(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년09월24일
(11) 등록번호 10-2708050
(24) 등록일자 2024년09월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/4375 (2006.01) *A61K 31/155* (2006.01)
A61K 31/404 (2006.01) *A61K 31/4184* (2006.01)
A61K 31/4412 (2006.01) *A61K 31/4439* (2006.01)
A61K 31/4523 (2006.01) *A61K 31/4709* (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01) *A61K 31/519* (2006.01)
A61K 31/553 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/4375 (2013.01)
A61K 31/404 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-7024880
(22) 출원일자(국제) 2019년01월31일
심사청구일자 2022년01월28일
(85) 번역문제출일자 2020년08월28일
(65) 공개번호 10-2020-0115606
(43) 공개일자 2020년10월07일
(86) 국제출원번호 PCT/US2019/016161
(87) 국제공개번호 WO 2019/152719
국제공개일자 2019년08월08일
(30) 우선권주장
62/624,453 2018년01월31일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
Blood 128(22):1965 (2016.12.02)
US20150320759 A1
Haematologica 103(5):799-809 (2018.02.08)
WO2015051252 A1*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
데시페라 파마슈티칼스, 엘엘씨.
미국 매사추세츠 (우편번호 02451) 왈담 스미스 스트리트 200
(72) 발명자
플린, 다니엘, 엘.
미국 66047 캔자스주 로렌스 블랙잭 오크 드라이브 4165
스미스, 브라이언, 디.
미국 66049 캔자스주 로렌스 인버네스 드라이브 1312
굽타, 아누
미국 66049 캔자스주 로렌스 채드윅 코트 1212
(74) 대리인
양영준, 김영

전체 청구항 수 : 총 31 항 심사관 : 곽희찬

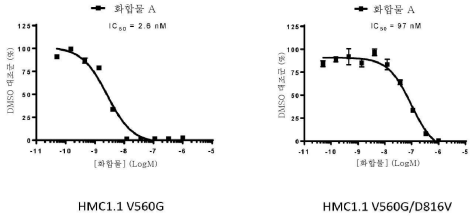
(54) 발명의 명칭 **비만 세포증의 치료를 위한 병용 요법**

(57) 요 약

본 개시는 비만세포증을 치료하기 위해, 예를 들어, RAS, RAF, MEK 또는 ERK 억제제와 같은 MAPKAP 경로 억제제와 조합된 1-[4-브로모-5-[1-에틸-7-(메틸아미노)-2-옥소-1,2-디하이드로-1,6-나프티리딘-3-일]-2-플루오로페닐]-3-페닐우레아 또는 1-(5-(7-아미노-1-에틸-2-옥소-1,2-디하이드로-1,6-나프티리딘-3-일)-4-브로모-2-플루오

(뒷면에 계속)

대 표 도 - 도1a



로페닐)-3-페닐우레아 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 용도에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류
A61K 31/4184 (2013.01)
A61K 31/4184 (2013.01)
A61K 31/4412 (2013.01)
A61K 31/4439 (2013.01)
A61K 31/4523 (2013.01)
A61K 31/4709 (2013.01)
A61K 31/506 (2013.01)
A61K 31/519 (2013.01)
A61K 31/553 (2013.01)

명 세 서

청구범위

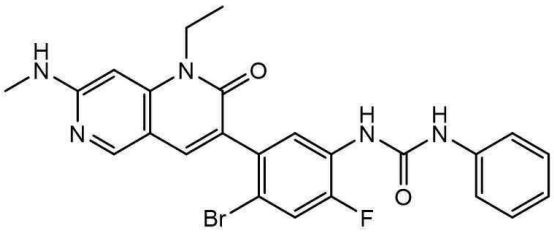
청구항 1

c-KIT 억제제의 유효량을 포함하는, 하나 이상의 MAPKAP 경로 억제제의 유효량과 조합하여, 비만 세포증의 치료를 필요로 하는 환자에서 이를 치료하는 방법에 사용하기 위한 약학적 조성물이며, 상기 방법은 상기 환자에게:

c-KIT 억제제의 유효량; 및

하나 이상의 MAPKAP 경로 억제제의 유효량을 투여하는 단계를 포함하고,

여기서 c-KIT 억제제는 하기로 표시되는 화합물 A:



, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이고;

여기서 MAPKAP 경로 억제제는 트라메티닙(trametinib), 코비메티닙(cobimetinib), 비니메티닙(binimetinib) 및 울리제르티닙(ulixertinib)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 비만 세포증은 c-KIT 돌연변이를 갖는, 약학적 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, c-KIT 돌연변이는 활성화 돌연변이인, 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 비만 세포증은 1차 돌연변이를 갖는 비만 세포를 포함하고, 1차 돌연변이는 *c-KIT D816* 돌연변이인, 약학적 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 1차 돌연변이는 D816V인, 약학적 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 비만 세포증은 2차 *c-KIT* 돌연변이를 갖는 비만 세포를 포함하는, 약학적 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 2차 c-KIT 돌연변이는 Y269C, Y503_F504insAY, V560D 또는 K642E 돌연변이 중 하나인, 약학적 조성물.

청구항 8

제4항에 있어서, 상기 방법은 비만 세포증이 c-KIT 1차 돌연변이를 갖는지 여부를 결정하는 단계를 추가로 포함하는, 약학적 조성물.

청구항 9

제6항에 있어서, 상기 방법은 비만 세포증이 c-KIT 2차 돌연변이를 갖는지 여부를 결정하는 단계를 추가로 포함

하는, 약학적 조성물.

청구항 10

제8항 또는 제9항에 있어서, 비만 세포증이 c-KIT 1차 또는 2차 돌연변이를 갖는지 여부를 결정하는 단계는 종양 샘플로부터 추출한 DNA에서 돌연변이를 식별하는 단계를 포함하는, 약학적 조성물.

청구항 11

제8항 또는 제9항에 있어서, 비만 세포증이 c-KIT 1차 또는 2차 돌연변이를 갖는지 여부를 결정하는 단계는 순환하는 종양 DNA, 순환하는 말단 혈액 백혈구, 또는 혈액 또는 골수에서의 돌연변이를 식별하는 단계를 포함하는, 약학적 조성물.

청구항 12

제1항에 있어서, 비만 세포증은 전신 비만 세포증인, 약학적 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 전신 비만 세포증은 무통성 전신 비만 세포증, 전신 무증상 비만 세포증, 연관된 클론성 혈액학적 비-비만 세포 계통 질환을 수반하는 전신 비만 세포증, 활동성 전신 비만 세포증, 비만 세포 백혈병, 비만 세포 육종, 피부 비만 세포증, 및 피부 병변의 부재 하에 재발성 과민증 또는 혈관 허탈을 수반하는 전신 비만 세포증으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 약학적 조성물.

청구항 14

제13항에 있어서, 피부 비만 세포증은 반구진성 피부 비만 세포증, 비만 세포종, 또는 확산성 피부 비만 세포증으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 약학적 조성물.

청구항 15

제1항에 있어서, MAPKAP 경로 억제제는 비니메티닙인, 약학적 조성물.

청구항 16

제1항에 있어서, MAPKAP 경로 억제제는 트라메티닙인, 약학적 조성물.

청구항 17

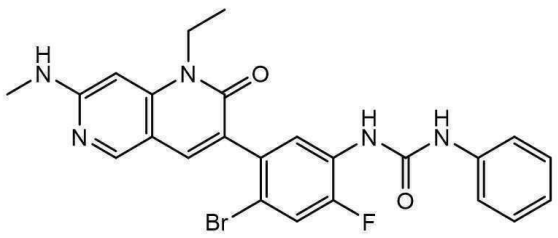
제1항에 있어서, c-KIT 억제제 및 MAPKAP 경로 억제제는 실질적으로 동시에 투여되거나 순차적으로 투여되는, 약학적 조성물.

청구항 18

제1항에 있어서, 상기 방법은 또 다른 암 표적화 치료제, 암 표적화 생물학적 제제, 면역 관문 억제제, 또는 화학요법제를 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 약학적 조성물.

청구항 19

하기로 표시되는 화합물 A:



, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 유효량을 포함하는, 하나 이상의 MAPKAP 경로 억제제의 유효량과 조합하여, 전신 비만 세포증의 치료를 필요로 하는 환자에서 이를 치료하는 방법에 사용하기 위한 약학적 조성물이며, 상기 방법은 상기 환자에게:

화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 유효량; 및

하나 이상의 MAPKAP 경로 억제제의 유효량을 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 MAPKAP 경로 억제제는 트라메티닙, 코비메티닙, 비니메티닙 및 울리제르티닙으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 20

제19항에 있어서, 전신 비만 세포증은 c-KIT 돌연변이를 갖는, 약학적 조성물.

청구항 21

제20항에 있어서, 돌연변이는 c-*KIT D816* 돌연변이인, 약학적 조성물.

청구항 22

제21항에 있어서, 돌연변이는 D816V인, 약학적 조성물.

청구항 23

제20항에 있어서, 비만 세포증은 Y269C, Y503_F504insAY, V560D 또는 K642E 돌연변이 중 하나인 추가의 c-KIT 돌연변이를 갖는, 약학적 조성물.

청구항 24

제1항에 있어서, c-KIT 억제제 및 하나 이상의 MAPKAP 경로 억제제가 별도의 약학적 조성물로 투여되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 25

제1항에 있어서, c-KIT 억제제 및 하나 이상의 MAPKAP 경로 억제제가 동일한 약학적 조성물로 투여되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 26

제1항에 있어서, c-KIT 억제제 및 하나 이상의 MAPKAP 경로 억제제가 동시에 투여되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 27

제1항에 있어서, c-KIT 억제제 및 하나 이상의 MAPKAP 경로 억제제가 상이한 시점에 투여되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 28

제19항에 있어서, 화합물 A 및 하나 이상의 MAPKAP 경로 억제제가 별도의 약학적 조성물로 투여되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 29

제19항에 있어서, 화합물 A 및 하나 이상의 MAPKAP 경로 억제제가 동일한 약학적 조성물로 투여되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 30

제19항에 있어서, 화합물 A 및 하나 이상의 MAPKAP 경로 억제제가 동시에 투여되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 31

제19항에 있어서, 화합물 A 및 하나 이상의 MAPKAP 경로 억제제가 상이한 시점에 투여되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원에 대한 상호 참조**

[0002] 본 출원은 2018년 1월 31일에 출원된 U.S.S.N. 62/624,453에 대한 우선권을 주장하며, 이는 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다.

배 경 기 술

[0003] c-KIT(KIT, CD117, 및 줄기세포인자 수용체로도 알려짐)는 III형 수용체로서 작용하는 145 kDa 막관통 티로신 키나아제 단백질이다. 염색체 4q11-21에 위치한 *c-KIT* 원발암유전자는 줄기세포 인자(SCF, 줄기세포 성장인자, kit 리간드, 비만세포)인 리간드를 가진 c-KIT 수용체를 암호화한다. 수용체는 티로신-단백질 키나아제 활성을 가지며, 리간드 SCF의 결합은 c-KIT를 자가인산화시키고 포스파티딜이노시톨 3-키나아제(PI3K)와 같은 기질과 결합시킨다. 단백질 티로신 키나아제에 의한 티로신 인산화는 세포 신호 전달에서 특히 중요하며, 증식, 생존, 분화, 아폽토시스, 부착, 침습성 및 이동과 같은 주요 세포 과정을 위한 신호 전달을 매개할 수 있다.

[0004] 수용체 티로신 키나아제 *c-KIT* 유전자는 비만 세포의 성장, 생존, 분열 및 항상성에 있어서 중요하다. 활성화 돌연변이 또는 *c-KIT* 유전자의 과발현은 세포 내 경로를 개시하는 *c-KIT* 수용체의 능력을 강화시켜 비정상적인 비만 세포를 증식시킨다.

[0005] 비만 세포증(mastocytosis)은 피부, 골수 및 내부 기관(예: 간, 비장, 위장관 및 림프절)에 비만 세포(MC)가 비정상적으로 축적되는 것을 특징으로 하는 희귀한 장애이다. 성인기 동안에 시작되는 사례들은 만성적인 경향이 있고 피부 이외에 골수에서의 사례를 포함하는 반면, 유년기 동안의 병태는 흔히 내부 기관에서의 사례를 포함하지 않는 피부 징후로 나타나고, 흔히 사춘기 동안에 해결될 수 있다. 대부분의 성인 환자에서, 비만 세포증은 지속적인 경향이 있고, 소수의 환자에서는 보다 진행된 범주로 진행될 수 있다. 비만 세포증은 환자의 증상 및 전체적인 외형(presentation)에 따라 특정 유형으로 분류될 수 있다. 비만 세포증의 유형에는 피부 비만 세포증(예를 들어, 반구진성 피부 비만 세포증, 비만 세포종, 및 확산성 피부 비만 세포증) 및 전신 비만 세포증(예를 들어, 무통성 전신 비만 세포증(ISM: indolent systemic mastocytosis), 전신 무증상 비만 세포증(SSM: systemic smoldering mastocytosis), 관련된 혈액학적 비-비만 세포 계통 질환을 수반하는 전신 비만 세포증(SM-AHN: systemic mastocytosis with associated clonal hematological non-mast cell lineage disease), 활동성 전신 비만 세포증(ASM: aggressive systemic mastocytosis), 비만 세포 백혈병(MCL: mast cell leukemia) 및 비만 세포 육종(mast cell sarcoma))이 있다. 드문 경우에, 활동성 신생물 비만 세포의 증식은 말단 기관을 손상시키는데, 이 경우, 환자의 수명이 상당히 단축되며 종양감축술(cytoreductive therapy)을 받아야 한다. *c-KIT*의 종양형성 돌연변이에 의해 야기된 신생물 비만 세포의 병리적 축적은 전신 비만 세포증의 원인이 되는 것으로 밝혀졌다. 주된 활성화 KIT 돌연변이는 잔기 816에서의 아스파르트산-발린 치환(KIT D816V)이다. 전신 비만 세포증을 앓고 있는 환자로서, 활성 D816V *c-KIT* 돌연변이를 빈번하게 함유하는 비만 세포를 가진 환자는 활동성 질환에 대해 무통성일 수 있고, 비만 세포 매개물질(mast cell mediator) 방출 관련 증상을 경험할 수 있다. 피부 병변의 부재 하에 재발성 과민증(anaphylaxis) 또는 혈관 허탈(vascular collapse)을 수반하는 무통성 전신 비만 세포증은 특이적 아형 무통성 전신 비만 세포증이며, 이러한 클론성 MC 활성화 장애는 모든 비만 세포 활성화 증후군의 상당 부분을 나타낸다. V560G *KIT* 돌연변이는 전신 비만 세포증 환자에서는 극도로 드물며, 이의 생물학적 및 예후적 영향은 분명하지 않다. 현재, 대부분의 티로신 키나아제 억제제는 진행된 질환 상태에는 보통 정도의 효능만을 입증하였으며 상당한 부작용을 동반한다. 또한, KIT D816V 돌연변이를 포함하는 일부 활동성 KIT 돌연변이는 이마티닙(imatinib), 수니티닙(sunitinib), 소라페닙(sorafenib) 및 레고라페닙(regorafenib)과 같은 고전적인 ATP 경쟁 KIT 억제제에 내성이 있다. c-KIT D816V의 억제제인 미도스타우린(midostaurin)이 최근 SM 치료용으로 2017년에 승인되었다.

[0006] *c-KIT* D816V 돌연변이는 전신 비만 세포증(SM)의 유발자로서 보고된 1차 c-KIT 돌연변이이지만, 특정 c-KIT 억제제에 내성을 부여하는 2차 *c-KIT* 돌연변이("2차 내성 *c-KIT* 돌연변이") 또한 비만 세포증 환자에서 보고된 적이 있으며, 이에는, 예를 들어 Y269C, Y503_F504insAY, V560D 또는 K642E 점 돌연변이, 프레임 내 결실 또는 삽입, 또는 *c-KIT* 유전자에서의 미스센스 돌연변이가 포함된다.

[0007] 활성화 돌연변이 또는 c-KIT 유전자의 과발현은 신생물 비만 세포 증식과 연결된다. c-KIT의 복잡한 기능 및 약물 내성 전신 비만 세포증을 치료하는 c-KIT 억제제의 잠재적 유용성을 감안하면, 유리한 치료적 특성을 갖는 억제제 및 치료제에 대한 필요성이 존재한다.

발명의 내용

[0008] 본 발명은 부분적으로, 비만 세포증 세포의 세포자멸사를 유도하기 위한 c-KIT 억제제, 예를 들어 1-[4-브로모-5-[1-에틸-7-(메틸아미노)-2-옥소-1,2-디하이드로-1,6-나프티리딘-3-일]-2-플루오로페닐]-3-페닐우레아(화합물 A), 및 MAPKAP 경로 억제제, 예를 들어, 트라메티닙과 같은 MEK 억제제, 울리제르티닙과 같은 ERK 억제제, 또는 LY3009120과 같은 RAF 억제제의 용도에 관한 것이다.

[0009] 본 개시는 비만 세포증의 치료를 필요로 하는 환자에서 이를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 환자에게: 유효량의 c-KIT 억제제, 예를 들어, 1-[4-브로모-5-[1-에틸-7-(메틸아미노)-2-옥소-1,2-디하이드로-1,6-나프티리딘-3-일]-2-플루오로페닐]-3-페닐우레아, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염; 및 유효량의 미토겐-활성화 단백질 키나아제 억제제(MEK 억제제) 및/또는 유효량의 세포 외 신호 조절성 키나아제 억제제(ERK 억제제)를 투여하는 단계를 포함한다.

[0010] 예를 들어, 전신 비만 세포증의 치료를 필요로 하는 환자에서 이를 치료하는 방법이 본원에 제공되며, 상기 방법은: 유효량의 1-[4-브로모-5-[1-에틸-7-(메틸아미노)-2-옥소-1,2-디하이드로-1,6-나프티리딘-3-일]-2-플루오로페닐]-3-페닐우레아, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염; 및 유효량의 미토겐-활성화 단백질 키나아제 억제제(MEK 억제제) 또는 ERK 억제제를 투여하는 단계를 포함한다.

[0011] 본 개시에서는 비만 세포증의 치료를 필요로 하는 환자에서 이를 치료하는 방법도 고려하며, 상기 방법은 환자에게: 유효량의 c-KIT 억제제; 및 유효량의 RAF 억제제를 투여하는 단계를 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1a는, 비히클 대조군과 비교해 화합물 A를 사용하는 표시된 약물 치료 후 HMC1.1V560G (좌측 패널) 및 HMC1.2 V560G/D816V (우측 패널) 세포주에서의 세포 증식을 그래프로 표현한 것이다.

도 1b는, 비히클 대조군과 비교해 화합물 B를 사용하는 표시된 약물 치료 후 HMC1.1V560G (좌측 패널) 및 HMC1.2 V560G/D816V (우측 패널) 세포주에서 세포 증식을 그래프로 표현한 것이다.

도 2a는 화합물 A 및 트라메티닙을 사용하는 표시된 다양한 치료 후 HMC1.2 V560G/D816V 세포주에서 카스파제 활성을 그래프로 표현한 것이다.

도 2b는 HMC1.2 V560G/D816V 세포주에서, 화합물 A 및 트라메티닙을 사용하는 다양한 치료에 대해 조합 지수법에 기초한 상승 작용 매트릭스 차트를 제공한다.

도 2c는 MEK 억제제 트라메티닙과 화합물 A의 조합에 대한 조합 지수 도표를 제공한다.

도 3a는 화합물 B 및 트라메티닙을 사용하는 표시된 다양한 치료 후 HMC1.2 V560G/D816V 세포주에서 카스파제 활성을 그래프로 표현한 것이다.

도 3b는 HMC1.2 V560G/D816V 세포주에서, 화합물 B 및 트라메티닙을 사용하는 다양한 치료에 대해 조합 지수법에 기초한 상승 작용 매트릭스 차트를 제공한다.

도 3c는 MEK 억제제 트라메티닙과 화합물 B의 조합에 대한 조합 지수 도표를 제공한다.

도 4a는 화합물 A 및 비니메티닙을 사용하는 표시된 다양한 치료 후 HMC1.2 V560G/D816V 세포주에서 카스파제 활성을 그래프로 표현한 것이다.

도 4b는 HMC1.2 V560G/D816V 세포주에서, 화합물 A 및 비니메티닙을 사용하는 다양한 치료에 대해 조합 지수법에 기초한 상승 작용 매트릭스 차트를 제공한다.

도 4c는 MEK 억제제 비니메티닙과 화합물 A의 조합에 대한 조합 지수 도표를 제공한다.

도 5a는 화합물 B 및 비니메티닙을 사용하는 표시된 다양한 치료 후 HMC1.2 V560G/D816V 세포주에서 카스파제 활성을 그래프로 표현한 것이다.

도 5b는 HMC1.2 V560G/D816V 세포주에서, 화합물 B 및 비니메티닙을 사용하는 다양한 치료에 대해 조합 지수법에 기초한 상승 작용 매트릭스 차트를 제공한다.

도 5c는 MEK 억제제 비니메티닙과 화합물 B의 조합에 대한 조합 지수 도표를 제공한다.

도 6a는 화합물 A 및 코비메티닙을 사용하는 표시된 다양한 치료 후 HMC1.2 V560G/D816V 세포주에서 카스파제 활성을 그래프로 표현한 것이다.

도 6b는 HMC1.2 V560G/D816V 세포주에서, 화합물 A 및 코비메티닙을 사용하는 다양한 치료에 대해 조합 지수법에 기초한 상승 작용 매트릭스 차트를 제공한다.

도 6c는 MEK 억제제 코비메티닙과 화합물 A의 조합에 대한 조합 지수 도표를 제공한다.

도 7a는 화합물 B 및 코비메티닙을 사용하는 표시된 다양한 치료 후 HMC1.2 V560G/D816V 세포주에서 카스파제 활성을 그래프로 표현한 것이다.

도 7b는 HMC1.2 V560G/D816V 세포주에서, 화합물 B 및 코비메티닙을 사용하는 다양한 치료에 대해 조합 지수법에 기초한 상승 작용 매트릭스 차트를 제공한다.

