



등록특허 10-2479693



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년12월22일

(11) 등록번호 10-2479693

(24) 등록일자 2022년12월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/498 (2006.01) A61K 31/4985 (2006.01)
A61K 31/5025 (2006.01)

(52) CPC특허분류
A61K 31/498 (2013.01)
A61K 31/4985 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2016-7029724

(22) 출원일자(국제) 2015년03월26일

심사청구일자 2020년03월25일

(85) 번역문제출일자 2016년10월25일

(65) 공개번호 10-2016-0136438

(43) 공개일자 2016년11월29일

(86) 국제출원번호 PCT/EP2015/056512

(87) 국제공개번호 WO 2015/144804

국제공개일자 2015년10월01일

(30) 우선권주장

14161835.5 2014년03월26일

유럽특허청(EPO)(EP)

(56) 선행기술조사문헌

Katherine R. singleton, et al. Mol Pharmacol,
2013, 83, 882-893. (2013.04.30.)*

공개특허공보 제10-2008-0085154호
(2008.09.23.)*

공개특허공보 제10-2013-0108076호
(2013.10.02.)*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

아스텍스 테라퓨틱스 리미티드

영국, 캠브리지 씨비4 0큐에이, 밀턴 로드, 436
캠브리지 싸이언스 파크

(72) 발명자

요브체바, 엘레오노라

벨기에 베-2340 비어세 투른호우트세베크 30 안센
파카슈티카 엔브이

페레라, 티모시 피에트로 수렌

벨기에 베-2340 비어세 투른호우트세베크 30 안센
파카슈티카 엔브이

(74) 대리인

양영준, 김영

전체 청구항 수 : 총 8 항

심사관 : 나영국

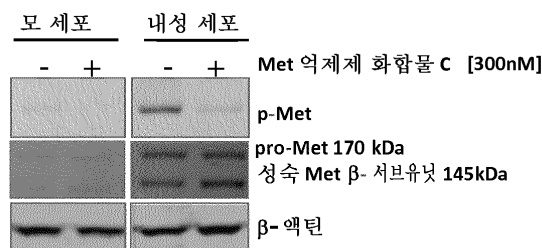
(54) 발명의 명칭 조합물

(57) 요약

본 발명은 N-(3,5-디메톡시페닐)-N'-(1-메틸에틸)-N-[3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)퀴녹살린-6-일]에탄-1,2-디아민 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 및 N-(2-플루오로-3,5-디메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)-3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리도[2,3-b]피라진-6-아민 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물로

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1



KV11057

부터 선택된 제1 화합물; 및 cMet 억제제인 제2 화합물의 조합물에 관한 것이다. 조합물은 증식성 장애의 치료에 사용하기 위한, 특히 암의 치료에 사용하기 위한 것이다. FGFR 억제제 (N-(3,5-디메톡시페닐)-N'-(1-메틸에틸)-N-[3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)퀴녹살린-6-일]에탄-1,2-디아민 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 및 N-(2-플루오로-3,5-디메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)-3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리도[2,3-b]피라진-6-아민 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물) 및 cMet 억제제는 동시에, 개별적으로 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 본 발명은 추가로 제약상 허용되는 담체 및 본 발명에 따른 조합물을 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

A61K 31/5025 (2013.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

N-(3,5-디메톡시페닐)-N'-(1-메틸에틸)-N-[3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)퀴녹살린-6-일]에탄-1,2-디아민 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물인 제1 화합물, 및

cMet 억제제인 제2 화합물이며, 여기서 cMet 억제제는 6-[디플루오로(6-피리딘-4-일[1,2,4]트리아졸로[4,3-b]피리다진-3-일)메틸]퀴놀린 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물인, 제2 화합물

의 조합물이며, FGFR 키나제에 의해 매개되는 폐암의 치료를 위한 조합물.

청구항 2

제1항에 있어서, 제1 화합물이 N-(3,5-디메톡시페닐)-N'-(1-메틸에틸)-N-[3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)퀴녹살린-6-일]에탄-1,2-디아민 염기인 조합물.

청구항 3

제1항에 있어서, cMet 억제제가 6-[디플루오로(6-피리딘-4-일[1,2,4]트리아졸로[4,3-b]피리다진-3-일)메틸]퀴놀린 염기인 조합물.

청구항 4

제약상 허용되는 담체 및 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 조합물을 포함하는, FGFR 키나제에 의해 매개되는 폐암의 치료를 위한 제약 조성물.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서,

- (i) 폐암이 FGFR1, FGFR2, FGFR3 또는 FGFR4의 돌연변이체를 갖는 종양이거나, 또는
- (ii) 폐암이 FGFR2 또는 FGFR3의 기능-획득(gain-of-function) 돌연변이체를 갖는 종양이거나, 또는
- (iii) 폐암이 FGFR1의 과다-발현을 갖는 종양인,

조합물.

청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서, 폐암이 비소세포 폐암, 편평 세포 폐암, 폐의 선암종, 폐 선암종, 또는 소세포 폐암인, 조합물.

청구항 7

제6항에 있어서, 폐암이 비소세포 폐암인, 조합물

청구항 8

FGFR 키나제에 의해 매개되는 폐암의 치료에서의 동시, 개별 또는 순차적 사용을 위한 조합 제제로서의 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 조합물을 포함하는 제약 제품.

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

발명의 설명

기술 분야

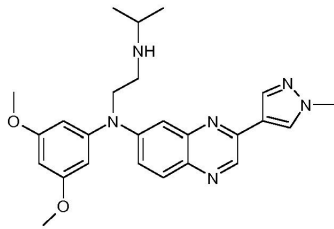
- [0001] 본 발명은 N-(3,5-디메톡시페닐)-N'-(1-메틸에틸)-N-[3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)퀴녹살린-6-일]에탄-1,2-디아민 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 및 N-(2-플루오로-3,5-디메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)-3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리도[2,3-b]피라진-6-아민 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물로부터 선택된 제1 화합물; 및 cMet 억제제인 제2 화합물의 조합물에 관한 것이다.
- [0002] 조합물은 증식성 장애의 치료에 사용하기 위한, 특히 암의 치료에 사용하기 위한 것이다.
- [0003] FGFR 억제제 (N-(3,5-디메톡시페닐)-N'-(1-메틸에틸)-N-[3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)퀴녹살린-6-일]에탄-1,2-디아민 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 및 N-(2-플루오로-3,5-디메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)-3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리도[2,3-b]피라진-6-아민 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물); 및 cMet 억제제는 동시에, 개별적으로 또는 순차적으로 투여될 수 있다.
- [0004] 본 발명은 추가로 제약상 허용되는 담체 및 본 발명에 따른 조합물을 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다.

발명의 내용

[0005] 본 발명은 N-(3,5-디메톡시페닐)-N'-(1-메틸에틸)-N-[3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)퀴녹살린-6-일]에탄-1,2-디아민 (화합물 A) 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 및 N-(2-플루오로-3,5-디메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)-3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리도[2,3-b]피라진-6-아민 (화합물 B) 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물로부터 선택된 제1 화합물; 및 cMet 억제제인 제2 화합물의 조합물에 관한 것이다.

[0006] 발명의 배경

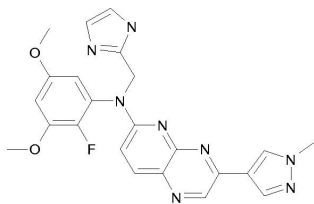
[0007] N-(3,5-디메톡시페닐)-N'-(1-메틸에틸)-N-[3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)퀴녹살린-6-일]에탄-1,2-디아민 (화합물 A)은 하기 화학식에 의해 나타내어진다.



화합물 A

[0008]

[0009] N-(2-플루오로-3,5-디메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)-3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리도[2,3-b]피라진-6-아민 (화합물 B)은 하기 화학식에 의해 나타내어진다.



화합물 B

[0010]

[0011] 화합물 N-(3,5-디메톡시페닐)-N'-(1-메틸에틸)-N-[3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)퀴녹살린-6-일]에탄-1,2-디아민 (화합물 A) 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 및 N-(2-플루오로-3,5-디메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)-3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리도[2,3-b]피라진-6-아민 (화합물 B) 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 및 그의 화학적 합성은 W02011/135376 및 W02013/061080에 기재되어 있으며, 이는 본원에 참조로 포함된다. 이들은 특정 단백질 티로신 키나제, 특히 FGFR의 활성의 억제제 또는 조절제로서 기재되어 있으며, 따라서 화합물은 상기 티로신 키나제, 특히 FGFR에 의해 매개되는 질환 상태 또는 병태의 치료 또는 예방, 특히 치료에 유용하다. 화합물은 암의 치료 또는 예방, 특히 치료에 유용하다.

[0012] W02011/135376에서 본 발명의 화합물 A는 또한 히드로클로라이드 염으로서 예시되어 있다. W02013/061080에서 본 발명의 화합물 B는 또한 술페이트 염으로서, 히드로클로라이드 염으로서, 포스페이트 염으로서, 락테이트 염으로서, 푸마레이트 염으로서 예시되어 있다.

[0013] FGFR

[0014] 단백질 티로신 키나제 (PTK) 수용체의 섬유모세포 성장 인자 (FGF) 패밀리는 유사분열촉진, 상처 치유, 세포 분화 및 혈관신생, 및 발달을 포함한 다양한 집합의 생리학적 기능을 조절한다. 정상 세포 및 악성 세포 둘 다의 성장 뿐만 아니라 증식은 자가분비 뿐만 아니라 주변분비 인자로서 작용하는 세포외 신호전달 분자인 FGF의 국부 농도의 변화에 의해 영향을 받는다. 자가분비 FGF 신호전달은 암의 호르몬 독립적 상태로의 스테로이드 호르몬-의존성 진행에 있어서 특히 중요할 수 있다. FGF 및 그의 수용체는 여러 조직 및 세포주에서 증가된 수준으로 발현되며, 과다발현은 악성 표현형에 기여하는 것으로 여겨진다. 게다가, 다수의 종양유전자는 성장 인자 수용체를 코딩하는 유전자의 동족체이고, 인간 체장암에서 FGF-의존성 신호전달의 비정상적 활성화에 대한 가능성이 존재한다 (Knights et al., Pharmacology and Therapeutics 2010 125:1 (105-117); Korc M. et al. Current Cancer Drug Targets 2009 9:5 (639-651)).

[0015] 2종의 원형질성 구성원은 산성 섬유모세포 성장 인자 (aFGF 또는 FGF1) 및 염기성 섬유모세포 성장 인자 (bFGF 또는 FGF2)이며, 현재까지, 적어도 20종의 별개의 FGF 패밀리 구성원이 확인된 바 있다. FGF에 대한 세포 반응

은 1 내지 4로 넘버링된 4종 유형의 고친화도 막횡단 단백질 티로신-키나제 섬유모세포 성장 인자 수용체 (FGFR) (FGFR1 내지 FGFR4)를 통해 전달된다.

[0016] FGFR1 경로의 교란은 이 키나제가 내피 세포를 증식시키는 것에 더하여 많은 종양 유형에서 활성화되기 때문에 종양 세포 증식에 영향을 미칠 것이다. 종양-연관 혈관계에서의 FGFR1의 과다-발현 및 활성화는 종양 혈관신생에서의 이들 분자에 대한 역할을 시사한 바 있다.

[0017] 최근의 연구는 전형적 소엽성 암종 (CLC)에서 FGFR1 발현과 종양발생 사이의 관련성을 제시한 바 있다. CLC는 전체 유방암의 10-15%를 차지하며, 일반적으로, 에스트로겐 수용체의 발현을 유지하면서 p53 및 Her2 발현이 결핍되어 있다. 8p12-p11.2의 유전자 증폭이 CLC 사례 중 ~50%에서 입증되었고, 이는 FGFR1의 증가된 발현과 관련된 것으로 나타났다. FGFR1에 대한 siRNA, 또는 수용체의 소분자 억제제를 사용한 예비 연구는 이러한 증폭을 보유한 세포주가 이 신호전달 경로의 억제에 특히 감수성이라는 것을 제시하였다. 가장 흔한 소아 연부 조직 육종인 횡문근육종 (RMS)은 골격 근발생 동안의 비정상적 증식 및 분화로 인해 발생하는 것으로 보인다. FGFR1은 원발성 횡문근육종 종양에서 과다-발현되며, 5' CpG 섬의 저메틸화 및 AKT1, NOG 및 BMP4 유전자의 비정상적 발현과 연관된다. FGFR1은 또한 편평 폐암, 결장직장암, 교모세포종, 성상세포종, 전립선암, 소세포 폐암, 흑색종, 두경부암, 갑상선암, 자궁암과 관련된 바 있다.

[0018] 섬유모세포 성장 인자 수용체 2는 산성 및/또는 염기성 섬유모세포 성장 인자, 뿐만 아니라 각질세포 성장 인자 리간드에 대해 고친화도를 갖는다. 섬유모세포 성장 인자 수용체 2는 또한 골모세포 성장 및 분화 동안 FGF의 강력한 골형성 효과를 전파한다. 복합 기능적 변형을 초래하는 섬유모세포 성장 인자 수용체 2의 돌연변이는 두개 봉합의 비정상적 골화 (두개골유합증)를 유도하는 것으로 제시되었으며, 이는 막내 골 형성에서 FGFR 신호 전달의 주요한 역할을 암시한다. 예를 들어, 미성숙 두개 봉합 골화를 특징으로 하는 에이퍼트 (AP) 증후군에서, 대부분의 사례는 섬유모세포 성장 인자 수용체 2에서의 기능-획득을 일으키는 점 돌연변이와 연관된다. 또한, 증후군성 두개골유합증을 갖는 환자에서의 돌연변이 스크리닝은 다수의 반복적 FGFR2 돌연변이가 중증 형태의 파이퍼 증후군의 원인임을 나타내었다. FGFR2의 특정한 돌연변이는 FGFR2에서의 W290C, D321A, Y340C, C342R, C342S, C342W, N549H, K641R을 포함한다.

[0019] 에이퍼트, 크루존, 잭슨-바이스, 베어-스티븐슨 뇌회상 피부 및 파이퍼 증후군을 포함한 인간 골격 발달에서의 여러 중증 이상은 섬유모세포 성장 인자 수용체 2에서의 돌연변이의 발생과 연관된다. 모두는 아니지만 대부분의 파이퍼 증후군 (PS)의 사례는 또한 섬유모세포 성장 인자 수용체 2 유전자의 신생 돌연변이에 의해 야기되며, 이는 최근에 섬유모세포 성장 인자 수용체 2에서의 돌연변이가 리간드 특이성을 통제하는 주요한 규칙 중 하나를 파괴하는 것으로 밝혀졌다. 즉, 섬유모세포 성장 인자 수용체의 2종의 돌연변이체 스플라이스 형태인 FGFR2c 및 FGFR2b는 비전형적 FGF 리간드에 결합하여 그에 의해 활성화되는 능력을 획득한 바 있다. 리간드 특이성의 이러한 손실은 비정상적 신호전달을 초래하고, 이는 이들 질환 증후군의 중증 표현형이 섬유모세포 성장 인자 수용체 2의 이소성 리간드-의존성 활성화로부터 생성됨을 시사한다.

[0020] FGFR3 수용체 티로신 키나제의 유전자 이상, 예컨대 염색체 전위 또는 점 돌연변이는 이소성으로 발현되거나 또는 탈조절된, 구성적으로 활성인 FGFR3 수용체를 생성한다. 이러한 이상은 다발성 골수종, 및 방광 암종, 간세포성 암종, 경구 편평 세포 암종 및 자궁경부 암종의 하위세트와 관련된다. 따라서, FGFR3 억제제는 다발성 골수종, 방광 암종 및 자궁경부 암종의 치료에 유용할 것이다. FGFR3은 또한 방광암, 특히 침습성 방광암에서 과다-발현된다. FGFR3은 빈번하게는 요로상피 암종 (UC)에서 돌연변이에 의해 활성화된다. 증가된 발현은 돌연변이와 연관되었으나 (돌연변이체 종양 중 85%가 고수준 발현을 나타내었음), 또한 많은 근육-침습성 종양을 포함한, 검출가능한 돌연변이를 갖지 않는 종양 중 42%가 과다-발현을 나타내었다. FGFR3은 또한 자궁내막암 및 갑상선암과 관련된다.

[0021] FGFR4의 과다 발현은 전립선 및 갑상선 암종 둘 다에서 불량한 예후와 관련된 바 있다. 또한 배선 다형성 (Gly388Arg)은 폐암, 유방암, 결장암, 간암 (HCC) 및 전립선암의 증가된 발생률과 연관된다. 또한, FGFR4의 말단절단된 형태 (키나제 도메인 포함)는 또한 정상 조직에서는 존재하지 않지만 뇌하수체 종양 중 40%에 존재하는 것으로 밝혀진 바 있다. FGFR4 과다발현은 간, 결장 및 폐 종양에서 관찰된 바 있다. FGFR4는 그의 리간드 FGF19의 발현이 빈번하게 상승되는 결장직장암 및 간암과 연루된 바 있다. FGFR4는 또한 성상세포종, 횡문근육종과 관련된다.

[0022] 섬유화 병태는 섬유성 조직의 비정상적 또는 과다 침착으로부터 발생하는 주요한 의학적 문제이다. 이는 간 경변증, 사구체신염, 폐 섬유증, 전신 섬유증, 류마티스 관절염, 뿐만 아니라 상처 치유의 자연적 과정을 포함한 많은 질환에서 발생한다. 병리학적 섬유증의 메커니즘은 완전히 이해되지는 않지만, 섬유모세포의 증식 및 세

포외 매트릭스 단백질 (콜라겐 및 피브로넥틴 포함)의 침착에 수반되는 다양한 시토카인 (종양 괴사 인자 (TNF), 섬유모세포 성장 인자 (FGF), 혈소판 유래 성장 인자 (PDGF) 및 형질전환 성장 인자 베타 (TGF β) 포함)의 작용으로부터 발생하는 것으로 여겨진다. 이는 조직 구조 및 기능의 변경 및 후속적인 병리상태를 초래한다.

