767이 아닌 약물에 의한 단독 요법을 수용한 집단에 비해 치료된 피검자 집단의 사망률의 감소를 초래할 수 있다. 바람직하게, 상기 사망률은 2% 초과까지; 보다 바람직하게 5% 초과까지; 보다 바람직하게 10% 초과까지; 및 가장 바람직하게 25% 초과까지 감소된다. 치료된 피검자 집단의 사망률의 감소는 임의의 재현가능한 수단에 의해 측정할 수 있다. 집단의 사망률의 감소는, 예를 들어 하나의 집단에 대해 치료 개시에 이어 단위시간당 평균 질병-관련 사망 수를 산정함으로써 측정할 수 있다. 집단의 사망률의 감소는 또한, 예를 들어 하나의

집단에 대해 첫 번째 라운드의 치료의 종료에 이어 단위시간당 평균 질병-관련 사망 수를 산정함으로써 측정할 수 있다.

[0177] 본원에 기재된 방법에 따른 암 치료는 종양 성장을의 감소를 초래할 수 있다. 바람직하게, 치료 후에, 종양 성장을은 치료 전의 수에 비해 적어도 5%까지 감소되고; 보다 바람직하게 종양 성장을은 적어도 10%까지 감소되고; 보다 바람직하게 적어도 20%까지 감소되고; 보다 바람직하게 적어도 30%까지 감소되고; 보다 바람직하게 적어도 40%까지 감소되고; 보다 바람직하게 적어도 50%까지 감소되고; 훨씬 더 바람직하게 적어도 50%까지 감소되고; 가장 바람직하게 적어도 75%까지 감소된다. 종양 성장을은 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정 할 수 있다. 종양 성장을 단위시간당 종양 직경의 변화에 따라 측정할 수 있다. 일 구현예에서, 치료 후에 종양 성장을은 대략 0일 수 있으며 동일한 크기를 유지하는 것으로 결정된다, 예를 들어 상기 종양은 성장을 멈추었다.

[0178] 본원에 기재된 방법에 따른 암 치료는 종양 재성장(tumor regrowth)의 감소를 초래할 수 있다. 바람직하게, 치료 후에, 종양 재성장은 5% 미만이고; 보다 바람직하게 종양 재성장은 10% 미만; 보다 바람직하게 20% 미만; 보다 바람직하게 30% 미만; 보다 바람직하게 40% 미만; 보다 바람직하게 50% 미만; 훨씬 더 바람직하게 50% 미만; 및 가장 바람직하게 75% 미만이다. 종양 재성장은 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정할 수 있다. 종양 재성장은, 예를 들어 치료에 따른 선행의 종양 수축(tumor shrinkage) 후 종양 직경의 증가를 측정함으로써 측정한다. 종양 재성장의 감소는 치료의 종료 후 종양이 재발(reoccur)하지 못함을 나타낸다.

약학 조성물 및 제형

[0180] 본 개시는 일정량의 MPC-0767 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 바람직하게는 메실레이트 염을 단독으로 또는 추가적 API와 함께 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 본원에 기재된 구현예 중 어느 하나에 따라, 상기 약학 조성물은 경구, 구강, 또는 비경구 투여에 적합할 수 있다. 구현예에서, 상기 약학 조성물은 예를 들어 흡입에 의한 폐 투여(pulmonary administration)에 적합할 수 있다. 구현예에서, 상기 약학 조성물은 경구 투여에 적합하다. 구현예에서, 상기 약학 조성물은 비경구 투여에 적합하다.

[0181] 구현예에서, 상기 MPC-0767 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 바람직하게는 메실레이트 염을 단위 투여형으로 적어도 하나의 추가적 API와 병용한다. 구현예에서, 상기 적어도 하나의 추가적 API는 병용 요법을 이용하는 치료 방법과 관련하여 상기에 기재된 작용제(agent) 중에서 선택된다.

[0182] "약학 조성물"은 피검자에게 투여하기에 적합한 약학적으로 허용가능한 형태로 본원에 기재된 화합물을 포함하는 제형이다. 본원에서, "약학적으로 허용가능한"이란 용어는 건전한 의학적 판단의 범위 내에서 과도한 독성, 자극, 알러지 반응, 또는 다른 문제 또는 합병증 없이 인간 및 동물의 조직과 접촉하여 이용하기에 적합한, 합리적인 이익/위험 비에 상응하는 화합물, 물질, 조성물, 담체 및/또는 투여형을 의미한다.

[0183] "약학적으로 허용가능한 부형제"는 일반적으로 안전하고, 무독성이며 생물학적으로나 달리 바람직하지 않지 않은 약학 조성물의 제조에 유용한 부형제를 의미하며 수의학적 용도뿐만 아니라 인간의 약학적 용도에도 허용가능한 부형제를 포함한다. 약학적으로 허용가능한 부형제의 예는 비제한적으로 멜균 액체, 물, 완충된 염수, 에탄올, 폴리올(예; 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 오일, 세제, 혼탁제, 탄수화물(예; 글루코스, 락토스, 수크로스 또는 엑스트란), 산화방지제(예; 아스코르브산 또는 글루타치온), 퀼레이트제, 저분자량 단백질, 또는 이들의 적합한 혼합물을 포함한다.

[0184] 약학 조성물은 별크 또는 단위 투여형으로 제공할 수 있다. 약학 조성물은 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 단위 투여형으로 제형화하는 것이 특히 유리하다. 본원에서, "단위 투여형"이란 용어는 치료하고자 하는 피검자에게 단위 투여량으로서 적합한 물리적으로 별개의 단위를 지칭하며; 각각의 단위는 필요한 약학 담체와 함께 목적하는 치료학적 효과를 가져오는 것으로 산정된 소정량의 활성 화합물을 포함한다. 본 개시의 단위 투여형에 대한 명세서는 활성 화합물 특유의 특성 및 성취하고자 하는 특정한 치료학적 효과에 의해 지시되어 상기에 직접적으로 의존한다. 단위 투여형은 앰플, 바이알, 좌약, 당의정(dragee), 정제, 캡슐, IV 주머니(IV bag), 또는 에어로졸 흡입기(aerosol inhaler) 상의 단일 펌프일 수 있다.

[0185] 치료학적 용도에서, 투여량은 선택된 투여량에 영향을 미치는 다른 인자들 중에서도, 작용제(agent), 수용 환자의 연령, 체중 및 임상적 상태, 및 치료법을 투여하는 임상의 또는 의사의 경험 및 판단에 따라 변한다. 일반적으로, 상기 용량은 치료학적 유효량이어야 한다. 투여량은 mg/kg/일의 측정 단위로 제공될 수 있다(상기 용량은 환자의 체중 (kg), 체표면적 (m^2), 및 연령(세)에 따라 조절될 수 있다). 약학 조성물의 유효량은 임상의 또는 다른 유자격 관찰자에 의해 보고되는 바와 같은 객관적으로 식별 가능한 개선을 제공하는 것이다(예; 질환, 질

병 또는 상태의 증상의 완화). 본원에서, "유효 방식 투여량(dosage effective manner)"이란 용어는 피검자 또는 세포에 목적하는 생물학적 효과를 가져오는 약학 조성물의 양을 의미한다.

[0186] 예를 들어 상기 단위 투여형은 1 나노그램 내지 2 밀리그램, 또는 0.1 밀리그램 내지 2 그램; 또는 10 밀리그램 내지 1 그램, 또는 50 밀리그램 내지 500 밀리그램 또는 1 마이크로그램 내지 20 밀리그램, 또는 1 마이크로그램 내지 10 밀리그램, 또는 0.1 밀리그램 내지 2 밀리그램을 포함할 수 있다.

[0187] 상기 약학 조성물은 임의의 목적하는 경로(예; 폐, 흡입, 비내, 경구, 구강, 설하, 비경구, 피하, 정맥내, 근육내, 복강내, 흉막내, 척추강내, 경피, 경점막, 직장 등)에 의한 투여에 적합한 임의의 형태(예; 액체, 에어로졸, 용액, 흡입제, 미스트(mists), 스프레이; 또는 고체, 분말, 연고, 페이스트, 크림, 로션, 젤, 패치 등)를 취할 수 있다. 예를 들어 본 개시의 약학 조성물은 흡입(inhalation) 또는 흡취(insufflation; 입 또는 코를 통한 것)에 의한 에어로졸 투여를 위한 수용액 또는 분말의 형태, 경구 투여를 위한 정제 또는 캡슐의 형태; 직접 주사에 의한 또는 정맥내 주입용 멸균 주입액(sterile infusion fluids)으로의 첨가에 의한 투여에 적합한 멸균 수용액 또는 분산액의 형태; 또는 경피 또는 경점막 투여를 위한 로션, 크림, 품, 패치, 혼탁액, 용액 또는 좌약의 형태일 수 있다.

[0188] 약학 조성물은 경구로 허용가능한 투여형, 예를 들어 비제한적으로 캡슐, 정제, 구강정, 트로키제(troches), 로젠지(lozenges), 및 유화액, 수성 혼탁액, 분산액 또는 용액 형태의 경구 액체의 형태일 수 있다. 캡슐은 본 개시의 화합물과, 불활성 충전제 및/또는 희석제, 예를 들어 약학적으로 허용가능한 전분(예; 옥수수, 감자 또는 타피오카 전분), 당, 인공 감미제, 분말화된 셀룰로스, 예를 들어 결정질 및 미정질 셀룰로스, 밀가루, 젤라틴, 검 등과의 혼합물을 포함할 수 있다. 경구용 정제의 경우에, 통상적으로 이용되는 담체는 락토스 및 옥수수 전분을 포함한다. 윤활제(예; 마그네슘 스테아레이트)를 또한 첨가할 수 있다. 캡슐 형태의 경구 투여를 위하여, 유용한 희석제로서는 락토스 및 건조된 옥수수 전분을 포함한다. 수성 혼탁액 및/또는 유화액을 경구로 투여하는 경우, 본 개시의 화합물을 유화제 및/또는 혼탁제와 함께 오일 상에 혼탁시키거나 용해시킬 수 있다. 경우에 따라, 특정 감미제 및/또는 풍미제 및/또는 착색제를 첨가할 수도 있다.

[0189] 약학 조성물은 정제의 형태일 수 있다. 상기 정제는 불활성 희석제 또는 담체, 예를 들어 당 또는 당 알콜, 예를 들어 락토스, 수크로스, 솔비톨 또는 만니톨과 함께 본 개시의 화합물의 단위 투여형을 포함할 수 있다. 상기 정제는 비-당 유래된 희석제(예; 나트륨 카보네이트, 칼슘 포스페이트, 칼슘 카보네이트) 또는 셀룰로스 또는 이의 유도체(예; 메틸 셀룰로스, 에틸 셀룰로스, 하이드록시프로필 메틸 셀룰로스), 및 전분(예; 옥수수 전분)을 추가로 포함할 수 있다. 상기 정제는 결합제 및 과립화제(예; 폴리비닐파롤리돈), 붕해제(예; 팽창성 가교결합된 고분자(예; 가교결합된 카복시메틸셀룰로스)), 윤활제(예; 스테아레이트), 보존제(예; 파라벤), 산화방지제(예; BHT), 완충제(예; 포스페이트 또는 시트레이트 완충제), 및 발포제(예; 시트레이트/비카보네이트 혼합물)을 추가로 포함할 수 있다.

[0190] 상기 정제는 코팅된 정제일 수 있다. 상기 코팅제는 보호 필름 코팅제(예; 왁스 또는 바니시) 또는 활성 성분(active agent)의 방출을 조절하도록 설계된 코팅제, 예를 들어 지연된 방출(첨취에 이은 소정의 지체 시간 후의 활성 성분의 방출) 또는 위장관 중 특정 위치에서의 방출을 위한 코팅제일 수 있다. 후자는 예를 들어 상표명 유드라지트(Eudragit[®])로 판매되는 코팅제와 같은 장용 필름 코팅제를 이용하여 성취할 수 있다.

[0191] 정제 제형을 통상적인 압착, 습식 과립화 또는 건식 과립화 방법에 의해 제조할 수 있으며 상기 제형은 약학적으로 허용가능한 희석제, 결합제, 윤활제, 붕해제, 표면 개질제(계면활성제 포함), 혼탁 또는 안정화제, 예를 들어 비제한적으로 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산, 탈크, 소듐 라우릴 설페이트, 미정질 셀룰로스, 카복시메틸셀룰로스 칼슘, 폴리비닐파롤리돈, 젤라틴, 알긴산, 아카시아검, 잔탄검, 소듐 시트레이트, 복합 실리케이트, 칼슘 카보네이트, 글리신, 엑스트린, 수크로스, 솔비톨, 인산 2칼슘(dicalcium phosphate), 칼슘 설페이트, 락토스, 카올린, 만니톨, 염화 나트륨, 탈크, 건조 전분 및 분말화된 당을 이용한다. 바람직한 표면 개질제로서는 비이온성 및 음이온성 표면 개질제를 포함한다. 표면 개질제의 대표적인 예는 비제한적으로 폴록사미 188, 벤즈알코늄 클로라이드, 칼슘 스테아레이트, 세토스테아릴 알콜, 세토마크로골 유화 왁스(cetomacrogol emulsifying wax), 솔비탄 에스테르, 콜로이드성 이산화 규소, 포스페이트, 나트륨 도데실설페이트, 마그네슘 알루미늄 실리케이트 및 트리에탄올아민을 포함한다.

[0192] 약학 조성물은 경질 또는 연질 젤라틴 캡슐의 형태일 수 있다. 상기 제형에 따라, 본 개시의 화합물은 고체, 반-고체, 또는 액체 형태일 수 있다.

[0193] 약학 조성물은 비경구 투여에 적합한 멸균 수용액 또는 분산액의 형태일 수 있다. 본원에서, 용어 비경구란 피

하(subcutaneous), 피내(intracutaneous), 정맥내(intravenous), 근육내(intramuscular), 관절내(intra-articular), 동맥내(intra-articular), 활막내(intrasynovial), 흉골내(intrasternal), 척추강내(intrathecal), 병변내 주사(intralesional) 및 두개내 주사(intracranial injection) 또는 주입(infusion) 기법을 포함한다.

[0194] 약학 조성물은 직접 주사 또는 정맥내 주입용 멸균 주입액으로의 첨가에 의한 투여에 적합한 멸균 수용액 또는 분산액의 형태일 수 있으며 물, 에탄올, 폴리올(예; 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜), 이들의 적합한 혼합물, 또는 하나 이상의 식물성 오일을 포함하는 용매 또는 분산 매질을 포함한다. 유리 염기(free base) 또는 약물학적으로 허용가능한 염으로서 본 개시의 화합물의 용액 또는 혼탁액을 계면활성제와 적합하게 혼합된 수(water) 중에서 제조할 수 있다. 적합한 계면활성제의 예를 하기에 제시한다. 분산액은 또한, 예를 들어 글리세롤, 액체 폴리에틸렌 글리콜 및 오일 중 이들의 혼합물 중에서 제조할 수 있다.

[0195] 본 개시의 방법에 이용하기 위한 약학 조성물은 상기 제형 중에 존재하는 임의의 담체 또는 희석제(예; 락토스 또는 만니톨) 외에 하나 이상의 첨가제를 추가로 포함할 수 있다. 상기 하나 이상의 첨가제는 하나 이상의 계면활성제를 포함하거나 또는 이들로 이루어질 수 있다. 계면활성제는 전형적으로 상기를 약물 침투 및 흡수의 증대를 위해 세포의 지질 구조에 직접 삽입될 수 있게 하는 하나 이상의 장쇄 지방족, 예를 들어 지방산을 가질 수 있다. 계면활성제의 상대적인 친수성 및 소수성을 특성화하는데 통상적으로 이용되는 실험적 매개변수는 친수성-친지성 균형(hydrophilic-lipophilic balance; "HLB" 값)이다. 보다 낮은 HLB 값을 갖는 계면활성제는 보다 소수성이고, 오일에 보다 큰 용해도를 갖는 반면, 보다 높은 HLB 값을 갖는 계면활성제는 보다 친수성이고, 수용액에 보다 큰 용해도를 갖는다. 따라서, 친수성 계면활성제는 일반적으로 약 10 초과의 HLB 값을 갖는 화합물로 간주되고, 소수성 계면활성제는 일반적으로 약 10 미만의 HLB 값을 갖는 것이다. 그러나, 이들 HLB 값은, 많은 계면활성제에 대해서 상기 HLB 값이 상기 HLB 값의 결정을 위해 선택된 실험 방법에 따라 약 8 HLB 단위 만큼이나 큰 차이가 있을 수 있기 때문에 단지 가이드(guide)로 제시될 뿐이다.

[0196] 본 개시의 조성물에 이용하기 위한 계면활성제로서, 폴리에틸렌 글리콜(PEG)-지방산 및 PEG-지방산 모노 및 디 에스테르, PEG 글리세롤 에스테르, 알콜-오일 트랜스에스테르화 생성물, 폴리글리세릴 지방산, 프로필렌 글리콜 지방산 에스테르, 스테롤 및 스테롤 유도체, 폴리에틸렌 글리콜 솔비탄 지방산 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 알킬 에테르, 당 및 이의 유도체, 폴리에틸렌 글리콜 알킬 페놀, 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌(POE-POP) 블록 공중합체, 솔비탄 지방산 에스테르, 이온성 계면활성제, 지용성 비타민 및 이들의 염, 수용성 비타민 및 이들의 양친성 유도체, 아미노산 및 이들의 염, 및 유기산 및 이들의 에스테르 및 무수물을 들 수 있다.

[0197] 본 개시는 또한 본 개시의 방법에 이용하기 위한 약학 조성물을 포함하는 패키징 및 키트를 제공한다. 상기 키트는 병, 바이알, 앰플, 블리스터 팩(blister pack), 및 주사기로 이루어지는 그룹 중에서 선택된 하나 이상의 용기를 포함할 수 있다. 상기 키트는 본 개시의 질병, 상태 또는 질환의 치료 및/또는 예방에 이용하기 위한 하나 이상의 설명서, 하나 이상의 주사기, 하나 이상의 적용 도구(applicator), 또는 본 개시의 약학 조성물을 재구성(reconstituting)하기에 적합한 멸균 용액을 추가로 포함할 수 있다.

[0198] 본원에 이용되는 모든 백분율 및 비는 달리 나타내지 않는 한, 종량 기준이다. 본 개시의 다른 특징 및 장점은 상이한 실시예들로부터 자명하다. 제시되는 실시예들은 본 개시의 실시에 유용한 상이한 성분 및 방법들을 예시한다. 이들 실시예는 청구된 개시를 제한하지 않는다. 본 개시를 기본으로, 당업자는 본 개시의 실시에 유용한 다른 성분 및 방법을 식별하고 이용할 수 있다.

0199] 실시예

[0200] 하기에 기재되는 실시예에 나타낸 바와 같이, MPC-0767에 의한 AML 세포 또는 폐암 세포의 치료는 감소된 세포 생존력(cell viability) 및 핵심적인 종양원성 수용체의 탈안정화(destabilization)를 유도한다. MPC-0767은 시험관내 및 마우스 이종이식 모델 모두에서, 활성화 돌연변이를 갖지 않는 세포에 비해, FLT3에서 활성화 돌연변이를 발현하는 AML 세포주 및 1차 세포에 대해 우선적인 세포독성을 나타낸다. 또한, 하기의 실험은 기질 세포로부터의 순화 배지(conditioned media)와 함께 배양된 AML 세포는 다양한 FLT3 억제제에 내성을 갖게 되는 반면, MPC-0767에는 여전히 민감성 상태를 유지한다. 약물 내성의 발생(development)은 일반적으로 단백질 키나제 억제제 요법, 및 특히 FLT3 억제제 요법의 중요한 제한(critical limitation)이기 때문에, MPC-0767에 대한 내성 AML 세포의 민감성은 MPC-0767이 AML의 치료에 있어서 흥미로운 새로운 옵션임을 나타낸다. 본원에 제공된 데이터는 HSP90 억제제(예; MPC-0767)가 FLT3에서 활성 돌연변이를 갖는 AML 환자에서 임상적 효능을 가질 수 있음을 보여준다. 더욱이, FLT3 자체 내의 2차 돌연변이나 또는 상이한 신호전달 경로(들)의 활성화로 인해 FLT3 억제제에 내성을 갖는 AML 세포에서, MPC-0767은 세포독성 활성을 유지한다. 이는 HSP90 억제제(예; MPC-

0767)가 FLT3 억제제에 의한 치료 후 재발되거나 FLT3 억제제에 불응성인 AML 환자에서 임상적인 효능을 가질 수 있음을 나타낸다. MPC-0767은 또한 이미 확립되었거나, 또는 여전히 AML 치료에 대해 연구 중인 요법들과 상승작용을 보인다. MPC-0767은 또한 시험관 내에서 다수의 세포주에 걸쳐 베네토클락스와 놀라운 고도의 상승작용 활성 및 FLT3-ITD AML 세포를 이용하는 전신 생존 이종이식 연구에서 강력한 조합 활성(combinatorial activity)을 보였다. 종합해보면, 이를 결과는 MPC-0767을 단독 요법으로서 이용 및 다른 API와 병용하여 이용시, AML 및 기타 암의 치료에 매력적인 신규 요법임을 뒷받침한다.