도 7c는 MEK 억제제 코비메티닙과 화합물 B의 조합에 대한 조합 지수 도표를 제공한다.

도 8a는 화합물 A 및 ERK 억제제 울리제르티닙을 사용하는 표시된 다양한 치료 후 HMC1.2 V560G/D816V 세포주에서 카스파제 활성을 그래프로 표현한 것이다.

도 8b는 HMC1.2 V560G/D816V 세포주에서, 화합물 A 및 ERK 억제제 울리제르티닙을 사용하는 다양한 치료에 대해 조합 지수법에 기초한 상승 작용 매트릭스 차트를 제공한다.

도 8c는 ERK 억제제 울리제르티닙과 화합물 A의 조합에 대한 조합 지수 도표를 제공한다.

도 9a는 HMC1.2 V560G/D816V 세포에서, 단일 제제 화합물 A, 단일 제제 트라메티닙, 및 화합물 A와 MEK 억제제 트라메티닙의 조합을 사용한 치료에 의한 콜로니 증식 억제를 보여준다.

도 9b는 HMC1.2 V560G/D816V 세포에서, 단일 제제 화합물 A, 단일 제제 트라메티닙, 및 화합물 A와 MEK 억제제 트라메티닙의 조합을 사용한 치료에 의한 콜로니 증식 억제를 그래프로 표현한 것이다. 화살표는 콜로니 증식이 없음을 나타낸다.

도 10a는 HMC1.2 V560G/D816V 세포에서, 단일 제제 화합물 B, 단일 제제 트라메티닙, 및 화합물 B와 MEK 억제제 트라메티닙의 조합을 사용한 치료에 의한 콜로니 증식 억제를 보여준다.

도 10b는 HMC1.2 V560G/D816V 세포에서, 단일 제제 화합물 B, 단일 제제 트라메티닙, 및 화합물 B와 MEK 억제제 트라메티닙의 조합을 사용한 치료에 의한 콜로니 증식 억제를 그래프로 표현한 것이다. 화살표는 콜로니 증식이 없음을 나타낸다.

도 11a는 HMC1.2 V560G/D816V 세포에서, 단일 제제 화합물 A, 단일 제제 비니메티닙, 및 화합물 A와 MEK 억제제 비니메티닙의 조합을 사용한 치료에 의한 콜로니 증식 억제를 보여준다.

도 11b는 HMC1.2 V560G/D816V 세포에서, 단일 제제 화합물 A, 단일 제제 비니메티닙, 및 화합물 A와 MEK 억제제 비니메티닙의 조합을 사용한 치료에 의한 콜로니 증식 억제를 그래프로 표현한 것이다. 화살표는 콜로니 증식이 없음을 나타낸다.

도 12a는 HMC1.2 V560G/D816V 세포에서, 단일 제제 화합물 B, 단일 제제 비니메티닙, 및 화합물 B와 MEK 억제제 비니메티닙의 조합을 사용한 치료에 의한 콜로니 증식 억제를 보여준다.

도 12b는 HMC1.2 V560G/D816V 세포에서, 단일 제제 화합물 B, 단일 제제 비니메티닙, 및 화합물 B와 MEK 억제제 비니메티닙의 조합을 사용한 치료에 의한 콜로니 증식 억제를 그래프로 표현한 것이다. 화살표는 콜로니 증식이 없음을 나타낸다.

도 13a는 HMC1.2 V560G/D816V 세포에서, 단일 제제 화합물 A, 단일 제제 코비메티닙, 및 화합물 A와 MEK 억제제 코비메티닙의 조합을 사용한 치료에 의한 콜로니 증식 억제를 보여준다.

도 13b는 HMC1.2 V560G/D816V 세포에서, 단일 제제 화합물 A, 단일 제제 코비메티닙, 및 화합물 A와 MEK 억제제 코비메티닙의 조합을 사용한 치료에 의한 콜로니 증식 억제를 그래프로 표현한 것이다.

도 14a는 HMC1.2 V560G/D816V 세포에서, 단일 제제 화합물 B, 단일 제제 코비메티닙, 및 화합물 B와 MEK 억제제 코비메티닙의 조합을 사용한 치료에 의한 콜로니 증식 억제를 보여준다.

도 14b는 HMC1.2 V560G/D816V 세포에서, 단일 제제 화합물 B, 단일 제제 코비메티닙, 및 화합물 B와 MEK 억제제

코비메티닙의 조합을 사용한 치료에 의한 콜로니 증식 억제를 그래프로 표현한 것이다.

도 15a는 화합물 A 및 트라메티닙을 사용하는 24시간 동안의 다양한 치료 후 공 벡터(EV, 좌측 패널) 또는 N-ras G12D 형질감염 HMC1.2 V560G/D816V 세포(우측 패널)에서의 카스파제 활성을 그래프로 표현한 것이다.

도 15b는 화합물 A 및 트라메티닙을 사용하는 48시간 동안의 다양한 치료 후 공 벡터(좌측 패널) 또는 N-ras G12D 형질감염 HMC1.2 V560G/D816V 세포(우측 패널)에서의 카스파제 활성을 그래프로 표현한 것이다.

도 16a는 화합물 A 및 코비메티닙을 사용하는 24시간 동안의 다양한 치료 후 공 벡터(EV, 좌측 패널) 또는 N-ras G12D 형질감염 HMC1.2 V560G/D816V 세포(우측 패널)에서의 카스파제 활성을 그래프로 표현한 것이다.

도 16b는 화합물 A 및 코비메티닙을 사용하는 48시간 동안의 다양한 치료 후 공 벡터(좌측 패널) 또는 N-ras G12D 형질감염 HMC1.2 V560G/D816V 세포(우측 패널)에서의 카스파제 활성을 그래프로 표현한 것이다.

도 17a는 공 벡터(EV) 형질감염 HMC1.2 V560G/D816V 세포에서, 단일 제제 화합물 A, 단일 제제 트라메티닙, 및 화합물 A와 MEK 억제제 트라메티닙의 조합을 사용한 치료에 의한 콜로니 증식 억제를 보여준다.

도 17b는 공 벡터(EV) 형질감염 HMC1.2 V560G/D816V 세포에서, 단일 제제 화합물 A, 단일 제제 트라메티닙, 및 화합물 A와 MEK 억제제 트라메티닙의 조합을 사용한 치료에 의한 콜로니 증식 억제를 그래프로 표현한 것이다. 화살표는 콜로니 증식이 없음을 나타낸다.

도 17c는 N-ras G12D 형질감염 HMC1.2 V560G/D816V 세포에서, 단일 제제 화합물 A, 단일 제제 트라메티닙, 및 화합물 A와 MEK 억제제 트라메티닙의 조합을 사용한 치료에 의한 콜로니 증식 억제를 보여준다.

도 17d는 N-ras G12D 형질감염 HMC1.2 V560G/D816V 세포에서, 단일 제제 화합물 A, 단일 제제 트라메티닙, 및 화합물 1과 MEK 억제제 트라메티닙의 조합을 사용한 치료에 의한 콜로니 증식 억제를 그래프로 표현한 것이다. 화살표는 콜로니 증식이 없음을 나타낸다.

도 18a는 공 벡터(EV) 형질감염 HMC1.2 V560G/D816V 세포에서, 단일 제제 화합물 A, 단일 제제 코비메티닙, 및 화합물 A와 MEK 억제제 코비메티닙의 조합을 사용한 치료에 의한 콜로니 증식 억제를 보여준다.

도 18b는 공 벡터(EV) 형질감염 HMC1.2 V560G/D816V 세포에서, 단일 제제 화합물 A, 단일 제제 코비메티닙, 및 화합물 A와 MEK 억제제 코비메티닙의 조합을 사용한 치료에 의한 콜로니 증식 억제를 그래프로 표현한 것이다. 화살표는 콜로니 증식이 없음을 나타낸다.

도 18c는 N-ras G12D 형질감염 HMC1.2 V560G/D816V 세포에서, 단일 제제 화합물 A, 단일 제제 코비메티닙, 및 화합물 A와 MEK 억제제 코비메티닙의 조합을 사용한 치료에 의한 콜로니 증식 억제를 보여준다.

도 18d는 N-ras G12D 형질감염 HMC1.2 V560G/D816V 세포에서, 단일 제제 화합물 A, 단일 제제 코비메티닙, 및 화합물 A와 MEK 억제제 코비메티닙의 조합을 사용한 치료에 의한 콜로니 증식 억제를 그래프로 표현한 것이다. 화살표는 콜로니 증식이 없음을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] c-KIT 억제제, 예를 들어, 1-[4-브로모-5-[1-에틸-7-(메틸아미노)-2-옥소-1,2-디하이드로-1,6-나프티리딘-3-일]-2-플루오로페닐]-3-페닐우레아(화합물 A), 및 MAPKAP 경로 억제제, 예를 들어, MEK 억제제 트라메티닙, 또는 ERK 억제제 울리제르티닙, 또는 RAF 억제제 LY3009120의 조합은 첨부된 실시예에서 입증된 바와 같이, 예상외로 상승 작용하여 비만 세포증 세포의 세포자멸사를 유도하는 것으로 밝혀졌다. 또한, 본원에 개시된 병용 요법은 단지 세포 성장 억제성(cytostatic)인 것과는 반대로 세포 파괴성(cytocidal)이다.

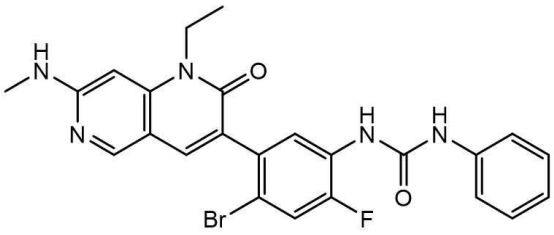
[0014] 임의의 특정 이론에 구속되고자 함이 없이, 많은 c-KIT 억제제는 c-KIT의 특정 돌연변이체 형태만을 억제하며, SM의 원인이 되는 c-KIT D816V 돌연변이를 효과적으로 억제하지 않는 것으로 여겨진다. 본 개시는, c-KIT 억제제를 MAPKAP 경로 억제제와 조합으로 사용하여 c-KIT 및 MEK 둘 다를 억제함으로써 c-KIT-매개 비만 세포증을 치료하는 방법을 제공한다. 특정 구현예에서, c-KIT 억제제는 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 미도스타우닌 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, BLU-285 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, PLX9486 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 크레놀라닙 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염으로서 본원에 개시된다. 놀랍게도, c-KIT 억제제, 예를 들어 화합물 A 및 화합물 B(및 이의 약학적으로 허용 가능한 염)는 MEK, ERK 또는 RAF와 상승 작용하여 증식을 억제하고 비만 세포증 세포의 세포자멸사를 유도한다.

[0015] 따라서, 특정 구현예에서, 본 개시는 비만 세포, 예를 들어, *c-KIT* 돌연변이를 포함하는 비만 세포를 c-KIT 억제제 및 MAPKAP 경로 억제제와 접촉시킴으로써 세포 파괴성 비만 세포 살해를 유도하고, 비만 세포의 세포자멸사를 유도하고, 비만 세포의 성장 또는 증식을 억제하고, 비만 세포 매개물질 방출을 억제하고, 조직 또는 기관에 누적된 비만 세포의 양을 감소시키고, 비만 세포증-관련 종양, 예컨대, 비만 세포 백혈병 또는 비만 세포 육종의 부피를 감소시키고/시키거나 비만 세포 재성장을 억제하는 방법을 제공한다. 다양한 구현예에서, 비만 세포는 시험관 내에서, 생체 내에서 또는 생체 외에서 접촉된다. 특정 구현예에서, c-KIT 억제제는 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 미도스타우린 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, BLU-285 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, PLX9486 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 크레놀라닙 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염으로서 개시되며; 본원에 개시된 MEK 억제제는 트라메티닙, 코비메티닙, 셀루메티닙, 또는 비니메팁이고; ERK 억제제는 울리제르티닙, SCH772984, LY3214996, 라보제르티닙및 VX-11e를 포함하지만 이들로 한정되지는 않으며, RAF 억제제는 LY3009120, 베무라페닙 또는 다브라페닙을 포함하지만 이들로 한정되지는 않는다.

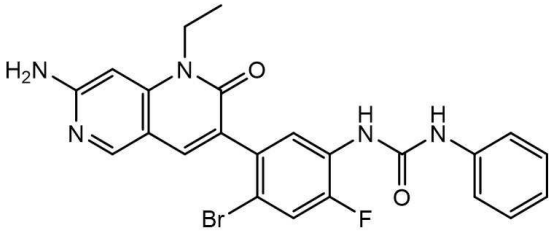
[0016] 특정 구현예에서, 본 개시는 비만 세포증, 비만 세포 백혈병, 또는 급성 골수성 백혈병을 갖는 대상체를 치료하기 위한 방법들을 포함하며, 상기 방법은 대상체에게: (i) KIT 억제제, 예를 들어, 1-[4-브로모-5-[1-에틸-7-(메틸아미노)-2-옥소-1,2-디하이드로-1,6-나프티리딘-3-일]-2-플루오로페닐]-3-페닐우레아 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 1-(5-(7-아미노-1-에틸-2-옥소-1,2-디하이드로-1,6-나프티리딘-3-일)-4-브로모-2-플루오로페닐)-3-페닐우레아 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염; 및 (ii) MAPKAP 경로 억제제, 예를 들어, 트라메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙의 유효량을 투여하는 단계를 포함한다. 본원에 개시된 방법 중 어느 하나의 특정 구현예에서, 비만 세포증은 비만 세포 내 *c-KIT* 유전자의 D816V 돌연변이에 의한 전신 비만 세포증이다.

[0017] *정의*

[0018] 본 명세서에 사용된 "화합물 A 및 B"는 1-[4-브로모-5-[1-에틸-7-(메틸아미노)-2-옥소-1,2-디하이드로-1,6-나프티리딘-3-일]-2-플루오로페닐]-3-페닐우레아 및 1-(5-(7-아미노-1-에틸-2-옥소-1,2-디하이드로-1,6-나프티리딘-3-일)-4-브로모-2-플루오로페닐)-3-페닐우레아를 각각 지칭한다. 화합물 A 및 B의 약학적으로 허용 가능한 염, 호변체, 수화물 및 용매는 또한 본 개시에서 고려된다. 화합물 A 및 B의 구조는 하기에 제시되어 있다:

[0019] 

[0020] 1-[4-브로모-5-[1-에틸-7-(메틸아미노)-2-옥소-1,2-디하이드로-1,6-나프티리딘-3-일]-2-플루오로페닐]-3-페닐우레아(화합물 A)

[0021] 

[0022] 1-(5-(7-아미노-1-에틸-2-옥소-1,2-다이히드로-1,6-나프티리딘-3-일)-4-브로모-2-플루오로페닐)-3-페닐우레아(화학물 B)

[0023] 화합물 A 및 화합물 B를 제조하는 방법은 US8461179B1에 개시되어 있고, 그 내용이 본원에 참조로 통합된다.

[0024] 예시적인 방법 및 물질이 본원에 기술된다. 명세서 및 첨부된 청구항에서, 단수 형태는 문맥에서 달리 명백하게 지시하지 않는 한 복수형도 포함한다. 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 당업자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다.

[0025] 본 개시 전체에서, 다양한 특허, 특허 출원 및 공개가 참조된다. 이들 특허, 특허 출원 및 전문 공개의 개시는 본 개시일 기준으로 당업자에게 기술의 상태를 추가로 충분히 설명하기 위해 참조로 본 개시에 통합된다. 본 개시는 특허, 특허 출원 및 공개 본 개시 사이에 어떤 불일치가 있는 경우에 지배할 것이다.

[0026] 편의상, 명세서, 실시예 및 청구항에서 사용되는 특정 용어가 여기에 수집되어 있다. 달리 정의되지 않는 한, 본 개시에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 당업자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다. 본 개시에서 제공되는 그룹 또는 용어에 대해 정해진 초기 정의는 달리 명시되지 않는 한, 개별적으로 또는 다른 그룹의 일부로서 본 개시 전체에서 해당 그룹 또는 용어에 적용된다.

[0027] "약학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제"는 인간 또는 가축에 사용이 허가 가능한 것으로 미국 식품의약국(FDA)에 의해 승인된 임의의 보조제, 담체, 부형제, 활택제, 감미제, 희석제, 보존제, 염료/착색제, 향미증강제, 계면활성제, 습윤제, 분산제, 현탁제, 안정제, 등장화제, 용매, 또는 유화제를 제한 없이 포함한다.

[0028] "약학적으로 허용 가능한 염"은 산 부가염을 포함한다.

[0029] "약학적으로 허용 가능한 산 부가염"은 유리 염기의 생물학적 효과 및 특성을 유지하는 염들을 지칭하는데, 이들 염은 생물학적으로 바람직하거나 달리 바람직하며, 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 인산 등을 포함하되 이들로 국한되지 않는 무기산 및, 아세트산, 2,2-다이클로로아세트산, 아디프산, 알긴산, 아스코르브산, 아스파르트산, 벤젠설폰산, 벤조산, 4-아세타미도벤조산, 장뇌산(camphoric acid), 캄포르-10-설폰산, 카프르산, 카프로산, 카프릴산, 탄산, 신남산, 시트르산, 사이클람산, 도데실황산, 에테인-1,2-다이설폰산, 에테인설폰산, 2-하이드록시에테인설폰산, 포름산, 푸마르산, 갈락타릭산, 젠티신산, 글루코헵톤산, 글루콘산, 글루쿠론산, 글루탐산, 글루타르산, 2-옥소-글루타르산, 글리세로인산, 글리콜산, 히푸르산, 아이소뷰티르산, 젖산, 락토바이오산, 로르산, 말레산, 말산, 말론산, 만델산, 메테인설폰산, 점액산, 나프탈렌-1,5-다이설폰산, 나프탈렌-2-설폰산, 1-하이드록시-2-나프토산, 니코틴산, 올레산, 오로트산, 옥살산, 팔미트산, 팜산, 프로피온산, 피로글루탐산, 피루브산, 살리실산, 4-아미노살리실산, 세박산, 스테아르산, 숙신산, 타르타르산, 티오시안산, *p*-톨루엔설폰산, 트리플루오로아세트산, 운데실린산 등을 포함하되 이들로 국한되지 않는 유기산으로 형성된다.

[0030] "약학적 조성물"은 본원에 기술된 화합물의 제형(예를 들어, 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염), 및 포유류, 예를 들어, 인간에게 생물학적 활성 화합물을 전달하기 위한 당 기술 분야에서 일반적으로 허용된 매개물을 지칭한다. 이러한 매개물은 모든 약학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 그를 위한 부형제를 포함한다.

[0031] "MAPKAP 경로 억제제"는 MAP 키나아제 신호 전달 경로의 억제제이다. 이러한 경로의 억제제는 RAS 억제제, RAF 억제제(예컨대, 베무라페닙, 다브라페닙, LY3009120), MEK 억제제(예컨대 트라메티닙, 비니메티닙, 코비메티닙), 및 ERK 억제제(예를 들어, 울리제르티닙)를 포함한다.

[0032] 본 개시의 병용 요법, 예를 들어, MAPKAP 경로 억제제와 조합하여 c-KIT 억제제를 사용하는 "치료를 필요로 하는" 대상체 또는 환자는 유익한 치료 결과를 달성하기 위해 본원에 개시된 조합으로 치료될 수 있는 질환 및/또는 병태, 예를 들어, 비만 세포증, 비만 세포 백혈병 또는 급성 골수성 백혈병을 가진 대상체를 포함한다. 비만 세포증의 치료에 있어서의 유익한 결과는 IWG-MRT-ECNM 기준에 의해 정의된 것과 같은 완전 반응, 부분 반응, 임상적 개선, 또는 안정한 질환을 포함할 수 있다(Gotlib 등, Blood 2013; 121: 2393-401 참조). 특정 구현예에서, 치료를 요하는 대상체는 피부 비만 세포증(예를 들어, 반구진성 피부 비만 세포증, 비만 세포종, 및 확산성 피부 비만 세포증) 또는 전신 비만 세포증(예를 들어, 무통성 전신 비만 세포증, 전신 무증상 비만 세포증, 관련된 혈액학적 비-비만 세포 계통 질환을 수반하는 전신 비만 세포증, 활동성 전신 비만 세포증, 비만 세포 백혈병 및 비만 세포 육종)을 앓는다. 특정 구현예에서, 대상체는 포유류, 예를 들어 인간 또는 다른 포유류이다.

[0033] 본원에 개시된 화합물 또는 다른 치료제와 관련하여 사용될 때의 용어 "유효량(effective amount)"은 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하는데 유용한 치료제, 예를 들어, 화합물 A 또는 MAPKAP 경로 억제제 한 가지의 양 또는 조합된 양을 지칭한다. 병용 치료에 사용되는 치료제의 유효량은, 치료제 중 하나 또는 둘 다의 양이 타 치료제가 없을 때는 질환이나 장애를 치료하거나 예방하는 데 효과가 없더라도, 병용 치료에 사용될 때는 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하는 데 유용한 치료제 각각의 양이다. 특정 구현예에서, 유효량은 세포 파괴성 비만 세포 살해를 유도하고, 비만 세포의 세포자멸사를 유도하고, 조직 또는 기관에 누적된 비만 세포의 양을 감소시키고, 비만 세포증 증상을 감소시키고, 비만 세포 매개물질 방출을 억제하고, 비만 세포의 성장을 억제하고/하거나, 비만 세포증 퇴행을 유도하는 양이며, 여기서 비만 세포는 활성화 *c-KIT* D816V 돌연변이를 포함하는 활성

화 돌연변이를 c-KIT 키나아제에 보유한다. "유효량"은 투여 방식, 질환 또는 장애의 특이적 유전자좌, 및 대상체의 나이, 체중, 및 전반적인 건강에 따라 달라질 수 있다. 투여되는 화합물의 양은 질환 또는 병태의 정도, 중증도 및 유형, 원하는 치료제의 양, 및 약학적 제형(들)의 방출 특성에 따라 달라질 것이다. 이는 대상체의 건강, 크기, 체중, 연령, 성별 및 약물에 대한 내성에 따라서도 달라질 것이다. 통상적으로, 화합물은 원하는 치료 효과를 달성하기에 충분한 기간 동안 투여된다.