[0023] 다수의 전임상 연구는 폐 섬유증의 전임상 모델에서 섬유모세포 성장 인자의 상향-조절을 입증한 바 있다. TGF β 1 및 PDGF는 섬유화 과정에 수반되는 것으로 보고된 바 있으며, 추가로 공개물은 FGF의 상승 및 결과적인 섬유모세포 증식에서의 증가가 상승된 TGF β 1에 대한 반응일 수 있음을 시사한다. 특발성 폐 섬유증 (IPF)과 같은 병태에서의 섬유화 메커니즘을 표적으로 하는 잠재적 치료 이익은 항섬유화제 피르페니돈의 보고된 임상 효능에 의해 시사된다. 특발성 폐 섬유증 (또한 잠재성 섬유화 폐포염으로서 지칭됨)은 폐의 반흔형성을 수반하는 진행성 병태이다. 서서히, 폐의 기낭이 섬유화 조직에 의해 대체되며, 이는 더 두꺼워져, 산소를 혈류로 전달하는 조직의 능력의 비가역적 상실을 유발한다. 이 병태의 증상은 숨가쁨, 만성 건성 기침, 피로, 흉통, 및 빠른 체중 손실을 일으키는 식욕 상실을 포함한다. 이 병태는 5년 후 대략 50%의 사망률을 갖는 극도로 심각한 것이다.

[0024] 이와 같이, FGFR을 억제하는 화합물은, 특히 혈관신생을 억제함으로써 종양에서의 성장을 방지하거나 또는 아폽토시스를 유발하는 수단을 제공하는데 유용할 것이다. 따라서 화합물이 증식성 장애 예컨대 암을 치료 또는 예방하는데 유용하다는 것이 증명될 것으로 예상된다. 특히 수용체 티로신 키나제의 활성화 돌연변이체 또는 수용체 티로신 키나제의 상향조절을 갖는 종양은 특히 억제제에 대해 감수성일 수 있다. 특이적 RTK (수용체 티로신 키나제)의 임의의 이소형의 활성화 돌연변이체를 갖는 환자는 또한 RTK 억제제를 사용한 치료가 특히 유익한 것으로 밝혀질 수 있다.

[0025] 본원에 기재된 FGFR 키나제 억제제는 차별화된 선택성 프로파일을 가지며, 이는 그의 질환이 FGFR 탈조절에 의해 구동되는 것인 환자 하위군에서 이들 표적화 작용제를 사용할 새로운 기회를 제공한다. 본원에 기재된 FGFR 키나제 억제제는 추가의 키나제, 특히 VEGFR, 보다 특히 VEGFR2, 및 PDGFR, 특히 PDGFR-베타에 대해 감소된 억제 작용을 나타내고, 차별화된 부작용 또는 독성 프로파일을 가질 기회를 제공하며, 그에 따라 이들 적응증의 보다 효과적인 치료를 허용한다. VEGFR2 및 PDGFR-베타의 억제제는 각각 고혈압 또는 부종과 같은 독성과 연관된다. VEGFR2 억제제의 경우에 이러한 고혈압 효과는 종종 용량을 제한하며, 특정 환자 집단에서는 금기되어, 임상적 관리를 필요로 한다.

[0026] 혈관 내피 성장 인자 수용체 (VEGFR)

[0027] 혈관 내피 성장 인자 (VEGF)인 폴리펩티드는 시험관내 내피 세포에 대한 유사분열촉진제이며, 생체내 혈관신생 반응을 자극한다. VEGF는 또한 부적절한 혈관신생과 관련된 바 있다. VEGFR(들)은 단백질 티로신 키나제 (PTK)이다. PTK는 세포 기능에 수반되는 단백질 내의 특이적 티로신 잔기의 인산화를 촉매하여, 세포 성장, 생존 및 분화를 조절한다.

[0028] VEGF에 대한 3종의 PTK 수용체가 확인된 바 있다: VEGFR-1 (Flt-1); VEGFR-2 (Flk-1 또는 KDR) 및 VEGFR-3 (Flt-4). 이들 수용체는 혈관신생에 수반되며, 신호 전달에 관여한다. 특히 관심 대상인 것은 VEGFR-2이며, 이는 내피 세포에서 주로 발현되는 막횡단 수용체 PTK이다. VEGF에 의한 VEGFR-2의 활성화는 종양 혈관신생을 개시하는 신호 전달 경로에서 결정적인 단계이다. VEGF 발현은 종양 세포에 대한 구성요소일 수 있으며, 또한 특정 자극에 대해 상향조절될 수 있다. 이러한 자극 중 하나는 저산소증이며, 여기서 VEGF 발현은 종양 및 연관된 숙주 조직 둘 다에서 상향조절된다. VEGF 리간드는 세포의 VEGF 결합 부위와 결합함으로써 VEGFR-2를 활성화시킨다. 이는 VEGFR의 수용체 이량체화 및 VEGFR-2의 세포내 키나제 도메인에서의 티로신 잔기의 자가인산화를 초래한다. 키나제 도메인은 ATP에서 티로신 잔기로 포스페이트가 전달되도록 작용하며, 따라서 VEGFR-2의 신호전달 단백질 하류에 대한 결합 부위를 제공하여 궁극적으로 혈관신생의 개시를 초래한다.

[0029] PDGFR

[0030] 악성 종양은 제어되지 않은 세포 증식의 산물이다. 세포 성장은 성장-촉진 및 성장-억제 인자 간의 정교한 균형에 의해 제어된다. 정상 조직에서, 이들 인자의 생산 및 활성화는 기관의 정상적 완전성 및 기능을 유지하는 제어되고 조절된 방식으로 분화된 세포 성장을 일으킨다. 악성 세포는 이러한 제어를 회피하며; 자연적 균형이 파괴되고 (다양한 메커니즘을 통해) 탈조절되며, 이상 세포 성장이 발생한다. 종양 발달에서 중요한 성장 인자는 세포 표면 티로신 키나제 수용체 (PDGFR)를 통해 신호전달하여 성장, 증식 및 분화를 포함한 다양한 세포 기능을 자극하는 펩티드 성장 인자의 패밀리를 포함하는 혈소판-유래 성장 인자 (PDGF)이다.

- [0031] cMet
- [0032] c-Met (Met)인 간세포 성장 인자 (HGF) (또한 산란 인자로서 공지됨)는 세포 증식, 형태발생, 및 운동성을 조절하는 수용체 티로신 키나제이다. c-Met 유전자는 140kD β 막횡단 서브유닛 및 50 kD 글리코실화 세포외 α 서브유닛으로 구성된 세포 표면 수용체로 프로세싱된 170 kD 단백질로 번역된다.
- [0033] c-Met의 돌연변이, c-Met 및/또는 HGF/SF (산란 인자)의 과다-발현, 동일한 세포에 의한 c-Met 및 HGF/SF의 발현, 및 과다-발현 및/또는 이상 c-Met 신호전달은 다양한 인간 고형 종양에 존재하고, 혈관신생, 종양 발생, 침습 및 전이에 관여하는 것으로 여겨진다. 비제어된 c-Met 활성화를 갖는 세포주는, 예를 들어, 고도의 침습성 및 전이성 둘 다를 갖는다. c-Met 수용체를 발현하는 정상 및 형질전환된 세포 사이의 주목할 만한 차이는 종양 세포 내의 티로신 키나제 도메인의 인산화가 종종 리간드의 존재와는 독립적이라는 것이다.
- [0034] c-Met 돌연변이/변경은 종양 및 암 - 예를 들어, 유전성 및 산발성 인간 유두상 신세포 암종, 유방암, 간 전이를 임의로 갖는 결장직장암, 위 암종, 신경교종, 난소암, 간세포성 암종, 두경부 편평 세포 암종, 고환 암종, 기저 세포 암종, 간 암종, 육종, 악성 흉막 중피종, 흑색종, 다발성 골수종, 골육종, 췌장암, 전립선암, 활막 육종, 갑상선 암종, 비소세포 폐암 (NSCLC) 및 소세포 폐암, 방광의 이행 세포 암종, 고환 암종, 기저 세포 암종, 간 암종 - 및 백혈병, 림프종, 및 골수종 - 예를 들어, 급성 림프구성 백혈병 (ALL), 급성 골수성 백혈병 (AML), 급성 전골수구성 백혈병 (APL), 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 만성 골수성 백혈병 (CML), 만성 호중구성 백혈병 (CNL), 급성 미분화 백혈병 (AUL), 역형성 대세포 림프종 (ALCL), 전림프구성 백혈병 (PML), 소아 골수 단핵구성 백혈병 (JMML), 성인 T-세포 ALL, 3계열 골수이형성증을 갖는 AML (AML/TMDS), 혼합 직계성 백혈병 (MLL), 골수이형성 증후군 (MDS), 골수증식성 장애 (MPD), 다발성 골수종 (MM), 골수성 육종, 비-호지킨 림프종 및 호지킨병 (또한 호지킨 림프종으로 불림)을 포함한 다수의 인간 질환에서 확인된 바 있다.
- [0035] c-Met의 과다-발현은 또한 특정 질환, 예컨대, 예를 들어, 유방암, 비소세포 폐 암종, 췌장 내분비 신생물, 전립선암, 식도 선암종, 결장직장암, 타액선 암종, 미만성 대 B-세포 림프종 및 자궁내막 암종의 예후에 대한 잠재적으로 유용한 예측인자인 것으로 여겨진다.
- [0036] 다양한 인간 암의 발병기전에서의 이상 HGF/SF-Met 신호전달의 역할로 인해, c-Met 수용체 티로신 키나제의 억제제는 Met 활성이 침습성/전이성 표현형에 기여하는 것, 예컨대 c-Met가 과다-발현되지 않거나 또는 달리 변경되지 않은 것들인 암의 치료에 넓은 적용을 갖는다. c-Met의 억제제는 또한 혈관신생을 억제하고, 따라서 새로운 혈관계의 형성과 연관된 질환, 예컨대 류마티스 관절염 및 망막병증의 치료에 유용성을 갖는 것으로 여겨진다.
- [0037] 본원에 참조로 포함된 WO2007/075567 및 WO2008/155378은 cMet 억제제, 예컨대 6-{디플루오로[6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)][1,2,4]트리아졸로[4,3-b]피리다진-3-일]메틸}퀴놀린 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 및 6-[디플루오로(6-피리딘-4-일[1,2,4]트리아졸로[4,3-b]피리다진-3-일)메틸]퀴놀린 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 및 그의 화학적 합성, 및 그의 다형체를 기재하고 있다. 이들은 단백질 티로신 키나제 조절제, 특히 c-Met의 억제제, 및 세포 또는 대상체에서 c-Met의 키나제 활성을 감소 또는 억제하고 세포 또는 대상체에서 c-Met 발현을 조정하는 이러한 화합물의 용도, 및 대상체 또는 세포에서 증식성 장애 및/또는 c-Met 관련 장애, 특히 암의 예방 또는 치료를 위한 이러한 화합물의 용도가 기재되어 있다.
- [0038] 6-{디플루오로[6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)][1,2,4]트리아졸로[4,3-b]피리다진-3-일]메틸}퀴놀린 (화합물 C)은 하기 구조에 의해 나타내어진다.
-
- 화합물 C
- [0039]
- [0040] 6-[디플루오로(6-피리딘-4-일[1,2,4]트리아졸로[4,3-b]피리다진-3-일)메틸]퀴놀린 (화합물 D)은 하기 화학식에 의해 나타내어진다.



화합물 D

[0041]

[0042]

W02008/155378에서 화합물 C의 결정질 형태 및 수화물, 특히 형태 I, 형태 II, 형태 III, 및 본 발명의 화합물 C의 수화물 형태가 또한 예시되어 있다.

[0043]

W02008/155378에서 본 발명의 화합물 C는 또한 HBr 염으로서, HCl 염으로서, 메탄술포네이트 (메실레이트) 염으로서, 에탄술포네이트 (에실레이트) 염으로서 및 p-톨루엔술포네이트 (토실레이트)로서 예시되어 있다.

[0044]

화합물 C 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 및 화합물 D 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물은 선택적 cMet 억제제이다.

[0045]

W02013/151913은 티로신 키나제 억제제 조합물 및 그의 용도에 관한 것이다.

도면의 간단한 설명

[0046]

도 1: Met 억제제, 300 nM 화합물 C의 부재 (-) 또는 존재 (+) 하에 30분 동안 처리된, 모 세포 및 내성 NCI-H1581 세포로부터 유래된 단백질 용해물의 웨스턴 블롯팅.

도 2: 단일 작용제 (화합물 A [1 마이크로M] 또는 화합물 D [1 마이크로M]) 또는 화합물 A [1 마이크로M] 및 화합물 D [1 마이크로M] 둘 다의 조합물, 및 비히클 대조군으로서의 DMSO로 처리된 NCI-H1581 세포의 증식을 나타내는 인큐사이트(Incucyte) 그래프 (시간 경과에 따른 % 전면생장률).

도 3. 내성 NCI-H1581 이중이식편에서의 단일 작용제, 화합물 A, 및 화합물 A 및 화합물 D의 조합물의 효능.

도 4. 화합물 A [0.1 마이크로M] 또는 화합물 A [0.1 마이크로M] 및 화합물 D [1 마이크로M]의 조합물, 및 비히클 대조군으로서의 DMSO로 처리된 NCI-H1581 세포 및 NCI-H1581^{Met(+)} 세포의 증식을 나타내는 인큐사이트 그래프 (시간 경과에 따른 % 전면생장률).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0047]

본 발명은 N-(3,5-디메톡시페닐)-N'-(1-메틸에틸)-N-[3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)퀴녹살린-6-일]에탄-1,2-디아민 (화합물 A) 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 및 N-(2-플루오로-3,5-디메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)-3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리도[2,3-b]피라진-6-아민 (화합물 B) 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물로부터 선택된 제1 화합물; 및 cMet 억제제, 특히 본원에 기재된 바와 같은 cMet 억제제인 제2 화합물의 조합물에 관한 것이다.

[0048]

한 실시양태에서, 본 발명은 N-(3,5-디메톡시페닐)-N'-(1-메틸에틸)-N-[3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)퀴녹살린-6-일]에탄-1,2-디아민 (화합물 A) 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 및 cMet 억제제, 특히 본원에 기재된 바와 같은 cMet 억제제의 조합물에 관한 것이다.

[0049]

한 실시양태에서, 본 발명은 N-(3,5-디메톡시페닐)-N'-(1-메틸에틸)-N-[3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)퀴녹살린-6-일]에탄-1,2-디아민 (화합물 A) 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 및 6-{디플루오로[6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)][1,2,4]트리아졸로[4,3-b]피리다진-3-일]메틸}퀴놀린 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물의 조합물에 관한 것이다.

[0050]

한 실시양태에서, 본 발명은 N-(3,5-디메톡시페닐)-N'-(1-메틸에틸)-N-[3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)퀴녹살린-6-일]에탄-1,2-디아민 (화합물 A) 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 및 6-[디플루오로(6-피리딘-4-일)[1,2,4]트리아졸로[4,3-b]피리다진-3-일]메틸}퀴놀린 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물의 조합물에 관한 것이다.

[0051]

한 실시양태에서, 본 발명은 N-(2-플루오로-3,5-디메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)-3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리도[2,3-b]피라진-6-아민 (화합물 B) 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 및 cMet 억제제, 특히 본원에 기재된 바와 같은 cMet 억제제의 조합물에 관한 것이다.

[0052]

한 실시양태에서, 본 발명은 N-(2-플루오로-3,5-디메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)-3-(1-메틸-1H-피라졸-

4-일)피리도[2,3-b]피라진-6-아민 (화합물 B) 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 및 6-{디플루오로[6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)][1,2,4]트리아졸로[4,3-b]피리다진-3-일]메틸}퀴놀린 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물의 조합물에 관한 것이다.

[0053] 한 실시양태에서, 본 발명은 N-(2-플루오로-3,5-디메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)-3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리도[2,3-b]피라진-6-아민 (화합물 B) 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 및 6-[디플루오로(6-피리딘-4-일[1,2,4]트리아졸로[4,3-b]피리다진-3-일)메틸]퀴놀린 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물의 조합물에 관한 것이다.

[0054] 한 실시양태에서, 본 발명의 조합물의 FGFR 억제제 (화합물 A 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 또는 화합물 B 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물) 및 cMet 억제제, 특히 본원에 기재된 바와 같은 cMet 억제제, 보다 특히 화합물 C 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 또는 화합물 D 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물은 동시에 (예를 들어 개별 또는 단일 조성물로), 대략 동일한 시간에 순서대로 순차적으로 투여된다. 이 경우에, 2종의 화합물이 유리한 또는 상승작용적 효과가 달성되는 것을 보장하기에 충분한 양 및 방식으로 투여될 것이다.

[0055] 한 실시양태에서, 본 발명의 조합물의 FGFR 억제제 (화합물 A 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 또는 화합물 B 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물) 및 cMet 억제제, 특히 본원에 기재된 바와 같은 cMet 억제제, 보다 특히 화합물 C 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 또는 화합물 D 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물은 개별 투여 스케줄에 대해 순서대로 순차적으로 투여된다. 이 경우에, 2종의 화합물이 유리한 또는 상승작용적 효과가 달성되는 것을 보장하기에 충분한 기간 내에 및 그러기에 충분한 양 및 방식으로 투여될 것이다.

[0056] 조합물의 각 성분에 대한 바람직한 투여 방법 및 순서, 및 각각의 투여량 및 요법이 투여되는 특정한 화학요법제, 그의 투여 경로, 치료될 특정한 종양 및 치료될 특정한 숙주에 따라 달라질 것임이 이해될 것이다.

[0057] 최적의 투여 방법 및 순서, 및 투여량 및 요법은 통상적인 방법을 사용하여 및 본원에 개시된 정보를 고려하여 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0058] 본 발명의 조합물에서, FGFR 억제제 및 cMet 억제제는 서로 독립적으로 시판될 수 있으나, 그의 조합 사용을 위한 지표 또는 지침서를 갖는 개별 제약 투여 형태로 제제화될 수 있다. 상기 지표 또는 지침서는 환자 리플렛 등의 형태, 또는 예를 들어 서면 또는 구전 형태의 임의의 커뮤니케이션 형태일 수 있다.

[0059] 본 발명의 조합물에서, FGFR 억제제 및 cMet 억제제는 동일한 투여 경로를 통해 또는 상이한 투여 경로를 통해 투여될 수 있다.

[0060] 한 실시양태에서, 본 발명의 조합물의 FGFR 억제제 및 cMet 억제제는 동일한 투여 경로를 통해, 특히 경구 경로를 통해 투여된다.

[0061] 본 발명은 또한, 특히 FGFR 티로신 키나제 활성 매개 질환, 특히 암의 치료에서의 동시, 개별 또는 순차적 사용을 위한 지침서를 함께 갖는 본 발명에 따른 조합물을 포함하는 제약 제품 또는 상업용 패키지에 관한 것이다.

[0062] 한 실시양태에서, 본 발명의 조합물에서, FGFR 억제제 및 cMet 억제제는 동시에 투여된다.

