(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0020560
(43) 공개일자 2023년02월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/519 (2006.01) *A61K 31/337* (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/519 (2013.01)
A61K 31/337 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7002817(분할)
(22) 출원일자(국제) 2017년04월14일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2018-7033030
원출원일자(국제) 2017년04월14일
심사청구일자 2020년04월13일
(85) 번역문제출일자 2023년01월25일
(86) 국제출원번호 PCT/US2017/027734
(87) 국제공개번호 WO 2017/181087
국제공개일자 2017년10월19일
(30) 우선권주장
62/323,583 2016년04월15일 미국(US)

(71) 출원인
펠리시텍스 쎄라퓨틱스, 인코포레이티드
미국 매사추세츠주 02468 뉴턴 리지 로드 45
(72) 발명자
빌렌칙 마리아
미국 매사추세츠주 02468 뉴턴 리지 로드 45
프라이드 마이클
미국 매사추세츠주 02155 메드퍼드 #414 리비어 비치 파크웨이 30
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
장훈

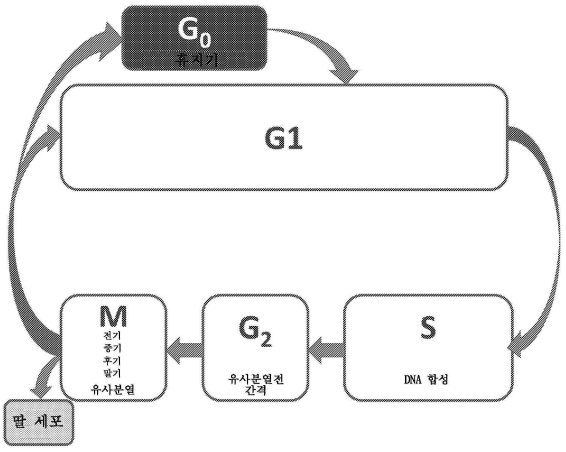
전체 청구항 수 : 총 51 항

(54) 발명의 명칭 **정지 세포 표적화 및 유사분열 억제제를 이용하는 신생물 치료를 위한 조합**

(57) 요 약

본 발명은 신생물을 치료하기 위한 조성물 및 방법, 특히, 특정 신생물 병태에 대해 효과적인 다른 치료, 특히, 유사분열 억제제 치료제 (유사분열 억제제)의 항암 치료와 조합된 치료제에 의해 정지 암 세포를 표적으로 함으로써 신생물을 치료하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61K 45/06 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
A61K 2300/00 (2013.01)
(72) 발명자
쿠즈넷소바 알렉산드라
미국 매사추세츠주 01760 나티크 워크업 코트 8
간킨 유리이
미국 매사추세츠주 02459 뉴턴 브루클린 스트리트 335
듀이 마크
미국 펜실베니아주 19425 체스터 스프링스 아트 스쿨 로드 2000

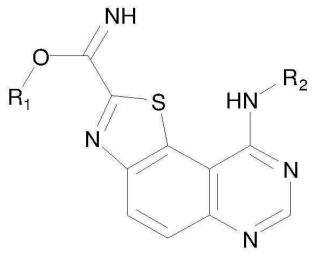
명 세 서

청구범위

청구항 1

신생물을 갖는 대상체를 치료하는 방법으로서, 상기 방법이 DYRK1 억제제를 상기 대상체에게 순차적으로 또는 동시에 투여하고 유사분열 억제제를 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하고, 여기서, 상기 DYRK1 억제제는 하기 화학식 I 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물을 갖는, 방법:

[화학식 I]



상기 화학식 I에서,

R_1은 치환되거나 비치환된 C_{1-8} 알킬, 치환되거나 비치환된 페닐, 또는 치환되거나 비치환된 벤질이고;

R_2는 할로, CN, NO_2, $NHC(O)C_{1-4}$ 알킬, C_{1-4} 알킬, OH 및 OC_{1-4} 알킬로부터 독립적으로 선택된 4개 이하의 그룹에 의해 임의로 치환된 페닐이며, 여기서, 2개의 인접 그룹 및 이들의 개입 탄소 원자는 N, O 또는 S로부터 선택된 하나 이상의 헤테로 원자를 함유하는 5원 및 6원 고리를 형성할 수 있다.

청구항 2

제1항에 있어서, 유효량의 방사선 요법을 상기 대상체에게 투여하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 치료되는 상기 신생물이 담관암, 뇌암, 유방암, 자궁경부암, 결장암, 위암, 신장암, 두경부암, 백혈병, 간암, 폐암, 림프종, 난소암, 췌장암, 전립선암, 직장암, 육종, 피부암, 고환암, 갑상선암, 자궁암, 방광암, 유방암, 대장암, 난소암 및 전립선암으로부터 선택된 원발암 또는 전이암인, 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 치료되는 상기 신생물이 결장암, 비-소세포 폐암, 난소암, 전립선암, 소세포 폐암 및 췌장암으로부터 선택된 원발암 또는 전이암인, 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 유사분열 억제제가 탁산, 빈카 알칼로이드 또는 PLK1 억제제인, 방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 유사분열 억제제가 BMS-188796, BMS-188797, 카바지탁셀, DEP 카바지탁셀, 도세탁셀, 라로탁셀 (XRP9881, RPR109881), 파클리탁셀, 탁소프렉신 (DHA-파클리탁셀) 및 테세탁셀 (DJ-927)로부터 선택되는, 방법.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 유사분열 억제제가 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 빈플루닌 및 비노렐빈으로부터 선택되는, 방법.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 유사분열 억제제가 빈타폴라이드인, 방법.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 유사분열 억제제가 BI-2536, GSK461364, GW843682X, HMN-214 및 HMN-176, MLN-0905, NMS-P937, 리고세르팁, Ro3280, SBE 13 및 볼라설팁으로부터 선택되는, 방법.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 DYRK1 억제제가 I-1, I-2, I-3, I-4, I-5, I-6 및 I-7로부터 선택되는, 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 유사분열 억제제가 탁산, 빈카 알칼로이드 또는 PLK1 억제제인, 방법.

청구항 12

제10항에 있어서, 유효량의 방사선 요법을 상기 대상체에게 투여하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 13

제10항에 있어서, 상기 유사분열 억제제가 BMS-188796, BMS-188797, 카바지탁셀, DEP 카바지탁셀, 도세탁셀, 라로탁셀 (XRP9881, RPR109881), 파클리탁셀, 탁소프렉신 (DHA-파클리탁셀) 및 테세탁셀 (DJ-927)로부터 선택되는, 방법.

청구항 14

제10항에 있어서, 상기 유사분열 억제제가 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 빈플루닌 및 비노렐빈으로부터 선택되는, 방법.

청구항 15

제10항에 있어서, 상기 유사분열 억제제가 빈타폴라이드인, 방법.

청구항 16

제10항에 있어서, 상기 유사분열 억제제가 BI-2536, GSK461364, GW843682X, HMN-214 및 HMN-176, MLN-0905, NMS-P937, 리고세르팁, Ro3280, SBE 13 및 볼라설팁으로부터 선택되는, 방법.

청구항 17

제10항에 있어서, 치료되는 상기 신생물이 담관암, 뇌암, 유방암, 자궁경부암, 결장암, 위암, 신장암, 두경부암, 백혈병, 간암, 폐암, 림프종, 난소암, 췌장암, 전립선암, 직장암, 육종, 피부암, 고환암, 갑상선암, 자궁암, 방광암, 유방암, 대장암, 난소암 및 전립선암으로부터 선택된 원발암 또는 전이암인, 방법.

청구항 18

제10항에 있어서, 치료되는 상기 신생물이 결장암, 비-소세포 폐암, 난소암, 전립선암, 소세포 폐암 및 췌장암으로부터 선택된 원발암 또는 전이암인, 방법.

청구항 19

신생물을 갖는 대상체를 치료하는 방법으로서, 상기 방법이

(a) DYRK1A 또는 DYRK1B 키나아제 활성을 생화학 검정법에서 100 nM 이하의 IC_{50}으로 억제하고 그렇지 않으면 이러한 억제제의 부재하에 발견되는 정지 암 세포 (*시험관내* 또는 *생체내*)의 분율을 적어도 10% 감소시키는 DYRK1 억제제를 순차적으로 또는 동시에 상기 대상체에게 투여하고;

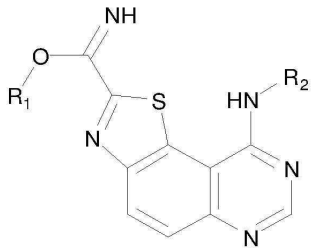
(b) 유사분열 억제제를 상기 대상체에게 투여하는 것

을 포함하는, 방법.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 DYRK1 억제제가 하기 화학식 I 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물을 갖는, 방법:

[화학식 I]



상기 화학식 I에서,

R_1은 치환되거나 비치환된 C_{1-8} 알킬, 치환되거나 비치환된 페닐, 또는 치환되거나 비치환된 벤질이고;

R_2는 할로, CN, NO_2, $NHC(O)C_{1-4}$ 알킬, C_{1-4} 알킬, OH 및 OC_{1-4} 알킬로부터 독립적으로 선택된 4개 이하의 그룹에 의해 임의로 치환된 페닐이며, 여기서, 2개의 인접 그룹 및 이들의 개입 탄소 원자는 N, O 또는 S로부터 선택된 하나 이상의 헤테로 원자를 함유하는 5원 및 6원 고리를 형성할 수 있다.

청구항 21

제19항에 있어서, 유효량의 방사선 요법을 상기 대상체에게 투여하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 22

제19항에 있어서, 치료되는 상기 신생물이 담관암, 뇌암, 유방암, 자궁경부암, 결장암, 위암, 신장암, 두경부암, 백혈병, 간암, 폐암, 림프종, 난소암, 췌장암, 전립선암, 직장암, 육종, 피부암, 고환암, 갑상선암, 자궁암, 방광암, 유방암, 대장암, 난소암 및 전립선암으로부터 선택된 원발암 또는 전이암인, 방법.

청구항 23

제19항에 있어서, 치료되는 상기 신생물이 원발성 또는 전이성 결장암, 비-소세포 폐암, 난소암, 전립선암, 소세포 폐암 또는 췌장암인, 방법.

청구항 24

제19항에 있어서, 상기 유사분열 억제제가 탁산, 빈카 알칼로이드 또는 PLK1 억제제인, 방법.

청구항 25

제19항에 있어서, 상기 유사분열 억제제가 BMS-188796, BMS-188797, 카바지탁셀, DEP 카바지탁셀, 도세탁셀, 라로탁셀 (XRP9881, RPR109881), 파클리탁셀, 탁소프렉신 (DHA-파클리탁셀) 및 테세탁셀 (DJ-927)로부터 선택되는, 방법.

청구항 26

제19항에 있어서, 상기 유사분열 억제제가 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 빈플루닌 및 비노렐빈으로부터 선택되는, 방법.

청구항 27

제19항에 있어서, 상기 유사분열 억제제가 빈타폴라이드인, 방법.

청구항 28

제19항에 있어서, 상기 유사분열 억제제가 BI-2536, GSK461364, GW843682X, HMN-214 및 HMN-176, MLN-0905, NMS-P937, 리고세르팁, Ro3280, SBE 13 및 볼라설팁의 목록으로부터 선택되는, 방법.

청구항 29

제19항에 있어서, 상기 DYRK1 억제제가 I-1, I-2, I-3, I-4, I-5, I-6 및 I-7로부터 선택되는, 방법.

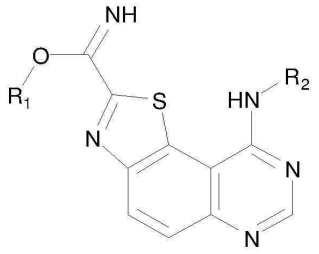
청구항 30

신생물을 갖는 대상체를 치료하는 방법으로서, 상기 방법이 DYRK1 억제제를 상기 대상체에게 순차적으로 또는 동시에 투여하고 유사분열 억제제를 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하고, 여기서, 상기 유사분열 억제제의 EC_{50} 값은 세포 기반 검정법으로 측정될 때, 유사분열 억제제 단독에 의한 동일 치료와 비교하여, 조합 치료에서 적어도 20% 더 낮은, 방법.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 DYRK1 억제제가 하기 화학식 I 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물을 갖는, 방법:

[화학식 I]



상기 화학식 I에서,

R_1은 치환되거나 비치환된 C_{1-8} 알킬, 치환되거나 비치환된 페닐, 또는 치환되거나 비치환된 벤질이고;

R_2는 할로, CN, NO_2, $NHC(O)C_{1-4}$ 알킬, C_{1-4} 알킬, OH 및 OC_{1-4} 알킬로부터 독립적으로 선택된 4개 이하의 그룹에 의해 임의로 치환된 페닐이며, 여기서, 2개의 인접 그룹 및 이들의 개입 탄소 원자는 N, O 또는 S로부터 선택된 하나 이상의 헤테로 원자를 함유하는 5원 및 6원 고리를 형성할 수 있다.

청구항 32

제30항에 있어서, 유효량의 방사선 요법을 상기 대상체에게 투여하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 33

제30항에 있어서, 치료되는 상기 신생물이 담관암, 뇌암, 유방암, 자궁경부암, 결장암, 위암, 신장암, 두경부암, 백혈병, 간암, 폐암, 림프종, 난소암, 췌장암, 전립선암, 직장암, 육종, 피부암, 고환암, 갑상선암, 자궁암, 방광암, 유방암, 대장암, 난소암 및 전립선암으로부터 선택된 원발암 또는 전이암인, 방법.

청구항 34

제30항에 있어서, 치료되는 상기 신생물이 원발성 또는 전이성 결장암, 비-소세포 폐암, 난소암, 전립선암, 소세포 폐암 또는 췌장암인, 방법.

청구항 35

제30항에 있어서, 상기 유사분열 억제제가 탁산, 빈카 알칼로이드 또는 PLK1 억제제인, 방법.

청구항 36

제30항에 있어서, 상기 유사분열 억제제가 BMS-188796, BMS-188797, 카바지탁셀, DEP 카바지탁셀, 도세탁셀, 라

로탁셀 (XRP9881, RPR109881), 파클리탁셀, 탁소프렉신 (DHA-파클리탁셀) 및 테세탁셀 (DJ-927)로부터 선택되는, 방법.

청구항 37

제30항에 있어서, 상기 유사분열 억제제가 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 빈플루닌 및 비노렐빈의 목록으로부터 선택되는, 방법.

청구항 38

제30항에 있어서, 상기 유사분열 억제제가 빈타폴라이드인, 방법.

청구항 39

제30항에 있어서, 상기 유사분열 억제제가 BI-2536, GSK461364, GW843682X, HMN-214 및 HMN-176, MLN-0905, NMS-P937, 리고세르팁, Ro3280, SBE 13 및 볼라설팁으로부터 선택되는, 방법.

청구항 40

제30항에 있어서, 상기 DYRK1 억제제가 I-1, I-2, I-3, I-4, I-5, I-6 및 I-7로부터 선택되는, 방법.

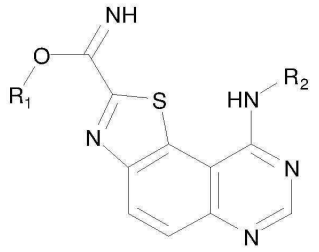
청구항 41

신생물을 갖는 대상체를 치료하는 방법으로서, 상기 방법이 DYRK1 억제제를 상기 대상체에게 순차적으로 또는 동시에 투여하고 유사분열 억제제를 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하고, 여기서, 조합 치료가 FACS 검정법에 의해 서브-G_0 세포의 분율로 측정될 때, 어느 하나의 치료제 단독과 비교하여, 치료된 집단에서 세포 사멸 세포의 분율을 적어도 2배 증가시키는, 방법.

청구항 42

제41항에 있어서, 상기 DYRK1 억제제가 하기 화학식 I 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물을 갖는, 방법:

[화학식 I]



상기 화학식 I에서,

R_1은 치환되거나 비치환된 C_{1-8} 알킬, 치환되거나 비치환된 페닐, 또는 치환되거나 비치환된 벤질이고;

R_2는 할로, CN, NO_2, $NHC(O)C_{1-4}$ 알킬, C_{1-4} 알킬, OH 및 OC_{1-4} 알킬로부터 독립적으로 선택된 4개 이하의 그룹에 의해 임의로 치환된 페닐이며, 여기서, 2개의 인접 그룹 및 이들의 개입 탄소 원자는 N, O 또는 S로부터 선택된 하나 이상의 헤테로 원자를 함유하는 5원 및 6원 고리를 형성할 수 있다.

청구항 43

제41항에 있어서, 유효량의 방사선 요법을 상기 대상체에게 투여하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 44

제41항에 있어서, 치료되는 상기 신생물이 담관암, 뇌암, 유방암, 자궁경부암, 결장암, 위암, 신장암, 두경부암, 백혈병, 간암, 폐암, 림프종, 난소암, 췌장암, 전립선암, 직장암, 육종, 피부암, 고환암, 갑상선암,

자궁암, 방광암, 유방암, 대장암, 폐암, 난소암 및 전립선암으로부터 선택된 원발암 또는 전이암인, 방법.

청구항 45

제41항에 있어서, 치료되는 상기 신생물이 원발성 또는 전이성 결장암, 비-소세포 폐암, 난소암, 전립선암, 소세포 폐암 또는 췌장암인, 방법.

청구항 46

제41항에 있어서, 상기 유사분열 억제제가 탁산, 빈카 알칼로이드 또는 PLK1 억제제인, 방법.

청구항 47

제41항에 있어서, 상기 유사분열 억제제가 BMS-188796, BMS-188797, 카바지탁셀, DEP 카바지탁셀, 도세탁셀, 라로탁셀 (XRP9881, RPR109881), 파클리탁셀, 탁소프렉신 (DHA-파클리탁셀) 및 테세탁셀 (DJ-927)로부터 선택되는, 방법.

청구항 48

제41항에 있어서, 상기 유사분열 억제제가 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 빈플루닌 및 비노렐빈의 목록으로부터 선택되는, 방법.

청구항 49

제41항에 있어서, 상기 유사분열 억제제가 빈타폴라이드인, 방법.

청구항 50

제41항에 있어서, 상기 유사분열 억제제가 BI-2536, GSK461364, GW843682X, HMN-214 및 HMN-176, MLN-0905, NMS-P937, 리고세르팁, Ro3280, SBE 13 및 볼라설팁으로부터 선택되는, 방법.

청구항 51

제41항에 있어서, 상기 DYRK1 억제제가 I-1, I-2, I-3, I-4, I-5, I-6 및 I-7로부터 선택되는, 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

배 경 기 술

[0001] 암 세포의 정지, 실질적으로는 세포의 수면 상태는 암 세포가 치료에 저항하는 주요 메커니즘으로서 및 질병 재발을 위한 경로를 제공하는 것으로 최근에 인식되어 왔다. 세포 휴면으로 불리는 이러한 정지는 세포 주기의 G_0 기에서의 정지에 기인한다. 전형적으로, 세포는 도 1에 나타낸 바와 같이 갭기 (gap phase) 1 (G_1)에서부터 세포 주기로 진입한다. 합성기 (S) 및 짧은 유사분열전 (pre-mitotic) 간격 (G_2) 후, 세포는 유사분열 (M)에 의해 분열된 후 G_1로 복귀한다. 그러나, G_1 대신에, 세포는 G_0기로서 지정된 세포 휴면 또는 정지로 진입할 수 있다. 암 세포는, 정지 섬유아세포와 같이, 주기 진입을 재개할 수 있는 가역적인 진정한 정지 G_0 상태로 진입하거나, 노화로 불리는 최종 분화를 거치기 전에 비가역적 상태로 진입할 수 있다 (문헌 [Coller HA, Sang L, and Roberts JM (2006) A new description of cellular quiescence, *PLoS Biology* 4, e83] 참조).

[0002] 세포의 집단은 자연적으로 임의의 소정의 시간에 정지 상태로 있을 수 있으며, 세포 분열 주기로 진입하기 위한 신호를 수신할 때까지 불확정 기간 동안 정지 상태를 유지할 수 있다. 하나의 예에서, 종양의 집단 내의 정지 상태의 암 세포의 비율은 영양의 결핍, 저산소증, 고농도의 반응성 산소 종 등과 같은 환경 요인에 의해 증가할 수 있다. 세포는 또한 약리학적 정지에서와 같이 약물의 작용에 의해 정지 상태로 유도될 수 있다.