[0034] 용어 "치료(treatment, treat 및 treating)"는 치료 중인 환자, 예를 들어, 비만 세포증 또는 급성 골수성 백혈병(AML) 환자에게 전체 스펙트럼으로 개입하는 것을 포함하는 의미를 갖는다. 치료는, 장애를 치유, 개선시키거나, 또는 적어도 부분적으로 개선하는 것일 수 있다. 특정 구현예에서, 치료는 치료 중인 환자에서 세포 살해를 유도하고, 비만 세포의 세포자멸사를 유도하고, 조직 또는 기관에 축적된 비만 세포의 양을 감소시키고, 비만 세포증 증상을 감소시키고, 비만 세포 매개물질 방출을 억제하고, 비만 세포의 성장을 억제하고/하거나 비만 세포증 퇴행을 유도하기 위한 의도로 수행된다. 특정 구현예에서, 본원에 개시된 병용 요법을 사용하는 치료는, 비만 세포증이 실제로 제거되지 않더라도, 비만 세포증 증상 중 하나 이상을 완화시키거나, 지연시키거나, 반전시키고/시키거나 비만 세포증의 퇴행을 유도한다. 일부 구현예에서, 치료는 질환이나 장애, 예를 들어, 비만 세포증 또는 AML을 완전히 제거하는 것을 포함한다. 다른 구현예에서, 치료는 IWG-MRT-ECNM 기준에 의해 정의된 것과 같은 완전 반응, 부분 반응, 임상적 개선, 또는 안정한 질환을 초래한다(Gotlib 등, Blood 2013; 121: 2393-401 참조).

[0035] 본원에 사용된 바와 같이, "비만 세포(mast cell)"는 비만 세포(mastocyte로도 불림) 및 CD34+ 비만 세포 전구체 세포를 포함한다.

[0036] 본원에 사용된 바와 같이, "신생물(nelplasm)"은 세포 증식에 의해 정상적인 것 보다 더 신속하게 성장하는 비정상적인 조직을 지칭한다. 신생물은 정상 조직과의 구조적 조직화(structural organization) 및 기능적 조정(functional coordination)을 전혀 나타내지 않거나 부분적으로 나타내며, 일반적으로 양성(양성 종양) 또는 악성(암)일 수 있는 독특한 조직 덩어리를 형성한다.

[0037] 본원에서 사용된 바와 같이 "종양(tumor)"은 덩어리를 지칭한다. 이는 양성(일반적으로 무해함) 또는 악성(암성(cancerous)) 성장을 지칭할 수 있는 용어이다. 악성 성장은 고형 장기 또는 골수로부터 유래할 수 있다. 후자는 종종 액상 종양으로서 지칭된다. "종양"은 비만 세포 백혈병 및 비만 세포 육종을 포함하며, 본원에서는 "비만 세포증 종양(mastocytosis tumor)"으로서 총칭한다.

[0038] 특정 구현예에서, 본원에 개시된 방법에 따라 비만 세포증을 치료하는 치료 효과는 당업계에 공지된 표준 반응 기준을 사용하여 측정될 수 있다. 예를 들어, 활동성 전신 비만 세포증, 비만 세포 백혈병, 및 골수성 신생물과 관련된 전신 비만 세포증에 미치는 치료 효과를 정량화하는 데 사용되는 "완전 관해(CR), 부분 관해(PR), 임상적 개선(CI) 또는 안정한 질병(SD)"에 대한 반응 기준은 IWG-MRT-ECNM에 의해 정의된 기준들 중 어느 하나일 수 있다(Gotlib 등, Blood 2013; 121: 2393-401). 예를 들어, 완전 관해(CR)에는 모든 4개의 기준이 요구되고 반응 지속 시간은 ≥12주이어야 하며, BM 또는 기타 생검한 피부 외 기관에 작은 신생물 비만 세포의 응집이 존재하지 않아야 하고, 혈청 트립타제 수준 < 20 ng/mL쪌이어야 하고, ANC로서 정의된 말초 혈구수 ≥ 1 x 10^9/L이어야 하고(정상 차이 포함), Hb 수준 ≥ 11 g/dL이어야 하며, 혈소판수 ≥ 100 x 10^9/L이어야 하고, 촉진 가능하고(palpable) 생검으로 입증되었거나 의심되는 SM 관련 기관 손상(CI 소견)이 완전히 해결되어야 한다. 부분 관해(PR)*에는 모든 3개의 기준이 요구되고 반응 지속 시간은 ≥ 12주이어야 하며, CR 및 진행성 질환(PD)의 부재 시: 생검 시, 골수의 신생물 MC에서 및/또는 상당한 SM-관련 기관 손상을 나타내는 피부 외 조직에서 ≥ 50%만큼의 감소가 있어야 하고; 혈청 트립타제 수준이 ≥ 50%만큼 감소해야 하며; 생검으로 입증되었거나 의심되는 하나 이상의 SM 관련 기관 손상(CI 소견(들))이 해결되어야 한다. 임상적 개선(CI)은 반응 지속 시간이 ≥ 12주이어야 하는 것으로서, CR/PR 둘 다가 없고 할당(assignment) 또는 진행성 질환(PD)이 없는 경우 비혈액학적 및/또는 혈액학적 반응 기준 중 하나 이상이 만족되어야 한다(표 3 참조). 안정한 질환(SD)은 CR, PR, CI 또는 PD에 대한 기준을 충족시키지 않는다.

[0039] 판정이 필요한 반응에 대한 가이드라인은 다음을 포함한다: (1) 임상 시험에서 ≥ 2등급의 질환에만 관련된 기관 손상이 1차 평가변수로서 평가될 수 있을 것. (2) CR, PR, SD, PD, 및 반응 상실(LOR)의 반응 판정은 임상 시험의 맥락에서 ≥ 2등급인 이들 기관 손상 소견에만 적용될 것. (3) 연구에서 환자를 제외시킬 때의 질환 상태는 오로지 초기 ≥ 2등급인 기관 손상 소견(들)이 업데이트된 상태와 관련이 있을 것. (4) 베이스라인 ≥ 2등급인 기관 손상이 악화되는 환자에게 지정 PD 또는 LOR을 할당하기 전에, 약물 관련 독성 및/또는 기타 임상적

문제(예: 빈혈/수혈 의존성이 악화되는 경우의 위장관 출혈)를 배제할 것.

[0040] 특정 구현예에서, 본원에 개시된 방법에 따라 AML을 치료하는 치료 효과는 당업계에 공지된 표준 반응 기준을 사용하여 측정될 수 있다. 예를 들어, AML에 대한 치료 효과를 정량화하는 데 사용되는 "AML 치료에 대한 반응 기준(response criteria for the treatment of AML)"은 문헌[Blood. 2017 Jan 26; 129(4): 424-447]에 의해 정의된 바와 같은 최소 잔류 질환이 없는 완전 관해(CR)(CR_{MRD-}), 완전 관해(CR), 불완전한 혈액학적 회복을 수반하는 CR(CR_i), 형태학적 백혈병-유리 상태(MLFS), 부분 관해(PR), 안정한 질환(SD), 또는 진행성 질환(PD)을 포함하여, 아래에 정의된 기준들 중 어느 하나일 수 있으며, 다음과 같이 요약된다: 최소 잔류 질환이 없는 완전 관해(CR_{MRD-}): 연구된 전치료의 경우, RT-qPCR에 의한 유전자 마커에 대해 음성도를 갖는 CR, 또는 MFC에 의한 음성도를 갖는 CR; 완전 관해(CR): 골수 아세포 < 5%; 순환하는 아세포 및 아우어 로드를 갖는 아세포의 부재; 골수 외 질환의 부재; 절대 호중구 수(ANC) ≥1.0 x 10^9/L(1000/μL); 혈소판 수 ≥100 x 10^9/L(100 000/μL); 불완전한 혈액학적 회복을 수반하는 CR(CR_i): 잔류 호중구 감소증(<1.0 x 10^9/L [1000/μL]) 또는 혈소판 감소증(<100 x 10^9/L [100 000/μL])을 제외한 모든 CR 기준; 형태학적 백혈병-유리 상태(MLFS): 골수 아세포 < 5%; 아우어 로드를 갖는 아세포의 부재; 골수 외 질환의 부재; 혈액학적 회복이 필요하지 않음; 부분 관해(PR): CR의 모든 혈액학적 기준; 5%~25%까지 골수 아세포 백분율의 감소; 및 전치료 골수 아세포 백분율의 적어도 50% 만큼 감소.

[0041] "병용 요법"은 환자에게 2개 이상의 치료제, 예를 들어, c-KIT 억제제(예: 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 미도스타우린, BLU-285, PLX9486, 또는 크레놀라닙) 및 MAPKAP 경로 억제제(트라메티닙, 코비메티닙, 셀루메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙, LY3009120을 포함하되 이들로 한정되지는 않음)를 환자에게 투여하는 것을 포함하는 치료이다. 2개 이상의 치료제는, 예를 들어, 별도의 약학적 조성물 또는 동일한 약학적 조성물로 동시에 전달되거나 상이한 시점에 전달될 수 있다. 예를 들어, 이들은 동시에 또는 중첩된 기간 동안 전달될 수 있고/있거나 하나의 치료제가 다른 치료제(들)의 전 또는 후에 전달될 수 있다. KIT 억제제의 조합, 예컨대 화합물 A 및 MAPKAP 경로 억제제를 사용하는 치료는 2개의 제제 모두를 사용하는 동시 치료의 기간 이전 또는 이후에 2개의 제제 중 하나를 사용해 치료하는 것을 선택적으로 포함한다. 그러나, 일부 기간 동안에는, 2개 이상의 치료제의 유효량이 환자 내에 존재하는 것으로 여겨진다.

[0042] *치료 방법*

[0043] 일 구현예에서, 본 개시는 비만 세포증, 임의로는 c-KIT 매개 비만 세포증, 예를 들어, 전신 비만 세포증(SM)을 치료하거나 예방하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 유효량의 c-KIT 억제제를 유효량의 MAPKAP 경로 억제제, 예를 들어, 트라메티닙, 코비메티닙, 셀루메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙 또는 LY3009120과 조합하여 이를 필요로 하는 대상체에게 제공하거나 투여하는 단계를 포함한다. 일 구현예에서, 본 개시는 비만 세포증, 임의로는 c-KIT 매개 비만 세포증, 예를 들어, 전신 비만 세포증(SM)을 치료하거나 예방하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 유효량의 화합물 A(또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염) 또는 화합물 B(또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염)를 유효량의 MAPKAP 경로 억제제, 예를 들어, 트라메티닙, 코비메티닙, 셀루메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙 또는 LY3009120과 조합하여 이를 필요로 하는 대상체에게 제공하거나 투여하는 단계를 포함한다. 관련 구현예에서, 본 개시는 비만 세포증 종양, 임의로는 c-KIT 매개 비만 세포증 종양, 예를 들어, 비만 세포 백혈병 또는 비만 세포 육종을 치료하거나 예방하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 유효량의 c-KIT 억제제를 유효량의 MAPKAP 경로 억제제, 예를 들어, 트라메티닙, 코비메티닙, 셀루메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙 또는 LY3009120과 조합하여 이를 필요로 하는 대상체에게 제공하거나 투여하는 단계를 포함한다. 관련 구현예에서, 본 개시는 비만 세포증 종양, 임의로는 c-KIT 매개 비만 세포증 종양, 예를 들어, 비만 세포 백혈병 또는 비만 세포 육종을 치료하거나 예방하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 유효량의 화합물 A(또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염) 또는 화합물 B(또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염)를 유효량의 MAPKAP 경로 억제제, 예를 들어, 트라메티닙, 코비메티닙, 셀루메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙 또는 LY3009120과 조합하여 이를 필요로 하는 대상체에게 제공하거나 투여하는 단계를 포함한다.

[0044] 또 다른 구현예에서, 본 개시는 비만 세포증의 치료를 필요로 하는 환자에서 이를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 환자에게: 유효량의 c-KIT 억제제; 및 하나 이상의 MAPKAP 경로 억제제의 유효량을 투여하는 단계를 포함한다. 이러한 MAPKAP 경로 억제제는 급속 진행성 섬유육종(RAF) 키나아제 억제제, 미토겐-활성화 단백질 키나아제(MEK 억제제), 및 세포 외 신호 조절성 키나아제 억제제(ERK 억제제)로 이루어진 군으로부터 선택될 수

있다.

[0045] 이러한 개시된 방법의 일 구현예에서, 비만 세포증은 c-KIT 돌연변이를 갖는다. 일부 구현예에서, c-KIT 돌연변이는 활성화 돌연변이이다.

[0046] 비만 세포증은, 또 다른 구현예에서, *c-KIT* 유전자의 엑손 17에서 1차 돌연변이를 갖는 비만 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 1차 돌연변이는 *c-KIT D816* 돌연변이이다. 일부 구현예에서, 1차 돌연변이는 D816V, D816Y, D816F, D816H, F522C, K5091, V560G, V559G, 및 del419 중 하나이다. 일부 구현예에서, 1차 돌연변이는 D816V이다.

[0047] 비만 세포증은 2차 *c-KIT* 돌연변이를 갖는 비만 세포를 포함할 수도 있다. 일부 구현예에서, 2차 c-KIT 돌연변이는 엑손 9, 11, 13 또는 17 중 하나에 있다. 일부 구현예에서, 2차 c-KIT 돌연변이는 Y269C, Y503_F504insAY, V560D, 또는 K642E 돌연변이 중 하나이다.

[0048] 이러한 개시된 방법은 비만 세포증이 c-KIT 1차 돌연변이를 갖는지 여부를 결정하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 방법은 비만 세포증이 c-KIT 2차 돌연변이를 갖는지 여부를 결정하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 비만 세포증이 c-KIT 1차 또는 2차 돌연변이를 갖는지 여부를 결정하는 단계는 종양 샘플로부터 추출한 DNA에서 돌연변이를 식별하는 단계를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 비만 세포증이 c-KIT 1차 또는 2차 돌연변이를 갖는지 여부를 결정하는 단계는 순환하는 종양 DNA에서 돌연변이를 식별하거나 순환하는 말단 혈액 백혈구에서 돌연변이를 식별하는 단계를 포함한다.

[0049] 비만 세포증은 전신 비만 세포증일 수 있다. 일부 구현예에서, 전신 비만 세포증은 무통성 전신 비만 세포증, 전신 무증상 비만 세포증, 연관된 클론성 혈액학적 비-비만 세포 계통 질환을 수반하는 전신 비만 세포증, 활동성 전신 비만 세포증, 비만 세포 백혈병 및 비만 세포 육종으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 비만 세포증은 무통성 전신 비만 세포증, 선택적으로는 피부 병변의 부재 하에 재발성 과민증 또는 혈관 허탈을 수반하는 전신 비만 세포증이다. 일부 구현예에서, 비만 세포증은 전신 무증상 비만 세포증이다.

[0050] 일부 구현예에서, 비만 세포증은 연관된 클론성 혈액학적 비-비만 세포 계통 질환을 수반하는 전신 비만 세포증이다. 일부 구현예에서, 비만 세포증은 활동성 전신 비만 세포증이다. 일부 구현예에서, 비만 세포증은 비만 세포 백혈병 또는 비만 세포 육종이다. 일부 구현예에서, 비만 세포증은 피부 비만 세포증이다. 일부 구현예에서, 비만 세포증은 반구진성 피부 비만 세포증, 비만 세포종, 또는 확산성 피부 비만 세포증으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0051] 이러한 개시된 방법에서, c-KIT 억제제는 1-[4-브로모-5-[1-에틸-7-(메틸아미노)-2-옥소-1,2-디하이드로-1,6-나프티리딘-3-일]-2-플루오로페닐]-3-페닐우레아 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 미도스타우린 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이마티닙 메실레이트, 수니티닙 말레이트, 미도스타우린, 레고라페닙, 크레놀라닙, PTX9486, 또는 BLU-285(아바프리티닙) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0052] 또한, MEK 억제제는 트라메티닙, 셀루메티닙, 코비메티닙 및 비니메티닙으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 일부 구현예에서, MEK 억제제는 비니메티닙이다. 일부 구현예에서, MEK 억제제는 트라메티닙이다. 일부 구현예에서, ERK 억제제는 울리제르티닙, SCH772984 및 LY3214996으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, c-KIT 억제제 및 MEK 및/또는 ERK 억제제는 실질적으로 동시에 투여되거나 순차적으로 투여된다.

[0053] 상기 방법은 또 다른 암 표적화 치료제, 암 표적화 생물학적 제제, 면역 관문 억제제, 또는 화학요법제를 투여하는 단계를 포함할 수도 있다.

[0054] 추가적으로, 고려된 방법에 따라 유효량의 c-KIT 억제제; 및 유효량의 미토겐-활성화 단백질 키나아제(MEK 억제제), 및/또는 유효량의 세포 외 신호 조절성 키나아제 억제제(ERK 억제제)를 2주 이상 투여한 결과에 의해 환자는 적어도 부분 관해를 가질 수 있다.

[0055] 전신 비만 세포증의 치료를 필요로 하는 환자에서 이를 치료하는 방법이 또한 제공되며, 상기 방법은 상기 환자에게: 유효량의 1-[4-브로모-5-[1-에틸-7-(메틸아미노)-2-옥소-1,2-디하이드로-1,6-나프티리딘-3-일]-2-플루오로페닐]-3-페닐우레아 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염; 및 유효량의 MAPKAP 경로 억제제를 투여하는 단계를 포함한다. 이러한 개시된 방법에서, MAPKAP 경로 억제제는 급속 진행성 섬유육종(RAF) 키나아제 억제제, 미토겐-활성화 단백질 키나아제(MEK 억제제), 및 세포 외 신호 조절성 키나아제 억제제(ERK 억제제)로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0056] 전신 비만 세포증은, 일 구현예에서, c-KIT 돌연변이를 가질 수 있다. 예를 들어, 돌연변이는 c-*KIT D816* 돌연변이일 수 있다. 일부 구현예에서, 돌연변이는 D816V, D816Y, D816F, D816H, F522C, K5091, V560G, V559G, 및 del419 중 하나이다. 일부 구현예에서, 돌연변이는 다음 중 하나이다: A553D, C433Y, D419Y,D572A, D816F, D816H,D816I, D816V, D816Y, D820G, del419, dup(501-502), E839K, F522C, I817V, InsFF419, InsV815-I816, K509I, N822I, R815K, T417V, V560G, V559I 또는 Y418Y. 일부 구현예에서, 돌연변이는 D816V이다.

[0057] 또한, 비만 세포증은 추가의 c-KIT 돌연변이, 즉 Y269C, Y503_F504insAY, V560D, 또는 K642E 돌연변이 중 하나를 가질 수 있다.

[0058] 이러한 개시된 방법에서, MEK 억제제는 트라메티닙, 셀루메티닙, 코비메티닙 및 비니메티닙으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 일부 구현예에서, MEK 억제제는 비니메티닙이다. 일부 구현예에서, MEK 억제제는 트라메티닙이다. ERK 억제제는 울리제르티닙, SCH772984 및 LY3214996으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0059] 추가로, 본 개시는 비만 세포증의 치료를 필요로 하는 환자에서 이를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 환자에게: 유효량의 c-KIT 억제제; 및 유효량의 RAF 억제제를 투여하는 단계를 포함한다.

[0060] 이러한 개시된 방법에서, RAF 억제제는 베무라페닙, 다브라페닙 및 LY3009120을 포함하는 pan-RAF 또는 B-RAF 억제제일 수 있다. 또한, c-KIT 억제제는 1-[4-브로모-5-[1-에틸-7-(메틸아미노)-2-옥소-1,2-디하이드로-1,6-나프티리딘-3-일]-2-플루오로페닐]-3-페닐우레아, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염일 수 있다.

[0061] 비만 세포증 또는 비만 세포증 종양을 치료하는 방법을 포함하여, 본원에 개시된 방법의 특정 구현예에서, 상기 방법은: 세포 파괴성 비만 세포 살해의 유도; 비만 세포의 세포자멸사 유도; 조직 또는 기관에 비만 세포의 축적량의 감소; 비만 세포증 증상의 감소; 비만 세포 매개물질 방출의 억제; 비만 세포의 성장 억제; 및/또는 비만 세포증 퇴행의 유도를 포함하며, 여기서 비만 세포는 하나 이상의 활성화 돌연변이, 예를 들어, 활성화 KIT D816V 돌연변이를 c-KIT 키나아제에 보유한다. 특정 구현예에서, 상기 방법은 대상체에서 비만 세포증, 예를 들어, 비만 세포증 종양을 근절하는 방법을 포함한다. 일부 구현예에서, 치료는 IWG-MRT-ECNM 기준에 의해 정의된 것과 같은 완전 반응, 부분 반응, 임상적 개선, 또는 안정한 질환을 초래한다(Gotlib 등, Blood 2013; 121: 2393-401 참조).

[0062] 또 다른 관련 구현예에서, 본 개시는 급성 골수성 백혈병(AML), 선택적으로는 c-KIT 매개 AML을 치료하거나 예방하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 유효량의 c-KIT 억제제를 유효량의 MAPKAP 경로 억제제, 예를 들어, 트라메티닙, 코비메티닙, 셀루메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙 또는 LY3009120과 조합하여 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 관련 구현예에서, 본 개시는 급성 골수성 백혈병(AML), 선택적으로는 c-KIT 매개 AML을 치료하거나 예방하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 유효량의 화합물 A(또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염) 또는 화합물 B(또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염)를 유효량의 MAPKAP 경로 억제제, 예를 들어, 트라메티닙, 코비메티닙, 셀루메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙 또는 LY3009120과 조합하여 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0063] 본원에 기술된 방법이 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 사용하거나, 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 사용하는 치료를 지칭하는 경우, 이는 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 중 단 하나만이 요구됨을 의미한다. 그러나, 이들 방법은 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 MAPKAP 경로 억제제와 조합하여 환자에게 투여하는 단계도 포함하는 것으로 이해된다. 본원에 기술된 방법도 화합물 A와 MAPKAP 경로 억제제를 대상체에게 투여하는 것을 포함하는데, 투여의 결과, 화합물 A가 생체 내에서 화합물 B에 대사되고, 화합물 A와 화합물 B의 생체 내 혼합물은 MAPKAP 경로 억제제와 조합하여 효과적으로 대상체를 치료한다.