[0201] **실시예 1: MPC-0767은 EGFR 및 HER2에 돌연변이를 갖는 NSCLC 세포주에서 세포 생존력을 억제한다**

[0202] NSCLC 세포주 HCC-827(EGFR L858R), H1975(EGFR L858R/T790M) PC-9(EGFR Del E746_A750) 및 H1781(HER2 G7776insV G/C)을 3일 동안 98 - 50000 nM의 농도 범위의 MPC-0767로 처리하고, 이후, 세포 생존력을 셀타이터-글로[®] 시약을 이용하여 결정하였다. 도 1은 HCC-827(도 1A), H1975(도 1B), PC-9(도 1C) 및 H1781(도 1D) 세포주의 용량-반응 곡선을 도시한다. 모든 EC₅₀ 값이 임상적으로 성취될 수 있는 농도범위 내에 있었다.

[0203] 세포 생존력의 상실 기전을 확인하기 위하여, H1975 세포를 72시간 동안 MPC-0767(0.7 μM)로 처리하였다. 이후, 세포를 각각 세포막 완전성(integrity) 및 세포사멸(apoptosis)의 마커인 7-아미노-액티노마이신 D(7-AAD) 및 아넥신 V로 염색하였다. 도 2에 도시된 바와 같이, H1975를 MPC-0767(0.7 μM)로 처리한 결과, 생존성(viable) 세포(7-AAD 음성 및 아넥신 V 음성) 백분율의 감소, 및 세포사(cell death), 구체적으로 사멸(오직 7-ADD만 양성), 조기 세포사멸(오직 아넥신 V만 양성), 또는 말기 세포사멸/괴사(7-ADD 및 아넥신 V 양성)의 마커를 나타내는 세포 백분율의 증가를 나타내었다.

[0204] 도 3은 MPC-0767(1 μM)으로 24시간 동안 처리 시 H1975(A) 및 PC-9(B) 세포의 세포 표면상의 돌연변이 EGFR가 감소되었음을 도시한다. 이러한 발견은 MPC-0767이 폐암 세포주에서 EGFR를 표적화하고 분해시킴을 입증한다.

[0205] MPC-0767이 또한 EGFR 엑손20ins 돌연변이체의 분해를 촉진할 수 있는지의 여부를 결정하기 위하여, BaF3 쥐 세포주를 이용하였다((Warmuth *et al.*, Curr Opin Oncol., 200719: 55-60). 상기 세포주는 생존/성장에 대해서 외인성 IL-3에 의존성이나 종양유전자의 도입 시, 상기 세포는 더 이상 외인성 IL-3에 의존하지 않고, 대신에 상기 세포의 생존이 상기 도입된 종양유전자에 의해 주도된다. 따라서, 상기 도입된 종양유전자를 표적화하는 약물은 BaF3 세포 생존력을 감소시키게 되고, 이는 임상에서 발생하는 관련된 종양원성(oncogenic) 돌연변이에 대해 소분자를 선별하는 기전을 제공할 수 있게 된다.

[0206] EGFR 야생형(WT) 또는 EGFR 엑손20 V769_D770insASV 돌연변이체를 갖는 BaF3 세포를 증가하는 농도의 MPC-0767로 24시간 동안 처리하였다. 이후, 세포 표면 EGFR 발현 평가를 위한 유세포 분석을 위해 세포를 수확하였다(검출용 항체는 WT 및 돌연변이 단백질을 모두 인식하였다). 도 4A에 도시된 바와 같이, MPC-0767은 EGFR WT를 감소시킬 수 있었으나(EC₅₀ = 1 μM), EGFR 엑손20 V769_D770insASV 돌연변이체에 대해서 더 큰 효능을 나타내었다(EC₅₀ = 0.2 μM). 발명자들은 상기 발견이 EGFR 돌연변이체를 발현하는 BaF3 세포의 생존 감소를 의미하는지(translated)의 여부를 추가로 시험하였다. 모(Parental) BaF3 세포(돌연변이체 없음) 또는 EGFR 엑손20 V769_D770insASV를 갖는 세포를 증가하는 농도의 MPC-0767로 72시간 동안 처리하고, 이후, 세포 생존력을 셀타이터-글로[®]를 이용하여 결정하였다. 도 4B는 EGFR 엑손20 V769_D770insASV 돌연변이체를 갖는 BaF3 세포가 모세포보다 MPC-0767에 약 3배 더 민감하므로, HSP90에 더 의존적임을 도시한다(모(Parental) EC₅₀ = 753 nM, EGFR 엑손20 V769_D770insASV 돌연변이체 EC₅₀ = 236 nM).

[0207] 종합적으로, 상기 데이터는 MPC-0767이, 핵심적인 종양원성 주도자(key oncogenic drivers)의 분해를 통해, EGFR 또는 HER2의 이상 활성화(aberrant activation)에 의해 주도된 NSCLC에 대

[0208] 효능이 있음을 암시한다. 더욱이, 돌연변이 단백질들이 HSP90에 대한 의존성이 증가된 점을 고려하면, MPC-0767은 돌연변이 EGFR에 더 활성을 가지며, 따라서 증가된 분해성 및 항-종양 활성을 야기한다.

[0209] **실시예 2: MPC-0767은 FLT3-ITD를 갖는 AML 세포에서 강력한 항-백혈병 활성을 나타낸다**

[0210] 기하급수적으로 성장하는 세포주를 웰당 90 μl의 최종 부피의 96-웰 편평바닥 투명 폴리스티렌 미세적정 플레이트에서 카운트한 후 분주하였다. 1차 AML 샘플에서, 세포를 384 웰 플레이트에 웰당 27 μl의 최종 부피로 2 x 10⁴ 세포 밀도로 분주하였다. 세포주 또는 1차 샘플을 처리하기 위하여 각각 10 μl 또는 3 μl의 10X 농도의 MPC-0767을 10000 nM, 5000 nM, 2500 nM, 1250 nM, 625 nM, 313 nM, 156 nM, 78 nM, 39 및 20 nM의 최종 농도

로 상기 세포에 첨가하였다. 비교를 위하여, 세포를 FLT3 억제제 길테리티닙(100 nM, 50 nM, 25 nM, 12.5 nM, 6.3 nM, 3.1 nM, 1.6 nM, 0.8 nM, 0.4 및 0.2 nM)으로 처리하였다. 세포를 분주 후 중복 처리하였다. 3일간 배양 후, 각 웰에 첨가하여(96 웰 플레이트의 경우 100 μ l, 또는 384 웰 플레이트의 경우 30 μ l) 셀타이터-글로[®] 분석 시스템을 이용하여 세포 내 ATP 수준을 측정함으로써 세포 생존력을 결정하였다. 플레이트 판독기를 이용하여 빛광을 검출하였다.

[0211] 세포 생존력에 대한 약물의 효과를, 시험 화합물에 노출된 세포의 ATP 수준(초당 빛광수(luminescence counts per second))을 비히클(DMSO) 단독에 노출된 세포의 ATP 수준과 비교함으로써 산출하였다. 각 세포주의 최대-절반 유효 농도(half-maximal effective concentration; EC₅₀)를 R DRC 패키지(R Core Team, 2017)를 이용하여 결정하였다. 즉, 용량-반응 곡선을 (Eq-1)에 따라 4-모수 로지스틱 회귀 모델(four-parameter logistic regression model; LL.4)과 정합시키고(fitted) 절대 EC₅₀을 0.95의 신뢰도 구간을 이용하여 추정하였다.

[0212] 도 5A는 야생형(WT) FMS-유사 티로신 키나제 3(FLT3) 단백질을 발현하는 세포주(ME1)로부터의 대표적인 용량-반응 곡선을 도시하는 반면, 도 5B는 FLT3 내부 탠덤 중복(FLT3 ITD)을 갖는 세포주(MV-4-11)로부터의 대표적인 용량-반응 곡선을 도시한다. MPC-0767이 FLT3 WT보다 FLT3-ITD를 갖는 AML 세포에서 더 큰 효능을 갖는지의 여부를 추가로 예시하기 위하여, 세포주(n=10) 및 1차 샘플(n=9)로부터 유래된 MPC-0767의 항-백혈병 활성(EC₅₀ 값)을 분석하였다. 도 5C는 기하 평균 EC₅₀ 값이 576 nM인 FLT3-ITD 세포(n=8)에 비해 기하 평균 EC₅₀ 값이 1525 nM인 FLT3 WT 세포(n=11)를 나타내는 상기 분석 결과를 도시한다. 이들 데이터는 MPC-0767이 FLT3-ITD를 갖는 AML 세포 및 WT FLT3를 갖는 AML 세포의 부분집합(subset)에 대해 증가된 활성을 나타낸다.

실시예 3: MPC-0767은 FLT3-ITD를 갖는 1차 AML 세포에서 세포독성을 가진다

[0214] MPC-0767의 항-백혈병 효과가 세포사의 유도에 기인하는지의 여부를 시험하기 위하여, 4개의 1차 AML 샘플(모두 FLT3-ITD를 갖는다)을 증가하는 농도의 MPC-0767로 72시간 동안 처리하였다. 이어서 샘플을 애넥신 V 및 7AAD에 대해 양성인 세포의 유세포 분석에 의한 정량분석을 위해 처리하였다. 이들 마커는 세포사의 검출을 허용하며, 구체적으로 사멸(오직 7-ADD만 양성), 조기 세포사멸(오직 아넥신 V만 양성), 또는 말기 세포사멸/피사(7-ADD 및 아넥신 V 양성) 집단을 합하여 세포사의 편도를 제공하였다.

[0215] 도 6에 도시된 바와 같이, MPC-0767로 처리한 1차 AML 샘플은 용량-의존적인 세포사의 증가를 나타낸다. 주목할 사항으로서, 상기 샘플 중 하나(Y1265)는 길테리티닙 처리 후 재발된(relapsed on gilteritinib) 환자로부터 수득되었다.

[0216] 이들 발견은 MPC-0767이 FLT3-ITD를 갖는 1차 AML 샘플에서, 세포사멸의 유도를 통해, 세포사를 유도함을 입증한다. 더욱이, MPC-0767은 환자의 종양이 길테리티닙 치료 후 재발된 경우에 활성을 나타낸다.

실시예 4: MPC-0767은 생체 내에서 효능을 나타낸다

[0218] MPC-0767의 생체 내 효능을 입증하기 위하여, 상기 MV-4-11 세포주를 이용하여 이종이식 연구를 수행하였다. 각각의 마우스에 우측 염구리에서 0.1 ml PBS/매트리겔(1:1) 중의 5 x 10⁶ 종양 세포를 피하 접종하였다. 평균 종양 부피가 91 mm³ 크기에 도달했을 때, 마우스를 10마리씩 2개의 그룹으로 무작위 분류하였다. 이어서 마우스에 비히클 또는 200 mg/kg QD x 2일에 이어서 150 mg/kg QD x 15일로 감소된 용량의 MPC-0767을 경구 투여하였다. 종양 측정(캘리퍼스)은 표시된 날들에 수행하였다. 도 7에 도시된 바와 같이, MPC-0767은 84%의 종양 퇴행을 유도한 반면(도 7A), 5/10 동물에서, 체중에는 크게 영향을 미치지 않으면서 완전한 종양 퇴행을 유도하였다(도 7B). 스튜던트 t-검정을 이용하여 이를 그룹간 차이의 통계학적 유의수준을 평가하였다 (P<0.0001).

[0219] 상기 데이터는 MPC-0767이 생체 내에서 강력한 항-종양 활성을 나타낸다.

실시예 5: MPC-0767은 FLT3 억제제(미도스타우린) 내성 세포주에서 효능을 나타낸다

[0221] 임상에서, FLT3를 표적화하는 티로신 키나제 억제제는 초기에 양성 반응을 나타내지만, 환자들은, 상기에 논의된 바와 같이, 필연적으로 다양한 기전을 통해 약물-내성의 발생으로 인해 재발을 나타낸다. MPC-0767이 상기 약물 내성의 맥락에서 효력의 유무를 다루기 위하여, 발명자들은 앞서 기재된 바와 같이(Weisberg et al., PLoS One, 2011), 미도스타우린으로 계속 처리한 세포주(MOLM-13)를 이용하여, MOLM-13-R-PKC412라 표시되는 미도스타우린-내성 세포주를 생성시켰다. 대조용 플라스미드로 형질감염된 모(Parental) MOLM-13 세포(MOLM-13-LUC) 및 MOLM-13-R-PKC412 세포를 72시간 동안 미도스타우린(2 - 100 nM)(내성의 확인에 이용됨), 크레놀라닙(0.2 -

100 nM)(또 다른 FLT3 억제제), 또는 MPC-0767(20 - 10000 nM)로 처리하였다. 세포 생존력을 셀타이터-글로[®]를 이용하여 평가하였고, 미도스타우린, 크레놀라닙 및 MPC-0767에 대한 EC₅₀ 값은, 식 1을 이용하여(상기와 동일), 100%로 설정된 비히클(DMSO) 존재 하에서의 생존력에 대하여, 변하는 농도의 약물 존재 하에서의 세포 생존력을 비교함으로써 결정하였다. 도 8A에 도시된 바와 같이, 미도스타우린-내성 세포는 대조용 세포주에 비해 미도스타우린에 대한 내성의 증가를 나타내었다(~2.5 배: MOLM-13-LUC EC₅₀ = 44 nM 대(vs) MOLM-13-R-PKC412 EC₅₀ = 112 nM). 더욱이, 도 8B에 도시된 바와 같이, 미도스타우린-내성 세포는 또한 또 다른 FLT3 억제제인 크레놀라닙에 대해 교차 내성(cross resistance)을 나타내었다(약 3배: MOLM-13-LUC EC₅₀ = 9 nM 대(vs) MOLM-13-R-PKC412 EC₅₀ = 25 nM). 반면에, 도 8C에 도시된 바와 같이, 대조용 세포와 미도스타우린-내성 세포간의 MPC-0767의 EC₅₀ 값은 1.5배 미만이었다(MOLM-13-LUC EC₅₀ = 496 nM 대(vs) MOLM-13-R-PKC412 EC₅₀ = 727 nM).

[0222] 종합해보면, 이들 데이터는 MPC-0767이 FLT3 억제제에 내성을 획득한 세포에서 항-백혈병 활성을 유지함을 입증한다.

실시예 6: MPC-0767은 FLT3 억제제에 대한 내성을 부여하는 조건 하에서 효능을 나타낸다

[0223] MPC-0767이 다른 기전(비-돌연변이성), 예를 들어 기질-유도된 신호전달을 통해 내성을 획득한 AML 세포에 대해 효능을 나타내는지를 결정하기 위하여, MOLM-14 세포주(FLT3-ITD 포함)를 정규 배지(RPMI; 비-기질성) 또는 HS-5 세포주 순화 배지에 분주하였다. HS-5는 조혈 전구세포 성장을 지원하기에 충분한 다양한 성장인자를 분비하는 인간 골수 기질 세포주이며(Roecklein *et al.*, Blood, 1995), 따라서 기질 조건을 모방한다. 이어서 세포를 72시간 동안 FLT3 억제제인 길테리티닙(0.2 - 100 nM) 또는 크레놀라닙(0.2 - 100 nM) 또는 MPC-0767(20 - 10000 nM)로 처리하였다. 세포 생존력을 셀타이터-글로[®]를 이용하여 평가하였고, 비-기질 배지 또는 기질 순화 배지에서의 길테리티닙, 크레놀라닙 및 MPC-0767에 대한 EC₅₀ 값은, 식 1을 이용하여(상기와 동일), 100%로 설정된 비히클(DMSO) 존재 하에서의 생존력에 대하여, 변하는 농도의 약물 존재 하에서의 세포 생존력을 비교함으로써 결정하였다.

[0225] 도 9A에 도시된 바와 같이, MOLM-14 세포는 비-기질 배지에 비해 기질 배지에서 배양 시 FLT3 억제제인 길테리티닙(도 9A) 및 크레놀라닙(도 9B)에 대해 내성을 나타내었다(길테리티닙: 기질 배지 EC₅₀ > 100 nM 대 비-기질 배지 EC₅₀ = 6 nM. 크레놀라닙: 기질 배지 EC₅₀ > 100 nM 대 비-기질 배지 EC₅₀ = 3 nM). 반면에, 도 9C에 도시된 바와 같이, MPC-0767은 기질 및 비-기질 두 조건 하 모두에서 항-증식 활성을 유지하였다(기질 배지 EC₅₀ = 627 nM 대 비-기질 배지 EC₅₀ = 423 nM).

[0226] 이들 데이터는 AML FLT3-ITD 세포가 FLT3 억제제를 무효로 만드는 기질 조건하에서 배양 시 MPC-0767에 대한 민감도를 유지함을 입증한다.

실시예 7: MPC-0767은 AML 세포주에서 FLT3-ITD를 분해시킨다

[0228] MPC-0767이 FLT3-ITD의 분해를 촉진하고 하류의 신호전달을 제거할 수 있는지의 여부를 결정하기 위하여, MV-4-11 및 MOLM-13 세포를 24시간 동안 비히클 또는 MPC-0767(1 μM)로 처리하였다. 세포를 세포 표면 FLT3 단백질 풍부성의 평가를 위한 유세포 분석을 수행하기 위해 수확하였다. 또한, S6의 핵심적인 인산화 부위(포스포-S6)의 측정을 종양원성 FLT3-ITD 신호전달에 대한 마커로서 이용하였다(Zimmerman *et al.*, Blood. 2013 122(22): 3607-3615). 실제로, MPC-0767로 처리한 MV-4-11 및 MOLM-13 세포 모두에서 세포 표면 FLT3의 >65% 감소(각각 도 10A 및 10B) 및 포스포-S6의 >70% 감소(각각 도 10C 및 10D)를 나타내었다.

[0229] 이들 발견은 MPC-0767이 FLT3-ITD를 분해시키고, 이는 궁극적으로, 감소된 포스포-S6 신호에 의해 입증되는 바와 같이 종양원성 신호전달을 약화시킴을 입증한다.

실시예 8: MPC-070은 FLT3 돌연변이체의 분해를 유도한다

[0231] 발명자들은 이어서 MPC-0767이 FLT3 억제제에 대한 내성을 부여하는 것으로 보고된 다른 FLT3 돌연변이체의 분해도 촉진시킬 수 있는지의 여부를 결정하고자 하였다. 이를 위하여, 발명자들은 다시 하기의 FLT3 돌연변이체로 형질감염된 BaF3 쥐 세포주를 이용하였다: FLT3 야생형, FLT3-ITD, D835V, FLT3-ITD D835V, D835Y, FLT3-ITD D835Y, D835H, FLT3-ITD D835H, F691L, 또는 FLT3-ITD F691L.

[0232] 퓨로마이신의 선택 후, 세포를 증가하는 농도의 MPC-0767(20 - 10000 nM)로 24시간 동안 처리하고 이어서 FLT3

(및 돌연변이체)의 세포 표면 발현을 위해 염색한 후, 평균(median) 신호 발현을 유세포 분석에 의해 정량분석하였다.

[0233] 도 11A에 도시된 바와 같이, MPC-0767은 FLT3 WT의 세포 표면 발현을 감소시켰다. 더욱이, MPC-0767은 FLT3 돌연변이체에 대해 더 큰 효능을 가졌으며(FLT3 WT에 비해 약 5x), 이는 HSP90에 대한 이들 돌연변이 단백질이 보다 큰 의존성을 가짐을 입증한다.