[0063] 한 실시양태에서, 본 발명의 조합물에서, FGFR 억제제 및 cMet 억제제는, 특히 조합 사용의 효과가 FGFR 억제제 또는 cMet 억제제를 단독으로 투여하는 경우에 획득된 효과보다 더 크도록 선택된 시간 간격으로 개별적으로 투여된다.

[0064] FGFR 억제제로서의 화합물 A 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물을 포함하는 본 발명의 조합물의 경우에, 상기 화합물을 cMet 억제제보다 덜 빈번하게 투여하는 것이 유리할 수 있는데, 이는 화합물 A가 리소솜 자극 특성 및 장기간 표적 섷 다운을 나타내기 때문이다.

[0065] 본 발명의 조합물의 FGFR 억제제 및 cMet 억제제는 또한 단일 제제로 공동-제제화될 수 있다.

[0066] 한 실시양태에서, 본 발명은 제약상 허용되는 담체 및 제1 활성 성분으로서 N-(3,5-디메톡시페닐)-N'-(1-메틸에틸)-N-[3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)퀴놀살린-6-일]에탄-1,2-디아민 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 및 N-(2-플루오로-3,5-디메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)-3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리도[2,3-b]피라진-6-아민 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물로부터 선택된 화합물; 및 제2 활성 성분으로서 cMet 억제제, 특히 본원에 기재된 바와 같은 cMet 억제제, 보다 특히 6-{디플루오로[6-(1-메틸-1H-피라졸-

4-일)[1,2,4]트리아졸로[4,3-b]피리다진-3-일]메틸}퀴놀린 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 및 6-[디플루오로(6-피리딘-4-일[1,2,4]트리아졸로[4,3-b]피리다진-3-일)메틸}퀴놀린 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물로부터 선택된 화합물을 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다.

- [0067] 한 실시양태에서, 본 발명은 제약상 허용되는 담체 및 제1 활성 성분으로서 N-(3,5-디메톡시페닐)-N'-(1-메틸에틸)-N-[3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)퀴놀린-6-일]에탄-1,2-디아민 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 및 제2 활성 성분으로서 cMet 억제제, 특히 본원에 기재된 바와 같은 cMet 억제제를 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다.
- [0068] 한 실시양태에서, 본 발명은 제약상 허용되는 담체 및 제1 활성 성분으로서 N-(3,5-디메톡시페닐)-N'-(1-메틸에틸)-N-[3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)퀴놀린-6-일]에탄-1,2-디아민 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 및 제2 활성 성분으로서 6-{디플루오로[6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)[1,2,4]트리아졸로[4,3-b]피리다진-3-일]메틸}퀴놀린 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물을 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다.
- [0069] 한 실시양태에서, 본 발명은 제약상 허용되는 담체 및 제1 활성 성분으로서 N-(3,5-디메톡시페닐)-N'-(1-메틸에틸)-N-[3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)퀴놀린-6-일]에탄-1,2-디아민 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 및 제2 활성 성분으로서 6-[디플루오로(6-피리딘-4-일[1,2,4]트리아졸로[4,3-b]-피리다진-3-일)메틸}퀴놀린 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물을 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다.
- [0070] 한 실시양태에서, 본 발명은 제약상 허용되는 담체 및 제1 활성 성분으로서 N-(2-플루오로-3,5-디메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)-3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리도[2,3-b]피라진-6-아민 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물; 및 제2 활성 성분으로서 cMet 억제제, 특히 본원에 기재된 바와 같은 cMet 억제제를 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다.
- [0071] 한 실시양태에서, 본 발명은 제약상 허용되는 담체 및 제1 활성 성분으로서 N-(2-플루오로-3,5-디메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)-3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리도[2,3-b]피라진-6-아민 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물; 및 제2 활성 성분으로서 6-{디플루오로[6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)[1,2,4]트리아졸로[4,3-b]피리다진-3-일]메틸}퀴놀린 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물을 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다.
- [0072] 한 실시양태에서, 본 발명은 제약상 허용되는 담체 및 제1 활성 성분으로서 N-(2-플루오로-3,5-디메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)-3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리도[2,3-b]피라진-6-아민 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물; 및 제2 활성 성분으로서 6-[디플루오로(6-피리딘-4-일[1,2,4]트리아졸로[4,3-b]피리다진-3-일)메틸}퀴놀린 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물을 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다.
- [0073] 한 실시양태에서, 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 경구로 투여된다.
- [0074] 한 실시양태에서, 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 단독 활성 성분으로서 FGFR 억제제 및 cMet 억제제, 예컨대 본 발명의 실시양태 중 임의의 것에 기재된 바와 같은 것들을 포함한다.
- [0075] 본 발명에서, 한 실시양태에서, 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물의 cMet 억제제는 또한 하기 군으로부터 선택될 수 있다:
- [0076] (E)-2-(1-(3-((7-플루오로퀴놀린-6-일)메틸)이미다조[1,2-b]피리다진-6-일)에틸리덴)히드라진카르복사미드 (WO2011/018454의 실시예 1); 2-플루오로-N-메틸-4-[(7-퀴놀린-6-일-메틸)-이미다조[1,2-b]트리아진-2-일]벤즈아미드 (WO 2008/064157의 실시예 7); 크리조티닙; 카보잔티닙; 티바티닙; 포레티닙; MGCD-265; AMG-208; AMG-337; MK-8033; E-7050; EMD-1204831; EMD-1214063; 아무바티닙; BMS-817378; DP-3590; ASP-08001; HM-5016504; PF-4217903; SGX523; 항체 또는 관련 분자, 예컨대 예를 들어 피클라투주맙, 오나르투주맙, 티로투주맙, Tak-701, LA-480;
- [0077] 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물 .
- [0078] 한 실시양태에서, 본 발명의 조합물 또는 본 발명의 제약 조성물은, 특히 의약으로서 사용하기 위한, 보다 구체적으로 암 또는 관련 질환의 치료에 사용하기 위한 적어도 1종의 추가의 치료제, 특히 적어도 1종의 추가의 항암제 또는 아주반트를 포함한다.
- [0079] 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물에 포함될 수 있는 항암제 또는 아주반트 (요법에서 보조 작용제)의 예는 하

기를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다:

- [0080] - 백금 배위 화합물 예를 들어 아미포스틴과 임의로 조합된 시스플라틴, 카르보플라틴 또는 옥살리플라틴;
- [0081] - 탁산 화합물 예를 들어 파클리탁셀, 파클리탁셀 단백질 결합 입자 (아브락산(Abraxane)TM) 또는 도세탁셀;
- [0082] - 토포이소머라제 I 억제제 예컨대 캄프토테신 화합물 예를 들어 이리노테칸, SN-38, 토포테칸, 토포테칸 hcl;
- [0083] - 토포이소머라제 II 억제제 예컨대 항종양 에피도도필로톡신 또는 포도필로톡신 유도체 예를 들어 에토포시드, 에토포시드 포스페이트 또는 테니포시드;
- [0084] - 항종양 빈카 알칼로이드 예를 들어 빈블라스틴, 빈크리스틴 또는 비노렐빈;
- [0085] - 항종양 뉴클레오시드 유도체 예를 들어 5-플루오로우라실, 류코보린, 겐시타빈, 겐시타빈 hcl, 카페시타빈, 클라드리빈, 플루다라빈, 넬라라빈;
- [0086] - 알킬화제 예컨대 질소 머스타드 또는 니트로소우레아 예를 들어 시클로포스파미드, 클로람부실, 카르무스틴, 티오테파, 메팔란 (멜팔란), 로무스틴, 알트레타민, 부술판, 다카르바진, 에스트라무스틴, 임의로 메스나와 조합된 이포스파미드, 피포브로만, 프로카르바진, 스트렙토조신, 텔로졸로미드, 우라실;
- [0087] - 항종양 안트라시클린 유도체 예를 들어 다우노루비신, 임의로 텍스라죽산과 조합된 독소루비신, 독실, 이다루비신, 미톡산트론, 에피루비신, 에피루비신 hcl, 발루비신;
- [0088] - 테트로카르신 유도체 예를 들어 테트로카르신 A;
- [0089] - 글루코코르티코이드 예를 들어 프레드니손;
- [0090] - 항체 예를 들어 트라스투주맙 (HER2 항체), 리툭시맙 (CD20 항체), 겐투주맙, 겐투주맙 오조가미신, 세툭시맙, 페르투주맙, 베바시주맙, 알렘투주맙, 에쿨리주맙, 이브리투모맙 티옥세탄, 노페투모맙, 파니투무맙, 토시투모맙, CNTO 328;
- [0091] - 에스트로겐 수용체 길항제 또는 선택적 에스트로겐 수용체 조정제 또는 에스트로겐 합성의 억제제 예를 들어 타목시펜, 풀베스트란트, 토레미펜, 드롤록시펜, 파슬로텍스, 랄록시펜 또는 레트로졸;
- [0092] - 아로마타제 억제제 예컨대 엑세메스탄, 아나스트로졸, 레트라졸, 테스토락톤 및 보로졸;
- [0093] - 분화제 예컨대 레티노이드, 비타민 D 또는 레티노산 및 레티노산 대사 차단제 (RAMBA) 예를 들어 아큐탄;
- [0094] - DNA 메틸 트랜스퍼라제 억제제 예를 들어 아자시티딘 또는 데시타빈;
- [0095] - 항폴레이트제 예를 들어 프레메트렉세드 이나트륨;
- [0096] - 항생제 예를 들어 안티노마이신 D, 블레오마이신, 미토마이신 C, 닥티노마이신, 카르미노마이신, 다우노마이신, 레바미솔, 플리카마이신, 미트라마이신;
- [0097] - 항대사물 예를 들어 클로파라빈, 아미노프테린, 시토신 아라비노시드 또는 메토티렉세이트, 아자시티딘, 시타라빈, 플록수리딘, 펜토스타틴, 티오구아닌;
- [0098] - 아포토시스 유도제 및 항혈관신생제 예컨대 Bcl-2 억제제, 예를 들어 YC 137, BH 312, ABT 737, 고시폴, HA 14-1, TW 37 또는 데칸산;
- [0099] - 튜블린-결합제 예를 들어 콤프레스타틴, 콜키신 또는 노코다졸;
- [0100] - 키나제 억제제 (예를 들어 EGFR (상피 성장 인자 수용체) 억제제, MTKI (다중 표적 키나제 억제제), mTOR 억제제) 예를 들어 플라보페리돌, 이마티닙 메실레이트, 에를로티닙, 게피티닙, 다사티닙, 라파티닙, 라파티닙 디토실레이트, 소라페닙, 수니티닙, 수니티닙 말레에이트, 템시롤리무스;
- [0101] - 파르네실트랜스퍼라제 억제제 예를 들어 티피파르닙;
- [0102] - 히스톤 데아세틸라제 (HDAC) 억제제 예를 들어 부티르산나트륨, 수베로일아닐리드 히드록사미드 산 (SAHA), 템시캡티드 (FR 901228), NVP-LAQ824, R306465, JNJ-26481585, 트리코스타틴 A, 보리노스타트;
- [0103] - 유비퀴틴-프로테아솜 경로의 억제제 예를 들어 PS-341, MLN .41 또는 보르테조밐;
- [0104] - 온켈리스;

- [0105] - 텔로머라제 억제제 예를 들어 텔로메스타틴;
- [0106] - 매트릭스 메탈로프로테이나제 억제제 예를 들어 바티마스타트, 마리마스타트, 프리노스타트 또는 메타스타트.
- [0107] - 재조합 인터류킨 예를 들어 알데스류킨, 데니류킨 디프티톡스, 인터페론 알파 2a, 인터페론 알파 2b, 페그인 터페론 알파 2b
- [0108] - MAPK 억제제
- [0109] - 레티노이드 예를 들어 알리트레티노인, 백사로텐, 트레티노인
- [0110] - 삼산화비스
- [0111] - 아스파라기나제
- [0112] - 스테로이드 예를 들어 드로모스타놀론 프로피오네이트, 메게스트롤 아세테이트, 난드로론 (데카노에이트, 펜 프로피오네이트), 텍사메타손
- [0113] - 고나도트로핀 방출 호르몬 효능제 또는 길항제 예를 들어 아바렐릭스, 고세렐린 아세테이트, 히스트렐린 아세테이트, 류프롤리드 아세테이트
- [0114] - 탈리도미드, 레날리도미드
- [0115] - 메르캅토피린, 미토탄, 파미드로네이트, 페가테마제, 페가스파르가제, 라스부리카제
- [0116] - BH3 모방체 예를 들어 ABT-737
- [0117] - MEK 억제제 예를 들어 PD98059, AZD6244, CI-1040
- [0118] - 콜로니-자극 인자 유사체 예를 들어 필그라스티م, 페그필그라스티م, 사르그라마스티; 에리트로포이에틴 또는 그 의 유사체 (예를 들어 다르베포에틴 알파); 인터류킨 11; 오프렐베킨; 졸레드로네이트, 졸레드론산; 펜타닐; 비 스포스포네이트; 팔리페르민.
- [0119] - 스테로이드성 시토크롬 P450 17알파-히드록실라제-17,20-리아제 억제제 (CYP17), 예를 들어 아비라테론, 아비 라테론 아세테이트.
- [0120] 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 또한 방사선요법 및 화학요법을 위해 종양 세포를 감작화시키는데 있어서 의 치료 용도를 갖는다.
- [0121] 따라서, 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 "방사선증감제" 및/또는 "화학증감제"로서 사용될 수 있거나, 또 다른 "방사선증감제" 화합물 및/또는 "화학증감제" 화합물과 조합하여 주어질 수 있다.
- [0122] 본원에 사용된 용어 "방사선증감제" 또는 "방사선증감제" 화합물은 이온화 방사선에 대한 세포의 감수성을 증가 시키고/거나 이온화 방사선으로 치료가 가능한 질환의 치료를 촉진하는 치료 유효량을 동물에게 투여하는 경우의 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물, 또는 분자, 바람직하게는 저분자량 분자로서 정의된다.
- [0123] 본원에 사용된 용어 "화학증감제" 또는 "화학증감제" 화합물은 화학요법에 대한 세포의 감수성을 증가시키고/거 나 화학요법제로 치료가 가능한 질환의 치료를 촉진하는 치료 유효량을 동물에게 투여하는 경우의 본 발명의 조합 물 또는 제약 조성물, 또는 분자, 바람직하게는 저분자량 분자로서 정의된다.
- [0124] 방사선증감제의 작용 방식에 대한 여러 메카니즘은, 저산소증 하에 산소를 모방하거나 또는 대안적으로는 생체 환원제와 같이 작용하는 저산소 세포 방사선증감제 (예를 들어, 2-니트로이미다졸 화합물 및 벤조트리아진 디옥 시드 화합물)를 포함하는 것으로 문헌에 시사된 바 있고; 비-저산소 세포 방사선증감제 (예를 들어, 할로겐화 피리미딘)는 DNA 염기의 유사체일 수 있고, 우선적으로 암 세포의 DNA에 혼입되어, DNA 분자의 방사선-유도된 절단을 촉진하고/거나 정상 DNA 복구 메카니즘을 방지할 수 있으며; 다양한 다른 잠재적 작용 메카니즘이 질환 의 치료에서 방사선증감제에 대해 가정된 바 있다.
- [0125] 많은 암 치료 프로토콜은 현재 X선의 방사선과 함께 방사선증감제를 이용한다. X선 활성화된 방사선증감제의 예는 메트로니다졸, 미소니다졸, 테스메틸미소니다졸, 피모니다졸, 에타니다졸, 니모라졸, 미토마이신 C, RSU 1069, SR 4233, EO9, RB 6145, 니코틴아미드, 5-브로모데옥시우리딘 (BUdR), 5-아이오도데옥시우리딘 (IUdR), 브로모데옥시시티딘, 플루오로데옥시우리딘 (FudR), 히드록시우레아, 시스플라틴, 및 그의 치료상 유효한 유사 체 및 유도체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

- [0126] 암의 광역학 요법 (PDT)은 증감제의 방사선 활성화제로서 가시광을 이용한다. 광역학 방사선증감제의 예는 헤마토포르피린 유도체, 포토프린, 벤조포르피린 유도체, 주석 에티오포르피린, 페오보르비드-a, 박테리오클로로필-a, 나프탈로시아닌, 프탈로시아닌, 아연 프탈로시아닌, 및 그의 치료상 유효한 유사체 및 유도체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0127] 방사선증감제는, 표적 세포로의 방사선증감제의 혼입을 촉진하는 화합물; 표적 세포로의 치료제, 영양소 및/또는 산소의 흐름을 제어하는 화합물; 추가적 방사선과 함께 또는 이것 없이 종양에 작용하는 화학요법제; 암 또는 다른 질환을 치료하기 위한 다른 치료상 유효한 화합물을 포함하나, 이에 제한되지는 않는 치료 유효량의 1종 이상의 다른 화합물과 함께 투여될 수 있다.
- [0128] 화학증감제는, 표적 세포로의 화학증감제의 혼입을 촉진하는 화합물; 표적 세포로의 치료제, 영양소 및/또는 산소의 흐름을 제어하는 화합물; 종양에 작용하는 화학요법제, 또는 암 또는 다른 질환을 치료하기 위한 다른 치료상 유효한 화합물을 포함하나, 이에 제한되지는 않는 치료 유효량의 1종 이상의 다른 화합물과 함께 투여될 수 있다. 칼슘 길항제, 예를 들어 베라파밀은 허용된 화학요법제에 내성을 갖는 종양 세포에서 화학감수성을 확립하고 약물-감수성 악성종양에서 이러한 화합물의 효능을 강화하기 위한 항신생물제와의 조합에서 유용한 것으로 밝혀졌다.
- [0129] 본 발명은 또한 FGFR 매개 장애, 특히 암의 치료를 위한 의약의 제조를 위한 본 발명의 조합물의 용도에 관한 것이다.
- [0130] 본 발명은 또한 FGFR 매개 장애, 특히 암의 치료를 위한 의약의 제조를 위한 본 발명의 제약 조성물의 용도에 관한 것이다.
- [0131] 본 발명은 또한 조합물의 FGFR 억제제에 대한 종양 또는 암의 내성의 예방을 위한 또는 조합물의 FGFR 억제제에 대한 종양 또는 암의 내성의 지연을 위한 의약의 제조를 위한 본 발명의 조합물의 용도에 관한 것이다.
- [0132] 본 발명은 또한 제약 조성물의 FGFR 억제제에 대한 종양 또는 암의 내성의 예방을 위한 또는 제약 조성물의 FGFR 억제제에 대한 종양 또는 암의 내성의 지연을 위한 의약의 제조를 위한 본 발명의 제약 조성물의 용도에 관한 것이다.
- [0133] 본 발명은 또한 조합물의 FGFR 억제제에 대한 종양 또는 암의 내성의 출현의 예방을 위한 또는 조합물의 FGFR 억제제에 대한 종양 또는 암의 내성의 출현의 지연을 위한 의약의 제조를 위한 본 발명의 조합물의 용도에 관한 것이다.
- [0134] 본 발명은 또한 제약 조성물의 FGFR 억제제에 대한 종양 또는 암의 내성의 출현의 예방을 위한 또는 제약 조성물의 FGFR 억제제에 대한 종양 또는 암의 내성의 출현의 지연을 위한 의약의 제조를 위한 본 발명의 제약 조성물의 용도에 관한 것이다.
- [0135] 본 발명은 또한 Met 신호전달 경로 활성화가 FGFR 억제제에 대한 종양 또는 암의 내성의 메카니즘인 종양 또는 암의 예방 또는 치료를 위한, 특히 치료를 위한 의약의 제조를 위한 본 발명의 조합물의 용도에 관한 것이다.
- [0136] 본 발명은 또한 Met 신호전달 경로 활성화가 FGFR 억제제에 대한 종양 또는 암의 내성의 메카니즘인 종양 또는 암의 예방 또는 치료를 위한, 특히 치료를 위한 의약의 제조를 위한 본 발명의 제약 조성물의 용도에 관한 것이다.
- [0137] 본 발명은 또한 FGFR 억제제, 특히 본원에 기재된 바와 같은 FGFR 억제제에 대한 종양 또는 암의 내성의 예방, 그의 지연, 그의 출현의 예방 또는 그의 출현의 지연을 위한, cMet 억제제, 특히 본원에 기재된 바와 같은 cMet 억제제, 보다 특히 화합물 C 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 및 화합물 D 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물의 용도에 관한 것이다.
- [0138] 본 발명은 또한 FGFR 키나제에 의해 매개되고 높은 Met 발현을 갖는 종양 또는 암의 예방 또는 치료를 위한, 특히 치료를 위한 의약의 제조를 위한 본 발명의 조합물의 용도에 관한 것이다.
- [0139] 본 발명은 또한 FGFR 키나제에 의해 매개되고 높은 Met 발현을 갖는 종양 또는 암의 예방 또는 치료를 위한, 특히 치료를 위한 의약의 제조를 위한 본 발명의 제약 조성물의 용도에 관한 것이다.
- [0140] 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물의 화합물의 염 형태는 전형적으로 제약상 허용되는 염이고, 제약상 허용되는 염의 예는 문헌 [Berge et al. (1977) "Pharmaceutically Acceptable Salts," J. Pharm. Sci., Vol. 66, pp. 1-19]에 논의되어 있다. 그러나, 제약상 허용되지 않는 염은 또한 중간체 형태로서 제조될 수 있으며, 이