[0064] 개시된 방법 및 조성물의 특정 구현예는: 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과 트라메티닙의 조합; 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과 셀루메티닙의 조합; 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과 코비메티닙의 조합; 또는 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과 비니메티닙의 조합을 사용하여 실시된다.

[0065] 일 구현예에서, 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 MEK 억제제, 예를 들어, 트라메티닙 또는 비니메티닙이 c-KIT 매개 비만 세포증을 가진 대상체에게 투여된다. 또 다른 구현예에서, 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 MEK 억제제, 예를 들어, 트라메티닙 또는 비니메티닙이 c-KIT 매개 비만 세포증을 가진 대상체에게 투여된다.

[0066] 관련된 구현예에서, 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 MEK 억제제, 예를 들어, 트라메티닙 또는 비니메티닙은 비만 세포 백혈병 또는 비만 세포 육종을 포함하되 이들로 한정되지는 않는 비만 세포증 종양을 가진 환자에게 투여되며, 여기서 비만 세포증 종양 성장 또는 종양 진행은 1차 활성화 c-KIT 돌연변이, 예를 들어 KIT D816V 돌연변이에 의해 야기된다. 또 다른 구현예에서, 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 MEK 억제제, 예를 들어, 트라메티닙 또는 비니메티닙은 비만 세포 백혈병 또는 비만 세포 육종을 포함하되 이들로 한정되지는 않는 비만 세포증 종양을 가진 환자에게 투여되며, 여기서 비만 세포증 종양 성장 또는 종양 진행은 1차 활성화 c-KIT 돌연변이, 예를 들어 KIT D816V 돌연변이에 의해 야기된다. 특정 구현예에서, 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 MEK 억제제, 예를 들어, 트라메티닙 또는 비니메티닙이 AML 환자에게 투여되고, 선택적으로, 여기서 AML은 D816 또는 N822에서의 돌연변이를 포함하되 이에 한정되지 않는 c-KIT 돌연변이, 예를 들어, c-KIT 엑손 8 활성화 돌연변이, 또는 c-KIT 엑손 17 돌연변이에 의해 야기된다(Journal of Clinical Oncology 2006 24:24, 3904-3911 참조).

[0067] 개시된 방법 및 조성물의 특정 구현예는: 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과 울리제르티닙의 조합; 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과 SCH772984의 조합; 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과 LY3214996의 조합; 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과 라보제르티닙(ravoxertinib)의 조합; 또는 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과 VX-11의 조합을 사용하여 실시된다.

[0068] 일 구현예에서, 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 ERK 억제제, 예를 들어, 울리제르티닙이 c-KIT 매개 비만 세포증을 가진 대상체에게 투여된다. 또 다른 구현예에서, 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 ERK 억제제, 예를 들어, 울리제르티닙이 c-KIT 매개 비만 세포증을 가진 대상체에게 투여된다.

[0069] 관련된 구현예에서, 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 ERK 억제제, 예를 들어, 울리제르티닙은 비만 세포 백혈병 또는 비만 세포 육종을 포함하되 이들로 한정되지는 않는 비만 세포증 종양을 가진 환자에게 투여되며, 여기서 비만 세포증 종양 성장 또는 종양 진행은 1차 활성화 c-KIT 돌연변이, 예를 들어 KIT D816V 돌연변이에 의해 야기된다. 또 다른 구현예에서, 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 ERK 억제제, 예를 들어, 울리제르티닙은 비만 세포 백혈병 또는 비만 세포 육종을 포함하되 이들로 한정되지는 않는 비만 세포증 종양을 가진 환자에게 투여되며, 여기서 비만 세포증 종양 성장 또는 종양 진행은 1차 활성화 c-KIT 돌연변이, 예를 들어 KIT D816V 돌연변이에 의해 야기된다. 특정 구현예에서, 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 ERK 억제제, 예를 들어, 울리제르티닙이 AML 환자에게 투여되고, 선택적으로, 여기서 AML은 D816 또는 N822에서의 돌연변이를 포함하되 이에 한정되지 않는 c-KIT 돌연변이, 예를 들어, c-KIT 엑손 8 활성화 돌연변이, 또는 c-KIT 엑손 17 돌연변이에 의해 야기된다(Journal of Clinical Oncology 2006 24:24, 3904-3911 참조).

[0070] 개시된 방법 및 조성물의 특정 구현예는: 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과 LY3009120의 조합; 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과 다브라페닙의 조합; 또는 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과 베무라페닙의 조합을 사용하여 실시된다.

[0071] 일 구현예에서, 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 RAF 억제제, 예를 들어, LY3009120, 다브라페닙, 또는 베무라페닙이 c-KIT 매개 비만 세포증을 가진 대상체에게 투여된다. 또 다른 구현예에서, 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 RAF 억제제, 예를 들어, LY3009120, 다브라페닙, 또는 베무라페닙이 c-KIT 매개 비만 세포증을 가진 대상체에게 투여된다.

[0072] 관련된 구현예에서, 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 RAF 억제제, 예를 들어, LY3009120, 다브라페닙, 또는 베무라페닙은 비만 세포 백혈병 또는 비만 세포 육종을 포함하되 이들로 한정되지는 않는 비만 세포증 종양을 가진 환자에게 투여되며, 여기서 비만 세포증 종양 성장 또는 종양 진행은 1차 활성화 c-KIT 돌연변이, 예를 들어 KIT D816V 돌연변이에 의해 야기된다. 또 다른 구현예에서, 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 RAF 억제제, 예를 들어, LY3009120, 다브라페닙, 또는 베무라페닙은 비만 세포 백혈병 또는 비만 세포 육종을 포함하되 이들로 한정되지는 않는 비만 세포증 종양을 가진 환자에게 투여되며, 여기서 비만 세포증 종양 성장 또는 종양 진행은 1차 활성화 c-KIT 돌연변이, 예를 들어 KIT D816V 돌연변이에 의해 야기된다. 특정 구현예에서, 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 RAF 억제제, 예를 들어, LY3009120, 다브라페닙, 또는 베무라페닙이 AML 환자에게 투여되고, 선택적으로, 여기서 AML은 D816 또는 N822에서의 돌연변이를 포함하되 이에 한정되지 않는 c-KIT 돌연변이, 예를 들어, c-KIT 엑손 8 활성화 돌연변이, 또는 c-KIT 엑손 17 돌연변이에 의해 야기된다(Journal of Clinical

Oncology 2006 24:24, 3904-3911 참조).

[0073] 개시된 방법 및 조성물에 따라 사용될 수 있는 예시적인 c-KIT 억제제는 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 미도스타우린, BLU-285, PLX9486 및 크레놀라닙을 포함하되 이들로 한정되지는 않는다. 개시된 방법 및 조성물에 따라 사용될 수 있는 예시적인 MEK 억제제는 트라메티닙, 셀루메티닙, 코비메티닙 및 비니메티닙을 포함하나 이들로 한정되지는 않는다. 개시된 방법 및 조성물에 따라 사용될 수 있는 예시적인 ERK 억제제는 울리제르티닙, SCH772984, LY3214996, 라보제르티닙 및 VX-11e를 포함하나 이들로 한정되지는 않는다. 개시된 방법 및 조성물에 따라 사용될 수 있는 예시적인 RAF 억제제는 LY3009120, 다브라페닙(dabrafenib) 및 베무라페닙(vemurafenib)을 포함하나 이들로 한정되지는 않는다.

[0074] 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 MAPKAP 경로 억제제, 예를 들어, 트라메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙, 또는 LY3009120과 조합하여 사용하는 치료는, MAPKAP 경로 억제제의 투여 전, 투여 후, 투여와 동시에, 또는 투여와 중첩되는 시간 동안에 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 투여하는 것을 포함한다. 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또 다른 c-KIT 억제제, 또는 MAPKAP 경로 억제제, 예를 들어, 트라메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙, 또는 LY3009120 중 어느 하나의 유효량은 이들 제제 중 어느 하나가 동일한 목적으로, 예를 들어, 비만 세포증 또는 비만 세포 종양(예: 비만 세포 백혈병 또는 AML)을 치료하거나 예방하기 위해 그 자체로 사용될 때와 비교해 이들이 본원에 개시된 조합으로 사용될 때 달라질 수 있는 것으로 이해된다. 특정 구현예에서, 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 유효량은, 이들이 예를 들어 비만 세포증 또는 비만 세포 종양을 치료하거나 예방하기 위한 단일 요법으로 이들이 투여될 때와 비교해, 이들이 MAPKAP 경로 억제제, 예를 들어 트라메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙, 또는 LY3009120과 병용 요법으로 투여될 때 더 적은 양이다. 특정 구현예에서, MAPKAP 경로 억제제, 예를 들어, 트라메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙, 또는 LY3009120의 유효량은, 이들이 예를 들어 비만 세포증 또는 비만 세포 종양을 치료하거나 예방하기 위해 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과 병용 요법으로 투여될 때, 또는 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과 병용 요법으로 투여될 때 더 적은 양이다.

[0075] 본원에 개시된 방법들 중 어느 하나는 치료 중인 비만 세포증 세포, 비만 세포 종양, 또는 AML이 하나 이상의 *c-KIT* 유전자 돌연변이를 갖는지 여부를 결정하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 이러한 결정은 생물학적 샘플, 예를 들어, 대상체로부터 수득한 골수 샘플, 말초 혈액 샘플 또는 혈장 샘플에서 유전자 돌연변이의 존재를 결정하는 일상적인 방법에 의해 이루어질 수 있다. 또한, 이러한 결정은 환자로부터 수득한 생물학적 샘플에서 하나 이상의 *c-KIT* 유전자 돌연변이의 존재를 결정하기 위해 수행된 시험 결과를 검토함으로써 이루어질 수 있다. 본원에 개시된 방법들 중 어느 하나의 특정 구현예에서, 상기 방법은 하나 이상의 *c-KIT* 유전자 돌연변이를 가진 것으로 식별된 비만 세포증, 비만 세포 종양, 또는 AML을 가진 환자를 대상으로 수행된다. *c-키트* 유전자 돌연변이는 본원에 구체적으로 기술된 것들 중 어느 하나를 포함하지만, 이에 한정되지는 않는다. 본원에 개시된 방법들 중 어느 하나의 특정 구현예에서, 상기 방법은 하나 이상의 *c-KIT* 유전자 돌연변이를 가지지 않은 것으로 식별된 비만 세포증, 비만 세포 종양, 또는 AML을 가진 환자를 대상으로는 수행되지 않는다.

[0076] 본원에 개시된 방법들 중 어느 하나의 다양한 양태에서, MAPKAP 경로 저해제(예: 트라메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙 또는 LY3009120)와 조합하여 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 사용하는 치료는 세포 파괴성 비만 세포 살해를 유도하고, 비만 세포의 세포자멸사를 유도하고, 조직 또는 기관에 축적된 비만 세포의 양을 감소시키고, 비만 세포증 증상을 감소시키고, 비만 세포 매개물질 방출을 억제하고, 비만 세포의 성장을 억제하고/하거나 비만 세포증 퇴행을 유도하며, 여기서 비만 세포는 활성화 KIT D816V 돌연변이를 포함하는 활성화 돌연변이를 c-KIT 키나아제에 보유한다. 비만 세포의 세포자멸사의 양, 비만 세포 살해량, 비만 세포 성장 및 증식의 억제량, 비만 세포 매개물질 방출의 억제량, 말초 혈액 돌연변이체 KIT 대립유전자 부담의 양, 비만 세포증 및 비만 세포증 종양의 근절량, 완전 반응, 부분 반응, 임상적 개선, 또는 안정한 질환을 측정하거나 결정하는 방법은 당업계에 공지되어 있으며 본원에 기술된 임의의 방법을 포함한다.

[0077] 특정 구현예에서, c-KIT 억제제(예: 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염); 및 MAPKAP 경로 억제제(예: 트라메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙 또는 LY3009120)의 조합을 사용하는 치료는, 치료되지 않았거나 MAPKAP 경로 억제제 단독으로 치료되었거나, c-KIT 억제제(예: 화합물 A 또는 화합물 B) 단독으로 치료된 동일 유형의 비만 세포증 세포 또는 비만 세포의 세포자멸사의 양과 비교해 비만 세포증 세포 또는 비만 세포의 세포자멸사의 양을 증가시킨다. 예를 들어, 세포자멸사

는 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 2배, 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 10배 또는 적어도 20배만큼 이상 증가될 수 있다. 특정 구현예에서, 세포자멸사의 양은 KIT D816V 돌연변이를 보유하는 HMC1.2 비만 세포주를 포함하는 KIT 돌연변이 비만 세포 또는 비만 세포주의 카스파제 활성을 측정함으로써 결정된다.

[0078] 특정 구현예에서, c-KIT 억제제(예: 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염); 및 MAPKAP 경로 억제제(예: 트라메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙 또는 LY3009120)의 조합을 사용하는 치료는, 치료되지 않았거나 MAPKAP 경로 억제제(예: 트라메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙, 또는 LY3009120) 단독으로 치료되었거나 c-KIT 억제제(예: 미도스타우린, BLU-285, 화합물 A 또는 화합물 B) 단독으로 치료된 피부 또는 내부 기관(예: 간, 비장, 골수 및/또는 소장)에 축적된 비만 세포의 양과 비교해, 동일한 기관에 축적된 비만 세포의 양을 감소시킨다. 예를 들어, 기관 내에 축적된 비만 세포의 양 또는 수는 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90%만큼 감소될 수 있다.

[0079] 특정 구현예에서, c-KIT 억제제(예: 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염); 및 MAPKAP 경로 억제제(예: 트라메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙 또는 LY3009120)의 조합을 사용하는 치료는 IWG-MRT-ECNM 기준에 의해 정의된 바와 같이 정의했을 때 완전 반응을 야기한다(Gotlib 등, Blood 2013; 121: 2393-401 참조).

[0080] 특정 구현예에서, c-KIT 억제제(예: 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염); 및 MAPKAP 경로 억제제(예: 트라메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙 또는 LY3009120)의 조합을 사용하는 치료는 IWG-MRT-ECNM 기준에 의해 정의된 바와 같이 정의했을 때 부분 반응을 야기한다(Gotlib 등, Blood 2013; 121: 2393-401 참조).

[0081] 특정 구현예에서, c-KIT 억제제(예: 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염); 및 MAPKAP 경로 억제제(예: 트라메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙 또는 LY3009120)의 조합을 사용하는 치료는 IWG-MRT-ECNM 기준에 의해 정의된 바와 같이 정의했을 때 임상적 개선을 야기한다(Gotlib 등, Blood 2013; 121: 2393-401 참조).

[0082] 특정 구현예에서, c-KIT 억제제(예: 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염); 및 MAPKAP 경로 억제제(예: 트라메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙 또는 LY3009120)의 조합을 사용하는 치료는 IWG-MRT-ECNM 기준에 의해 정의된 바와 같이 정의했을 때 안정한 질환을 야기한다(Gotlib 등, Blood 2013; 121: 2393-401 참조).

[0083] 특정 구현예에서, c-KIT 억제제(예: 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염); 및 MAPKAP 경로 억제제(예: 트라메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙 또는 LY3009120)의 조합을 사용하는 치료는 KIT D816V 1차 돌연변이에 추가하여 2차 KIT 돌연변이를 함유하는 내성 비만 세포증 세포의 세포자멸사를 유도하거나 성장을 억제하며, 여기서 제2 KIT 돌연변이는 Y269C, Y503_F504insAY, V560D 또는 K642E 점 돌연변이, 프레임 내 결실 또는 삽입, 또는 c-KIT 유전자 내의 미스센스 돌연변이를 포함하되, 이들로 한정되지는 않는다(Lasho 등 Br J Haematol 173, 153-156 참조).

[0084] 특정 구현예에서, c-KIT 억제제(예: 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염); 및 MAPKAP 경로 억제제(예: 트라메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙 또는 LY3009120)의 조합을 사용하는 치료는 본원에 기술된 것들 중 어느 하나를 포함하는 돌연변이(예: 내성 돌연변이)를 다른 유전자에 함유하는 내성 비만 세포증 세포의 세포자멸사를 유도하거나 성장을 억제한다. 특정 구현예에서, 이러한 다른 유전자 돌연변이는 *NRas* 기능획득 돌연변이(Haematologica 2011;96(03):459-463.doi:10.3324/haematol.2010.031690 참조) 또는 *TET2* 기능상실 돌연변이(Leukemia 2009;23:900-04; Blood, 6 December 2012; 120 (24): 4846-49 참조)를 포함할 수 있다. 다른 후성유전적 돌연변이 또는 전사 조절인자 돌연변이는 SM에서 그 존재가 검출되었으며, 이에는 환자의 12%, 12% 및 4%에서 각각 검출된 *DNMT3A*, *ASXL1* 및 *CBL* 돌연변이가 포함된다(PloS one. 2012;7:e43090 참조). 또한, 일부 비만 세포증 환자는 스플라이소좀 기작(spliceosome machinery)에서도 돌연변이를 나타낸다. 스플라이소좀은 mRNA에서 스플라이싱된 엑손 선형 순서를 보장한다. Hanssens 등은 72명의 비만 세포증 환자의 군에서 23.6% *SRSF2*, 5.6% *SF3B1* 및 2.7% *U2AF1* 발생율을 보고하였다(Haematologica 2014; 99:830-35 참조). 복잡한 게놈 유발자를 갖는 이러한 비만 세포증은, 치료되지 않았거나 MEK 억제제(예: 트라메티닙) 단독으로 치료하였거나 c-KIT 억제제(예: 화합물 A 또는 화합물 B) 단독으로 치료한 경우와 비교했을 때, c-KIT 억제제와 MEK 억제제의 조합을 사용하는 본원에 개시된 치료로 혜택을

볼 수 있다. 예를 들어, 세포자멸사는 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 약 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 약 80%, 적어도 90%, 적어도 2배, 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 10배, 또는 적어도 20배 만큼 증가될 수 있다. 예를 들어, 내성 비만 세포증 세포의 성장량 또는 수는 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90%만큼 억제될 수 있다.

[0085] 특정 구현예에서, 내성 비만 세포증 세포는 c-KIT 억제제(예: 화합물 A, 화합물 B, 미도스타우린, BLU-285, PLX9486, 또는 크레놀라닙)가 단일 제제 요법으로서 사용될 때, 이를 사용하는 치료에 의한 세포자멸사-매개 세포 사멸 또는 세포 파괴성 활성에 내성을 가지고/가지거나 MAPKAP 경로 억제제(예: 트라메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙, 또는 LY3009120)가 단일 제제 요법으로서 사용될 때, 이를 사용하는 치료에 의한 세포자멸사-매개 세포 사멸 또는 세포 파괴성 활성에 내성을 가진다.

[0086] 특정 구현예에서, c-KIT 억제제(예: 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염)를 MAPKAP 경로 억제제(예: 트라메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙 또는 LY3009120)과 조합으로 사용하는 치료는 비만 세포증, 예를 들어, 비만 세포증 종양을 근절시킨다. 특정 구현예에서, 비만 세포증의 근절은 환자에게 임의의 검출 가능한 비만 세포가 더 이상 존재하지 않음을 의미한다. 특정 구현예에서, 본 발명에 개시된 병용 요법에 의한 치료를 개시한 후 적어도 12주, 적어도 24주, 적어도 1년, 적어도 2년, 또는 적어도 5년 동안 검출 가능한 비만 세포증이 존재하지 않는다. 비만 세포증의 근절은 IWG-MRT-ECNM 기준에 의해 정의된 완전 반응에 대한 기준에 의해 결정될 수 있다(Gotlib 등, Blood 2013; 121: 2393-401 참조).

[0087] 본 개시는 c-KIT 억제제(예: 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 중 하나) 및 MAPKAP 경로 억제제(예: 트라메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙 또는 LY3009120)를 투여하는 것을 포함하는 병용 요법을 기술한다. 본원에 기술된 병용 요법은 그 자체로 사용되거나, 하나 이상의 추가 치료제와 조합하여 사용될 수 있다. 예를 들어, 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 MAPKAP 경로 억제제는 암 표적화 치료제, 암 표적화 생물학적 제제, 면역 관문 억제제, 또는 화학치료제와 함께 투여될 수 있다. 또 다른 구현예에서, 화합물 A 또는 화합물 B 및 MAPKAP 경로 억제제(예: 트라메티닙, 비니메티닙, 울렉서티닙 또는 LY3009120)는 임의의 다른 치료제 없이 투여된다. 치료제는 병용 요법으로 본원에 기술된 화합물과 함께 투여되거나 순차적으로 투여될 수 있다.

[0088] 병용 요법은 각각이 별도로 제형화되고 투여되는 둘 이상의 치료제를 투여하거나, 둘 이상의 치료제를 단일 제형으로 투여함으로서 달성될 수 있다. 다른 조합도 병용 요법에 포함된다. 병용 요법에서의 둘 이상의 제제는 동시에 투여될 수 있지만, 그럴 필요는 없다. 예를 들어, 제1 제제(또는 제제의 조합)의 투여는 제2 제제(또는 제제의 조합) 투여보다 몇 분, 몇 시간, 몇 일 또는 몇 주만큼 선행할 수 있다. 따라서, 2개 이상의 제제는 서로 몇 분 간격으로, 또는 서로 1, 2, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 또는 24시간 간격으로, 또는 서로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14 일 간격으로, 또는 서로 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9주 또는 그 이상의 간격으로 투여될 수 있다. 일부 경우에, 훨씬 긴 간격이 가능하다. 많은 경우에 병용 요법에 사용되는 둘 이상의 제제는 환자의 신체 내에 동시에 존재하는 것이 바람직하지만, 이렇게 할 필요는 없다.

[0089] 병용 요법은 구성 성분 제제를 다른 순서로 사용하는 조합에 사용되는 제제 중 하나 이상을 2회 이상 투여하는 것을 포함할 수도 있다. 예를 들어, 제제 X 및 제제 Y가 조합으로 사용된다면, 이들은 임의의 조합으로 1회 이상 순차적으로 투여될 수 있다(예를 들어, X-Y-X, X-X-Y, Y-X-Y, Y--Y-X, X-X-Y-Y 등의 순서). 또한, 둘 이상의 제제로 이루어진 조합의 투여는, 조합 제제 중 적어도 하나가 치료에서 생략되는 투여 간격에 선행하거나 그 이후에 이루어질 수 있다.