[0003] 정지 세포의 에너지 및 영양 요구는 분열 세포에 비해 감소한다. 현재의 암 요법은 도 2에 도시된 바와 같이 분열 세포를 표적으로 하기 때문에, 암 세포는 이에 영향을 미치는 이러한 치료를 위해 세포 분열 주기 내에 있

어야 한다. 따라서, 정지 암 세포는 노출된 DNA의 손상, DNA 복제 또는 복구의 방해, 유사분열의 방해 또는 다른 메커니즘에 의해 더 많은 세포 증식 과정 중 하나에 영향을 미치는 치료에 내성이 있다.

[0004] 항암 요법과 방사선 치료 둘 다는 역효과를 일으킨다. 결과적으로, 투여량 및 치료 기간은 독성에 의해 제한되며, 보다 낮은 유효 투여량 및/또는 보다 짧은 치료 기간이 매우 바람직하다. 그러나, 투여량을 감소시키거나 치료를 중단하면, 생존한 정지 암 세포는 세포 주기로 재진입할 때 암 재발을 일으킬 수 있으며, 그 시기는 예측할 수 없다. 또한, 혈류 중의 전이암 세포는 이들의 새로운 미소 환경에 적응하면서 정지 기간을 경험할 수 있다 (문헌 [Chaffer CL and Weinberg RA (2011) A perspective on cancer cell metastasis, *Science* 331, 1559-1564] 참조). 정지 암 세포는 이들의 폴리리보솜을 분해함으로써, 번역을 차단하고 전체 RNA 및 단백질 함량을 감소시킨다. 이러한 수축 암 세포는 모세 혈관의 구멍 (직경 대략 8 μm)에 진입할 수 있는 반면, 주기 진입 암 세포는 통상 훨씬 더 크다 (20~30 μm).

[0005] 따라서, 신생물 내의 정지 암 세포의 집단의 존재는 성공적이고 지속적인 치료의 장애물로서 인식된다 (문헌 [Jackson RC (1989) The problem of the quiescent cancer cell, *Advances in Enzyme Regulation* 29, 27-46] 참조). 각종 암 유형으로부터 유래된 정지 암 세포 및 각종 항암 치료의 내성에 대한 증거가 보고되었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 그러나, 암세포 정지의 중요성에 대한 인식이 점차 커지고 있음에도 불구하고, 이러한 문제는 임상적으로 다루어지지 않고 있다. 따라서, 본 발명은 특정 신생 세포에 대해 효과적인 것으로 알려진 치료와 조합하여 소형 분자, 특히, 정지 암 세포에 효과적인 분자에 의해 정지 세포를 표적으로 하는 것을 특징으로 하는 신생물의 치료를 위한 방법 및 조합을 제공한다.

과제의 해결 수단

[0007] 본 발명은 신생물을 치료하기 위한 조성물 및 방법, 특히, 특정 신생물 병태에 대해 효과적인 다른 치료, 특히, 유사분열 억제제 치료제 (유사분열 억제제)의 항암 치료와 조합된 치료제에 의해 정지 암 세포를 표적으로 함으로써 신생물을 치료하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다.

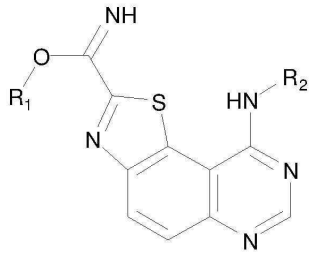
[0008] 일반적으로, 본 발명은 치료학적 유효량의 (a) 정지 암 세포에 대해 효과적인 치료제; 및 (b) 유사분열 억제제인 제2 치료제를 필요로 하는 대상체에게 이를 투여하는 것을 포함하고, 여기서, 상기 두 치료제는 순차적으로 또는 동시에 투여될 수 있는 신생물의 치료 방법을 특징으로 한다. 일부 실시형태에서, 신생물은 *시험관내* 또는 *생체내* 암 또는 암 세포의 집단이다. 일부 실시형태에서, 치료 중인 대상체는 암 (예를 들어, 전이성 또는 전-전이성)으로 진단된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 암에 대한 일차 요법으로 이전에 치료받았다. 일부 실시형태에서, 대상체는 2종 이상의 유사분열 억제제로 순차적으로 또는 동시에 치료받거나 치료받았다.

[0009] 일부 실시형태에서, 조합 치료는 생존율 증가, 중증도 감소, 재발의 지연 또는 제거, 또는 일차 치료 (즉, 유사분열 억제제)의 부작용 감소와 같은 개선된 결과를 초래할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제2 치료제는 치료제 단독 치료와 비교하여 조합물의 일부로서 투여될 때 보다 낮은 투여량 및/또는 보다 짧은 기간 동안 투여된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 유사분열 억제제의 EC_{50} 값은, 예를 들어, 세포 기반 검정법으로 측정될 때, 유사분열 억제제 단독에 의한 동일 치료와 비교하여, 조합 치료에서 적어도 20% 더 낮다. 일부 실시형태에서, 조합 요법은 FACS 검정법에 의해, 예를 들어, 서브-G_0 세포의 분율로 측정될 때, 어느 하나의 치료제 단독과 비교하여, 치료된 집단에서 세포 사멸 세포의 분율을 적어도 2배 증가시킨다.

[0010] 하나의 실시형태에서, 정지 암 세포에 대해 효과적인 치료제는 DYRK1 억제제이다. 일부 실시형태에서, DYRK1 억제제는 DYRK1 키나아제, 즉, DYRK1A 또는 DYRK1B (*시험관내* 또는 *생체내*)의 활성을, 예를 들어, 생화학 검정법에서 100 nM 이하의 IC_{50}으로 억제하는 화합물이다. 일부 실시형태에서, DYRK1 억제제는 그렇지 않으면 이러한 억제제의 부재하에 발견되는 정지 암 세포 (*시험관내* 또는 *생체내*)의 분율을, 예를 들어, 적어도 10% 감소시킨다. 일부 실시형태에서, DYRK1 억제제는 DYRK1A와 DYRK1B 둘 다를 억제한다. 일부 실시형태에서, DYRK1 억제제는 DYRK1A 또는 DYRK1B에 대해 선택적이다.

[0011] 하나의 실시형태에서, 정지 암 세포에 대해 효과적인 치료제는 DYRK1 억제제이다. 하나의 실시형태에서, DYRK1 억제제는 하기 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물이다:

[0012] [화학식 I]



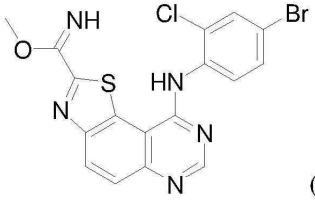
[0013]

[0014] 상기 화학식 I에서,

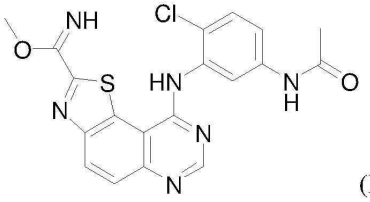
[0015] R_1은 치환되거나 비치환된 C_{1-8} 알킬, 치환되거나 비치환된 페닐, 또는 치환되거나 비치환된 벤질이고;

[0016] R_2는 할로, CN, NO_2, $NHC(O)C_{1-4}$ 알킬, C_{1-4} 알킬, OH 및 OC_{1-4} 알킬로부터 독립적으로 선택된 4개 이하의 그룹에 의해 임의로 치환된 페닐이며, 여기서, 2개의 인접 그룹 및 이들의 개입 탄소 원자는 N, O 또는 S로부터 선택된 하나 이상의 헤테로 원자를 함유하는 5원 및 6원 고리를 형성할 수 있다.

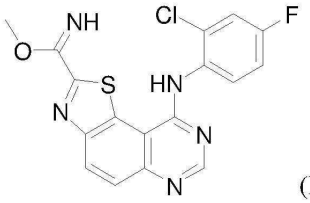
[0017] 하나의 실시형태에서, 화학식 I의 화합물은 하기로부터 선택된다:



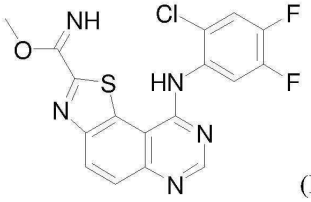
(I-1),



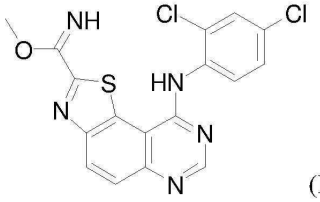
(I-2),



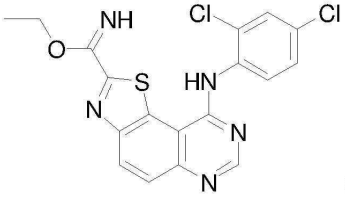
(I-3),



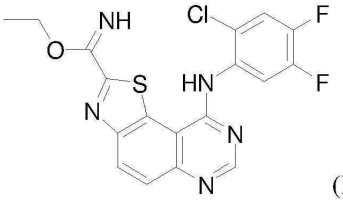
(I-4),



(I-5),



(I-6),



및 (I-7).

[0018]

[0019] 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 (c) 대상체에게 또 다른 항암 요법, 예를 들어, 방사선 요법 또는 다른 암 치료를 투여하는 것을 추가로 제공한다.

[0020] 하나의 실시형태에서, 본 발명의 방법은 치료학적 유효량의 (a) 화학식 I의 치료제; (b) 유사분열 억제제; 및

(c) 방사선 요법을 이의 투여가 필요한 대상체에게 투여하는 것을 포함하며, 각각의 요법은 순차적으로 또는 동시에 투여된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 대상체는 먼저 방사선 요법으로 치료받으며, 대상체는 화학식 I의 치료제 단독 또는 유사분열 억제제와 조합하여 투여받는다. 일부 실시형태에서, 대상체는 (a) 정지 암 세포에 대해 효과적인 치료제, (b) 유사분열 억제제 및 임의로 (c) 방사선 요법을 함께 투여받는다. 일부 실시형태에서, 유사분열 억제제는 암 치료에 승인된 모든 이러한 화합물들 및 그렇지 않으면 포유동물 대상체 (예를 들어, 마우스, 래트, 개, 원숭이, 사람)에서 암을 치료하는데 효능을 입증하는 화합물들, 및 *시험관내에서* 신생세포에 대해 효능을 입증하는 화합물들을 포함하지만 이들에 제한되지 않는, 신생물을 치료하거나 예방하는데 효과적인 유사분열 억제제이다. 다수의 이러한 화합물들은 공지되어 있다.

[0021] 하나의 실시형태에서, 유사분열 억제제는 탁산이다. 추가의 실시형태에서, 유사분열 억제제 탁산은, 예를 들어, BMS-188796, BMS-188797, 카바지탁셀, DEP 카바지탁셀, 도세탁셀, 라로탁셀 (XRP9881, RPR109881), 파클리탁셀, 탁소프렉신 (DHA-파클리탁셀) 및 테세탁셀 (DJ-927)이다.

[0022] 또 다른 실시형태에서, 유사분열 억제제는 빈카 알칼로이드이다. 추가의 실시형태에서, 유사분열 억제제 빈카 알칼로이드는, 예를 들어, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 빈플루닌 및 비노렐빈이다. 또 다른 실시형태에서, 유사분열 억제제 빈카 알칼로이드는 빈타폴라이드이다.

[0023] 또 다른 실시형태에서, 유사분열 억제제는 PLK1 억제제이다. 추가의 실시형태에서, 유사분열 억제제 PLK1은, 예를 들어, BI-2536, GSK 461364, GW843682X, HMN-214 및 HMN-176, MLN-0905, NMS-P937, 리고세르팁, Ro3280, SBE 13 및 볼라설팁이다. 추가의 실시형태에서, 유사분열 억제제는 BI-2536 또는 GSK461364이다.

[0024] 또 다른 실시형태에서, 치료되는 신생물은 암, 예를 들어, 담관암, 뇌암, 유방암, 자궁경부암, 결장암, 위암, 신장암, 두경부암, 백혈병, 간암, 폐암, 림프종, 난소암, 췌장암, 전립선암, 직장암, 육종, 피부암 (예를 들어, 흑색종), 고환암, 갑상선암 및 자궁암이다. 추가의 실시형태에서, 치료되는 신생물은 방광암, 유방암, 대장암, 비-소세포 폐암, 소세포 폐암, 난소암 및 전립선암이다. 추가의 실시형태에서, 암은 일차성 또는 전이성이다. 추가의 실시형태에서, 암은 실시예에서 나타낸 세포주 유형에 의해 제시되는 유형의 암이다.

[0025] 실시형태는 추가의 조합 성분, 특히, 기존 치료 조합의 일부인 치료제 및 억제제, 예를 들어, TPF (여기서, T는 도세탁셀인 Taxotere®를 나타낸다) 또는 PCV (여기서, V는 빈크리스틴을 나타낸다)에 관해서 제한하려는 것은 아니다. 유사하게, 실시형태는 투여 경로 및 순서, 환자 유형 (이전에 치료되지 않았거나 이전에 치료되었는지 여부, 동반 병태의 존재 여부, 성별 등) 또는 환자의 질병 단계, 유사분열 억제제의 유형 등에 관해서 제한하려는 것은 아니다.

도면의 간단한 설명

[0026] 도 1은 진핵 세포의 유사분열 주기의 개략도를 도시한 것이다.

도 2는 일부 이용가능한 항암 치료제가 작용하는 것으로 믿어지는 세포 주기의 단계를 나타내기 위해 표기된 진핵 암 세포의 유사분열 주기의 개략도를 도시한 것이다.

도 3은 SW620 세포의 성장에 대한 파클리탁셀과 화합물 I-5 (0, 2 및 4 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 4는 DMS273 세포의 성장에 대한 파클리탁셀과 화합물 I-7 (0, 2 및 4 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 5는 LNCap 세포의 성장에 대한 파클리탁셀과 화합물 I-5 (0, 2 및 4 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 6은 HCC827 세포의 성장에 대한 파클리탁셀과 화합물 I-7 (0, 3 및 6 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 7은 A549 세포의 성장에 대한 파클리탁셀과 화합물 I-7 (0, 3 및 6 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 8은 SK-OV-3 세포의 성장에 대한 파클리탁셀과 화합물 I-7 (0, 2, 4, 8 및 10 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 9는 OVCAR3 세포의 성장에 대한 파클리탁셀과 화합물 I-7 (0, 2 및 4 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 10은 SW620 세포의 성장에 대한 도세탁셀과 화합물 I-5 (0, 2 및 4 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 11은 DMS273 세포의 성장에 대한 도세탁셀과 화합물 I-7 (0, 2 및 4 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 12는 HCC827 세포의 성장에 대한 도세탁셀과 화합물 I-7 (0, 3 및 6 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 13은 A549 세포의 성장에 대한 도세탁셀과 화합물 I-7 (0, 3 및 6 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 14는 SK-OV-3 세포의 성장에 대한 도세탁셀과 화합물 I-7 (0, 4 및 8 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 15는 OVCAR3 세포의 성장에 대한 도세탁셀과 화합물 I-7 (0, 2 및 4 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 16은 DMS273 세포의 성장에 대한 빈크리스틴과 화합물 I-5 (0, 2 및 4 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 17은 H1975 세포의 성장에 대한 빈크리스틴과 화합물 I-5 (0, 2 및 4 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 18은 SK-OV-3 세포의 성장에 대한 빈크리스틴과 화합물 I-7 (0, 4 및 8 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 19는 OVCAR3 세포의 성장에 대한 빈크리스틴과 화합물 I-7 (0, 1 및 3 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 20은 DMS273 세포의 성장에 대한 비노렐빈과 화합물 I-5 (0, 2 및 4 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 21은 H1975 세포의 성장에 대한 비노렐빈과 화합물 I-5 (0, 2 및 4 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 22는 OVCAR3 세포의 성장에 대한 비노렐빈과 화합물 I-7 (0, 1 및 3 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 23은 SK-OV-3 세포의 성장에 대한 빈크리스틴과 화합물 I-7 (0, 4 및 8 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 24는 A549 세포의 성장에 대한 빈크리스틴과 화합물 I-7 (0, 3 및 6 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 25는 H1975 세포의 성장에 대한 BI2536과 화합물 I-7 (0, 2 및 4 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 26은 PANC1 세포의 성장에 대한 BI2536과 화합물 I-7 (0, 2 및 4 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 27은 DMS273 세포의 성장에 대한 BI2536과 화합물 I-7 (0, 2 및 4 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 28은 A549 세포의 성장에 대한 BI2536과 화합물 I-7 (0, 2 및 4 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 29는 H1975 세포의 성장에 대한 GSK461364와 화합물 I-7 (0, 2 및 4 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 30은 PANC1 세포의 성장에 대한 GSK461364와 화합물 I-7 (0, 2 및 4 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 31은 DMS273 세포의 성장에 대한 GSK461364와 화합물 I-7 (0, 2 및 4 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 32는 A549 세포의 성장에 대한 GSK461364와 화합물 I-7 (0, 3 및 6 μM)의 조합의 효과를 도시한 것이다.

도 33은 패널 A: FBS+ 배지; 패널 B: FBS- 배지; 패널 C: 4 μM 화합물 I-7을 함유하는 FBS+ 배지; 패널 D: 2.7 nM 파클리탁셀을 함유하는 FBS+ 배지; 패널 E: 5 μM 화합물 I-7 및 2 nM 파클리탁셀을 함유하는 FBS+ 배지에서 24시간 동안 항온처리된 DMS273 세포의 세포 주기 분포에 대한 FACS 분석을 도시한 것이다.

도 34는 패널 A: FBS+ 배지; 패널 B: FBS- 배지; 패널 C: 4 μM 화합물 I-7을 함유하는 FBS+ 배지; 패널 D: 2 nM 파클리탁셀을 함유하는 FBS+ 배지; 패널 E: 4 μM 화합물 I-7 및 2 nM 파클리탁셀을 함유하는 FBS+ 배지에서 24시간 동안 항온처리된 SW620 세포의 세포 주기 분포에 대한 FACS 분석을 도시한 것이다.

도 35는 패널 A: FBS+ 배지; 패널 B: FBS- 배지; 패널 C: 4 μM 화합물 I-7을 함유하는 FBS+ 배지; 패널 D: 1.1 nM 빈크리스틴을 함유하는 FBS+ 배지; 패널 E: 4 μM 화합물 I-7 및 1.1 nM 빈크리스틴을 함유하는 FBS+ 배지에서 24시간 동안 항온처리된 DMS273 세포의 세포 주기 분포에 대한 FACS 분석을 도시한 것이다.

도 36은 패널 A: FBS+ 배지; 패널 B: FBS- 배지; 패널 C: 4 μM 화합물 I-7을 함유하는 FBS+ 배지; 패널 D: 8.1 nM 비노렐빈을 함유하는 FBS+ 배지; 패널 E: 4 μM 화합물 I-7 및 8.1 nM 비노렐빈을 함유하는 FBS+ 배지에서 24시간 동안 항온처리된 DMS273 세포의 세포 주기 분포에 대한 FACS 분석을 도시한 것이다.

도 37은 SW620 세포의 세포 주기 분포의 DNA 함량에 의한 FACS 분석을 도시한 것이다. 세포들은 패널 A: FBS- 배지에서의 24시간; 패널 B: 2.5 μM AZ191을 함유하는 FBS- 배지에서의 24시간; 패널 C: 5 μM AZ191을 함유하는 FBS- 배지에서의 24시간; 패널 D: 10 μM AZ191을 함유하는 FBS- 배지에서의 24시간에서 항온처리하였다.

도 38은 SW620 세포의 세포 주기 분포의 DNA 함량에 의한 FACS 분석을 도시한 것이다. 세포들은 패널 A: DMSO 대조군을 함유하는 FBS- 배지에서의 24시간; 패널 B: 1.25 μM 화합물 I-7을 함유하는 FBS- 배지에서의 24시간; 패널 C: 2.5 μM 화합물 I-7을 함유하는 FBS- 배지에서의 24시간; 패널 D: 5 μM 화합물 I-7을 함유하는 FBS-

배지에서의 24시간에서 항온처리하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0027] *용어 해설*

[0028] 본 발명에서, "알킬" 그룹은 달리 명시되지 않는다면 1개 내지 8개의 탄소 원자 (C_{1-8} 알킬 그룹), 특히, 1개 내지 6개, 또는 1개 내지 4개의 탄소 원자를 포함하는, 포화된 직쇄 또는 분지쇄 탄화수소 그룹이다. 1개 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 알킬 그룹의 예로는 메틸, 에틸, 프로필 (예를 들어, n-프로필, 이소-프로필), 부틸 (예를 들어, 3차-부틸, 2차-부틸, n-부틸), 펜틸 (예를 들어, 네오-펜틸), 헥실 (예를 들어, n-헥실), 2-메틸부틸, 2-메틸펜틸 및 이들의 다른 이성질체 형태가 포함된다. 알킬 그룹은 치환되지 않거나, 할로겐 원자, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 하이드록실, 알콕실, 알케닐, 알키닐, CN, 니트로 및 아미노 그룹으로부터 선택된 적어도 하나의 그룹으로 치환될 수 있다.