는 이어서 제약상 허용되는 염으로 전환될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 화합물의 정제 또는 분리에 유용할 수 있는 이러한 비-제약상 허용되는 염 형태는 또한 본 발명의 일부를 형성한다.

[0141] 본 발명의 염은 통상의 화학적 방법 예컨대 문헌 [Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, P. Heinrich Stahl (Editor), Camille G. Wermuth (Editor), ISBN: 3-90639-026-8, Hardcover, 388 pages, August 2002]에 기재된 방법에 의해 염기성 또는 산성 모이더를 함유하는 모 화합물로부터 합성될 수 있다. 일반적으로, 이러한 염은 이들 화합물의 유리 산 또는 염기 형태를 물 중에서 또는 유기 용매 중에서, 또는 이들 둘의 혼합물 중에서 적절한 염기 또는 산과 반응시킴으로써 제조될 수 있으며; 일반적으로, 비수성 매질 예컨대 에테르, 에틸 아세테이트, 에탄올, 이소프로판올, 또는 아세토니트릴이 사용된다. 본 발명의 화합물은 염 이 형성되는 산의 pKa에 따라 모노- 또는 디-염으로서 존재할 수 있다.

[0142] 산 부가염은 매우 다양한 산, 무기 및 유기 산 둘 다로 형성될 수 있다. 산 부가염의 예는 아세트산, 2,2-디클로로아세트산, 아디프산, 알긴산, 아스코르브산 (예를 들어 L-아스코르브산), L-아스파르트산, 벤젠술폰산, 벤조산, 4-아세트아미도벤조산, 부탄산, (+) 캄포르산, 캄포르-술폰산, (+)-(1S)-캄포르-10-술폰산, 카프르산, 카프로산, 카프릴산, 신남산, 시트르산, 시클람산, 도데실황산, 에탄-1,2-디술폰산, 에탄술폰산, 2-히드록시에탄술폰산, 포름산, 푸마르산, 갈락타르산, 젠티스산, 글루코헵톤산, D-글루콘산, 글루쿠론산 (예를 들어 D-글루쿠론산), 글루탐산 (예를 들어 L-글루탐산), α -옥소글루타르산, 글리콜산, 히프르산, 브로민화수소산, 염산, 아이오딘화수소산, 이세티온산, 락트산 (예를 들어 (+)-L-락트산, (±)-DL-락트산), 락토비온산, 말레산, 말산, (-)-L-말산, 말론산, (±)-DL-만델산, 메탄술폰산, 나프탈렌술폰산 (예를 들어 나프탈렌-2-술폰산), 나프탈렌-1,5-디술폰산, 1-히드록시-2-나프토산, 니코틴산, 질산, 올레산, 오로트산, 옥살산, 팔미트산, 파모산, 인산, 프로피온산, L-피로글루탐산, 피루브산, 살리실산, 4-아미노-살리실산, 세바스산, 스테아르산, 숙신산, 황산, 탄닌산, (+)-L-타르타르산, 티오시안산, 톨루엔술폰산 (예를 들어 p-톨루엔술폰산), 운데실렌산 및 발레르산, 뿐만 아니라 아실화 아미노산 및 양이온 교환 수지로 이루어진 군으로부터 선택된 산으로 형성된 염을 포함한다.

[0143] 염의 한 특정한 군은 아세트산, 염산, 아이오딘화수소산, 인산, 질산, 황산, 시트르산, 락트산, 숙신산, 말레산, 말산, 이세티온산, 푸마르산, 벤젠술폰산, 톨루엔술폰산, 메탄술폰산 (메실레이트), 에탄술폰산, 나프탈렌술폰산, 발레르산, 아세트산, 프로판산, 부탄산, 말론산, 글루쿠론산 및 락토비온산으로부터 형성된 염으로 이루어진다. 산 부가염의 또 다른 군은 아세트산, 아디프산, 아스코르브산, 아스파르트산, 시트르산, DL-락트산, 푸마르산, 글루콘산, 글루쿠론산, 히프르산, 염산, 글루탐산, DL-말산, 메탄술폰산, 세바스산, 스테아르산, 숙신산 및 타르타르산으로부터 형성된 염을 포함한다.

[0144] 화합물이 음이온성이거나, 또는 음이온성일 수 있는 관능기를 갖는 경우에, 염은 적합한 양이온으로 형성될 수 있다. 적합한 무기 양이온의 예는 알칼리 금속 이온 예컨대 Na^+ 및 K^+ , 알칼리 토금속 양이온 예컨대 Ca^{2+} 및 Mg^{2+} , 및 다른 양이온 예컨대 Al^{3+} 를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 적합한 유기 양이온의 예는 암모늄 이온 (즉, NH_4^+) 및 치환된 암모늄 이온 (예를 들어, NH_3R^+ , NH_2R_2^+ , NHR_3^+ , NR_4^+)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0145] 일부 적합한 치환된 암모늄 이온의 예는 에틸아민, 디에틸아민, 디시클로헥실아민, 트리에틸아민, 부틸아민, 에틸렌디아민, 에탄올아민, 디에탄올아민, 피페라진, 벤질아민, 페닐벤질아민, 콜린, 메글루민 및 트로메타민, 뿐만 아니라 아미노산, 예컨대 리신 및 아르기닌으로부터 유래된 것들이다. 통상의 4급 암모늄 이온의 예는 $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$ 이다.

[0146] 한 실시양태에서, 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물의 FGFR 억제제 또는 cMet 억제제의 제약상 허용되는 염은 산 부가염이다.

[0147] 한 실시양태에서, 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 본 발명의 섹션의 발명의 배경에서 상기 본원에 기재된 바와 같은 화합물 A, 화합물 B 또는 화합물 C의 염을 포함한다.

[0148] 한 실시양태에서, 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 FGFR 억제제를 유리 염기 형태로 포함한다.

[0149] 한 실시양태에서, 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 cMet 억제제를 유리 염기 형태로 포함한다.

[0150] 한 실시양태에서, 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 FGFR 억제제 및 cMet 억제제를 유리 염기 형태로 포함

한다.

[0151] 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물의 화합물은, 예를 들어 물과의 용매화물 (즉, 수화물) 또는 통상의 유기 용매와의 용매화물을 형성할 수 있다. 본원에 사용된 용어 "용매화물"은 본 발명의 화합물과 1개 이상의 용매 분자와의 물리적 회합을 의미한다. 이 물리적 회합은 수소 결합을 포함한 다양한 정도의 이온 및 공유 결합을 수반한다. 특정 경우에, 예를 들어 1개 이상의 용매 분자가 결정질 고체의 결정 격자에 혼입되는 경우에, 용매화물은 단리가능할 것이다. 용어 "용매화물"은 용액-상 및 단리가능한 용매화물을 둘 다 포괄하는 것으로 의도된다. 적합한 용매화물의 비제한적 예는 물, 이소프로판올, 에탄올, 메탄올, DMSO, 에틸 아세테이트, 아세트산 또는 에탄올아민 등과 조합된 본 발명의 화합물을 포함한다. 본 발명의 화합물은 이들이 용액 중에 있는 동안에 그의 생물학적 효과를 발휘할 수 있다. 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물의 화합물의 제약상 허용되는 염의 용매화물은 또한 용어 "용매화물"에 포괄된다.

[0152] 용매화물은 제약 화학분야에 널리 공지되어 있다. 이들은 물질의 제조 방법에 대해 중요한 것일 수 있으며 (예를 들어 물질의 정제, 물질의 저장 (예를 들어 그의 안정성) 및 물질의 취급 용이성과 관련하여), 종종 화학적 합성의 단리 또는 정제 스테이지의 일부로서 형성된다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 주어진 화합물을 제조하는데 사용된 단리 조건 또는 정제 조건에 의해 수화물 또는 다른 용매화물이 형성되었는지를 표준 및 장기간 사용된 기술의 수단에 의해 결정할 수 있다. 이러한 기술의 예는 열중량 분석 (TGA), 시차 주사 열량측정법 (DSC), X선 결정학 (예를 들어 단결정 X선 결정학 또는 X선 분말 회절) 및 고체 상태 NMR (SS-NMR, 또한 매직 각 스피닝 NMR 또는 MAS-NMR로서 공지됨)을 포함한다. 이러한 기술은 NMR, IR, HPLC 및 MS로서 숙련된 화학자의 표준 분석 툴킷의 부분 만큼이다. 대안적으로, 통상의 기술자는 특정한 용매화물에 필요한 양의 용매를 포함하는 결정화 조건을 사용하여 의도적으로 용매화물을 형성할 수 있다. 그 후, 상기 기재된 표준 방법은 용매화물이 형성된 바 있는지를 확인하는데 사용될 수 있다. 또한 화합물의 임의의 복합체 (예를 들어 포접 복합체 또는 시클로덱스트린과 같은 화합물과의 클라트레이트, 또는 금속과의 착물)가 본원에 기재된 바와 같은 화합물에 의해 포괄된다.

[0153] 게다가, 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물의 화합물은 1종 이상의 다형체 (결정질) 또는 무정형 형태를 가질 수 있으며, 이러한 것은 본 발명의 범주에 포함되는 것으로 의도된다.

[0154] 한 실시양태에서, 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 본 발명의 섹션의 발명의 배경에서 상기 본원에 기재된 바와 같은 화합물 C의 다형체 또는 용매화물을 포함한다.

[0155] 본원에 사용된, 키나제의 활성화에 적용되는 용어 "조정"은 단백질 키나제의 생물학적 활성의 수준에서의 변화를 정의하는 것으로 의도된다. 따라서, 조정은 관련 단백질 키나제 활성화에 있어서 증가 또는 감소를 일으키는 생리학적 변화를 포괄한다. 후자의 경우에, 조정은 "억제"로서 기재될 수 있다. 조정은 직접적으로 또는 간접적으로 발생할 수 있으며, 예를 들어 임의의 메카니즘에 의해 및 유전자 발현 수준 (예를 들어 전사, 번역 및/또는 번역후 변형 포함), 키나제 활성화의 수준에 대해 직접적으로 또는 간접적으로 작용하는 조절 요소를 코딩하는 유전자의 발현 수준을 포함한 임의의 생리적 수준에서 매개될 수 있다. 따라서, 조정은 유전자 증폭 (즉 다중 유전자 카피) 및/또는 전사 효과에 의해 증가 또는 감소된 발현을 포함한 키나제의 상승된/억제된 발현 또는 과다- 또는 과소-발현, 뿐만 아니라 돌연변이(들)에 의한 단백질 키나제(들)의 고- (또는 저-) 활성화 및 (탈)활성화 ((탈)활성화 포함)를 암시할 수 있다. 용어 "조정된", "조정하는" 및 "조정하다"는 이에 따라 해석되어야 한다.

[0156] 본원에 사용된, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 키나제와 함께 사용되는 (및 예를 들어 다양한 생리학적 과정, 질환, 상태, 병태, 요법, 치료 또는 개입에 적용되는) 용어 "매개되는"은, 상기 용어가 적용되는 다양한 과정, 질환, 상태, 병태, 치료 및 개입이 해당 키나제가 생물학적 역할을 하는 것들이도록, 제한적으로 작동하는 것으로 의도된다. 상기 용어가 질환, 상태 또는 병태에 적용되는 경우에, 키나제에 의해 수행되는 생물학적 역할은 직접적이거나 간접적일 수 있고, 질환, 상태 또는 병태의 증상 (또는 그의 병인 또는 진행)의 징후에 필수적이고/거나 충분한 것일 수 있다. 따라서, 키나제 활성화 (및 특히 키나제 활성화의 비정상적 수준, 예를 들어 키나제 과다-발현)은 반드시 질환, 상태 또는 병태의 근위 원인일 필요는 없고: 오히려, 키나제 매개 질환, 상태 또는 병태가 해당 키나제가 단지 부분적으로 수반되는 다인성 병인 및 복합적 진행을 갖는 것들을 포함하는 것으로 고려된다. 상기 용어가 치료, 예방 또는 개입에 적용되는 경우에, 키나제에 의해 수행되는 역할은 직접적이거나 간접적일 수 있고, 치료, 예방 작용 또는 개입의 결과에 필수적이고/거나 충분한 것일 수 있다. 따라서, 키나제에 의해 매개되는 질환 상태 또는 병태는 임의의 특정한 암 약물 또는 치료에 대한 내성의 발생을 포함한다.

- [0157] 따라서, 예를 들어, 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 암의 발생률의 완화 또는 감소에 유용할 수 있다.
- [0158] 조합물 및 제약 조성물의 FGFR 억제제는 FGFR1, FGFR2, FGFR3 및/또는 FGFR4에 대해, 특히 FGFR1, FGFR2, FGFR3 및 FGFR4에 대해 활성을 갖는다.
- [0159] FGFR을 조정 또는 억제함에 있어서의 이들의 활성의 결과로서, 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 특히 혈관 신생을 억제함으로써 신생물의 성장을 방지하거나 또는 그의 아픏토시스를 유도하는 수단을 제공하는데 유용할 것이다. 따라서, 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물이 증식성 장애 예컨대 암을 치료 또는 예방하는데 유용하다는 것이 증명될 것으로 예상된다. 또한, 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 증식, 아픏토시스 또는 분화의 장애가 있는 질환의 치료에서 유용할 수 있다.
- [0160] 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물에 의해 치료 (또는 억제)될 수 있는 암의 예는 암종, 예를 들어 방광 암종, 유방 암종, 결장 암종 (예를 들어 결장직장 암종 예컨대 결장 선암종 및 결장 선종), 신장 암종, 요로상피 암종, 자궁 암종, 표피 암종, 간 암종, 폐 암종 (예를 들어 선암종, 소세포 폐암 및 비소세포 폐 암종, 편평 폐암), 식도 암종, 두경부 암종, 담낭 암종, 난소 암종, 췌장 암종 (예를 들어 외분비 췌장 암종), 위 암종, 위장암 (또한 위암으로서 공지됨) (예를 들어 위장 기질 종양), 자궁경부 암종, 자궁내막 암종, 갑상선 암종, 전립선 암종 또는 피부 암종 (예를 들어 편평 세포 암종 또는 용기성 피부섬유육종); 뇌하수체암, 림프계의 조혈 종양, 예를 들어 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, B-세포 림프종 (예를 들어 미만성 거대 B-세포 림프종), T-세포 림프종, 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 모발상 세포 림프종 또는 버킷 림프종; 골수계의 조혈 종양, 예를 들어 백혈병, 급성 및 만성 골수성 백혈병, 만성 골수단핵구성 백혈병 (CMML), 골수증식성 장애, 골수증식성 증후군, 골수이형성 증후군 또는 전골수구성 백혈병; 다발성 골수종; 갑상선 여포암; 간세포성암, 중간엽 기원의 종양 (예를 들어 유잉 육종), 예를 들어 섬유육종 또는 횡문근육종; 중추 또는 말초 신경계의 종양, 예를 들어 성상세포종, 신경모세포종, 신경교종 (예컨대 다형성 교모세포종) 또는 슈만세포종; 흑색종; 정상피종; 기형암종; 골육종; 색소성 건피종; 각화극세포종; 갑상선 여포암; 또는 카포시 육종을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 특히, 편평 폐암, 유방암, 결장직장암, 교모세포종, 성상세포종, 전립선암, 소세포 폐암, 흑색종, 두경부암, 갑상선암, 자궁암, 위암, 간세포성암, 자궁경부암, 다발성 골수종, 방광암, 자궁내막암, 요로상피암, 결장암, 횡문근육종, 뇌하수체암을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0161] 치료 (또는 억제)될 수 있는 암의 예는 방광암, 요로상피암, 전이성 요로상피암, 외과적으로 절제불가능한 요로상피암, 유방암, 교모세포종, 폐암, 비소세포 폐암, 편평 세포 폐암, 폐의 선암종, 폐 선암종, 소세포 폐암, 난소암, 자궁내막암, 자궁경부암, 연부 조직 육종, 두경부 편평 세포 암종, 위암, 식도암, 식도의 편평 세포 암종, 식도의 선암종, 담관암종, 간세포성 암종을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0162] 특정 암은 특정한 약물로의 치료에 내성을 갖는다. 이는 종양의 유형으로 인한 것일 수 있거나, 또는 화합물을 사용한 치료로 인해 발생한 것일 수 있다. 이와 관련하여, 다발성 골수종에 대한 지칭은, 보르테오미드 감수성 다발성 골수종 또는 난치성 다발성 골수종을 포함한다. 유사하게, 만성 골수성 백혈병에 대한 지칭은 이미타닙 감수성 만성 골수성 백혈병 및 난치성 만성 골수성 백혈병을 포함한다. 만성 골수성 백혈병은 또한 만성 골수성 백혈병, 만성 과립구성 백혈병 또는 CML로서 공지되어 있다. 마찬가지로, 급성 골수성 백혈병은 또한 급성 골수모구성 백혈병, 급성 과립구성 백혈병, 급성 비림프구성 백혈병 또는 AML로 불린다.
- [0163] 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 또한, 전암성이든 또는 안정한 것이든 비정상적 세포 증식의 조절성 질환 예컨대 골수증식성 질환의 치료에 사용될 수 있다. 골수증식성 질환 ("MPD")은 과량의 세포가 생성되는 일군의 골수 질환이다. 이들은 골수이형성 증후군과 관련되며, 이러한 증후군으로 발달할 수 있다. 골수증식성 질환은 진성 적혈구증가증, 본태성 혈소판증가증 및 원발성 골수섬유증을 포함한다. 추가의 혈액 장애는 과다호산구 증후군이다. T-세포 림프구증식성 질환은 자연 킬러 세포로부터 유래된 것을 포함한다.
- [0164] 또한 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 위장암 (또한 위암으로서 공지됨) 예를 들어 위장 간질 종양을 치료하는데 사용될 수 있다. 위장암은 식도, 위, 간, 담도계, 췌장, 장 및 항문을 포함한 위장관의 악성 병태를 지칭한다.
- [0165] 따라서, 비정상적 세포 성장을 포함하는 질환 또는 병태의 치료를 위한 본 발명의 조합물, 제약 조성물, 용도 또는 방법에서, 한 실시양태에서 비정상적 세포 성장을 포함하는 질환 또는 병태는 암이다.
- [0166] 암의 특정한 하위세트는 다발성 골수종, 방광 암종, 자궁경부 암종, 전립선 암종 및 갑상선 암종, 폐암, 유방암 및 결장암을 포함한다.