[0234] 다음 단계는 BaF3 세포에서 다양한 돌연변이 FLT3 단백질의 MPC-0767 유도된 분해가 임의의 기능적 관련성을 갖는지의 여부를 결정하는 것이었다. 크레놀라닙이 FLT3-ITD를 효과적으로 억제하지만 게이트키퍼 잔기 F691L의 돌연변이가 크레놀라닙 효능을 감소시킴은 이미 입증된 바 있다(Zimmerman *et al.*, Blood, 2013 122(22): 3607-3615). 따라서, TKI-내성 FLT3-ITD F691L 돌연변이체에 대한 MPC-0767의 효능을 시험하였다. FLT3-ITD 및 FLT3-ITD F691L을 갖는 BaF3 세포를 분주하고 72시간 동안 크레놀라닙(0.2 - 100 nM) 또는 MPC-0767(20 - 10000 nM)로 처리한 후, 세포 생존력을 셀타이터-글로[®]를 이용하여 평가하였다. EC₅₀ 값은 식 1을 이용하여(상기와 동일) 계산하였다. 도 11B는 FLT3-ITD-F691L 돌연변이체를 갖는 세포가 FLT3-ITD를 갖는 세포에 비해 크레놀라닙에 대한 내성을 약 23배 더 많이 부여하였음을 도시한다(FLT3-ITD EC₅₀ = 4 nM 대 FLT3-ITD-F691L EC₅₀ = 90 nM). 반면에, 도 11C는 MPC-0767이 2개의 FLT3-ITD 돌연변이 세포주에 대해 유사한 항-백혈병 활성을 가지고 있음을 도시한다(FLT3-ITD EC₅₀ = 497 nM 대 FLT3-ITD-F691L EC₅₀ = 391 nM).

[0235] 종합해보면, 이들 데이터는 MPC-0767이 FLT3의 키나제-내성 돌연변이체의 표적화에 효과적임을 입증한다.

실시예 9: MPC-0767은 1차 AML 샘플에서 IFN-γ-유도된 PD-L1 발현을 차단한다

[0237] 인터페론 감마(IFN-γ)는 다양한 암세포 유형에서 프로그램된 세포사-리간드 1(PD-L1)의 단백질 발현을 유도하며, 따라서 종양 세포가 면역계를 회피할 수 있는 또 다른 기전을 제공하는 것이 입증되었다.

[0238] MPC-0767이 IFN-γ-유도된 PD-L1 발현을 차단하는지의 여부를 연구하기 위하여, FLT3 WT(n=2) 또는 FLT3-ITD(n=4)를 갖는 6개의 AML 환자 샘플을 24시간 동안 인간 IFN-γ(50 ng/ml) 단독, MPC-0767(1 μM) 단독 또는 상기 둘의 조합으로 처리하였다. 이어서 세포를 유세포 분석에 의해 PD-L1 세포 표면 발현을 평가하기 위해 수확하였다. 세포를 또한 AML 아세포(blast) 마커 CD34 또는 CD45로 염색하고(아세포 집단 상에서 게이팅하기 위하여) 생존가능한 세포 상에서 게이팅(gating)을 위해 생존력 염색(viability stain)을 수행하였다. 도 12에 도시된 바와 같이, 모든 환자 샘플은 이의 세포 표면상의 PD-L1의 양의 증가에 의해(5 내지 25배) IFN-γ 처리에 반응하였다. MPC-0767은 단독으로 기저 PD-L1 세포 표면 발현을 크게 감소시키지 않았지만, IFN-γ 와 함께, MPC-0767은 IFN-γ-유도된 PD-L1 세포 표면 발현을 현저하게 감소시켰다($P=0.04$).

[0239] 상기 데이터는 MPC-0767은 FLT3-ITD AML에 대한 세포독성 활성을 갖는 외에(상기 참조), 1차 AML 샘플에서 IFN-γ-유도된 PD-L1 발현의 제거를 통해 면역-조절 활성도 가짐을 입증한다.

실시예 10: MPC-0767은 상승작용적 세포독성 활성을 나타낸다

[0241] MPC-0767이 추가적 약물과 상승작용적 항-중식 활성을 나타내는지의 여부를 결정하기 위하여, 발명자들은 MPC-0767을 AML의 치료에 대해 승인되었거나 임상적으로 평가되는 약물과 병용 시험하였다.

[0242] FLT3-ITD를 갖는 3개의 세포주를 약물 조합 연구에 이용하였다(MV-4-11, MOLM-13, 및 MOLM-14). 세포를 8개 농도의 MPC-0767(78 - 10000 nM) 단독, 8개 농도의 AML 약물 단독(하기의 농도 범위), 또는 상기 둘의 조합(8x 8)으로 처리하였다. 시험된 AML 조합 약물들은 다우노루비신(0.8 - 100 nM); 시타라빈(78 - 10000 nM); 길테리티닙(0.8 - 100 nM); 크레놀라닙(0.8 - 100 nM); 소라페닙(0.8 - 100 nM); 미도스타우린(0.8 - 100 nM) 또는 베네토클락스(0.8 - 100 nM)이었다.

[0243] 세포를 72시간 동안 약물(단일제 또는 조합)로 처리하였다. 약물 조합 활성을 먼저 셀타이터-글로[®]로 세포 생존력을 측정한 다음, R DRC 패키지(R Core Team, 2017)를 이용하여 단일제 활성에 상응하는 EC₅₀을 계산함으로써 결정하였다. 조합 지수(CI) 값을, 각각의 약물 단독 및 조합의 생존력을 근거로, 시험된 모든 농도에 걸쳐, 초우 탈랄레이(Chou-Talalay) 방법(Chou T, Cancer Research., 2010 70(2): 440-6.)을 이용하여 계산하였다. 즉, CI는 하기와 같이 정의되었다:

[수학식 2]

[0245] $CI = [D1/(D1\text{단독})] + [D2/(D2\text{단독})]$

[0246] 상기에서,

[0247] - D1 및 D2는 생존력 V를 제공하는 (각각의) 병용 치료에서의 약물 1 및 약물 2의 용량이다.

[0248] - D1단독 및 D2단독은 조합의 생존력과 동일한 생존력 V를 제공하는 단일제로서 약물 1 및 약물 2(각각)의 용량이다.

[0249] D1단독 및 D2단독을 힐(Hill)의 방정식으로부터 추정하였다:

[0250] [수학식 3]

$$D\text{단독} = EC_{50} * \left(\frac{1-V}{V}\right)^{\frac{1}{Hill}}$$

[0252] 상기에서, EC_{50} 및 힐(Hill)은 약물 1 또는 약물 2 정합된(fitted) 생존력 곡선에 상응하는 EC_{50} 및 힐 기울기이다.

[0253] CI 값 >1을 갖는 약물 조합은 길항성(antagonistic)인 것으로 간주되고, CI 값 = 1인 것은 부가적인(additive) 것으로 간주되는 반면, CI 값 <0.9는 상승작용적(synergistic)인 것으로 간주된다. 추가적 기준으로서, 0.25 이하의 생존력을 갖는 CI 값만을 고려하였다. 이어서 예상값 대 관찰값 생존력(expected versus observed viability)의 최대 차이 및 최저의 CI 값을 기준으로 상승작용을 나타내는 최고의 병용 치료를 선택하였다.

[0254] 도 13은 MPC-0767을 다우노루비신(도 13A), 시타라빈(도 13B), 크레놀라닙(도 13C), 소라페닙(도 13D) 및 베네토클락스(도 13E)와 병용 처리한 MV-4-11 세포주에서 대표적인 상승작용 데이터를 도시한다. 각각의 그래프는 비히클(DMSO, 100%로 설정됨), MPC-0767 단독, AML 약물 단독 및 (MPC-0767 + AML 약물)의 조합으로 처리한 세포의 생존력을 도시한다.

[0255] 표 1은 MV-4-11, MOLM-13 및 MOLM-14 세포주(별표로 표시된 경우 n=1을 제외하고, 각각의 세포주에 대해 n=2회의 독립적 실험)에서 MPC-0767의 상승작용적 활성(평균 CI 값)을 나타낸다. MV-4-11 세포에서, MPC-0767은 다우노루비신(CI = 0.6) 및 베네토클락스(CI = 0.7)와 상당히 상승작용적이고, 시타라빈, 크레놀라닙 및 소라페닙과 상승작용적이다. MOLM-13 세포에서, MPC-0767은 베네토클락스(CI = 0.3)와 상당히 상승작용적이고, 다우노루비신, 크레놀라닙 및 길테리티닙과 덜 상승작용적이다. MPC-0767은 MOLM-14 세포에서 베네토클락스, 다우노루비신, 및 시타라빈과 상승작용적이다.

표 1

AML FLT3-ITD 세포주에서 AML 약물과 병용된 MPC-0767의 상승작용적 활성

	MV-4-11	MOLM-13	MOLM-14
다우노루비신	CI = 0.6	CI = 0.9	CI = 0.8*
시타라빈	CI = 0.8		CI = 0.9*
크레놀라닙	CI = 0.7	CI = 0.9	
소라페닙	CI = 0.8		
길테리닙		CI = 0.9	
베네토클락스	CI = 0.7		CI = 0.6

[0257] 종합해보면, 이들 데이터는 HSP90 억제제 MPC-0767이 FLT3 ITD 돌연변이를 갖는 AML 세포에서 세포독성 활성을 나타냄을 입증한다. 더욱이, MPC-0767은 FLT3 ITD 돌연변이를 갖는 AML 세포에서 FLT3 억제제와 상승작용적 활성을 나타낸다. 따라서, HSP90 억제제(예; MPC-0767)는 단독 또는 병용 이용으로, FLT3에 활성화 돌연변이를 갖는 AML 환자에서 임상적 효능을 가질 수 있다.

[0258] 실시예 11: MPC-0767은 베네토클락스와 함께 강력한 항-종양 활성을 나타낸다

[0259] 생체 내에서 베네토클락스와의 MPC-0767 조합 활성을 시험하기 위하여, 전신 생존 이종이식 연구를 MOLM-13 FLT3-ITD를 포함하는 AML 세포주를 이용하여 수행하였다. 종양 세포의 접종 전에, NOD/SCID 마우스를 2일간 매일 100 mg/kg의 사이클로포스파미드를 복강 내 주사로 전처리하여 인간 MOLM-13 종양 세포의 생착(engraftment

t)을 촉진하였다. 사이클로포스파미드의 주사 후, 상기 동물을 인간 MOLM-13 종양 세포 접종 전에 24시간 동안 회복하게 하였다. 이어서 각 마우스에 정맥 내 꼬리 정맥 주사를 통해 100 μ l PBS 중 1x10⁷ 개의 MOLM-13 세포를 접종하였다. 이어서 마우스를 6마리씩 4개의 그룹으로 무작위 분류하였다. 종양 접종 후 3일째에, 마우스에 비히클, MPC-0767 100 - 60 mg/kg QD x 24(100 mg/kg QD x 6, 87.5 mg/kg QD x 4, 75 mg/kg QD x 3, 67.5 mg/kg QD x 1, 60 mg/kg QD x 10), 베네토클락스 45 - 33.8 mg/kg QD x 24(45 mg/kg QD x 6, 39.4 mg/kg QD x 4, 33.8 mg/kg QD x 14) 또는 MPC-0767 및 베네토클락스의 조합을 투여하고 이들의 생존을 모니터링하였다. 생존력 및 체중 감소를 매일 모니터링하였다. 평균 체중 감소는 연구 과정 동안 상기 콤보 그룹에서 11%를 초과하지 않았다. 도 14에 도시된 바와 같이, 단일제로서 MPC-0767은 평균(median) 생존을 3.5일까지 현저히 증가시켰다 ($P<0.01$, 로그 순위, (맨델 쿡스) 검정). 중요한 점으로서, MPC-0767 및 베네토클락스의 조합은 100% 생존을 초래하였으며, 따라서 비히클 및 2개의 단일제 부문(single agent arms) 모두에 비해 현저하게 증가된 평균(median) 생존을 제공하였다($P<0.001$, 로그 순위, (맨델 쿡스) 검정). 종합하면 상기 데이터는 MPC-0767이 생체내에서 베네토클락스와 병용 시 강력한 효능을 발휘함을 입증한다.

[0260] **실시예 12: FLT3-ITD AML 세포에서 베네토클락스에 대한 획득 내성은 MPC-0767에 대한 민감도를 감소시키지 않는다**

[0261] Bc1-2 특이성 억제제인 베네토클락스에 대한 내성은 증가된 MCL-1 단백질 발현으로 인해 발생할 수 있으며(Pan et al., 2017 *Cancer Cell* 32(6): p. 748-760 e6), 따라서 이의 임상적 효능이 제한된다. MPC-0767 민감도에 대한 베네토클락스에 대한 획득 내성의 영향을 시험하기 위하여, 발명자들은 문헌[Pan et al., 2017]에 기재된 바와 같이 2개의 모 FLT3-ITD AML 세포주로부터 생성된 베네토클락스-내성 세포주를 시험하였다. 상기 모(parental) 세포주들은 MOLM-13 및 MV-4-11 세포였다. 상기 베네토클락스-내성 세포주들은 도 15에서 각각 MOLM-13 Ven-R 및 MV-4-11 Ven-R로 표시된다. 도면에 도시된 바와 같이, MOLM-13 Ven-R 및 MV-4-11 Ven-R 세포들은 72시간의 처리에 이은 생존력 분석에서 이들의 증가된 EC₅₀ 값에 의해 입증된 바와 같이, 모 세포들에 비해 베네토클락스에 높은 내성을 나타내었다. 반면에, 모 세포 및 베네토클락스-내성 세포들은 모두 MPC-0767에 대해 유사한 민감도를 가짐을 나타내었다. 이들 결과는 베네토클락스에 내성을 부여하는 인자들이 MPC-0767의 세포독성 활성에 대한 세포의 민감도를 감소시키지 않음을 나타내었다.

[0262] 이어서 발명자들은 MV-4-11 Ven-R 세포에서 세포사멸의 문자 마커, PARP 절단을 조사하였다. 세포를 MPC-0767, 베네토클락스, 또는 MPC-0767 및 베네토클락스의 조합으로 24시간 동안 처리한 후, 용해물을 전장(full length) PARP 및 절단된 PARP(세포사멸의 마커)에 대해 웨스턴 블릿에 의해 검사하였다. 도 16A에 도시된 바와 같이, 웨스턴 블릿 분석은 MPC-0767 및 베네토클락스의 조합으로 처리한 세포에서만 완전한 PARP 절단을 검출하였다. 이들 데이터는 상기 조합이 이들 베네토클락스-내성 세포에서 세포사멸을 유도하는 데 효과적임을 나타내었다.

[0263] 상기 조합의 상승작용 효과를 아이소볼로그램 분석(Tallarida, 2006 *J Pharmacol Exp Ther*, 319(1):1-7)을 이용하여 확인하였다. 내성 세포주인 MOLM-13 Ven-R 및 MV-4-11 Ven-R을 MPC-0767, 베네토클락스, 또는 MPC-0767 및 베네토클락스의 조합으로 72시간 동안 처리하고, 생존력을 셀타이터-글로® 분석을 이용하여 평가하였다. 표준화된 아이소볼로그램을 이용하여, 75%의 용량 효과(EC75)로, 상이한 세포주 및 조건에 따른 약물 상호작용을 나타내었다. 즉, 각각의 단일제 및 약물 조합에 대한 절대 EC75를 R 패키지 DRC를 이용하여 산출하였다(Ritz, C., et al. 2015 *PLoS One* 10(12):e0146021; and Team R. C. 2017 *A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2017). 상기 약물 조합의 EC75를 상응하는 단일제 EC75 값에 대하여 표준화하였다. 단일제 처리가 EC75에 도달하지 않은 경우, 상대적인 EC75를 정합된(fitted) 약물 반응 곡선의 예상치(projected value)를 근거로 이용하였다. 상기 상대적인 EC75가 시험된 최대 농도보다 높은 경우에, 발명자들은 시험치의 최대 농도를 디플트 값으로 이용하여, 분석이 모든 약물 및 조건에 걸쳐 허용되도록 하였다. 도 16B에 도시된 바와 같이, 상기 베네토클락스-내성 세포주 모두에 대한 데이터 포인트(data points)는 가산성 라인(line of additivity; 대각선) 아래에 있었으며, 이는 조합 지수값 <1을 나타내고, 병용 치료의 상승작용을 입증한다.

[0264] MPC-0767 및 베네토클락스 상승작용의 근원이 되는 기전을 탐구하기 위하여, 발명자들은 MCL-1에 접종하였는데, 그 이유는 MCL-1의 증가된 풍부성이 베네토클락스에 대한 내성을 부여하기 때문이다. AKT는 세린 9(S9)로 표시된 잔기 상에서의 인산화를 통해 GSK3 β 활성을 조절한다. 상기 부위가 AKT에 의해 인산화되는 경우, GSK3 β 활성이 억제된다. 그러나, AKT의 억제는 S9 인산화를 방지하여, GSB3 β 를 활성화하고 궁극적으로 MCL-1의 분해를 야기한다(Lu et al., 2015 *Med Oncol*, 2015. 32(7): p. 206). 이들 단백질 및 이들의 인산화 상태를 MPC-0767, 베네토클락스, 또는 MPC-0767 및 베네토클락스의 조합으로 처리한 MOLM-14 및 MV-4-11 세포주에서 검사하였다.

도 17A는 MPC-0767($1 \mu\text{M}$), 베네토클락스(20nM) 또는 이들의 조합으로 24시간 동안 처리한 MOLM-14 세포를 도시한다. 오직 상기 병용 처리만이 pAKT^(S473)의 상실, AKT의 분해 및 궁극적인 GSK3 β ^(Ser9) 인산화를 야기시켰다. 이를 발견은 BCL-2 표적화(예; 베네토클락스에 의한) 및 동시에 MCL-1 표적화(MPC-0767에 의한)가 FLT3-ITD AML 세포에서 상승작용적 세포사를 생성시킨다는 발명자들의 제안과 일치한다. 또한, MPC-0767 단독, 베네토클락스 단독, 또는 이들의 조합으로 처리한 MV-4-11 베네토클락스-내성 세포주에서, MPC-0767 및 베네토클락스의 조합에 의해 AKT 및 MCL-1의 발현을 또한 감소시켰으며(도 17B), 이는 MPC-0767 및 베네토클락스에 대해 관찰된 상승작용과 일치되는 작용 기전임을 입증한다.

[0265] 실시예 13: AML에서 MPC-0767 효능에 대한 바이오마커

MPC-0767의 비-FLT3-ITD AML 세포에 대한 효능의 존재 여부를 결정하기 위하여, 발명자들은 MPC-0767에 대한 민감도에 대해서 FLT-야생형(FLT3-WT) AML 세포주 및 1차 AML 아세포의 패널을 시험하였다. 세포를 72시간 동안 MPC-0767로 처리 후 셀타이터-글로[®] 분석을 이용하여 세포 생존력을 측정하였다. EC₅₀ 값을 모든 샘플에 대해 결정하였으며 도 18에 나타내었다. 발명자들은 민감도에 대한 컷오프를 $1 \mu\text{M}$ 로 한정하였으며, 여기서 $1 \mu\text{M}$ 미만의 EC₅₀ 값을 갖는 세포주는 민감한 것으로 간주하였고, $1 \mu\text{M}$ 을 초과하는 EC₅₀ 값을 내성을 갖는 것으로 간주하였다. 실제로, 6/12 세포주 및 2/4 1차 세포주가 민감도($1 \mu\text{M}$ 미만의 EC₅₀ 값)를 나타내었다.

임의의 돌연변이와 MPC-0767 민감도의 상관관계를 연구하기 위하여, 발명자들은 FLT3-WT AML 세포주에서 모든 돌연변이된 유전자에 걸쳐 피셔(Fisher)의 정확 검정(Fisher's exact test)에 기반한 통계 분석을 수행하였다. 처리한 엑손 서열분석 데이터를 코스믹 셀 라인 프로젝트(COSMIC Cell Line Project) 데이터베이스로부터 추출하고 적어도 하나의 세포주에서 돌연변이된 유전자를 포함시켰다. 상기 피셔의 정확 검정을 민감성 및 내성 FLT3-WT AML 세포주에서 관찰된 돌연변이된 및 야생형 대립유전자의 빈도에 적용시켰다. 상기 빈도는 특정 유전자에 대한 돌연변이된 또는 야생형 대립유전자를 포함하는 민감성 또는 내성 세포주의 수를 근거로 계산되었다. 상기는 돌연변이된 유전자가 FLT3-WT AML 세포주에서 MPC-0767 민감도와의 상관관계 유무에 대한 가설을 검정하는 4x4 분할표(contingency table)를 만들었다.

상기 분석으로부터의 결과는 RAS 돌연변이가 통계학적 유의성 방식(피셔의 검정 p -값 = 0.0019)으로, 내성 FLT3-WT AML 세포주와 상관관계가 있음을 보여주었다. FLT3-WT AML 세포주는 앞서 MAPK 신호전달을 자극하는 것으로 보고된 특정한 돌연변이와 함께, NRAS 및 KRAS 모두에서 활성화 돌연변이를 보유하였다(표 2).