[0029] 본 발명에서, "알케닐" 그룹은, (달리 명시되지 않는다면) 2개 내지 8개의 탄소 원자를 포함하는, 적어도 하나의 이중 탄소-탄소 결합을 포함하는 직쇄 또는 분지쇄 탄화수소 그룹이다. 2개 내지 6개의 탄소 원자를 함유하는 알케닐 그룹의 예로는 비닐, 알릴, 1-프로페닐, 2-프로페닐, 1-부테닐, 2-부테닐, 3-부테닐, 1-펜테닐, 2-펜테닐, 3-펜테닐, 4-펜테닐, 1-헥세닐, 2-헥세닐, 3-헥세닐, 4-헥세닐, 5-헥세닐 및 이들의 이성질체 형태가 있다. 알케닐 그룹은 치환되지 않거나, 할로겐 원자, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 하이드록실, 알콕실, 알케닐, 알키닐, CN, 니트로 및 아미노 그룹으로부터 선택된 적어도 하나의 그룹으로 치환될 수 있다.

[0030] 본 발명에서, "알키닐" 그룹은 2개 내지 8개의 탄소 원자를 포함하는, 적어도 하나의 삼중 탄소-탄소 결합을 포함하는 직쇄 또는 분지쇄 탄화수소 그룹이다. 알키닐 그룹은 할로겐 원자, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 하이드록실, 알콕실, 알케닐, 알키닐, CN, 니트로 및 아미노 그룹으로부터 선택된 적어도 하나의 그룹으로 치환될 수 있다.

[0031] 본 발명에서, "아릴" 그룹은 5개 내지 14개의 탄소 원자를 포함하는 방향족 탄화수소 환이다. 가장 바람직한 아릴 그룹은 모노- 또는 바이-사이클릭이며, 6개 내지 14개의 탄소 원자, 예를 들어, 페닐, 알파-나프틸, 3-나프틸, 안트라세닐, 바람직하게는 페닐을 포함한다. "아릴" 그룹은 또한 적어도 또 다른 아릴, 헤테로아릴, 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬 그룹에 융합된 아릴 환을 포함하는 바이사이클 또는 트리사이클, 예를 들어, 벤조디옥솔란, 벤조디옥산, 디하이드로벤조푸란 또는 벤즈이미다졸을 포함한다. 아릴 그룹은 치환되지 않거나, 할로겐 원자, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 하이드록실, 알콕실, 알케닐, 알키닐, CN, 니트로 및 아미노 그룹으로부터 선택된 적어도 하나 (예를 들어, 1개, 2개 또는 3개)의 그룹으로 치환될 수 있다. 또한, 아릴 그룹은, 이들이 부착된 탄소 원자와 함께, N, O 및 S로부터 선택된 하나 이상의 헤테로 원자(들)를 함유할 수 있는 5원 및 6원 고리를 형성할 수 있는 인접한 치환체로 치환될 수 있다.

[0032] 본 발명에서, "할로겐 원자" 또는 "할로"는 Cl, Br, F 또는 I 원자이다.

[0033] 본 발명에서, "알콕실" 그룹은 산소 원자를 통해 분자의 나머지에 연결된 알킬 그룹, 즉, 화학식 O-알킬이다.

[0034] 본 발명에서, "아미노" 그룹은 NH_2, NH-알킬 또는 N(알킬)$_2$ 그룹이다.

[0035] 본 발명에서, "헤테로아릴" 그룹은, 환이 적어도 하나의 헤테로 원자, 예를 들어, N, O 또는 S 원자에 의해 중단되는 아릴 그룹, 예를 들어, 티오펜 또는 피리딘이다. 헤테로아릴 그룹은 치환되지 않거나, 할로겐 원자, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 하이드록실, 알콕실, 알케닐, 알키닐, CN, 니트로 및 아미노 그룹으로부터 선택된 적어도 하나 (예를 들어, 1개, 2개 또는 3개)의 그룹으로 치환될 수 있다. 또한, 헤테로아릴 그룹은, 이들이 부착된 탄소 원자와 함께, N, O 및 S로부터 선택된 하나 이상의 헤테로 원자(들)를 함유할 수 있는 5원 및 6원 고리를 형성할 수 있는 인접한 치환체로 치환될 수 있다.

[0036] 본 발명에서, "사이클로알킬"은 바람직하게는 3개 내지 14개의 탄소 원자, 보다 바람직하게는 3개 내지 8개의 탄소 원자를 갖는 하나의 환을 형성하는 포화 알킬 그룹, 예를 들어, 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 사이클로헵틸 및 사이클로옥틸을 나타낸다. 사이클로알킬 그룹은 치환되지 않거나, 할로겐 원자, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 하이드록실, 알콕실, 알케닐, 알키닐, CN, 니트로 및 아미노 그룹으로부터 선택된 적어도 하나 (예를 들어, 1개, 2개 또는 3개)의 그룹으로 치환될 수 있다. 또한, 사이클로알킬 그룹은, 이들이 부착된 탄소 원자와 함께, N, O 및 S로부터 선택된 하나 이상의 헤테로 원

자(들)를 함유할 수 있는 5원 및 6원 고리를 형성할 수 있는 인접한 치환체로 치환될 수 있다.

[0037] 본 발명에서, "헤테로사이클로알킬" 그룹은 적어도 하나의 헤테로 원자를 포함하는 사이클로알킬 그룹, 예를 들어, 피롤리딘, 테트라하이드로티오펜, 테트라하이드로푸란, 피페리딘, 피란, 디옥신, 모르폴린 또는 피페라진이다. 헤테로사이클로알킬 그룹은 특히 4개 내지 14개의 탄소 원자, 예를 들어, 모르폴리닐, 피페리디닐, 피롤리디닐, 테트라하이드로피라닐, 디티올라닐을 포함할 수 있다. 헤테로사이클로알킬 그룹은 치환되지 않거나, 할로겐 원자, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 하이드록실, 알콕실, 알케닐, 알키닐, CN, 니트로 및 아미노 그룹으로부터 선택된 적어도 하나의 그룹으로 치환될 수 있다. 또한, 헤테로사이클로알킬 그룹은, 이들이 부착된 탄소 원자와 함께, N, O 및 S로부터 선택된 하나 이상의 헤테로 원자(들)를 함유할 수 있는 5원 및 6원 고리를 형성할 수 있는 인접한 치환체로 치환될 수 있다.

[0038] 본 명세서에서 사용되는 "신생물"은 종양 형성으로부터 발생하는 비정상 조직 덩어리를 의미한다. "종양 형성"은 세포의 비정상 증식 과정을 의미한다. 본 발명의 일부 실시형태에서, 신생물은 고형암 또는 그렇지 않으면 조혈암이다. 종양 형성은 양성, 전암성 또는 악성일 수 있다. 신생물이라는 용어는 포유류 암, 일부 실시형태에서는 사람 암, 및 임의 조직의 암종, 육종, 모세포종 (예를 들어, 선암종, 편평 세포 암종, 골육종 등), 배아 세포 종양, 신경아교 세포 종양, 림프종, 백혈병, 예를 들어, 고형암 및 림프성 암, 신장암, 유방암, 폐암, 방광암, 결장암, 난소암, 전립선암, 직장암, 췌장암, 위암, 뇌암, 두경부암, 피부암, 자궁암, 자궁경부암, 고환암, 식도암, 갑상선암, 담관암, 간암, 골 및 연골 조직의 암, 예를 들어, 비-호지킨 림프종 (예를 들어, 버킷, 소세포 및 대세포 림프종) 및 호지킨 림프종, 백혈병, 다발성 골수종 및 골수이형성 증후군을 포괄한다.

[0039] 본 명세서에서 사용되는 용어 "치료하다," "치료하는" 또는 "치료"란, 의학적 병태가 임상적으로 허용되는 표준에 따라 개선되는 정도까지 의학적 병태 (예를 들어, 암)에 대응하는 것을 의미한다. 암의 개선은 다음을 포함할 수 있다: 1) 종양 성장의 속도 감소 (종양 성장 억제), 2) 종양 수축 (퇴행), 3) 관해 (부분 또는 전체와 무관함), 4) 전이의 감소 및 5) 무진행 생존율의 연장 또는 재발의 지연 또는 제거. 본 발명의 특정 실시형태에서, 치료는 다음 결과 중의 하나 이상을 부분적으로 또는 실질적으로 달성하는 것을 포함한다: 암 덩어리 또는 체적, 또는 악성 세포 총수를 부분적으로 또는 완전하게 감소시키는 것; 고형암 또는 조혈암과 관련된 지표 또는 임상 증상을 개선 또는 향상시키는 것; 고형암 또는 조혈암의 진행을 지연, 억제 또는 저지하는 것; 또는 고형암 또는 조혈암의 발병 또는 진행을 부분적으로 또는 완전하게 지연, 억제 또는 저지하는 것. "치료"는 또한 치료하지 않은 예상 생존과 비교하여 또는 케어 치료의 표준과 비교하여 생존을 연장시키는 것을 의미할 수 있다.

[0040] 치료는 예방학적 또는 예방 치료를 포함한다. "예방학적 치료"란, 표적 장애의 임상 증상의 출현 또는 재출현 전에 그 발생, 중증도 또는 진행을 예방, 억제 또는 감소시키는 것을 의미한다.

[0041] 본 명세서에서 사용되는 "유효량"이란, 표적 장애에서의 목적하는 향상에 영향을 미치기에 치료학적으로 또는 예방학적으로 충분한 치료제 또는 치료제의 조합의 양을 의미한다. 유효량의 예로는 전형적으로 단일 투여 용량 당 약 0.0001 mg/kg 체중 내지 약 500 mg/kg 체중의 범위가 있으며, 이러한 용량은 1회 또는 일정 기간에 걸쳐 투여된다. 예시적인 범위는 약 0.0001 mg/kg 체중 내지 약 5 mg/kg 체중이다. 다른 예에서, 범위는 단일 투여 용량 당 약 0.0001 mg/kg 내지 약 5 mg/kg일 수 있다. 또 다른 예에서, 유효량은 단일 투여 용량 당 약 0.01 mg/ kg 체중 내지 50 mg/kg 체중, 또는 단일 투여 용량 당 0.01 mg/kg 체중 내지 0.1 mg/kg, 0.5 mg/kg, 1 mg/kg, 2 mg/kg, 3 mg/kg, 4 mg/kg, 5 mg/kg, 6 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 25 mg/kg, 30 mg/kg 또는 40 mg/kg 체중의 범위이다. 알려진 임상 용도의 작용제의 경우, 유효 용량의 예로는 징후의 치료에 대한 규제 기관의 승인을 받은 양이 있다.

[0042] 본 명세서에서 사용되는 용어 "대상체"란, 포유 동물, 예를 들어, 사람을 의미하지만, 수의학적 치료가 필요한 동물, 예를 들어, 애완 동물 (예를 들어, 개, 고양이 등), 가축 (예를 들어, 암소, 양, 돼지, 말 등) 및 실험 동물 (예를 들어, 래트, 마우스, 기니피크 등)을 또한 의미할 수 있다.

[0043] 본 명세서에서 사용되는 용어 "치료제"란, 작용 메커니즘과 무관하게 소형 분자, 펩타이드, 항체 또는 올리고뉴클레오타이드와 같은 세포독성제, 세포 증식 억제제 또는 표적화제를 비롯한, 암 치료에 사용되거나 암 치료에 사용하기 위해 고려되거나 조사되는 임의의 화학 분자를 의미한다. 그러나, 본 명세서에서 사용되는 용어 "치료적" 또는 "치료제"란, 활성 약제 성분 (API) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 수화물 (용매화물), 또는 제형화되는 치료제를 함유하는 의약품을 지칭하고, API는 무정형 또는 결정질이며 다형체 형태이다. 제형은 투여가능한 제형 (의약품)을 제조하기 위해 부형제 및/또는 전달 비히클과 배합된 활성 약제 성분 (API, 약

물) 또는 성분들 (API)의 조합을 의미한다. 예를 들어, 본 명세서에서 사용되는 파클리탁셀에 대한 언급은 Taxol®, Abraxane®, Lipusu®, 및 활성 성분으로서 파클리탁셀을 함유하는 임의의 다른 약품을 포함한다.

[0044] 본 발명의 치료제는 단독으로 투여될 수 있지만, 일반적으로 표준 약제학적 실무와 관련하여 약제학적으로 허용되는 담체와 함께 투여된다 (예를 들어, 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing]에 기재되어 있음). 따라서, 본 발명의 또 다른 목적은 본 명세서에서 정의된 약제학적 조성물 및 약학적으로 허용되는 담체에 관한 것이다.

[0045] 본 명세서에서 사용되는 용어 "억제제"는 효소의 활성을 감소시키는 임의의 조성물을 의미한다. 억제제의 예로는 화학 분자가 있다. 억제제의 효능의 척도는 이의 "50% 억제 농도" (IC_{50})이다. IC_{50} 농도 또는 IC_{50} 값은, 효소 활성의 50%가 억제제에 의해 억제되는 억제제의 농도이다. 예를 들어, 키나아제 억제제의 IC_{50} 값의 측정 방법은 당해 분야의 통상의 기술자에게 알려져 있으며, HotSpot™ 키나아제 검정 기술 (Reaction Biology Corporation, Malvern, PA, www.reactionbiology.com)과 같은 직접적 및 간접적 기능 검정법, 또는 KINOMEscan® (DiscoverX Corporation, Freemont, CA, www.discoverx.com)과 같은 경쟁 결합 검정법을 포함한다.

[0046] 세포주에 대한 치료제의 효능의 측정은 이의 "50% 유효 농도" (EC_{50})이다. EC_{50} 농도 또는 EC_{50} 값은, 예를 들어, 50% 성장 억제 또는 50% 세포 생존능 감소와 같은 최대 절반 반응 (half-maximal response)을 생성하는 약물의 농도이다. 예를 들어, 키나아제 억제제의 IC_{50} 값의 측정 방법은 당해 분야의 통상의 기술자에게 알려져 있다.

[0047] 본 명세서에서 사용되는 용어 "정지" 또는 "정지 상태"란, 당해 분야의 통상의 기술자에 의해 이해되는 바와 같은 세포 주기의 G_0 상태를 지칭한다.

[0048] 본 명세서에서 사용되는 용어 "정지 암 세포에 대해 효과적인 치료제"란, 세포 집단 내의 정지 암 세포의 분율을 감소시키거나 그렇지 않으면 세포 집단 내에서 정지 암 세포의 분율의 증가를 초래하는 조건하에 이러한 증가를 완전히 또는 실질적으로 방지하는 분자를 지칭한다.

[0049] "정지 신생 세포"는 "정지 암 세포"로서 교대로 지칭되며, 세포 주기의 정지 상태 또는 G_0 상태로 존재하는 암 세포를 의미한다. 본 명세서에서 사용되는 "정지 신생 세포의 분율" 또는 "정지 암 세포의 분율"은 세포 주기 중 G_0 상태로 존재하는 암 세포 집단의 부분을 의미한다. 정지 신생 세포의 분율을 결정하는 것은 세포 주기의 단계 내의 그 구성 세포의 분포에 의해 세포 집단을 특성화하는 것을 포함한다. G_0 상태에 있는 세포 (즉, 정지 신생 세포)의 분율은 전체 세포 집단에 대해 정량화된다. 분율은 전체 세포 집단의 백분율 (즉, (세포 집단 내의 전체 세포로 나눈 정지 세포의 수)에 100을 곱한 값)로서 표현될 수 있다. 세포 주기의 단계 내의 그 구성 세포의 분포에 의한 세포 집단의 특성화는 당해 분야의 통상의 기술자에게 알려진 기술에 의해 달성될 수 있으며, 유세포 측정 방법, 예를 들어, 형광 활성화된 세포 분류 (FACS)를 사용하는 DNA 및/또는 RNA 함량에 의한 분석을 포함할 수 있다.

[0050] 본 발명은 신생물을 치료하기 위한 조성물 및 방법, 특히, 특정 신생물 병태에 대해 효과적인 다른 치료, 특히, 유사분열 억제제 치료제의 항암 치료와 조합된 치료제에 의해 정지 암 세포를 표적으로 함으로써 신생물을 치료하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다.

[0051] 일반적으로, 본 발명은 치료학적 유효량의 (a) 정지 암 세포에 대해 효과적인 치료제; 및 (b) 유사분열 억제제인 제2 치료제를 필요로 하는 대상체에게 이를 투여하는 것을 포함하고, 여기서, 상기 두 치료제는 순차적으로 또는 동시에 투여될 수 있는 신생물의 치료 방법을 특징으로 한다. 일부 실시형태에서, 신생물은 *시험관내* 또는 *생체내* 암 또는 암 세포의 집단이다. 일부 실시형태에서, 치료 중인 대상체는 암 (예를 들어, 전이성 또는 전-전이성)으로 진단된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 암에 대한 일차 요법으로 이전에 치료받았다. 일부 실시형태에서, 대상체는 이차 요법 및/또는 다른 요법으로 이전에 치료받았다. 일부 실시형태에서, 대상체는 방사선 요법으로 치료받거나 치료받았다. 일부 실시형태에서, 대상체는, 예를 들어, 종양을 절제하거나 제거하기 위해 수술 치료를 받았다. 다른 실시형태에서, 대상체의 신생물은 재발되었다. 일부 실시형태에서, 대상체는 2종 이상의 유사분열 억제제로 순차적으로 또는 동시에 치료받거나 치료받았다.

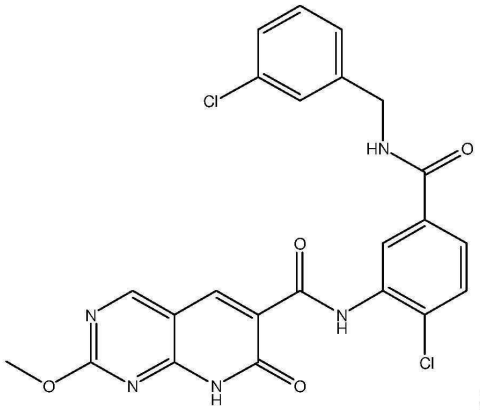
[0052] 일부 실시형태에서, 조합 치료는 생존율 증가, 중증도 감소, 재발의 지연 또는 제거, 또는 일차 치료 (즉, 유사분열 억제제)의 부작용 감소와 같은 개선된 결과를 초래할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제2 치료제는 치료제

단독 치료와 비교하여 조합물의 일부로서 투여될 때 보다 낮은 투여량 및/또는 보다 짧은 기간 동안 투여된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 유사분열 억제제의 EC_{50} 값은, 예를 들어, 세포 기반 검정법으로 측정될 때, 제1 작용제에 의한 동일 치료와 비교하여, 조합 치료에서 적어도 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 100%, 3배, 5배, 10배 더 낮다. 일부 실시형태에서, 조합 요법은 FACS 검정법으로, 예를 들어, 서브-G_0기 세포의 분율에 의해 측정될 때, 어느 하나의 치료제 단독과 비교하여, 치료된 집단에서 세포 사멸 세포의 분율을 적어도 2배, 3배, 4배, 5배 증가시킨다.

[0053] 하나의 실시형태에서, 정지 암 세포에 대해 효과적인 치료제는 DYRK1 억제제이다. 일부 실시형태에서, DYRK1 억제제는 DYRK1 키나아제, 즉, DYRK1A 또는 DYRK1B (*시험관내* 또는 *생체내*)의 활성을, 예를 들어, 생화학 검정법에서 <100 nM, <90 nM, <80 nM, <70 nM, <60 nM, <50 nM, <40 nM, <30 nM, <20 nM, <10 nM, <5 nM 이하의 IC_{50}으로 억제하는 화합물이다. 일부 실시형태에서, DYRK1 억제제는 그렇지 않으면 이러한 억제제의 부재하에 발견되는 종양 또는 집단 내의 정지 암 세포 (*시험관내* 또는 *생체내*)의 분율을, 예를 들어, 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50% 이상 감소시킨다.