- [0167] 암의 추가의 하위세트는 다발성 골수종, 방광 암종, 간세포성 암종, 경구 편평 세포 암종 및 자궁경부 암종을 포함한다.
- [0168] 암의 추가의 하위세트는 방광 악성종양, 폐 악성종양, 유방 악성종양, 위 악성종양, 간세포성 악성종양, 결장 악성종양, 혈액 악성종양, 난소 악성종양, 교모세포종을 포함한다.
- [0169] 암의 추가의 하위세트는 방광암, 폐암, 유방암, 위암 및 간세포성암을 포함한다.
- [0170] FGFR 예컨대 FGFR1 억제 활성을 갖는 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 유방암 특히 전형적 소엽성 암종 (CLC)의 치료 또는 예방에 특히 유용할 수 있다.
- [0171] 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물이 FGFR4 활성을 갖는 경우에, 이들은 또한 전립선암 또는 뇌하수체암의 치료에 유용할 것이거나, 또는 이들은 유방암, 폐암, 전립선암, 간암 (HCC) 또는 폐암의 치료에 유용할 것이다.
- [0172] 특히 FGFR 억제제를 포함하는 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 다발성 골수종, 골수증식성 장애, 자궁내막 암, 전립선암, 방광암, 폐암, 난소암, 유방암, 위암, 결장직장암 및 경구 편평 세포 암종의 치료에 유용하다.
- [0173] 암의 추가의 하위세트는 다발성 골수종, 자궁내막암, 방광암, 자궁경부암, 전립선암, 폐암, 유방암, 결장직장암 및 갑상선 암종이다.
- [0174] 특히 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 다발성 골수종 (특히 t(4;14) 전위 또는 FGFR3 과다발현을 갖는 다발성 골수종), 전립선암 (호르몬 불응성 전립선 암종), 자궁내막암 (특히 FGFR2에서 활성화 돌연변이를 갖는 자궁내막 종양) 및 유방암 (특히 소엽성 유방암)의 치료에 유용하다.
- [0175] 특히 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 소엽성 암종 예컨대 CLC (전형적 소엽성 암종)의 치료에 유용하다.
- [0176] 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물이 FGFR3에 대한 활성을 갖기 때문에, 이들은 다발성 골수종 및 방광암의 치료에 유용할 것이다.
- [0177] 특히, 화합물은 FGFR3-TACC3 전위를 갖는 종양, 특히 FGFR3-TACC3 전위를 갖는 방광 종양 또는 뇌 종양에 대해 활성을 갖는다.
- [0178] 특히 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 t(4;14) 전위 양성 다발성 골수종의 치료에 유용하다.
- [0179] 한 실시양태에서, 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 육종의 치료에 유용할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 폐암, 예를 들어 편평 세포 암종의 치료에 유용할 수 있다.
- [0180] 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물이 FGFR2에 대한 활성을 갖기 때문에, 이들은 자궁내막암, 난소암, 위암, 간 세포성암, 자궁암, 자궁경부암 및 결장직장암의 치료의 치료에 유용할 것이다. FGFR2는 또한 상피성 난소암에서 과다발현되며, 따라서 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 난소암 예컨대 상피성 난소암의 치료에 특히 유용할 수 있다.
- [0181] 한 실시양태에서, 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 폐암, 특히 NSCLC, (비소세포 폐암), 편평 세포 암종, 간암, 신장암, 유방암, 결장암, 결장직장암, 전립선암의 치료에 유용할 수 있다.
- [0182] 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 또한 VEGFR2 억제제 또는 VEGFR2 항체 (예를 들어 아바스틴(Avastin))를 사용하여 사전 치료된 종양의 치료에 유용할 수 있다.
- [0183] 특히 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 VEGFR2-내성 종양의 치료에 유용할 수 있다. VEGFR2 억제제 및 항체는 갑상선 암종 및 신세포 암종의 치료에 사용되며, 따라서 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 VEGFR2-내성 갑상선 암종 및 신세포 암종의 치료에 유용할 수 있다.
- [0184] 암은 FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4로부터 선택된 임의의 1종 이상의 FGFR, 예를 들어 FGFR1, FGFR2 또는 FGFR3 으로부터 선택된 1종 이상의 FGFR의 억제에 대해 감수성인 암일 수 있다.
- [0185] 특정한 암이 FGFR 신호전달의 억제에 대해 감수성인지의 여부는 하기 개시된 바와 같은 세포 성장 검정의 수단에 의해 또는 "진단 방법" 표제의 섹션에 개시된 바와 같은 방법에 의해 결정될 수 있다.
- [0186] 본 발명의 화합물, 특히 FGFR 억제 활성을 갖는 화합물은 상승된 수준의 FGFR의 존재와 연관되거나 또는 이를 특징으로 하는 유형의 암, 예를 들어 본 출원의 도입 섹션에서 이러한 문맥에서 지칭된 암의 치료 또는 예방에 특히 유용할 수 있다.

- [0187] 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 성인 집단의 치료에 유용할 수 있다. 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 소아 집단의 치료에 유용할 수 있다.
- [0188] 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 증식에서의 장애로부터 발생하는 다른 병태 예컨대 제II형 또는 비-인슐린 의존성 당뇨병, 자가면역 질환, 두부 외상, 졸중, 간질, 신경변성 질환 예컨대 알츠하이머병, 운동 뉴런 질환, 진행성 핵상 마비, 피질기저 변성 및 픽병, 예를 들어 자가면역 질환 및 신경변성 질환의 치료에 유용할 수 있다.
- [0189] 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물이 유용할 수 있는 질환 상태 및 병태의 한 하위군은 염증성 질환, 심혈관 질환 및 상처 치유로 이루어진다.
- [0190] FGFR은 또한 아픔토시스, 혈관신생, 증식, 분화 및 전사에서 역할을 하는 것으로 공지되어 있으며, 따라서 본 발명의 화합물, 조합물, 제약 조성물은 또한 암 이외의 하기 질환; 만성 염증성 질환, 예를 들어 전신 홍반성 루푸스, 자가면역 매개 사구체신염, 류마티스 관절염, 건선, 염증성 장 질환, 자가면역 당뇨병, 습진 과민 반응, 천식, COPD, 비염, 및 상기도 질환; 심혈관 질환, 예를 들어 심장 비대증, 재협착, 아테롬성동맥경화증; 신경변성 장애, 예를 들어 알츠하이머병, AIDS-관련 치매, 파킨슨병, 근위축성 측삭 경화증, 색소성 망막염, 척수성 근육 위축 및 소뇌 변성; 사구체신염; 골수이형성 증후군, 허혈성 손상 연관된 심근경색, 졸중 및 재관류 손상, 부정맥, 아테롬성동맥경화증, 독성-유발 또는 알콜 관련 간 질환, 혈액 질환, 예를 들어 만성 빈혈 및 재생불량성 빈혈; 근골격계의 퇴행성 질환, 예를 들어 골다공증 및 관절염, 아스피린-감수성 비부비동염, 낭성 섬유증, 다발성 경화증, 신장 질환 및 암 통증의 치료에 유용할 수 있다.
- [0191] 또한, FGFR2의 돌연변이는 인간 골격 발달에서의 여러 중증 이상과 관련되어 있으며, 따라서 본 발명의 화합물은 두개 봉합의 비정상적 골화 (두개골유합증), 에이퍼트 (AP) 증후군, 크루존 증후군, 잭슨-바이스 증후군, 베어-스티븐슨 뇌회상 피부 증후군 및 파이프 증후군을 포함한 인간 골격 발달에서의 이상의 치료에 유용할 수 있다.
- [0192] FGFR 예컨대 FGFR2 또는 FGFR3 억제 활성을 갖는 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 골격 질환의 치료 또는 예방에 특히 유용할 수 있다. 특정한 골격 질환은 연골무형성증 또는 치사성 왜소증 (또한 치사성 이형성증으로서 공지됨)이다.
- [0193] FGFR 예컨대 FGFR1, FGFR2 또는 FGFR3 억제 활성을 갖는 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 진행성 섬유증이 증상인 병리상태의 치료 또는 예방에 특히 유용할 수 있다. 본 발명의 화합물이 치료에 유용할 수 있는 섬유화 병태는, 섬유성 조직의 비정상적 또는 과다 침착을 나타내는 질환 예를 들어 간 경변증, 사구체신염, 폐 섬유증, 전신 섬유증, 류마티스 관절염, 뿐만 아니라 상처 치유의 자연적 과정을 포함한다. 특히 본 발명의 화합물, 조합물, 제약 조성물은 또한 폐 섬유증, 특히 특발성 폐 섬유증의 치료에 유용할 수 있다.
- [0194] 종양-연관 혈관계에서 FGFR의 과다-발현 및 활성화는 또한 종양 혈관신생의 개시를 방지 및 교란시키는데 있어서 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물의 역할을 시사한 바 있다. 특히 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 암, 전이, 백혈병 예컨대 CLL, 안구 질환 예컨대 연령-관련 황반 변성, 특히 습식형 연령-관련 황반 변성, 허혈성 증식성 망막병증 예컨대 미숙아 망막병증 (ROP) 및 당뇨병성 망막병증, 류마티스 관절염 및 혈관종의 치료에 유용할 수 있다.
- [0195] 한 실시양태에서, 의약으로서 사용하기 위한, 요법에 사용하기 위한 본원에 정의된 바와 같은 조합물 또는 제약 조성물이 제공된다. 추가 실시양태에서, FGFR 키나제에 의해 매개되는 질환 상태 또는 병태의 예방 또는 치료, 특히 치료에 사용하기 위한 본원에 정의된 바와 같은 조합물 또는 제약 조성물이 제공된다.
- [0196] 따라서, 예를 들어, 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 암을 완화시키거나 또는 그의 발생률을 감소시키는데 유용할 것이다. 따라서, 추가의 실시양태에서, 암의 예방 또는 치료, 특히 치료에 사용하기 위한 본원에 정의된 바와 같은 조합물 또는 제약 조성물이 제공된다. 한 실시양태에서, 본원에 정의된 바와 같은 조합물 또는 제약 조성물은 FGFR-의존성 암의 예방 또는 치료에 사용된다. 한 실시양태에서, 본원에 정의된 바와 같은 조합물 또는 제약 조성물은 FGFR 키나제에 의해 매개되는 암의 예방 또는 치료에 사용된다.
- [0197] 따라서, 본 발명은 특히 하기를 제공한다:
- [0198] - FGFR 키나제에 의해 매개되는 질환 상태 또는 병태의 예방 또는 치료를 필요로 하는 대상체에게 본원에 정의된 바와 같은 조합물 또는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 질환 상태 또는 병태의 예방 또는 치료 방법.

- [0199] - 본원에 기재된 바와 같은 질환 상태 또는 병태의 예방 또는 치료를 필요로 하는 대상체에게 본원에 정의된 바와 같은 조합물 또는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 질환 상태 또는 병태의 예방 또는 치료 방법.
- [0200] - 암의 예방 또는 치료를 필요로 하는 대상체에게 본원에 정의된 바와 같은 조합물 또는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 암의 예방 또는 치료 방법.
- [0201] - FGFR 키나제에 의해 매개되는 질환 상태 또는 병태의 완화 또는 그의 발생률의 감소를 필요로 하는 대상체에게 본원에 정의된 바와 같은 조합물 또는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 질환 상태 또는 병태의 완화 또는 그의 발생률의 감소 방법.
- [0202] - FGFR 키나제를 본원에 정의된 바와 같은 키나제-억제 조합물 또는 제약 조성물과 접촉시키는 것을 포함하는, FGFR 키나제를 억제하는 방법.
- [0203] - 본원에 정의된 바와 같은 조합물 또는 제약 조성물을 사용하여 FGFR 키나제의 활성을 억제함으로써 세포 과정 (예를 들어 세포 분열)을 조정하는 방법.
- [0204] - FGFR 키나제의 활성을 억제함으로써 세포 과정 (예를 들어 세포 분열)의 조정제로서 사용하기 위한 본원에 정의된 바와 같은 조합물 또는 제약 조성물.
- [0205] - 암의 예방 또는 치료, 특히 암의 치료에 사용하기 위한 본원에 정의된 바와 같은 조합물 또는 제약 조성물.
- [0206] - FGFR의 조정제 (예를 들어 억제제)로서 사용하기 위한 본원에 정의된 바와 같은 조합물 또는 제약 조성물.
- [0207] - FGFR 키나제에 의해 매개되는 질환 상태 또는 병태의 예방 또는 치료를 위한 의약의 제조를 위한 본원에 정의된 바와 같은 조합물 또는 제약 조성물의 용도.
- [0208] - 본원에 기재된 바와 같은 질환 상태 또는 병태의 예방 또는 치료를 위한 의약의 제조를 위한 본원에 정의된 바와 같은 조합물 또는 제약 조성물의 용도.
- [0209] - 암의 예방 또는 치료, 특히 치료를 위한 의약의 제조를 위한 본원에 정의된 바와 같은 조합물 또는 제약 조성물의 용도.
- [0210] - FGFR의 활성을 조정 (예를 들어 억제)하기 위한 의약의 제조를 위한 본원에 정의된 바와 같은 조합물 또는 제약 조성물의 용도.
- [0211] - FGFR 키나제의 활성을 억제함으로써 세포 과정 (예를 들어 세포 분열)을 조정하기 위한 의약의 제조에서의 본원에 정의된 바와 같은 조합물 또는 제약 조성물의 용도.
- [0212] - FGFR 키나제 (예를 들어 FGFR1 또는 FGFR2 또는 FGFR3 또는 FGFR4)의 상향-조절을 특징으로 하는 질환 또는 병태의 예방 또는 치료를 위한 의약의 제조를 위한 본원에 정의된 바와 같은 조합물 또는 제약 조성물의 용도.
- [0213] - FGFR 키나제 (예를 들어 FGFR1 또는 FGFR2 또는 FGFR3 또는 FGFR4)의 상향-조절을 특징으로 하는 암의 예방 또는 치료를 위한 의약의 제조를 위한 본원에 정의된 바와 같은 조합물 또는 제약 조성물의 용도.
- [0214] - FGFR3 키나제의 유전자 이상을 보유한 하위집단으로부터 선택된 환자에서 암의 예방 또는 치료를 위한 의약의 제조를 위한 본원에 정의된 바와 같은 조합물 또는 제약 조성물의 용도.
- [0215] - FGFR3 키나제의 유전자 이상, 특히 FGFR3-TACC3 전위, 보다 특히 FGFR3-TACC3 전위를 갖는 방광암을 보유한 하위집단의 일부를 형성하는 것으로 진단된 바 있는 환자에서 암의 예방 또는 치료를 위한 의약의 제조를 위한 본원에 정의된 바와 같은 조합물 또는 제약 조성물의 용도.
- [0216] - 본원에 정의된 바와 같은 조합물 또는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, FGFR 키나제 (예를 들어 FGFR1 또는 FGFR2 또는 FGFR3 또는 FGFR4)의 상향-조절을 특징으로 하는 질환 또는 병태의 예방 또는 치료 방법.
- [0217] - 본원에 정의된 바와 같은 조합물 또는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, FGFR 키나제 (예를 들어 FGFR1 또는 FGFR2 또는 FGFR3 또는 FGFR4)의 상향-조절을 특징으로 하는 질환 또는 병태의 완화 또는 그의 발생률의 감소 방법.
- [0218] - (i) 환자가 FGFR3 유전자의 유전자 이상, 특히 FGFR3-TACC3 전위, 보다 특히 FGFR3-TACC3 전위를 갖는 방광암을 보유하는지의 여부를 결정하는 진단 시험에 환자를 적용하는 단계; 및 (ii) 상기 환자가 상기 변이체를 보유하는 경우에, 그 후 상기 환자에게 FGFR3 키나제 억제 활성을 갖는 본원에 정의된 바와 같은 조합물 또는 제

약 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 암을 앓거나 또는 암을 앓는 것으로 의심되는 환자에서 암의 예방 또는 치료 (또는 암의 완화 또는 그의 발생률의 감소) 방법.

