
	(19) 대한민국특허청(KR)	(11) 공개번호 10-2014-0009222
	(12) 공개특허공보(A)	(43) 공개일자 2014년01월22일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) <i>A61K 31/573</i> (2006.01) <i>A61K 31/5377</i> (2006.01) <i>A61P 35/00</i> (2006.01)	(71) 출원인 보드 오브 리전츠, 더 유니버시티 오브 텍사스 시스템	
(21) 출원번호 10-2013-7013791	미국 텍사스주 78701 오스틴 웨스트 7번 스트리트 201	
(22) 출원일자(국제) 2011년11월11일 심사청구일자 없음	(72) 발명자 이, 칭	
(85) 번역문제출일자 2013년05월29일	미국, 텍사스 77584, 피어랜드, 3023 뉴브룩 드라이브	
(86) 국제출원번호 PCT/US2011/060297	(87) 국제공개번호 WO 2012/065021 국제공개일자 2012년05월18일	
(30) 우선권주장 61/413,260 2010년11월12일 미국(US) 61/420,089 2010년12월06일 미국(US)	(74) 대리인 손민	

전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 텍사메타손 병용 요법

(57) 요 약

본 발명은 소정량의 (1) 본 명세서에 개시된 바와 같은, 화학식 (I)의 화합물, 및/또는 이의 입체 이성질체, 토토머, 또는 약학적으로 허용가능한 염, 및 소정량의 (2) 텍사메타손 및/또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 대사체 또는 라세메이트를 대상에게 투여하여 대상을 치료하는 단계를 포함하는 대상의 다발성 골수종을 치료하는 방법을 제공한다. 다른 양태로서, 본 발명은 소정량의 (1) 화학식 (I)의 화합물 및 소정량의 (2) 텍사메타손을 대상에게 투여하여 대상을 치료하는 단계를 포함하는 대상의 다발성 골수종을 치료하는 방법; 다발성 골수종의 치료를 위한 상기 조합을 포함하는 약학적 제형; 및 이의 조성물을 제공한다.

특허청구의 범위

청구항 1

소정량의 (1) 5-(2,6-디-모르폴린-4-일-피리미딘-4-일)-4-트리플루오로메틸-피리딘-2-일아민, 및/또는 이의 임체 이성질체, 토토머, 또는 약학적으로 허용가능한 염, 및 소정량의 (2) 텍사메타손 및/또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 대사체 또는 라세메이트를 대상에게 투여하여 대상을 치료하는 단계를 포함하는 대상의 다발성 골수종을 치료하는 방법.

청구항 2

소정량의 (1) 5-(2,6-디-모르폴린-4-일-피리미딘-4-일)-4-트리플루오로메틸-피리딘-2-일아민 및 소정량의 (2) 텍사메타손을 대상에게 투여하여 대상을 치료하는 단계를 포함하는 대상의 다발성 골수종을 치료하는 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 치료 방법은 소정량의 (1) 및 소정량의 (2)를 병용-투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 소정량의 (1) 및 소정량의 (2)는 단일 제형 또는 단위 투여 형태인 방법.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 소정량의 (1) 및 소정량의 (2)는 개별적인 제형 또는 단위 투여 형태인 방법.

청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 치료 방법은 소정량의 (1) 및 소정량의 (2)를 실질적으로 동시에 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 치료 방법은 소정량의 (1) 및 소정량의 (2)를 다른 시간에 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 8

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 소정량의 (1) 및/또는 소정량의 (2)는, (1) 및 (2) 중 하나 또는 둘 모두가 단독으로 투여되는 경우에는 유효하지 않으나 조합할 경우 유효한 투여량으로 투여되는 방법.

청구항 9

소정량의 (1) 5-(2,6-디-모르폴린-4-일-피리미딘-4-일)-4-트리플루오로메틸-피리딘-2-일아민, 및/또는 이의 임체 이성질체, 토토머, 또는 약학적으로 허용가능한 염, 및 소정량의 (2) 텍사메타손 및/또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 대사체 또는 라세메이트를 포함하며, 상기 조합된 양의 (1) 및 (2)는 다발성 골수종

의 치료에 유효한 약학적 제형.

청구항 10

소정량의 (1) 5-(2,6-디-모르폴린-4-일-피리미딘-4-일)-4-트리플루오로메틸-피리딘-2-일아민, 및 소정량의 (2) 텍사메타손을 포함하며, 상기 조합된 양의 (1) 및 (2)는 다발성 골수종의 치료에 유효한 약학적 제형.

청구항 11

제9항 또는 제10항에 있어서, 상기 소정량의 (1) 및 소정량의 (2)는 단일 제형 또는 단위 투여 형태인 약학적 제형.

청구항 12

제9항 또는 제10항에 있어서, 상기 구강 제형 또는 단위 투여 형태인 약학적 제형.

청구항 13

제9항 또는 제10항에 있어서, 상기 소정량의 (1) 및/또는 소정량의 (2)는 (1) 및 (2) 중 하나 또는 둘 모두가 단독으로 투여되는 경우에는 유효하지 않으나 조합할 경우 유효한 약학적 제형.

청구항 14

5-(2,6-디-모르폴린-4-일-피리미딘-4-일)-4-트리플루오로메틸-피리딘-2-일아민, 및 텍사메타손을 포함하는 조성물.

청구항 15

다발성 골수종의 치료를 위한 5-(2,6-디-모르폴린-4-일-피리미딘-4-일)-4-트리플루오로메틸-피리딘-2-일아민, 및 텍사메타손을 포함하는 병용 요법.

명세서

기술 분야

[0001]

본 출원은 "병용 요법{COMBINATION THERAPY}"이란 명칭으로, 2010년 11월 12일자로 출원된 대리인 관리 번호 NVT-183-1의 미국 가출원 제61/413,260호의 우선권을 주장한다. 본 출원은 또한 "병용 요법{COMBINATION THERAPY}"이란 명칭으로, 2010년 12월 6일자로 출원된 대리인 관리 번호 NVT-183-2의 미국 가출원 제61/420,089호의 우선권을 주장한다. 본 명세서 전반에 걸쳐 인용된 임의의 특허, 특히 출원 및 참조문헌의 내용은 그 전체가 여기에서 참조로 포함된다.

배경 기술

[0002]

포스파티딜리노시톨 3-카나제(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)는 세포 대사에 있어 중심적인 역할을 한다. PI3K는 성장 인자, 사이토카인, 및 이들의 수용체와 관련된 다른 자극 인자들에 의해 활성화된다. 활성화된 PI3K는 결국 Akt-mTOR로의 신호 전달을 개시하고 세포 성장, 증식 및 아폽토시스의 조절로 이어진다. 상기 경로의 조절장애는 다발성 골수종(MM)을 포함하는 여러 타입의 인간 암에서 널리 보여진다. 따라서, PI3K-Ak 억제는 광범위한 항-MM 활성을 발휘할 것으로 기대된다. 화합물, 5-(2,6-디-모르폴린-4-일-피리미딘-4-일)-4-트리플루

오로메틸-페리딘-2-일아민 (화합물 A)은 pan-PI3K 억제제이다. 상기 화합물은 다양한 종양 세포주에서 유의적인 세포 성장 억제 및 아폽토시스 유도를 나타내었다. 화합물 A는 현재 고형 종양 환자에서 임상 시험 I상으로 조사되고 있다.

[0003] 다발성 골수종(MM)은 골수 내 형질 세포의 증식을 특징으로 하는 악성 B-세포 종양이다(Kyle RA, Rajkumar SV. Multiple myeloma. *N Engl J Med.* 2004;351 (18):1860-1873). MM은 용해성 콜 병소, 단일클론 면역글로불린(Ig)의 높은 수준의 생성, 및 정상 Ig 생성 및 조혈의 억제를 동반한다(Dvorak C. Common complaints, difficult diagnosis: multiple myeloma. *J Am Acad Nurse Pract.* 2006;18 (5):190-194). 화학요법은 MM 환자를 위한 가장 통상적인 치료법이다(Jagannath S, Kyle RA, Palumbo A, Siegel DS, Cunningham S, Berenson J. The current status and future of multiple myeloma in the clinic. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 10 (1):28-43). 그러나, 화학요법의 발전과 새로운 약물의 도입에도 불구하고, MM은 여전히 불치의 질환이다. 미국에서, MM은 혈액암에 의해 야기된 사망의 거의 10%에 달한다(Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin.* 2009;59 (4):225-249). 따라서, 새로운 화학요법제의 개발을 위해 MM 연구에서 계속적으로 노력하고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 다발성 골수종을 위한 새로운 화학요법적 치료에 대한 요구가 여전히 남아 있다.

과제의 해결 수단

[0005] 따라서, 일 양태로서, 본 발명은 소정량의 (1) 화학식 (I)의 화합물, 및/또는 이의 입체 이성질체, 토토며, 또는 약학적으로 허용가능한 염, 및 소정량의 (2) 덱사메타손 및/또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 대사체 또는 라세메이트를 대상에게 투여하여 대상을 치료하는 단계를 포함하는 대상의 다발성 골수종을 치료하는 방법을 제공한다. 다른 양태로서, 본 발명은 소정량의 (1) 화학식 (I)의 화합물 및 소정량의 (2) 덱사메타손을 대상에게 투여하여 대상을 치료하는 단계를 포함하는 대상의 다발성 골수종을 치료하는 방법을 제공한다.

[0006] 상기 방법의 일 구현예에서, 상기 대상은 인간이다. 다른 구현예에서, 상기 치료 방법은 소정량의 (1) 및 소정량의 (2)를 병용-투여하는 단계를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 소정량의 (1) 및 소정량의 (2)는 단일 제형(single formulation) 또는 단위 투여 형태(unit dosage form)이다. 또 다른 구현예에서, 소정량의 (1) 및 소정량의 (2)는 개별적인 제형 또는 단위 투여 형태이다.

[0007] 다른 구현예에서, 상기 치료 방법은 소정량의 (1) 및 소정량의 (2)를 실질적으로 동시에 투여하는 단계를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 상기 치료 방법은 소정량의 (1) 및 소정량의 (2)를 다른 시간에 투여하는 단계를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 상기 소정량의 (1) 및/또는 소정량의 (2)는 (1) 및 (2) 중 하나 또는 둘 모두가 단독으로 투여되는 경우에는 유효하지 않으나 조합할 경우 유효한 투여량으로 투여된다.

[0008] 다른 양태로서, 본 발명은 소정량의 (1) 화학식 (I)의 화합물, 및/또는 이의 입체 이성질체, 토토며, 또는 약학적으로 허용가능한 염, 및 소정량의 (2) 덱사메타손 및/또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 대사체 또는 라세메이트를 포함하며, 여기에서 상기 조합된 양의 (1) 및 (2)는 다발성 골수종의 치료에 유효한 약학적 제형을 제공한다. 또 다른 양태로서, 본 발명은 소정량의 (1) 화학식 (I)의 화합물, 및 (2) 덱사메타손을 포함하며, 여기에서 상기 조합된 양의 (1) 및 (2)는 다발성 골수종의 치료에 유효한 약학적 제형을 제공한다.

[0009] 상기 약학적 제형의 일 구현예에서, 소정량의 (1) 및 소정량의 (2)는 단일 제형 또는 단위 투여 형태이다. 다른 구현예에서, 상기 제형 또는 단위 투여 형태는 구강 제형 또는 단위 투여 형태이다. 또 다른 구현예에서, 상기 소정량의 (1) 및/또는 소정량의 (2)는 (1) 및 (2) 중 하나 또는 둘 모두가 단독으로 투여되는 경우에는 유효하지 않으나 조합할 경우 유효하다.

[0010] 또 다른 양태로서, 본 발명은 (1) 화학식 (I)의 화합물, 및 (2) 덱사메타손을 포함하는 조성물을 제공한다. 또 다른 양태로서, 본 발명은 화학식 (I)의 화합물 및 덱사메타손을 포함하는 병용 요법을 제공한다. 상기 병용 요법의 일 구현예에서, 상기 병용 요법은 다발성 골수종의 치료를 위한 것이다.

- [0011] 다른 양태로서, 본 발명은 소정량의 (1) 5-(2,6-디-모르폴린-4-일-피리미딘-4-일)-4-트리플루오로메틸-피리딘-2-일아민, 및/또는 이의 입체 이성질체, 토토며, 또는 약학적으로 허용가능한 염, 및 소정량의 (2) 덱사메타손 및/또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 대사체 또는 라세메이트를 대상에게 투여하여 대상을 치료하는 단계를 포함하는 대상의 다발성 골수종을 치료하는 방법을 제공한다. 또 다른 양태로서, 본 발명은 소정량의 (1) 5-(2,6-디-모르폴린-4-일-피리미딘-4-일)-4-트리플루오로메틸-피리딘-2-일아민 및 소정량의 (2) 덱사메타손을 대상에게 투여하여 대상을 치료하는 단계를 포함하는 대상의 다발성 골수종을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0012] 상기 방법의 일 구현예에서, 상기 대상은 인간이다. 다른 구현예에서, 상기 치료 방법은 소정량의 (1) 및 소정량의 (2)를 병용-투여하는 단계를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 소정량의 (1) 및 소정량의 (2)는 단일 제형 또는 단위 투여 형태이다. 또 다른 구현예에서, 소정량의 (1) 및 소정량의 (2)는 개별적인 제형 또는 단위 투여 형태이다.
- [0013] 다른 구현예에서, 상기 치료 방법은 소정량의 (1) 및 소정량의 (2)를 실질적으로 동시에 투여하는 단계를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 상기 치료 방법은 소정량의 (1) 및 소정량의 (2)를 다른 시간에 투여하는 단계를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 상기 소정량의 (1) 및/또는 소정량의 (2)는, (1) 및 (2) 중 하나 또는 둘 모두가 단독으로 투여되는 경우에는 유효하지 않으나 조합할 경우 유효한 투여량으로 투여된다.
- [0014] 다른 양태로서, 본 발명은 소정량의 (1) 5-(2,6-디-모르폴린-4-일-피리미딘-4-일)-4-트리플루오로메틸-피리딘-2-일아민, 및/또는 이의 입체 이성질체, 토토며, 또는 약학적으로 허용가능한 염, 및 소정량의 (2) 덱사메타손 및/또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 대사체 또는 라세메이트를 포함하며, 상기 조합된 양의 (1) 및 (2)는 다발성 골수종의 치료에 유효한 약학적 제형을 제공한다.
- [0015] 또 다른 양태로서, 본 발명은 소정량의 (1) 5-(2,6-디-모르폴린-4-일-피리미딘-4-일)-4-트리플루오로메틸-피리딘-2-일아민, 및 소정량의 (2) 덱사메타손을 포함하며, 상기 조합된 양의 (1) 및 (2)는 다발성 골수종의 치료에 유효한 약학적 제형을 제공한다.
- [0016] 상기 약학적 제형의 일 구현예에서, 소정량의 (1) 및 소정량의 (2)는 단일 제형 또는 단위 투여 형태이다. 다른 구현예에서, 상기 제형 또는 단위 투여 형태는 구강 제형 또는 단위 투여 형태이다. 또 다른 구현예에서, 상기 소정량의 (1) 및/또는 소정량의 (2)는 (1) 및 (2) 중 하나 또는 둘 모두가 단독으로 투여되는 경우에는 유효하지 않으나 조합할 경우 유효하다.
- [0017] 또 다른 양태로서, 본 발명은 5-(2,6-디-모르폴린-4-일-피리미딘-4-일)-4-트리플루오로메틸-피리딘-2-일아민, 및 덱사메타손을 포함하는 조성물을 제공한다.
- [0018] 또 다른 양태로서, 본 발명은 5-(2,6-디-모르폴린-4-일-피리미딘-4-일)-4-트리플루오로메틸-피리딘-2-일아민, 및 덱사메타손을 포함하는 병용 요법을 제공한다. 상기 병용 요법의 일 구현예에서, 상기 병용 요법은 다발성 골수종의 치료를 위한 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0019] 도 1A-1E는 화합물 A가 MM 세포 성장 억제 및 아폽토시스를 유도하나, 정상적인 PBMC에 대한 제한된 세포 독성을 가짐을 나타낸다.
- 도 2A-2B는 BMSC 또는 IL-6의 존재가 화합물 A에 의해 유도된 MM 세포 아폽토시스를 감소시키지 않음을 나타낸다.
- 도 3A-3B는 화합물 A 처리가 G1 단계에서의 세포 주기 정지를 야기함을 나타낸다.
- 도 4A-4C는 MM 세포에서의 화합물 A에 의해 유도된 세포내 신호 전달 및 카스파제 활성화를 나타낸다.
- 도 5A-5F는 화합물 A 및 덱사메타손이 상승작용적인 항-MM 활성을 가짐을 나타낸다.
- 도 6A-6C는 SCID 마우스의 확립된 MM 모델에 대한 화합물 A의 생체내 치료 효과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0020] 화학식 (I)의 화합물 및 덱사메타손의 병용 투여가 대상의 다발성 골수종을 치료하는데 놀라운 상승작용적인 효

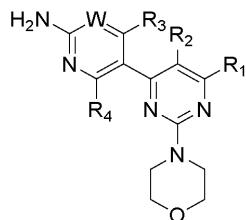
과를 제공하는 것을 발견하였다. 또한, 화학식 (I)의 화합물의 입체 이성질체, 토토머 또는 약학적으로 허용 가능한 염, 및 텍사메타손의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 대사체 또는 라세메이트가 본원에 개시된 병용요법에 사용될 수 있다. 이러한 접근법 - 2가지 타입의 작용제의 조합 또는 병용-투여 - 은 특히 현재-이용가능한 치료법에 반응하지 않거나 또는 이에 내성이 있는 다발성 골수종에 걸린 개체를 치료하는데 유용하며, 또한 현재-이용가능한 다발성 골수종 치료법에 반응하는 개체의 경우 이러한 치료법의 효능을 개선 및/또는 부작용을 감소시키는데 유용하다.

[0021] 본 명세서에서 사용되는 특정한 용어들은 이하에서 설명된다. 본 발명의 화합물은 표준 명명법을 사용하여 설명된다. 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용되는 모든 기술적 및 과학적 용어들은 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다.