표 2

[0269] 72h 동안 처리 후 MPC-0767 민감도에 대해 시험된 AML 세포주 및 셀타이터-글로[®]를 이용하여 결정된 세포 생존력의 요약. 시험된 세포주에서 NRAS 또는 KRAS 돌연변이의 세부사항을 나타낸다

세포주	EC50 (nM)	MPC-0767 민감도	NRAS	돌연변이?	KRAS	돌연변이?
MOLM16	367	민감성	–	–	–	–
TUR	550	민감성	–	–	–	–
OCIAML2	633	민감성	–	–	–	–
ML2	1031	내성	–	–	p.A146T	–
NOMO1	1449	내성	–	–	p.G13D	–
OCIAML3	1809	내성	p.Q61L	–	–	–
HL60	1957	내성	p.Q61L	–	–	–
ME1	3425	내성	p.Q61H	–	–	–
THP1	10000	내성	p.G12D	–	–	–

[0270] 이들 발견은 RAS와 같은 핵심 단백질에서의 돌연변이가 MPC-0767에 대한 민감도에 영향을 미침을 제시하며 MPC-0767 및 RAS 신호전달 억제제(예; Raf 억제제, MEK 억제제 및 ERK 억제제)의 조합이 AML 세포에서 추가적 내성 경로를 극복할 수 있음을 추가로 나타낸다. 이들 발견은 내성 경로를 극복하고 MPC-0767에 대한 민감도를 회복시키는 합리적인 약물 조합을 제시한다.

[0271] 실시예 14: 게놈-와이드 CRISPR 선별은 MPC-0767 민감도에 대한 결정인자(determinant)로서 후성적 조절(epigenetic regulation)을 식별한다

- [0272] 결실(deletion) 시 MPC-0767에 대한 내성을 부여하는 유전자를 식별하기 위하여, 발명자들은 $1 \mu M$ MPC-0767의 존재 하에서 배양된 MOLM-14 세포주에서 CRISPR-매개된 게놈-와이드 기능상실 선별(loss-of-function screen)을 수행하였다. 발명자들은 GeCKO V2 라이브러리(Shalem, O., et al. 2014 *Science* 343(6166):84-87)를 이용하여 상기 유전학적 선별을 수행하였다. 생존 세포로부터 수확된 게놈 DNA를, GeCKO 하위라이브러리(sublibraries) 모두에 걸쳐 풍부한 단일-가이드 RNA(sgRNA)의 식별을 위해 분석하였다. GeCKO 하위라이브러리 모두에 걸쳐 상위 20개의 풍부한 적중(enriched hits)에 대한 유전자 온톨로지(ontology) 분석은 MPC-0767 처리 시 생존하는 풀에서 가장 고도로 풍부한 경로(enriched pathways)로서 후성적 조절, 크로마틴 구성 및 크로마틴 변형 효소를 식별하였다(도 19A).
- [0273] 상기 선별로부터 가장 풍부한 유전자는 히스톤 H3K27 테메틸라제인 KDM6A이었다(Lee et al., 2007 *Science* 318 (5849): 447-50)(도 19B). KDM6A의 기능 돌연변이 상실은 FLT3-ITD AML에서 관찰된다(Garg et al., 2015 *Blood* 126 (22):2491-501). 3개의 독립적인 sgRNA에 의한 KDM6A의 CRISPR-매개된 표적화는 MOLM-14 및 MV-4-11 세포주에서 MPC-0767에 대한 내성을 부여하였다(도 20A-B). 상기 발견을 치료학적으로 이용하기 위하여, 발명자들은 KDM6A와 기능적으로 반대되는 히스톤 H3K27 메틸트랜스퍼라제인 EZH2 억제가 MPC-0767에 대한 민감도를 증가시킬 것으로 가정하였다. 상기 가정을 시험하기 위하여, FLT3-ITD 세포주(MV-4-11)를 이용하였고 2개의 임상 단계 EZH2 억제제인 EPZ-6438 및 CPI-1205 중 어느 하나로 8개의 상이한 농도에서 4일간 처리하였다. 이후, 세포를 카운트하고, 재분주하고, 8개 농도의 EZH2 억제제 단독, 8개 농도의 MPC-0767 단독, 또는 상기 이들 둘의 조합(총 64 조합)으로 처리하였다. 3일간 병용 처리 후, 세포 생존력을 셀타이터-글로[®]를 이용하여 결정하였다. 아이소볼로그램 분석을 수행하였으며, EPZ-6438 및 MPC-0767의 조합 및 CPI-1205 및 MPC-0767의 조합에 대한 데이터 포인트는 가산성 라인(대각선) 아래에 위치하였고, 이는 조합 지수 값이 <1임을 나타내고 병용 처리의 상승작용을 입증한다(도 21). 이들 발견은 후성적 조절이 MPC-0767 민감도에 영향을 미칠 수 있고, 상기와 같은 유전자에서의 기능 돌연변이의 상실이 MPC-0767 활성의 바이오마커로서 유용할 수 있으며, 치료학적 용도를 위해 후성적 조절제를 표적화하는 임상 단계 화합물을 MPC-0767과 병용할 수 있음을 입증한다.
- [0274] **실시예 15: MPC-0767은 AML 세포주에서 삼산화 비소(arsenic trioxide; ATO)와 상승작용한다**
- [0275] 급성 전골수성 백혈병(APL)은, 전골수구성 백혈병(PML) 및 레티노산 수용체-알파(RAR α)의 융합(PML-RAR α)을 생성시키는 특징적인 염색체 전좌 t(15;17)를 갖는 급성 골수성 백혈병의 아형이다. 상기 생성되는 융합 단백질은 변경된 전사 프로파일을 가지며, 세포 분화의 차단을 유도한다. 모든-트랜스 레티노산 및 삼산화 비소(ATO)를 포함하는 이상 융합 단백질을 분해시키는 작용제가 APL에 효과적인 것으로 입증되었다(문헌[McCullloch et al., 2017]에서 리뷰됨). 흥미롭게도, ATO는 PML-RAR α 를 갖지 않는 세포에서 항-증식 활성을 나타내며, 이는 ATO가 암세포사(cancer cell death)를 유도하는 추가적 활성을 발휘할 수 있음을 암시한다(Miller et al., 2002). 따라서, ATO는 PML-RAR α 를 갖지 않는 다수의 헴 적응증(heme indications)에서 평가되었다(Bonati et al., 2006). 최근의 연구는 ATO 및 소라페닙의 조합이 FLT3-ITD AML 세포주에서 상승작용을 나타냄을 입증하였다(Wang et al., 2018). 상기 관찰된 상승작용에 대한 하나의 기계론적 설명은 ATO가 FLT3-ITD와 HSP90간의 상호작용을 감소시킨다는 것이었다. 결과적으로, FLT3-ITD는 FLT3-ITD 종양원성 신호전달을 제거하는 분해를 거치며 종양 세포가 사멸하게 된다(Wang et al., 2018). 따라서, 소라페닙(FLT3 억제제)과의 병용은 직접적인 억제(소라페닙) 및 분해(ATO)를 통한 FLT3 신호전달의 보다 완전한 제거(abrogation)를 초래할 것이다. 또한, ATO와 1세대 HSP90 억제제간의 농도 관계를 탐구한 반-기계론적 약력학적(pharmacodynamic) 모델을 이용하여, 웨츨러(Wetzler) 및 동료(Wetzler et al., 2007)는 AML 세포주에서 구성적(constitutive) STAT3와의 상승작용을 입증하였다.
- [0276] MPC-0767의 병용이 ATO와 상승작용했는지의 여부를 시험하기 위하여, 발명자들은 AML 세포주의 패널을 시험하였다. 상기 세포주는 FLT3-ITD(MOLM-13, MOLM-14 및 MV-4-11) 또는 FLT3 WT(ME-1, THP-1, OCI-AML-2, HL60, NOMO-1, TUR 및 ML-2)를 갖는 것들을 포함한다. 상기 세포주를 8개 농도의 MPC-767(234 - 4000 nM; 1.5배 희석) 단독, 8개 농도의 ATO(78 - 10000 nM; 2배 희석) 단독, 또는 상기 둘의 조합(64 데이터 포인트)으로 처리하였다.
- [0277] 3일간 병용 처리 후, 세포 생존력을 셀타이터-글로[®]를 이용하여 결정하였다. 조합 지수(CI) 값을 츠우 탈랄레이식(Chou-Talalay equation)을 이용하여 각 세포주에 대해 계산하였으며, 여기서 CI 값<1은 상승작용을 나타내고, CI = 1은 가산성을 나타내고 CI>1은 길항작용을 나타낸다. 일례를 도 22에 도시하며, 여기서 MOLM-14 세포를 MPC-0767(527 nM), ATO(1250 nM) 또는 이들의 조합(콤보)으로 처리하였다. 중요한 점으로서, 상기 조합은 어느 한 작용제 단독의 부가 효과보다 생존력을 더 크게 감소시켰고 0.56의 CI 값을 회복시켰으므로, 이 조

합의 상승작용을 입증한다. 표 3은 시험된 모든 세포주에 대한 CI 값과 MPC-0767 및 ATO의 특정 농도를 나타낸다. 시험된 모든 세포주에서 상승작용이 관찰되었다. 이들 발견은 MPC-0767의 병용이 AML 세포에서 ATO와 상승작용적임을 확립시킨다. 더욱이, FLT3-ITD 돌연변이를 갖는 세포주 및 FLT3-ITD 돌연변이를 갖지 않는 세포주 모두가 MPC-0767의 임상적으로 관련된 농도들에서 상승작용을 나타내었다.

[0278] 이후, 발명자들은 MPC-0767 및 ATO의 상승작용 활성이 FLT3-ITD 종양원성 신호전달의 보다 완전한 제거에 기인하는지의 여부를 조사하였다. MOLM-13 세포를 MPC-0767(800 nM), ATO(625 nM) 또는 이들의 조합으로 24시간 동안 처리하였다. 이 후, 유세포 분석에 의한 세포 표면 FLT3 발현의 평가를 위해 세포를 수확하였다. FLT3 제거의 영향을 추가로 측정하기 위하여, 발명자들은 포스포-ERK(pERK) 및 포스포-S6(pS6)(이들은 2개의 공지된 하류효과기(downstream effectors)임)를 평가하였다. 도 23에 도시된 바와 같이, 단일제로서 MPC-0767 및 ATO는 FLT3과 pS6를 감소시켰고, pERK를 다소 감소시켰다. 그러나, 상기 조합은 어느 한 작용체 단독에 비해 각각의 단백질 또는 인단백질을 더 크게 감소시켰다. 이러한 발견은 FLT3-ITD AML 세포주에서 관찰된 상승작용적 항-증식 효과가 FLT3 종양원성 신호전달의 보다 완전한 억제를 통해 적어도 부분적으로 나타남을 암시한다.

표 3

[0279] 시험된 모든 AML 세포주에서 MPC-0767 및 ATO의 조합에 대해 획득된 조합 지수(CI) 값의 요약. CI 값<1은 상승작용을 나타낸다

		조합		
세포주	FLT3-ITD?	MPC-0767 농도 (nM)	ATO 농도 (nM)	CI value
MOLM-13	Yes	790	625	0.65
MOLM-14	Yes	527	1250	0.56
MV-4-11	Yes	790	625	0.71
OCI-AML-2	No	790	1250	0.67
NOMO-1	No	1185	2500	0.69
ML2	No	790	1250	0.54
TUR	No	527	5000	0.66
HL-60	No	790	5000	0.85
ME-1	No	1185	10000	0.21
THP-1	No	2667	10000	0.12

[0280] 실시예 16: MPC-0767은 FLT3 억제제에 대한 내성을 부여하는 교변 경로 활성화(alternate pathway activation)를 극복한다.

[0281] 골수에서의 기질 신호전달을 모방하는 조건은 대안적 세포 표면 수용체의 활성화를 통해 FLT3 억제제에 대한 내성을 부여할 수 있다(Karjalainen et al., 2017). BaF3 세포계(cell system)를 이용하여, FLT3 억제제에 대한 내성을 부여하는 조건 하에서 MPC-0767의 효능을 시험하였다. BaF3 세포는 증식을 위해 IL-3 수용체를 활성화시키는 IL-3의 보충을 필요로 한다. 그러나, FLT3-ITD로 형질감염된 BaF3 세포에서, 생존이 종양원성 FLT3 신호전달에 의해 단독으로 주도되므로 세포는 더 이상 IL3를 필요로 하지 않는다. 이와 같이, IL-3의 부재 하에서 FLT3-ITD 발현 세포는 FLT3 억제제 길테리티닙 또는 크레놀라닙에 의한 FLT3 억제에 민감성을 나타낸다(도 24). 그러나, IL3의 첨가는 대안적인, 비-FLT3-의존적인 예비-생존 경로(non-FLT3-dependent pro-survival pathway)를 활성화시키며, 따라서 세포는 FLT3 억제제에 내성을 갖게 된다(Sung et al., 2017). 반면에, FLT3-ITD를 발현하고 외인성 IL3와 함께 또는 외인성 IL3 없이 처리한 BaF3는 MPC-0767에 동일한 민감성을 갖는다(도 24). 이러한 발견은 MPC-0767이 다수의 예비-생존 경로를 억제할 수 있음을 입증한다.

실시예 17: MPC-0767은 5' 아자시타딘과 함께 증가된 항-종양 활성을 나타낸다.

[0283] 생체 내에서 5' 아자시타딘과 병용되는 MPC-0767을 시험하기 위하여, MOLM-13 FLT3-ITD를 포함하는 AML 세포주를 이용하여 전신 생존 이종이식 연구를 수행하였다. 종양 세포의 접종 전, NOD/SCID 마우스를 2일간 매일 100 mg/kg의 사이클로포스파미드를 복강 내 주사로 전처리하여 인간 MOLM-13 종양 세포의 생착(engraftment)을 촉진하였다. 사이클로포스파미드의 주사 후, 상기 동물을 인간 MOLM-13 종양 세포로 접종 전에 24시간 동안 회복하게 하였다. 이어서 각 마우스에 정맥 내 꼬리 정맥 주사를 통해 100 μ l PBS 중 1×10^7 개의 MOLM-13 세포를 접종하였다. 이어서 마우스를 6마리씩 4개의 그룹으로 무작위 분류하였다. 종양 접종 후 3일째에, 마우스에 비히클, MPC-0767 75 mg/kg(QD x 5; 1일 휴식; QD x 26 p.o.); 5' 아자시티딘 2 mg/kg(QD x 4 i.p.) 또는 MPC-0767 및

5' 아자시티딘의 조합(단일제의 경우와 동일하게 처리)을 투여하고 생존을 모니터링하였다. 생존력 및 체중 감소를 매일 모니터링하였다. 평균 체중 감소는 연구 과정 동안 상기 조합 그룹에서 11%를 초과하지 않았다. 도 25에 도시된 바와 같이, 단일제로서 MPC-0767 및 5' 아자시티딘은 마우스의 평균(median) 생존을 각각 5.5일 및 8일까지 현저하게 증가시켰다(각각 $P<0.01$ 및 $P<0.001$, 로그 순위, (맨델 콕스) 검정). 중요한 점으로서, MPC-0767 및 5' 아자시티딘의 조합은 비히클 및 2개의 단일제 부문 모두에 의해 현저히 증가된 평균(median) 생존을 야기시켰다($P<0.001$, 로그 순위, (맨델 콕스) 검정). 이들 발견은 MPC-0767 및 5' 아자시티딘의 조합이 항-백혈병 활성을 가지며 FLT3-ITD AML 환자에 효과적 치료법일 수 있음을 입증한다.

[0284] **실시예 18: MPC-0767은 AML 세포의 T 세포-매개된 사멸을 증대시킨다.**

T 세포 사멸을 증가시키는 MPC-0767의 능력을 시험관 내 T-세포-매개된 사멸 분석에서 결정하였다. OCI-AML2 AML 세포주를 세포 염색 염료 CFSE로 표지한 후, MPC-0767(2 μM) 및 인간 거대세포바이러스(human cytomegalovirus) pp65₄₉₅₋₅₀₃ 웨티드로 밤새 처리하였다. OCI-AML2 세포를 세척하여 MPC-0767 및 웨티드를 제거하고 이어서 약 2.5:1(T 세포:OCI-AML2)의 비로 pp65-특이성 CD8⁺ T 세포가 풍부한 T 세포주와 공-배양하였다. 4시간의 공-배양 후, 세포를 수확하고, 고정시키고, 투과성으로 만든 후, 세포사멸성 세포사(apoptotic cell death)의 직접적인 관찰로서 활성 형태의 카스파제-3를 염색하였다. 모든 CFSE+ 세포(오직 OCI-AML-2 세포) 중 활성 카스파제-3+ 퍼센트를 도 26에 도시한다. 세포사멸 세포에서 상승작용적 증가(0.53의 조합 지수(CI))가 MPC-0767 및 pp65 풍부한 CD8⁺ T 세포의 조합에서 관찰되었다. 이러한 발견은 MPC-0767이 종양 세포를 변경시켜 상기 세포를 T 세포-매개 사멸에 더 취약하게 만들 수 있음을 입증한다.

[0286] 상기 CI는 약물 쌍(drug pair)의 병용 효과가 상승작용적인지, 부가적인지, 또는 길항적인지를 결정하는데 이용되는 정량적 척도이다. 상기 CI는 $CI = (E1+E2)/E12$ 로서 계산되며, 여기서 E12는 약물 A 및 약물 B의 조합에 대해 표준화된 생물학적 반응(예; 카스파제-3+ 세포%)이고, E1 및 E2는 각각, 각각의 단일 약물 처리에 대해 측정된 반응이다. 1 미만의 CI 값은 상승작용을 가리키고, 상기 효과의 크기는 상승작용 점수가 1보다 얼마나 작은지에 의해 표시된다. 상기 관계의 보다 상세한 수리적 처리는 문헌[Shin et al. 2018]에 기재되어 있다.

[0287] **실시예 19: MPC-0767은 면역능력이 있는(immunocompetent) MC38 동계 모델(syngeneic model)에서 생체 내 효능을 입증한다.**

온전한(intact) 면역계를 갖는 생체 내 모델에서 MPC-0767의 효능을 입증하기 위하여, 쥐 MC38 결장암 세포주를 이용하여 동계 연구(syngeneic study)를 수행하였다. 각각의 C57BL/6 마우스의 우측 옆구리에 0.1 ml PBS 중 2.5×10^5 개의 종양 세포를 피하 접종하였다. 평균 종양 부피가 73 mm^3 크기에 도달했을 때, 마우스를 6마리씩 2개의 그룹으로 무작위 분류하였다. 이어서 마우스에 비히클 또는 MPC-0767을 150 mg/kg QD x 17로 경구 투여하였다. 표시된 날들에 종양 측정(캘리퍼스)을 수행하였다. 도 27에 도시된 바와 같이, MPC-0767은 체중에 대한 현저한 영향 없이 69.5%의 종양 성장 억제를 유도하였다(도 27A). 스튜던트 t-검정을 이용하여 이들 그룹간 차이의 통계학적 유의수준을 평가하였다 ($P=0.01$). 상기 데이터는 MPC-0767이 생체 내 동계 모델에서 항-종양 활성을 나타냄을 입증한다.

[0289] MPC-0767이 직접적 세포독성 활성을 외에 항-종양 면역 반응을 유도할 수 있는지의 여부를 시험하기 위하여, PD-L1의 하향 조절(down regulation) 및 효과기/조절(effector/regulatory) T-세포 비를 동일 MC38 동계 모델에서 측정하였다. 21일째에, 평균 종양 부피가 372 mm^3 크기였을 때, 두 번째 그룹의 마우스(n=6)를 150 mg/kg MPC-0767 QD x 7로 처리하였다. 최종 투여 후 1일째(접종 후 28일째)에 종양을 비히클 및 150 mg/kg MPC-0767 QD x 7 그룹으로부터 수확하였다. 해리된 종양(dissociated tumors) 내 종양 침윤성 백혈구(tumor infiltrating leukocytes; CD45⁺, CD3⁻)에서의 PD-L1 발현을 유세포 분석에 의해 분석하였다. PD-L1의 현저한 감소가 관찰되었으며, 이는 MPC-0767이 생체내에서 상기 면역억제성 리간드를 억제할 수 있음을 나타낸다(도 27C). MC38 종양 내 면역 세포 집단에 대한 상기 억제의 영향을 분석하기 위하여, CD4⁺(CD45⁺, CD3⁺, CD4⁺) 및 CD8⁺ T-세포(CD45⁺, CD3⁺, CD4⁻) 대 조절성 T-세포(CD45⁺, CD3⁺, CD4⁺, FOXP3⁺)의 비를 또한 유세포 분석에 의해 평가하였다. CD4:TREG 및 CD8:TREG 비의 현저한 증가가 MPC-0767를 처리한 그룹에서 관찰되었으며(도 27D), 이는 항-종양 면역 반응을 암시한다. 종합해보면 상기 데이터는 MPC-0767의 항-종양 활성이 항-종양 면역 반응의 유도를 수반함을 뒷받침한다.