[0090] 예를 들어, 비만 세포증 또는 비만 세포증 종양을 치료하기 위해 본 개시에 따라 투여될 수 있는 추가 치료제는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 제제를 포함하되 이들로 한정되지는 않는다: 룩솔리티닙(ruxolitinib), 토파시티닙(tofacitinib), 또는 페드라티닙(fedratinib)을 포함하되 이들로 한정되지 않는 STAT5 억제제; 이브루티닙(ibrutinib), PCI 29732, 아칼라브루티닙(acalabrutinib), 또는 AVL-292를 포함하되 이들로 한정되지 않는 BTK 억제제; 이델랄리십(idelalisib), 닥톨리십(dactolisib), 픽틸리십(pictilisib), LY294002, 부팔리십(buparlisib), 필라랄리십(pilaralisib), 두벨리십(duvelisib), PF-04691502, 복스탈리십(voxtalisib), 오미팔리십(omipalisib), 게타톨리십(gedatolisib), 아피톨리십(apitolisib), 또는 보르트만닌(wortmannin)을 포함하되 이들로 한정되지 않는 PI3 키나아제 억제제; MK-2206, 페리포신(perifosine), GSK690693, GSK2141795, 이파

타세르팁(ipatasertib), AZD5363, 아푸레세르팁(afuresertib), 또는 AT7867을 포함하되 이들로 한정되지 않는 AKT 키나아제 억제제; 5-아자시티딘 또는 5-아자-2'-데옥시시티딘을 포함하되 이들로 한정되지 않는 DNA 메틸화 억제제; 보르테조밉(bortezomib), 카르필조밉(carfilzomib), MLN9708, ONX 0912를 포함하되 이들로 한정됮 않는 프로테오좀 억제제(proteosomal inhibitor); 인터페론-알파(IFN-?); 클라드리빈(cladribine); 및 클로로퀸(chloroquine), 하이드록시클로로퀸(hydroxychloroquine), 또는 퀴나크린(quinacrine)을 포함하되 이들로 한정되지 않는 리소좀 향성제(lysosomotropic agent)

[0091] 특정 구현예에서, 추가 치료제는 5-아자시티딘, 5-아자-2'-데옥시시티딘, 및 클라드리빈으로부터 선택된다.

[0092] 특정 구현예에서, 필요로 하는 대상체는 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염; MAPKAP 경로 억제제(예: 트라메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙 또는 LY3009120) 중 하나 또는 둘; 및 5-아자시티딘의 조합으로 치료된다. 특정 구현예에서, MAPKAP 경로 억제제는 트라메티닙이다. 특정 구현예에서, MAPKAP 경로 억제제는 비니메티닙이다. 특정 구현예에서, MAPKAP 경로 억제제는 울리제르티닙이다. 특정 구현예에서, MAPKAP 경로 억제제는 LY3009120, 다브라페닙 또는 베무라페닙이다.

[0093] 특정 구현예에서, 필요로 하는 대상체는 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염; MAPKAP 경로 억제제(예: 트라메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙 또는 LY3009120); 및 5-아자-2'-데옥시시티딘의 조합으로 치료된다. 특정 구현예에서, MAPKAP 경로 억제제는 트라메티닙이다. 특정 구현예에서, MAPKAP 경로 억제제는 비니메티닙이다. 특정 구현예에서, MAPKAP 경로 억제제는 울리제르티닙이다. 특정 구현예에서, MAPKAP 경로 억제제는 LY3009120, 다브라페닙 또는 베무라페닙이다.

[0094] 특정 구현예에서, 필요로 하는 대상체는 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염; MAPKAP 경로 억제제(예: 트라메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙 또는 LY3009120); 및 클라드리빈의 조합으로 치료된다. 특정 구현예에서, MAPKAP 경로 억제제는 트라메티닙이다. 특정 구현예에서, MAPKAP 경로 억제제는 비니메티닙이다. 특정 구현예에서, MAPKAP 경로 억제제는 울리제르티닙이다. 특정 구현예에서, MAPKAP 경로 억제제는 LY3009120, 다브라페닙 또는 베무라페닙이다. 본 개시에 따라 투여될 수 있는 추가 치료제는 3산화비소(arsenic trioxide), 시클로포스파미드, 시타라빈, 다우노루비신, 독소루비신, 에나시데닙, 이다루비신, 퀴자티닙, 미톡산트론, 티오구아닌 또는 빈크리스틴을 포함하지만 이들로 한정되지는 않는다. 특정 구현예에서, AML을 갖는 대상체는 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 3산화비소, 시클로포스파미드, 시타라빈, 다우노루비신, 독소루비신, 에나시데닙, 이다루비신, 퀴자티닙, 미톡산트론, 티오구아닌, 또는 빈크리스틴의 조합으로 치료된다.

[0095] *약학적 조성물*

[0096] 본 발명의 양태는 본원에 개시된 화합물의 조합, 또는 이러한 화합물 및 약학적으로 허용 가능한 희석제, 부형제 또는 담체를 포함하는 하나 이상의 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 치료 방법에 관한 것이다. 특정 구현예에서, 본원에 개시된 방법은 c-KIT 억제제, 예를 들어, 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 약학적으로 허용 가능한 희석제, 부형제 또는 담체를 포함하는 제1 약학적 조성물; 및 MAPKAP 경로 억제제(예를 들어, 트라메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙, 또는 LY3009120), 및 약학적으로 허용 가능한 희석제, 부형제 또는 담체를 포함하는 제2 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 개시된 방법은 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 약학적으로 허용 가능한 희석제, 부형제 또는 담체를 포함하는 제1 약학적 조성물; 및 MAPKAP 경로 억제제(예를 들어, 트라메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙, 또는 LY3009120), 및 약학적으로 허용 가능한 희석제, 부형제 또는 담체를 포함하는 제2 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 개시된 방법은 c-KIT 억제제, 예를 들어, 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, MAPKAP 경로 억제제(예를 들어, 트라메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙, 또는 LY3009120), 및 약학적으로 허용 가능한 희석제, 부형제 또는 담체를 포함하는 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 개시된 방법은 화합물 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, MAPKAP 경로 억제제(예를 들어, 트라메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙, 또는 LY3009120), 및 약학적으로 허용 가능한 희석제, 부형제 또는 담체를 포함하는 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0097] 본원에 기술된 화합물의 약학적 조성물을 사용함에 있어서, 약학적으로 허용 가능한 담체는 고체 또는 액체일 수 있다. 고체 형태는 분말, 정제, 분산성 과립, 캡슐, 카세제 및 좌제를 포함한다. 분말 및 정제는 약 5 내지 약 95% 활성 성분들로 구성될 수 있다. 적절한 고체 담체는 당업계에 알려져 있다(예를 들어, 탄산 마그네슘, 스테아르산 마그네슘, 탈크, 설탕 또는 락토스). 정제, 분말, 카세제 및 캡슐은 경구 투여에 적합한 고형 제형으로 사용될 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 담체 및 다양한 조성물 제조 방법의 예는 A. Gennaro (ed.), Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, (1990), Mack Publishing Co., Easton, Pa에서 찾을 수

있으며, 이는 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다.

[0098] 액체 제제는 용액, 현탁액 및 유화액을 포함한다. 예를 들어, 비경구 주입용 물 또는 물-프로필렌 글라이콜 용액 또는 구강 용액, 현탁액 및 유화액용 감미료와 불투명체의 첨가. 액상 제제는 또한 비강 투여용 용액을 포함할 수 있다.

[0099] 특히 주사식 액체 조성물은, 예를 들어, 용해, 분산액 등에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 개시된 화합물은, 예를 들어, 물, 식염수, 수성 덱스트로오스, 글리세롤, 에탄올 등과 같은 약학적으로 허용 가능한 용매에 용해되거나 혼합되어 주사 가능한 등장액 또는 현탁액을 형성한다. 알부민, 킬로미크론 입자 또는 혈청 단백질과 같은 단백질이 개시된 화합물을 용해시키기 위해 사용될 수 있다.

[0100] 비경구 주사형 투여는 일반적으로 피하, 근육 내 또는 정맥내 주사 및 주입에 사용된다. 주사제는, 액체 용액 또는 현탁액 또는 주사 전에 액체에서 용해하기 적합한 고형으로, 통상적인 형태로 제조될 수 있다.

[0101] 흡입하기 적합한 에어로졸 제제가 또한 사용될 수 있다. 이들 제제는, 용액 및 분말 형태의 고체를 포함할 수 있으며, 불활성 압축 가스(예를 들어, 질소)와 같은 약학적으로 허용 가능한 담체와 조합될 수 있다.

[0102] 또한, 사용 직전에, 경구 또는 비경구 투여를 위한 액상 제제로 바꾸도록 의도된 고형 제제도 사용이 고려된다. 이러한 액상 제제는 용액, 현탁액 및 유화액을 포함한다.

[0103] *투여량*

[0104] 화합물 A 또는 화합물 B(또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염)가 치료 프로토콜을 위해 MAPKAP 경로 억제제(예를 들어, 트라메티닙, 비니메티닙, 울리제르티닙, 또는 LY3009120)와 조합하여 사용되는 일부 구현예에서, 2가지 치료제는 함께 투여되거나, 2가지 치료제가 별도로 조제되고 투여되는 "이중 요법(dual-regimen)"으로 투여될 수 있다. 화합물 A 또는 B(또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염) 및 MAPKAP 경로 억제제가 별도로 투여될 때, 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여되는 화합물 A 또는 화합물 B(또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염)의 전형적인 투여량은, 통상적으로, 약 5 mg/일 내지 약 5000 mg이고, 다른 구현예에서는 약 50 mg/일 내지 약 1000 mg/일이다. 다른 투여량은 약 10 mmol/일 내지 약 250 mmol/일, 약 20 mmol/일 내지 약 70 mmol/일, 또는 심지어 약 30 mmol/일 내지 약 60 mmol/일 일 수 있다. 표시된 효과를 위해 사용될 때, 개시된 화합물의 유효 투여량은 병태의 치료에 필요한대로 개시된 화합물의 약 0.5 mg 내지 약 5000 mg 범위이다. 생체 내 또는 시험관 내 사용을 위한 조성물은, 개시된 화합물을 약 0.5, 5, 20, 50, 75, 100, 150, 250, 500, 750, 1000, 1250, 2500, 3500, 또는 5000 mg 함유하거나, 투여량 목록 중 한 가지 양에서 또 다른 양까지의 범위로 함유할 수 있다. 경구 투여를 위한 통상적인 권장 일일 투여 처방은 약 1 mg/일 내지 약 500 mg/일 또는 1 mg/일 내지 200 mg/일 범위로 1회 투여되거나 2~4회로 나눠 투여될 수 있다. 일 구현예에서, 통상적인 일일 경구 투여 처방은 150 mg이다.

[0105] 특정 구현예에서, MAPKAP 경로 억제제의 투여량은 이전에 개시된 투여량 및/또는 식품의약국(Food and Drug Administration)에 의해 사용 승인된 투여량과 일치한다. 다른 구현예에서, MAPKAP 경로 억제제의 투여량은 이전에 승인된 투여량 미만이며, 예를 들어, 승인된 투여량의 약 20%, 약 50% 또는 약 80%이다. 특정 구현예에서, 트라메티닙의 투여량은 경구 투여용으로서 매일 약 5 mg 내지 20 mg, 예를 들어, 매일 약 1 mg 또는 매일 약 2 mg이다. 특정 구현예에서, 코비메티닙의 투여량은 매일 약 10 mg 내지 200 mg, 예를 들어, 매일 약 30 mg 또는 약 60 mg이다. 특정 구현예에서, 비니메티닙의 투여량은 매일 약 10 mg 내지 200 mg씩 2회, 예를 들어, 매일 약 25 mg 또는 약 45 mg씩 2회이다. 특정 구현예에서, 셀루메티닙의 투여량은 매일 약 10 mg 내지 약 200 mg, 또는 매일 약 30 mg 또는 약 75 mg씩 2회이다.

[0106] 본원에 기술된 화합물 및/또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 다른 치료제의 투여량 및 투여 빈도는 환자의 연령, 상태 및 체격뿐만 아니라 치료 중인 증상의 중증도와 같은 인자를 고려한 임상의의 판단에 따라 조절될 것이다.

[0107] 본 개시의 화합물(예를 들어, 화합물 A 또는 화합물 B (및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염), MAPKAP 경로 억제제, 및 기타 치료제)은 임의의 적합한 경로로 투여될 수 있다. 화합물은 캡슐, 현탁액, 정제, 알약, 당제, 액상, 겔, 시럽, 슬러리 등으로 경구(예를 들어, 식이) 투여될 수 있다. 조성물을 캡슐화하는 (예를 들어, 경질 젤라틴 또는 사이클로덱스트란으로 코팅하는) 방법이 당업계에 공지되어 있다(Baker 외, "Controlled Release of Biological Active Agents", John Wiley and Sons, 1986을 참조하고, 그 전체는 참조로서 본원에 통합됨). 화합물은 약학적 조성물의 일부로서, 허용 가능한 약학적 담체와 함께 대상체에게 투여될 수 있다. 약학적 조성물의 제형은 선택되는 투여 경로에 따라 달라지게 된다. 적절한 약학적 담체는 화합물과 상호작용하지 않는 불

활성 성분을 함유할 수 있다. 담체는 생체적합성(즉, 비독성, 비염증성, 비면역원성)이고, 투여 부위에서 다른 바람직하지 않은 반응이 없다.

[0108] 예시적인 약학적 조성물은 본원에 기술된 화합물, 예를 들어, 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 정제 및 젤라틴 캡슐이며, 약학적으로 허용 가능한 담체는: a) 희석제, 예를 들어, 정제수, 수소화 또는 부분적으로 수소화된 식물성 기름, 또는 이의 혼합물, 옥수수유, 올리브유, 해바라기유, 홍화유, EPA 또는 DHA와 같은 어유 또는 이들의 에스테르 또는 트리글리세리드 또는 혼합물, 오메가-3 지방산 또는 이들의 유도체, 락토스, 덱스트로스, 설탕, 만니톨, 소르비톨, 셀룰로스, 나트륨, 사카린, 포도당 및/또는 글리신 등; b) 윤활제, 예를 들어, 실리카, 활석, 스테아르산 또는 이의 마그네슘염 또는 칼슘 염, 올레산나트륨, 스테아린산나트륨, 스테아린산마그네슘, 벤조산나트륨, 아세트산나트륨, 염화나트륨 및/또는 폴리에틸렌 글리콜; 또한 정제용의 c) 결합제, 예를 들어, 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 녹말풀, 젤라틴, 트라간트, 메틸셀룰로스, 카르복시메틸셀룰로스 나트륨, 탄산마그네슘, 포도당 또는 베타-락토스, 옥수수 감미제와 같은 천연 설탕, 아카시아, 트라간트 또는 알긴산 나트륨과 같은 천연 및 인조 고무, 왁스 및/또는 폴리비닐피롤리돈 등; 원하는 경우의 d) 붕해제, 예를 들어, 녹말, 한천, 메틸셀룰로오스, 벤토나이트, 크산탄검, 알긴산 또는 이의 나트륨 염, 또는 포화제; e) 흡수제, 착색제, 향료 및 감미료; f) 유화제 또는 분산제, 예컨대 Tween 80, 라브라솔(Labrasol), HPMC, DOSS, 카프로일(caproyl) 909, 라브라팍(labrafac), 라브라필(labrafil), 페세올(peceol), 트랜스쿠톨(transcutol), 캡멀(capmul) MCM, 캡멀 PG-12, 캡텍스(captex) 355, 겔루치어(gelucire), 비타민 E TGPS 또는 다른 허용 가능한 유화제; 및/또는 g) 화합물의 흡수를 강화하는 제제, 예컨대, 시클로덱스트린, 하이드록시프로필-시클로덱스트린, PEG400, PEG200 등이다.

[0109] 고정 투여량으로 제형화되는 경우, 이러한 조합 생성물은 본원에 기술된 화합물을 본원에 기술된 투여량 범위 내에서 포함하거나, 당업자에게 알려진 바와 같이 포함한다.

[0110] 본원에 기술된 화합물(화합물 A와 B, 및 MAPKAP 경로 억제제)은 약학적 조성물에 사용하도록 의도되므로, 당업자는 이들이 실질적으로 순수한 형태로, 예를 들어, 적어도 60%(w/w)의 순도, 적어도 75%(w/w)의 순도, 적어도 85%(w/w)의 순도, 및 적어도 98%(w/w)의 순도로 제공될 수 있음을 이해할 것이다. 약학적 제제는 단위 투여 형태일 수 있다. 이러한 형태에서, 제제는 적절한 양의 화합물 A 또는 B를 함유하는 적절한 크기의 단위 용량, 예를 들어 본원에 기술된 대로 원하는 목적을 달성하기 위한 유효량으로 세분된다.

[0111] **실시예**

[0112] MAPKAP 경로 억제제와 조합하여 화합물 A 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 사용하는 치료는 전신 비만 세포증을 유발하는 돌연변이 c-KIT-유발 비만 세포의 세포자멸사를 예상 외로 그리고 상승적으로 유도한다는 것이 밝혀졌다. 또한, 이러한 병용 요법은 비만 세포증 세포의 증식을 억제한다. 또한, 본원에 개시된 병용 요법은 병용 치료로 유도된 카스파제 활성화에 의해 결정된 것과 같은 단지 세포 파괴성 효과와 반대로, 비만 세포증에 대한 세포독성 효과를 갖는 것으로 나타났다. 본원에 기술된 것들을 포함하여, 이러한 예상 외의 발견에 대한 특성 분석을 생화학적 검정 및 세포 검정에서 수행하였다.

[0113] 따라서, 본 개시는 다음의 실시예에 의해 추가로 예시되는데, 이들 실시예는 본 개시의 범위 또는 사상을 본원에 기술된 특정 절차로 제한하는 것으로 간주되어서는 안된다. 실시예는 특정 구현예를 예시적으로 보여주기 위해 제공되고, 본 개시의 범주에 대한 어떠한 제한도 의도되지 않음을 이해해야 한다. 본 개시의 사상 및/또는 첨부된 청구항의 범위로부터 벗어남 없이 당업자에게 그 자체로 제안할 수 있는 다양한 구현예, 변형예, 및 균등물로 이루어질 수 있음을 추가로 이해해야 한다.

[0114] **실시예 1. 화합물 A 또는 화합물 B를 사용한 돌연변이체 KIT 비만 세포주의 치료는 비만 세포증 세포주의 세포 증식 및 KIT 인산화를 억제한다**

[0115] 화합물 A 또는 화합물 B를 사용하는 치료가 돌연변이체 KIT HMC1.1 KIT V560G 및 HMC1.2 KIT V560G/D816V 비만 세포주의 세포 증식을 억제하였음을 입증하는 연구를 수행하였다. 웰당 10,000개의 세포가 시딩된 96웰 플레이트에서 검정을 수행하였다. 다양한 농도의 비히클 대조군, 화합물 A 또는 화합물 B로 세포를 치료하고, 72시간 동안 성장시킨 다음, 세포 증식을 평가하였다.

[0116] 도 1a는 화합물 A의 다양한 농도에 대해 결정된 세포 증식의 상대 백분율을 그래프로 표현한 것이다. 화합물 A를 사용한 치료는 HMC1.1 V560G 비만 세포주 및 HMC1.2 V560G/D816V 비만 세포주에서 각각 2.6 nM 및 97 nM의 IC50 값으로 세포 증식 성장을 억제하였다.

[0117] 도 1b는 화합물 B의 다양한 농도에 대해 결정된 세포 증식의 상대 백분율을 그래프로 표현한 것이다. 화합물 B

를 사용한 치료는 HMC1.1 V560G 비만 세포주 및 HMC1.2 V560G/D816V 세포주에서 각각 2.3 nM 및 61 nM의 IC50 값으로 세포 증식 성장을 억제하였다.

[0118] **실시예 2. 화합물 A와 트라메티닙을 사용하는 병용 치료는 비만 세포증 세포주에서 세포자멸사를 유도한다**

[0119] 화합물 A와 MEK 억제제 트라메티닙을 사용하는 병용 치료가 HMC1.2 KIT V560G/D816V 비만 세포증 세포주에서 세포자멸사를 유도했음을 입증하기 위한 연구를 수행하였다. 웰당 10,000개의 세포가 시딩된 96웰 플레이트에서 검정을 수행하였다. 다양한 농도의 비히클 대조군, 화합물 A, 트라메티닙 또는 이들의 조합으로 세포를 치료하고, 24시간 동안 세포를 성장시켰다. 카스파제 3/7 활성을 측정하여 세포자멸사를 평가하였다.

[0120] 도 2a는 다양한 치료에 대해 결정된 세포자멸사의 상대 백분율을 그래프로 표현한 것이다. 도 2b는 Chou 및 Talalay(1984)에 의해 기술된 조합 지수법(CI) 및 Chou 및 Martin(2005)의 컴퓨터 소프트웨어에 기초한 상승 효과 차트용 매트릭스이다. CI<1은 상승 작용을 나타내고, CI =1은 부가 효과를 나타내며, CI>1은 길항 작용을 나타낸다. 화합물 A와 MEK 억제제 트라메티닙을 사용한 병용 치료는 예상 외로 HMC1.2 KIT V560G/D816V 세포의 세포자멸사를 유도하는 데 강력한 상승 작용을 나타냈다. 도 2c는 HMC1.2 KIT V560G/D816V 비만 세포의 세포자멸사를 유도하는 데 화합물 A와 트라메티닙의 조합의 강력한 상승 작용을 입증하는, CI의 조합 지수 도표이다.