- [0219] - (i) 환자를 FGFR 키나제 (예를 들어 FGFR1 또는 FGFR2 또는 FGFR3 또는 FGFR4)의 상향-조절의 특징적인 마커를 검출하는 진단 시험에 적용하는 단계 및 (ii) 상기 진단 시험이 FGFR 키나제의 상향-조절을 나타내는 경우에, 그 후 상기 환자에게 FGFR 키나제 억제 활성을 갖는 본원에 정의된 바와 같은 조합물 또는 제약 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, FGFR 키나제 (예를 들어 FGFR1 또는 FGFR2 또는 FGFR3 또는 FGFR4)의 상향-조절을 특징으로 하는 질환 상태 또는 병태의 예방 또는 치료 (또는 상기 질환 상태 또는 병태의 완화 또는 그의 발생률의 감소) 방법.
- [0220] 한 실시양태에서, FGFR 키나제에 의해 매개되는 질환은 종양학 관련 질환 (예를 들어 암)이다. 한 실시양태에서, FGFR 키나제에 의해 매개되는 질환은 비-종양학 관련 질환 (예를 들어 암을 제외한 본원에 기재된 임의의 질환)이다. 한 실시양태에서, FGFR 키나제에 의해 매개되는 질환은 본원에 기재된 병태이다. 한 실시양태에서, FGFR 키나제에 의해 매개되는 질환은 본원에 기재된 골격 병태이다. 인간 골격 발달의 특정한 이상은 두개 봉합의 비정상적 골화 (두개골융합증), 에이퍼트 (AP) 증후군, 크루존 증후군, 잭슨-바이스 증후군, 베어-스티븐슨 뇌회상 피부 증후군, 파이프 증후군, 연골무형성증 및 치사성 왜소증 (또한 치사성 이형성증으로서 공지됨)을 포함한다.
- [0221] 돌연변이된 키나제
- [0222] 약물 내성 키나제 돌연변이는 키나제 억제제로 치료된 환자 집단에서 발생할 수 있다. 이들은, 부분적으로, 요법에 사용되는 특정한 억제제에 결합하거나 이와 상호작용하는 단백질의 영역에서 발생한다. 이러한 돌연변이는 해당 키나제에 결합하고 이를 억제하는 억제제의 능력을 감소 또는 증가시킨다. 이는 억제제와 상호작용하거나 또는 표적에 대한 상기 억제제의 결합을 지지하는데 중요한 임의의 아미노산 잔기에서 일어날 수 있다. 돌연변이된 아미노산 잔기와 상호작용을 요구하지 않으면서 표적 키나제에 결합하는 억제제는 돌연변이에 의해 영향을 받지 않을 것이며, 효소의 효과적 억제제로 남아 있을 것이다.
- [0223] 위암 환자 샘플에서의 연구는 FGFR2에서의 2종의 돌연변이, 엑손 IIIa에서의 Ser167Pro 및 엑손 IIIc에서의 스플라이스 부위 돌연변이 940-2A-G의 존재를 제시하였다. 이들 돌연변이는 두개골융합증 증후군을 유발하는 배선 활성화 돌연변이와 동일한 것이고, 연구된 원발성 위암 조직의 13%에서 관찰되었다. 또한 FGFR3에서의 활성화 돌연변이가 시험된 환자 샘플의 5%에서 관찰되었고, FGFR의 과다발현은 이 환자 군에서의 불량한 예후와 상관관계가 있다.
- [0224] 또한 기능-획득, 과다-발현, 또는 구성적으로 활성화인 생물학적 상태를 야기하는, FGFR에서 관찰된 바 있는 염색체 전위 또는 점 돌연변이가 존재한다.
- [0225] 본 발명의 화합물, 조합물 또는 제약 조성물은 따라서 돌연변이된 분자 표적 예컨대 FGFR을 발현하는 암에 대한 특정한 적용을 발견할 것이다. 이러한 돌연변이를 갖는 종양의 진단은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되고 본원에 기재된 바와 같은 기술 예컨대 RTPCR 및 FISH를 사용하여 수행될 수 있다.
- [0226] FGFR의 ATP 결합 부위에서 보존된 트레오닌 잔기의 돌연변이가 억제제 내성을 야기할 것으로 시사된 바 있다. 아미노산 발린 561은 FGFR1에서 메티오닌으로 돌연변이된 바 있으며, 이는 선택적 억제제에 대한 내성을 부여하는 것으로 제시된 바 있는 Ab1 (T315) 및 EGFR (T766)에서 발견된 이전에 보고된 돌연변이에 상응하는 것이다. FGFR1 V561M에 대한 검정 데이터는 이 돌연변이가 야생형과 비교 시 티로신 키나제 억제제에 대한 내성을 부여하는 것으로 나타났다.
- [0227] 진단 방법
- [0228] 본원에 기재된 바와 같은 조합물 또는 제약 조성물의 투여 전에, 환자를 스크리닝하여, 환자가 앓고 있거나 앓을 수 있는 질환 또는 병태가 FGFR에 대한 활성을 갖는 화합물의 치료에 대해 감수성인지를 결정할 수 있다.
- [0229] 예를 들어, 환자로부터 취한 생물학적 샘플을 분석하여, 환자가 앓고 있거나 앓을 수 있는 병태 또는 질환, 예컨대 암이 FGFR의 수준 또는 활성의 상향-조절 또는 정상 FGFR 활성화에 대한 경로의 감각, 또는 이들 성장 인자 신호전달 경로의 상향조절 예컨대 성장 인자 리간드 수준 또는 성장 인자 리간드 활성화의 상향조절 또는 FGFR 활성화의 생화학적 경로 하류의 상향조절을 초래하는 유전자 이상 또는 비정상적 단백질 발현을 특징으로 하는 것 인지를 결정할 수 있다.
- [0230] FGFR 신호의 활성화 또는 감각을 생성하는 이러한 이상의 예는 아포토시스성 경로의 손실 또는 억제, 상기 수용

체 또는 리간드의 상향-조절, 또는 상기 수용체 또는 리간드의 돌연변이체 변이체, 예를 들어 PTK 변이체의 존재를 포함한다. FGFR1, FGFR2 또는 FGFR3 또는 FGFR4의 돌연변이체 또는 FGFR1의 상향-조절, 특히 과다-발현, 또는 FGFR2 또는 FGFR3의 기능-획득 돌연변이체를 갖는 종양은 FGFR 억제제에 특히 감수성일 수 있다.

- [0231] 예를 들어, FGFR2에서 기능-획득을 야기하는 점 돌연변이는 다수의 병태에서 확인된 바 있다. 특히 FGFR2의 활성화 돌연변이는 자궁내막 종양의 10%에서 확인된 바 있다.
- [0232] 또한, 이소성으로 발현되거나 탈조절된, 구성적으로 활성화된 FGFR3 수용체를 생성하는 FGFR3 수용체 티로신 키나제의 유전자 이상 예컨대 염색체 전위 또는 점 돌연변이가 확인된 바 있으며, 이는 다발성 골수종, 방광 암종 및 자궁경부 암종의 하위세트와 관련된다. PDGF 수용체의 특정한 돌연변이인 T674I는 이마티닙-치료된 환자에서 확인된 바 있다. 또한, 8p12-p11.2의 유전자 증폭은 소엽성 유방암 (CLC) 사례의 ~50%에서 입증되었으며, 이는 FGFR1의 증가된 발현과 관련된 것으로 제시되었다. FGFR1에 대한 siRNA, 또는 수용체의 소분자 억제제를 사용한 예비 연구는 이러한 증폭을 보유한 세포주가 이 신호전달 경로의 억제에 특히 감수성이라는 것을 제시하였다.
- [0233] 대안적으로, 환자로부터 취한 생물학적 샘플은 FGFR에 대한 음성 조절제 또는 억제제의 손실에 대해 분석될 수 있다. 본 발명의 맥락에서, 용어 "손실"은 상기 조절제 또는 억제제를 코딩하는 유전자의 결실, 유전자의 말단 절단 (예를 들어 돌연변이에 의함), 유전자의 전사 산물의 말단절단, 또는 전사 산물의 불활성화 (예를 들어 점 돌연변이에 의함) 또는 또 다른 유전자 산물에 의한 분리를 포괄한다.
- [0234] 용어 상향-조절은 상승된 발현 또는 과다-발현, 예컨대 유전자 증폭 (즉, 다수의 유전자 카피), 및 전사 효과에 의한 증가된 발현, 및 과다활성 및 활성화, 예컨대 돌연변이에 의한 활성화를 포함한다. 따라서, 환자는 FGFR의 상향-조절의 특징적인 마커를 검출하는 진단 시험에 적용될 수 있다. 용어 진단은 스크리닝을 포함한다. 마커는, 예를 들어 FGFR의 돌연변이를 확인하는 DNA 조성의 측정을 포함한 유전자 마커를 포함한다. 용어 마커는 또한 효소 활성, 효소 수준, 효소 상태 (예를 들어 인산화되거나 되지 않음) 및 상기 언급된 단백질의 mRNA 수준을 포함한, FGFR의 상향 조절을 특징으로 하는 마커를 포함한다.
- [0235] 진단 시험 및 스크린은 전형적으로 종양 생검 샘플, 혈액 샘플 (절제된 종양 세포의 단리물 및 농축물), 대변 생검, 객담, 염색체 분석, 흉막액, 복막액, 협측 도말, 생검 또는 소변으로부터 선택된 생물학적 샘플에 대해 수행한다.
- [0236] 단백질의 돌연변이 및 상향-조절에 대한 확인 및 분석 방법은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다. 스크리닝 방법은 표준 방법 예컨대 역전사효소 폴리머라제 연쇄 반응 (RT-PCR) 또는 계내 혼성화 예컨대 형광 계내 혼성화 (FISH)를 포함할 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.
- [0237] FGFR 내에 돌연변이를 보유한 개체의 확인은 환자가 FGFR 억제제를 사용한 치료에 특히 적합할 것임을 의미할 수 있다. 종양은 우선적으로 치료 전에 FGFR 변이체의 존재에 대해 스크리닝될 수 있다. 스크리닝 과정은 전형적으로 직접 서열분석, 올리고뉴클레오타이드 마이크로어레이 분석 또는 돌연변이체 특이적 항체를 수반할 것이다. 또한, 이러한 돌연변이를 갖는 종양의 진단은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되고 본원에 기재된 바와 같은 기술 예컨대 RT-PCR 및 FISH를 사용하여 수행될 수 있다.
- [0238] 또한, 돌연변이체 형태, 예를 들어 FGFR의 돌연변이체 형태는, PCR 및 상기 본원에 기재된 바와 같이 PCR 산물을 직접 서열분석하는 방법을 사용하여, 예를 들어 종양 생검의 직접 서열분석에 의해 확인될 수 있다. 통상의 기술자는, 상기 언급된 단백질의 과다 발현, 활성화 또는 돌연변이를 검출하는 모든 이러한 널리 공지된 기술이 본 발명의 경우에 적용될 수 있음을 인지할 것이다.
- [0239] RT-PCR에 의한 스크리닝에서, 종양 내 mRNA의 수준은 mRNA의 cDNA 카피를 생성한 후 PCR로 cDNA를 증폭시켜 평가된다. PCR 증폭 방법, 프라이머의 선택 및 증폭 조건은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다. 핵산 조작 및 PCR은, 예를 들어 문헌 [Ausubel, F.M. et al., eds. (2004) Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons Inc. 또는 Innis, M.A. et al., eds. (1990) PCR Protocols: a guide to methods and applications, Academic Press, San Diego]에 기재된 바와 같은 표준 방법에 의해 수행된다. 핵산 기술을 수반하는 반응 및 조작은 또한 문헌 [Sambrook et al., (2001), 3rd Ed, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press]에 기재되어 있다. 대안적으로, 상업적으로 입수가능한 RT-PCR 용 키트 (예를 들어 로슈 몰레큘라 바이오케미칼스(Roche Molecular Biochemicals))를 사용할 수 있거나, 또는 미국 특허 4,666,828; 4,683,202; 4,801,531; 5,192,659, 5,272,057, 5,882,864 및 6,218,529 (이들은 본원에 참조로 포함됨)에 제시된 바와 같은 방법론을 사용할 수 있다. mRNA 발현을 평가하기 위한 계내 혼성화 기술의

예는 형광 계내 혼성화 (FISH)이다 (문헌 [Angerer (1987) Meth. Enzymol., 152: 649] 참조).

- [0240] 일반적으로, 계내 혼성화는 하기 주요 단계를 포함한다: (1) 분석하려는 조직의 고정; (2) 표적 핵산의 접근성을 증가시키고 비특이적 결합을 감소시키기 위한 샘플의 예비혼성화 처리; (3) 생물학적 구조 또는 조직 내 핵산 대 핵산의 혼합물의 혼성화; (4) 혼성화에서 결합되지 않은 핵산 단편을 제거하기 위한 혼성화후 세척; 및 (5) 혼성화된 핵산 단편의 검출. 이러한 적용에 사용되는 프로브는 전형적으로, 예를 들어 방사성동위원소 또는 형광 리포터로 표시된다. 바람직한 프로브는 충분히 긴, 예를 들어, 약 50, 100 또는 200개 뉴클레오타이드 내지 약 1000개 이상의 뉴클레오타이드이어서, 엄격한 조건 하에 표적 핵산(들)과의 특이적 혼성화를 가능하게 한다. FISH를 수행하기 위한 표준 방법은 문헌 [Ausubel, F.M. et al., eds. (2004) Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons Inc and Fluorescence In Situ Hybridization: Technical Overview by John M. S. Bartlett in Molecular Diagnosis of Cancer, Methods and Protocols, 2nd ed.; ISBN: 1-59259-760-2; March 2004, pps. 077-088; Series: Methods in Molecular Medicine]에 기재되어 있다.
- [0241] 유전자 발현 프로파일링을 위한 방법은 문헌 [DePrimo et al. (2003), BMC Cancer, 3:3]에 기재되어 있다. 간략하게, 프로토콜은 하기와 같다: (dT)24 올리고머를 사용하여 제1-가닥 cDNA 합성을 프라이밍하고, 이어서 무작위 육량체 프라이머를 사용하여 제2 가닥 cDNA를 합성하여, 전체 RNA로부터 이중-가닥 cDNA가 합성된다. 이중-가닥 cDNA는 비오틀화 리보뉴클레오타이드를 사용하는 시험관내 cRNA 전사를 위한 주형으로서 사용된다. cRNA는 아피메트릭스(Affymetrix) (미국 캘리포니아주 산타 클라라)에 의해 기재된 프로토콜에 따라 화학적으로 단편화된다음, 인간 게놈 어레이 상에서 밤새 혼성화된다.
- [0242] 대안적으로, mRNA로부터 발현된 단백질 산물은 종양 샘플의 면역조직화학, 마이크로타이터 플레이트를 사용한 고체 상 면역검정, 웨스턴 블롯팅, 2-차원 SDS-폴리아크릴아미드 겔 전기영동, ELISA, 유동 세포측정법 및 특이적 단백질 검출에 대해 관련 기술분야에 공지된 다른 방법에 의해 검정될 수 있다. 검출 방법은 부위 특이적 항체를 사용하는 것을 포함할 것이다. 통상의 기술자는 FGFR의 상향조절의 검출, 또는 FGFR 변이체 또는 돌연변이체의 검출을 위한 모든 이러한 널리 공지된 기술이 본 발명의 경우에 적용될 수 있음을 인지할 것이다.
- [0243] FGFR과 같은 단백질의 비정상적 수준은 표준 효소 검정, 예를 들어, 본원에 기재된 검정을 사용하여 측정될 수 있다. 활성화 또는 과다발현이 또한 조직 샘플, 예를 들어, 종양 조직에서 검출될 수 있다. 케미콘 인터내셔널(Chemicon International)로부터의 검정과 같은 것을 사용하여 티로신 키나제 활성을 측정함으로써. 관심 티로신 키나제는 샘플 용해물로부터 면역침강되며, 그의 활성이 측정될 것이다.
- [0244] 이소형을 포함한 FGFR의 과다 발현 또는 활성화를 측정하는 대안적 방법은 미세혈관 밀도의 측정을 포함한다. 이는 예를 들어 오레(Orrer) 및 로저스(Rogers) (Int J Cancer (1999), 84(2) 101-8)에 의해 기재된 방법을 사용하여 측정될 수 있다.
- [0245] 따라서, 이들 기술 모두는 또한 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물을 사용한 치료에 특히 적합한 종양을 확인하는데 사용될 수 있다.
- [0246] 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 돌연변이된 FGFR을 갖는 환자의 치료에 특히 유용하다. FGFR3에서의 G697C 돌연변이는 경구 편평 세포 암종의 62%에서 관찰되며, 키나제 활성의 구성적 활성화의 원인이 된다. FGFR3의 활성화 돌연변이는 또한 방광 암종 사례에서 확인된 바 있다. 이들 돌연변이는 다양한 정도의 유병률을 갖는 6 종류로 이루어져 있다: R248C, S249C, G372C, S373C, Y375C, K652Q. 또한, FGFR4에서의 Gly388Arg 다형성은 전립선암, 결장암, 폐암, 간암 (HCC) 및 유방암의 증가된 발생률 및 공격성과 연관된 것으로 밝혀진 바 있다.
- [0247] 따라서, 추가 측면에서, 본 발명은 FGFR에 대한 활성을 갖는 화합물을 사용한 치료에 대해 감수성일 수 있는 질환 또는 병태를 앓거나 또는 앓을 위험이 있는 것으로 스크리닝된 바 있고 결정된 바 있는 환자에서 질환 상태 또는 병태의 치료 또는 예방을 위한 의학의 제조를 위한 본 발명에 따른 조합물 또는 제약 조성물의 용도를 포함한다.
- [0248] 환자를 스크리닝하기 위한 특정한 돌연변이는 FGFR3에서의 G697C, R248C, S249C, G372C, S373C, Y375C, K652Q 돌연변이 및 FGFR4에서의 Gly388Arg 다형성을 포함한다.
- [0249] 또 다른 측면에서, 본 발명은 FGFR 유전자의 변이체 (예를 들어 FGFR3에서의 G697C 돌연변이 및 FGFR4에서의 Gly388Arg 다형성)를 보유하는 하위집단으로부터 선택된 환자에서 암의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 본 발명의 화합물, 조합물 또는 제약 조성물을 포함한다.