[0290] **실시예 20: MPC-0767은 AML 세포주에서 MAPK 경로 억제제와 상승작용한다**

[0291] 미토젠-활성화된 단백질 키나제(MAPK) 경로는 세포 생존 시 외부 자극을 연결하고 이를 분화, 생존 및 증식을 매개하는 세포 내 신호로 전달하는 임계 통합점(critical integration point)이다. 실제로, 선택성 MAPK 억제제에 의해 표적화되는 AML 세포는 세포 생존을 감소시킨다(Milella et al., 2001). MPC-0767와 트라메티닙(BRAF V600E를 포함하는 종양을 가진 흑색종 환자의 치료에 승인된 임상 단계의 MEK 억제제)의 조합을 AML 세포주의 패널에서 시험하였다. 상기 세포주는 FLT3-ITD(MOLM-13, MOLM-14 및 MV-4-11) 또는 FLT3 WT + RAS WT(OCI-AML-2) 또는 FLT3 WT + RAS 돌연변이체(ML-2)를 갖는 것들을 포함한다. 상기 세포주를 8개 농도의 MPC-0767(234 - 4000 nM; 1.5배 희석) 단독, 8개 농도의 ATO(0.8 - 100 nM; 2배 희석) 단독, 또는 상기 둘의 조합(64 데이터 포인트)으로 처리하였다.

[0292] 3일간 병용 처리 후, 세포 생존력을 셀타이터-글로[®]를 이용하여 결정하였다. 조합 지수(CI) 값을 측정하였을 때, CI < 1은 상승작용을 나타내고, CI = 1은 가산성을 나타내고 CI > 1은 길항작용을 나타낸다. 일례를 도 28에 도시하며, 여기서 MOLM-13 세포를 MPC-0767(351 nM), 트라메티닙(25 nM) 또는 이들의 조합(콤보)으로 처리하였다. 중요한 점으로서, 상기 조합은 어느 한 작용제 단독의 부가 효과보다 크게 생존력을 감소시켰고 0.55의 CI 값을 회복하였으며, 이는 상승작용을 입증한다. 표 4는 시험된 모든 세포주에 대한 CI 값 및 MPC-0767 및 트라메티닙의 특정 농도를 나타낸다. 더욱이, FLT3-ITD 돌연변이를 갖는 세포주 또는 FLT3-ITD 돌연변이를 갖지 않는 세포주, 또는 RAS 돌연변이를 갖는 세포주에서, MPC-0767의 임상적으로 관련된 농도에서 상승작용이 관찰되었다.

표 4

[0293] 시험된 모든 AML 세포주에서 MPC-0767 및 트라메티닙의 조합에 대해 획득된 조합 지수(CI) 값의 요약. CI 값 < 1은 상승작용을 나타낸다

		조합		
세포주	FLT3 & RAS 상태	MPC-0767 농도 (nM)	트라메티닙 농도 (nM)	CI 값
MOLM-13	FLT3-ITD; RAS WT	351	25	0.55
MOLM-14	FLT3-ITD; RAS WT	790	6.3	0.62
MV-4-11	FLT3-ITD; RAS WT	527	6.3	0.67
OCI-AML-2	FLT3 WT; RAS WT	790	0.78	0.64
ML2	FLT3 WT; RAS 돌연변이체	790	100	0.32

실시예 21: PD-L1 발현의 MPC-0767 억제는 T 세포 활성화를 증가시킨다

[0295] PD-1/PD-L1 경로를 차단하는 항체의 첨가는 시험관 내, 전임상 동물 모델, 및 암 환자에서 증가된 T 세포 반응을 자극한다. 이는 환자에서 종양의 퇴행(tumor regressions) 또는 종양의 제거(tumor clearance)를 유도할 수 있다. PD-L1 및 T 세포 활성화에 대한 MPC-0767의 영향을 조사하기 위하여, 발명자들은 PD-1+ 주르켓 T 세포가 NFAT 프로모터의 조절 하에 루시페라제를 발현하는 모델 시스템(프로메가(Promega), 본원에서 이하 주르켓 리포터 세포로 칭함)을 이용하였다. T 세포가 T 세포 수용체(TCR)를 통해 자극될 때, NFAT 경로의 활성화는 루시페라제의 발현을 주도한다. 따라서, 상기 모델 시스템에서 루시페라제는 T 세포 활성화의 대용 마커(surrogate marker)이다.

[0296] 도 29A에 도시된 바와 같이, THP-1 AML 세포를 주르켓 리포터 세포 및 저용량 항-CD3(10 ng/ml)와 함께 6시간 배양 시, 주르켓 리포터 세포의 TCR 주도된 활성화로 인해 루시페라제가 발현하게 된다. 도 29B는 IFN γ(50 ng/ml)로 24시간 동안 처리한 THP-1 세포가 T 세포를 활성화시키는 능력이 감소됨(감소된 루시페라제)을 도시한다. PD-L1 차단 항체(아테졸리주맙, 5 μg/ml)의 첨가가 T 세포 활성화를 처리되지 않은 수준으로 회복시키므로, 상기 결과는 PD-L1의 IFN γ-매개된 상향조절(upregulation)에 기인한 것으로 볼 수 있다.

[0297] 이어서 발명자들은 PD-L1의 MPC-0767 감소가 항-PD-L1 차단 항체와 유사하게 T 세포 자극을 증가시킬 수 있는지의 여부를 결정하였다. THP-1 세포를 MPC-0767(1 μM 또는 2 μM)의 존재 또는 부재 하에 IFN γ로 밤새 처리하였

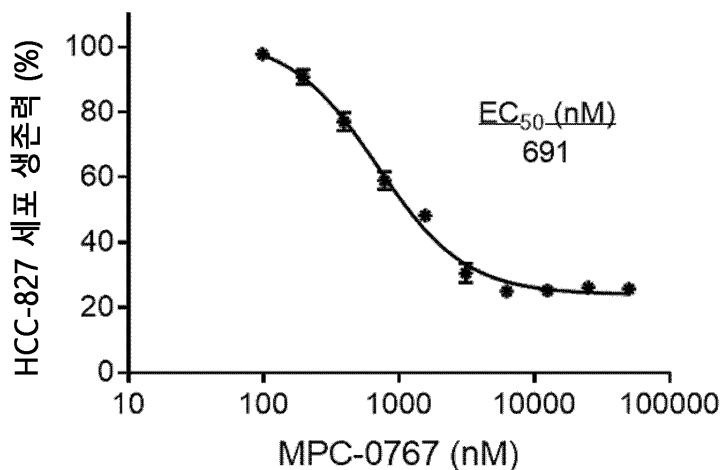
다. THP-1 세포를 세척 후 일부를 PD-L1 발현의 유세포 분석 분석을 위해 남겨두었다. 남은 세포를 주르켓 리포터 세포 및 항-CD3(10 ng/ml)와 함께 6시간 동안 배양하였다. MPC-0767은 THP-1 세포 상에서의 PD-L1 발현을 용량-의존적으로 감소시켰다(도 29C). MPC-0767은 또한 T 세포 활성화의 억제를 용량-의존적으로 감소시킬 수 있었으며(도 29D), 이는 MPC-0767에 의한 PD-L1 발현의 조절이 T 세포 활성에 대한 기능적 결과를 가짐을 입증한다.

[0298] 실시예 22: MPC-0767은 전신 생체 내 AML 모델에서 항-종양 활성을 나타낸다.

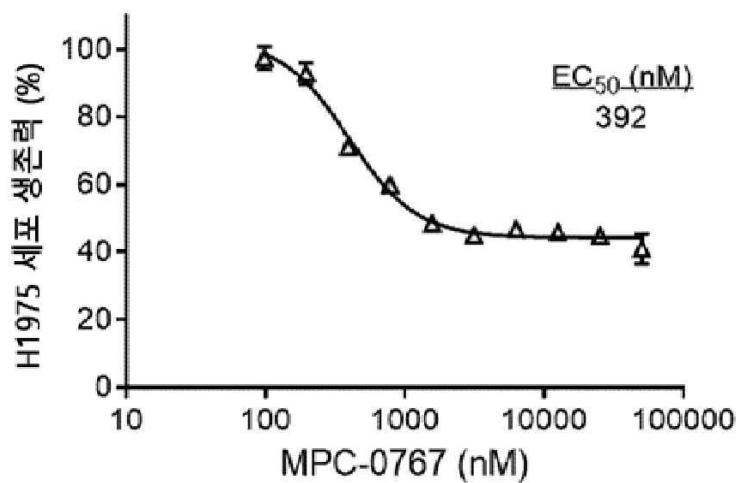
[0299] 생체 내에서 MPC-0767 활성을 추가로 시험하기 위하여, MOLM-13 FLT3-ITD를 포함하는 AML 세포주를 이용하여 전신 생존 이종이식 연구를 수행하였다. 종양 세포 접종 전, NOD/SCID 마우스를 2일간 매일 100 mg/kg의 사이클로포스파미드를 복강 내 주사로 전처리하여 인간 MOLM-13 종양 세포의 생착을 촉진하였다. 사이클로포스파미드를 주사 후, 상기 동물을 인간 MOLM-13 종양 세포로 접종 전에 24시간 동안 회복하게 하였다. 이어서 각 마우스에 정맥 내 꼬리 정맥 주사를 통해 100 μ l PBS 중의 1×10^7 개의 MOLM-13 세포를 접종하였다. 이어서 마우스를 6마리씩 3개의 그룹으로 무작위 분류하였다. 종양 접종 후 3일째에, 마우스에 비히클, 75 mg/kg MPC-0767 또는 150 mg/kg의 MPC-0767을 하루에 한 번 투여하고 생존을 모니터링하였다. 생존력 및 체중 감소를 매일 모니터링하였다. 현저한 체중 감소 및/또는 임상 증상(마비, 저체온증 또는 빈호흡)은 오직, 3개의 모든 그룹에서 증상 직전에 관찰되었다. 도 30에 도시된 바와 같이, MPC-0767은 중간 생존율 75 mg/kg에서 1.5일 및 150 mg/kg에서 10일까지 현저히 증가시켰다($P < 0.01$, 로그 순위(멘델 쿡스) 검정). 요약하면, MPC-0767은 현저한 용량-의존적인 항-종양 활성을 나타내었다.