[0121] **실시예 3. 화합물 B와 트라메티닙을 사용하는 병용 치료는 비만 세포증 세포주에서 세포자멸사를 유도한다**

[0122] 화합물 B와 트라메티닙을 사용하는 병용 치료가 HMC1.2 KIT V560G/D816V 비만 세포증 세포주에서 세포자멸사를 유도했음을 입증하기 위한 연구를 또한 수행하였다. 검정은 실시예 2에서 설명된 바와 같이 수행하였다. 카스파제 3/7 활성을 측정하여 세포자멸사를 평가하였다.

[0123] 도 3a는 다양한 치료에 대해 결정된 세포자멸사의 상대 백분율을 그래프로 표현한 것이다. 도 3b는 Chou 및 Talalay(1984)에 의해 기술된 조합 지수법(CI) 및 Chou 및 Martin(2005)의 컴퓨터 소프트웨어에 기초한 상승 효과 차트용 매트릭스이다. CI<1은 상승 작용을 나타내고, CI =1은 부가 효과를 나타내며, CI>1은 길항 작용을 나타낸다. 화합물 B와 MEK 억제제 트라메티닙을 사용한 병용 치료는 예상 외로 HMC1.2 KIT V560G/D816V 세포의 세포자멸사를 유도하는 데 강력한 상승 작용을 나타냈다. 도 3c는 HMC1.2 KIT V560G/D816V 비만 세포의 세포자멸사를 유도하는 데 화합물 B와 트라메티닙의 조합의 강력한 상승 작용을 입증하는, CI의 조합 지수 도표이다.

[0124] **실시예 4. 화합물 A와 비니메티닙을 사용하는 병용 치료는 비만 세포증 세포주에서 세포자멸사를 유도한다**

[0125] 화합물 A와 비니메티닙을 사용하는 병용 치료도 HMC1.2 KIT V560G/D816V 비만 세포증 세포주에서 세포자멸사를 유도하였다 검정은 실시예 2에서 설명된 바와 같이 수행하였다. 카스파제 3/7 활성을 측정하여 세포자멸사를 평가하였다.

[0126] 도 4a는 다양한 치료에 대해 결정된 세포자멸사의 상대 백분율을 그래프로 표현한 것이다. 도 4b는 Chou 및 Talalay(1984)에 의해 기술된 조합 지수법(CI) 및 Chou 및 Martin(2005)의 컴퓨터 소프트웨어에 기초한 상승 효과 차트용 매트릭스이다. 화합물 A와 MEK 억제제 비니메티닙을 사용한 병용 치료는 예상 외로 HMC1.2 KIT V560G/D816V 세포의 세포자멸사를 유도하는 데 강력한 상승 작용을 나타냈다. 도 4c는 HMC1.2 KIT V560G/D816V 비만 세포의 세포자멸사를 유도하는 데 화합물 A와 비니메티닙의 조합의 강력한 상승 작용을 입증하는, CI의 조합 지수 도표이다.

[0127] **실시예 5. 화합물 B와 비니메티닙을 사용하는 병용 치료는 비만 세포증 세포주에서 세포자멸사를 유도한다**

[0128] 도 5a는 화합물 B와 비니메티닙의 다양한 치료에 대해 결정된 세포자멸사의 상대 백분율을 그래프로 표현한 것이다. 도 5b는 Chou 및 Talalay(1984)에 의해 기술된 조합 지수법(CI) 및 Chou 및 Martin(2005)의 컴퓨터 소프트웨어에 기초한 상승 효과 차트용 매트릭스이다. CI<1은 상승 작용을 나타내고, CI =1은 부가 효과를 나타내며, CI>1은 길항 작용을 나타낸다. 화합물 B와 MEK 억제제 비니메티닙을 사용한 병용 치료는 예상 외로 HMC1.2 KIT V560G/D816V 세포의 세포자멸사를 유도하는 데 강력한 상승 작용을 나타냈다. 도 5c는 HMC1.2 KIT V560G/D816V 비만 세포의 세포자멸사를 유도하는 데 화합물 B와 비니메티닙의 조합의 강력한 상승 작용을 입증하는, CI의 조합 지수 도표이다.

[0129] **실시예 6. 화합물 A와 코비메티닙을 사용하는 병용 치료는 비만 세포증 세포주에서 세포자멸사를 유도한다**

[0130] 도 6a는 화합물 A와 코비메티닙의 다양한 치료에 대해 결정된 세포자멸사의 상대 백분율을 그래프로 표현한 것이다. 도 6b는 Chou 및 Talalay(1984)에 의해 기술된 조합 지수법(CI) 및 Chou 및 Martin(2005)의 컴퓨터 소프트웨어에 기초한 상승 효과 차트용 매트릭스이다. 화합물 A와 MEK 억제제 코비메티닙을 사용한 병용 치료는 예

상 외로 HMC1.2 KIT V560G/D816V 세포의 세포자멸사를 유도하는 데 강력한 상승 작용을 나타냈다. 도 6c는 HMC1.2 KIT V560G/D816V 비만 세포의 세포자멸사를 유도하는 데 화합물 A와 코비메티닙의 조합의 강력한 상승 작용을 입증하는, CI의 조합 지수 도표이다.

[0131] **실시예 7. 화합물 B와 코비메티닙을 사용하는 병용 치료는 비만 세포증 세포주에서 세포자멸사를 유도한다**

[0132] 도 7a는 화합물 B와 코비메티닙의 다양한 치료에 대해 결정된 세포자멸사의 상대 백분율을 그래프로 표현한 것이다. 도 7b는 Chou 및 Talalay(1984)에 의해 기술된 조합 지수법(CI) 및 Chou 및 Martin(2005)의 컴퓨터 소프트웨어에 기초한 상승 효과 차트용 매트릭스이다. CI<1은 상승 작용을 나타내고, CI =1은 부가 효과를 나타내며, CI>1은 길항 작용을 나타낸다. 화합물 B와 MEK 억제제 코비메티닙을 사용한 병용 치료는 예상 외로 HMC1.2 KIT V560G/D816V 세포의 세포자멸사를 유도하는 데 강력한 상승 작용을 나타냈다. 도 7c는 HMC1.2 KIT V560G/D816V 비만 세포의 세포자멸사를 유도하는 데 화합물 B와 코비메티닙의 조합의 강력한 상승 작용을 입증하는, CI의 조합 지수 도표이다.

[0133] **실시예 8. 화합물 A와 울리제르티닙을 사용하는 병용 치료는 비만 세포증 세포주에서 세포자멸사를 유도한다**

[0134] 도 8a는 화합물 A와 ERK 억제제 울리제르티닙의 다양한 치료에 대해 결정된 세포자멸사의 상대 백분율을 그래프로 표현한 것이다. 도 8b는 Chou 및 Talalay(1984)에 의해 기술된 조합 지수법(CI) 및 Chou 및 Martin(2005)의 컴퓨터 소프트웨어에 기초한 상승 효과 차트용 매트릭스이다. 화합물 A와 울리제르티닙을 사용한 병용 치료는 예상 외로 HMC1.2 KIT V560G/D816V 세포의 세포자멸사를 유도하는 데 강력한 상승 작용을 나타냈다. 도 8c는 HMC1.2 KIT V560G/D816V 비만 세포의 세포자멸사를 유도하는 데 화합물 A와 울리제르티닙의 조합의 강력한 상승 작용을 입증하는, CI의 조합 지수 도표이다.

[0135] **실시예 9. 화합물 B와 울리제르티닙을 사용하는 병용 치료는 비만 세포증 세포주에서 세포자멸사를 유도한다**

[0136] HMC1.2 KIT V560G/D816V 비만 세포에서의 세포자멸사 유도에 대해 화합물 B와 ERK 억제제 울리제르티닙의 병용 치료를 평가할 수 있다. 조합 지수법(CI)에 기초한 상승 효과 차트용 매트릭스는 Chou 및 Talalay(1984)에 의해 기술된 바와 같이 Chou 및 Martin(2005)의 컴퓨터 소프트웨어에 의해 생성할 수 있다. 화합물 B와 울리제르티닙을 사용한 병용 치료는 HMC1.2 KIT V560G/D816V 세포의 세포자멸사를 유도하기 위한 상승 작용을 나타내도록 사용할 수 있다. CI의 조합 지수 도표는 HMC1.2 KIT V560G/D816V 비만 세포의 세포자멸사를 유도하기 위한 화합물 B와 울리제르티닙의 조합의 상승 작용을 입증하도록 사용될 수 있다.

[0137] **실시예 10. 화합물 A와 SCH772984를 사용하는 병용 치료는 비만 세포증 세포주에서 세포자멸사를 유도한다**

[0138] HMC1.2 KIT V560G/D816V 비만 세포에서의 세포자멸사 유도에 대해 화합물 A와 ERK 억제제 SCH772984의 병용 치료를 평가할 수 있다. 조합 지수법(CI)에 기초한 상승 효과 차트용 매트릭스는 Chou 및 Talalay(1984)에 의해 기술된 바와 같이 Chou 및 Martin(2005)의 컴퓨터 소프트웨어에 의해 생성할 수 있다. 화합물 A와 SCH772984를 사용한 병용 치료는 HMC1.2 KIT V560G/D816V 세포의 세포자멸사를 유도하기 위한 상승 작용을 나타내도록 사용할 수 있다. CI의 조합 지수 도표는 HMC1.2 KIT V560G/D816V 비만 세포의 세포자멸사를 유도하기 위한 화합물 A와 SCH772984의 조합의 상승 작용을 입증하도록 사용될 수 있다.

[0139] **실시예 11. 화합물 B와 SCH772984를 사용하는 병용 치료는 비만 세포증 세포주에서 세포자멸사를 유도한다**

[0140] HMC1.2 KIT V560G/D816V 비만 세포에서의 세포자멸사 유도에 대해 화합물 B와 ERK 억제제 SCH772984의 병용 치료를 평가할 수 있다. 조합 지수법(CI)에 기초한 상승 효과 차트용 매트릭스는 Chou 및 Talalay(1984)에 의해 기술된 바와 같이 Chou 및 Martin(2005)의 컴퓨터 소프트웨어에 의해 생성할 수 있다. 화합물 A와 SCH772984를 사용한 병용 치료는 HMC1.2 KIT V560G/D816V 세포의 세포자멸사를 유도하기 위한 상승 작용을 나타내도록 사용할 수 있다. CI의 조합 지수 도표는 HMC1.2 KIT V560G/D816V 비만 세포의 세포자멸사를 유도하기 위한 화합물 B와 SCH772984의 조합의 상승 작용을 입증하도록 사용될 수 있다.

[0141] **실시예 12. 화합물 A와 LY3009120을 사용하는 병용 치료는 비만 세포증 세포주에서 세포자멸사를 유도한다**

[0142] HMC1.2 KIT V560G/D816V 비만 세포에서의 세포자멸사 유도에 대해 화합물 A와 RAF 억제제 LY3009120의 병용 치료를 평가할 수 있다. 조합 지수법(CI)에 기초한 상승 효과 차트용 매트릭스는 Chou 및 Talalay(1984)에 의해 기술된 바와 같이 Chou 및 Martin(2005)의 컴퓨터 소프트웨어에 의해 생성할 수 있다. 화합물 A와 LY3009120을 사용한 병용 치료는 HMC1.2 KIT V560G/D816V 세포의 세포자멸사를 유도하기 위한 상승 작용을 나타내도록 사용할 수 있다. CI의 조합 지수 도표는 HMC1.2 KIT V560G/D816V 비만 세포의 세포자멸사를 유도하기 위한 화합물 A

와 LY3009120의 조합의 강력한 상승 작용을 입증하도록 사용될 수 있다.

[0143] **실시예 13. 화합물 B와 LY3009120을 사용하는 병용 치료는 비만 세포증 세포주에서 세포자멸사를 유도한다**

[0144] HMC1.2 KIT V560G/D816V 비만 세포에서의 세포자멸사 유도에 대해 화합물 B와 RAF 억제제 LY3009120의 병용 치료를 평가할 수 있다. 조합 지수법(CI)에 기초한 상승 효과 차트용 매트릭스는 Chou 및 Talalay(1984)에 의해 기술된 바와 같이 Chou 및 Martin(2005)의 컴퓨터 소프트웨어에 의해 생성할 수 있다. 화합물 B와 LY3009120을 사용한 병용 치료는 HMC1.2 KIT V560G/D816V 세포의 세포자멸사를 유도하기 위한 상승 작용을 나타내도록 사용할 수 있다. CI의 조합 지수 도표는 HMC1.2 KIT V560G/D816V 비만 세포의 세포자멸사를 유도하기 위한 화합물 B와 LY3009120의 조합의 상승 작용을 입증하도록 사용될 수 있다.

[0145] **실시예 14. 화합물 A와 트라메티닙과의 병용 치료는 HMC1.2 KIT D816V 비만 세포주의 콜로니 증식의 상승적 감소를 유도한다.**

[0146] 화합물 A와 MEK 억제제 트라메티닙의 병용 치료가 각각의 단일 제제를 사용하는 치료에 비해 HMC1.2의 콜로니 증식을 감소시킨다는 것을 입증하기 위한 연구를 수행하였다. 10,000개의 HMC1.2 세포를 부드러운 한천에서 성장시키고 다양한 농도의 화합물 A, 트라메티닙, 또는 화합물 A 및 트라메티닙의 조합과 함께 10일 동안 배양하였다. 약물 치료를 중단하고 추가로 5일 후에 생존 세포의 콜로니 성장을 모니터링하였다.

[0147] 도 9a는 단일 제제로서의 트라메티닙(0, 10 또는 25 nM), 화합물 A(0, 25 또는 50 nM), 또는 다양한 농도의 화합물 A와 다양한 농도의 트라메티닙의 조합을 사용하여 치료한 후 HMC1.2 비만 세포 콜로니 증식의 대표적인 도면이다. 화합물 A 또는 트라메티닙을 단일 제제로 사용한 치료는, 약물 중단 5일 후에, 모든 농도에서 콜로니 증식을 야기한 반면, 트라메티닙과 화합물 A의 조합을 사용한 경우, 약물 중단 5일 후에, 콜로니 증식이 더 적게 나타났다. 화합물 A(25 nM)와 트라메티닙(25 nM)의 조합은, 약물 중단 5일 후에 콜로니 증식을 완전히 근절시켰다. 화합물 A(50 nM)와 트라메티닙(10 또는 25 nM)의 조합은, 약물 중단 5일 후에, 5X 대물렌즈 현미경으로 시각화하여 결정했을 때, 생존 HMC1.2 세포를 검출 한계까지 완전히 근절시킨 반면, 단일 제제인 화합물 A 또는 단일 제제인 트라메티닙을 사용해 치료한 경우 근절이 관찰되지 않았다. 화합물 A(50 nM)와 트라메티닙(10 및 25 nM)을 조합하여 사용했을 때, 약물 중단 후 8일을 추가하여(총 13일) 콜로니 증식을 추가 연장한 경우에도 콜로니 증식의 검출 한계까지 근절이 유지되었다. 그러나, 화합물 A(25 nM)와 트라메티닙(25 nM)을 조합하여 사용했을 때, 8일 동안 추가로 인큐베이션한 후 약 15~20개의 콜로니가 증식되었다. (도 9a 우측 패널).

[0148] 도 9b는 도 9a에서의 다양한 치료 후 HMC1.2 비만 세포의 콜로니 증식을 정량화하여 그래프로 표현한 것이다. 50 nM의 화합물 A와 10 nM 또는 25 nM의 트라메티닙을 사용한 병용 치료는, 5X 대물렌즈 현미경으로 시각화하여 결정했을 때, 예상 외로 검출 한계까지 콜로니 증식을 근절시켰다(도 9b의 화살표 참조). 25 nM의 화합물 A와 25 nM의 트라메티닙을 사용한 병용 치료는, 5X 대물렌즈 현미경으로 시각화하여 결정했을 때, 예상 외로 검출 한계까지 콜로니 증식을 근절시켰다(도 9b의 화살표 참조). 단일 제제 화합물 A 또는 트라메티닙을 사용하여 치료한 경우에는 근절이 관찰되지 않았다.

[0149] **실시예 15. 화합물 B와 트라메티닙과의 병용 치료는 HMC1.2 KIT D816V 비만 세포주의 콜로니 증식을 상승적으로 감소시킨다**

[0150] HMC1.2 세포에서의 콜로니 증식 감소를 평가하기 위해 화합물 B와 MEK 억제제 트라메티닙을 사용해 실시예 14에 기술된 바와 같이 연구를 수행하였다.

[0151] 도 10a는 단일 제제로서의 트라메티닙(0, 10 또는 25 nM), 화합물 B(0, 25 또는 50 nM), 또는 다양한 농도의 화합물 B와 다양한 농도의 트라메티닙의 조합을 사용하여 치료한 후 HMC1.2 비만 세포 콜로니 증식의 대표적인 도면이다. 화합물 B 또는 트라메티닙을 단일 제제로 사용한 치료는, 약물 중단 5일 후에, 모든 농도에서 콜로니 증식을 야기한 반면, 트라메티닙과 화합물 B의 조합을 사용한 경우, 약물 중단 5일 후에, 콜로니 증식이 더 적게 나타났다. 화합물 B(25 nM)와 트라메티닙(25 nM)의 조합은 약물 중단 5일 후에 생존 HMC1.2 세포의 증식을 상당히 감소시켰다. 화합물 B(50 nM)와 트라메티닙(10 또는 25 nM)의 조합은, 약물 중단 5일 후에, 5X 대물렌즈 현미경으로 시각화하여 결정했을 때, 생존 HMC1.2 세포를 검출 한계까지 완전히 근절시킨 반면, 단일 제제인 화합물 B 또는 단일 제제인 트라메티닙을 사용해 치료한 경우 근절이 관찰되지 않았다. 화합물 A(50 nM)와 트라메티닙(25 nM)을 조합하여 사용했을 때, 약물 중단 후 8일을 추가하여(총 13일) 콜로니 증식을 추가 연장한 경우에도 콜로니 증식의 검출 한계까지 근절이 유지되었다.

[0152] 도 10b는 도 10a에서의 다양한 치료 후 HMC1.2 비만 세포의 콜로니 증식을 정량화하여 그래프로 표현한 것이다. 50 nM의 화합물 B와 10 nM 또는 25 nM의 트라메티닙을 사용한 병용 치료는, 5X 대물렌즈 현미경으로 시각화하여

결정했을 때, 예상 외로 검출 한계까지 콜로니 증식을 근절시킨 반면, 단일 제제 화합물 B 또는 트라메티닙을 사용하여 치료한 경우에는 근절이 관찰되지 않았다(도 10b의 화살표 참조).

[0153] **실시예 16. 화합물 A와 비니메티닙과의 병용 치료는 HMC1.2 KIT D816V 비만 세포주의 콜로니 증식을 상승적으로 감소시킨다**

[0154] 도 11a는 단일 제제로서의 비니메티닙(0, 250 또는 500 nM), 화합물 A(0, 25 또는 50 nM), 또는 다양한 농도의 화합물 A와 다양한 농도의 비니메티닙의 매트릭스 조합을 사용하여 치료한 후 HMC1.2 비만 세포 콜로니 증식의 대표적인 도면이다. 화합물 A 또는 비니메티닙을 단일 제제로 사용한 치료는, 약물 중단 5일 후에, 모든 농도에서 콜로니 증식을 야기한 반면, 비니메티닙과 화합물 A의 조합을 사용한 경우, 약물 중단 5일 후에, 콜로니 증식이 더 적게 나타났다. 화합물 A(25 nM)와 비니메티닙(250 nM)의 조합은 약물 중단 5일 후에 생존 HMC1.2 세포의 증식을 상당히 감소시켰다. 화합물 A(50 nM)와 비니메티닙(250 nM 또는 500 nM)의 조합은, 약물 중단 5일 후에, 5X 대물렌즈 현미경으로 시각화하여 결정했을 때, 생존 HMC1.2 세포를 검출 한계까지 완전히 근절시킨 반면, 단일 제제인 화합물 A 또는 단일 제제인 비니메티닙을 사용해 치료한 경우 근절이 관찰되지 않았다. 화합물 A(50 nM)와 비니메티닙(500 nM)을 조합하여 사용했을 때, 약물 중단 후 8일을 추가하여(총 13일) 콜로니 증식을 추가 연장한 경우에도 콜로니 증식의 검출 한계까지 근절이 유지되었다. 그러나, 화합물 A(50 nM)와 비니메티닙(250 nM)의 조합을 사용한 경우 약 10~15개의 콜로니가 증식되었다.

[0155] 도 11b는 도 11a에서의 다양한 치료 후 HMC1.2 비만 세포의 콜로니 증식을 정량화하여 그래프로 표현한 것이다. 50 nM의 화합물 A와 250 nM 또는 500 nM의 비니메티닙을 사용한 병용 치료는, 5X 대물렌즈 현미경으로 시각화하여 결정했을 때, 예상 외로 검출 한계까지 콜로니 증식을 근절시킨 반면, 단일 제제 화합물 A 또는 비니메티닙을 사용하여 치료한 경우에는 근절이 관찰되지 않았다(도 11b의 화살표 참조).

[0156] **실시예 17. 화합물 B와 비니메티닙과의 병용 치료는 HMC1.2 KIT D816V 비만 세포주의 콜로니 증식을 상승적으로 감소시킨다**

[0157] 도 12a는 단일 제제로서의 비니메티닙(0, 250 또는 500 nM), 화합물 B(0, 25 또는 50 nM), 또는 다양한 농도의 화합물 B와 다양한 농도의 비니메티닙의 매트릭스 조합을 사용하여 치료한 후 HMC1.2 비만 세포 콜로니 증식의 대표적인 도면이다. 화합물 B 또는 비니메티닙을 단일 제제로 사용한 치료는, 약물 중단 5일 후에, 모든 농도에서 콜로니 증식을 야기한 반면, 비니메티닙과 화합물 B의 조합을 사용한 경우, 약물 중단 5일 후에, 콜로니 증식이 더 적게 나타났다. 화합물 B(25 nM)와 비니메티닙(250 nM)의 조합은 약물 중단 5일 후에 생존 HMC1.2 세포의 증식을 상당히 감소시켰다. 화합물 B(25 nM)와 비니메티닙(500 nM)의 조합은, 약물 중단 5일 후에, 5X 대물렌즈 현미경으로 시각화하여 결정했을 때, 생존 HMC1.2 세포의 증식을 검출 한계까지 완전히 근절시켰다. 화합물 B(50 nM)와 비니메티닙(250 nM 또는 500 nM)의 조합은, 약물 중단 5일 후에, 5X 대물렌즈 현미경으로 시각화하여 결정했을 때, 생존 HMC1.2 세포를 검출 한계까지 완전히 근절시킨 반면, 단일 제제인 화합물 B 또는 단일 제제인 비니메티닙을 사용해 치료한 경우 근절이 관찰되지 않았다. 화합물 B(50 nM)와 비니메티닙(250 또는 500 nM)의 조합 및 화합물 B(25 nM)와 비니메티닙(500 nM)의 조합을 사용했을 때, 약물 중단 후 8일을 추가하여(총 13일) 콜로니 증식을 추가 연장한 경우에도 콜로니 증식의 검출 한계까지 근절이 유지되었다.