[0022] 본 발명은 다발성 골수종을 치료하기 위한 치료상의 작용제의 조합 및 상기 작용제의 조합의 투여 방법을 제공한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, "작용제의 조합" 및 유사한 용어들은 하기 2가지 타입의 작용제의 조합을 언급한다: (1) 화학식 (I)의 화합물 및/또는 이의 입체 이성질체, 토토머, 또는 약학적으로 허용가능한 염, 및 (2) 텍사메타손 및/또는 이의 약학적으로 허용가능한 염. 또한, 개개의 작용제의 이성질체 또는 라세메이트의 사용을 제공한다. 텍사메타손의 약리학적 활성의 대사체는 비활성이나 투여 후 체내에서 약리학적 활성의 형태로 전환되는 것을 포함한다.

[0023] W007/084786은 포스파티딜리노시톨 3-키나제(PI3K)와 같은, 지질 키나제의 활성을 억제하는 것으로 확인된 피리미딘 유도체를 개시한다. 본 발명에 적합한 특정 피리미딘 유도체, 이의 제조 및 이를 함유하는 적합한 약학적 제형이 W007/084786에 개시되어 있으며, 이는 하기 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 입체 이성질체, 토토머, 또는 약학적으로 허용가능한 염을 포함한다:

[0024] [화학식 1]



[0025]

[0026] 상기 식에서,

[0027] W는 CR_w 또는 N^o이고,

[0028] 여기에서,

[0029] R_w는 하기로 이루어진 군으로부터 선택되며:

[0030] (1) 수소,

[0031] (2) 시아노,

[0032] (3) 할로겐,

[0033] (4) 메틸,

[0034] (5) 트리플루오로메틸,

[0035] (6) 셀폰아미드;

[0036] R₁은 하기로 이루어진 군으로부터 선택되고:

[0037] (1) 수소,

[0038] (2) 시아노,

[0039] (3) 니트로,

[0040] (4) 할로겐,

- [0041] (5) 치환된 및 비치환된 알킬,
- [0042] (6) 치환된 및 비치환된 알케닐,
- [0043] (7) 치환된 및 비치환된 알키닐,
- [0044] (8) 치환된 및 비치환된 아릴,
- [0045] (9) 치환된 및 비치환된 헤테로아릴,
- [0046] (10) 치환된 및 비치환된 헤테로사이클일,
- [0047] (11) 치환된 및 비치환된 사이클로알킬,
- [0048] (12) -COR_{1a},
- [0049] (13) -CO₂R_{1a},
- [0050] (14) -CONR_{1a}R_{1b},
- [0051] (15) -NR_{1a}R_{1b},
- [0052] (16) -NR_{1a}COR_{1b},
- [0053] (17) -NR_{1a}SO₂R_{1b},
- [0054] (18) -OCOR_{1a},
- [0055] (19) -OR_{1a},
- [0056] (20) -SR_{1a},
- [0057] (21) -SOR_{1a},
- [0058] (23) -SO₂NR_{1a}R_{1b},

[0059] 여기에서,

[0060] R_{1a}, 및 R_{1b}는 독립적으로 하기로 이루어진 군으로부터 선택되며:

- [0061] (a) 수소,
- [0062] (b) 치환된 또는 비치환된 알킬,
- [0063] (c) 치환된 및 비치환된 아릴,
- [0064] (d) 치환된 및 비치환된 헤�테로아릴,
- [0065] (e) 치환된 및 비치환된 헤�테로사이클일, 및
- [0066] (f) 치환된 및 비치환된 사이클로알킬;

[0067] R₂는 하기로 이루어진 군으로부터 선택되고:

- [0068] (1) 수소,
- [0069] (2) 시아노,
- [0070] (3) 니트로,
- [0071] (4) 할로겐,
- [0072] (5) 히드록시,
- [0073] (6) 아미노,

[0074] (7) 치환된 및 비치환된 알킬,

[0075] (8) -COR_{2a}, 및

[0076] (9) -NR_{2a}COR_{2b},

[0077] 여기에서,

[0078] R_{2a}, 및 R_{2b}는 독립적으로 하기로 이루어진 군으로부터 선택되며:

[0079] (a) 수소, 및

[0080] (b) 치환된 또는 비치환된 알킬;

[0081] R₃는 하기로 이루어진 군으로부터 선택되고:

[0082] (1) 수소,

[0083] (2) 시아노,

[0084] (3) 니트로,

[0085] (4) 할로겐,

[0086] (5) 치환된 및 비치환된 알킬,

[0087] (6) 치환된 및 비치환된 알케닐,

[0088] (7) 치환된 및 비치환된 알키닐,

[0089] (8) 치환된 및 비치환된 아릴,

[0090] (9) 치환된 및 비치환된 헤테로아릴,

[0091] (10) 치환된 및 비치환된 헤테로사이클일,

[0092] (11) 치환된 및 비치환된 사이클로알킬,

[0093] (12) -COR_{3a},

[0094] (14) -NR_{3a}R_{3b}

[0095] (13) -NR_{3a}COR_{3b},

[0096] (15) -NR_{3a}SO₂R_{3b},

[0097] (16) -OR_{3a},

[0098] (17) -SR_{3a},

[0099] (18) -SOR_{3a},

[0100] (19) -SO₂R_{3a},

[0101] 여기에서,

[0102] R_{3a}, 및 R_{3b}는 독립적으로 하기로 이루어진 군으로부터 선택되며:

[0103] (a) 수소,

[0104] (b) 치환된 또는 비치환된 알킬,

[0105] (c) 치환된 및 비치환된 아릴,

[0106] (d) 치환된 및 비치환된 헤�테로아릴,

- [0107] (e) 치환된 및 비치환된 헤테로사이클일,
- [0108] (f) 치환된 및 비치환된 사이클로알킬; 및
- [0109] R₄는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된다:
- (1) 수소, 및
- (2) 할로겐.

[0112] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 용어 "알킬"은 헤테로원자를 함유하지 않은 알킬기를 언급한다. 따라서, 상기 표현은 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 펜틸, 헥실, 햄틸, 옥틸, 노닐, 데실, 운데실, 도데실 등과 같은 직쇄 알킬기를 포함한다. 또한, 상기 표현은 이에 제한되지는 않지만, 예로서 제공되는 하기를 포함하는, 직쇄 알킬기의 분지쇄 이성질체를 포함한다: -CH(CH₃)₂, -CH(CH₃)(CH₂CH₃), -CH(CH₂CH₃)₂, -C(CH₃)₃, -C(CH₂CH₃)₃, -CH₂CH(CH₃)₂, -CH₂CH(CH₃)(CH₂CH₃), -CH₂CH(CH₂CH₃)₂, -CH₂C(CH₃)₃, -CH₂C(CH₂CH₃)₃, -CH(CH₃)-CH(CH₃)(CH₂CH₃), -CH₂CH₂CH(CH₃)₂, -CH₂CH₂CH(CH₃)(CH₂CH₃), -CH₂CH₂CH(CH₂CH₃)₂, -CH₂CH₂C(CH₃)₃, -CH₂CH₂C(CH₂CH₃)₃, -CH(CH₃)CH₂-CH(CH₃)₂, -CH(CH₃)CH(CH₃)CH(CH₃)₂, -CH(CH₂CH₃)CH(CH₃)CH(CH₃)(CH₂CH₃) 등. 따라서, 상기 표현 "알킬기"는 일차 알킬기, 이차 알킬기, 및 삼차 알킬기를 포함한다. 바람직한 알킬기는 1 내지 12개의 탄소 원자 또는 1 내지 6 개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 및 분지쇄 알킬기를 포함한다.

[0113] 용어 "알케닐"은 하나 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 것을 제외하고는, 상기 정의된 바와 같은 알킬기에 관하여 설명된 바와 같은 2 내지 약 20개의 탄소 원자의 직쇄, 분지쇄 또는 사이클릭 기를 언급한다. 예로는, 이에 제한되지는 않지만, 특히 비닐, -CH=C(H)(CH₃), -CH=C(CH₃)₂, -C(CH₃)=C(H)₂, -C(CH₃)=C(H)(CH₃), -C(CH₂CH₃)=CH₂, 사이클로헥세닐, 사이클로펜테닐, 사이클로헥사디에닐, 부타디에닐, 펜타디에닐, 및 헥사디에닐을 포함한다. 바람직한 알케닐기는 2 내지 12개의 탄소 원자 또는 2 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 및 분지쇄 알케닐기 및 사이클릭 알케닐기를 포함한다.

[0114] 용어 "알키닐"은 하나 이상의 탄소-탄소 삼중 결합을 갖는 것을 제외하고는, 상기 정의된 바와 같은 알킬기에 관하여 설명된 바와 같은 2 내지 약 20개의 탄소 원자의 직쇄, 분지쇄 또는 사이클릭 기를 언급한다. 예로는, 이에 제한되지는 않지만, 특히 -C≡C(H), -C≡C(CH₃), -C≡C(CH₂CH₃), -C(H₂)C≡C(H), -C(H)₂C≡C(CH₃), 및 -C(H)₂C≡C(CH₂CH₃)를 포함한다. 바람직한 알키닐기는 2 내지 12개의 탄소 원자 또는 2 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 및 분지쇄 알키닐기를 포함한다.

[0115] 알킬, 알케닐, 및 알키닐기는 치환될 수 있다. "치환된 알킬"은 탄소(들) 또는 수소(들)에 대한 하나 이상의 결합이 비-수소 및 비-탄소 원자, 예컨대, 이에 제한되지는 않지만, F, Cl, Br, 및 I와 같은 할로겐 원자; 하이드록실기, 알콕시기, 아릴옥시기, 및 에스테르기와 같은 기 내의 산소 원자; 티올기, 알킬 및 아릴 설파이드기, 설풀기, 설포닐기, 및 설폭사이드기와 같은 기 내의 황 원자; 아민, 아미드, 알킬아민, 디알킬아민, 아릴아민, 알킬아릴아민, 디아릴아민, N-옥사이드, 이미드, 및 엔아민과 같은 기 내의 질소 원자; 트리알킬실릴기, 디알킬아릴실릴기, 알킬디아릴실릴기, 및 트리아릴실릴기와 같은 기 내의 규소 원자; 및 다양한 다른 기 내의 다른 헤테로원자에 대한 결합으로 대체된 상기 정의된 바와 같은 알킬기를 언급한다. 또한, 치환된 알킬기는 탄소(들) 또는 수소(들)에 대한 하나 이상의 결합이 헤테로원자, 예컨대 옥소, 카보닐, 카복실, 및 에스테르기의 산소; 이민, 옥심, 히드라존, 및 니트릴과 같은 기 내의 질소에 대한 더욱 높은 차수의 결합(예를 들어, 이중- 또는 삼중-결합)으로 대체된 기를 포함한다. 치환된 알킬기는 또한 탄소(들) 또는 수소(들) 원자에 대한 하나 이상의 결합이 아릴, 헤테로아릴, 헤테로사이클일, 또는 사이클로알킬기에 대한 결합으로 대체된 알킬기를 포함한다. 바람직한 치환된 알킬기는 특히, 탄소 또는 수소 원자에 대한 하나 이상의 결합이 플루오로, 클로로, 또는 브로모기에 대한 하나 이상의 결합으로 대체된 알킬기를 포함한다. 다른 바람직한 치환된 알킬기는 트리플루오로메틸기, 및 트리플루오로메틸기를 함유하는 다른 알킬기이다. 다른 바람직한 치환된 알킬기는 탄소 또는 수소 원자에 대한 하나 이상의 결합이 산소 원자에 대한 결합으로 대체되어 상기 치환된 알킬기가 히드록실, 알콕시 또는 아릴옥시기를 함유하는 것을 포함한다. 다른 바람직한 치환된 알킬기는 아민, 또는 치환된 또는 비치환된 알킬아민, 디알킬아민, 아릴아민, (알킬)(아릴)아민, 디아릴아민, 헤테로사이클일아민, 디헤테로사이클일아민, (알킬)(헤테로사이클일)아민, 또는 (아릴)(헤테로사이클일)아민기를 갖는 알킬기를 포함한다. 또 다른 바람직한

치환된 알킬기는 탄소(들) 또는 수소(들) 원자에 대한 하나 이상의 결합이 아릴, 헤테로아릴, 헤테로사이클일, 또는 사이클로알킬기에 대한 결합으로 대체된 것을 포함한다. 치환된 알킬의 예는 하기와 같다: $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_3)$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_3)_2$, $-(\text{CH}_2\text{C}(=\text{CH}_2)\text{CH}_2\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{CH}_2\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2\text{S}(=\text{O})_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{NH}_2$, $-\text{CO}_2\text{H}$. 치환된 알킬의 치환기의 예는 하기와 같다: $-\text{CH}_3$, $-\text{C}_2\text{H}_5$, $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{OH}$, $-\text{OCH}_3$, $-\text{OC}_2\text{H}_5$, $-\text{OCF}_3$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{C}(=\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}_2\text{CH}_3$, $-\text{CONH}_2$, $-\text{NH}_2$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{NHSO}_2\text{CH}_3$, $-\text{NHCOCH}_3$, $-\text{NHC}(=\text{O})\text{OCH}_3$, $-\text{NHSO}-\text{CH}_3$, $-\text{SO}_2\text{CH}_3$, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$, 할로.

[0116] 용어 "치환된 알케닐"은 치환된 알킬기가 비치환된 알킬기에 관하여 갖는 것과 같은, 알케닐기에 관한 동일한 의미를 갖는다. 치환된 알케닐기는 비-탄소 또는 비-수소 원자가 또 다른 탄소에 대해 이중 결합된 탄소에 결합되고 상기 비-탄소 또는 비-수소 원자 중 하나가 또 다른 탄소에 대한 이중 결합에 포함되지 않은 탄소에 결합된 알케닐기를 포함한다.

[0117] 용어 "치환된 알키닐"은 치환된 알킬기가 비치환된 알킬기에 관하여 갖는 것과 같은, 알키닐기에 관한 동일한 의미를 갖는다. 치환된 알키닐기는 비-탄소 또는 비-수소 원자가 또 다른 탄소에 대해 삼중 결합된 탄소에 결합되고 상기 비-탄소 또는 비-수소 원자가 또 다른 탄소에 대한 삼중 결합에 포함되지 않은 탄소에 결합된 알키닐기를 포함한다.

[0118] 용어 "알콕시"는 RO-를 언급하며, 여기에서 R은 알킬이다. 알콕시기의 대표적인 예로는 메톡시, 에톡시, t-부톡시, 트리플루오로메톡시 등을 포함한다.

[0119] 용어 "할로겐" 또는 "할로"는 클로로, 브로모, 플루오로, 및 아이오도기를 언급한다. 용어 "할로알킬"은 하나 이상의 할로겐 원자로 치환된 알킬 라디칼을 언급한다. 용어 "할로알콕시"는 하나 이상의 할로겐 원자로 치환된 알콕시 라디칼을 언급한다.

[0120] 용어 "알콕시알킬"은 $-\text{alk}_1\text{-O-}\text{alk}_2$ 를 언급하며, 여기에서 alk_1 은 알킬 또는 알케닐이고, alk_2 는 알킬 또는 알케닐이다. 용어 "아릴옥시알킬"은 $-\text{alk}\text{ O-aryl}$ 기를 언급한다. 용어 "아르알콕시알킬"은 $-\text{alkylaryloxy-0-arylalkyl}$ 기를 언급한다.

[0121] 용어 "카보닐"은 2가의 $-\text{C}(=\text{O})-$ 기를 언급한다.

[0122] 용어 "사이클로알킬"은 모노- 또는 폴리사이클릭, 헤테로사이클릭 또는 카보사이클릭 알킬 치환기를 언급한다. 대표적인 사이클로알킬기는 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 사이클로헵틸, 및 사이클로옥틸을 포함하며, 이러한 고리는 상기 정의된 바와 같은 직쇄 및 분지쇄 알킬기로 치환된다. 전형적인 사이클로알킬 치환기는 3 내지 8개의 골격(즉, 고리) 원자를 가지며, 여기에서 각각의 골격 원자는 탄소 또는 헤테로원자 중 어느 하나이다. 본 명세서에서, 용어 "헤테로사이클로알킬"은 고리 구조 내에 1 내지 5개, 더욱 전형적으로 1 내지 4개의 헤테로원자를 갖는 사이클로알킬 치환기를 언급한다. 본 발명의 화합물에 사용되는 적합한 헤테로원자는 질소, 산소 및 황이다. 대표적인 헤테로사이클로알킬 부분은 예를 들어, 모르폴리노, 피페라지닐, 피페라디닐 등을 포함한다. 카보사이클로알킬기는 모든 고리 원자가 탄소인 사이클로알킬기이다. 사이클로알킬 치환기와 관련되어 사용되는 경우, 본 명세서에서, 용어 "폴리사이클릭"은 융합 및 비융합 알킬 사이클릭 구조를 언급한다.

[0123] 용어 "아릴"은 3 내지 14개의 골격 탄소 또는 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 모노사이클릭 및 폴리사이클릭 방향족기를 언급하며, 카보사이클릭 아릴기 및 헤테로사이클릭 아릴기를 모두 포함한다. 상기 용어는 이에 제한되지는 않지만, 예로서 페닐, 비페닐, 안트라세닐, 나프테닐과 같은 기를 언급한다. 카보사이클릭 아릴기는 방향족 고리 내 모든 고리 원자가 탄소인 아릴기이다. 본 명세서에서, 용어 "헤테로아릴"은 방향족 고리 내 고리 원자로서 1 내지 4개의 헤테로원자를 가지고 상기 고리 원자의 나머지는 탄소 원자인 아릴기를 언급한다.

[0124] 용어 "비치환된 아릴"은 나프탈렌과 같은 축합된 고리를 함유하는 기를 포함한다. 이는 본 명세서에서, 톨일과 같은 아릴기가 하기에 설명된 바와 같은 치환된 아릴기인 것으로 고려되기 때문에, 고리 구성원 중 하나에 결합된 알킬 또는 할로기와 같은 다른 기를 갖는 아릴기를 포함하지 않는다. 바람직한 비치환된 아릴기는 페닐이다. 그러나, 비치환된 아릴기는 모 화합물 내 하나 이상의 탄소 원자(들), 산소 원자(들), 질소 원자(들), 및/또는 황 원자(들)에 결합될 수 있다.