도면

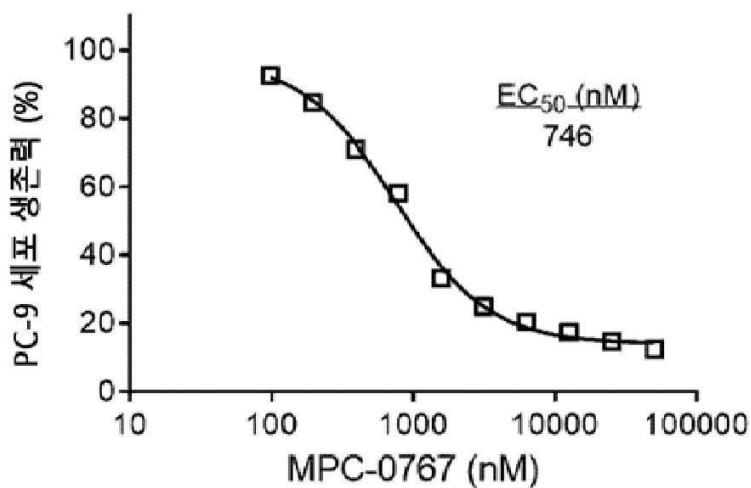
도면 1a



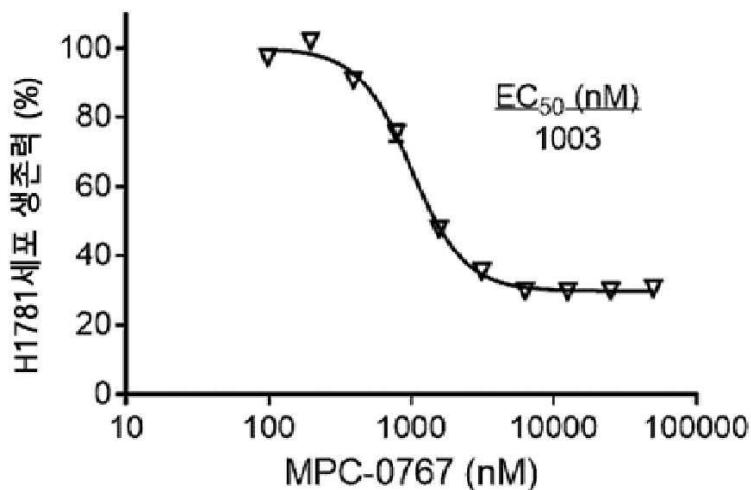
도면 1b



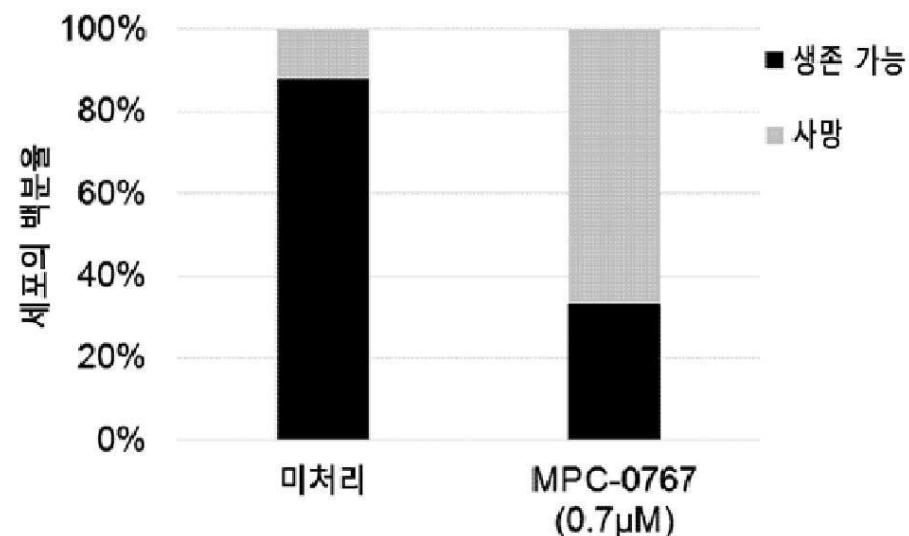
도면 1c



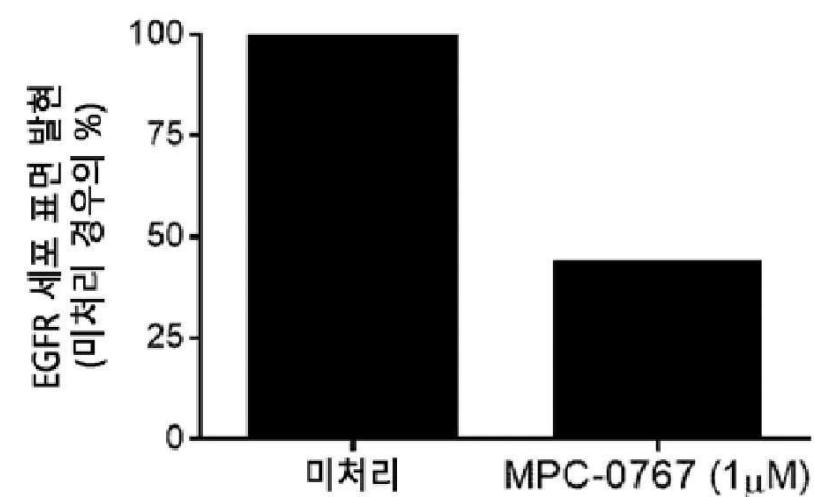
도면 1d



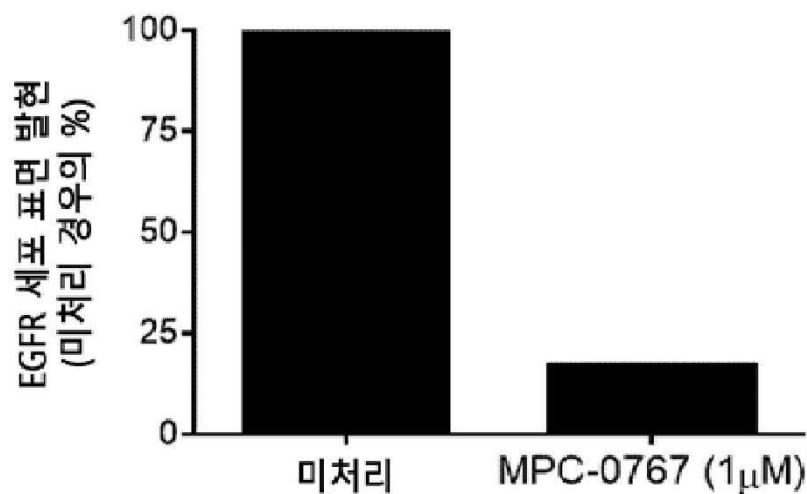
도면2



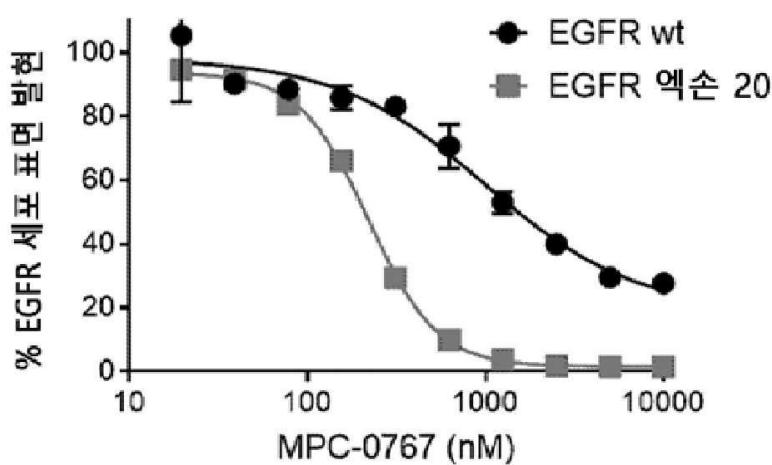
도면3a



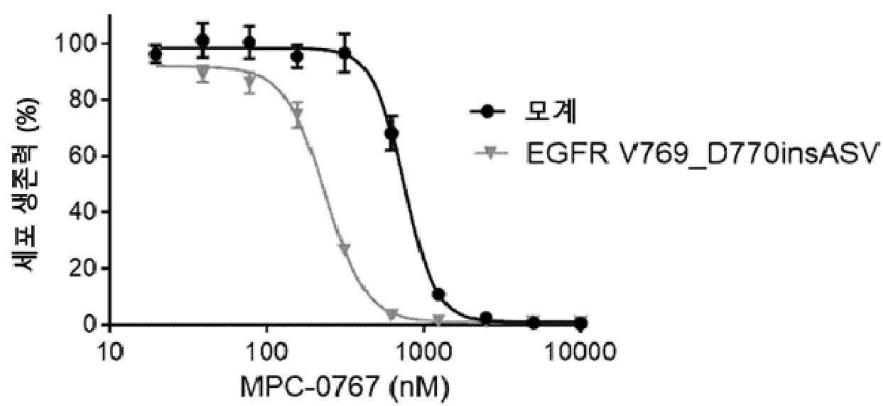
도면3b



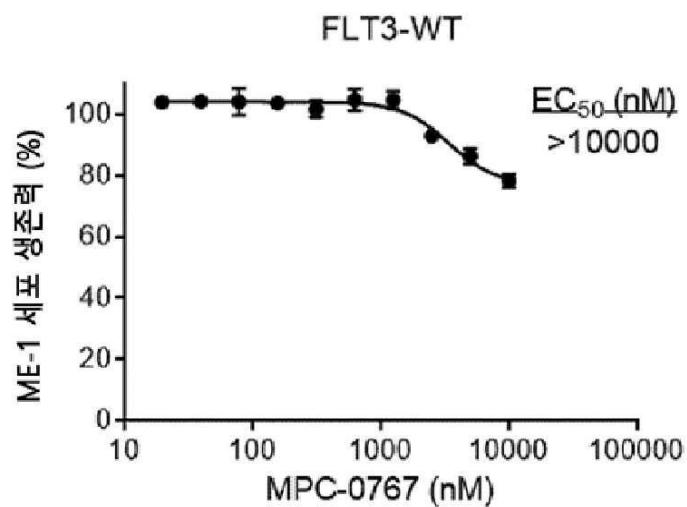
도면4a



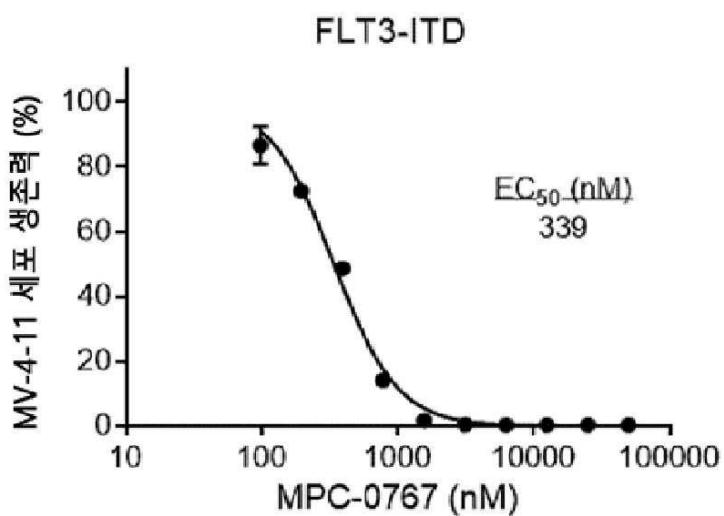
도면4b



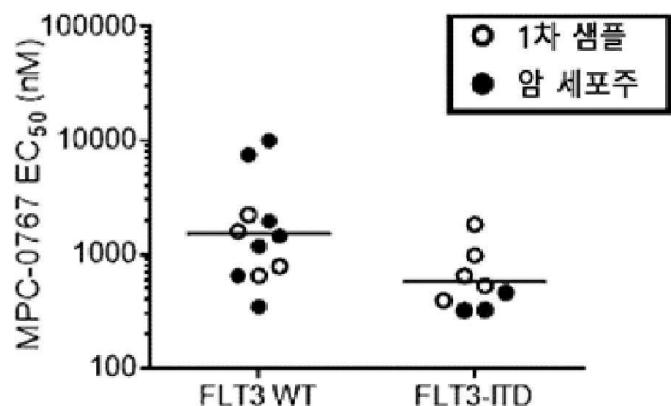
도면5a



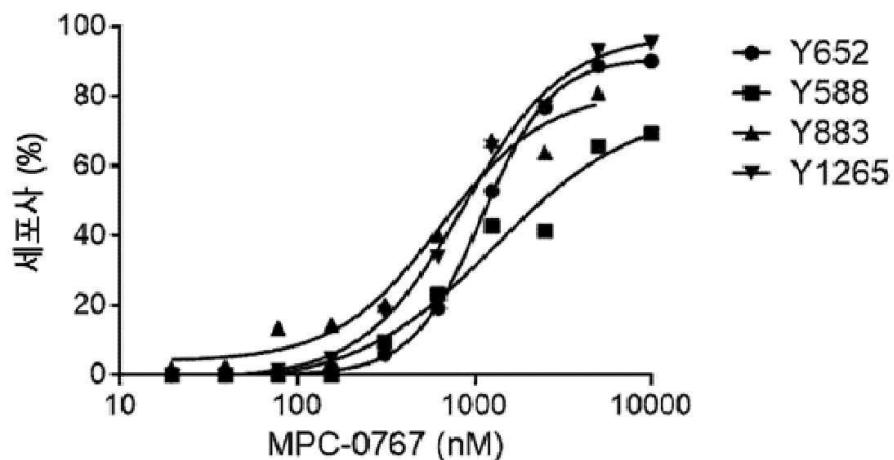
도면5b



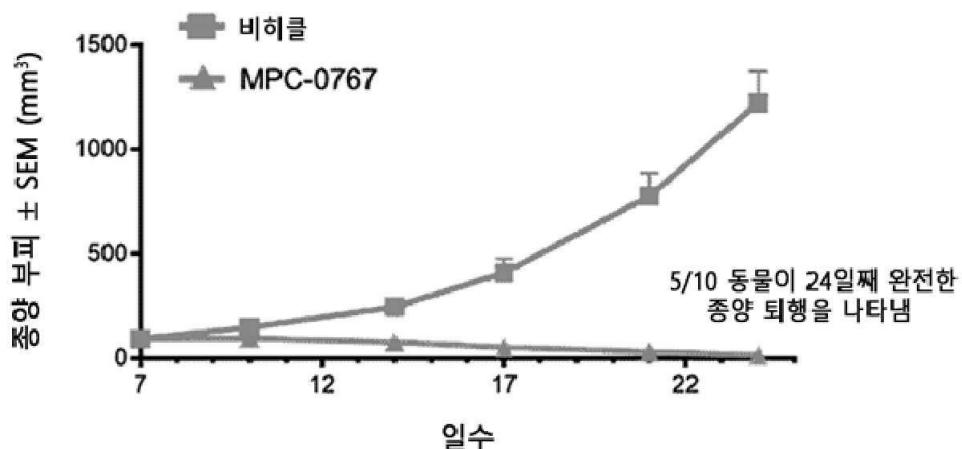
도면5c



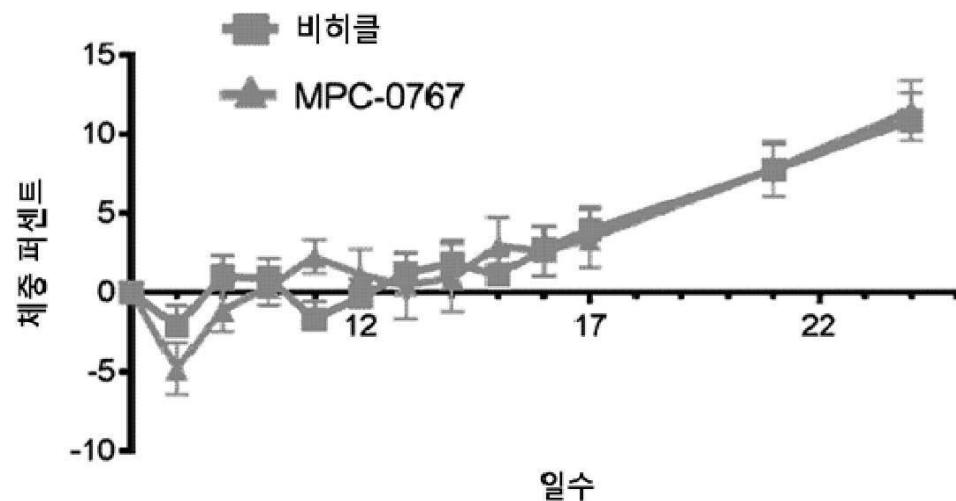
도면6



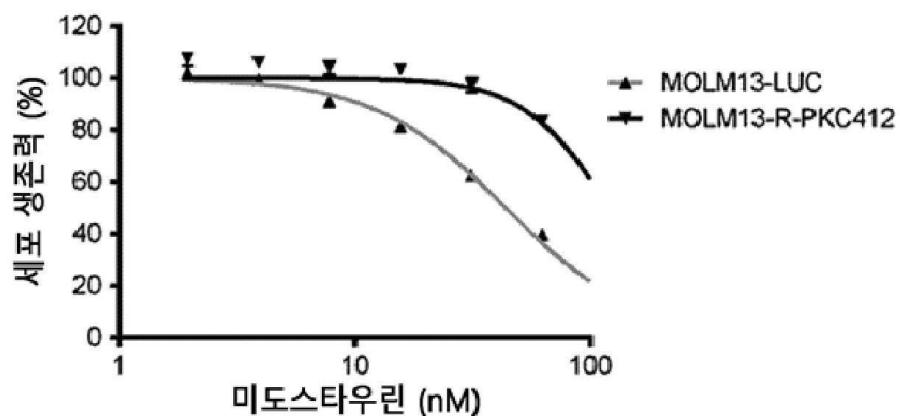
도면7a



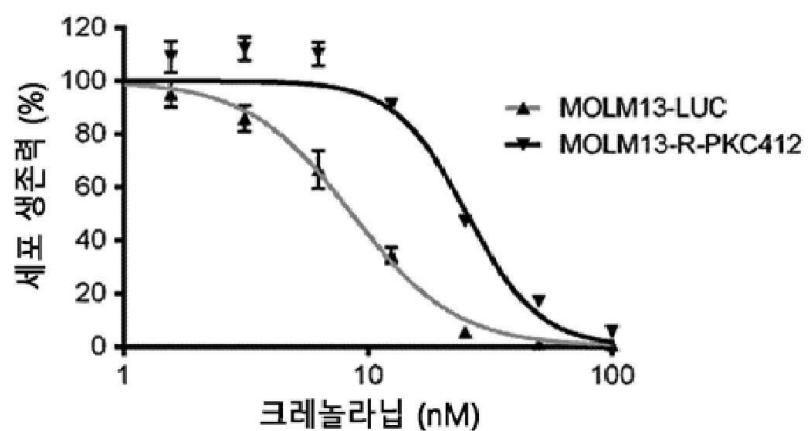
도면7b



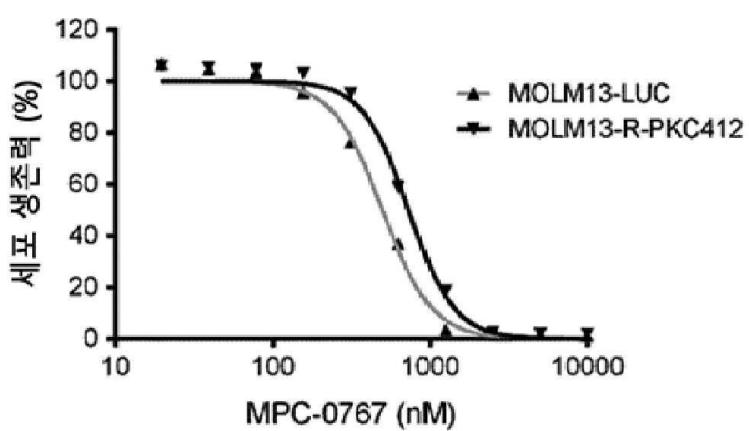
도면8a



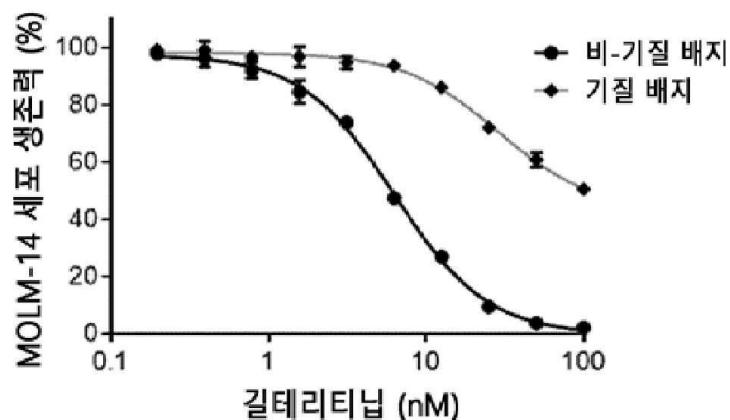
도면8b



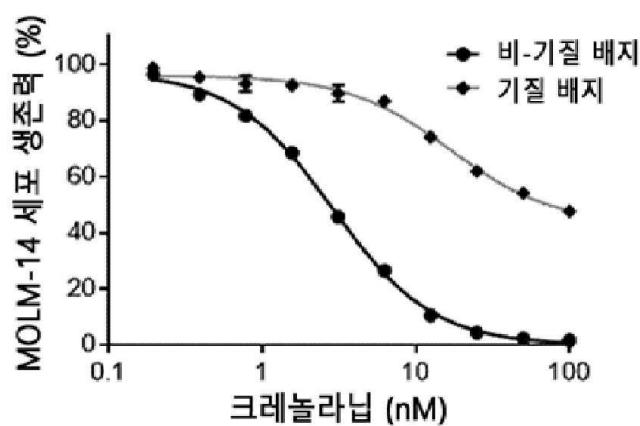
도면8c



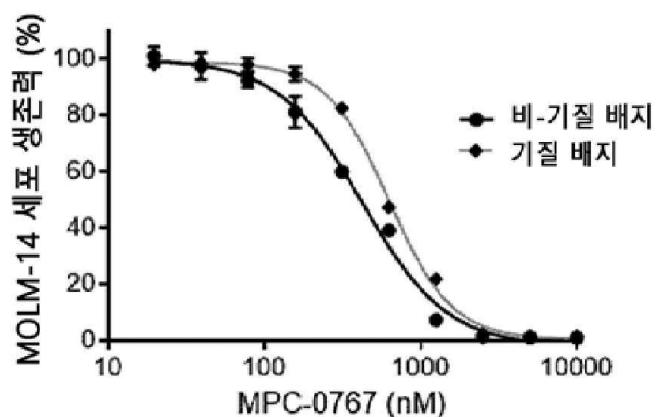