[0158] 도 12b는 도 12a에서의 다양한 치료 후 HMC1.2 비만 세포의 콜로니 증식을 정량화하여 그래프로 표현한 것이다. 25 nM의 화합물 B와 500 nM의 비니메티닙을 사용한 병용 치료 및 50 nM의 화합물 B와 250 nM 또는 500 nM의 비니메티닙을 사용한 병용 치료는, 5X 대물렌즈 현미경으로 시각화하여 결정했을 때, 예상 외로 검출 한계까지 콜로니 증식을 근절시킨 반면, 단일 제제 화합물 B 또는 비니메티닙을 사용하여 치료한 경우에는 근절이 관찰되지 않았다(도 12b의 화살표 참조).

[0159] **실시예 18. 화합물 A와 코비메티닙과의 병용 치료는 HMC1.2 KIT D816V 비만 세포주의 콜로니 증식을 상승적으로 감소시킨다**

[0160] 도 13a는 단일 제제로서의 코비메티닙(0, 25 또는 50 nM), 화합물 A(0, 25 또는 50 nM), 또는 다양한 농도의 화합물 A와 다양한 농도의 코비메티닙의 매트릭스 조합을 사용하여 치료한 후 HMC1.2 비만 세포 콜로니 증식의 대표적인 도면이다. 화합물 A 또는 코비메티닙을 단일 제제로 사용한 치료는, 약물 중단 5일 후에, 모든 농도에서 콜로니 증식을 야기한 반면, 코비메티닙과 화합물 A의 조합을 사용한 경우, 단일 제제로 치료한 경우에 비해 약물 중단 5일 후에 콜로니 증식이 더 적게 나타났다. 화합물 A(50 nM)와 코비메티닙(25 또는 50 nM)의 조합은 약물 중단 5일 후에 생존 HMC1.2 세포의 증식을 상당히 감소시켰다.

[0161] 도 13b는 도 13a에서의 다양한 치료 후 HMC1.2 비만 세포의 콜로니 증식을 정량화하여 그래프로 표현한 것이다.

50 nM의 화합물 A와 25 nM 또는 50 nM의 코비메티닙을 사용한 병용 치료는 단일 제제 화합물 A 또는 코비메티닙과 비교해 콜로니 증식을 상당히 감소시켰다.

[0162] **실시예 19. 화합물 B와 코비메티닙과의 병용 치료는 HMC1.2 KIT D816V 비만 세포주의 콜로니 증식의 상승적 감소를 유도한다**

[0163] 도 14a는 단일 제제로서의 코비메티닙(0, 25 또는 50 nM), 화합물 B(0, 25 또는 50 nM), 또는 다양한 농도의 화합물 B와 다양한 농도의 코비메티닙의 매트릭스 조합을 사용하여 치료한 후 HMC1.2 비만 세포 콜로니 증식의 대표적인 도면이다. 화합물 B 또는 코비메티닙을 단일 제제로 사용한 치료는, 약물 중단 5일 후에, 모든 농도에서 콜로니 증식을 야기한 반면, 코비메티닙과 화합물 B의 조합을 사용한 경우, 단일 제제로 치료한 경우에 비해 약물 중단 5일 후에 콜로니 증식이 더 적게 나타났다. 화합물 B(50 nM)와 코비메티닙(25 또는 50 nM)의 조합은 약물 중단 5일 후에 생존 HMC1.2 세포의 증식을 상당히 감소시켰다.

[0164] 도 14b는 도 14a에서의 다양한 치료 후 HMC1.2 비만 세포의 콜로니 증식을 정량화하여 그래프로 표현한 것이다. 50 nM의 화합물 B와 25 nM 또는 50 nM의 코비메티닙을 사용한 병용 치료는 단일 제제 화합물 A 또는 코비메티닙과 비교해 콜로니 증식을 상당히 감소시켰다.

[0165] **실시예 20. 화합물 A와 ERK 억제제 울리제르티닙의 병용 치료는 HMC1.2 KIT D816V 비만 세포주의 콜로니 증식을 감소시킨다**

[0166] 화합물 A와 울리제르티닙의 병용 치료는 실시예 14의 방법에 따라 HMC1.2 KIT D816V 비만 세포주의 콜로니 증식 억제에 대해 평가될 수 있다.

[0167] **실시예 21. 화합물 B와 ERK 억제제 울리제르티닙의 병용 치료는 HMC1.2 KIT D816V 비만 세포주의 콜로니 증식을 감소시킨다**

[0168] 화합물 B와 울리제르티닙의 병용 치료는 실시예 14의 방법에 따라 HMC1.2 KIT D816V 비만 세포주의 콜로니 증식 억제에 대해 평가될 수 있다.

[0169] **실시예 22. 화합물 A와 RAF 억제제 LY3009120의 병용 치료는 HMC1.2 KIT D816V 비만 세포주의 콜로니 증식을 감소시킨다**

[0170] 화합물 A와 RAF 억제제 LY3009120의 병용 치료는 실시예 14의 방법에 따라 HMC1.2 KIT D816V 비만 세포주의 콜로니 증식 억제에 대해 평가될 수 있다.

[0171] **실시예 23. 화합물 B와 LY3009120의 병용 치료는 HMC1.2 KIT D816V 비만 세포주의 콜로니 증식을 감소시킨다**

[0172] 화합물 B와 RAF 억제제 LY3009120의 병용 치료는 실시예 14의 방법에 따라 HMC1.2 KIT D816V 비만 세포주의 콜로니 증식 억제에 대해 평가될 수 있다.

[0173] **실시예 24. 화합물 A와 MEK 억제제 트라메티닙의 병용 치료는 돌연변이체 N-ras G12D로 형질감염된 HMC1.2 KIT V560G/D816V 비만 세포증 세포주에서 세포자멸사를 유도한다**

[0174] 화합물 A와 트라메티닙을 사용하는 병용 치료가 돌연변이체 N-ras G12D로 형질감염된 HMC1.2 V560G/D816V 세포에서 세포자멸사를 유도했음을 입증하기 위한 연구를 수행하였다. 웰당 10,000개의 세포가 시딩된 96웰 플레이트에서 검정을 수행하였다. 다양한 농도의 비히클 대조군, 화합물 A, 트라메티닙 또는 이들의 조합으로 세포를 치료하고, 24시간 및 48시간 동안 세포를 성장시켰다. 카스파제 3/7 활성을 측정하여 세포자멸사를 평가하였다.

[0175] 도 15a는 24시간 동안의 다양한 치료에 대해 결정된 카스파제 활성의 상대 백분율을 그래프로 표현한 것이다. 화합물 A와 트라메티닙을 사용한 24시간 동안의 병용 치료는 공 벡터(EV)로 형질감염된 HMC1.2 V560G/D816V 세포(좌측 패널) 또는 돌연변이체 N-ras G12D로 형질감염된 HMC1.2 V560G/D816V 세포(우측 패널)의 세포자멸사를 유도하였다. 화합물 A와 트라메티닙의 조합은 EV-형질감염 HMC1.2 세포 및 N-ras G12D 형질감염 HMC1.2 세포에서 세포자멸사를 상승적으로 증가시켰다.

[0176] 도 15b는 48시간 동안의 다양한 치료에 대해 결정된 카스파제 활성의 상대 백분율을 그래프로 표현한 것이다. 화합물 A와 트라메티닙을 사용한 48시간 동안의 병용 치료는 공 벡터(EV)로 형질감염된 HMC1.2 V560G/D816V 세포(좌측 패널) 또는 돌연변이체 N-ras G12D로 형질감염된 HMC1.2 V560G/D816V 세포(우측 패널)의 세포자멸사를 유도하였다. 화합물 A와 트라메티닙의 조합은 EV-형질감염 HMC1.2 세포 및 N-ras G12D 형질감염 HMC1.2 세포에서 세포자멸사를 상승적으로 증가시켰다. 세포자멸사는 EV 형질감염 세포보다 N-ras 형질감염된 세포에서 더 높

았다.

[0177] **실시예 25. 화합물 A와 MEK 억제제 코비메티닙의 병용 치료는 돌연변이체 N-ras G12D로 형질감염된 HMC1.2 KIT V560G/D816V 비만 세포증 세포주에서 세포자멸사를 유도한다**

[0178] 도 16a는 24시간 동안의 다양한 치료에 대해 결정된 카스파제 활성의 상대 백분율을 그래프로 표현한 것이다. 화합물 A와 코비메티닙을 사용한 24시간 동안의 병용 치료는 공 벡터(EV)로 형질감염된 HMC1.2 V560G/D816V 세포(좌측 패널) 또는 돌연변이체 N-ras G12D로 형질감염된 HMC1.2 V560G/D816V 세포(우측 패널)의 세포자멸사를 유도하였다. 화합물 A와 코비메티닙의 조합은 EV-형질감염 HMC1.2 세포 및 N-ras G12D 형질감염 HMC1.2 세포에서 세포자멸사를 상승적으로 증가시켰다. 세포자멸사는 EV 형질감염 세포에서보다 N-ras 형질감염된 세포에서 더 높았다.

[0179] 도 16b는 48시간 동안의 다양한 치료에 대해 결정된 카스파제 활성의 상대 백분율을 그래프로 표현한 것이다. 화합물 A와 코비메티닙을 사용한 48시간 동안의 병용 치료는 공 벡터(EV)로 형질감염된 HMC1.2 V560G/D816V 세포(좌측 패널) 또는 돌연변이체 N-ras G12D로 형질감염된 HMC1.2 V560G/D816V 세포(우측 패널)의 세포자멸사를 유도하였다. 화합물 A와 코비메티닙의 조합은 EV-형질감염 HMC1.2 세포 및 N-ras G12D 형질감염 HMC1.2 세포에서 세포자멸사를 상승적으로 증가시켰다. 세포자멸사는 EV 형질감염 세포에서보다 N-ras 형질감염된 세포에서 더 높았다.

[0180] **실시예 26. 화합물 A와 MEK 억제제 트라메티닙을 사용한 병용 치료는 N-ras G12D 또는 공 벡터로 형질감염된 HMC1.2 KIT D816V 비만 세포주의 콜로니 증식을 상승적으로 감소시킨다**

[0181] 화합물 A와 트라메티닙을 사용한 병용 치료가 각각의 단일 제제를 사용하는 치료에 비해 공 벡터(EV)로 감염되었거나 N-ras G12D로 감염된 HMC1.2의 콜로니 증식을 감소시킨다는 것을 입증하기 위한 연구를 수행하였다. HMC1.2 세포를 다양한 농도의 화합물 A, 트라메티닙, 또는 화합물 A 및 트라메티닙의 조합과 함께 10일 동안 배양하였다. 약물 치료를 중단하고 추가로 5일 또는 13일 후에 생존 세포의 콜로니 성장을 모니터링하였다.

[0182] 도 17a는 단일 제제로서의 트라메티닙(0, 1, 10 또는 25 nM), 화합물 A(0, 25 또는 50 nM), 또는 다양한 농도의 화합물 A와 다양한 농도의 트라메티닙의 조합을 사용하여 치료한 후 EV-형질감염 HMC1.2 비만 세포의 콜로니 증식에 대한 대표적인 도면이다. 화합물 A 또는 트라메티닙을 단일 제제로 사용한 치료는, 약물 중단 5일 후에, 모든 농도에서 콜로니 증식을 야기한 반면, 트라메티닙과 화합물 A의 조합을 사용한 경우, 약물 중단 5일 후에, 콜로니 증식이 더 적게 나타났다. 화합물 A(50 nM)와 트라메티닙(1 nM)의 조합은 단일 제제 화합물 A 또는 단일 제제 트라메티닙과 비교했을 때, 1 nM 트라메티닙과 조합된 경우 콜로니 증식을 상당히 감소시켰다. 화합물 A(50 nM)와 트라메티닙(10 또는 25 nM)의 조합은, 약물 중단 5일 후에, 5X 대물렌즈 현미경으로 시각화하여 결정했을 때, 생존 HMC1.2 세포를 검출 한계까지 완전히 근절시킨 반면, 단일 제제인 화합물 A 또는 단일 제제인 트라메티닙을 사용해 치료한 경우 근절이 관찰되지 않았다. 화합물 A(50 nM)와 트라메티닙(25 nM)을 조합하여 사용했을 때, 약물 중단 후 8일 동안(약물 중단 후 총 13일) 콜로니 증식을 추가 연장한 경우에도 콜로니 증식의 검출 한계까지 근절이 유지되었다.

[0183] 도 17b는 도 17a에서의 다양한 치료 후 EV-형질감염 HMC1.2 비만 세포의 콜로니 증식을 정량화하여 그래프로 표현한 것이다. 50 nM의 화합물 A와 10 nM 또는 25 nM의 트라메티닙을 사용한 병용 치료는, 5X 대물렌즈 현미경으로 시각화하여 결정했을 때, 예상 외로 검출 한계까지 콜로니 증식을 근절시킨 반면, 단일 제제 화합물 A 또는 트라메티닙을 사용하여 치료한 경우에는 근절이 관찰되지 않았다(도 17b의 화살표 참조).

[0184] 도 17c는 단일 제제로서의 트라메티닙(0, 1, 10 또는 25 nM), 화합물 A(0, 25 또는 50 nM), 또는 다양한 농도의 화합물 A와 다양한 농도의 트라메티닙의 조합을 사용하여 치료한 후 N-ras G12D-형질감염 HMC1.2 세포의 콜로니 증식에 대한 대표적인 도면이다. 화합물 A 또는 트라메티닙을 단일 제제로 사용한 치료는, 약물 중단 5일 후에, 모든 농도에서 콜로니 증식을 야기한 반면, 트라메티닙과 화합물 A의 조합을 사용한 경우, 약물 중단 5일 후에, 콜로니 증식이 더 적게 나타났다. 화합물 A(25 nM)와 트라메티닙(25 nM)의 조합은 약물 중단 5일 후 생존 HMC1.2 세포의 증식을 상당히 감소시켰고, 화합물 A(50 nM)와 트라메티닙(10 또는 25 nM)의 조합은 약물 중단 5일 후, 5X 대물렌즈 현미경으로 가시화하여 결정했을 때, N-ras G12D로 형질감염된 HMC1.2 세포의 증식을 검출 한계까지 완전히 근절시킨 반면, 단일 제제 화합물 A 또는 트라메티닙으로 치료한 경우 근절이 관찰되지 않았다. 화합물 A(50 nM)와 트라메티닙(25 nM)을 조합하여 사용했을 때, 약물 중단 후 추가 8일까지(약물 중단 후 총 13일) 콜로니 증식을 추가 연장한 경우에도 콜로니 증식의 근절이 유지되었다(도 17c).

[0185] 도 17d는 도 17c에서의 다양한 치료 후 콜로니 증식을 정량화하여 그래프로 표현한 것이다. 화합물 A와 트라메

티닙을 사용한 병용 치료는 단일 제제를 사용한 치료와 비교하여 콜로니 증식을 월등하게 차단시켰다. 50 nM의 화합물 A와 10 nM 또는 25 nM의 트라메티닙을 사용한 병용 치료는, 약물 중단 5일 후에 5X 대물렌즈 현미경으로 시각화하여 결정했을 때, 예상 외로 검출 한계까지 콜로니 증식을 근절시킨 반면, 단일 제제 화합물 A 또는 트라메티닙을 사용하여 치료한 경우에는 근절이 관찰되지 않았다(도 17d의 화살표 참조).

[0186] **실시예 27. 화합물 A와 코비메티닙을 사용한 병용 치료는 N-ras G12D 또는 공 벡터로 형질감염된 HMC1.2 KIT D816V 비만 세포주의 콜로니 증식을 상승적으로 감소시킨다**

[0187] 화합물 A와 코비메티닙을 사용한 병용 치료가 각각의 단일 제제를 사용하는 치료에 비해 공 벡터(EV)로 감염되었거나 N-ras G12D로 감염된 HMC1.2의 콜로니 증식을 감소시켰음을 입증하기 위한 연구를 수행하였다. HMC1.2 세포를 다양한 농도의 화합물 A, 코비메티닙, 또는 화합물 A와 코비메티닙의 조합과 함께 10일 동안 인큐베이션하였다. 약물 치료를 중단하고 추가로 5일 또는 10일 후에 생존 세포의 콜로니 성장을 모니터링하였다.

[0188] 도 18a는 단일 제제로서의 코비메티닙(25 또는 50 nM), 화합물 A(0, 25 또는 50 nM), 또는 다양한 농도의 화합물 A와 다양한 농도의 코비메티닙의 매트릭스 조합을 사용하여 치료한 후 EV-형질감염 HMC1.2 비만 세포의 콜로니 증식에 대한 대표적인 도면이다. 화합물 A 또는 코비메티닙을 단일 제제로 사용한 치료는, 약물 중단 5일 후에, 모든 농도에서 콜로니 증식을 야기한 반면, 코비메티닙과 화합물 A의 조합을 사용한 경우 약물 중단 5일 후에 콜로니 증식이 더 적게 나타났다. 화합물 A(25 nM)와 코비메티닙(25 또는 50 nM)의 조합은 약물 치료 중단 5일 후에 생존 HMC1.2 세포의 증식을 상당히 감소시켰다. 화합물 A(50 nM)와 코비메티닙(50 nM)의 조합은, 약물 치료 중단 5일 후에, 5X 대물렌즈 현미경으로 시각화하여 결정했을 때, 생존 HMC1.2 세포를 검출 한계까지 완전히 근절시킨 반면, 단일 제제인 화합물 A 또는 단일 제제인 코비메티닙을 사용해 치료한 경우 근절이 관찰되지 않았다. 화합물 A(50 nM)와 코비메티닙(50 nM)을 조합하여 사용했을 때, 약물 치료 중단 후 추가 5일까지(약물 중단 후 총 10일) 콜로니 증식을 추가 연장한 경우에도 콜로니 증식의 검출 한계까지 근절이 유지되었다.

[0189] 도 18b는 도 18a에서의 다양한 치료 후 EV-형질감염 HMC1.2 비만 세포의 콜로니 증식을 정량화하여 그래프로 표현한 것이다. 50 nM의 화합물 A와 50 nM의 코비메티닙을 사용한 병용 치료는, 5X 대물렌즈 현미경으로 시각화하여 결정했을 때, 예상 외로 검출 한계까지 콜로니 증식을 근절시킨 반면, 단일 제제 화합물 A 또는 코비메티닙을 사용하여 치료한 경우에는 근절이 관찰되지 않았다(도 18b의 화살표 참조).

[0190] 도 18c는 단일 제제로서의 코비메티닙(0, 25 또는 50 nM), 화합물 A(0, 25 또는 50 nM), 또는 다양한 농도의 화합물 A와 다양한 농도의 코비메티닙의 매트릭스 조합을 사용하여 치료한 후 N-ras G12D로 형질감염된 HMC1.2 비만 세포의 콜로니 증식에 대한 대표적인 도면이다. 화합물 A 또는 코비메티닙을 단일 제제로 사용한 치료는, 약물 치료 중단 5일 후에, 모든 농도에서 콜로니 증식을 야기한 반면, 코비메티닙과 화합물 A의 조합을 사용한 경우 약물 치료 중단 5일 후에 콜로니 증식이 더 적게 나타났다. 화합물 A(25 nM)와 코비메티닙(25 또는 50 nM)의 조합은 약물 중단 5일 후에 생존 HMC1.2 세포의 증식을 상당히 감소시켰다. 화합물 A(50 nM)와 코비메티닙(25 또는 50 nM)의 조합은, 약물 치료 중단 5일 후에, 5X 대물렌즈 현미경으로 시각화하여 결정했을 때, 생존 HMC1.2 세포를 검출 한계까지 완전히 근절시킨 반면, 단일 제제인 화합물 A 또는 단일 제제인 코비메티닙을 사용해 치료한 경우 근절이 관찰되지 않았다. 화합물 A(50 nM)와 코비메티닙(25 또는 50 nM)을 조합하여 사용했을 때, 약물 치료 중단 후 추가 10일까지 콜로니 증식을 추가 연장한 경우에도 콜로니 증식의 검출 한계까지 근절이 유지되었다.

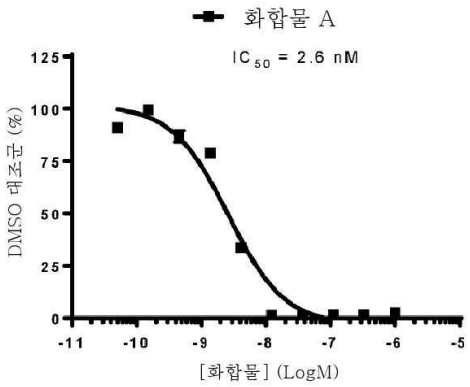
[0191] 도 18d는 도 18c에서의 다양한 치료 후 콜로니 증식을 정량화하여 그래프로 표현한 것이다. 화합물 A와 코비메티닙을 사용한 병용 치료는 단일 제제를 사용한 치료와 비교하여 콜로니 증식을 월등하게 차단시켰다. 50 nM의 화합물 A와 25 또는 50 nM의 코비메티닙을 사용한 병용 치료는, 약물 중단 5일 후에 5X 대물렌즈 현미경으로 시각화하여 결정했을 때, 예상 외로 검출 한계까지 콜로니 증식을 근절시킨 반면, 단일 제제 화합물 A 또는 코비메티닙을 사용하여 치료한 경우에는 근절이 관찰되지 않았다(도 18d의 화살표 참조).