[0054] 일부 실시형태에서, DYRK1 억제제는 DYRK1A와 DYRK1B 둘 다를 억제한다. 일부 실시형태에서, DYRK1 억제제는 1000, 100, 50, 25, 10 내지 1의 DYRK1A IC_{50}에 대한 DYRK1B IC_{50}의 비율로 DYRK1A에 대해 선택적이다. 일부 실시형태에서, DYRK1 억제제는 1000, 100, 50, 25, 10 또는 5 내지 1의 DYRK1B IC_{50}에 대한 DYRK1A IC_{50}의 비율로 DYRK1B에 대해 선택적이다. 일부 실시형태에서, DYRK1 억제제는 IC_{50} 값의 비율로 측정될 때, DYRK2 및/또는 DYRK3 및/또는 DYRK4와 비교하여, DYRK1에 대해 적어도 4배, 5배, 10배, 20배, 50배, 100배 선택적이다. 일부 실시형태에서, DYRK1 억제제는 IC_{50} 값의 비율로 측정될 때, 예를 들어, CDK2와 같은 사이클린 의존성 키나아제 (CDK)와 비교하여, DYRK1에 대해 적어도 4배, 5배, 10배, 20배, 50배, 100배, 500배, 1000배 선택적이다.

[0055] 공지된 DYRK1 억제제의 예로는 AZ191, DYRKi, 하르민, ID-8, 류세틴 L41, NCGC00185981, INDY, ProINDY, TC-S 7004 및 TG003이 포함된다. 적어도 하나의 공지된 DYRK1 억제제인 TC-S 7004 (US 2012/0184562)는 *시험관내에서* 정지 암 세포에 대해 효과적인 것으로 보고되어 있다 (문헌 [Ewton DZ, Hu J, Vilenchik M, Deng X, Luk KC, Polonskaia A, Hoffman AF, Zipf K, Boylan JF, and Friedman EA. (2011) Inactivation of MIRK/DYRK1B kinase targets quiescent pancreatic cancer cells. Molecular Cancer Therapeutics 10: 2104-2114] 참조).

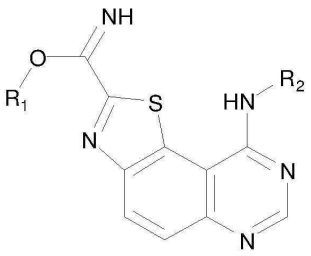


(TC-S 7004)

[0056]

[0057] 하나의 실시형태에서, DYRK1 억제제는 하기 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물이다:

[0058] [화학식 I]



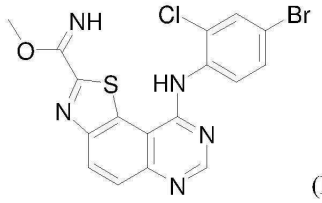
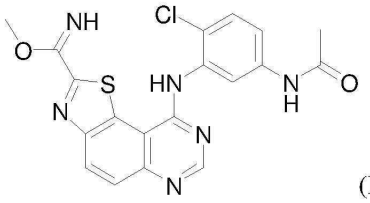
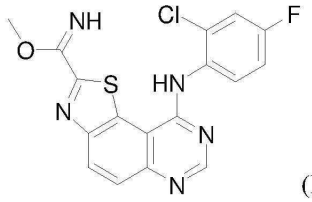
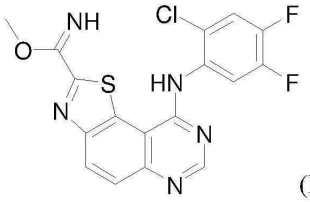
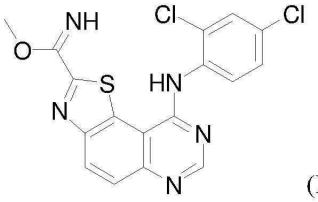
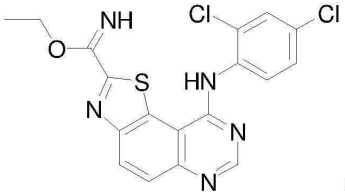
[0059]

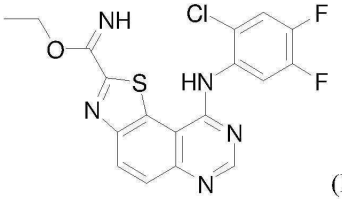
[0060] 상기 화학식 I에서,

[0061] R_1은 치환되거나 비치환된 C_{1-8} 알킬, 치환되거나 비치환된 페닐, 또는 치환되거나 비치환된 벤질이고;

[0062] R_2는 할로, CN, NO_2, $NHC(O)C_{1-4}$ 알킬, C_{1-4} 알킬, OH 및 OC_{1-4} 알킬로부터 독립적으로 선택된 4개 이하의 그룹에 의해 임의로 치환된 페닐이며, 여기서, 2개의 인접 그룹 및 이들의 개입 탄소 원자는 N, O 또는 S로부터 선택된 하나 이상의 헤테로 원자를 함유하는 5원 및 6원 고리를 형성할 수 있다.

[0063] 하나의 실시형태에서, 화학식 I의 화합물은 하기로부터 선택된다:

[0064]  (I-1),  (I-2),  (I-3),  (I-4),  (I-5),  (I-6),

[0065]  및 (I-7).

[0066] 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 (c) 대상체에게 또 다른 항암 요법, 예를 들어, 방사선 요법 또는 다른 암 치료를 투여하는 것을 추가로 제공한다.

[0067] 하나의 실시형태에서, 본 발명의 방법은 치료학적 유효량의 (a) 화학식 I의 치료제; (b) 유사분열 억제제; 및 (c) 방사선 요법을 이의 투여가 필요한 대상체에게 투여하는 것을 포함하며, 각각의 요법은 순차적으로 또는 동시에 투여된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 대상체는 먼저 방사선 요법으로 치료받으며, 대상체는 화학식 I의 치료제 단독 또는 유사분열 억제제와 조합하여 투여받는다. 일부 실시형태에서, 대상체는 (a) 정지 암 세포에 대해 효과적인 치료제, (b) 유사분열 억제제 및 임의로 (c) 방사선 요법을 함께 투여받는다.

[0068] 일부 실시형태에서, 유사분열 억제제는 암 치료에 승인된 모든 이러한 화합물들, 암 치료를 위해 임상 시험 중인 화합물들, 그렇지 않으면 포유동물 대상체 (예를 들어, 마우스, 래트, 원숭이, 사람)에서 암을 치료하는데 효능을 입증하는 화합물들, 및 *시험관내에서* 신생 세포에 대해 효능을 입증하는 화합물들을 포함하지만 이들에 제한되지 않는, 신생물을 치료하거나 예방하는데 효과적인 유사분열 억제제이다. 다수의 이러한 화합물들은 공지되어 있다.

[0069] 하나의 실시형태에서, 유사분열 억제제는 탁산이다. 본 발명의 방법에 유용한 탁산은 BMS-188796, BMS-188797, 카바지탁셀, DEP 카바지탁셀, 도세탁셀, 라로탁셀 (XRP9881, RPR109881), 파클리탁셀, 탁소프렉신 (DHA-파클리탁셀) 및 테세탁셀 (DJ-927)을 포함한다.

[0070] 또 다른 실시형태에서, 유사분열 억제제는 빈카 알칼로이드이다. 본 발명의 방법에 유용한 빈카 알칼로이드는 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 빈플루닌 및 비노렐빈을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 유사분열 억제제 빈카 알칼로이드는 빈타폴라이드이다.

[0071] 또 다른 실시형태에서, 유사분열 억제제는 PLK1 억제제이다. 본 발명의 방법에 유용한 PLK1 억제제는 BI-2536, GSK461364, GW843682X, HMN-214 및 HMN-176, MLN-0905, NMS-P937, 리고세르팁, Ro3280, SBE 13 및 볼라설팁을 포함한다. 추가의 실시형태에서, 유사분열 억제제는 BI-2536 또는 GSK461364이다.

[0072] 또 다른 실시형태에서, 신생물은 담관암, 뇌암, 유방암, 자궁경부암, 결장암, 위암, 두경부암, 신장암, 백혈병, 간암, 비-소세포 폐암, 소세포 폐암, 림프종, 난소암, 췌장암, 전립선암, 직장암, 육종, 피부암 (예를 들어, 흑색종), 고환암, 갑상선암 및 자궁암이다. 추가의 실시형태에서, 신생물은 방광암, 유방암, 대장암, 비-소세포 폐암, 소세포 폐암, 난소암 및 전립선암으로부터 선택된다. 추가의 실시형태에서, 암은 일차성 또는 전이성이다. 추가의 실시형태에서, 암은 실시예에서 나타낸 세포주 유형에 의해 제시되는 유형의 암이다.

[0073] 실시형태는 추가의 조합 성분, 특히, 기존 치료 조합의 일부인 화합물, 예를 들어, TPF (여기서, T는 도세탁셀인 Taxotere®를 나타낸다) 또는 PCV (여기서, V는 빈크리스틴을 나타낸다)에 관해서 제한하려는 것은 아니다. 본 명세서에 기재된 실시형태는 예시적인 것이며, 투여 경로 및 순서, 환자 유형 (이전에 치료되지 않았거나 이전에 치료되었는지 여부, 동반 병태의 부재 또는 존재, 연령, 성별 등) 또는 환자의 질병의 단계, 유사분열 억제제의 유형 등에 관해서 제한하려는 것은 아니다.

[0074] 유사분열 억제제는 당해 분야에 공지되어 있다 (문헌 [Dominguez-Brauer C, et al, (2015) Targeting mitosis in cancer: emerging strategies, *Molecular Cell* 60, 524-536] 참조). 본 명세서에서 사용되는 용어 "유사분열 억제제 (inhibitor of mitosis)" 및 "유사분열 억제제 (mitotic inhibitor)"는 동등하며, 상호교환적으로 사용될 수 있다. 유사분열은 M기 동안 또는 체크포인트 진입시 (G_2/M 체크포인트) 또는 M기 이탈시 (유사분열 후 체크포인트)에 세포 주기 진입을 방해한다. M기에서, 염색체와 세포질은 2개의 딸 세포로 나누어 진다 (세포질 분열). 유사분열은 전기, 전중기, 중기, 후기 및 말기의 5 단계로 진행하며, 유사분열 억제제는 이들 단계 중 임의의 단계를 방해할 수 있다. 유사분열 억제제의 예로는 탁산, 빈카 알칼로이드 및 PLK1 억제제가 포함된다.

[0075] 예를 들어, 탁산은 BMS-188796, BMS-188797, 카바지탁셀, DEP 카바지탁셀, 도세탁셀, 라로탁셀 (XRP9881, RPR109881), 파클리탁셀, 탁소프렉신 (DHA-파클리탁셀) 및 테세탁셀 (DJ-927)을 포함하고; 빈카 알칼로이드는 빈크리스틴, 빈블라스틴, 빈데신, 빈플루닌 및 비노렐빈을 포함하고; PLK1 억제제는 BI-2536, GSK461364, GW843682X, HMN-214 및 HMN-176, MLN-0905, NMS-P937, 리고세르팁, Ro3280, SBE 13 및 볼라설팁을 포함한다.

[0076] G_0 상태는 유전자 발현의 특정 프로그램에 의해 유지된다. DYRK1A 및 DYRK1B와 같은 DYRK1 키나아제는 암 세포의 G_0 상태 (정지 상태)에서 암 세포의 유지에 중요할 수 있다.

[0077] DYRK1B/Mirk는 특정 정상 조직에서 생존과 분화를 매개하는 키나아제들의 Minibrain/DYRK 계열의 구성원이다. (문헌 [Kentrup H, Becker W, Heukelbach J, Wilmes A, Schurmann A, Huppertz C, Kainulainen H, and Joost HG (1996) Dyrk, a dual specificity protein kinase with unique structural features whose activity is dependent on tyrosine residues between subdomains VII and VIII, *Journal of Biological Chemistry* 271, 3488-3495] 및 [Becker W, Weber Y, Wetzel K, Eirmbter K, Tejedor FJ, and Joost HG (1998) Sequence characteristics, subcellular localization, and substrate specificity of DYRK-related kinases, a novel family of dual specificity protein kinases, *Journal of Biological Chemistry* 273, 25893-25902] 참조). DYRK1B는 골격근 세포 및 고환에서 검출가능한 수준으로 발현된다. DYRK1B의 넉아웃 (knockout)은 심지어 발달 근육에서도 마우스에서 명백한 비정상적인 표현형을 나타내지 않으므로, DYRK1B는 정상적인 발달을 위한 필수 유전자가 아닌 것을 시사한다. 정상 섬유아세포가 DYRK1B 키나아제 수준의 20배 고갈 후에도 생존에 변화를 나타내지 않았다는 것은 이러한 해석을 뒷받침한다. 따라서, DYRK1B는 정상 세포의 생존을 위한 필수 유전자인 것으로 보이지는 않지만, 암 세포를 정지 상태로 유지함으로써 DYRK1B가 생존을 매개하는 것으로 여겨지는 특정 악성 암 세포에서 상향조절된다는 증거가 있다. 이러한 특이한 특징은 DYRK1B가 치료적 개입, 특히, 정지 암

세포에 대한 직접적인 항암 요법을 위한 매력적인 표적일 수 있다는 것을 시사한다.

[0078] 개시된 조합 및 방법은 각각의 개별 성분 또는 기존의 단일 및 조합 치료의 사용에 비해 용어 해설에서 정의된 개선 중 하나 이상을 제공 할 수 있다. 또한, 개시된 조합 및 방법은 치료제 및 방사선의 투여량 및/또는 투여 빈도의 감소를 허용하여 개별 성분 또는 기존의 단일 및 조합 치료를 사용하여 가능한 것에 비해 치료 결과와 동일한 개선을 달성할 수 있다.

[0079] 개시된 조합은 유사분열 억제제의 단일 요법에 비해 치료의 유효성에서 현저한 개선을 가져오기 위해 상승적일 필요는 없다. 상기에서 논의한 바와 같이, 정지 암 세포는 본질적으로 유사분열 억제제를 비롯한 항암 치료법에 덜 민감하고, 심지어 치료 후에 생존하는 작은 분율의 정지 세포도 재발을 초래할 수 있다. 결과적으로, 신생물 중의 내성 정지 세포 집단의 박멸은 EC_{50} 값의 상승적 감소를 가져올 수 있거나 그렇지 않을 수도 있지만, 암 재발 및 전이성 신생물의 출현에서 현저한 개선을 가져올 수 있다.

[0080] 개시된 조합의 투여 요법 및 경로는 치료되는 신생물, 신생물의 진행 정도, 선택되는 정확한 조합, 대상체의 연령, 성별 및 신체 상태, 및 다른 인자에 따라 달라질 수 있다. 투여 요법은 시간 당 복수의 용량을 포함할 수 있으며, 치료는 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 또한, 조합은 치료받은 적이 없는 (치료받지 않은) 대상체, 또는 이전에 치료받거나 고형 종양의 수술적 절제 또는 축소를 겪은 대상체, 또는 암이 재발한 대상체에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 정지 암 세포에 대해 효과적인 치료제는 유사분열 억제제 전에 투여될 수 있다. 정지 암 세포에 대해 효과적인 치료제는 유사분열 억제제의 6시간, 12시간, 24시간, 48시간, 72시간, 96시간, 1주일 전에 투여될 수 있다. 정지 암 세포에 대해 효과적인 치료제는 유사분열 억제제와 동시에 (이에 수반하여) 투여될 수 있다. 정지 암 세포에 대해 효과적인 치료제는 유사분열 억제제의 6시간, 12시간, 24시간, 48시간, 72시간, 96시간 후에 투여될 수 있다. 정지 암 세포에 대해 효과적인 치료제 및/또는 유사분열 억제제는 방사선 또는 다른 요법 전에, 후에 또는 이에 수반하여 투여될 수 있다.

[0081] 정지 암 세포에 대해 효과적인 치료제는 경구, 정맥내 (IV), 복강내 (IP), 피하 (SC), 종양내 (IT), 척수강내 또는 다른 투여 경로에 의해 매일, 2일 마다, 3일 마다, 4일 마다, 매주 1회, 격주 1회, 1개월당 1회 투여될 수 있다.

[0082] 조합은 치료받은 적이 없는 (치료받지 않은) 대상체, 또는 일차, 이차, 삼차 또는 다른 요법, 방사선 치료에 의해 이전에 치료받거나 고형 종양의 수술적 절제 또는 축소를 겪은 대상체, 또는 암이 재발한 대상체, 또는 암이 비-전이성 또는 전이성인 대상체에게 투여될 수 있다.

[0083] *실시예*

[0084] 하기 실시예는 제한하고자 의도된 것이 아니다. 당해 분야의 통상의 기술자는, 본 개시 내용에 비추어, 개시되는 특정 재료에서 다수의 변화가 이루어질 수 있으며 본 발명의 사상 및 범위를 벗어나지 않으면서 유사하거나 비슷한 결과를 여전히 얻을 수 있다는 것을 인식해야 한다.

[0085] 실시예 1. 집단 내의 정지 암 세포 분율의 결정

[0086] 다음 세포주를 ATCC로부터 입수하고 ATCC 권고에 따라 배양하였다: DMS273 - 소세포 폐암 세포주; H1975 - EGFR TK에서 L858R 및 T790M 돌연변이를 갖는 비-소세포 폐암 세포주; A549 - 야생형 EGFR을 갖는 비-소세포 폐암 세포주; LNCap - 전립선암 세포주; SW620 - 결장암 세포주; MiaPaCa2 - 췌장암 세포주; PANC1 - 췌장암 세포주; OVCAR3 - 난소암 세포주; SK-OV-3 - 난소암 세포주.

[0087] 세포 배양물을 96-웰 플레이트에 3×10^5 ~ 6×10^5 세포/웰로 씨딩하였으며, 플레이팅된 세포 수는 대략 50% 밀집도를 목표로 하는 세포 크기 및 증식 속도에 따라 달라진다. 씨딩 후, 가습 5% CO_2 대기하에 37℃에서 세포를 항온처리하면서 24시간 동안 부착시키고, 이어서 동일한 조건하에 항온처리하는 목적하는 시간 (일반적으로 24시간) 동안 화합물로 처리하였다. 이어서, 세포를 트립신 처리에 의해 수확하고, 부유 세포와 함께 모으고, PBS로 세척하고, 70%의 빙냉 에탄올에서 밤새 고정시켰다. 아크리딘 오렌지 (AO) 염색을 위해, 고정된 세포를 빙냉 PBS로 1회 세척하고, PBS 100 μL 중에 재현탁시킨 후 투과성 용액 200 μL 및 AO 염색 용액 600 μL를 첨가하였다. 측정은 488 nm에서 여기를 위한 청색 레이저를 사용하는 Guava easyCyte HT 유세포 측정기 (EMD Millipore)로 수행하였으며, 526 nm에서의 AO-DNA 복합체 및 650 nm에서의 AO-RNA 복합체의 방출을 모니터링하였다. 버퍼의 완전한 프로토콜 및 구성은 문헌에 기재되어 있다 (문헌 [Darzynkiewicz Z, Juan G, and Srour EF (2004) Differential Staining of DNA and RNA (2004). *Current Protocols in Cytometry*, Chapter

7:Unit 7.3] 참조).

[0088] 실시예 2. 세포 생존능 검정을 위한 일반적인 절차

[0089] 생존능 분석을 위해, 세포를 96-웰 플레이트에 2×10^3 ~ 6×10^3 세포/웰로 씨딩하였으며, 플레이팅된 세포 수는 대략 50% 밀집도를 목표로 하는 세포 크기 및 증식 속도에 따라 달라진다. 씨딩 후, 가습 5% CO_2 대기하에 37℃에서 세포를 항온처리하면서 24시간 동안 부착시켰다.

[0090] 적어도 6개의 상이한 농도의 화합물을 DMSO 중에서 1:3 연속 희석법으로 사용하는 처리를 수행하여, 세포 배지 중 DMSO 농도는 <1%로 되었다. 세포 배양물을 5% CO_2 항온처리기에서 96시간 동안 37℃에서 추가로 항온처리하였다. 처리는 삼중으로 수행하였다. Spectra MAX Gemini 분광기 (Molecular Devices)를 사용하여 제조업자의 설명서에 따라 CellTiter-Glo™ 발광 세포 생존능 검정 (Promega, cat. # G7571)에 의해 결과를 분석하였다.