도면9a



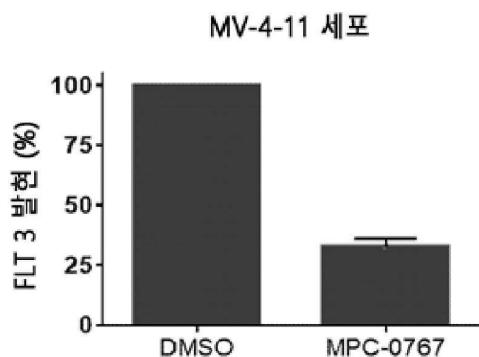
도면9b



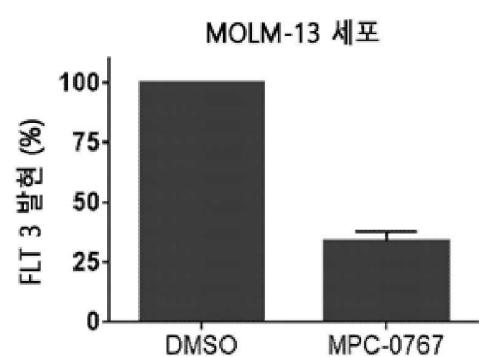
도면9c



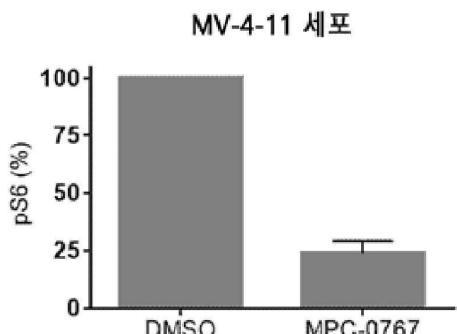
도면10a



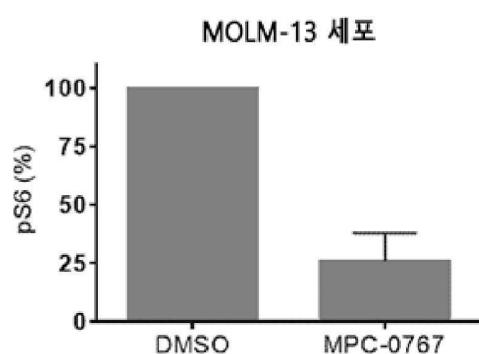
도면10b



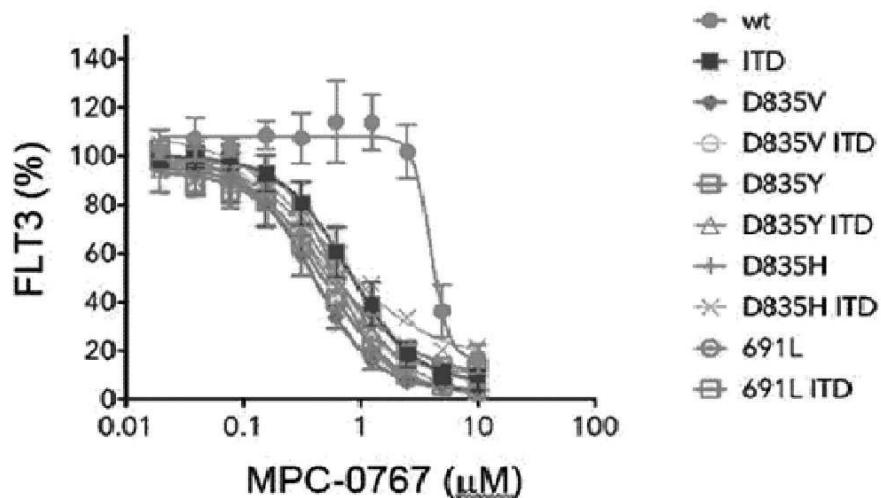
도면10c



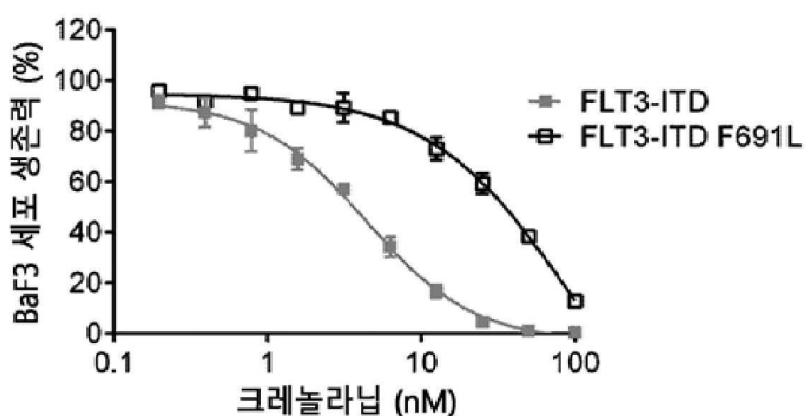
도면10d



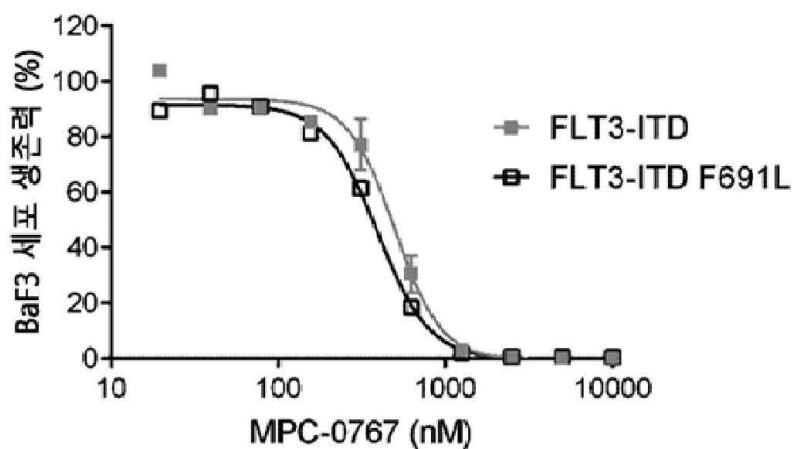
도면11a



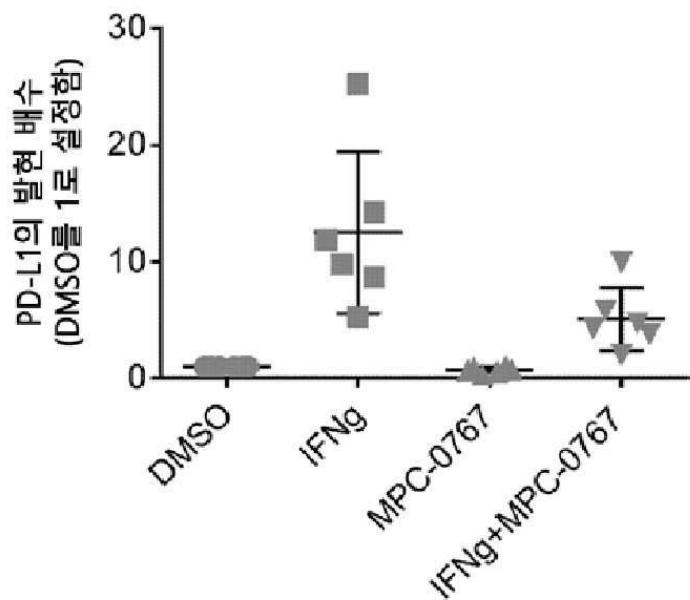
도면11b



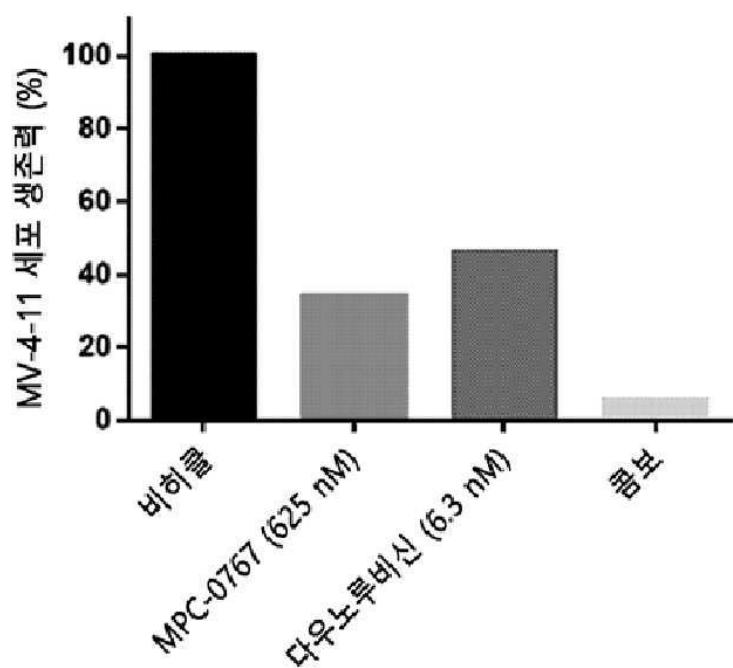
도면11c



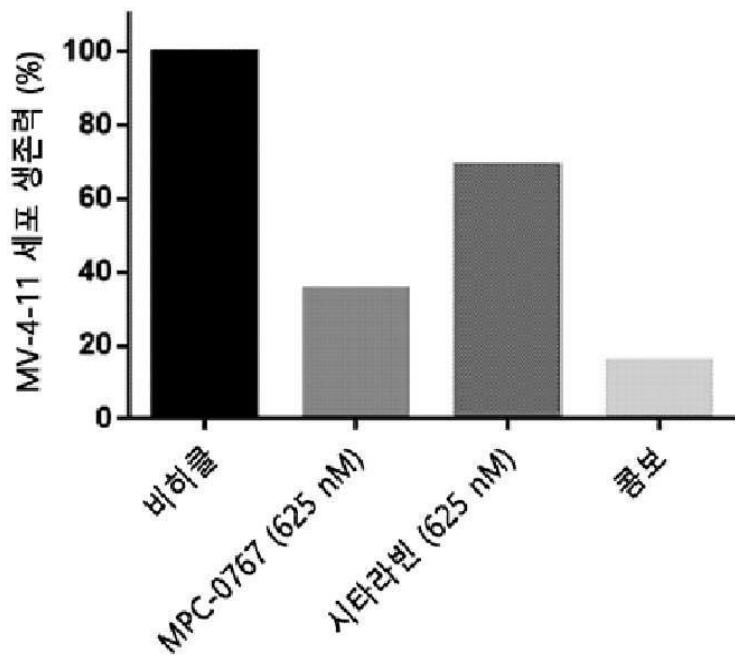
도면12



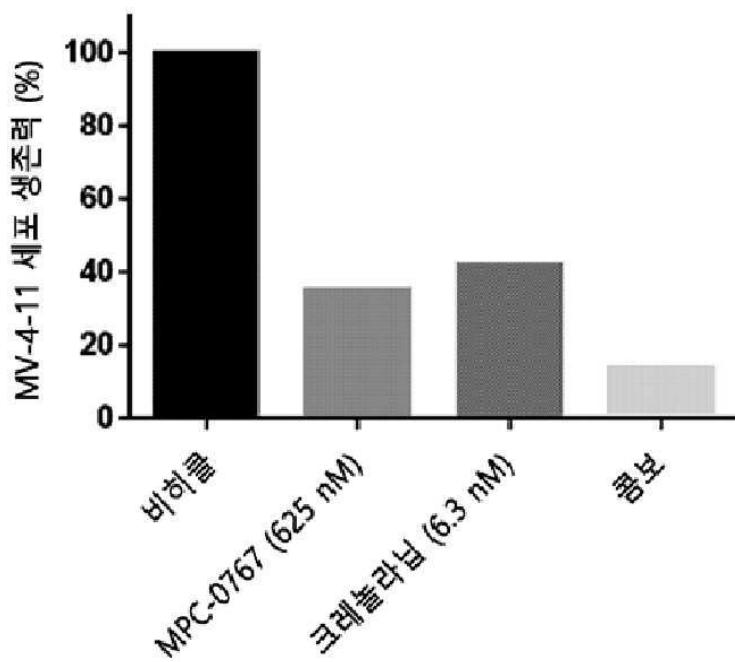
도면13a



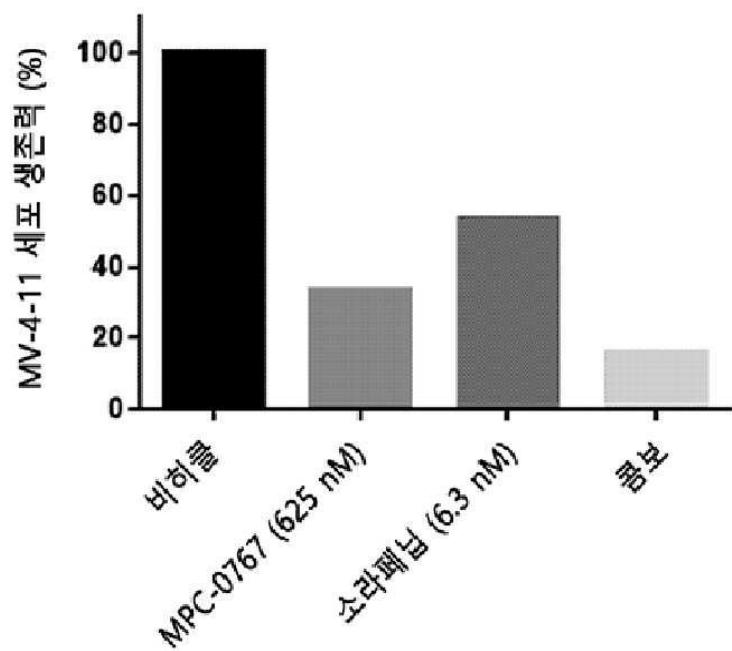
도면 13b



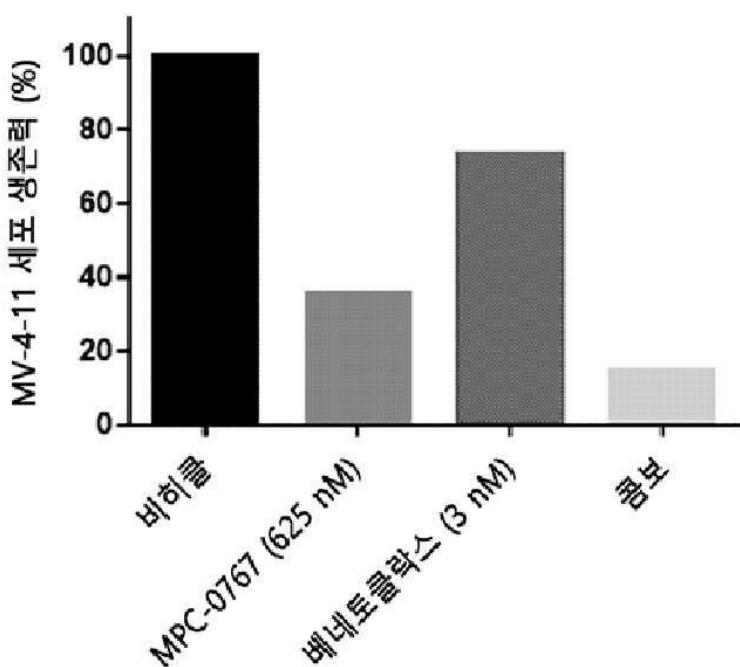
도면 13c



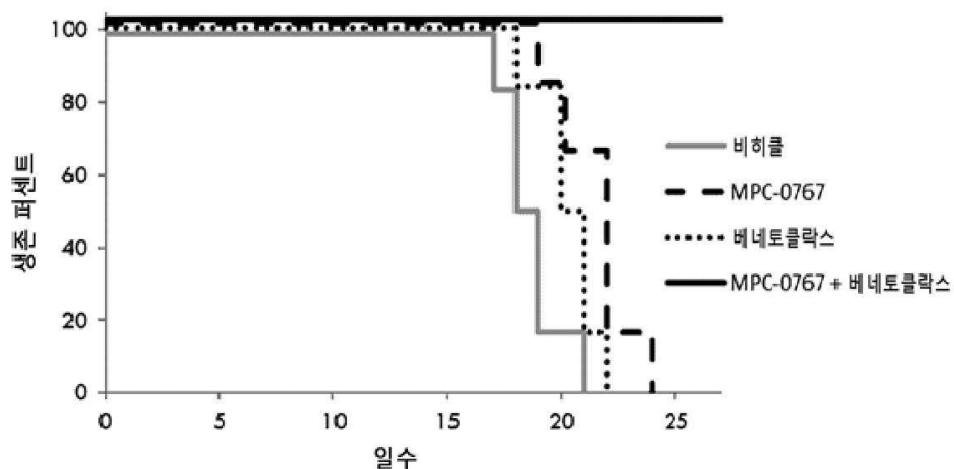
도면 13d



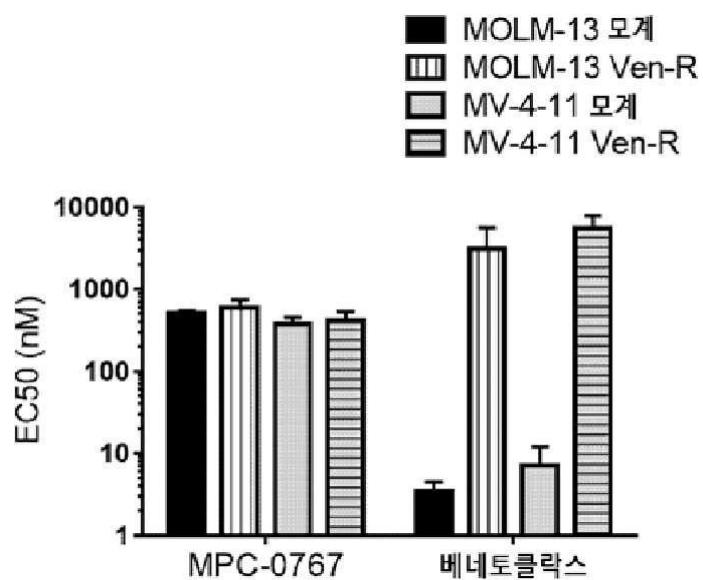
도면 13e



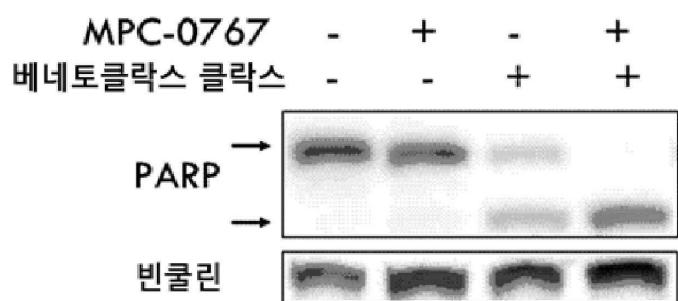
도면14



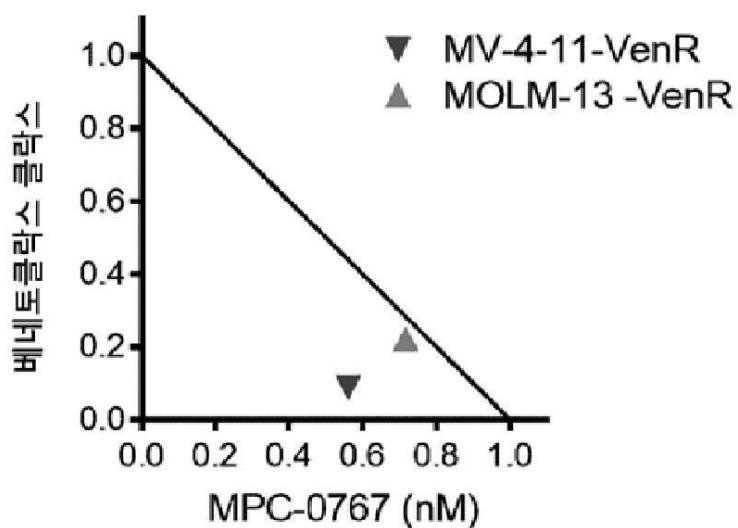
도면15



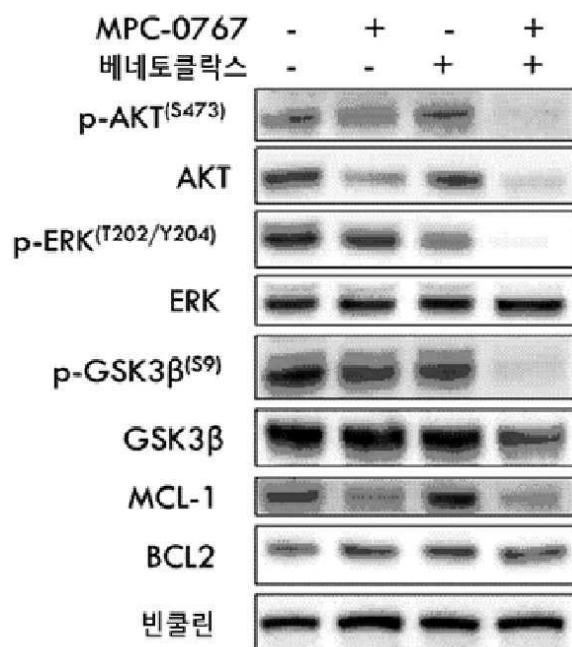
도면16a