- [0250] 그의 유용한 약리학적 특성을 고려하여, FGFR 억제제 및 cMet 억제제는 투여 목적을 위한 다양한 제약 형태로 제제화될 수 있다.
- [0251] 한 실시양태에서, 제약 조성물 (예를 들어 제제)은 본 발명의 적어도 1종의 FGFR 억제제, 또는 적어도 1종의 cMet 억제제 또는 적어도 1종의 FGFR 억제제 및 1종의 cMet 억제제를 1종 이상의 제약상 허용되는 담체, 아주반트, 부형제, 희석제, 충전제, 완충제, 안정화제, 보존제, 윤활제, 또는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지된 다른 물질 및 임의로 다른 치료제 또는 예방제와 함께 포함한다.
- [0252] 본 발명의 제약 조성물을 제조하기 위해, 활성 성분으로서의 유효량의 본 발명의 화합물을 제약상 허용되는 담체와 치밀한 혼합물로 조합하며, 상기 담체는 투여에 요구되는 제제의 형태에 따라 매우 다양한 형태를 취할 수 있다. 제약 조성물은 경구, 비경구, 국소, 비강내, 눈, 귀, 직장, 질내 또는 경피 투여에 적합한 임의의 형태일 수 있다. 바람직하게는 이들 제약 조성물은 바람직하게는 경구로, 직장으로, 경피로 또는 비경구 주사에 의한 투여에 적합한 단위 투여 형태이다. 예를 들어, 경구 투여 형태의 조성물의 제조에서, 임의의 통상적인 제약 매질, 예컨대, 예를 들어, 물, 글리콜, 오일, 알콜 등이 사용될 수 있고, 경구 액체 제제의 경우에, 예컨대 현탁액, 시럽, 엘릭시르 및 용액; 또는 분말, 환제, 캡슐 및 정제의 경우에 고체 담체 예컨대 전분, 당, 카올린, 윤활제, 결합제, 붕해제 등이 이용될 수 있다.
- [0253] 정제 및 캡슐은 그의 투여의 용이성 때문에, 가장 유리한 경구 투여 단위 형태를 나타내고, 이 경우에 고체 제약 담체가 명백하게 이용된다. 비경구 조성물의 경우에, 담체는, 예를 들어 용해도를 보조하기 위해 다른 성분을 포함할 수 있지만, 통상적으로 적어도 대부분 평균수를 포함할 것이다. 예를 들어, 담체가 염수 용액, 글루코스 용액, 또는 염수 및 글루코스 용액의 혼합물을 포함하는 주사가능한 용액이 제조될 수 있다. 주사가능한 현탁액이 또한 제조될 수 있고, 이 경우에 적절한 액체 담체, 현탁화제 등이 이용될 수 있다. 경피 투여에 적합한 조성물에서, 담체는 적은 비율의 임의의 성질의 적합한 첨가제와 임의로 조합된, 침투 증진제 및/또는 적합한 습윤제를 임의로 포함하고, 상기 첨가제는 피부에 유의한 유해 영향을 초래하지는 않는다. 상기 첨가제는 피부에의 투여를 용이하게 할 수 있고/거나 목적 조성물을 제조하는데 도움을 줄 수 있다. 이들 조성물은 다양한 방식으로, 예를 들어, 경피 패치로서, 스팟-온으로서, 연고로서 투여될 수 있다. 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 상기 언급된 제약 조성물을 투여 단위 형태로 제제화하는 것이 특히 유리하다. 본원의 명세서 및 청구범위에 사용된 바와 같은 투여 단위 형태는 단위 투여량으로서 적합한 물리적 이산 단위를 지칭하며, 각각의 단위는 요구되는 제약 담체와 회합된, 목적하는 치료 효과를 생성하도록 계산된 예정량의 활성 성분을 함유한다. 이러한 투여 단위 형태의 예는 정제 (분할선 있는 정제 또는 코팅 정제 포함), 캡슐, 환제, 분말 패킷, 웨이퍼, 주사가능한 용액 또는 현탁액, 티스푼 가득량, 테이블스푼 가득량 등, 및 그의 분리된 다중용량이다.
- [0254] 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 상기 언급된 제약 조성물을 투여 단위 형태로 제제화하는 것이 특히 유리하다. 명세서 및 청구범위에 사용된 바와 같은 투여 단위 형태는 단위 투여량으로서 적합한 물리적 이산 단위를 지칭하며, 각각의 단위는 요구되는 제약 담체와 회합된, 목적하는 치료 효과를 생성하도록 계산된 예정량의 활성 성분을 함유한다. 이러한 투여 단위 형태의 예는 정제 (분할선 있는 정제 또는 코팅 정제 포함), 캡슐, 환제, 분말 패킷, 웨이퍼, 주사가능한 용액 또는 현탁액, 티스푼 가득량, 테이블스푼 가득량 등, 및 그의 분리된 다중용량이다.
- [0255] 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 그의 항종양 활성을 발휘하기에 충분한 양으로 투여된다.
- [0256] 관련 기술분야의 통상의 기술자는 본원에 기재된 바와 같은 FGFR 억제제 및 cMet 억제제의 유효량을 용이하게 결정할 수 있을 것이다. 일반적으로 치료 유효량이 0.005 mg/체중 kg 내지 100 mg/체중 kg, 특히 0.005 mg/체중 kg 내지 10 mg/체중 kg일 것으로 고려된다. 필요한 용량을 1, 2, 3, 4 또는 그 초과와 하위-용량으로 적절한 간격으로 하루에 걸쳐 투여하는 것이 적절할 수 있다. 상기 하위-용량은 예를 들어, 단위 투여 형태당 0.5 내지 500 mg, 특히 1 mg 내지 500 mg, 보다 특히 10 mg 내지 500 mg의 활성 성분을 함유하는 단위 투여 형태로서 제제화될 수 있다.
- [0257] 투여 방식에 따라, 제약 조성물은 바람직하게는 0.05 내지 99 중량%, 보다 바람직하게는 0.1 내지 70 중량%, 보다 더 바람직하게는 0.1 내지 50 중량%의 본원에 기재된 바와 같은 FGFR 억제제, cMet 억제제 또는 FGFR 억제제 및 cMet 억제제의 조합물, 및 1 내지 99.95 중량%, 보다 바람직하게는 30 내지 99.9 중량%, 보다 더 바람직하게는 50 내지 99.9 중량%의 제약상 허용되는 담체를 포함할 것이며, 모든 백분율은 조성물의 총 중량을 기준으로 한다.

- [0258] 상기 병태의 치료를 위해, 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물은 유리하게는 암 요법에서 1종 이상의 다른 의약 작용제, 보다 특히 다른 항암제 또는 아주반트와 조합되어 상기 제시된 바와 같이 이용될 수 있다.
- [0259] 따라서, 본 발명은 또한 1종 이상의 다른 의약 작용제 및 본 발명에 따른 조합물을 제약 담체와 함께 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다.
- [0260] 본 발명은 추가로 종양 세포의 성장을 억제하기 위한 제약 조성물의 제조에 있어서 본 발명에 따른 조합물의 용도에 관한 것이다.
- [0261] 본 발명은 추가로 암을 앓는 환자의 치료에서의 동시, 개별 또는 순차적 사용을 위한 조합 제제로서의, 제1 활성 성분으로서 본 발명에 따른 FGFR 억제제, 제2 활성 성분으로서 cMet 억제제, 특히 본원에 정의된 바와 같은 cMet 억제제, 보다 특히 화합물 C 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물 또는 화합물 D 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 그의 용매화물, 및 추가의 활성 성분으로서 1종 이상의 항암제를 함유하는 제품에 관한 것이다.
- [0262] 1종 이상의 다른 의약 작용제 및 본 발명에 따른 조합물은 동시에 (예를 들어 개별 또는 단일 조성물로) 또는 순차적으로 순서대로 투여될 수 있다. 후자의 경우에, 3종 이상의 화합물은 유리한 효과 또는 상승작용 효과가 달성되는 것을 보장하기에 충분한 기간 내에 및 그러기에 충분한 양 및 방식으로 투여될 것이다. 조합물의 각 성분에 대한 바람직한 투여 방법 및 순서, 및 각각의 투여량 및 요법이 투여되는 특정한 다른 의약 작용제 및 본 발명의 조합물의 화합물, 그의 투여 경로, 치료될 특정한 종양 및 치료될 특정한 숙주에 따라 달라질 것임이 이해될 것이다. 최적의 투여 방법 및 순서, 및 투여량 및 요법은 통상적인 방법을 사용하여 및 본원에 개시된 정보를 고려하여 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [0263] 조합물로서 주어지는 경우에 본 발명에 따른 조합물의 화합물 및 1종 이상의 다른 항암제(들)의 중량비는 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 결정될 수 있다. 상기 비 및 정확한 투여량 및 투여 빈도는, 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지되어 있는 바와 같이, 사용되는 본 발명에 따른 특정한 조합물의 화합물 및 다른 항암제(들), 치료될 특정한 병태, 치료될 병태의 중증도, 특정한 환자의 연령, 체중, 성별, 식이, 투여 횟수 및 전반적인 신체 상태, 투여 방식 뿐만 아니라 개체가 섭취할 수 있는 다른 약물에 따라 달라진다. 게다가, 1일 유효량은 치료 대상체의 반응에 따라 및/또는 본 발명의 조합물을 처방하는 의사의 평가에 따라 감소 또는 증가될 수 있음이 명백하다. FGFR 억제제, cMet 억제제 및 다른 항암제의 각각의 쌍에 대한 특정한 중량비는 1/10 내지 10/1, 보다 특히 1/5 내지 5/1, 보다 더 특히 1/3 내지 3/1의 범위일 수 있다.
- [0264] 백금 배위 화합물은 유리하게는 치료 과정당, 체표면적 제곱 미터당 1 내지 500mg (mg/m^2), 예를 들어 50 내지 400 mg/m^2 의 투여량으로, 특히 시스플라틴에 대해 약 75 mg/m^2 및 카르보플라틴에 대해 약 300 mg/m^2 의 투여량으로 투여된다.
- [0265] 타산 화합물은 유리하게는 치료 과정당, 체표면적 제곱 미터당 50 내지 400 mg (mg/m^2), 예를 들어 75 내지 250 mg/m^2 의 투여량으로, 특히 파클리탁셀의 경우에 약 175 내지 250 mg/m^2 및 도세탁셀의 경우에 약 75 내지 150 mg/m^2 의 투여량으로 투여된다.
- [0266] 캄프토테신 화합물은 유리하게는 치료 과정당, 체표면적 제곱 미터당 0.1 내지 400 mg (mg/m^2), 예를 들어 1 내지 300 mg/m^2 의 투여량으로, 특히 이리노테칸의 경우에 약 100 내지 350 mg/m^2 및 토포테칸의 경우에 약 1 내지 2 mg/m^2 의 투여량으로 투여된다.
- [0267] 항종양 포도필로톡신 유도체는 유리하게는 치료 과정당, 체표면적 제곱 미터당 30 내지 300 mg (mg/m^2), 예를 들어 50 내지 250 mg/m^2 의 투여량으로, 특히 에토포시드의 경우에 약 35 내지 100 mg/m^2 및 테니포시드의 경우에 약 50 내지 250 mg/m^2 의 투여량으로 투여된다.
- [0268] 항종양 빈카 알칼로이드는 유리하게는 치료 과정당, 체표면적 제곱 미터당 2 내지 30 mg (mg/m^2)의 투여량으로, 특히 빈블라스틴의 경우에 약 3 내지 12 mg/m^2 의 투여량으로, 빈크리스틴의 경우에 약 1 내지 2 mg/m^2 의 투여량으로, 및 비노렐빈의 경우에 약 10 내지 30 mg/m^2 의 투여량으로 투여된다.

- [0269] 항종양 뉴클레오사이드 유도체는 유리하게는 치료 과정당, 체표면적 제곱 미터당 200 내지 2500 mg (mg/m^2), 예를 들어 700 내지 1500 mg/m^2 의 투여량으로, 특히 5-FU의 경우에 200 내지 500 mg/m^2 의 투여량으로, 겐시타빈의 경우에 약 800 내지 1200 mg/m^2 의 투여량으로, 및 카페시타빈의 경우에 약 1000 내지 2500 mg/m^2 의 투여량으로 투여된다.
- [0270] 알킬화제 예컨대 질소 머스타드 또는 니트로소우레아는 유리하게는 치료 과정당, 체표면적 제곱 미터당 100 내지 500 mg (mg/m^2), 예를 들어 120 내지 200 mg/m^2 의 투여량으로, 특히 시클로포스파미드의 경우에 약 100 내지 500 mg/m^2 의 투여량으로, 클로람부실의 경우에 약 0.1 내지 0.2 mg/kg의 투여량으로, 카르무스틴의 경우에 약 150 내지 200 mg/m^2 의 투여량으로, 및 로무스틴의 경우에 약 100 내지 150 mg/m^2 의 투여량으로 투여된다.
- [0271] 항종양 안트라시클린 유도체는 유리하게는 치료 과정당, 체표면적 제곱 미터당 10 내지 75 mg (mg/m^2), 예를 들어 15 내지 60 mg/m^2 의 투여량으로, 특히 독소루비신의 경우에 약 40 내지 75 mg/m^2 의 투여량으로, 다우노루비신의 경우에 약 25 내지 45 mg/m^2 의 투여량으로, 및 이다루비신의 경우에 약 10 내지 15 mg/m^2 의 투여량으로 투여된다.
- [0272] 항에스트로겐제는 유리하게는 특정한 작용제 및 치료될 병태에 따라 1일 약 1 내지 100 mg의 투여량으로 투여된다. 타목시펜은 유리하게는 치료 효과를 달성하고 유지하기에 충분한 시간 동안 요법을 계속하면서 1일 2회 5 내지 50 mg, 바람직하게는 10 내지 20 mg의 투여량으로 경구로 투여된다. 토레미펜은 유리하게는 치료 효과를 달성하고 유지하기에 충분한 시간 동안 요법을 계속하면서 1일 1회 약 60 mg의 투여량으로 경구로 투여된다. 아나스트로졸은 유리하게는 1일 1회 약 1mg의 투여량으로 경구로 투여된다. 드롤록시펜은 유리하게는 1일 1회 약 20-100 mg의 투여량으로 경구로 투여된다. 랄록시펜은 유리하게는 1일 1회 약 60 mg의 투여량으로 경구로 투여된다. 엑세메스탄은 유리하게는 1일 1회 약 25 mg의 투여량으로 경구로 투여된다.
- [0273] 항체는 유리하게는 체표면적 제곱 미터당 약 1 내지 5 mg (mg/m^2)의 투여량으로, 또는 다른 경우에 관련 기술분야에 공지된 바와 같이 투여된다. 트라스투주맙은 유리하게는 치료 과정당, 체표면적 제곱 미터당 1 내지 5 mg (mg/m^2), 특히 2 내지 4 mg/m^2 의 투여량으로 투여된다.
- [0274] 이들 투여량은 예를 들어 치료 과정당 1회, 2회 또는 그 초과로 투여될 수 있고, 이는 예를 들어 매 7, 14, 21 또는 28일마다 반복될 수 있다.
- [0275] 본 발명의 조합물 또는 제약 조성물의 화합물은 이들이 표지된 화합물과 다른 분자, 펩티드, 단백질, 효소 또는 수용체 사이의 복합체의 형성을 검출 또는 확인하는데 사용될 수 있다는 점에서 가치있는 진단 특성을 가질 수 있다.
- [0276] 검출 또는 확인 방법은 표지화제 예컨대 방사성동위원소, 효소, 형광 물질, 발광 물질 등으로 표지된 화합물을 사용할 수 있다. 방사성동위원소의 예는 ^{125}I , ^{131}I , ^3H 및 ^{14}C 를 포함한다. 효소는 통상적으로 적절한 기질의 접합에 의해, 결국 검출가능한 반응을 촉매화함으로써 검출할 수 있다. 그의 예는, 예를 들어, 베타-갈락토시다제, 베타-글루코시다제, 알칼리 포스파타제, 퍼옥시다제 및 말레이트 데히드로게나제, 바람직하게는 양고추냉이 퍼옥시다제를 포함한다. 발광 물질은, 예를 들어, 루미놀, 루미놀 유도체, 루시페린, 에퀴린 및 루시페라제를 포함한다. 생물학적 샘플은 신체 조직 또는 체액으로서 정의될 수 있다. 체액의 예는 뇌척수액, 혈액, 혈장, 혈청, 소변, 객담, 타액 등이다.
- [0277] 실험 파트
- [0278] FGFR 억제제로서의 상기 기재된 화합물 A 및 B의 평가 동안, 세포 기반 증식 검정 (알라마르 블루 검정, 하기 본원 참조)에서 화합물을 시험 시, 심지어 가장 감수성인 암 세포주 ($\text{IC}_{50} < 10 \text{ nM}$)가 상기 화합물에 대해 감수성이 아닌 세포의 하위집단을 갖는 것으로 밝혀졌다. 이것은 예를 들어 증식 곡선에서 DMSO 대조군의 약 ~10% (DMSO에 대한 검정에서 관찰된 값은 100%로서 취하고, 화합물로의 용량 치료에 대해 관찰된 값은 100% DMSO의 %로서 계산됨)의 플레토에 의해 관찰되었다. 예를 들어, FGFR1 증폭을 갖는 대세포 폐암 세포주인 NCI-H1581 세포를 증식 검정에서 N-(3,5-디메톡시페닐)-N'-(1-메틸에틸)-N-[3-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)퀴녹살린-6-일]에탄-1,2-디아민으로 처리하였을 시, 곡선은 DMSO 대조군의 ~10%에서의 플레토를 나타내었으며, 이는 화합물로의 처

리에 비감수성인 것이 세포 중 ~10% 존재함을 시사한다.

[0279] 비감수성 세포를 그의 생존 및/또는 증식을 위한 구동자로서 작용하는 활성 신호전달 경로를 결정하고자 하는 목적으로 단리시키고, 프로파일링하였다. 따라서, NCI-H1581 세포를 10 cm 콜라겐 I 코팅된 플레이트 상에 플레이트하고, 37°C, 5% CO₂에서의 인큐베이터에 두었다. 세포를 DMSO 대조군의 존재 또는 부재 하의 모 세포에 대해 성장 배지 (하기 참조)에서 성장시키거나, 또는 내성 세포에 대해, 장기간에 걸쳐 높은 용량의 화합물 A (배지 중 1 마이크로M 최종 농도의 화합물 A, 화합물 A를 DMSO 중 원액으로부터 희석된 샘플로서 첨가하였음)로 보충된 성장 배지에서 성장시켰다. 화합물 비감수성 세포를 성장시키는 시간 동안, 화합물 A [1 마이크로M]로 보충된 배지를 매주 2회 교체하였다. DMSO 대조군 존재 또는 부재 하의 모 세포의 경우에, 세포가 100%에 근접한 전면생장물에 도달할 시, 이들을 트립신처리하고, 플레이트 상에 다시 재플레이트하였다. 화합물 처리된 플레이트에서 내성 클론의 성장을 관찰하였다. 초기 처리로부터 약 3주 후, 세포를 트립신처리에 의해 플레이트 외부로 취하고, 추가의 확장을 위해 새로운 플레이트 상에서 계대배양하였다. 모 세포와 동일한 내성 세포를 매주 2회 계대배양하였지만, 내성 세포의 배지는 항상 화합물 A [1 마이크로M]로 보충하였다. (시험 1)

[0280] 성장 배지

[0281] RPMI-1640 (깁코(Gibco), 31870-025) 500 ml; 10% FCS (하이클론(Hyclone), SV30160.03) 57 ml; 1mM 피루브산 나트륨 (깁코, 11360) 5.7 ml; 2mM L-글루타민 (깁코, 25030) 5.7 ml; 50 µg/ml 겐타미신 (깁코, 15750) 5.7 ml.