[0125] 용어 "치환된 아릴기"는 치환된 알킬기가 비치환된 알킬기에 관하여 갖는 것과 같은, 비치환된 아릴기에 관한 동일한 의미를 갖는다. 그러나, 치환된 아릴기는 또한 방향족 탄소 중 하나가 상기 설명된 비-탄소 또는 비-수

소 원자 중 하나에 결합된 아릴기를 포함하며, 또한 아릴기의 하나 이상의 방향족 탄소가 본 명세서에서 정의된 바와 같은 치환된 및/또는 비치환된 알킬, 알케닐, 또는 알키닐기에 결합된 아릴기를 포함한다. 이는 아릴기의 2개의 탄소 원자가 알킬, 알케닐, 또는 알키닐기의 2개의 원자에 결합되어 융합된 고리 시스템(예를 들어, 디하이드로나프틸 또는 테트라하이드로나프틸)을 정의하는 결합 배열을 포함한다. 따라서, 표현 "치환된 아릴"은 이에 제한되지는 않지만, 특히 톨일, 및 하이드록시페닐을 포함한다.

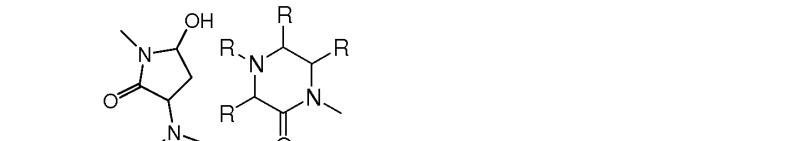
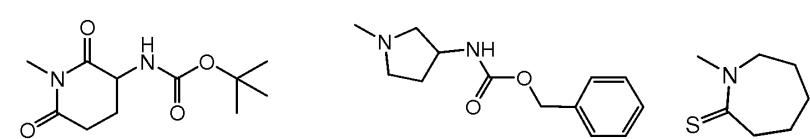
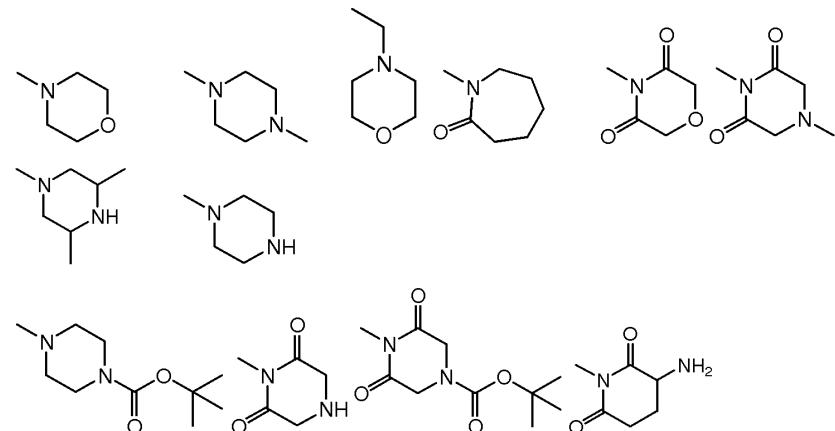
[0126] 본 명세서에서 사용된 바와 같은 용어 "치환된 헤테로아릴"은 하나, 둘 또는 세 개의 수소 원자가 C1, Br, F, I, -OH, -CN, C₁-C₃-알킬, C₁-C₆-알콕시, 또는 아릴, 할로알킬, 티오알콕시, 아미노, 알킬아미노, 디알킬아미노, 머캡토, 니트로, 카복살데히드, 카복시, 알콕시카보닐 및 카복사미드로 치환된 C₁-C₆-알콕시로 독립적으로 대체되어 치환된, 본 명세서에서 정의된 바와 같은 헤�테로아릴기를 언급한다. 또한, 임의의 하나의 치환기는 아릴, 헤�테로아릴, 또는 헤테로사이클로알킬기일 수 있다.

[0127] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "치환된 헤테로사이클", "헤테로사이클릭기", "헤테로사이클", 또는 "헤테로사이클일"은 질소, 산소 및 황으로부터 선택되는 헤테로원자를 함유하는 임의의 3- 또는 4-원 고리, 또는 질소, 산소 또는 황으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 내지 세 개의 헤�테로원자를 함유하는 5- 또는 6-원 고리를 언급하며; 여기에서 상기 5-원 고리는 0-2개의 이중 결합을 갖고 상기 6-원 고리는 0-3개의 이중 결합을 가지며; 여기에서 상기 질소 및 황 원자는 임의로 산화될 수 있고; 여기에서 상기 질소 및 황 헤�테로원자는 임의로 4급화될 수 있으며; 상기 임의의 헤�테로사이클릭 고리가 벤젠 고리 또는 독립적으로 상기에서 정의된 또 다른 5- 또는 6-원 헤�테로사이클릭 고리에 융합된 임의의 비사이클릭기를 포함한다. 헤�테로사이클일기의 예로는 이에 제한되지는 않지만, 하기를 포함한다: 1 내지 4개의 질소 원자를 함유하는 불포화 3- 내지 8-원 고리, 예컨대, 이에 제한되지는 않지만, 피롤일, 디하이드로피리딜, 피리미딜, 피라지닐, 테트라졸일(예를 들어, 1H-테트라졸일, 2H-테트라졸일); 1 내지 4개의 질소 원자를 함유하는 축합된 불포화 헤�테로사이클릭기, 예컨대, 이에 제한되지는 않지만, 이소인돌일, 인돌리닐, 인돌리지닐, 퀴놀일, 인다졸일; 1 내지 2개의 산소 원자 및 1 내지 3개의 질소 원자를 함유하는 불포화 3- 내지 8-원 고리, 예컨대, 이에 제한되지는 않지만, 옥사디아졸일(예를 들어, 1,2,4-옥사디아졸일, 1,3,4-옥사디아졸일, 1,2,5-옥사디아졸일); 1 내지 2개의 산소 원자 및 1 내지 3개의 질소 원자를 함유하는 포화 3- 내지 8-원 고리, 예컨대, 이에 제한되지는 않지만, 모르폴리닐; 1 내지 2개의 산소 원자 및 1 내지 3개의 질소 원자를 함유하는 불포화 축합 헤�테로사이클릭기, 예를 들어, 벤족사디아졸일, 벤족사지닐(예를 들어, 2H-1,4-벤족사지닐); 1 내지 3개의 황 원자 및 1 내지 3개의 질소 원자를 함유하는 불포화 3- 내지 8-원 고리, 예컨대, 이에 제한되지는 않지만, 티아디아졸일(예를 들어, 1,2,3-티아디아졸일, 1,2,4-티아디아졸일, 1,3,4-티아디아졸일, 1,2,-티아디아졸일); 1 내지 2개의 황 원자 및 1 내지 3개의 질소 원자를 함유하는 포화 및 불포화 3- 내지 8-원 고리, 예컨대, 이에 제한되지는 않지만, 티아졸로디닐; 1 내지 2개의 황 원자 및 1 내지 3개의 질소 원자를 함유하는 불포화 축합 헤�테로사이클릭 고리, 예컨대, 이에 제한되지는 않지만, 디하이드로디티에닐, 디하이드로디티오닐, 테트라하이드로티오펜, 테트라-하이드로티오파이린; 1 내지 2개의 황 원자 및 1 내지 3개의 질소 원자를 함유하는 불포화 축합 헤�테로사이클릭 고리, 예컨대, 이에 제한되지는 않지만, 벤조티아디아졸일, 벤조티아지닐(예를 들어, 2H-1,4-벤조티아지닐), 디하이드로벤조티아지닐(예를 들어, 2H-3,4-디하이드로벤조티아지닐); 산소 원자를 함유하는 불포화 3- 내지 8-원 고리, 예컨대, 이에 제한되지는 않지만, 퓨릴; 1 내지 2개의 산소 원자를 함유하는 불포화 축합 헤�테로사이클릭 고리, 예컨대 벤조디옥소일(예를 들어, 1,3-벤조디옥소일); 산소 원자 및 1 내지 2개의 황 원자를 함유하는 불포화 3- 내지 8-원 고리, 예컨대, 이에 제한되지는 않지만, 디하이드로옥사티에닐; 1 내지 2개의 산소 원자 및 1 내지 2개의 황 원자를 함유하는 포화 3- 내지 8-원 고리, 예컨대, 1,4-옥사티안; 1 내지 2개의 황 원자를 함유하는 불포화 축합 고리, 예컨대 벤조디티에닐; 및 산소 원자 및 1 내지 2개의 산소 원자를 함유하는 불포화 축합 헤�테로사이클릭 고리, 예컨대 벤족사티에닐을 포함한다. 바람직한 헤�테로사이클은 예를 들어, 디아자피닐, 피릴, 피롤리닐, 피롤리디닐, 피라졸일, 피라졸리닐, 피라졸리디닐, 이미다조일, 이미다졸리닐, 이미다졸리디닐, 피리딜, 피페리디닐, 피라지닐, 피페라지닐, N-메틸 피페라지닐, 아제티디닐, N-메틸아제티디닐, 피리미디닐, 피리다지닐, 옥사졸일, 옥사졸리디닐, 이속사졸일, 이속사졸리디닐, 모르폴리닐, 티아졸일, 티아졸리디닐, 이소티아졸일, 이소티아졸리디닐, 인돌일, 퀴놀리닐, 이소퀴놀리닐, 벤지미다졸일, 벤조티아졸일, 벤족사졸일, 퓨릴, 티에닐, 트리아졸일, 및 벤조티에닐을 포함한다. 또한, 헤�테로사이클일기는 고리 내 하나 이상의 S 원자가 하나 또는 두 개의 산소 원자에 이중 결합된 상기 기술된 기(설폭사이드 및 설폰)를 포함한다. 예를 들어, 헤�테로사이클일기는 테트라하이드로티오펜, 테트라하이드로티오펜 옥사이드 및 테트라하이드로티오펜 1,1-디옥사이드를 포함한다. 바람직한 헤�테로사이클일기는 5 또는 6개의 고리 구성원을 함유한다. 더욱 바람직한 헤�테로사이클일기는 피페라진, 1,2,3-트리아졸, 1,2,4-트리아졸, 테트라졸, 티오모르폴린, 호모피페라진, 옥사졸리딘-2-온, 피롤리딘-2-온, 퀴누클리딘, 및 테트라하이드로퓨란을 포

함한다.

[0128] 헤테로사이클릭 부분은 비치환되거나, 또는 하이드록시, 할로, 옥소($C=O$), 알킬이미노($RN=$, 여기에서 R은 알킬 또는 알콕시기임), 아미노, 알킬아미노, 디알킬아미노, 아실아미노알킬, 알콕시, 티오알콕시, 폴리알콕시, 알킬, 사이클로알킬 또는 할로알킬로부터 독립적으로 선택되는 다양한 치환기로 단일 치환 또는 이중 치환될 수 있다. "비치환된 헤테로사이클일"은 축합된 헤�테로사이클릭 고리, 예컨대 벤지미다졸일을 포함하고, 이는 2-메틸벤지미다졸일과 같은 화합물이 치환된 헤�테로사이클일이기 때문에, 고리 구성원 중 하나에 결합된 알킬 또는 할로기와 같은 다른 기를 갖는 헤�테로사이클일기를 포함하지 않는다.

[0129] 헤�테로사이클릭기는 본 명세서의 개시와 함께 유기 화학 및 의약 화학 분야의 당업자에게 명백하듯이 다양한 위치에 부착될 수 있다. 또한, 헤�테로사이클릭기의 비제한적인 예로는 하기를 포함한다:



[0132] 상기 식에서,

[0133] R은 H, 또는 본 명세서에서 기술한 바와 같은 헤�테로사이클릭 치환기이다.

[0134] 대표적인 헤�테로사이클릭은 예를 들어, 이미다졸일, 피리딜, 피페라지닐, 아제티디닐, 티아졸일, 퓨라닐, 트리아졸일, 벤지미다졸일, 벤조티아졸일, 벤족사졸일, 퀴놀리닐, 이소퀴놀리닐, 퀴나졸리닐, 퀴녹사리닐, 프탈라지닐, 인돌일, 나프트피리디닐, 인다졸일, 및 퀴놀리지닐을 포함한다.

[0135] 용어 "임의로 치환된" 또는 "치환된"은 수소가 하나 이상의 1가 또는 2가 라디칼로 대체되는 것을 언급한다. 적합한 치환기는 예를 들어, 하이드록실, 니트로, 아미노, 이미노, 시아노, 할로, 티오, 설포닐, 티오아미도, 아미디노, 이미디노, 옥소, 옥사미디노, 메톡사미디노, 이미디노, 구아니디노, 설휠아미도, 카복실, 포밀, 알킬, 치환된 알킬, 할로알킬, 알킬아미노, 할로알킬아미노, 알콕시, 할로알콕시, 알콕시-알킬, 알킬카보닐, 아미노카보닐, 아릴카보닐, 아르알킬카보닐, 헤테로아릴카보닐, 헤테로아르알킬-카보닐, 알킬티오, 아미노알킬, 시아노알킬, 아릴, 벤질, 피리딜, 피라졸일, 피롤, 티오펜, 이미다졸일 등을 포함한다.

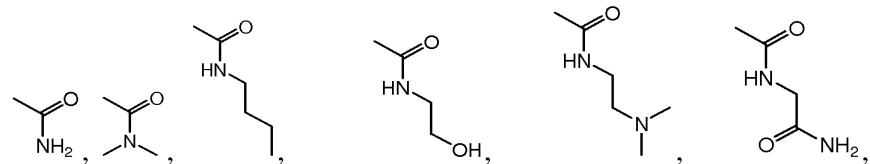
[0136] 상기 치환기는 그 자체로 치환될 수 있다. 상기 치환기 상에 치환되는 기는 카르복실, 할로, 니트로, 아미노, 시아노, 하이드록실, 알킬, 알콕시, 아미노카보닐, -SR, 티오아미도, -SO₃H, -SO₂R, 또는 사이클로알킬일 수 있으며, 여기에서, R은 전형적으로 수소, 하이드록실 또는 알킬이다.

[0137] 상기 치환된 치환기가 칙쇄기를 포함하는 경우, 상기 치환은 사슬 내(예를 들어, 2-하이드록시프로필, 2-아미노부틸 등) 또는 사슬 말단(예를 들어, 2-하이드록시에틸, 3-시아노프로필 등) 중 어느 한 곳에서 발생할 수

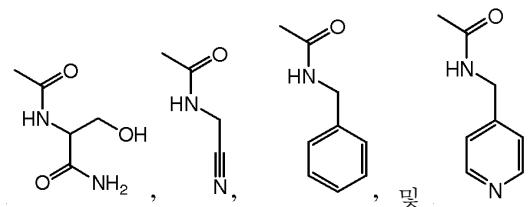
있다. 치환된 치환기는 공유결합된 탄소 또는 헤테로원자의 직쇄, 분지쇄 또는 사이클릭 배열일 수 있다.

[0138] 대표적인 치환된 아미노카보닐기는 예를 들어, 하기에 나타낸 것을 포함한다. 이들은 본 명세서의 개시와 관련하여 유기 화학 및 의약 화학 분야의 당업자에게 명백하듯이 헤테로사이클일기 및 헤테로아릴기에 의하여 추가로 치환될 수 있다. 바람직한 아미노카보닐기는 하기를 포함한다:

[0139] N-(2-시아노에틸)카복사미드, N-(3-메톡시프로필)카복사미드, N-사이클로프로필카복사미드, N-(2-하이드록시-이소프로필)카복사미드, 메틸 2-카보닐아미노-3-하이드록시프로파노에이트, N-(2-하이드록시프로필)카복사미드, N-(2-하이드록시-이소프로필)카복사미드, N-[2-하이드록시-1-(하이드록시메틸)에틸]카복사미드, N-(2-카보닐아미노에틸)아세트아미드, N-(2-(2-피리딜)에틸)카복사미드, N-(2-피리딜메틸)카복사미드, N-(옥솔란-2-일메틸)-카복사미드, N-(4-하이드록시페리를디-2-일)카복사미드, N-[2-(2-하이드록시에톡시)에틸]-카복사미드, N-(4-하이드록시사이클로헥실)카복사미드, N-[2-(2-옥소-4-이미다졸리닐)에틸]-카복사미드, N-(카보닐아미노메틸)아세트아미드, N-(3-피롤리디닐프로필)카복사미드, N-[1-(카보닐아미노메틸)피롤리딘-3-일]아세트아미드, N-(2-모르폴린-4-일에틸)-카복사미드, N-[3-(2-옥소피롤리디닐)프로필]카복사미드, 4-메틸-2-옥소피페라진-카브알데히드, N-(2-하이드록시-3-피롤리디닐프로필)카복사미드, N-(2-하이드록시-3-모르폴린-4-일프로필)카복사미드, N-{2-[(5-시아노-2-피리딜)아미노]에틸}카복사미드, 3-(디메틸-아미노)피롤리딘카브알데히드, N-[(5-메틸피라진-2-일)메틸]카복사미드, 2,2,2-트리플루오로-N-(1-포밀피롤리딘-3-일)아세트아미드,



[0140]

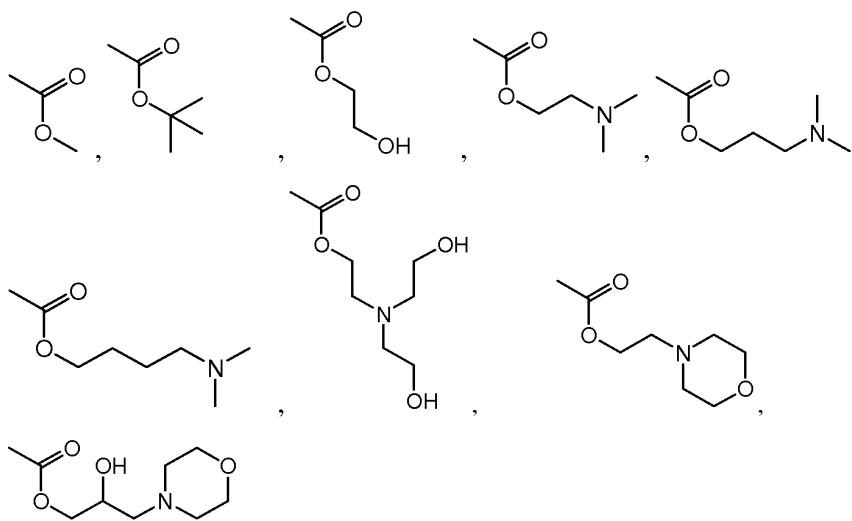


[0141]

[0142] 대표적인 치환된 알콕시카보닐기는 예를 들어, 하기에 나타낸 것들을 포함한다. 이들 알콕시카보닐기는 본 명세서의 개시와 함께 유기 화학 및 의약 화학 분야의 당업자에게 명백하듯이 추가로 치환될 수 있다.