[0091] 실시예 3. 정지 암 세포에 대해 효과적인 분자와 파클리탁셀의 조합

[0092] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, SW620 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에서 사용된 파클리탁셀의 최고 농도는 100 nM이었으며, 이에 따라 화합물 I-5의 농도는 2 μM 및 4 μM이었다. 파클리탁셀에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-5가 존재하지 않을 때 8.1 nM이었고, 화합물 I-5가 2 μM의 농도로 존재할 때 2.3 nM이었고, 화합물 I-5가 4 μM의 농도로 존재할 때 0.2 nM이었다. 도 3을 참조한다.

[0093] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, DMS273 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에서 사용된 파클리탁셀의 최고 농도는 10 nM이었으며, 화합물 I-7의 농도는 2 μM 및 4 μM이었다. 파클리탁셀에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-7이 존재하지 않을 때 2.7 nM이었고, 화합물 I-7이 2 μM의 농도로 존재할 때 1.9 nM이었고, 화합물 I-7이 4 μM의 농도로 존재할 때 0.9 nM이었다. 도 4를 참조한다.

[0094] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, LNCap 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에서 사용된 파클리탁셀의 최고 농도는 10 nM이었으며, 화합물 I-5의 농도는 2 μM 및 4 μM이었다. 파클리탁셀에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-5가 존재하지 않을 때 3.2 nM이었고, 화합물 I-5가 2 μM의 농도로 존재할 때 2.1 nM이었고, 화합물 I-5가 4 μM의 농도로 존재할 때 0.9 nM이었다. 도 5를 참조한다.

[0095] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, HCC827 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에서 사용된 파클리탁셀의 최고 농도는 10 nM이었으며, 화합물 I-7의 농도는 3 μM 및 6 μM이었다. 파클리탁셀에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-7이 존재하지 않을 때 4.2 nM이었고, 화합물 I-7이 3 μM의 농도로 존재할 때 2.5 nM이었고, 화합물 I-7이 6 μM의 농도로 존재할 때 0.6 nM이었다. 도 6을 참조한다.

[0096] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, A549 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에서 사용된 파클리탁셀의 최고 농도는 10 nM이었으며, 화합물 I-7의 농도는 3 μM 및 6 μM이었다. 파클리탁셀에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-7이 존재하지 않을 때 4.8 nM이었고, 화합물 I-7이 3 μM의 농도로 존재할 때 2.5 nM이었고, 화합물 I-7이 6 μM의 농도로 존재할 때 0.7 nM이었다. 도 7을 참조한다.

[0097] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, SK-OV-3 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에서 사용된 파클리탁셀의 최고 농도는 10 nM이었으며, 화합물 I-7의 농도는 2 μM, 4 μM, 8 μM 및 10 μM이었다. 파클리탁셀에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-7이 존재하지 않을 때 9.7 nM이었고, 화합물 I-7이 2 μM의 농도로 존재할 때 9.4 nM이었고, 화합물 I-7이 4 μM의 농도로 존재할 때 4.8 nM이었고, 화합물 I-7이 8 μM의 농도로 존재할 때 4.7 nM이었고, 화합물 I-7이 10 μM의 농도로 존재할 때 5.2 nM이었다. 도 8을 참조한다.

[0098] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, OVCAR3 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에서 사용된 파클리탁셀의 최고 농도는 10 nM이었으며, 화합물 I-7의 농도는 2 μM 및 4 μM이었다. 파클리탁셀에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-7이 존재하지 않을 때 3.3 nM이었고, 화합물 I-7이 3 μM의 농도로 존재할 때 2.8 nM이었고, 화합물 I-7이 6 μM의 농도로 존재할 때 1.7 nM이었다. 도 9를 참조한다.

[0099] 실시예 4. 정지 암 세포에 대해 효과적인 분자와 도세탁셀의 조합

[0100] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, SW620 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에서 사용된 도세탁셀의 최고 농도는 100 nM이었으며, 화합물 I-5의 농도는 2 μM 및 4 μM이었다. 도세탁셀에 대한 EC_{50} 관측치

는, 화합물 I-5가 존재하지 않을 때 2.85 nM이었고, 화합물 I-5가 2 μM의 농도로 존재할 때 0.69 nM이었고, 화합물 I-5가 4 μM의 농도로 존재할 때 <0.015 nM이었다. 도 10을 참조한다.

[0101] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, DMS273 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에서 사용된 도세탁셀의 최고 농도는 10 nM이었으며, 화합물 I-7의 농도는 2 μM 및 4 μM이었다. 도세탁셀에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-7이 존재하지 않을 때 0.64 nM이었고, 화합물 I-7이 2 μM의 농도로 존재할 때 0.38 nM이었고, 화합물 I-7이 4 μM의 농도로 존재할 때 0.14 nM이었다. 도 11을 참조한다.

[0102] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, HCC827 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에서 사용된 도세탁셀의 최고 농도는 10 nM이었으며, 화합물 I-7의 농도는 3 μM 및 6 μM이었다. 도세탁셀에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-7이 존재하지 않을 때 1.8 nM이었고, 화합물 I-7이 2 μM의 농도로 존재할 때 0.6 nM이었고, 화합물 I-7이 4 μM의 농도로 존재할 때 0.03 nM이었다. 도 12를 참조한다.

[0103] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, A549 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에서 사용된 도세탁셀의 최고 농도는 5 nM이었으며, 화합물 I-7의 농도는 3 μM 및 6 μM이었다. 도세탁셀에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-7이 존재하지 않을 때 1.4 nM이었고, 화합물 I-7이 2 μM의 농도로 존재할 때 0.6 nM이었고, 화합물 I-7이 4 μM의 농도로 존재할 때 0.1 nM이었다. 도 13을 참조한다.

[0104] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, SK-OV-3 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에서 사용된 도세탁셀의 최고 농도는 10 nM이었으며, 화합물 I-7의 농도는 4 μM 및 8 μM이었다. 도세탁셀에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-7이 존재하지 않을 때 2.5 nM이었고, 화합물 I-7이 2 μM의 농도로 존재할 때 1.5 nM이었고, 화합물 I-7이 4 μM의 농도로 존재할 때 0.3 nM이었다. 도 14를 참조한다.

[0105] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, OVCAR3 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에서 사용된 도세탁셀의 최고 농도는 10 nM이었으며, 화합물 I-7의 농도는 2 μM 및 4 μM이었다. 도세탁셀에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-7이 존재하지 않을 때 0.85 nM이었고, 화합물 I-7이 2 μM의 농도로 존재할 때 0.52 nM이었고, 화합물 I-7이 4 μM의 농도로 존재할 때 <0.04 nM이었다. 도 15를 참조한다.

[0106] 실시예 5. 정지 암 세포에 대해 효과적인 분자와 빈크리스틴의 조합

[0107] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, DMS273 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에서 사용된 빈크리스틴의 최고 농도는 10 nM이었으며, 화합물 I-5의 농도는 2 μM 및 4 μM이었다. 빈크리스틴에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-5가 존재하지 않을 때 1.1 nM이었고, 화합물 I-5가 2 μM의 농도로 존재할 때 0.4 nM이었고, 화합물 I-5가 4 μM의 농도로 존재할 때 <0.04 nM이었다. 도 16을 참조한다.

[0108] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, H1975 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에서 사용된 빈크리스틴의 최고 농도는 10 nM이었으며, 화합물 I-5의 농도는 2 μM 및 4 μM이었다. 빈크리스틴에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-5가 존재하지 않을 때 1.5 nM이었고, 화합물 I-5가 2 μM의 농도로 존재할 때 0.85 nM이었고, 화합물 I-5가 4 μM의 농도로 존재할 때 0.35 nM이었다. 도 17을 참조한다.

[0109] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, SK-OV-3 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에서 사용된 빈크리스틴의 최고 농도는 20 nM이었으며, 화합물 I-7의 농도는 4 μM 및 8 μM이었다. 빈크리스틴에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-7이 존재하지 않을 때 8.7 nM이었고, 화합물 I-7이 4 μM의 농도로 존재할 때 2.1 nM이었고, 화합물 I-7이 8 μM의 농도로 존재할 때 1.0 nM이었다. 도 18을 참조한다.

[0110] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, OVCAR3 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에서 사용된 빈크리스틴의 최고 농도는 1 nM이었으며, 화합물 I-7의 농도는 1 μM 및 3 μM이었다. 빈크리스틴에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-7이 존재하지 않을 때 1.2 nM이었고, 화합물 I-7이 2 μM의 농도로 존재할 때 0.8 nM이었고, 화합물 I-7이 4 μM의 농도로 존재할 때 0.1 nM이었다. 도 19를 참조한다.

[0111] 실시예 6. 정지 암 세포에 대해 효과적인 분자와 비노렐빈의 조합

[0112] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, DMS273 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에서 사용된 비노렐빈의 최고 농도는 10 nM이었으며, 화합물 I-5의 농도는 2 μM 및 4 μM이었다. 비노렐빈에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-5가 존재하지 않을 때 1.1 nM이었고, 화합물 I-5가 2 μM의 농도로 존재할 때 0.4 nM이었고, 화합

물 I-5가 4 μM의 농도로 존재할 때 <0.04 nM이었다. 도 20을 참조한다.

[0113] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, H1975 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에서 사용된 비노렐빈의 최고 농도는 10 nM이었으며, 화합물 I-5의 농도는 2 μM 및 4 μM이었다. 비노렐빈에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-5가 존재하지 않을 때 9.5 nM이었고, 화합물 I-5가 2 μM의 농도로 존재할 때 5.2 nM이었고, 화합물 I-5가 4 μM의 농도로 존재할 때 2.1 nM이었다. 도 21을 참조한다.

[0114] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, OVCAR3 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에서 사용된 비노렐빈의 최고 농도는 10 nM이었으며, 화합물 I-7의 농도는 1 μM 및 3 μM이었다. 비노렐빈에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-7이 존재하지 않을 때 2.4 nM이었고, 화합물 I-7이 1 μM의 농도로 존재할 때 2.4 nM이었고, 화합물 I-7이 3 μM의 농도로 존재할 때 0.1 nM이었다. 도 22를 참조한다.

[0115] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, SK-OV-3 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에서 사용된 비노렐빈의 최고 농도는 40 nM이었으며, 화합물 I-7의 농도는 2 μM 및 4 μM이었다. 비노렐빈에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-7이 존재하지 않을 때 15.1 nM이었고, 화합물 I-7이 2 μM의 농도로 존재할 때 10.1 nM이었고, 화합물 I-7이 4 μM의 농도로 존재할 때 4.7 nM이었다. 도 23을 참조한다.

[0116] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, A549 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에서 사용된 비노렐빈의 최고 농도는 50 nM이었으며, 화합물 I-7의 농도는 2 μM 및 4 μM이었다. 비노렐빈에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-7이 존재하지 않을 때 27 nM이었고, 화합물 I-7이 2 μM의 농도로 존재할 때 16 nM이었고, 화합물 I-7이 4 μM의 농도로 존재할 때 6 nM이었다. 도 24를 참조한다.

[0117] 실시예 7. 정지 암 세포에 대해 효과적인 분자와 BI2536의 조합

[0118] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, H1975 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에서 사용된 BI2536의 최고 농도는 50 nM이었으며, 화합물 I-7의 농도는 2 μM 및 4 μM이었다. BI2536에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-7이 존재하지 않을 때 46.3 nM이었고, 화합물 I-7이 2 μM의 농도로 존재할 때 17.3 nM이었고, 화합물 I-7이 4 μM의 농도로 존재할 때 <0.04 nM이었다. 도 25를 참조한다.

[0119] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, PANC1 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에서 사용된 BI2536의 최고 농도는 50 nM이었으며, 화합물 I-7의 농도는 2 μM 및 4 μM이었다. BI2536에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-7이 존재하지 않을 때 7.3 nM이었고, 화합물 I-7이 2 μM의 농도로 존재할 때 4.4 nM이었고, 화합물 I-7이 4 μM의 농도로 존재할 때 2.5 nM이었다. 도 26을 참조한다.

[0120] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, DMS273 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에서 사용된 BI2536의 최고 농도는 50 nM이었으며, 화합물 I-7의 농도는 2 μM 및 4 μM이었다. BI2536에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-7이 존재하지 않을 때 6.2 nM이었고, 화합물 I-7이 2 μM의 농도로 존재할 때 4.1 nM이었고, 화합물 I-7이 4 μM의 농도로 존재할 때 1.7 nM이었다. 도 27을 참조한다.

[0121] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, A549 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에서 사용된 BI2536의 최고 농도는 50 nM이었으며, 화합물 I-7의 농도는 3 μM 및 6 μM이었다. BI2536에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-7이 존재하지 않을 때 6.2 nM이었고, 화합물 I-7이 3 μM의 농도로 존재할 때 4.1 nM이었고, 화합물 I-7이 6 μM의 농도로 존재할 때 1.7 nM이었다. 도 28을 참조한다.

[0122] 실시예 8. 정지 암 세포에 대해 효과적인 분자와 GSK461364의 조합

[0123] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, H1975 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에 사용된 GSK461364의 최고 농도는 10 μM이었으며, 화합물 I-7의 농도는 2 μM 및 4 μM이었다. GSK461364에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-7이 존재하지 않을 때 1.9 μM이었고, 화합물 I-7이 2 μM의 농도로 존재할 때 0.97 μM이었고, 화합물 I-7이 4 μM의 농도로 존재할 때 0.58 nM이었다. 도 29를 참조한다.

[0124] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, PANC1 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에 사용된 GSK461364의 최고 농도는 10 μM이었으며, 화합물 I-7의 농도는 2 μM 및 4 μM이었다. GSK461364에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-7이 존재하지 않을 때 0.5 μM이었고, 화합물 I-7이 2 μM의 농도로 존재할 때 0.3 μM이었고, 화합물 I-7이 4 μM의 농도로 존재할 때 0.2 nM이었다. 도 30를 참조한다.

[0125] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, DMS273 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에 사용된 GSK461364의 최고 농도는 10 μM이었으며, 화합물 I-7의 농도는 2 μM 및 4 μM이었다. GSK461364에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-7이 존재하지 않을 때 0.43 μM이었고, 화합물 I-7이 2 μM의 농도로 존재할 때 0.24 μM이었고, 화합물 I-7이 4 μM의 농도로 존재할 때 0.12 nM이었다. 도 31을 참조한다.

[0126] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, A549 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 본 검정에 사용된 GSK461364의 최고 농도는 1 μM이었으며, 화합물 I-7의 농도는 3 μM 및 6 μM이었다. GSK461364에 대한 EC_{50} 관측치는, 화합물 I-7이 존재하지 않을 때 1.2 μM이었고, 화합물 I-7이 3 μM의 농도로 존재할 때 0.5 μM이었고, 화합물 I-7이 6 μM의 농도로 존재할 때 0.2 nM이었다. 도 32를 참조한다.

[0127] 실시예 9. 파클리탁셀 및 정지 암 세포에 대해 효과적인 분자와 파클리탁셀의 조합의 세포독성 및 세포 주기 효과

[0128] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, DMS273 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 상이한 농도의 파클리탁셀, 화합물 I-7, 또는 파클리탁셀과 화합물 I-7 둘 다가 존재할 때의 결과를 도 33에 나타낸다.

[0129] 본 실험에서, 세포 주기 중 G_0기에서의 세포의 분율은 파클리탁셀의 존재 또는 부재하에 유사하였기 때문에, 파클리탁셀에 대한 DMS273 세포의 노출은 약리학적 정지를 초래하지 않는 것으로 입증되었다. 화합물 I-7과 파클리탁셀의 조합은 또한 DMS273 세포의 세포 주기 분포에 강하게 영향을 미치고 G_0에서의 세포의 분율의 현저한 감소를 초래하는 것으로 입증되었다. 더욱이, 조합의 세포독성은 서브-G_0 집단으로서 관찰된 세포 사멸 세포의 현저한 분율 증가로 입증되는 바와 같이 파클리탁셀 단독의 세포독성 보다 현저하게 더 높았다.

[0130] 정규 성장 배지 (FBS +)에서 항온처리된 정상 증식 DMS273 세포와 무혈청 배지 (FBS-)에서 예비 항온처리된 DMS273 세포의 세포 주기 분포는 비교를 위해 나타낸다.

[0131] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, SW620 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 상이한 농도의 파클리탁셀, 화합물 I-7, 또는 파클리탁셀과 화합물 I-7 둘 다가 존재할 때의 결과를 도 34에 나타낸다.

[0132] 본 실험에서, 세포 주기 중 G_0기에서의 세포의 분율은 성장 배지 (FBS+)에서 항온처리된 세포에서 파클리탁셀의 존재 또는 부재하에 유사하였기 때문에, 파클리탁셀에 대한 SW620 세포의 노출은 약리학적 정지를 초래하지 않는 것으로 입증되었다. 화합물 I-7과 파클리탁셀의 조합은 또한 SW620 세포의 세포 주기 분포에 강하게 영향을 미치고 G_0에서의 세포의 분율의 현저한 감소를 초래하는 것으로 입증되었다. 더욱이, 조합의 세포독성은 서브-G_0 집단으로서 관찰된 세포 사멸 세포의 현저한 분율 증가로 입증되는 바와 같이 파클리탁셀 단독의 세포독성 보다 현저하게 더 높았다.

[0133] 정규 성장 배지 (FBS +)에서 항온처리된 정상 증식 SW620 세포와 무혈청 배지 (FBS-)에서 예비 항온처리된 SW620 세포의 세포 주기 분포는 비교를 위해 나타낸다.

[0134] 실시예 10. 빈크리스틴 및 정지 암 세포에 대해 효과적인 분자와 빈크리스틴의 조합의 세포독성 및 세포 주기 효과

[0135] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, DMS273 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 상이한 농도의 빈크리스틴, 화합물 I-7, 또는 빈크리스틴과 화합물 I-7 둘 다가 존재할 때의 결과를 도 35에 나타낸다.

[0136] 본 실험에서, 세포 주기 중 G_0기에서의 세포의 분율은 성장 배지 (FBS+)에서 항온처리된 세포에서 빈크리스틴의 존재 또는 부재하에 유사하였기 때문에, 빈크리스틴에 대한 DMS273 세포의 노출은 약리학적 정지를 초래하지 않는 것으로 입증되었다. 화합물 I-7과 빈크리스틴의 조합은 또한 DMS273 세포의 세포 주기 분포에 강하게 영향을 미치고 G_0에서의 세포의 분율의 현저한 감소를 초래하는 것으로 입증되었다. 더욱이, 조합의 세포독성은 서브-G_0 집단으로서 관찰된 세포 사멸 세포의 현저한 분율 증가로 입증되는 바와 같이 빈크리스틴 단독의 세포독성 보다 현저하게 더 높았다.

[0137] 정규 성장 배지 (FBS +)에서 항온처리된 정상 증식 DMS273 세포와 무혈청 배지 (FBS-)에서 예비 항온처리된 DMS273 세포의 세포 주기 분포는 비교를 위해 나타낸다.

[0138] 실시예 11. 비노렐빈 및 정지 암 세포에 대해 효과적인 분자와 비노렐빈의 조합의 세포독성 및 세포 주기 효과

[0139] 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이, DMS273 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 상이한 농도의 비노렐빈, 화합물 I-7, 또는 비노렐빈과 화합물 I-7 둘 다가 존재할 때의 결과를 도 36에 나타낸다.

[0140] 본 실험에서, 비노렐빈에 대한 DMS273 세포의 노출은 약리학적 정지를 초래하지 않는 것으로 입증되었다. 화합물 I-7과 비노렐빈의 조합은 또한 DMS273 세포의 세포 주기 분포에 영향을 미치고 G_0에서의 세포의 분율의 현저한 감소를 초래하는 것으로 입증되었다. 더욱이, 조합의 세포독성은 서브-G_0 집단으로서 관찰된 세포 사멸 세포의 현저한 분율 증가로 입증되는 바와 같이 비노렐빈 단독의 세포독성 보다 현저하게 더 높았다.

[0141] 정규 성장 배지 (FBS +)에서 항온처리된 정상 증식 DMS273 세포와 무혈청 배지 (FBS-)에서 예비 항온처리된 DMS273 세포의 세포 주기 분포는 비교를 위해 나타낸다.