[0282] 내성 세포를 모 세포와 비교하여 차등 발현된 유전자에 대해 마이크로어레이 기술을 사용하여 프로파일링하였다. 2회의 마이크로어레이 실험을 행하였다. 제1 실험에서, 유전자, 및 두 집단 사이의 경로 차이를 정의하기 위해 및 화합물 A에 대한 내성을 구동하는 경로를 이해하기 위해 모 세포 및 내성 세포를 프로파일링하였다. 제2 마이크로어레이 실험에서, 화합물 A로의 처리 후 시간 경과에 따른 유전자 발현에서의 변화를 프로파일링하였다. 상기 목적을 위해 NCI-H1581 세포를 1일, 1주 및 2주의 시간 경과 동안 DMSO 또는 1 마이크로M의 화합물 A로 처리하거나, 또는 비처리하여 방지하였다.

[0283] 양쪽 마이크로어레이 분석에서, Met 종양유전자는 내성 세포에서 시간 의존성 방식으로 상향조절되는 것으로서 확인되었다.

[0284] 이 실험은 또한 화합물 B로 행하였고, 또한 화합물 B에 대해 Met 종양유전자는 내성 세포에서 시간 의존성 방식으로 상향조절되는 것으로서 확인되었다.

[0285] Met 유전자가 상향조절되었다는 관찰은 실험이 Met 수용체가 단백질 수준 상에서 상향조절되고 활성화되는지의 여부 및 Met 구동 신호전달 경로가 내성의 구동자로서 작용하는지의 여부를 체크하도록 촉발하였다. 따라서 모 세포 및 내성 세포를 포스포RTK (수용체 티로신 키나제) 어레이 상에서 프로파일링하고, 또한 Met 총 단백질 발현 및 인산화에 대해 프로파일링하였다. 알라마르 블루 증식 검정에서, 선택된 Met 억제제 (화합물 C 및 D)에 대한 세포의 감수성을 또한 시험하였다. 이는 Met 단백질 발현이 상향조절되고, Met 단백질이 오직 내성 세포에서만 인산화되며, 모 세포에서는 인산화되지 않았던 것으로 밝혀졌으며, 이는 Met 신호전달 경로가 내성 세포에서 활성화된다는 것을 시사한다. 이러한 관찰에 더하여, 잠재적 및 선택적 Met 억제제, 화합물 C로의 내성 세포의 처리는 Met 인산화를 현저히 하향 조절하였다. 모 NCI-H1581 세포는 Met 단백질의 매우 낮은 검출가능한 수준을 갖고, Met 단백질 인산화에 대한 어떠한 신호도 갖지 않았다 (도 1 참조). 게다가, Met 억제제 화합물 C 및 D로 처리된 모 세포 및 내성 세포의 알라마르 블루 증식 검정에서, Met 억제제는 내성 NCI-H1581 세포의 증식을 강하게 억제하였으나, 모 NCI-H1581 세포의 증식은 그렇지 않았다 (하기 표 참조, 반복된 실험의 결과가 제시됨).

	IC ₅₀ (M)		IC ₅₀ (M)
화합물 D 로 처리된 모 세포	>1.0E-5	화합물 C 로 처리된 모 세포	>3.0E-5 (모든 실험에 대해 동일함)
화합물 D 로 처리된 모 세포 + DMSO	>3.0E-5		
화합물 D 로 처리된 내성 세포	3.41E-7 4.44E-7	화합물 C 로 처리된 내성 세포	1.36E-7 2.44E-8 6.97E-8 2.18E-7 1.68E-7
	IC ₅₀ (M)		
크리조티닙으로 처리된 모 세포	6.91E-6 4.95E-6		
크리조티닙으로 처리된 내성 세포	1.98E-7 1.65E-7		

[0286]

[0287]

이들 데이터로부터 시험된 FGFR 억제제에 대해 내성인 NCI-H1581 세포는 활성화된 Met 수용체를 가지며, 그의 증식 및 생존을 위한 Met 신호전달 경로에 의존성인 것으로 결론지을 수 있다.

[0288]

NCI-H1581에서 시험된 FGFR 억제제에 대한 내성의 구동자로서의 Met 신호전달 활성화의 발견은 NCI-H1581 세포에서 FGFR 억제제에 대한 내성의 출현을 극복하기 위해 FGFR 및 Met 억제제 둘 다를 사용한 조합 처리를 지지한다. 2종의 작용제 (FGFR 억제제: 1 마이크로M 화합물 A, 및 Met 억제제: 1 마이크로M 화합물 D)가 초기에 조합된 것인 실험을 수행하였다. 단일 작용제 (1 마이크로M 화합물 A 또는 1 마이크로M 화합물 D) 또는 DMSO로의 세포의 처리가 또한 존재하였다. 세포의 증식은 시간 경과에 따라 세포의 전면생장률을 측정하는 인큐사이트 기계를 사용하여 후속하였다. 시험 1에 대해 상기 기재된 바와 유사한 방식으로 수행된 이러한 실험에서, Met 억제제 화합물 D 처리, 뿐만 아니라 DMSO 처리는 NCI-H1581 세포의 증식에 영향을 미치지 않는 것으로 관찰되었다. FGFR 억제제 (1 마이크로M 화합물 A)로의 세포의 처리는 초기에 증식을 차단하였지만, 약 3주 후에 화합물 비감수성 세포의 출현 생장이 관찰되었으며, 이는 화합물 A로의 FGFR 경로의 연속적 억제의 약 3주 후에 NCI-H1581 세포에서 세포의 비감수성 내성 하위집단이 성장 능력을 얻었다는 상기 제시된 발견과 매치하였다. 중요하게는, FGFR 억제제 (화합물 A 1 마이크로M) 및 Met 억제제 (화합물 D 1 마이크로M)의 조합 처리는 내성의 출현을 완전히 방지하였다. 도 2 참조.

[0289]

생체내 연구

[0290]

무흉선 누드 마우스를 내성 NCI-H1581 세포 (매트릭셀 함유 10e⁶개 세포/200 μl, 비 1:1, 마우스의 서혜 영역 내로)로 접종하였다.

[0291]

모든 마우스 (84)를 군 (4)에 넣고, 세포 주사일로부터 처리하였다.

[0292]

마우스를 경구로 (po), 정상 부피 (250 μl/25g)로 1일 1회 및 37일 동안 (QDx37) 처리하였다. 종양 부피의 측정은 제0일, 제5일, 제12일, 제15일, 제20일, 제23일, 제27일, 제30일, 제33일, 제37일에 행하였다.

[0293]

제37일에 모든 동물을 희생시켰다.

[0294] 하기 표는 연구 설계를 예시한다:

군		처리	경로	계획	동물 수
1	블랑코 (10% HP-b-CD)	없음			12
2	화합물 A	25 mg/kg	p.o.	37 일 동안, 무작위화 후에 1 일 1 회 (QD)	24
3	화합물 A 화합물 D	25 mg/kg AM 50 mg/kg AM	p.o.	37 일 동안, 무작위화 후에 1 일 1 회 (QD)	24
4	화합물 A 화합물 D	25 mg/kg AM 50 mg/kg PM	p.o.	37 일 동안, 무작위화 후에 1 일 1 회 (QD)	24

[0295]

[0296] 이러한 생체내 연구의 결과는 도 3에 제시된다.

[0297] 모든 시험 작용제는 연구 전반에 걸쳐 내약성이 있었다. 그러나, 조합 군에서 증가된 체중 감소가 관찰되었다.

[0298] 이러한 연구에서, 화합물 A로의 처리는 종양 성장에 대해 어떠한 효과도 갖지 않는 것으로 관찰되었으며, 이는 이들 세포가 이러한 처리에 대해 우선적으로 내성이기 때문이다. 흥미롭게도, 양쪽 조합 처리는 종양의 성장에 영향을 미친다는 것을 나타내었다. 게다가, 가장 강한 항 증식성 효과는 2종의 작용제가 동시에 투여되는 경우에 관찰되었다. 이러한 모델이 양쪽 표적화 작용제의 조합에 대해 감수성이며, 화합물 A 처리 단독에 대해 비 감수성이었다는 사실은 두 경로가 이들 종양의 성장에 있어서 유의한 역할을 한다는 것을 시사한다.

[0299] 알라마르 블루 검정

[0300] 세포를 투명한 편평 바닥을 갖는 흑색 96 웰 플레이트에서 최적화된 세포 밀도에서의 배지 180 μ l에서 시딩하였다. 외부 웰을 배지 180 μ l로 채웠다. 세포를 37°C 및 5% CO₂에서 24시간 동안 인큐베이션하였다.

[0301] 다음날 화합물 희석물을 둥근 바닥 (코닝(Corning) #3365)을 갖는 96 웰 플레이트에서 제조하였다. 50x 희석의 화합물을 배지 중에서, 96 웰 플레이트 (코닝 #3585)에서의 배지 196 μ l 중 화합물 스톡 4 μ l에서 제조하였다. 화합물/배지 플레이트를 진탕기 상에 10분 동안 위치시킨 다음, 배지 중 화합물 20 μ l를 세포 (10x 희석)에 첨가하였다. 알라마르블루® 판독까지 세포를 37°C 및 5% CO₂에서 4일 동안 인큐베이션하였다.

[0302] 알라마르블루® 준비:

[0303] 물질:

[0304] 레자주린 정제 (100 정제) (프로라보(ProLabs))

[0305] 페로시안화칼륨 (시그마(Sigma))

[0306] 페리시안화칼륨 (시그마)

[0307] KH₂PO₄ (시그마)

[0308] K₂HPO₄ (시그마)

[0309] 인산칼륨 완충제 (PPB) 1 리터

[0310] 20 mM KH₂PO₄ 2.72 g

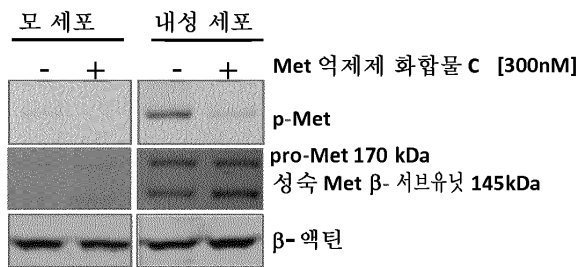
[0311] 80 mM K₂HPO₄ 13.86 g

[0312] pH 7.4 (몇 방울의 KOH 5M 함유)

- [0313] 밀리큐(MilliQ)로 500ml 채움
- [0314] 용액을 pH 7.4로 만들고, 1 리터의 최종 부피로 조정함.
- [0315] PPB-A 시약
- [0316] ml PPB당 1 레자주린 정제 (1 정제 + 800 μ l PPB)
- [0317] PPB 중 PPB-B 시약 30 mM 페리시안화칼륨
- [0318] 0.987 g 페리시안화칼륨 + 100 ml PPB
- [0319] 필터를 0.22 μ m 필터 상에서 멸균하고, 4℃에서 저장함
- [0320] PPB 중 PPB-C 시약 30 mM 페로시안화칼륨
- [0321] 1.266 g 페로시안화칼륨 + 100 ml PPB
- [0322] 필터를 0.22 μ m 필터 상에서 멸균하고, 4℃에서 저장함
- [0323] 사용할 준비가 된 알라마르 블루 믹스
- [0324] 1 ml 대안적 PPB-A + 1 ml PPB-B + 1 ml PPB-C
- [0325] 57 ml PPB를 첨가함
- [0326] 필터를 0.22 μ m 필터 상에서 멸균하고, 4℃에서 저장함
- [0327] 화합물과 함께 4일 인큐베이션 후: 사용할 준비가 된 알라마르블루® 믹스 40 μ l를 각 웰에 첨가한다. 37℃ 및 5% CO₂에서 인큐베이션한다. 4 또는 6시간 (세포주에 따라 다름)의 인큐베이션 후 플레이트를 측정한다. 플레이트를 진탕시키고, RFU를 ex.:544 nm 및 em.:590 nm에서 측정한다.
- [0328] 알라마르블루® 검정은 대사 활성의 검출을 기초로 하는 형광측정/비색 성장 지시약을 혼입한다. 구체적으로, 시스템은 세포 성장으로부터 발생된 성장 배지의 화학적 환원에 반응하여 형광을 낼 뿐만 아니라 색을 변화시키는 산화-환원 (REDOX) 지시약을 혼입한다.
- [0329] FGFR 및 MET 억제제의 조합물에 의한 H1581^{MET(+)} 세포의 성장의 억제.
- [0330] 높은 Met 발현을 갖는 모 세포, 비분류된 H1581 세포, 및 분류된 H1581^{Met(+)} 세포, H1581 세포의 하위집단을 24 웰 플레이트에서 웰당 75000 세포로 플레이팅하였다. 1일 후, 세포를 화합물 A (0.1 mM), 또는 화합물 A (0.1 mM) 및 화합물 D (1 mM)의 조합물, 또는 비히클로서 기능하는 DMSO로 처리하고, 세포 전면생장물을 4일의 기간에 걸쳐 인큐사이트 살아있는 세포 영상화를 사용하여 측정함으로써 세포 증식을 평가하였다. 영상을 2시간 마다 얻었다. 세포의 증식은 전면생장물의 백분율의 평균 \pm SD (n=2)로서 제공되었다.
- [0331] H1581 세포 성장은 화합물 A, 또는 화합물 A 및 화합물 D의 조합물로의 처리에 의해 동등하게 억제되었으며, 이는 H1581 세포 성장의 억제가 FGFR 억제제에 의해 구동되었음을 시사한다. H1581^{MET(+)}는 화합물 A에 대해 부차적 감수성을 나타내었고, 그의 증식은 화합물 A 및 화합물 D의 조합물에 의해 강하게 억제되었으며, 이는 이러한 세포 집단에서 MET 키나제가 성장 및 증식에 있어서 유의한 역할을 한다는 것을 나타낸다. 이들 발견은 H1581^{MET(+)} 하위집단이 H1581 세포에서 FGFR 억제제에 대한 고유 내성을 매개하고 있음을 시사한다.

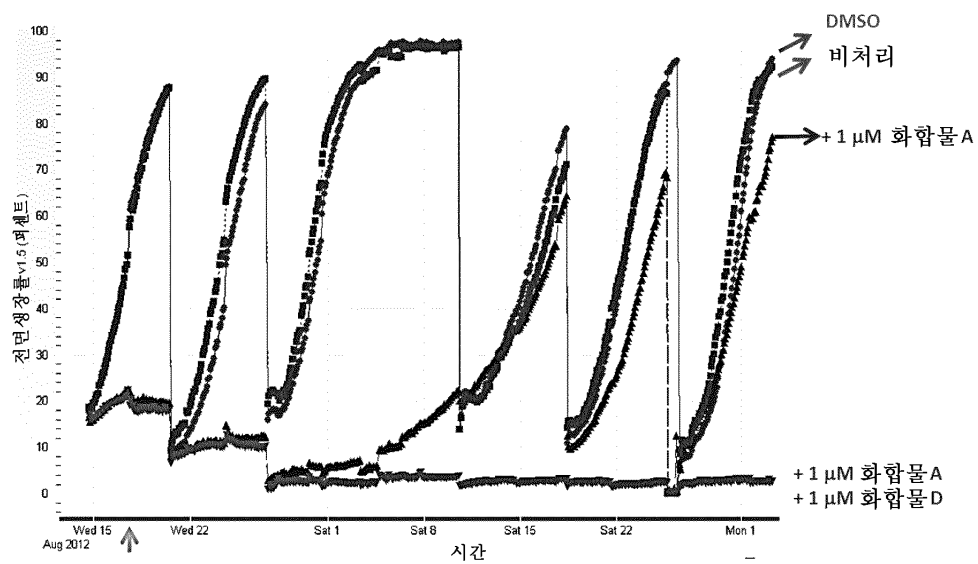
도면

도면1

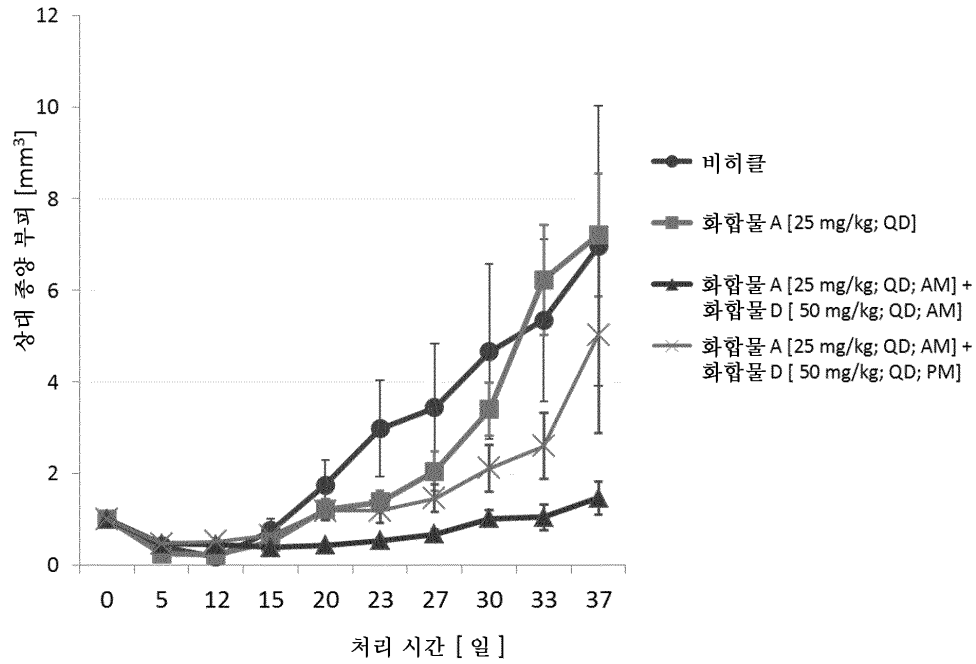


KV11057

도면2



도면3



도면4