[0143]

[0143] 대표적인 치환된 알콕시카보닐기는 예를 들어, 하기에 나타낸 것들을 포함한다. 이들 알콕시카보닐기는 본 명세서의 개시와 함께 유기 화학 및 의약 화학 분야의 당업자에게 명백하듯이 추가로 치환될 수 있다.



[0144]

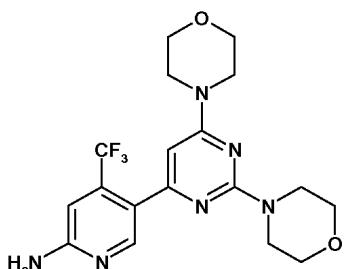
[0145] 용어 "아미노"는 본 명세서에서 $-NH_2$ 기를 언급한다. 용어 "알킬아미노"는 본 명세서에서 R은 알킬이고 R'는 수소 또는 알킬인 $-NRR'$ 기를 언급한다. 용어 "아릴아미노"는 본 명세서에서 R은 아릴이고 R'는 수소, 알킬 또는 아릴인 $-NRR'$ 기를 언급한다. 용어 "아르알킬아미노"는 R이 아르알킬이고 R'는 수소, 알킬, 아릴, 또는 아르알킬인 $-NRR'$ 기를 언급한다.

[0146] 용어 "알콕시알킬아미노"는 본 명세서에서 R이 전형적으로 수소, 아르알킬 또는 알킬인 $-NR-$ (알콕시알킬) 기를 언급한다.

[0147] 용어 "아미노카보닐"은 본 명세서에서 $-C(O)-NH_2$ 기를 언급한다. "치환된 아미노카보닐"은 본 명세서에서 R이 알킬이고 R'가 수소 또는 알킬인 $-C(O)-NRR'$ 기를 언급한다. 용어 "아릴아미노카보닐"은 본 명세서에서 R이 아릴이고 R'가 수소, 알킬 또는 아릴인 $-C(O)-NRR'$ 기를 언급한다. "아르알킬아미노카보닐"은 본 명세서에서 R이 아르알킬이고 R'가 수소, 알킬, 아릴 또는 아르알킬인 $-C(O)-NRR'$ 기를 언급한다.

[0148] 용어 "아미디노"는 본 명세서에서 R 및 R'가 수소, 알킬, 아릴 또는 아르알킬일 수 있는, $R-C(=N)-NR'-$ ("N¹" 질소에 있는 라디칼) 및 $R(NR')C=N-$ ("N²" 질소에 있는 라디칼) 부분을 언급한다.

[0149] 바람직한 구현예에서, 화학식 (I)의 화합물은 pan-포스파티딜리노시톨 3-키나제(PI3K) 억제제인 하기의 5-(2,6-디-모르폴린-4-일-페리미딘-4-일)-4-트리플루오로메틸-페리딘-2-일아민(이하 "화합물 A")이다.



[0150]

[0151] 화합물 A의 합성은 WO 2007/084786의 실시예 10에 설명되어 있으며, 이의 내용은 본 명세서에 참조로서 포함된다.

[0152] PI3K는 세포 대사에 있어 중심적인 역할을 한다 (Sasaki T, Takasuga S, Sasaki J, et al. Mammalian phosphoinositide kinases and phosphatases. *Prog Lipid Res.* 2009;48 (6):307-343; Di Paolo G, De Camilli P. Phosphoinositides in cell regulation and membrane dynamics. *Nature.* 2006;443 (7112):651-657). PI3K는 성장 인자, 사이토카인, 및 이들의 수용체와 관련된 다른 자극 인자들에 의해 활성화된다. 활성화된 PI3K는 결국 Akt-mTOR로의 신호 전달을 개시하고 세포 성장, 증식 및 아폽토시스의 조절로 이어진다 (Engelman JA, Luo J, Cantley LC. The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism. *Nat Rev Genet.* 2006;7 (8):606-619). 상기 경로의 조절장애는 여러 타입의 인간 암에서 널리 나타나고 있다 (Bunney TD, Katan M. Phosphoinositide signalling in cancer: beyond PI3K and PTEN. *Nat Rev Cancer.* 2010 (5):342-352; Engelman JA. Targeting PI3K signalling in cancer: opportunities, challenges and limitations. *Nat Rev Cancer.* 2009;9 (8):550-562). 특히, 다발성 골수종 (MM)에서, 다수의 골수종 성장 인자, 예컨대 인슐린-유사 성장 인자-1 (IGF-1) 및 인터류킨-6 (IL6)이 MM 세포 상의 이들의 수용체와의 상호작용 하에 PI3K-Akt 경로를 활성화시키고, MM 증식, 생존 및 약물 내성을 증진시킨다 (Harvey RD, Lonial S. PI3 kinase/AKT pathway as a therapeutic target in multiple myeloma. *Future Oncol.* 2007;3 (6):639-647; Younes H, Leleu X, Hatjiharissi E, et al. Targeting the phosphatidylinositol 3-kinase pathway in multiple myeloma. *Clin Cancer Res.* 2007;13 (13):3771-3775; Hidemitsu T, Nakamura N, Chauhan D, Anderson KC. Biologic sequelae of interleukin-6 induced PI3-K/Akt signaling in multiple myeloma. *Oncogene.* 2001;20 (42):5991-6000; Descamps G, Pellat-Deceunynck C, Szpak Y, Bataille R, Robillard N, Amiot M. The magnitude of Akt/phosphatidylinositol 3'-kinase proliferating signaling is related to CD45 expression in human myeloma cells. *J Immunol.* 2004;173 (8):4953-4959). 따라서, PI3K-Akt 억제는 광범위한 항-MM 활성을 발휘할 것으로 기대되며, 몇몇의 PI3K-Akt 억제 화합물들이 임상-전 조사 또는 임상 I상 및 II상 시험 하에 있다 (Harvey RD, Lonial S. PI3 kinase/AKT pathway as a therapeutic target in

multiple myeloma. *Future Oncol.* 2007;3 (6):639-647). 화합물 A는 다양한 종양 세포주에서 유의적인 세포 성장 억제 및 아폽토시스 유도를 나타내었으며, 현재 고형 종양 환자에서 임상 시험 I상으로 조사하고 있다.

[0153] 텍사메타손은 (8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17R)-9-플루오로-11,17-디하이드록시-17-(2-하이드록시아세틸)-10,13,16-트리메틸-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-도데카하이드로-3H-사이클로펜타[a]페난트렌-3-온을 지정한다. 이는 항-염증 및 면역억제 활성을 갖는, 강력한 합성 글루코코르티코이드 스테로이드 약물이다. 텍사메타손은 특정한 염증 및 자가면역 증세, 예컨대 류머티즘성 관절염을 치료하기 위하여 사용된다. 이는 또한 항종양 치료로부터 발생되는 특정한 부작용을 중화시키기 위하여 사용되며, 또한 특정한 혈액암에서 화학요법제로서 사용된다. 참조, 예를 들어, Pharmaceutical Press에 의하여 출판된 *Martindale: The Complete Drug Reference*, 37th Edition.

[0154] 상기 조합(예를 들어, 화학식 (I)의 화합물과 텍사메타손의 조합, 예를 들어, 화합물 A와 텍사메타손의 조합)의 투여는 단일 제형 또는 단위 투여 형태로의 상기 조합의 투여, 상기 조합의 개개의 작용제의 동시이나 개별적인 투여, 또는 상기 조합의 개개의 작용제의 임의의 적합한 경로에 의한 순차적인 투여를 포함한다. 상기 조합의 개개의 작용제의 투약은 상기 조합 중 다른 작용제(들)에 비하여 어느 하나의 작용제(들)의 더욱 잦은 투여를 필요로 할 수 있다. 따라서, 적절한 투약을 하게 하기 위하여, 패키지화된 약학적 제품이 상기 작용제의 조합을 함유하는 하나 이상의 투약 형태, 및 상기 조합의 작용제 중 하나를 함유하나 상기 조합의 다른 작용제(들)는 함유하지 않는 하나 이상의 투약 형태를 포함할 수 있다.

[0155] 작용제는 입체 중심 또는 입체 축, 예를 들어 비대칭 탄소 원자와 같은 하나 이상의 비대칭 원소를 함유할 수 있어서, 상기 화합물은 상이한 입체 이성질체 형태로 존재할 수 있다. 이들 화합물은, 예를 들어, 라세메이트 또는 광학 활성 형태일 수 있다. 2개 이상의 비대칭 원소를 갖는 화합물의 경우, 이들 화합물은 추가적으로 디아스테오머의 혼합물일 수 있다. 비대칭 중심을 갖는 화합물의 경우, 모든 광학 이성질체 및 이의 혼합물이 포함되는 것으로 이해되어야 한다. 또한, 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 화합물은 Z- 및 E- 형태로 발생할 수 있고; 상기 화합물의 모든 이성질체 형태가 본 발명에 포함된다. 이들 상황에서, 단일의 에난티오머(광학 활성 형태)는 비대칭 합성, 광학적으로 순수한 전구체로부터의 합성, 또는 라세메이트의 분할에 의하여 얻어질 수 있다. 또한, 라세메이트의 분할은 예를 들어, 분할제(resolving agent)의 존재 하의 결정화, 또는 예를 들어 키랄 HPLC 컬럼을 사용한 크로마토그래피와 같은 통상적인 방법으로 달성할 수 있다.

[0156] 달리 명시되지 않거나, 또는 문장에 의해 명확히 지시되지 않는다면, 본 발명의 병용 요법에 유용한 화합물에 대한 언급은 상기 화합물의 유리 염기(free base), 및 상기 화합물의 모든 약학적으로 허용가능한 염 모두를 포함한다.

[0157] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "약학적으로 허용가능한 염"은 본 발명의 피리미딘 화합물의 비독성 산 또는 알칼리 토금속 염을 언급한다. 이들 염은 상기 피리미딘 화합물의 최종 분리 및 정제 도중에 인시츄로 제조되거나, 또는 적합한 유기 또는 무기 산 또는 염기를 상기 염기 또는 산 작용물과 각각 반응시킴으로써 개별적으로 제조될 수 있다. 대표적인 염은, 이에 제한되지는 않지만, 하기를 포함한다: 아세테이트, 아디페이트, 알기네이트, 시트레이트, 아스파테이트, 벤조에이트, 벤젠술포네이트, 비설레이트, 부티레이트, 캄포레이트, 캄포설포네이트, 디글루코네이트, 사이클로펜탄프로피오네이트, 도데실설페이트, 에탄술포네이트, 글루코헵타노에이트, 글리세로포스페이트, 헤미-설페이트, 헬타노에이트, 헥사노에이트, 푸마레이트, 하이드로클로라이드, 하이드로브로마이드, 하이드로아이오다이드, 2-하이드록시에탄술포네이트, 락테이트, 멜레에이트, 메탄술포네이트, 니코티네이트, 2-나프트-알렌술포네이트, 옥살레이트, 파모에이트, 펙티네이트, 퍼설페이트, 3-페닐프로피오네이트, 피크레이트, 피발레이트, 프로피오네이트, 숙시네이트, 설페이트, 타르트레이트, 티오시아네이트, p-톨루엔설포네이트, 및 운데카노에이트. 또한, 기본적인 질소-함유 기가 알킬 할라이드, 예컨대 메틸, 에틸, 프로필, 및 부틸 클로라이드, 브로마이드, 및 아이오다이드; 디알킬 설페이트, 예컨대 디메틸, 디에틸, 디부틸, 및 디아밀 설페이트; 장쇄 할라이드, 예컨대 테실, 라우릴, 미리스틸, 및 스테아릴 클로라이드, 브로마이드, 및 아이오다이드; 아르알킬 할라이드, 예컨대 벤질 및 펜에틸 브로마이드 등과 같은 작용제로 4급화될 수 있다. 이에 의하여 물 또는 오일-용해성 또는 분산성 생성물이 얻어진다.

[0158] 약학적으로 허용가능한 산 부가염을 형성하기 위하여 사용될 수 있는 산의 예로는 염산, 하이드로보릭산, 질산, 황산 및 인산과 같은 무기산, 및 포름산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 푸마르산, 타르타르산, 옥살산, 말레산, 메탄술폰산, 숙신산, 말산, 메탄술폰산, 벤젠술폰산, p-톨루엔술폰산, 시트르산, 및 산성 아미노산, 예컨대 아스파르트산 및 글루탐산과 같은 유기산을 포함한다.

[0159] 염기 부가염은 상기 피리미딘 화합물의 최종 분리 및 정제 도중에 인시츄로 제조되거나, 또는 적합한 염기, 예

컨대 약학적으로 허용가능한 금속 양이온의 수산화물, 탄산염 또는 중탄산염, 또는 암모니아, 또는 유기 1차, 2차 또는 3차 아민을 카르복실산 부분과 반응시킴으로써 개별적으로 제조될 수 있다. 약학적으로 허용가능한 염은, 이에 제한되지는 않지만, 알칼리 및 알칼리 토금속 기초의 양이온, 예컨대 나트륨, 리튬, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 알루미늄 염 등을 포함하고, 뿐만 아니라 이에 제한되지는 않지만, 암모늄, 테트라메틸암모늄, 테트라에틸암모늄, 메틸아민, 디메틸아민, 트리메틸아민, 트리에틸아민, 에틸아민 등을 포함하는 비독성의 암모늄, 4급 암모늄, 및 아민 양이온을 포함한다. 염기 부가염의 형성에 유용한 다른 대표적인 유기 아민은 디에틸아민, 에틸렌디아민, 에탄올아민, 디에탄올아민, 피페라진, 피리딘, 피콜린, 트리에탄올아민 등과, 아르기닌, 라이신 및 오르니틴과 같은 염기성 아미노산을 포함한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같은 용어 "단일 제형"은 환자에게 유효량의 둘 모두의 치료제를 전달하도록 제형화된 단일의 담체 또는 비히클을 언급한다. 단일의 비히클은 임의의 약학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제와 함께, 유효량의 각각의 작용제를 전달하도록 설계된다. 일부 구현예에서, 상기 비히클은 정제, 캡슐, 알약 또는 패치이다. 다른 구현예에서, 상기 비히클은 용액 또는 혼탁액이다.

- [0160] 본 명세서에서 용어 "단위 용량(unit dose)"은 치료되는 환자에게 하나의 투약 형태로 둘 모두의 작용제를 함께 동시에 투여하는 것을 의미하는 것으로 사용된다. 일부 구현예에서, 상기 단위 용량은 단일 제형이다. 특정한 구현예에서, 상기 단위 용량은 각각의 비히클이 약학적으로 허용가능한 담체 및 부형제와 함께 유효량의 적어도 하나의 작용제를 포함하는 하나 이상의 비히클을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 단위 용량은 동시에 환자에게 투여되는 하나 이상의 정제, 캡슐, 알약 또는 패치이다.
- [0161] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "용량 범위(dose range)"는 기술된 작용제의 양의 허용가능한 변화의 상한 및 하한을 언급한다. 전형적으로, 기술된 범위 내의 임의의 양의 작용제의 용량이 치료를 받는 환자에게 투여될 수 있다.
- [0162] 용어 "치료(treat)"는 본 명세서에서 대상의 질환의 적어도 하나의 증상을 완화, 감소 또는 경감시키는 것을 의미하는 것으로 사용된다. 본 발명의 의도 내에서, 용어 "치료"는 또한 질환의 증상이 발달 또는 악화되는 것의 개시(즉, 질환의 임상적 징후 또는 질환의 증상 이전의 시기)를 저지, 지연시키는 것, 및/또는 이의 위험을 감소시키는 것을 나타낸다.
- [0163] 용어 "대상(subject)"은 동물을 포함하는 것으로 의도된다. 대상의 예로는 포유동물, 예를 들어, 인간, 개, 소, 말, 돼지, 양, 염소, 고양이, 마우스, 토끼, 래트, 및 유전자 도입의 비-인간 동물을 포함한다. 특정한 구현예에서, 상기 대상은 인간, 예를 들어 다발성 골수종에 걸려 있거나, 걸릴 위험이 있거나, 또는 잠재적으로 걸릴 수 있는 인간이다.
- [0164] 용어 "약" 또는 "대략"은 일반적으로 주어진 값 또는 범위의 20% 이내, 더욱 바람직하기로 10% 이내, 가장 바람직하기로 여전히 5% 이내를 의미한다. 택일적으로, 특히 생물학적인 시스템에서, 용어 "약"은 주어진 값의 약 1 로그(a log)(즉, 10배), 바람직하기로 2배 이내를 의미한다.
- [0165] 본 발명에서 사용되는 바와 같은 용어 "상승작용적인 효과"는 단독으로 투여되는 각각의 약물의 효과의 단순한 합보다 더욱 큰, 예를 들어, 다발성 골수종 또는 이의 증상의 징후를 나타내는 진행을 늦추는 효과를 생성하는, 예를 들어, 화학식 (I)의 화합물, 예컨대 화합물 A, 및 텍사메타손과 같은 두 작용제의 작용을 언급한다. 상승작용적인 효과는 예를 들어, Sigmoid-Emax 방정식(Holford, N. H. G. and Scheiner, L. B., Clin. Pharmacokinet. 6: 429-453 (1981)), Loewe additivity 방정식(Loewe, S. and Muischnek, H., Arch. Exp. Pathol Pharmacol. 114: 313-326 (1926)) 및 median-effect 방정식(Chou, T. C. and Talalay, P., Adv. Enzyme Regul. 22: 27-55 (1984))과 같은 적합한 방법을 사용하여 계산될 수 있다. 상기에서 언급된 각각의 방정식을 실험 데이터에 적용하여 약물 조합의 효과를 평가하는데 도움이 되는 상응하는 그래프를 생성시킬 수 있다. 상기 언급된 방정식과 관련된 상응하는 그래프는 각각 농도-효과 곡선, 이소볼로그램(isobologram) 곡선 및 조합 지수(combination index) 곡선이다.
- [0166] 작용제의 조합(예를 들어, 화학식 (I)의 화합물, 예컨대 화합물 A, 및 텍사메타손)의 "유효량"은 상기 조합으로 치료된 억제성(depressive) 질환의 임상적으로 관찰가능한 징후 및 증상의 기준선(baseline) 이상의 관찰가능한 개선을 제공하기에 충분한 양이다.
- [0167] "경구 투여 형태"는 경구 투여를 위해 예정되거나 이를 위해 의도된 단위 투여 형태를 포함한다.