[0142] 실시예 12. AZ191의 세포 주기 효과 및 화합물 I-7과의 비교

[0143] 실시예 1에 기재된 바와 같이, SW620 세포를 배양하고, 처리하였다. 프로피디움 요오드화물 (PI) 염색을 위해, 유세포 측정을 위한 Guava 세포 주기 시약 (EMD Millipore)과 함께 제공된 제조업자의 프로토콜을 따랐다. 측정은 535 nm에서 여기를 위한 녹색 레이저를 사용하는 Guava PCA-96 유세포 측정기 (EMD Millipore)로 수행하였으며, 617 nm에서 방출을 모니터링하였다.

[0144] 상이한 농도의 AZ191이 존재할 때의 결과를 도 37에 나타낸다. 데이터는 이중 반복의 평균이다.

[0145] 실시예 1에 기재된 바와 같이, SW620 세포를 배양하고, 처리하고, 분석하였다. 프로피디움 요오드화물 (PI) 염색을 위해, 유세포 측정을 위한 Guava 세포 주기 시약 (EMD Millipore)과 함께 제공된 제조업자의 프로토콜을 따랐다. 측정은 535 nm에서 여기를 위한 녹색 레이저를 사용하는 Guava PCA-96 유세포 측정기 (EMD Millipore)로 수행하였으며, 617 nm에서 방출을 모니터링하였다.

[0146] 상이한 농도의 화합물 I-7이 존재할 때의 결과를 도 38에 나타낸다. 데이터는 이중 반복의 평균이다.

[0147] 이들 실험에서, SW620 세포는 상이한 농도의 AZ191 또는 화합물 I-7을 함유하는 FBS- 배지에서 24시간 동안 항온처리하였다. 이들 조건하에서, AZ191에 대한 노출은, G_0+G_1기에서 관찰되지 않은 세포 분율의 변화에 근거하여, 정지 상태 (G_0)에서 세포 분율의 감소를 초래하지 않았다. 동일한 조건하에서, 동일하거나 보다 낮은 농도의 화합물 I-7에 대한 노출은, G_0+G_1기에서 세포 분율의 현저한 감소에 근거하여, 정지 상태 (G_0)에서 세포 분율의 현저한 감소를 초래하였다.

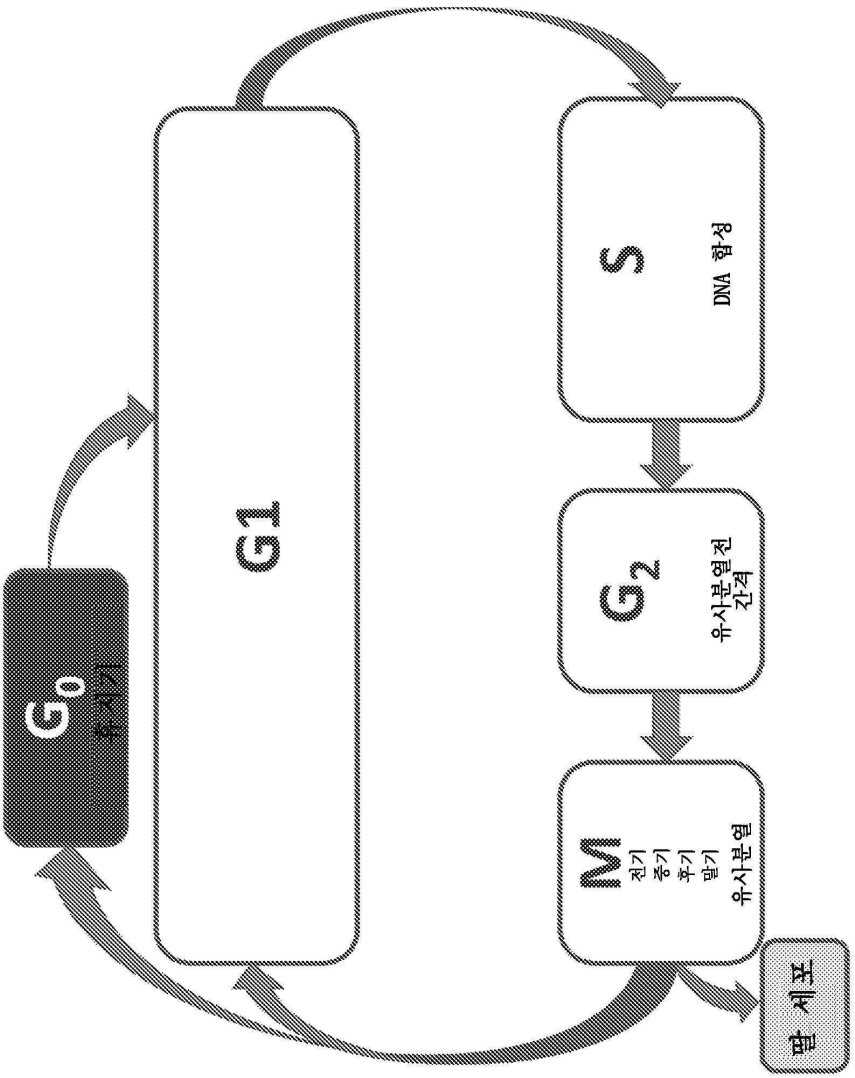
[0148] AZ191은 17 nM에서 DYRK1B를 억제한다 (문헌 [Ashford AL, Oxley D, Kettle J, Hudson K, Guichard S, Cook SJ, Lochhead PA (2014). A novel DYRK1B inhibitor AZ191 demonstrates that DYRK1B acts independently of GSK3beta to phosphorylate cyclin D1 at Thr(286), not Thr(288). Biochemical Journal 457, 43-56] 참조).

[0149] 본 실험에서, 모든 DYRK1 억제제가 정지 암 세포에 대해 효과적이지는 않는 것으로 입증되었다.

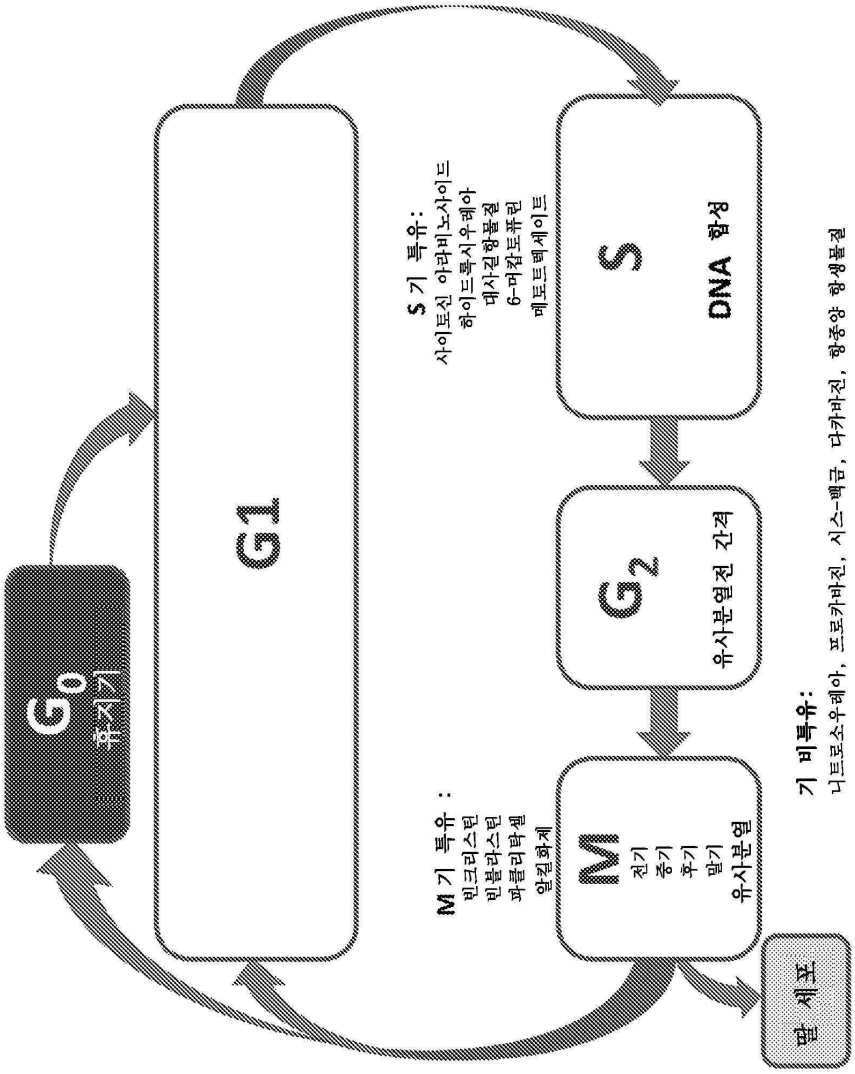
[0150] 본 발명은 이의 예시적인 실시형태를 참조하여 구체적으로 도시되고 기재되었지만, 첨부된 청구범위에 포함되는 본 발명의 범위를 벗어나지 않으면서 형태 및 세부사항에서의 다양한 변경이 본 명세서에서 이루어질 수 있다는 것은 당해 분야의 통상의 기술자에게 이해될 것이다.

도면

도면1

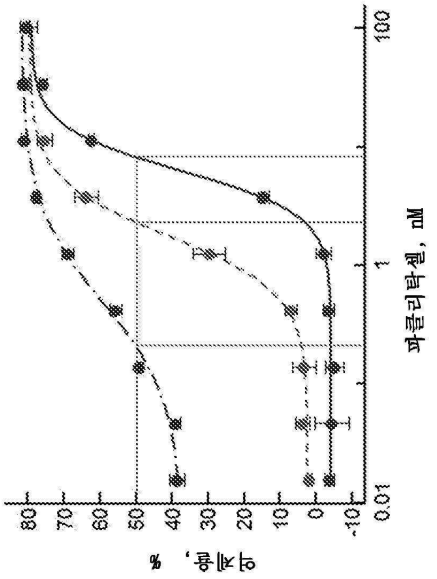


도면2

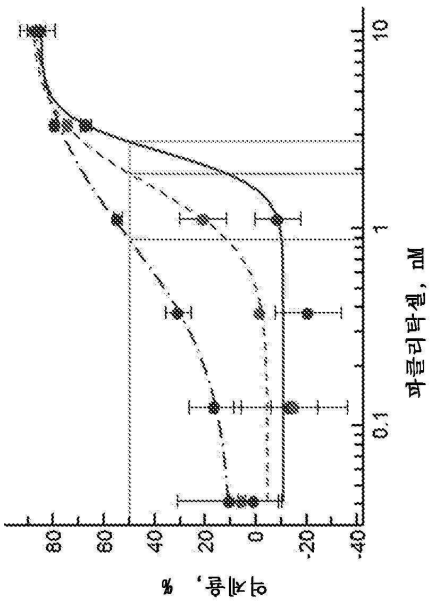

G0
휴지기
G1
S 기 특유:
사이토신 아라비노사이드
하이드록시우레아
데사길항물질
6-머캅토퓨린
메토트렉세이트
S
DNA 합성
G2
유사분열전 간격
M
전기
중기
후기
말기
유사분열
M 기 특유 :
빈크리스틴
빈블라스틴
파클리탁셀
알킬화제
딸 세포
기 비특유:
니트로소우레아, 프로카바진, 시스-백금, 다카바진, 항종양 항생물질

도면3

[I-5]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	8.1 nM
2 μM	- - - - - - - -	2.3 nM
4 μM	— · — · —	0.2 nM



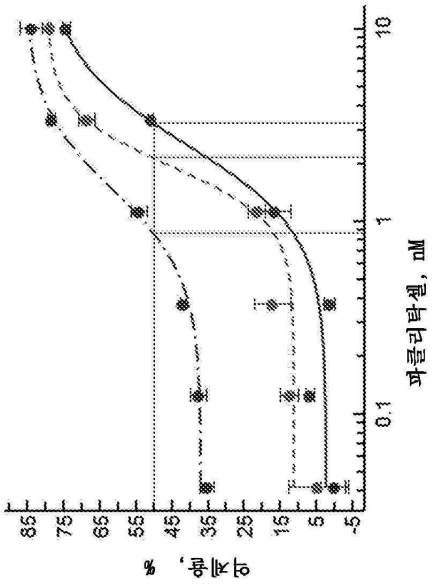
도면4



[I-7]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	2.7 nM
2 μM	- - - - - - - -	1.9 nM
4 μM	—·—·—	0.9 nM

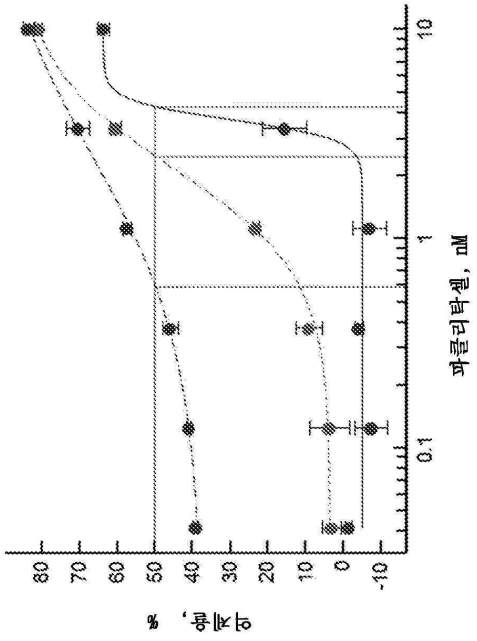
도면5

[I-5]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	3.2 nM
2 μM	- - - - - - - -	2.1 nM
4 μM	—·—·—	0.86 nM



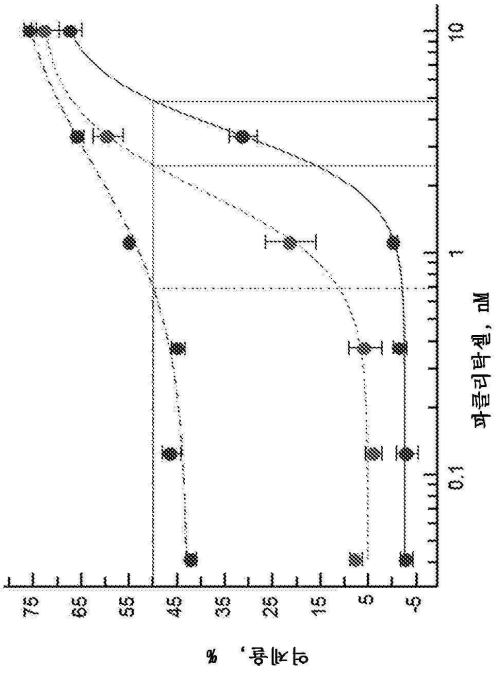
도면6

[I-7]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	4.2 nM
3 μM	- - - - - - -	2.5 nM
6 μM	—·—·—	0.6 nM



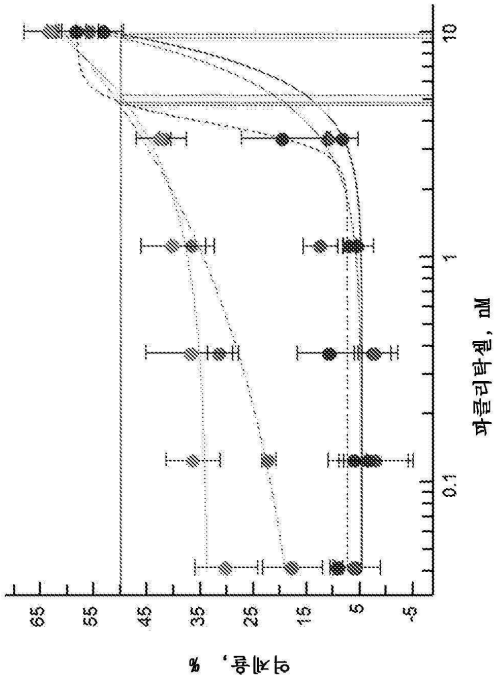
도면7

[I-7]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	4.8 nM
3 μM	----------	2.5 nM
6 μM	—·—·—	0.7 nM



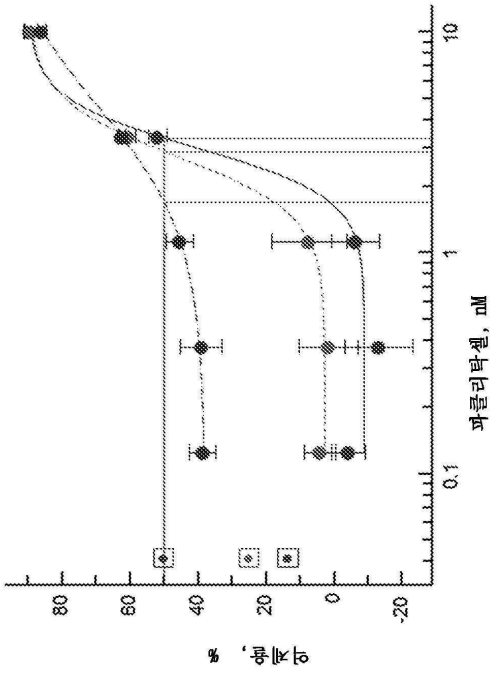
도면8

[I-7]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	9.7 nM
2 μM	********	9.4 nM
4 μM	- - - - - -	4.8 nM
8 μM	—·—·—	4.7 nM
10 μM	·····	5.2 nM



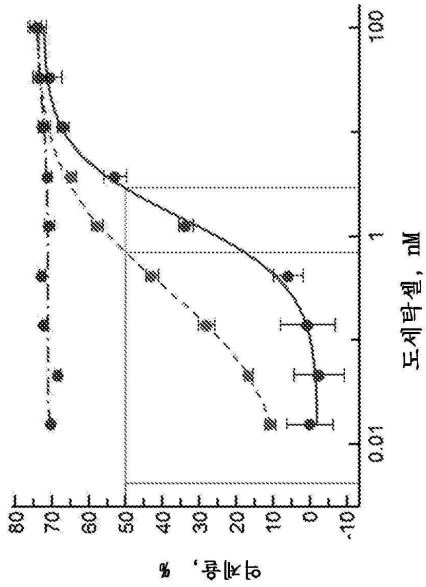
도면9

[I-7]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	3.3 nM
2 μM	- - - - - -	2.8 nM
4 μM	—·—·—	1.7 nM



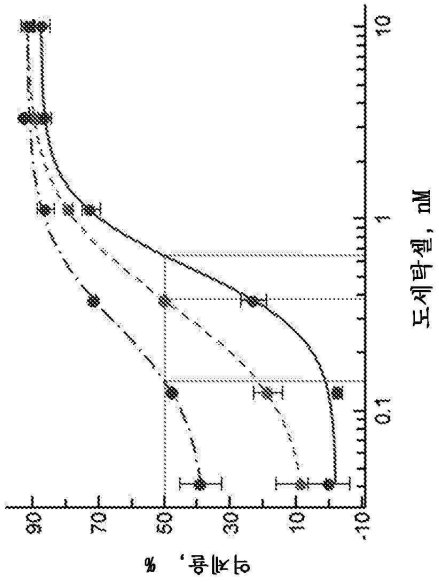
도면10

[I-5]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	2.85 nM
2 μM	- - - - - - - -	0.69 nM
4 μM	— · — · —	<0.015 nM



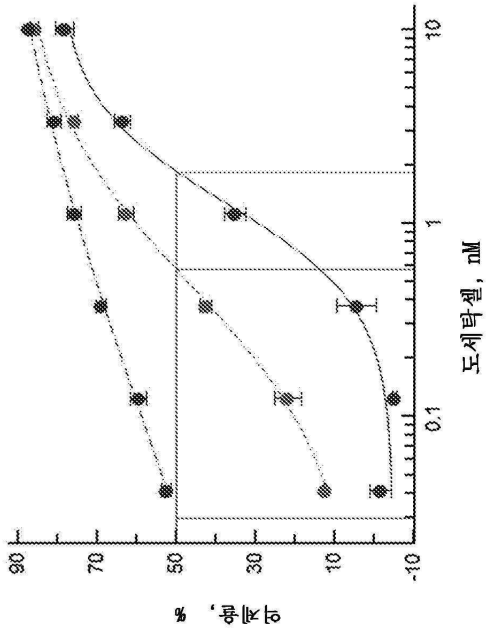
도면11

[I-7]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	0.64 nM
2 μM	- - - - - - - -	0.38 nM
4 μM	— · — · —	0.14 nM