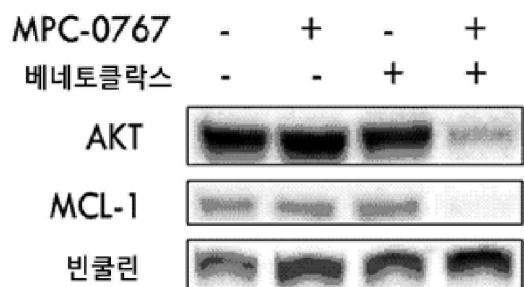
도면16b



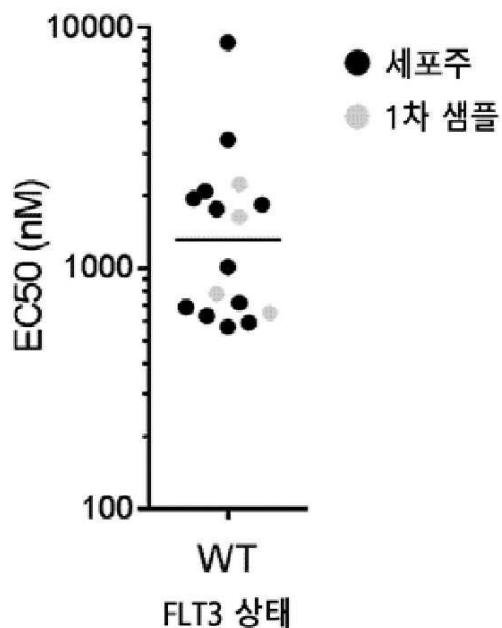
도면17a



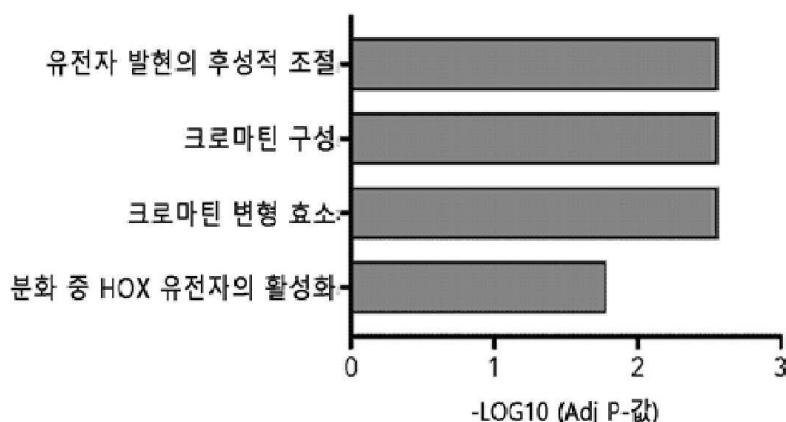
도면17b



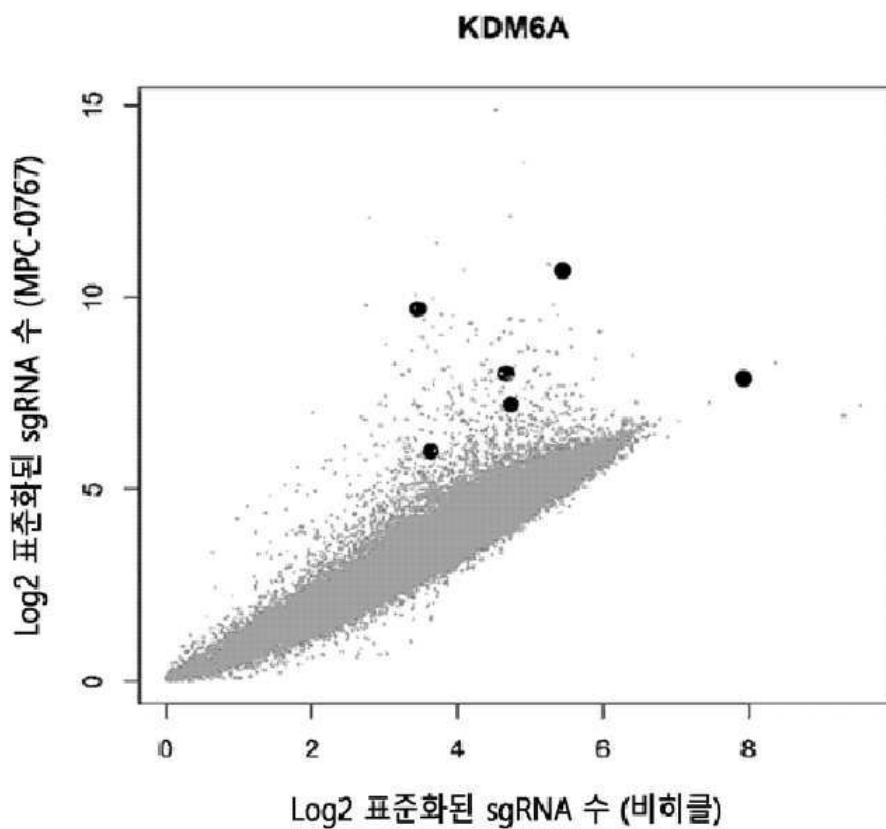
도면18



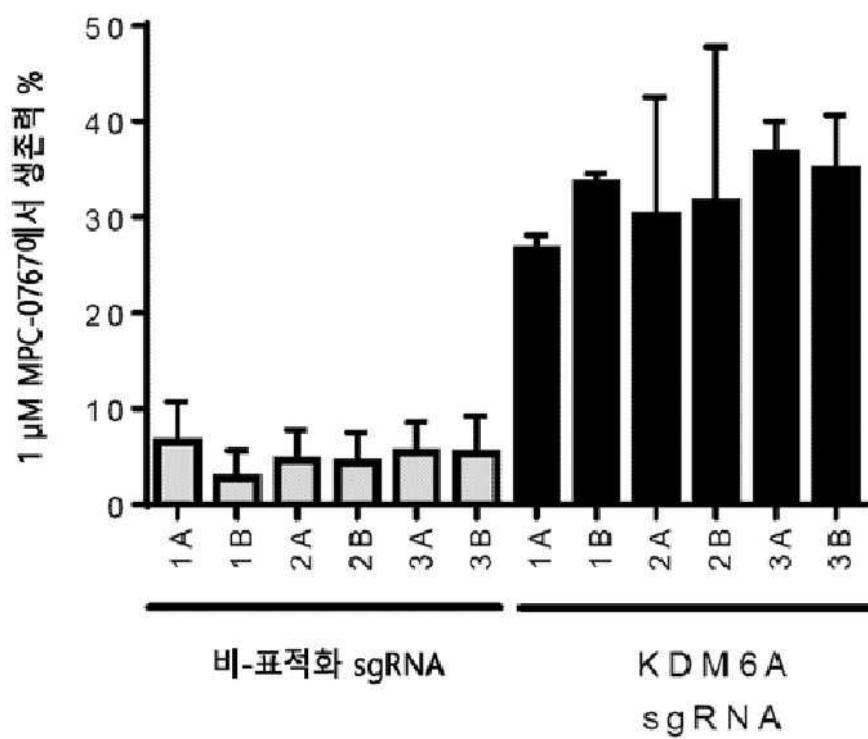
도면19a



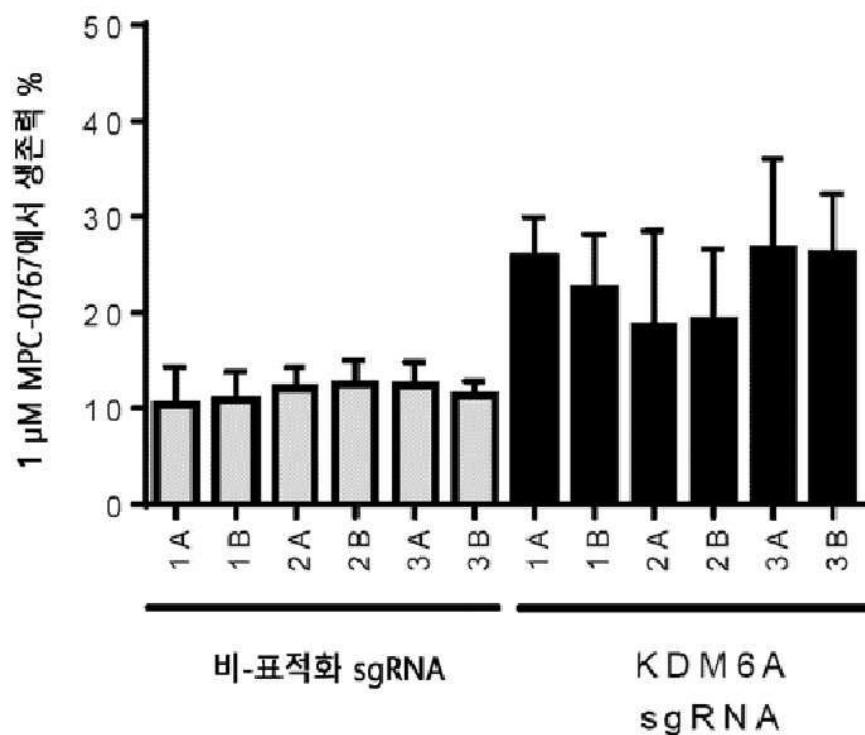
도면 19b



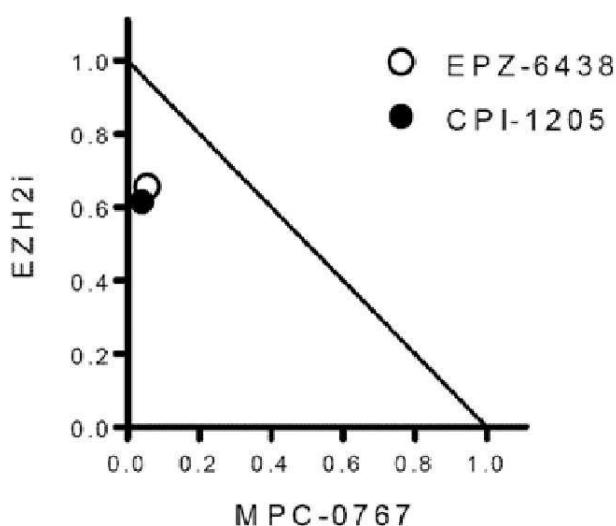
도면 20a



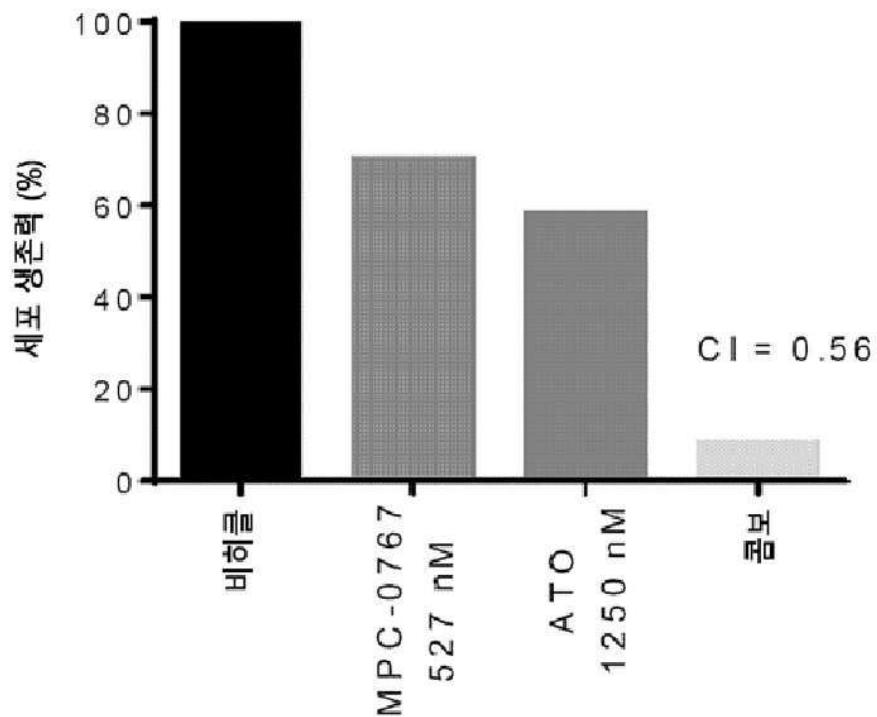
도면20b



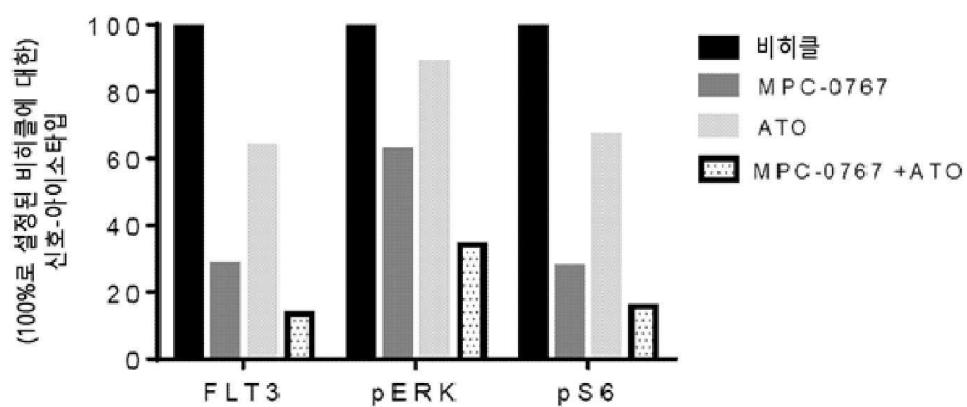
도면21



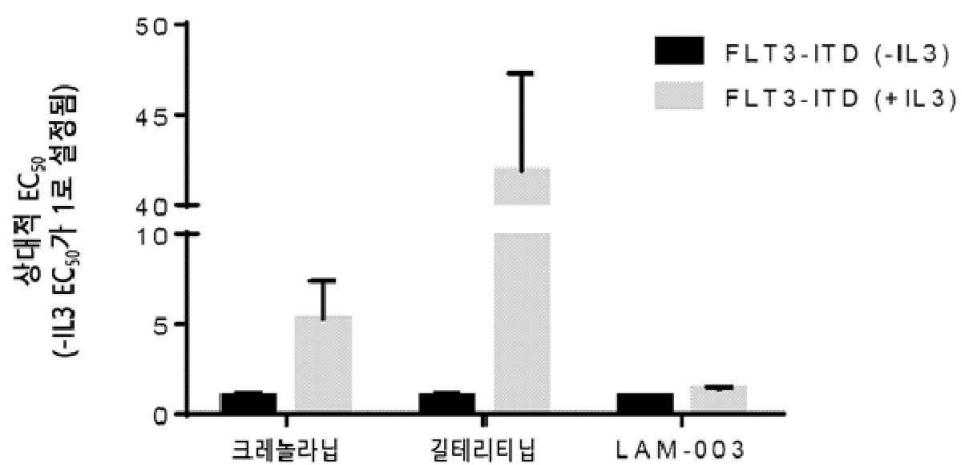
도면22



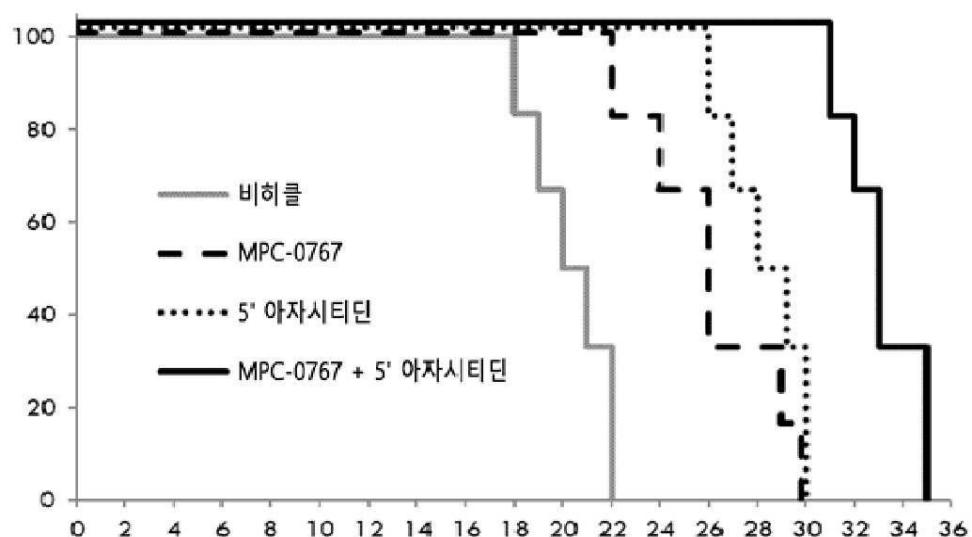
도면23



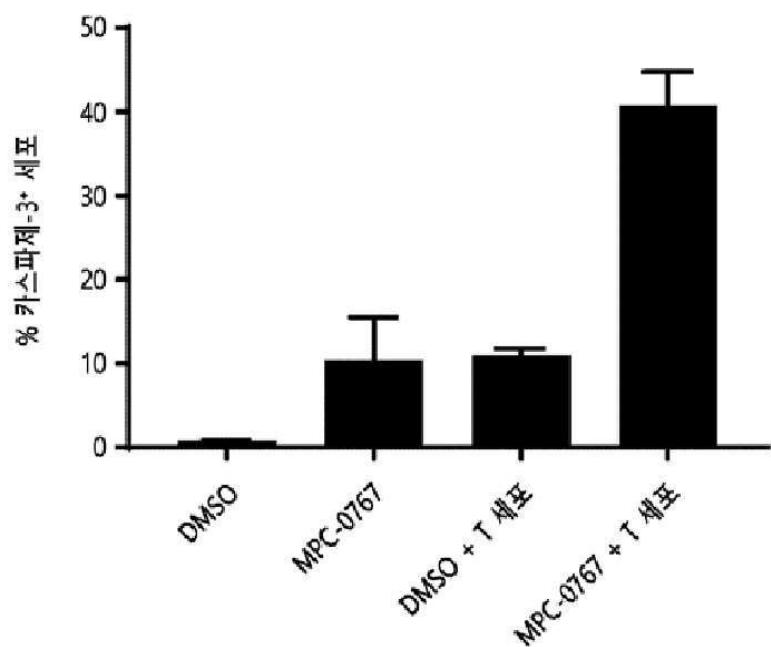
도면24



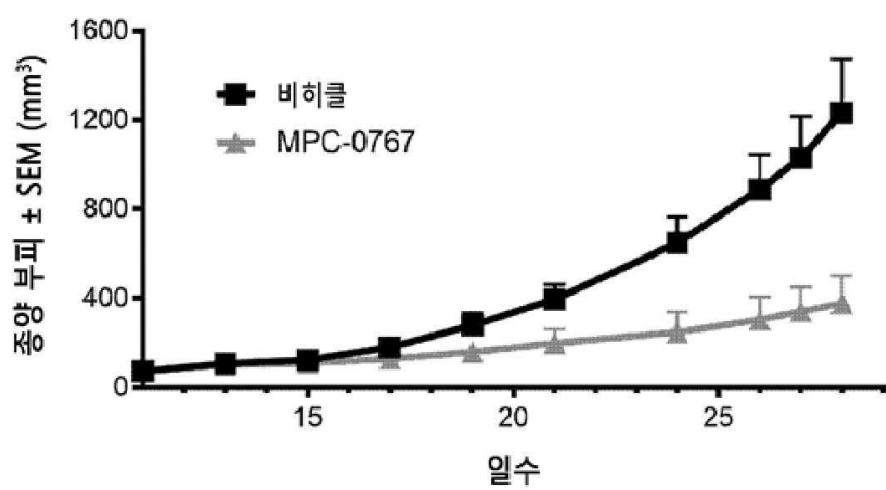
도면25



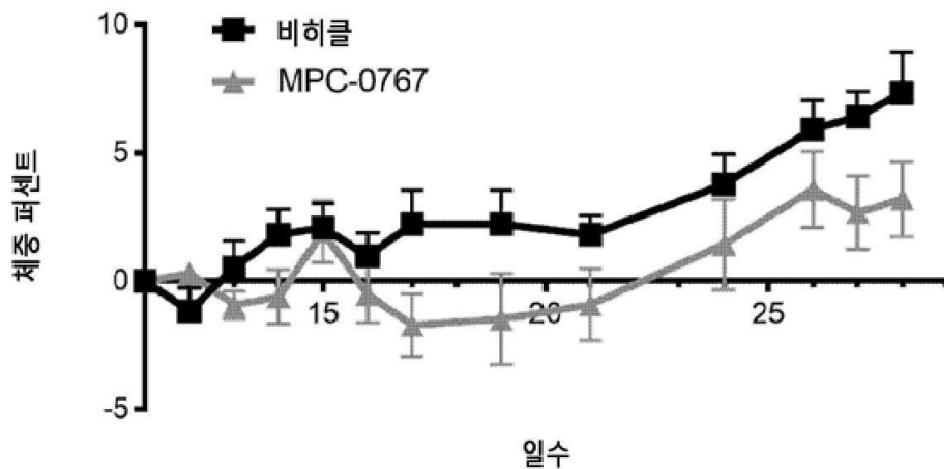
도면26



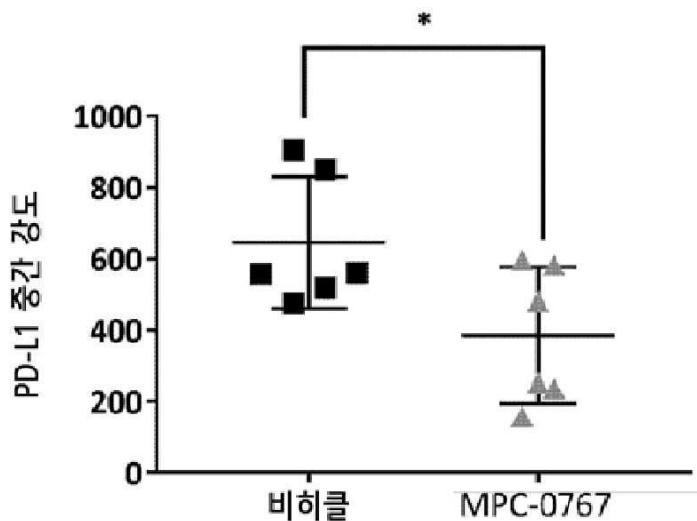
도면27a



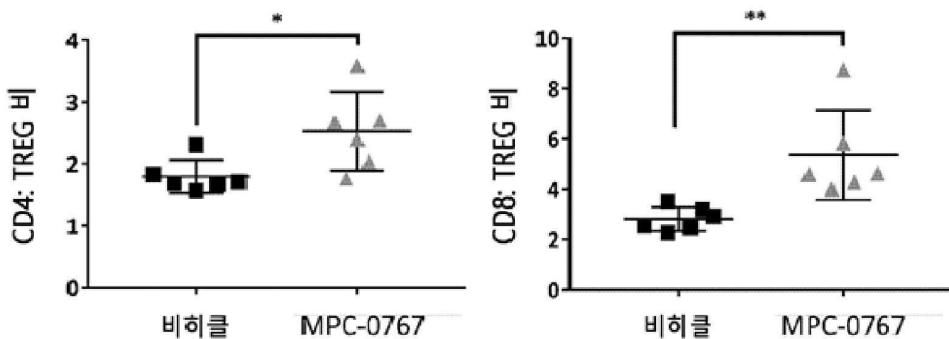
도면27b



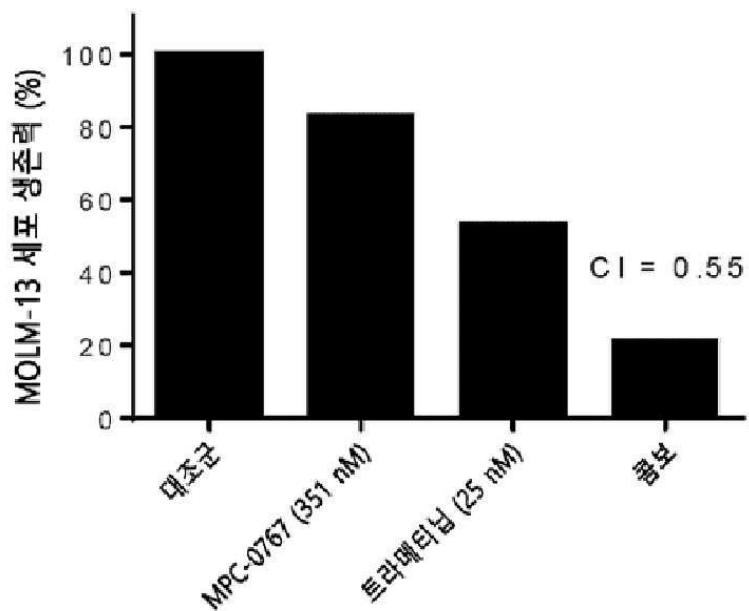
도면27c



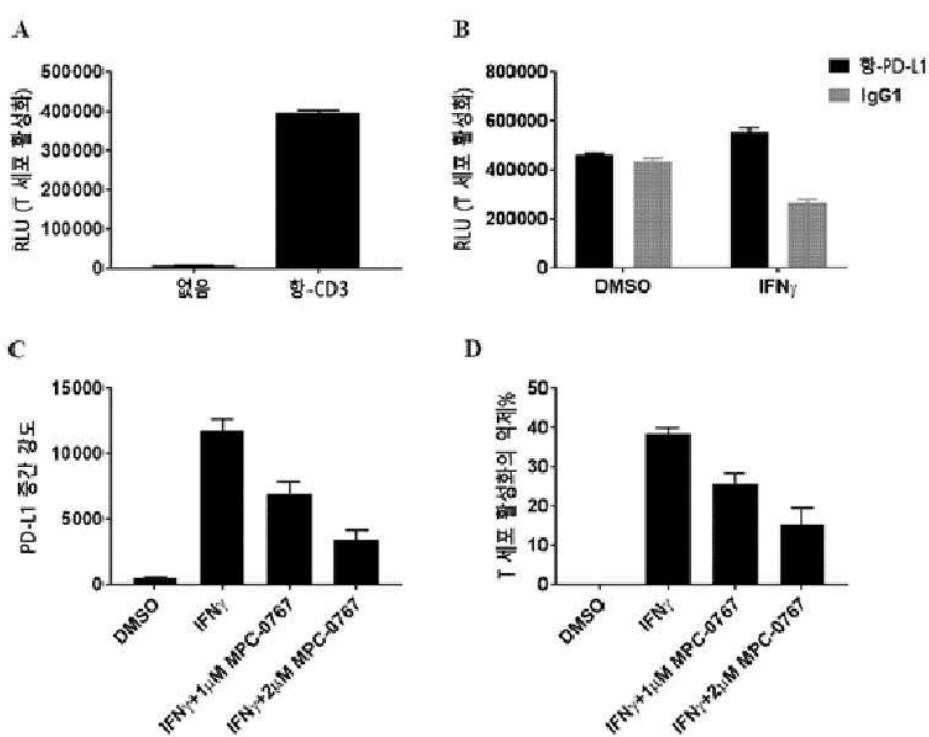
도면27d



도면28



도면29



도면30