[0168] 치료 방법

본 발명은 화학식 (I)의 화합물, 예를 들어 화합물 A, 및 텍사메타손의 조합을 개체에게 투여함으로써 개체의 다발성 골수종을 치료하는 방법을 제공한다.

본 발명은 다발성 골수종을 치료하는 방법에 관한 것이다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "골수종"은 골수 내에서 일반적으로 발견되는 타입의 세포로 이루어진 종양에 관한 것이다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "다발성 골수종"은 골 통증, 병리적 골절, 고칼슘혈증 및 정상색소성 정적혈구성 빈혈을 초래하는, 광범위한 끌용해성 병소와 관련된, 다수의 골수 종양 중심 및 M 성분(단일클론 면역글로불린 단편)의 분비를 특징으로 하는 형질 세포의 산재성 악성 신생물을 의미한다. 다발성 골수종은 통상적인 고용량의 화학요법을 사용하여 치유될 수 없다.

일부 구현예에서, 치료되는 대상(예를 들어, 인간)은 하나 이상의 다발성 골수종 치료법에 대해 비반응성이거나 내성이 있는 것으로 측정된다.

본원에서는 다발성 골수종을 갖는 개체에게 유효량의 화학식 (I)의 화합물, 예를 들어, 화합물 A, 및 텍사메타손을 투여함으로써 다발성 골수종을 치료하는 방법을 제공한다. 상기 조합의 작용제의 양은 다발성 골수종을 치료하는데 효과적이다. 상기 조합의 작용제의 상승작용적인 효과를 주지하는 것이 중요하다: 비록 특별한 투여량으로 단독으로 투여되는 하나 이상의 작용제가 효과적이지 않을 수 있을지라도, 각각의 작용제의 동일한 투여량으로 조합하여 투여하는 경우, 상기 치료가 효과적이다. 따라서, 상기 조합 중의 하나 이상의 작용제는 각각의 작용제의 FDA 승인된 용량 미만일 수 있다.

[0173] 투여량

다발성 골수종의 치료를 위한 상기 조합의 작용제의 최적 용량은 공지의 방법을 사용하여 각각의 개체에 대하여 실증적으로 결정될 수 있으며, 이는 이에 제한되지 않지만, 질환의 진전 정도; 개체의 연령, 체중, 전반적인 건강, 성별 및 식이; 투여의 시간 및 경로; 및 개체가 섭취하는 다른 약제를 포함하는, 다양한 인자들에 의존할 것이다. 최적의 투여량은 당업계에 잘 알려진 일상적인 시험 및 과정을 사용하여 확립할 수 있다. 예를 들어, 텍사메타손의 일일 투여량은 0.25 mg - 9 mg (예를 들어, 0.25, 0.5, 0.6, 0.75, 2 또는 4 mg)일 수 있다. 화학식 (I)의 화합물의 일일 투여량은 10 mg 내지 약 2000 mg일 수 있다.

단일 투여 형태를 생성하기 위하여 담체 물질과 결합될 수 있는 작용제의 조합의 양은 치료되는 개체 및 투여의 특정 방식에 의존하여 달라질 것이다. 일부 구현예에서, 본 명세서에 개시된 바와 같은 작용제의 조합을 함유하는 단위 투여 형태는 상기 작용제가 단독으로 투여될 때 전형적으로 투여되는 상기 조합의 각각의 작용제의 양을 함유할 것이다.

투여의 빈도는 사용되는 화합물, 및 치료되거나 또는 예방되는 특정 상태에 의존하여 달라질 수 있다. 일반적으로, 효과적인 치료법을 제공하기에 충분한 최소의 투여량을 사용하는 것이 바람직하다. 환자는 일반적으로 치료되거나 또는 예방되는 상태에 적합한 분석법을 사용하여 치료법의 유효성을 모니터링 할 수 있으며, 이는 당업자에게 친숙할 것이다.

상기 투여 형태는 약물 제형 화학의 당업자에게 용이하게 명백한 다양한 통상적인 혼합, 분쇄 및 조립 기술로 제조될 수 있다.

상기 작용제의 조합, 또는 상기 작용제의 조합 중의 개개의 작용제를 함유하는 경우 투여 형태는 캡슐, 예를 들어 젤라틴 캡슐 내부에 봉입된 마이크로-정제의 형태일 수 있다. 이를 위하여, 약학적 제형에 사용되는 바와 같은 젤라틴 캡슐, 예컨대 화이자로부터 입수가능한 CAPSULE로서 알려져 있는 경질의 젤라틴 캡슐이 사용될 수 있다.

본원에 유용한 다수의 경우 투여 형태는 입자의 형태로 상기 작용제의 조합, 또는 상기 작용제의 조합 중의 개개의 작용제를 함유한다. 이러한 입자는 코팅된 투여 형태, 예컨대 맷-차페 투여 형태, 압축 코팅된 투여 형태, 또는 장용 코팅된 투여 형태의 코어 부분에 존재하는 정제로 압축될 수 있거나, 또는 캡슐, 삼투 펌프 투여 형태, 또는 다른 투여 형태 내에 포함될 수 있다.

본 발명의 약물 화합물(예를 들어, 화학식 (I)의 화합물, 특히 화합물 A, 및 텍사메타손)은 100:1 내지 1:100, 더욱 바람직하기로 1:1 내지 1:100, 더욱더 바람직하기로 1:10 내지 1:100의 범위의 비율로 본 명세서에 개시된

조합, 투여 형태, 약학적 조성물 및 약학적 제형 중에 존재한다.

[0181] 독성 없이 효능을 발휘하는 최적의 비율, 개개의 투여량 및 합친 투여량, 및 약물 화합물의 농도는 표적 부위에 대한 활성 성분 이용도의 동력학에 기초하고, 이는 당업자에게 알려져 있는 방법을 사용하여 결정된다.

약학적 조성물

[0183] 본 명세서에서 제공되는 약학적 조성물 또는 조합(예를 들어, 화학식 (I)의 화합물, 특히 화합물 A, 및 텍사메타손)은 임상 조사로 시험할 수 있다. 적합한 임상 조사는 예를 들어, 증식성 질환을 갖는 환자의 공개형(open label)의, 용량 증량 조사일 수 있다. 이러한 조사는 특히 본 발명의 조합의 활성 성분의 상승작용을 입증한다. 증식성 질환에 대한 이로운 효과는 그 자체로 당업자에게 알려져 있는 이들 조사의 결과를 통해 직접적으로 결정될 수 있다. 이러한 조사는 특히 활성 성분을 사용한 단일 요법과 본 발명의 조합의 효과를 비교하는데 적합할 수 있다. 일 구현예에서, 화학식 (I)의 화합물, 예를 들어 화합물 A의 용량은 최대 내성 용량(Maximum Tolerated Dosage)에 도달할 때까지 증량되고, 텍사메타손은 고정된 용량으로 투여된다. 택일적으로, 화학식 (I)의 화합물, 예를 들어 화합물 A는 고정된 용량으로 투여될 수 있고, 텍사메타손의 용량은 증량될 수 있다. 각각의 환자에게 화학식 (I)의 화합물, 예를 들어 화합물 A의 용량을 매일 또는 간헐적으로 투여할 수 있다. 상기 치료의 효능은 매 6주마다 증상 점수를 평가함으로써, 예를 들어 12, 18 또는 24 주 이후에 이러한 조사에서 결정될 수 있다.

[0184] 본 발명의 약학적 조합의 투여는, 본 발명의 조합에 사용된 약학적 활성 성분 중 단지 하나를 적용한 단일 요법에 비하여, 이로운 효과, 예를 들어 증상을 경감시키거나, 증상의 진행을 지연시키거나 또는 증상을 억제하는 것에 관한, 예를 들어 상승작용적인 치료 효과 뿐만 아니라, 추가적인 의외의 이로운 효과, 예를 들어 더욱 적은 부작용, 개선된 삶의 질 또는 감소된 사망률을 초래할 수 있다.

[0185] 추가적인 이익은 본 발명의 조합의 활성 성분의 더욱 낮은 용량이 사용될 수 있다는 것, 예를 들어 투여량이 단지 종종 더욱 적을 필요는 없지만 또한 덜 자주 적용될 수 있다는 것일 수 있고, 이는 부작용의 발생률 또는 심각도를 감소시킬 수 있다. 이는 치료되는 환자의 희망 및 필요에 따른다.

[0186] 본 발명의 하나의 목적은 다발성 골수종을 표적화하거나 예방하는데 공동으로 치료적으로 유효할 수 있는 양을 포함하는 약학적 조성물을 제공하는 것이다. 이러한 조성물에서, 화학식 (I)의 화합물 및 텍사메타손은 하나의 결합된 단위 투여 형태 또는 2개의 개별적인 단위 투여 형태로 함께, 차례 차례로, 또는 개별적으로 투여될 수 있다. 단위 투여 형태는 또한 고정된 조합일 수 있다.

[0187] 둘 모두의 화합물의 개별적인 투여, 또는 고정된 조합, 즉 본 발명에 따른 둘 모두의 화합물을 포함하는 단일의 생약 조성물로의 투여를 위한 약학적 조성물은 그 자체로 공지된 방식으로 제조될 수 있으며, 치료적으로 유효한 양의 예를 들어 상기에 기재된 바와 같은 적어도 하나의 약리학적 활성 조합 파트너 단독, 또는 특히 장용 또는 비경구적 적용에 적합한 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제와의 조합을 포함하는, 인간을 포함하는 포유동물(온혈 동물)에 장용, 예컨대 경구 또는 직장, 및 비경구적 투여에 적합한 것이다.

제형

[0189] 일 구현예에서, 본 명세서에서는 대상이 치료되도록, (1) 화학식 (I)의 화합물, 특히 화합물 A, 및/또는 이의 입체 이성질체, 토토머, 또는 약학적으로 허용가능한 염, 및 (2) 텍사메타손 및/또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 대사체 또는 라세메이트를 포함하는 약학적 조성물을 제공하고, 여기에서 각각의 성분 (1) 및 (2)는 약학적으로 허용가능한 보조제, 희석제 또는 담체와 혼합하여 제형화된다.

[0190] 본 명세서에서 제공되는 약물 조합은 약학적 제형 분야의 당업자에게 명백한 다양한 방법으로 제형화될 수 있다. 상기에 기술된 다양한 방출 특성이 다양한 여러 방식으로 달성될 수 있다. 적합한 제형은, 예를 들어 정제, 캡슐, 압축 코팅 제형, 및 다른 용이하게 투여되는 제형을 포함한다.

[0191] 적합한 약학적 제형은 예를 들어, 약 0.1% 내지 약 99.9%, 바람직하기로 약 1% 내지 약 60%의 활성 성분(들)을 함유할 수 있다. 장용 또는 비경구적 투여를 위한 상기 병용 치료를 위한 약학적 제형은 예를 들어, 단위 투여 형태의 것, 예컨대 당-코팅된 정제, 정제, 캡슐 또는 좌제, 또는 앰플이다. 만일 달리 지시되지 않는다면, 이들은 그 자체로 공지된 방식, 예를 들어 통상적인 혼합, 과립화, 당-코팅, 용해 또는 동결건조 과정에 의하여 제

조된다. 필요한 유효량이 다수의 투여 단위의 투여에 의해 도달될 수 있기 때문에, 각각의 투여 형태의 개개의 용량으로 포함된 조합 파트너의 단위 내용물은 그 자체는 유효량을 구성할 필요는 없다는 것을 이해할 것이다.

[0192] 특히, 본 발명의 조합의 각각의 조합 파트너의 치료적 유효량은 동시에, 또는 임의의 순서로 순차적으로 투여될 수 있고, 상기 성분들은 개별적으로 또는 고정된 조합으로서 투여될 수 있다. 예를 들어, 본 발명에 따른 다발성 골수종의 치료 방법은, 동시에 또는 임의의 순서로 순차적인, 공동으로 치료적으로 유효한 양, 바람직하기로 상승작용적으로 유효한 양, 예를 들어 본 명세서에 개시된 양에 상응하는 일일 또는 간헐적인 투여량의 (i) 유리 또는 약학적으로 허용가능한 염 형태의 제1 작용제 (a)의 투여 및 (ii) 유리 또는 약학적으로 허용가능한 염 형태의 작용제 (b)의 투여를 포함할 수 있다. 본 발명의 조합의 개개의 조합 파트너는 치료법의 과정 도중에 다른 시간에 개별적으로, 또는 분할된 또는 단일의 조합 형태로 동시에 투여될 수 있다. 더 나아가, 용어 "투여"는 또한 생체 내에서 그러한 조합 파트너로 전환하는 조합 파트너의 전구-약물의 사용을 포함한다. 따라서, 본 발명은 동시 또는 교대의 치료의 모든 이러한 용법(regimen)을 포용하는 것으로서 이해되고, 용어 "투여"는 그에 따라 해석된다.

[0193] 본 발명의 조합에 사용되는 각각의 조합 파트너의 유효한 투여량은 사용되는 특정 화합물 또는 약학적 조성물, 투여 방식, 치료되는 상태, 치료되는 상태의 심각도에 의존하여 달라질 수 있다. 따라서, 본 발명의 조합의 투여 용법은 투여 경로 및 환자의 신장 및 간 기능을 포함하는 다양한 인자에 따라 선택된다. 보통의 기술 수준의 임상의 또는 의사는 상태의 진행의 경감, 저지 또는 정지에 필요한 단일의 활성 성분의 유효량을 용이하게 결정 및 처방할 수 있다.

[0194] 실시예

[0195] 본 발명은 하기의 실시예에 의해 더욱 설명된다. 하기 실시예는 더욱 한정하는 것으로 해석되어서는 안 된다.

[0196] 재료 및 방법

[0197] 세포주, 일차 골수종 세포, 골수 간질 세포(bone marrow stromal cell, BMSC), 말초 혈액 단핵구 세포(peripheral blood mononuclear cell, PBMC), 항체 및 시약

[0198] MM 세포주인 ARP1, ARK, MM.1S, MM.1R 및 U266을 10% 소 태아혈청, 100 U/ml 페니실린, 및 100 µg/ml 스트렙토마이신이 보충된 RPMI-1640 배지에서 37°C 및 5% CO₂ 하에 유지하였다. 일차 MM 세포와 MM BMSC를 골수종 환자의 골수 천자액(aspirate)으로부터 분리하였다. PBMC를 건강한 지원자로부터 얻었다. 본 조사는 텍사스대학교 M.D. 앤더슨 암센터(M.D. Anderson Cancer Center)에 있는 임상시험 심의 위원회(Institutional Review Board)로부터 승인되었다. 항-카스파제-3, 카스파제-9, PARP, Bim, XIAP, 사이클린 D1, pp70S6K (Thr389) 및 p27(Kip1) 항체는 Cell Signaling 사로부터 구입하였다. 항-bcl-2, Bcl-XL, Akt, pAkt(Thr 308), pAkt(Ser 473), p70S6K 및 β-액틴 항체는 Santa Cruz 사로부터 구입하였다. 스톡 용액으로서 화합물 A를 10 mM로 DMSO 중에 용해시켰다. 덱사메타손 및 프로페디움 아이오다이드(PI)는 Sigma-Aldrich 사로부터 구입하였다. 재조합 인간 IL6은 R&D Systems 사로부터 구입하였다. FITC 결합된 아렉신 V(Annexin V)는 Invitrogen사로부터 구입하였다.

[0199] 5-(2,6-디-모르폴린-4-일-피리미딘-4-일)-4-트리플루오로메틸-피리딘-2-일아민(화합물 A)의 제조

[0200] NMP(14ml) 중의 2-모르폴린-4,6-디클로로피리미딘(2.0g, 8.54 mmol)의 슬리리에 트리에틸아민(1.43 ml, 10.25 mmol)을 첨가하였다. 상기 혼성 혼합물을 15분 동안 교반한 다음, 모르폴린(0.75 ml, 8.54 mmol)로 처리하였다. 2시간 동안 아르곤 하에 85°C에서 환류시킨 후, 상기 용액을 냉각시킨 다음, EtOAc(160ml)를 첨가하였다. 상기 유기 용액을 25ml의 NaHCO₃(포화)(2X), 물(2X), 식염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시킨 후, 여과하고 농축시켰다. 상기 조생성 물질을 200ml EtOAc 중에 용해시키고, SiO₂ 패드를 통해 여과시킨 후, EtOAc로 더 용출시켜, 오프-화이트(off-white)색 고체로서 2.2 g (93%)의 2,4-디모르폴리노-6-클로로피리미딘을 얻었다. LCMS (m/z): 285.0 (MH⁺), ¹H NMR (CDCl₃): δ 5.86 (s, 1H), 3.71-3.76 (m, 12H), 3.52-3.56 (m, 4H).