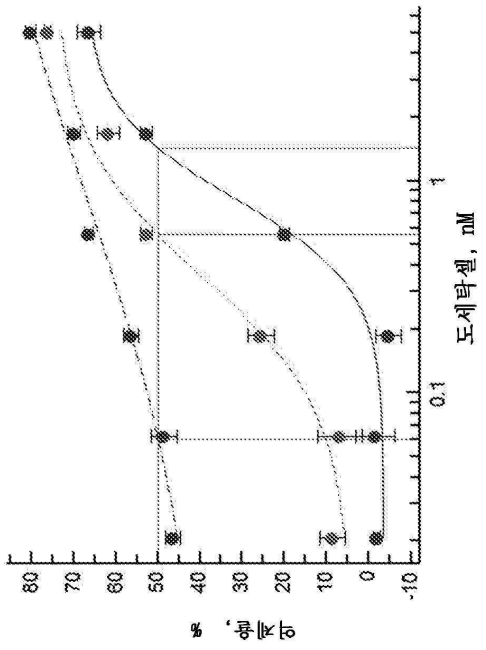
도면12

[I-7]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	1.8 nM
3 μM	- - - - - - -	0.6 nM
6 μM	— · — · —	0.03 nM



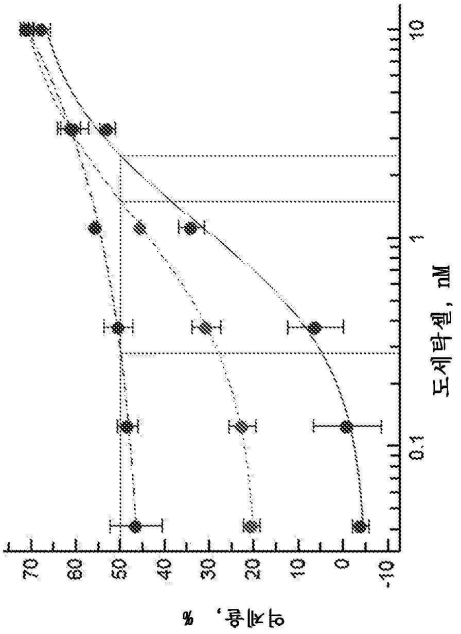
도면13

[I-7]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	1.4 nM
3 μM	- - - - - - - -	0.6 nM
6 μM	—·—·—	0.1 nM



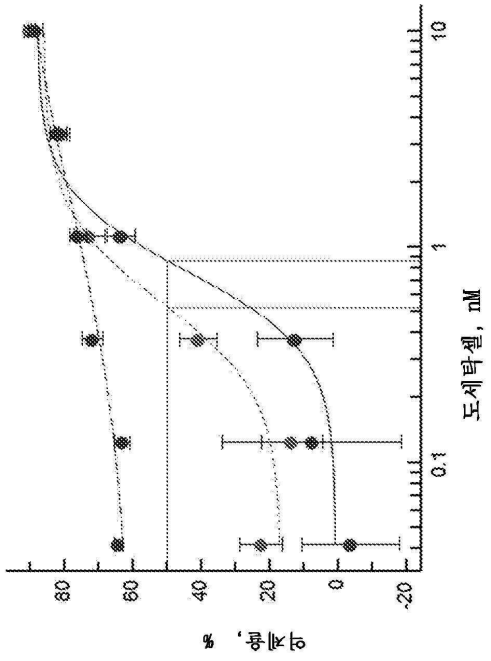
도면14

[I-7]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	2.5 nM
4 μM	- - - - - - - -	1.5 nM
8 μM	— · — · —	0.3 nM



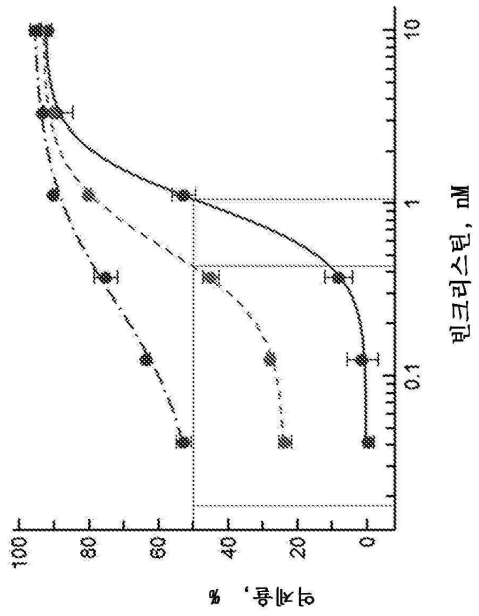
도면15

[I-7]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	0.85 nM
2 μM	- - - - - - - -	0.52 nM
4 μM	— · — · —	<0.04 nM

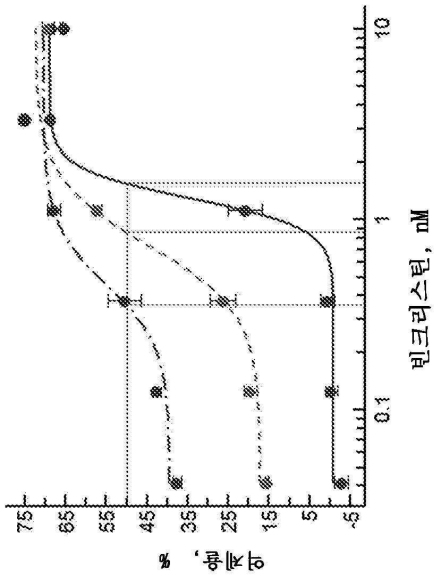


도면16

[I-5]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	1.1 nM
2 μM	**********	0.4 nM
4 μM	— · — · —	<0.04 nM



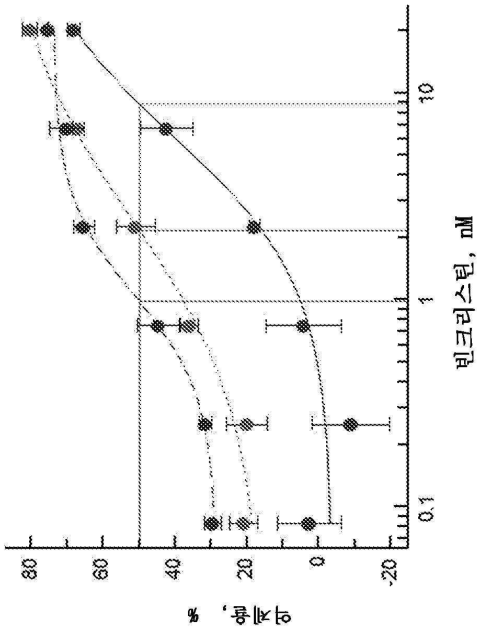
도면17



[I-5]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	1.5 nM
2 μM	- - - - - - - -	0.85 nM
4 μM	— · — · —	0.35 nM

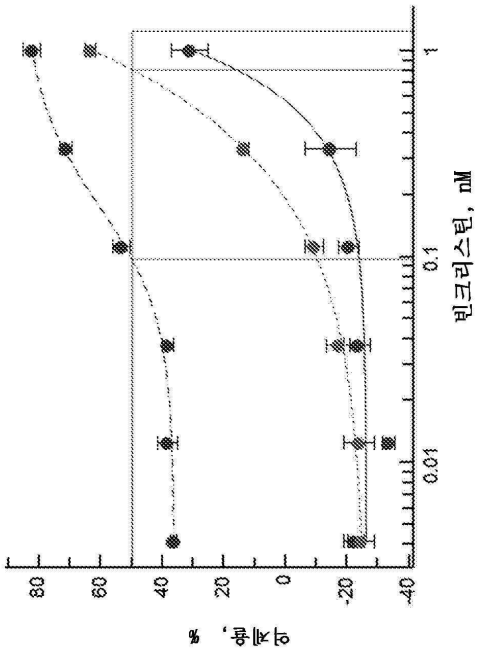
도면18

[I-7]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	8.7 nM
4 μM	- - - - - - - -	2.1 nM
8 μM	—·—·—	1.0 nM



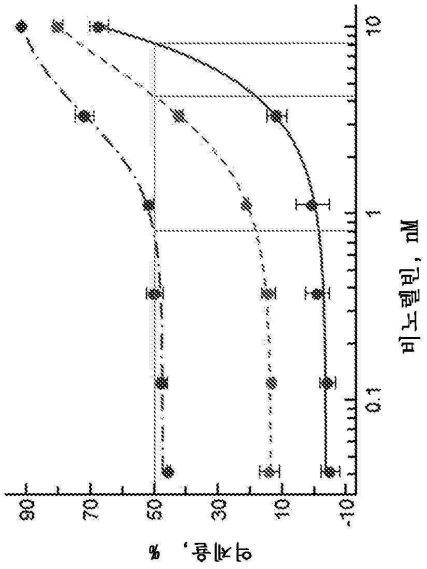
도면19

[I-7]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	1.2 nM
1 μM	- - - - - - - -	0.8 nM
3 μM	—·—·—	0.1 nM



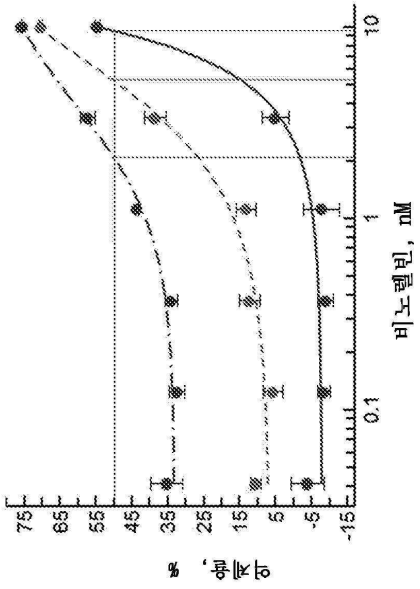
도면20

[I-5]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	8.1 nM
2 μM	- - - - - - - -	4.2 nM
4 μM	—·—·—	0.8 nM



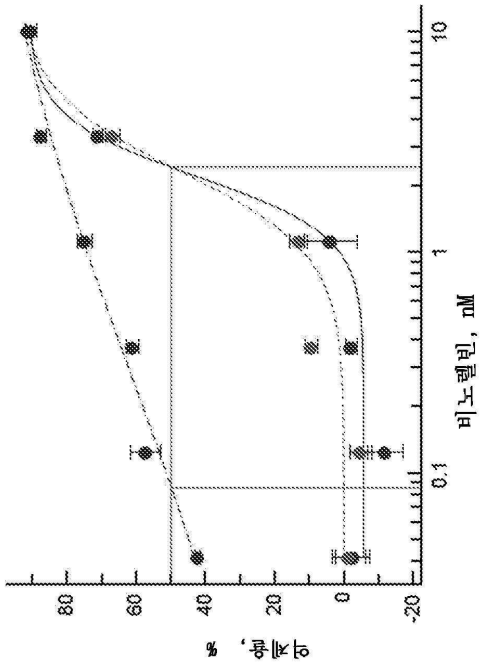
도면21

[I-5]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	9.5 nM
2 μM	- - - - - -	5.2 nM
4 μM	—·—·—	2.1 nM



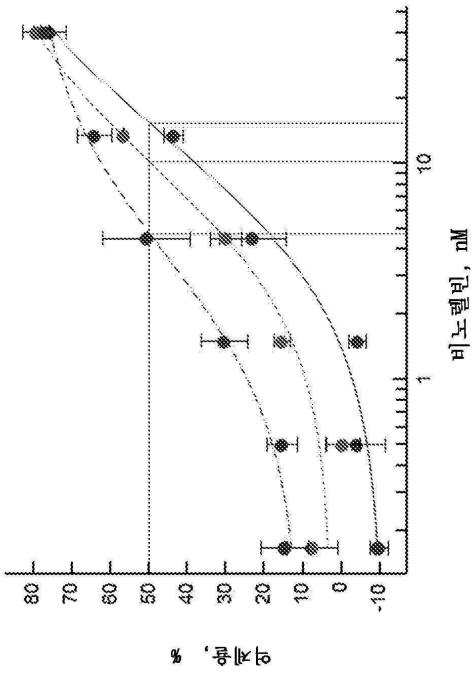
도면22

[I-7]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	2.4 nM
1 μM	- - - - -	2.4 nM
3 μM	— · — · —	0.1 nM



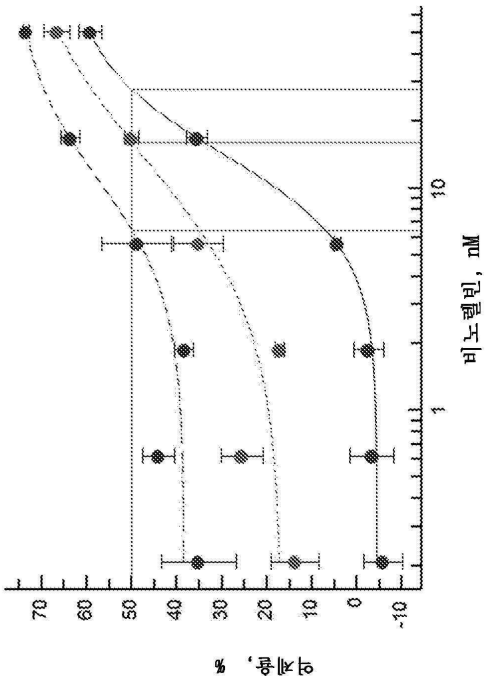
도면23

[I-7]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	15.1 nM
2 μM	- - - - - - - -	10.1 nM
4 μM	— · — · —	4.7 nM



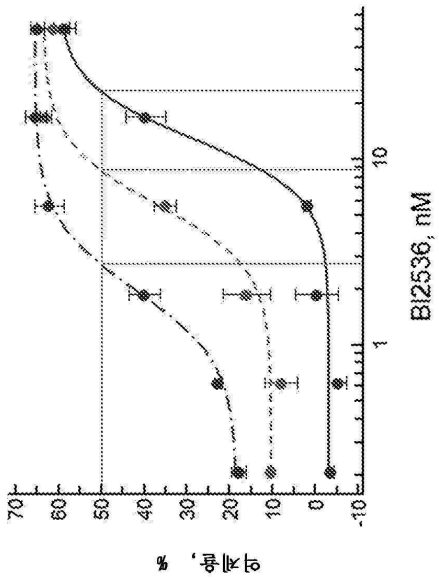
도면24

[I-7]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	27 nM
3 μM	- - - - - -	16 nM
6 μM	—·—·—	6 nM



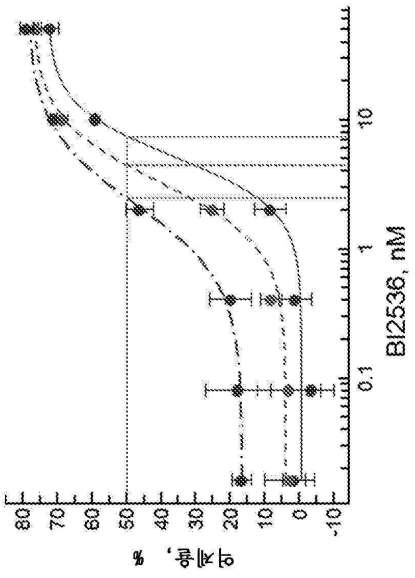
도면25

[I-7]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	46.3 nM
2 μM	- - - - - - - -	17.3 nM
4 μM	—·—·—	5.4 nM



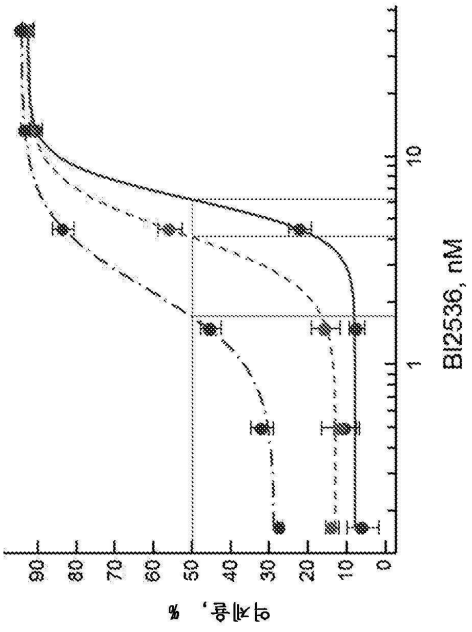
도면26

[I-7]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	7.3 nM
2 μM	- - - - - -	4.4 nM
4 μM	— · — · —	2.5 nM



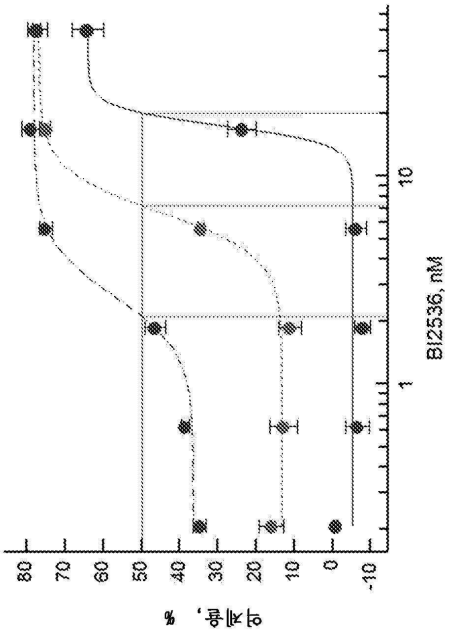
도면27

[I-7]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	6.2 nM
2 μM	- - - - - - - -	4.1 nM
4 μM	— · — · —	1.7 nM



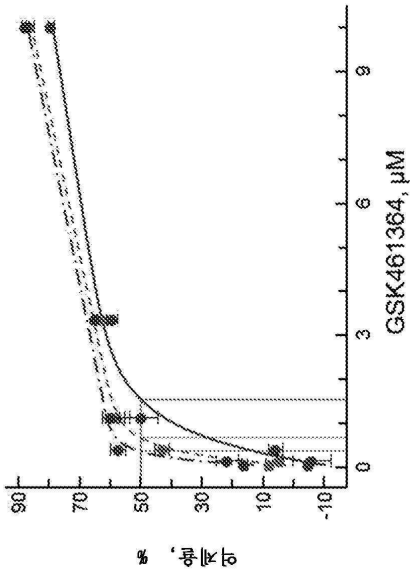
도면28

[I-7]	플롯 기호	EC_{50}
0	————	19.8 nM
3 μM	- - - - - - - -	7.1 nM
6 μM	—·—·—	2.1 nM



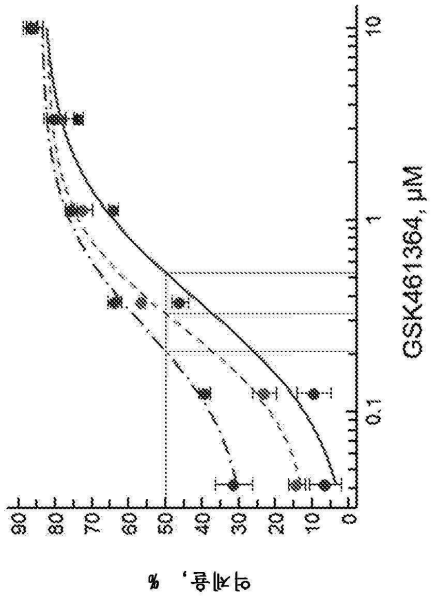
도면29

[I-7]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	1.9 μM
2 μM	- - - - - -	0.97 μM
4 μM	—·—·—	0.58 μM



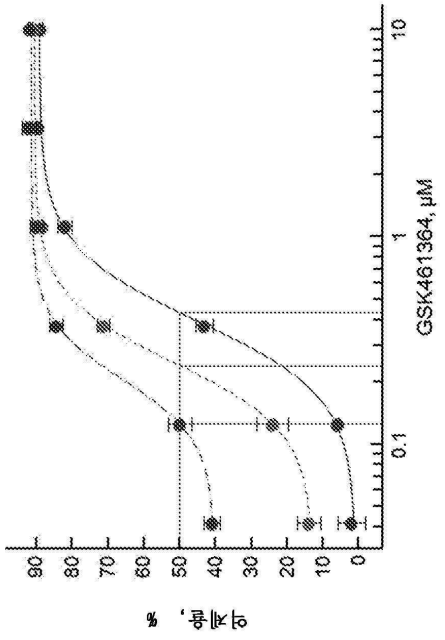
도면30

[I-7]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	0.5 μM
2 μM	- - - - - - - -	0.3 μM
4 μM	—·—·—	0.2 μM