[0201] 아르곤 가스를 1,2-디메톡시에탄 및 2M Na₂C₆O₃ (3:1) 중의 2,4-디모르폴리노-6-클로로파리미딘 (4.1g, 14.3 mmol) 및 4-(트리플루오로메틸)-5-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보로란-2-일)파리딘-2-아민 (16.5g, 57.3 mmol)의 혼성 혼합물을 통해 20분 동안 거품이 일게 만들었다. 1,1' 비스(디페닐포스피노)페로센 팔라듐 (II) 클로라이드 (292 mg, 0.36 mmol)를 첨가하고 상기 혼합물을 함유한 고압의 유리 용기를 밀봉하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 90°C에서 15 시간 동안 가열한 후, 냉각시키고, EtOAc(300mL)로 희석시켰다. 상기 유기 용액을 300mL의 물:Na₂CO₃(포화):NH₄OH(농축)=5:4:1의 혼합물, 그 다음 NH₄Cl(포화), 그리고 식염수(2x)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시킨 후, 여과하고 농축하였다. 상기 조생성 물질을 SiO₂ 크로마토그래피(0.1% TEA를 함유한, 50-90% EtOAc/헥산)로 정제하여, 오프-화이트색 고체로서 5.62 g (95%)의 5-(2,6-디-모르폴린-4-일-파리미딘-4-일)-4-트리플루오로메틸-파리딘-2-일아민을 얻었다. LCMS (m/z): 411.3 (MH⁺); ¹H NMR(CDCl₃): δ 8.27(s, 1H), 6.78(s, 1H), 5.97(s, 1H), 4.77(bs, 2H), 3.59-3.80(m, 12H), 3.58-3.61(m, 4H).

[0202] 세포 성장 분석

[0203] 다발성 골수종 (MM) 세포주에 대한 화합물 A의 성장 억제 효과를 제조사의 프로토콜 (Promega)에 따라 MTS 분석으로 평가하였다. 간략히 언급하면, MM 세포를 웰 당 5,000 세포/100 μL 배지 농도로 96-웰 플레이트에 플레이트하고, 0 내지 1 mM 최종 농도의 화합물 A로 24 또는 72시간 동안 처리하였다. 분석 끝에, 20μL의 MTS/PMS 용액을 각 웰의 배양 배지에 첨가하였다. 그 다음, 상기 플레이트를 37°C, 5% CO₂에서 4시간 동안 인큐베이션하였다. ELISA 플레이트 리더를 이용하여 490 nm에서의 흡광도를 기록하였다. 모든 실험은 3번 수행하였다.

[0204] 아폽토시스 분석

[0205] 화합물 A-유도된 세포 아폽토시스를 이전에 기술된 바와 같은 아넥신 V 결합 분석(Annexin V binding assay)으로 검출하였다 (Zheng Y, Cai Z, Wang S, et al. Macrophages are an abundant component of myeloma microenvironment and protect myeloma cells from chemotherapy drug-induced apoptosis. *Blood*. 2009;114 (17):3625-3628). 간략히 언급하면, MM 세포를 24-웰 플레이트에서 배양한 후, 0 내지 1 mM 최종 농도의 화합물 A로 24 또는 72시간 동안 처리하였다. 세포를 차가운 PBS로 2회 세척하고 아넥신 V 결합 버퍼 (Invitrogen) 중에 재현탁시켰다. MM 세포를 FITC-결합된 아넥신 V 및 프로페디움 아이오다이드(PI)로 15분 동안 상온에서 염색하였다. 아폽토시스 세포는 아넥신 V 양성 세포로 결정되었다.

[0206] 세포주기 분석

[0207] MM 세포주인 ARP1, MM.1S 및 MM.1R을 1 μM의 화합물 A와 함께 또는 없이 24시간 동안 배양하였다. 그 다음, 세포를 수집하고, 하룻밤 동안 4°C에서 70% 에탄올 중에서 투과화 시킨(permeabilized) 후, 50 μg/mL PI 및 20 μg /mL RNase A로 15분 동안 인큐베이션하였다. DNA 내용물을 유동세포분석기 및 플로우조(FlowJo) 소프트웨어로 분석하였다.

[0208] 확립된 다발성 골수종에 대한 화합물 A의 생체 내 효과

[0209] 6주 내지 8주령의 암컷 SCID 마우스를 MD. 앤더슨 암센터 동물 연구시설에서 사육하고, 모니터링하였다. 모든 실험과정과 프로토콜은 텍사스 주립대학교 M.D. 앤더슨 암센터의 동물실험 윤리 위원회(Institutional Animal Care and Use Committee)에 의해 승인을 받았다. SCID 마우스에 50μL PBS 중에 혼탁한 1 백만개의 ARP1 세포를 오른쪽 옆구리로 피하 접종하였다. 촉진할 수 있는 종양 (종양 직경 ≥ 5mm)이 발달한 후, 마우스에 PBS 또는 화합물 A(1일에 kg 당 5 μmol)를 매일 복강 주사로 처리하였다. 종양 크기를 매 5일마다 측정하였으며, 같은 기간 동안 혈액 샘플을 모았다. 종양 덩어리(tumor burden)를 종양 크기를 측정하고 순환하는 인간 카파 사슬 (kappa chain)을 검출함으로써 평가하였다.

[0210] ELISA

- [0211] 마우스 혈청 중의 인간 카파 사슬의 수준을 판매자의 프로토콜에 따라 정량 ELISA (Bethyl Laboratories, Inc)로 측정하였다.
- [0212] 통계학적 분석
- [0213] 모든 데이터를 평균±표준편차로 나타내었다. 다양한 실험군을 비교하기 위하여 스튜던트 t 검정(Student t test)을 사용하였다. P<0.05일 때 유의성이 있는 것으로 결정하였다.
- [0214] 결과
- [0215] 화합물 A는 MM 세포주의 성장을 억제하고 세포 아폽토시스를 유도함
- [0216] 골수종 세포에 대한 화합물 A의 효과를 평가하기 위하여, MM 세포주 ARP1, ARK, MM.1S, MM.1R, 및 U266를 화합물 A의 다른 용량으로 24시간 또는 72시간 동안 처리하였다. 화합물 A 유도된 MM 세포 아폽토시스를 상기 재료 및 방법에서 설명한 바와 같이 측정하였다. 도 1A에 도시된 바와 같이, 화합물 A는 용량 의존적 및 시간 의존적 방식 모두로 MM 세포 아폽토시스를 유도하였다. 상이한 MM 세포주는 화합물 A에 대하여 상이한 민감도를 가졌다. U266은 다른 MM 세포주에 비하여 화합물 A에 대해 덜 민감하였다. 10 μM과 같거나 더 큰 농도의 화합물 A는 24시간째에 모든 시험된 MM 세포주에서 유의적인 아폽토시스를 유도하였다(P<0.05, 대조군 대비). 따라서, 10 μM의 화합물 A의 24시간 처리를 이하의 실험에서 사용하였다.
- [0217] MM 세포 성장에 대한 화합물 A의 효과를 MTS 분석으로 시험하였다. 도 1B에 도시된 바와 같이, 화합물 A 처리는 모든 시험된 MM 세포주에서 용량 의존적 성장 억제를 야기했다. 화합물 A IC₅₀(50% 억제 농도)은 시험된 MM 세포에서 다양하였다. 24시간 처리에서, ARP1, ARK 및 MM.1R에 대한 IC₅₀은 1 μM 내지 10 μM이었으며, 반면에 MM.1S에 대한 IC₅₀은 1 μM 미만이었고, U266에 대한 IC₅₀은 10 μM 내지 100 μM이었다. 요약하면, 이러한 결과는 화합물 A 처리가 화합물 A의 용량 의존적 방식으로 MM 세포 성장 억제 및 아폽토시스로 이어짐을 나타낸다.
- [0218] 화합물 A는 생체 밖 일차 MM 세포 아폽토시스를 유도함
- [0219] 일차 MM 세포에서 화합물 A 기능을 평가하기 위하여, 상기 조사를 골수종 환자로부터 새롭게 분리한 CD138+ 일차 MM세포로 확대하였다. 이전의 결과에 따르면, 만약 세포가 BMSC와 공배양되지 않는다면, 일차 MM 세포는 생체 밖 아폽토시스를 수행한다 (Zheng Y, Cai Z, Wang S, et al. Macrophages are an abundant component of myeloma microenvironment and protect myeloma cells from chemotherapy drug-induced apoptosis. *Blood*. 2009;114 (17):3625-3628). 따라서, CD138+ 일차 MM 세포를 MM 골수 천자액으로부터 분리한 CD138-BMSC와 1:1 비율로 공배양하였다. 세포를 0 내지 1mM의 다른 용량의 화합물 A로 24시간 동안 처리하였다. 일차 MM 세포와 BMSC를 APC-CD138 염색으로 분리하였다. 검사한 환자 3명 중 1명으로부터의 골수종 세포와 BMSC로부터 얻은 대표적인 데이터에서 보여주는 바와 같이(도 1C), 화합물 A는 일차 MM 세포(CD138+) 아폽토시스를 용량 의존적인 방식으로 유도하였다. 10 μM 화합물 A는 70% 이상의 일차 MM 세포 아폽토시스를 유도하였다. 흥미롭게, 화합물 A는 CD138-간질세포에 대하여 유의적으로 더욱 낮은 세포독성을 가졌다. 도 1D는 화합물 A가 3명의 다른 MM 환자로부터의 일차 MM 세포의 아폽토시스를 유도하였음을 보여준다. 종합해 보면, 이러한 데이터는 화합물 A가 일차 MM 세포 아폽토시스를 유도하지만, 비-종양성(tumeric) BMSC에 대하여는 낮은 독성을 가짐을 나타낸다.
- [0220] 화합물 A는 건강한 지원자의 정상적인 혈액세포에 대해 낮은 독성을 가짐
- [0221] 화합물A가 정상적인 PBMC 아폽토시스를 유도하는지 여부를 검사하기 위하여, 다른 건강한 지원자로부터의 정상적인 PBMC를 0 내지 1 mM의 화합물 A로 24시간 동안 인큐베이션하였다. 세포 아폽토시스 비율을 상기에서 설명한 바와 같이 측정하였다. 도 1E에 도시된 바와 같이, 화합물 A는 정상적인 PBMC에 대해 비교적 낮은 독성을 가

졌다. MM 세포에 대해 효과적인 화합물 A 농도인 $10 \mu\text{M}$ 또는 $100 \mu\text{M}$ 은 단지 40% 이하의 PBMC 아폽토시스를 초래하였다. 따라서, 이러한 결과는 화합물 A가 중식하고 있지 않은 PBMC에 대하여 낮은 세포독성을 가짐을 나타낸다.

[0222] 도 1 설명

(A) 5개의 MM 세포주, ARP1, ARK, MM.1S, MM.1R, 및 U266을 0 내지 1 mM의 화합물 A의 존재 하에서 배양하였다. 세포를 처리 1일 또는 3일 후에 수집하였다. 화합물 A 유도된 MM 세포 아폽토시스를 상기 재료 및 방법에서 설명한 바와 같이 아넥신 V 염색으로 측정하였다. (B) 동일한 MM 세포주를 1일 또는 3일 동안 0 내지 1 mM의 화합물 A로 처리하였다. 세포 성장을 MTS 분석에 의해 평가하였다. (C) 화합물 A로 처리된 일차 MM 세포의 대표적인 히스토그램. (D) 새롭게 분리된 일차 MM 세포에서 아폽토시스의 용량 의존적인 유도를 보여주는 3명의 환자로부터의 데이터. 세포를 상이한 용량의 화합물 A로 1일 동안 처리하였다. (E) 3명의 건강한 지원자로부터 분리한 PBMC를 화합물 A로 1일 동안 처리하였다.

[0224] *IL-6* 첨가 또는 *BMSC*의 존재는 화합물 A 유도된 아폽토시스로부터 MM 세포를 보호하지 않음

IL-6은 MM에 대한 중요한 생존 사이토카인이다 (Klein B, Zhang XG, Jourdan M, et al. Interleukin-6 is the central tumor growth factor *in vitro* and *in vivo* in multiple myeloma. *Eur Cytokine Netw.* 1990;1 (4):193-201; Gado K, Domjan G, Hegyesi H, Falus A. Role of INTERLEUKIN-6 in the pathogenesis of multiple myeloma. *Cell Biol Int.* 2000;24 (4):195-209). 이전의 연구에서 IL-6이 화학요법제인 텍사메타손 처리 하에서 MM 세포 생존을 촉진한다는 것을 보여주었다 (Frassanito MA, Cusmai A, Iodice G, Dammacco F. Autocrine interleukin-6 production and highly malignant multiple myeloma: relation with resistance to drug-induced apoptosis. *Blood.* 2001;97 (2):483-489). 따라서, IL-6 첨가에 의한 화합물 A-유도된 MM 세포 아폽토시스의 약화를 검사하였다. 이러한 목적으로, 재조합 hIL-6과 함께 또는 없이(최종 농도 $5\mu\text{g}/\text{ml}$) 다른 MM 세포주인 ARP1, MM.1S 및 MM.1R을 배양하고, $10 \mu\text{M}$ 의 화합물 A와 함께 또는 없이 2일 동안 처리하였다. 양성 대조군으로서, MM1.S 세포를 동일한 기간 동안 hIL-6의 첨가와 함께 또는 없이, $40\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 텍사메타손으로 처리하였다. 도 2A에 도시된 바와 같이, IL6 첨가는 화합물 A 유도된 MM 세포 아폽토시스에 영향을 미치지 않았으나, 텍사메타손 처리 하에서 MM.1S 세포 생존을 촉진하였다.

골수종 종양 베드(bed)의 골수 간질세포(BMSC)가 종양 촉진 미세환경을 제공하고 화학요법 약물 유도된 아폽토시스로부터 MM 세포를 보호한다는 것을 보여주는 증거가 들어 왔다 (De Raeve HR, Vanderkerken K. The role of the bone marrow microenvironment in multiple myeloma. *Histol Histopathol.* 2005;20 (4):1227-1250; Mitsiades CS, McMillin DW, Klippel S, et al. The role of the bone marrow microenvironment in the pathophysiology of myeloma and its significance in the development of more effective therapies. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2007;21 (6):1007-1034, vii-viii). 따라서, MM 환자 골수로부터의 BMSC가 화합물 A-유도된 세포 아폽토시스로부터 MM 세포를 보호할 수 있는지 여부를 또한 시험하였다. 이러한 목적으로, MM 환자로부터 분리한 BMSC를 MM 세포주인 ARP1, MM.1S 및 MM.1R과 공배양하였다. 세포를 $10 \mu\text{M}$ 의 화합물 A와 함께 또는 없이 24시간 동안 처리하였다. 양성 대조군으로, MM.1S 세포를 BMSC와 함께 또는 없이 공배양하였고, $40\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 텍사메타손과 함께 또는 없이 24시간 동안 처리하였다. 처리 후, MM 세포를 APC-CD138 염색에 의해 CD138+ 세포로 확인하였다. 도 2B에 도시된 바와 같이, BMSC는 화합물A 유도된 MM 세포 아폽토시스를 보호하지 않았으나, 텍사메타손 유도된 세포 아폽토시스로부터 MM.1S 세포를 보호하였다.

[0227] 도 2 설명

(A) MM 세포주인 ARP1, MM.1S 및 MM.1R를 $10 \mu\text{M}$ 의 화합물 A와 3일 동안 배양하였다. rhUL-6을 $5\text{ng}/\text{ml}$ 의 최종 농도로 첨가하였다. 양성 대조군으로서, MM.1S 세포를 $5\text{ng}/\text{ml}$ 의 rhIL6의 존재 하에 동시에 $40\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 텍사메타손으로 처리하였다. 세포 아폽토시스를 아넥신 V 염색에 의해 측정하였다. (B) 동일한 MM 세포를 MM BMSC와 함께 또는 없이 공배양하고, 1일 동안 $10 \mu\text{M}$ 의 화합물 A로 처리하였다. 양성 대조군으로서, MM.1S 세포를 BMSC와 함께 또는 없이 같이 공배양하였고, $40\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 텍사메타손으로 1일 동안 처리하였다. CD138+ MM 세포 아폽토시스

스 비율을 아넥신 V 염색에 의해 측정하였다.

[0229] 화합물 A는 G1 단계에서 세포주기 정지를 야기함

[0230] 화합물 A 유도된 MM 세포 성장 억제 및 아폽토시스의 메커니즘을 연구하기 위하여, 화합물 A 처리가 MM 세포주기에 영향을 미치는지 여부를 검사하였다. 도 3A에 도시된 바와 같이, ARP1 세포는 1 μM의 화합물 A와 함께 또는 없이 24시간 동안 배양되었다. 화합물 A 처리는 증가한 G1 단계 세포 및 감소한 S 단계 세포를 초래하였다. 유사한 결과가 다른 MM 세포주인 MM.1S 및 MM.1R에서 관찰되었다(도. 3B).

도 3 설명

[0232] (A) 1 μM의 화합물 A로 1일 동안 처리한 ARP1의 대표적인 히스토그램. (B) MM 세포인 ARP1, MM.1S 및 MM.1R이 1 μM의 화합물 A로 1일 동안 처리되었다. 세포주기를 기술한 바와 같이 시험하였다.

[0233] 화합물 A는 카스파제 활성화에 의해 MM 세포 아폽토시스를 촉발함

[0234] 화합물 A 유도된 MM 세포 아폽토시스를 밝히기 위하여, MM 세포주인 ARP1, MM.1S 및 MM.1R을 화합물 A와 함께 또는 없이 24시간 동안 처리하고, 웨스턴 블러팅 분석(Western blotting analysis)에 의해 평가하였다. 결과를 카스파제 3 및 카스파제 9의 분할로 보여 주었다(도 4A).

[0235] 모든 시험된 세포주에서 화합물 A 처리 후 파라 분할(PARA cleavage)을 또한 검출하였다. 종합해 보면, 이러한 결과는 화합물 A 처리가 카스파제 활성화를 통해 MM 세포 아폽토시스를 유도한다는 것을 나타낸다.

[0236] 화합물 A 노출은 *BimS*의 상향-조절과 *XIAP*의 하향-조절을 야기함

[0237] MM 세포에서 화합물 A 노출에 의해 영향을 받은 신호 경로를 더 분석하기 위하여, 면역 블러팅을 다른 세포 신호 분자로 확대하였다. 첫 번째로, MM 세포에서 PI3K-Akt-mTOR 경로에 대한 화합물 A의 억제 효과를 시험하였다. 도 4B에 도시된 바와 같이, 화합물 A 처리 후, Thr473 및 Ser308에서 모두 p-Akt가 하향-조절되었다. 화합물 A 처리 후 ARP1과 MM.1R 세포에서 총 Akt 수준이 또한 감소하였다(도 4C). 이는 아마도 화합물 A 처리 후 증가한 아폽토시스 세포 때문이다. 시험한 MM 세포주에서 화합물 A 처리 후 p-P70S6K 수준이 또한 감소하였으나, 반면에 총 P70S6K 발현은 일정하게 유지되었다. 이러한 결과는 화합물 A가 MM세포에서 PI3K-Akt-mTOR 경로를 억제한다는 것을 나타낸다.

[0238] 두 번째로, 화합물 A 처리가 G1 단계에서 세포주기 정지를 일으켰기 때문에, 세포주기 조절자의 발현을 시험하였다. 도 4B에 도시된 바와 같이, 화합물 A 처리 후 세포주기 억제자인 p27(Kip1) 단백질 발현은 상향-조절되었고, 반면에 사이클린 D1(cyclin D1) 발현은 하향-조절되었다.

[0239] 다음으로, 아폽토시스 조절 인자의 발현을 시험하였다. 본 데이터는 *Bim*의 세포 독성이 있는 작은 아이소폼(isoform)인 *BimS* 발현이 화합물 A 처리 후 상향-조절된다는 것을 보여 주었다. *Bim*은 *Bcl-2* 패밀리에 속하는 전-아폽토시스 인자이다 (O'Connor L, Strasser A, O'Reilly LA, et al. *Bim: a novel member of the Bcl-2 family that promotes apoptosis.* *EMBO J.* 1998;17 (2):384-395). *Bim*은 선택적 스플라이싱(alternative splicing)에 의해 생성된 3개의 주요한 아이소폼인, *BimEL*, *BimL* 및 *BimS*를 갖는다. 가장 짧은 형태의 *BimS*는 가장 세포독성이 있는 아이소폼이다 (Weber A, Paschen SA, Heger K, et al. *BimS-induced apoptosis requires mitochondrial localization but not interaction with anti-apoptotic Bcl-2 proteins.* *J Cell Biol.* 2007;177 (4):625-636). 이전의 연구는 *Bim*의 전사가 PI3K의 하류 효과체(downstream effector)인 포크헤드 전사 인자 FKHR-L에 의해 조절된다는 것을 보여주어 왔다 (Dijkers PF, Medema RH, Lammers JW, Koenderman L, Coffer PJ. *Expression of the pro-apoptotic Bcl-2 family member Bim is regulated by the forkhead*

transcription factor FKHR-L1. *Curr Biol.* 2000;10 (19):1201-1204). Bim 이외에, XIAP 및 Bcl-XL는 모두 항-아폽토시스 단백질이고 (Deveraux QL, Roy N, Stennicke HR, et al. IAPs block apoptotic events induced by caspase-8 and cytochrome c by direct inhibition of distinct caspases. *EMBO J.* 1998;17 (8):2215-2223; Minn AJ, Kettlun CS, Liang H, et al. Bcl-xL regulates apoptosis by heterodimerization-dependent and -independent mechanisms. *EMBO J.* 1999;18 (3):632-643), 발현은 화합물 A 처리 후 하향-조절되었다. 따라서, 화합물 A 유도된 MM 세포 아폽토시스는 세포독성적 BimS의 상향-조절과 항-아폽토시스 XIAP 및 Bcl-XL의 하향-조절에 의해 야기될 수 있다.

[0240] 도 4 설명

[0241] (A) MM 세포인 ARP1, MM.1S 및 MM.1R을 $10\text{ }\mu\text{M}$ 의 화합물 A와 함께 또는 없이 1일 동안 처리하였다. 카스파제-3, 카스파제-9 및 PARP의 화합물 A 유도된 활성화 및 분할을 보여준다. (B) $10\text{ }\mu\text{M}$ 의 화합물 A로 처리한 동일한 MM 세포를 웨스턴 블러팅을 위해 용해하였다. (C) RP1 세포를 $10\text{ }\mu\text{M}$ 의 화합물 A로 1, 6, 12, 및 24시간 동안 처리하였다.

[0242] MM 세포에 대한 화합물 A와 텍사메타손의 조합 처리의 상승적인 세포독성

[0243] 화합물 A가 다른 MM 화학요법제와 함께 상승적인/첨가적인 효과를 가지는지 여부를 시험하기 위하여, ARP1 세포를 멜파란(melphalan), 텍사메타손, 레날리도마이드(lenalidomide) 및 보르테조맙(bortezomib)과 조합하여 화합물 A로 처리하였다. 도 5A에 도시된 바와 같이, 화합물 A와 텍사메타손의 조합 처리는 ARP1 세포에서 상승적인/첨가적인 세포 독성을 가졌다. 그 다음, 상기 실험을 다른 MM 세포주로 확대하였고, 이들을 낮은 용량의 화합물 A($1\text{ }\mu\text{M}$) 및 텍사메타손($40\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$)으로 처리하였다. 도 5B에 도시된 바와 같이, 비록 낮은 용량의 화합물 A 또는 텍사메타손이 단지 제한된 세포독성 효과를 가졌지만, 조합된 이중-약물 처리는, 텍사메타손 저항성 세포인 MM.1R을 제외하고, 텍사메타손 민감성 세포주인 ARP1 및 MM.1S에서 유의적인 세포 아폽토시스를 유도하였다. 세포 성장 시험은 화합물 A 및 텍사메타손이 상승적으로 MM.1S 세포 성장을 억제한다는 것을 또한 보여 주었다 (도 5C).

[0244] 상승적인 효과에 대한 각 약물의 최소한의 용량을 검사하기 위하여, MM.1S 세포를 다른 용량의 화합물 A 및 텍사메타손으로 24시간 동안 처리하였다. 도 5D에 도시된 바와 같이, $1\text{ }\mu\text{M}$ 의 화합물 A는 상승적인 효과에 필수적이었고, 반면에 $40\text{ ng}/\text{mL}$ 만큼 낮은 텍사메타손은 상승적으로 세포 아폽토시스를 자극하기에 충분하였다. 텍사메타손 용량을 증가시키는 것이 세포 사멸 비율을 증가시키지 않았다.

[0245] MM.1S 세포에 대한 상승적인 효과에서 화합물 A 및 텍사메타손의 역할을 밝히기 위하여, 세포를 순서대로 약물로 처리하였다. 구체적으로 언급하면, MM.1S 세포를 첫째 날 텍사메타손으로 처리하고, 둘째 날에 화합물 A 처리로 바꾸었고, 또는 역으로 처리하였다. 둘째 날 이후에 세포 아폽토시스 비율을 측정하였다. 도 5E에 도시된 바와 같이, 텍사메타손 이후 화합물 A 처리는 다른 종류의 처리보다 더욱 높은 아폽토시스 비율로 이어진다.

[0246] 끝으로, 상승 효과를 면역 블러팅으로 시험하였다. 도 5F에 도시된 바와 같이, 화합물 A 및 텍사메타손 공동-처리는 증가한 PARP 분할, Bcl-2 분할 및 카스파제 3 활성화로 이어진다. 이러한 결과는 이중 약물 처리 후 향상된 아폽토시스를 나타낸다. BimS 발현은 조합 처리에서 상향-조절되었고, 이는 상승적 효과의 원인일 수 있다. 요약하면, 이러한 결과는 화합물 A와 텍사메타손의 조합이 텍사메타손-민감성 MM 세포에서 상승적인 세포독성을 가짐을 나타낸다.

[0247] 도 5 설명문

[0248] (A) ARP1 세포를 $10\text{ }\mu\text{M}$ 의 화합물 A(BK), 15nM 의 멜파란(Me), $40\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 텍사메타손(De), $100\text{ }\mu\text{M}$ 의 레날리도마이드(Le), $10\text{ }\mu\text{M}$ 의 보르테조맙(BT), 또는 이들의 조합으로 1일 동안 처리하였다. 세포 아폽토시스를 기술된 바와 같이 측정하였다. (B) MM 세포인 ARP1, MM.1S 및 MM.1R을 $1\text{ }\mu\text{M}$ 의 화합물 A, $40\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 텍사메타손 또는 이들의 조합으로 1일 동안 처리하였다. 세포 아폽토시스를 측정하였다. (C) 동일한 MM 세포주를 화합물 A로 1일 동안 처리하고 세포성장을 MTS에 의해 측정하였다. (D) MM.1S 세포를 다른 용량의 화합물 A(10nM , 100nM , 및

1000nM), 텍사메타손(40ng/ml, 400ng/ml, 및 4000 ng/ml) 또는 이들의 조합으로 1일 동안 처리하였다. 세포 아폽토시스를 아넥신 V 염색에 의해 측정하였다. (E) MM.1S 세포를 1 μ M 화합물 A 또는 4 μ g/ml 텍사메타손으로 1일 동안 처리하였다. 그 다음, 세포를 PBS로 한 번 세척하고, 1 μ M 화합물 A 또는 4 μ g/ml 텍사메타손 중 어느 하나를 포함하는 두 번째 조건 배지로 추가 24시간 동안 바꾸었다. 세포 아폽토시스 비율을 아넥신 V 염색에 의해 측정하였다. (F) MM.1S 세포를 텍사메타손(4 μ g/ml), 화합물 A(1 μ M), 또는 이들 모두로 24시간 동안 처리하였다.

[0249] 확립된 MM에 대한 화합물 A의 생체 내 효과

[0250] 생체 내 화합물 A 항-MM 효과를 조사하기 위하여, 상기 재료 및 방법에서 설명한 바와 같이 SCID 마우스에서 인간 MM 모델을 확립하였다. 촉진할 수 있는 종양($\geq 5\text{mm}$ 직경)이 발달했을 때, 마우스(그룹당 10마리)에 매일 화합물 A(하루에 kg 당 5 μmol) 또는 비히를 대조군인 PBS를 복강 주사하였다. 도 6A 및 6B에 도시된 바와 같이, 화합물 A 처리를 한 마우스는 대조군 마우스에 비해 유의적으로 더욱 작은 종양 덩어리를 가졌으며, 이는 종양 부피(도 6A, P<0.05) 및 순환하는 인간 카파 사슬의 수준(도 6B, P<0.05)으로 측정하였다. 또한, 화합물 A 처리는 종양을 지닌 마우스의 생존을 유의적으로 연장시켰다(Fig 6C). 따라서, 이러한 데이터는 생체 내에서 화합물 A의 항-MM 능력을 입증한다.

[0251] 도 6 설명

[0252] SCID 마우스에 1×10^6 개의 ARP1 세포를 오른쪽 옆구리에 피하로 접종하였다. 3 내지 4주 후, 촉진할 수 있는 종양($\geq 5\text{mm}$ 직경)이 발달했을 때, 마우스(그룹당 10마리)에 매일 PBS 또는 화합물 A(하루에 마우스당 100nmol)를 복강 내 주사로 처리하였다. 종양 덩어리를 (A) 종양 부피 및 (B) ELISA에 의해 측정되는 SCID 마우스 혈청에서 순환하는 인간 카파 사슬의 수준, 및 (C) 종양을 지닌 마우스의 생존으로서 측정하였다.

[0253] 논의

[0254] 다발성 골수종(MM)은 단지 약 5년의 평균 생존을 갖는 여전히 불치인 질환이다 (Kumar SK, Rajkumar SV, Dispenzieri A, et al. Improved survival in multiple myeloma and the impact of novel therapies. *Blood*. 2008;111 (5):2516-2520). 따라서, MM 치료에 있어 새로운 치료제가 요구된다. MM에서의 PI3K-Akt 경로의 과도한 활성화가 보고되었다 (Pene F, Claessens YE, Muller O, et al. Role of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt and mTOR/P70S6-kinase pathways in the proliferation and apoptosis in multiple myeloma. *Oncogene*. 2002;21 (43):6587-6597). MM에서 2가지 주요한 성장 인자인 IGF-1 및 IL-6은 PI3K-Akt 경로를 활성화시킴으로써 골수종 세포 증식 및 약물 저항성을 촉진한다 (Hideshima T, Nakamura N, Chauhan D, Anderson KC. Biologic sequelae of interleukin-6 induced PI3K-Akt signaling in multiple myeloma. *Oncogene*. 2001;20 (42):5991-6000; Mitsiades CS, Mitsiades NS, McMullan CJ, et al. Inhibition of the insulin-like growth factor receptor-1 tyrosine kinase activity as a therapeutic strategy for multiple myeloma, other hematologic malignancies, and solid tumors. *Cancer Cell*. 2004;5 (3):221-230). PIK-Akt-mTOR 경로 억제제의 일부(panel)는 시험관 내와 생체 내 모두에서 항-MM 활성을 나타내는 것으로 밝혀졌다 (McMillin DW, Ooi M, Delmore J, et al. Antimyeloma activity of the orally bioavailable dual phosphatidylinositol 3-kinase/mammalian target of rapamycin inhibitor NVP-BEZ235. *Cancer Res*. 2009;69 (14):5835-5842; Ikeda H, Hideshima T, Fulciniti M, et al. PI3K/p110 δ is a novel therapeutic target in multiple myeloma. *Blood*; Cirstea D, Hideshima T, Rodig S, et al. Dual inhibition of akt/mammalian target of rapamycin pathway by nanoparticle albumin-bound-rapamycin and perifosine induces antitumor activity in multiple myeloma. *Mol Cancer Ther*;9 (4):963-975). 따라서, PI3K-Akt-mTOR 경로 표적화 요법은 MM을 치료하는 데 유망한 방법이다.

[0255] 본 발명에서는, pan-PI3K 억제제인 화합물 A의 항-MM 활성을 입증하였다. 화합물 A 처리는 모든 시험된 MM 세포 주와 일차 MM 세포에서 용량 의존적 방식으로 세포 성장 억제와 아폽토시스 유도를 야기한다(도 1A, 1B, 1C, 1D 및 2A). 화합물 A는 정상 PBMC 또는 비-악성 BMSC에 대하여 단지 제한된 세포독성을 갖는다(도 1C, 1E). 또한,

화합물 A는 SCID 마우스의 MM 모델에서 생체 내 항-MM 활성을 나타낸다. 화합물 A 처리된 MM을 지닌 마우스는 종양 성장이 억제되고 생존이 연장된다(도 6A, 6B, 및 6C). 중요하게는, 화합물 A 유도된 MM 세포독성은 BMSC 또는 IL-6의 존재에 의해 제공된 약물 저항성을 극복한다 (Fig 2A, 2B). 이전의 연구는 MM 골수의 BMSC가 MM 약물 저항성에서 중요한 역할을 한다는 것을 보여주었다 (Epstein J, Yaccoby S. Consequences of interactions between the bone marrow stroma and myeloma. *Hematol J.* 2003;4 (5):310-314; Dalton WS. Drug resistance and drug development in multiple myeloma. *Semin Oncol.* 2002;29 (6 Suppl 17):21-25). BMSC 매개의 약물 저항성의 한 메커니즘은 BMSC가 약물 저항 인자인 IL-6를 분비하고 MM 세포를 화학요법 유도된 아폽토시스로부터 보호한다는 것이다 (Hideshima T, Nakamura N, Chauhan D, Anderson KC. Biologic sequelae of interleukin-6 induced PI3-K/Akt signaling in multiple myeloma. *Oncogene.* 2001;20 (42):5991-6000). 결과적으로, MM 환자는 일반적으로 치료 동안 종래의 화학요법제에 대한 약물 저항성을 형성하며 약물에 더욱 저항적인 종양을 재발시킨다 (Kastritis E, Palumbo A, Dimopoulos MA. Treatment of relapsed/refractory multiple myeloma. *Semin Hematol.* 2009;46 (2):143-157). 따라서, 이러한 결과는 화합물 A가 강력한 항-MM 활성을 가지며 종래의 화학요법 약물에 저항적인 MM 환자에게 도움이 된다는 것을 나타낸다.

[0256] PI3K-Akt-mTOR 경로의 신호 전달과 하류 효과체를 다른 암세포 모델에서 연구해 왔다. 일반적으로, PI3K-Akt 억제는 세포주기 정지, 세포성장 억제, 및 아폽토시스로 이어진다 (Sasaki T, Takasuga S, Sasaki J, et al. Mammalian phosphoinositide kinases and phosphatases. *Prog Lipid Res.* 2009;48 (6):307-343; Di Paolo G, De Camilli P. Phosphoinositides in cell regulation and membrane dynamics. *Nature.* 2006;443 (7112):651-657).

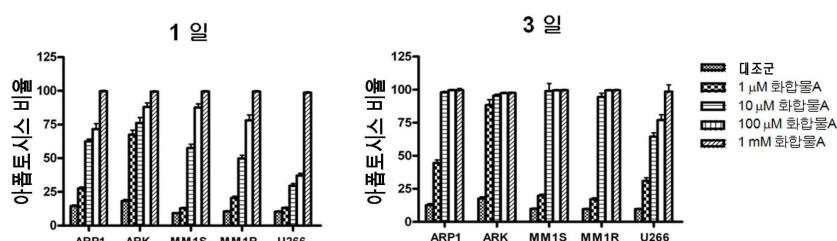
[0257] 개시된 실험에서, MM 세포주에서 PI3K-Akt-mTOR 경로에 대한 화합물 A의 억제 효과가 입증되었다(도 3B 및 3C). 화합물 A는 p27 (Kip1)의 상향 조절과 사이클린 D1의 하향 조절에 의해 G1 단계에서 MM 세포의 세포 주기 정지를 야기한다(도 3A, 3B 및 4B). 또한, 화합물 A 노출은 아폽토시스 BimS 발현의 상향-조절과 항-아폽토시스 XIAP 발현의 하향-조절로 이어지며, 이들 모두는 MM세포 아폽토시스를 야기할 수 있다.