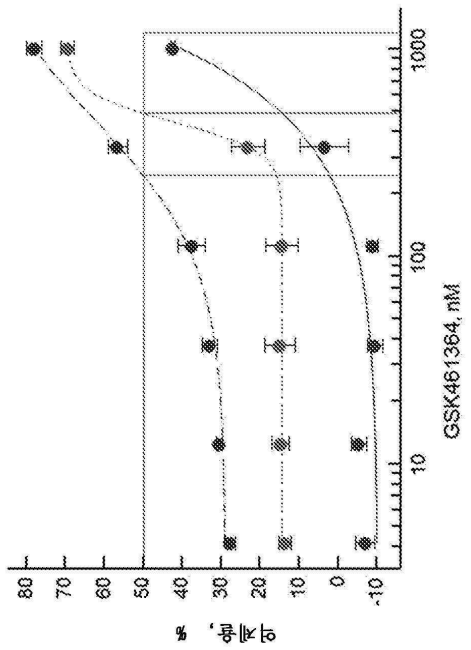
도면31

[I-7]	플롯 기호	EC_{50}
0	————	0.43 μM
2 μM	- - - - - - - -	0.24 μM
4 μM	—·—·—	0.12 μM

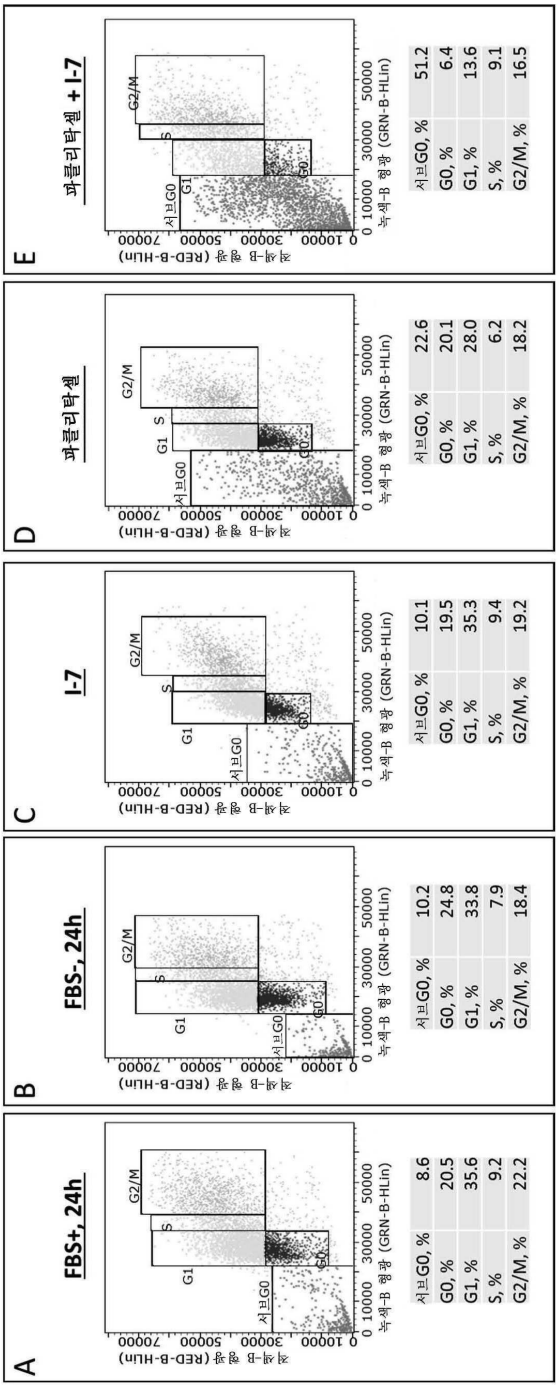


도면32

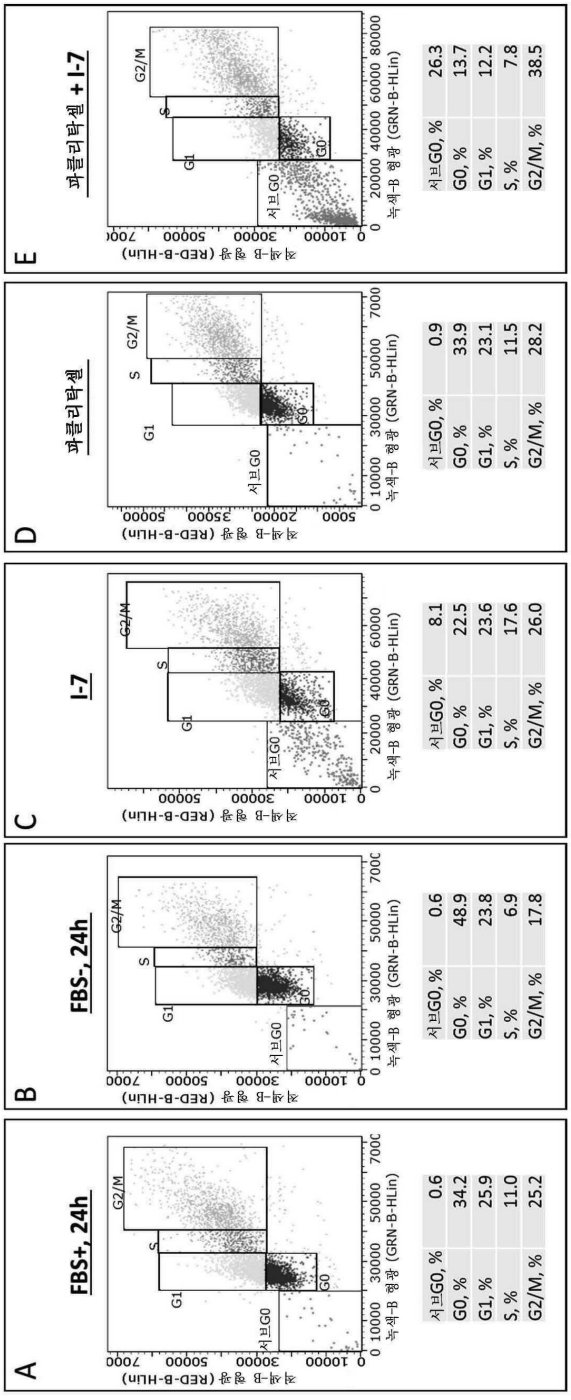
[I-7]	플롯 기호	EC_{50}
0	———	1.2 μM
3 μM	- - - - - - - - -	0.5 μM
6 μM	—·—·—	0.2 μM



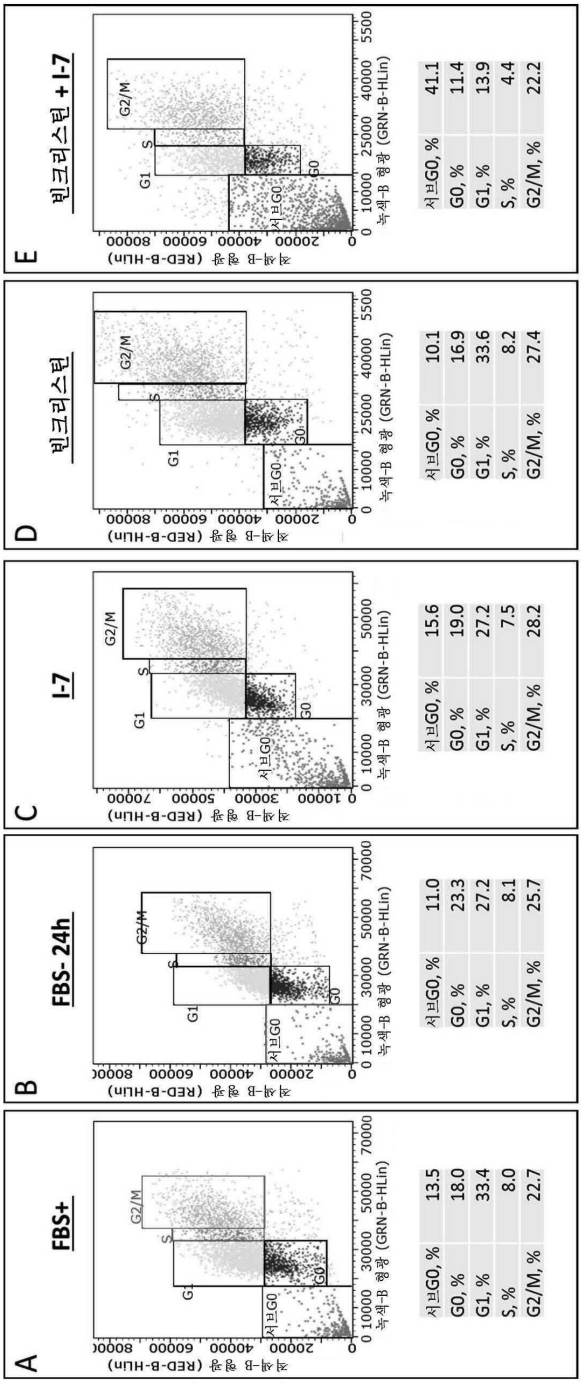
도면33


A
FBS+, 24h
B
FBS-, 24h
C
I-7
D
파클리탁셀
E
파클리탁셀 + I-7
세포-B 형광 (RED-B-HLin)
녹색-B 형광 (GRN-B-HLin)
서브G0
G1
S
G2/M
서브G0, % 8.6 10.2 10.1 22.6 51.2
G0, % 20.5 24.8 19.5 20.1 6.4
G1, % 35.6 33.8 35.3 28.0 13.6
S, % 9.2 7.9 9.4 6.2 9.1
G2/M, % 22.2 18.4 19.2 18.2 16.5

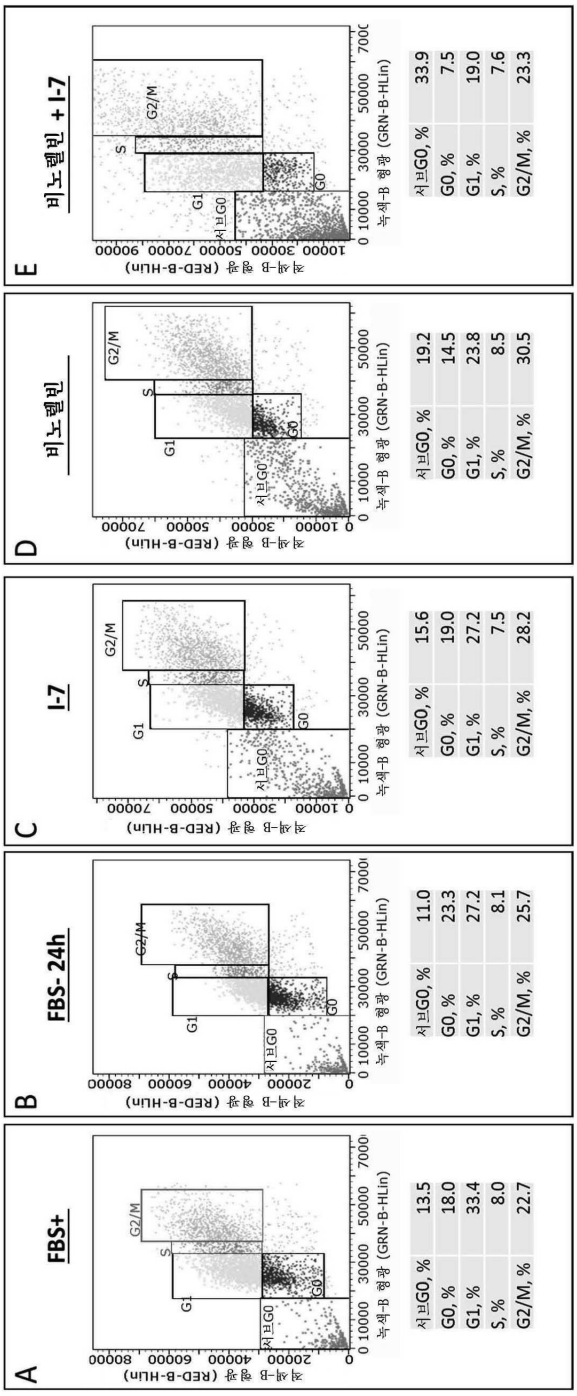
도면34


A
FBS+, 24h
B
FBS-, 24h
C
I-7
D
파클리탁셀
E
파클리탁셀 + I-7
G1
S
G2/M
G0
서브G0
세포-B 형광 (RED-B-HLin)
녹색-B 형광 (GRN-B-HLin)
서브G0, % 0.6 0.6 8.1 0.9 26.3
G0, % 34.2 48.9 22.5 33.9 13.7
G1, % 25.9 23.8 23.6 23.1 12.2
S, % 11.0 6.9 17.6 11.5 7.8
G2/M, % 25.2 17.8 26.0 28.2 38.5

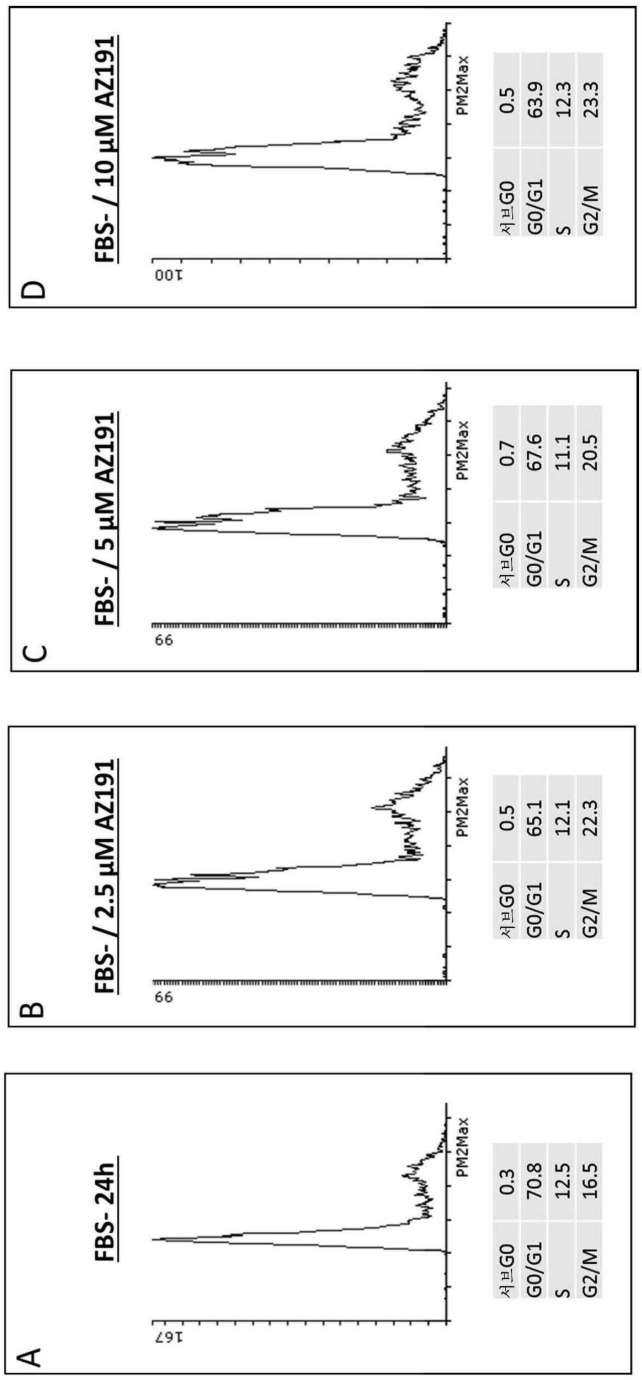
도면35


A
FBS+
B
FBS- 24h
C
I-7
D
빈크리스틴
E
빈크리스틴 + I-7
세포-B 형광 (RED-B-HLin)
녹색-B 형광 (GRN-B-HLin)
서브G0
G0
G1
S
G2/M
서브G0, %
G0, %
G1, %
S, %
G2/M, %
13.5
18.0
33.4
8.0
22.7
11.0
23.3
27.2
8.1
25.7
15.6
19.0
27.2
7.5
28.2
10.1
16.9
33.6
8.2
27.4
41.1
11.4
13.9
4.4
22.2

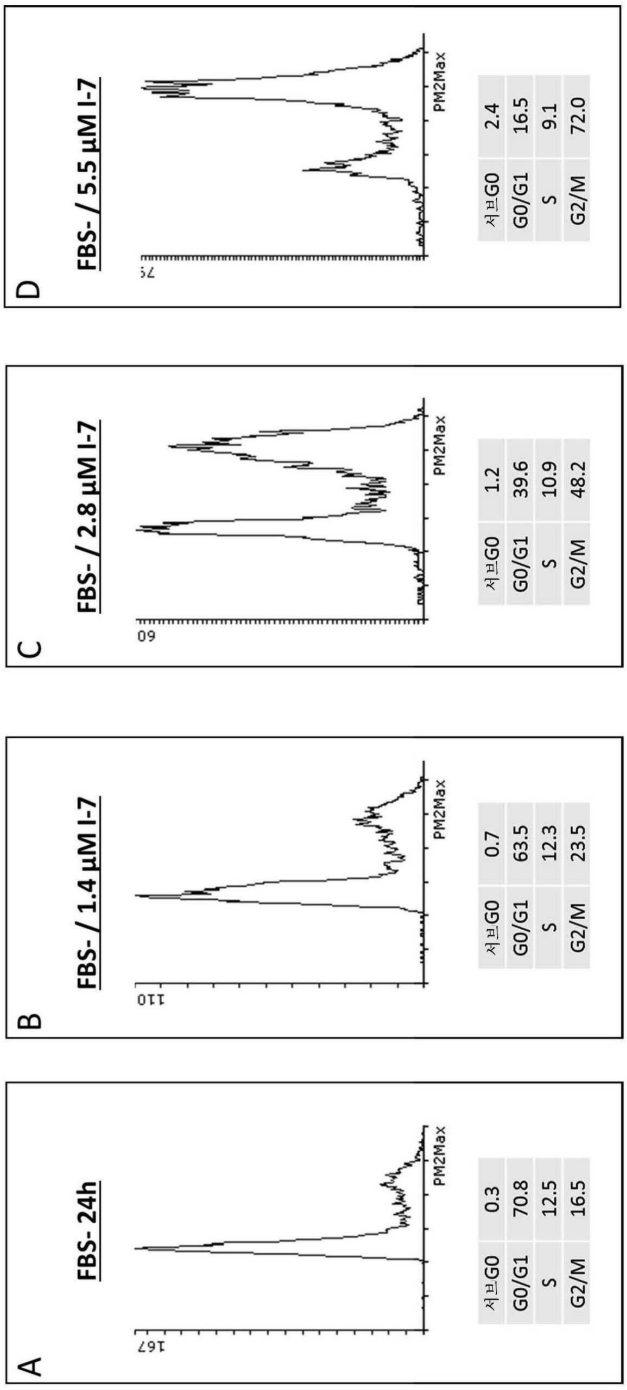
도면36


A
FBS+
B
FBS- 24h
C
I-7
D
비노렐빈
E
비노렐빈 + I-7
세포-B 형광 (RED-B-HLin)
녹색-B 형광 (GRN-B-HLin)
처브G0
G1
S
G2/M
G0
처브G0, % 13.5 11.0 15.6 19.2 33.9
G0, % 18.0 23.3 19.0 14.5 7.5
G1, % 33.4 27.2 27.2 23.8 19.0
S, % 8.0 8.1 7.5 8.5 7.6
G2/M, % 22.7 25.7 28.2 30.5 23.3

도면37


A
FBS- 24h
167
PM2Max
서브G0 0.3
G0/G1 70.8
S 12.5
G2/M 16.5
B
FBS- / 2.5 μM AZ191
99
PM2Max
서브G0 0.5
G0/G1 65.1
S 12.1
G2/M 22.3
C
FBS- / 5 μM AZ191
99
PM2Max
서브G0 0.7
G0/G1 67.6
S 11.1
G2/M 20.5
D
FBS- / 10 μM AZ191
100
PM2Max
서브G0 0.5
G0/G1 63.9
S 12.3
G2/M 23.3

도면38


A
FBS- 24h
167
PM2Max
서브G0 0.3
G0/G1 70.8
S 12.5
G2/M 16.5
B
FBS- / 1.4 μM I-7
110
PM2Max
서브G0 0.7
G0/G1 63.5
S 12.3
G2/M 23.5
C
FBS- / 2.8 μM I-7
60
PM2Max
서브G0 1.2
G0/G1 39.6
S 10.9
G2/M 48.2
D
FBS- / 5.5 μM I-7
PM2Max
서브G0 2.4
G0/G1 16.5
S 9.1
G2/M 72.0