[0258] 이들 결과는 화합물 A와 텍사메타손 조합의 상승적인 항-MM 활성을 나타낸다(도 5A, 5B). 이러한 상승 효과는 오직 텍사메타손-민감성 세포에만 나타나며, 텍사메타손-저항성 세포에는 나타나지 않는다. 더 중요하게, 화합물 A와 텍사메타손의 조합은 심지어 각 약물의 낮은 용량으로도 상승적인 효과를 보인다(도 5B, 5D). 또한, 텍사메타손 노출 후 화합물 A 처리의 조합은 텍사메타손 또는 화합물 A의 단독 처리와 비교하여 향상된 항-MM 활성을 또한 보여준다(도 5E). 텍사메타손은 MM 치료에서 단독으로 또는 다른 화학요법 약물과 함께 광범위하게 이용된다 (Ludwig H, Beksac M, Blade J, et al. Current multiple myeloma treatment strategies with novel agents: a European perspective. *Oncologist.* 2010;15 (1):6-25). 텍사메타손 사용에 대한 일반적인 규칙은 좋은 반응으로 이어지며 부작용을 최소화시키는데 필요한 가장 낮은 용량을 제공하는 것이다. 따라서, 이러한 결과는 화합물 A와 텍사메타손의 조합 처리가 MM을 치료하는 데 효과적이며 독성이 덜한 방법이라는 것을 입증한다. 텍사메타손 처리 하의 MM 환자는 또한 화합물 A로 바꾼 후 도움을 받을 수 있다. 이들 결과는 비교적으로 낮은 용량의 화합물 A와 텍사메타손을 사용한 조합 처리가 MM을 치료하는 한 유용한 방법이라는 것을 보여준다.

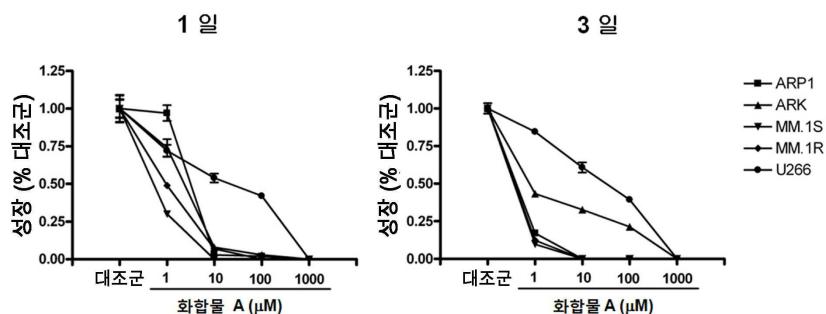
[0259] 요약하면, 본 발명은 시험관 내 및 생체 내에서 화합물 A의 항-MM 활성을 보여준다. 화합물 A는 단독으로, 또는 다른 MM 화학요법제, 특히 텍사메타손과 함께, MM에 대한 효과적인 치료를 제공한다.

도면

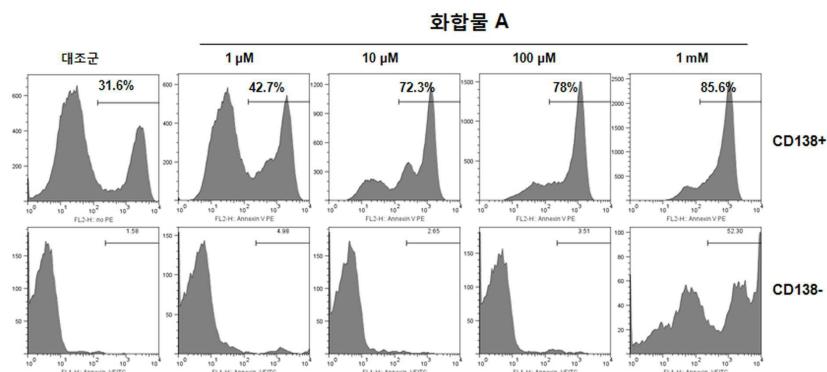
도면1a



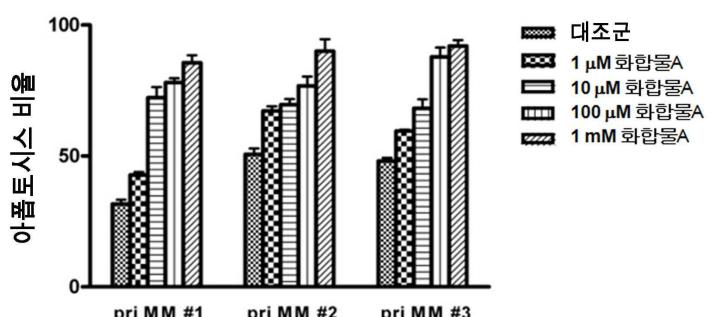
도면1b



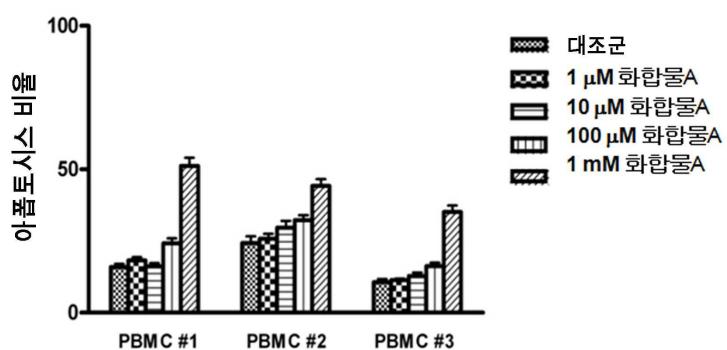
도면1c



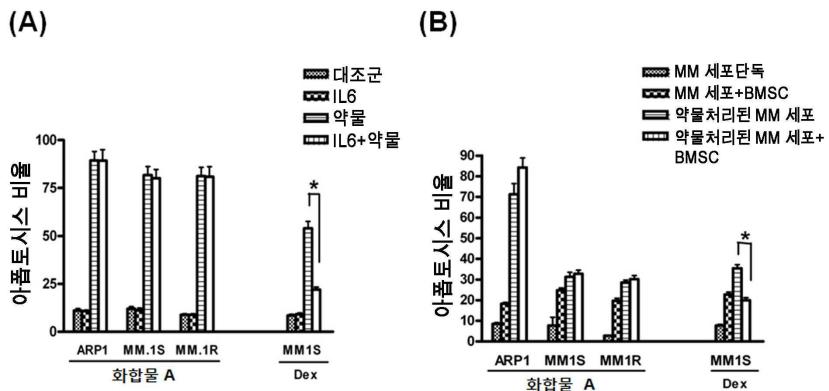
도면1d



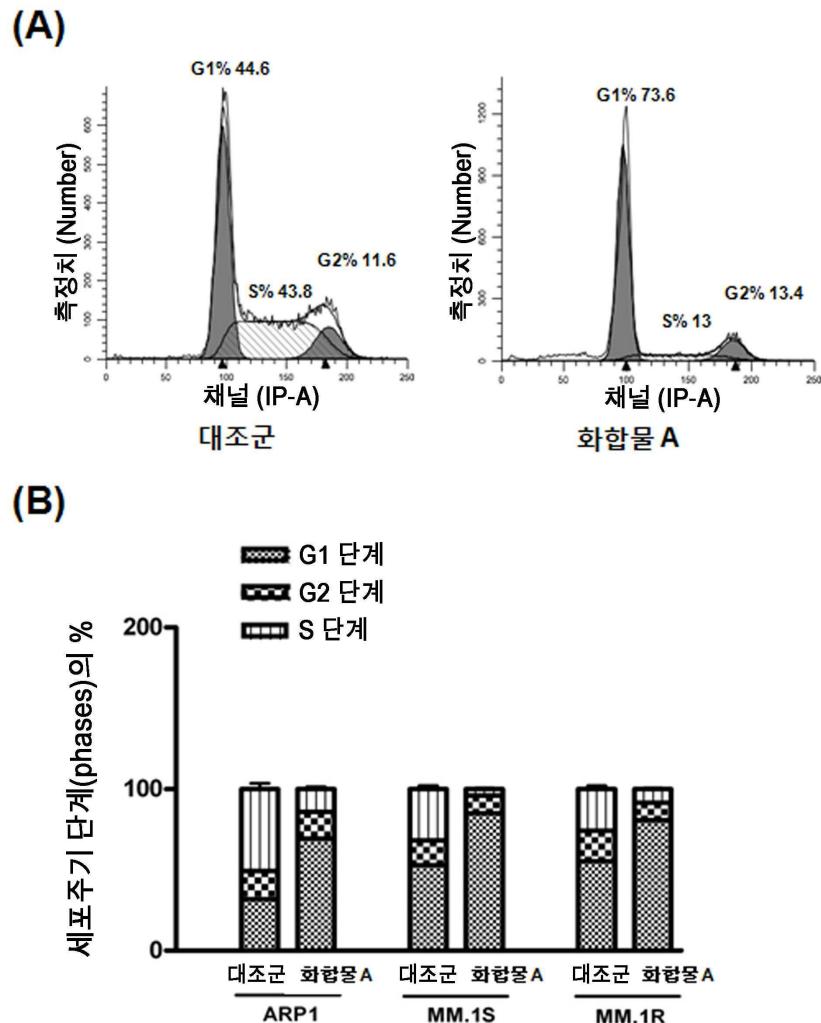
도면1e



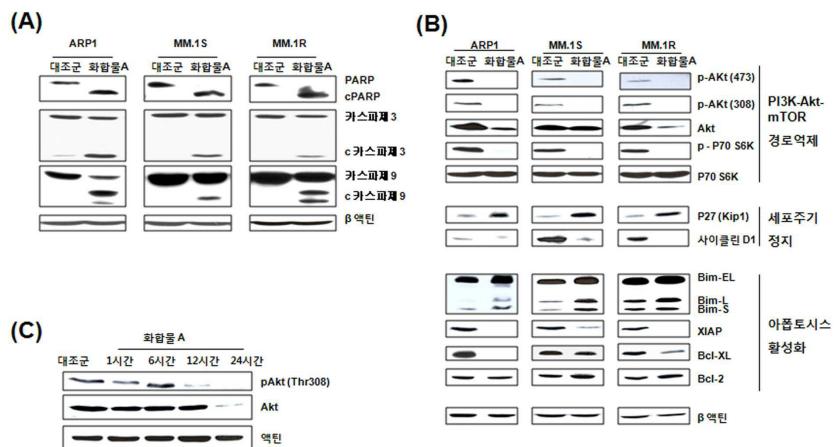
도면2



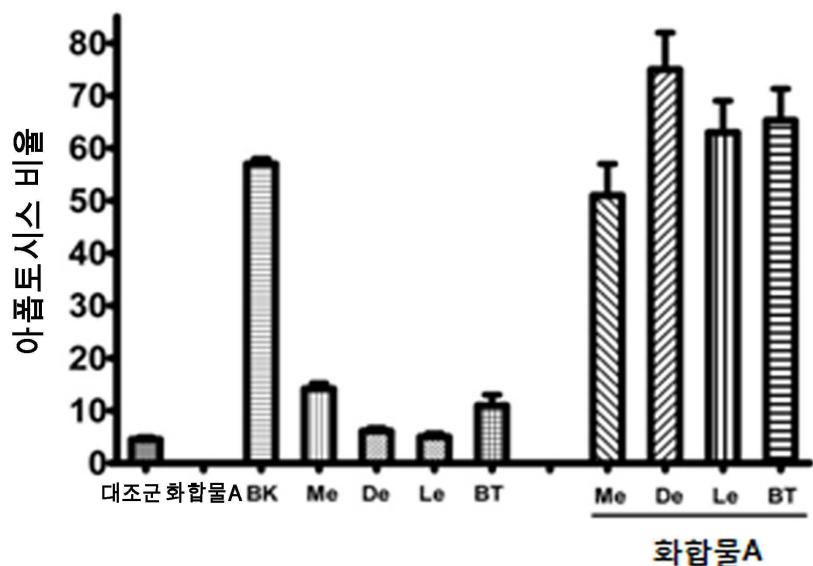
도면3



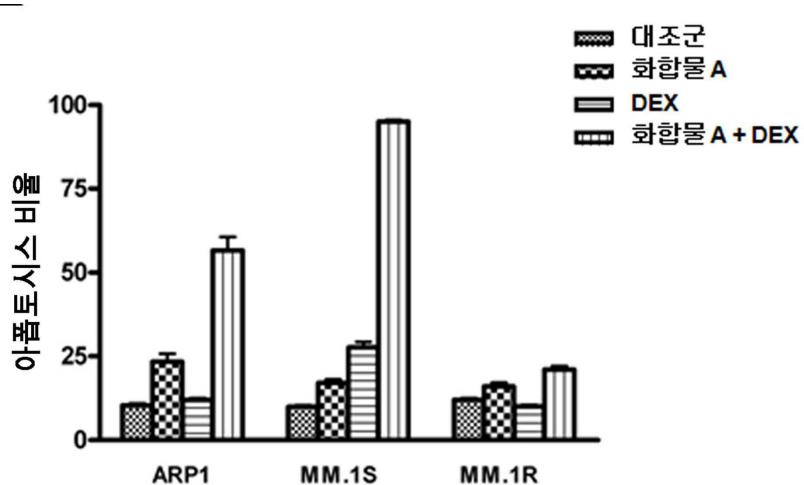
도면4



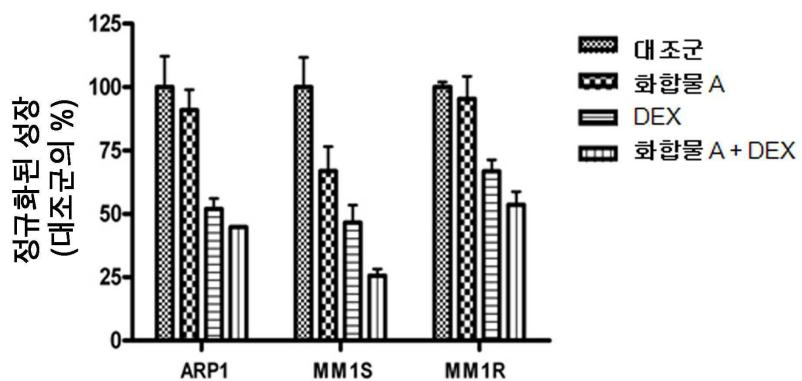
도면5a



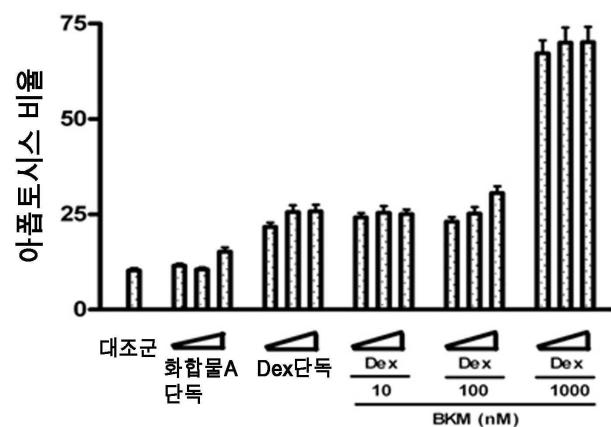
도면5b



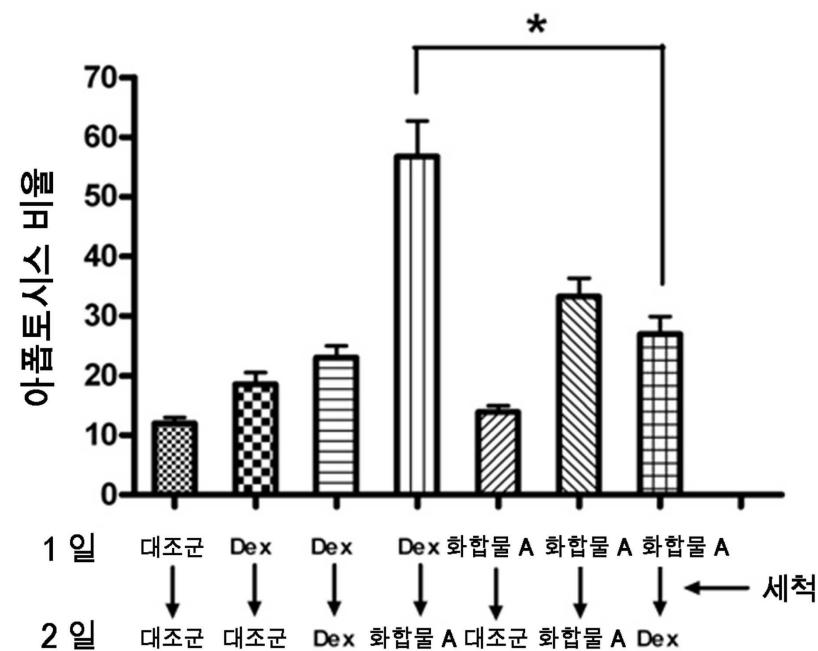
도면5c



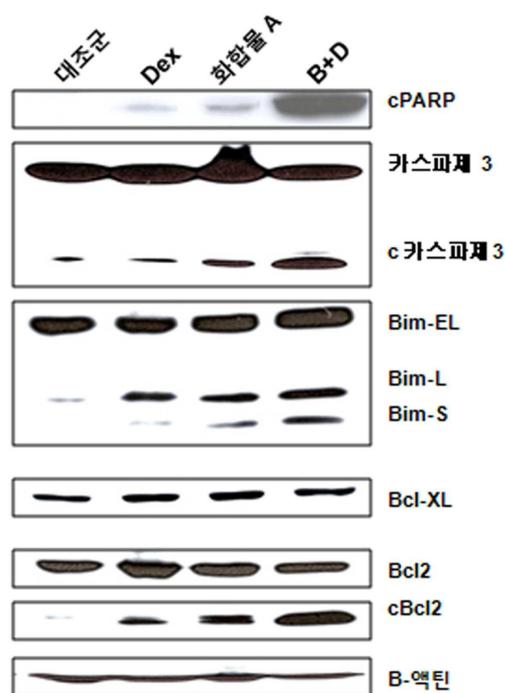
도면5d



도면5e



도면5f



도면6