[0192] **균등물**

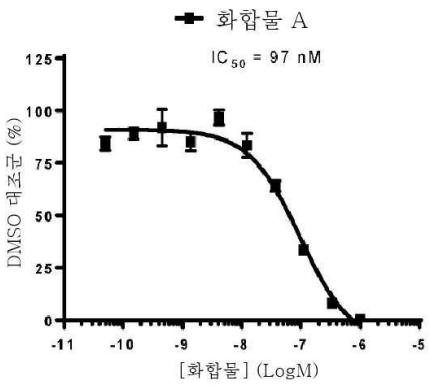
[0193] 당업자는 단지 통상적 실험을 사용하여, 구체적으로 본원에 기술된 특정 구현예에 대한 수많은 균등물을 인식하거나 확인할 수 있을 것이다. 이러한 균등물은 하기 청구항의 범위에 포함되는 것이 의도된다.

도면

도면1a

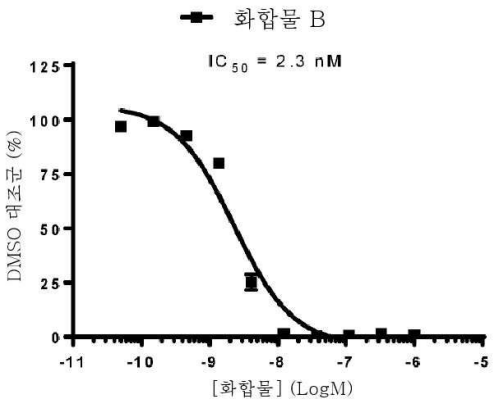


HMC1.1 V560G

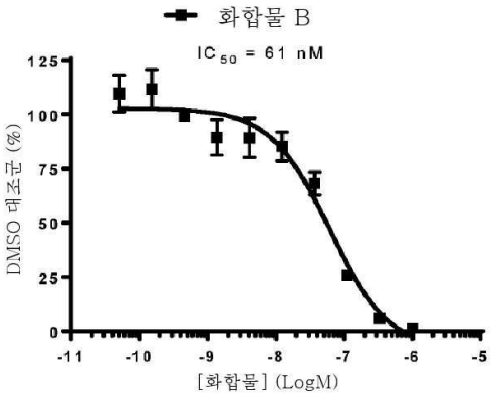


HMC1.1 V560G/D816V

도면1b

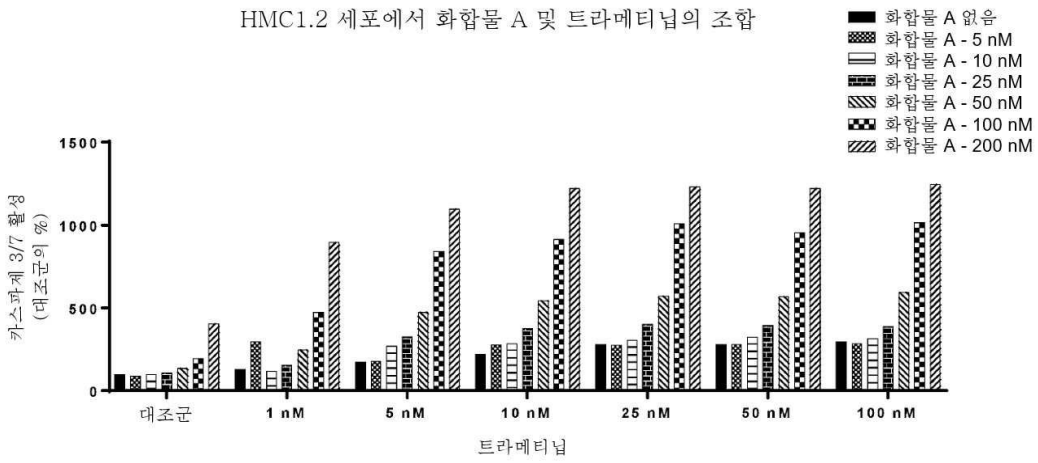


HMC1.1 V560G



HMC1.1 V560G/D816V

도면2a

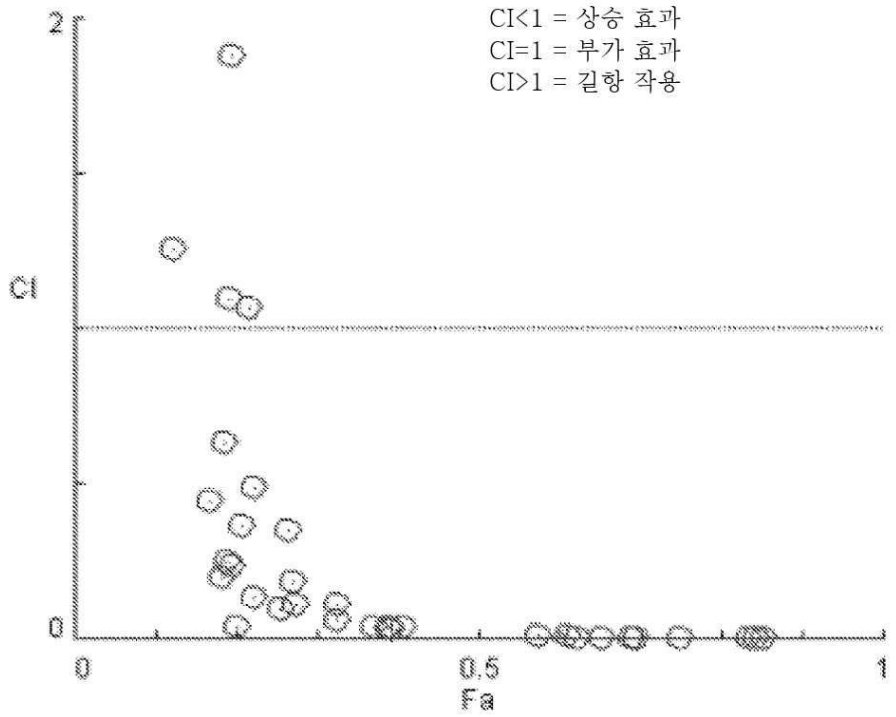


도면2b

COMBO 지수	화합물 A 5 nM	화합물 A 10 nM	화합물 A 25 nM	화합물 A 50 nM	화합물 A 100 nM	화합물 A 200 nM
트라메티닙 1 nM	0.03993	2.64367	6.01481	0.44649	0.11076	0.01411
트라메티닙 5 nM	1.25589	0.19588	0.13256	0.05909	0.0101	0.00315
트라메티닙 10 nM	0.24985	0.23826	0.09809	0.03722	0.0063	9.34E-04
트라메티닙 25 nM	0.63422	0.36434	0.10901	0.03338	0.0032	8.28E-04
트라메티닙 50 nM	1.10038	0.48744	0.18814	0.03977	0.00477	9.35E-04
트라메티닙 100 nM	1.87791	1.06924	0.35501	0.04047	0.00308	6.93E-04

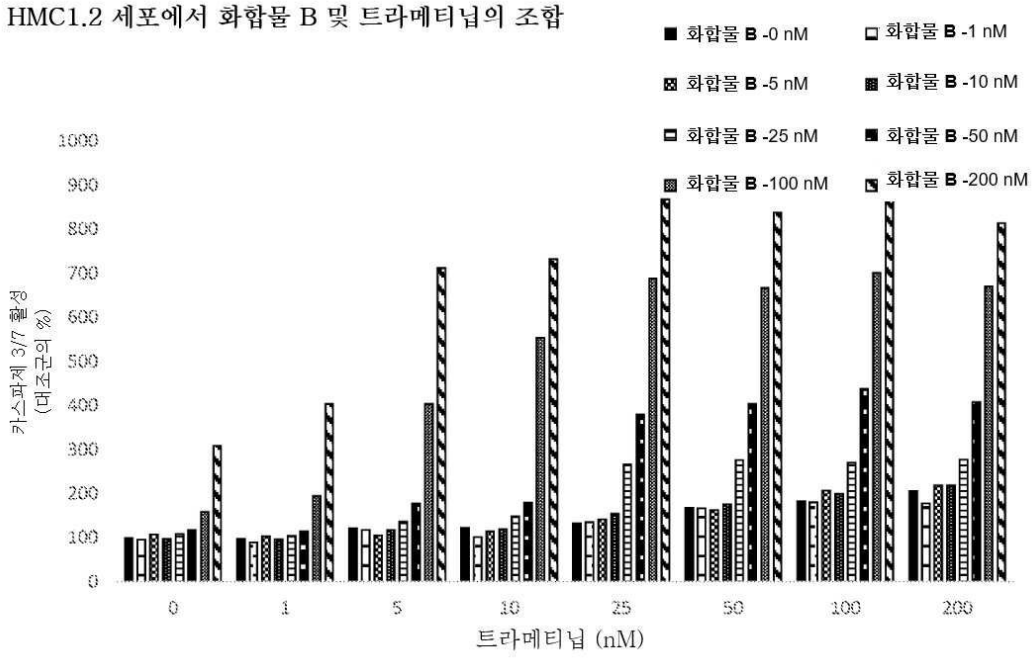
도면2c

조합 지수 도표



도면3a

HMC1.2 세포에서 화합물 B 및 트라메티닙의 조합

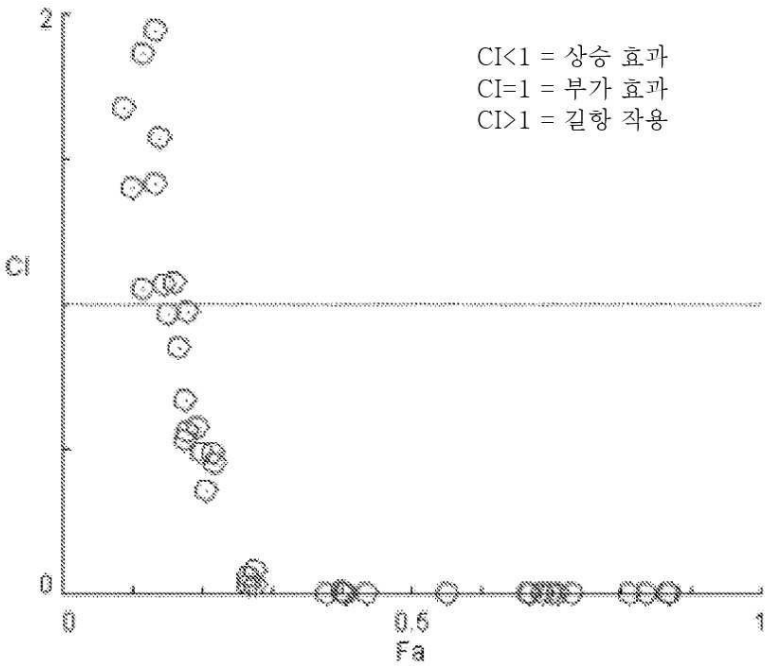


도면3b

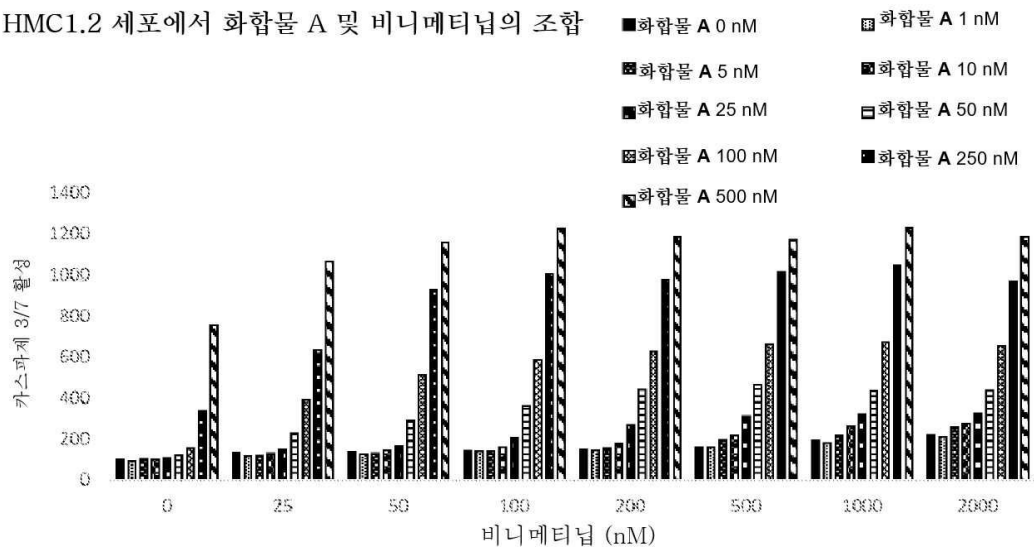
CI	화합물 B 1 nM	화합물 B 5 nM	화합물 B 10 nM	화합물 B 25 nM	화합물 B 50 nM	화합물 B 100 nM	화합물 B 200 nM
트라메티닙 1 nM	1.68069	1.40334	3.41889	5.07162	5.64363	0.57337	0.00964
트라메티닙 5 nM	1.05523	2.96535	1.86572	1.4174	0.53113	0.00478	2.29E-05
트라메티닙 10 nM	5.38596	3.16063	2.68309	1.06576	0.56445	2.84E-04	1.44E-05
트라메티닙 25 nM	1.94547	1.57549	0.96476	0.03258	0.00435	1.97E-05	2.51E-07
트라메티닙 50 nM	0.85054	1.07585	0.6726	0.0344	0.00289	3.12E-05	7.64E-07
트라메티닙 100 nM	0.97626	0.35944	0.48969	0.06284	0.00169	1.52E-05	2.14E-07
트라메티닙 200 nM	2.11003	0.45464	0.48568	0.08116	0.00419	3.14E-05	1.63E-06

도면3c

조합 지수 도표



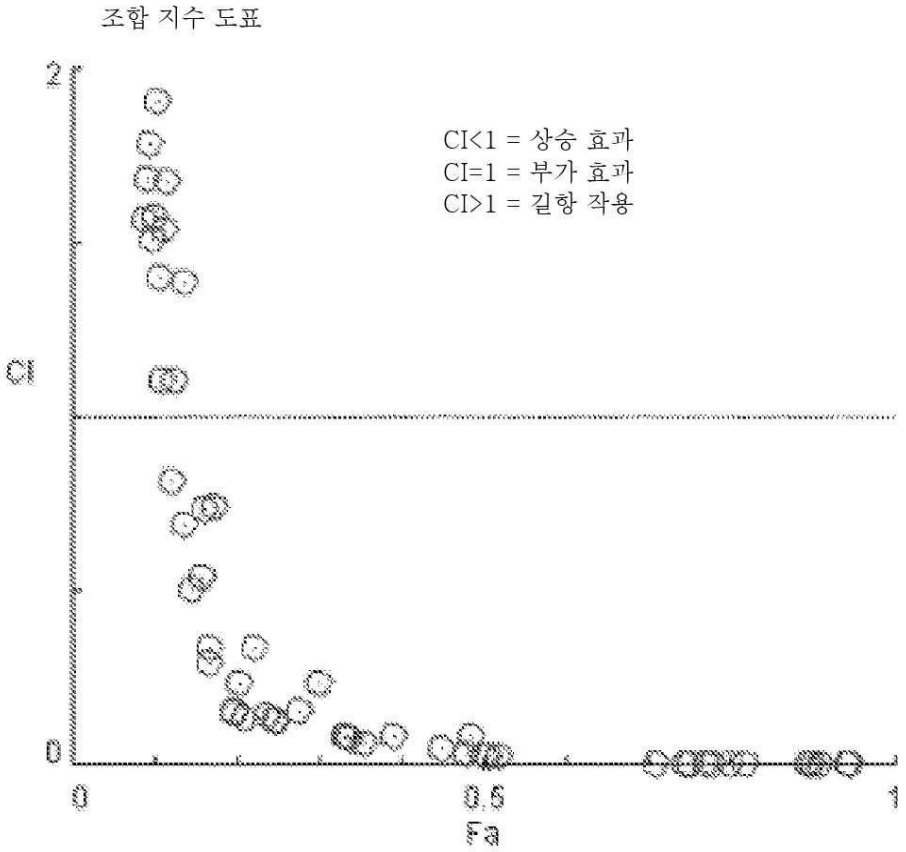
도면4a



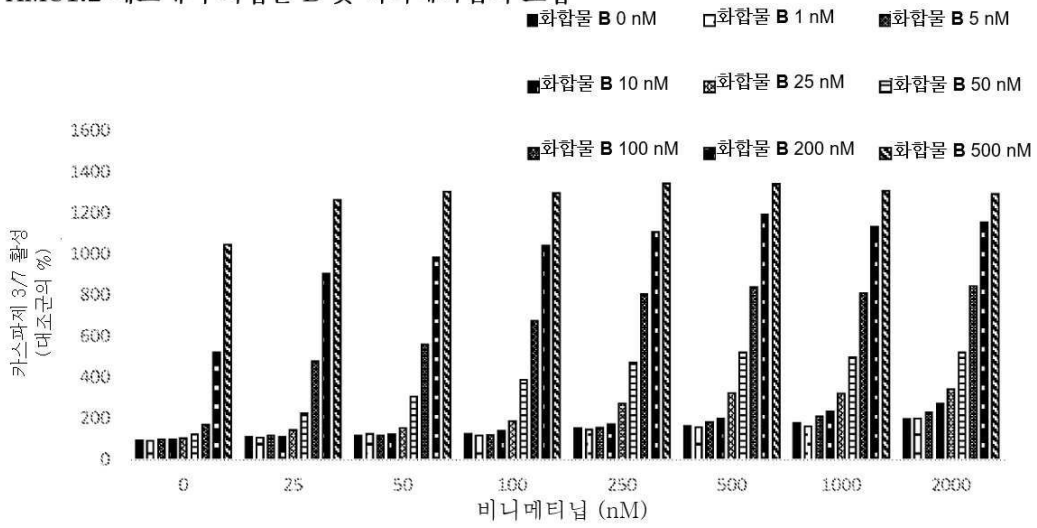
도면4b

CI	화합물 A 0 nM	화합물 A 5 nM	화합물 A 10 nM	화합물 A 25 nM	화합물 A 50 nM	화합물 A 100 nM	화합물 A 250 nM	화합물 A 500 nM
비니메티닙 25 nM	1.57049	1.6855	1.51394	1.54333	0.74303	0.23806	0.07988	0.00293
비니메티닙 50 nM	1.78444	1.57824	1.10552	1.1015	0.33617	0.08494	0.00687	5.98E-04
비니메티닙 100 nM	1.40574	1.90927	0.81771	0.53885	0.15853	0.04623	0.00308	1.07E-04
비니메티닙 250 nM	2.92199	1.67399	0.69022	0.233	0.0771	0.03398	0.00408	1.07E-04
비니메티닙 500 nM	2.19283	0.50712	0.29592	0.13935	0.06226	0.02526	0.00273	5.07E-04
비니메티닙 1000 nM	1.38598	0.3404	0.14626	0.12693	0.08277	0.02281	0.00192	9.26E-05
비니메티닙 2000 nM	0.73725	0.15871	0.13631	0.12471	0.08017	0.02714	0.00442	3.54E-04

도면4c


조합 지수 도표
CI<1 = 상승 효과
CI=1 = 부가 효과
CI>1 = 길항 작용
CI
Fa
2
0
0
0.5
1

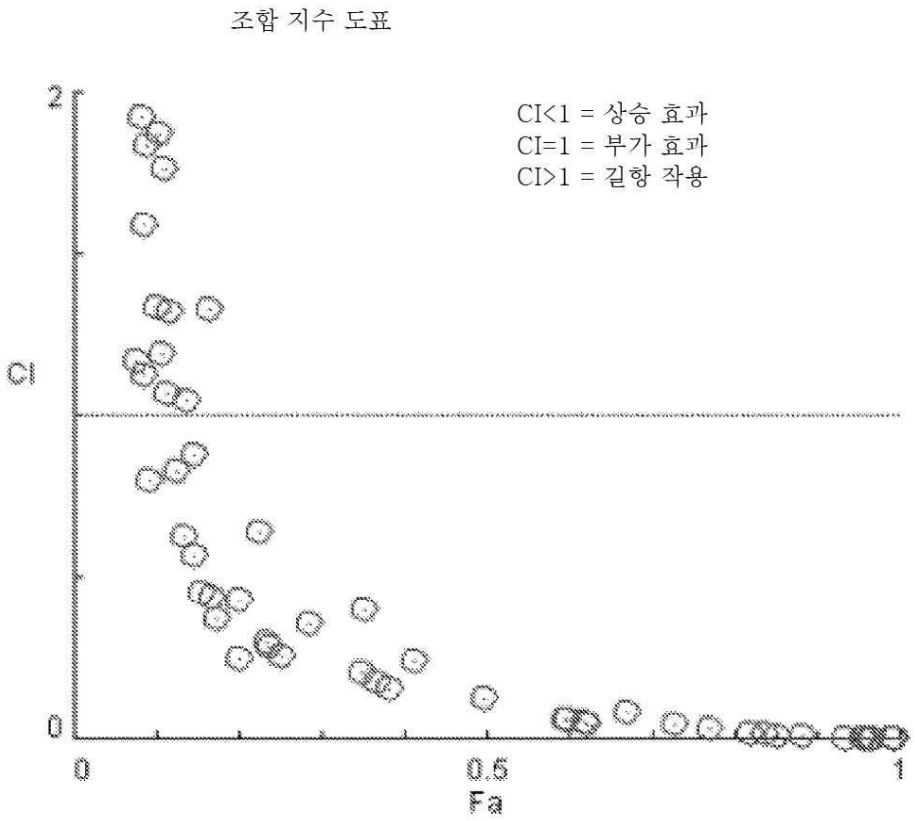
도면5a


HMC1.2 세포에서 화합물 B 및 비니메티닙의 조합
화합물 B 0 nM
화합물 B 1 nM
화합물 B 5 nM
화합물 B 10 nM
화합물 B 25 nM
화합물 B 50 nM
화합물 B 100 nM
화합물 B 200 nM
화합물 B 500 nM
카스파제 3/7 활성 (대조군의 %)
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0
25
50
100
250
500
1000
2000
비니메티닙 (nM)

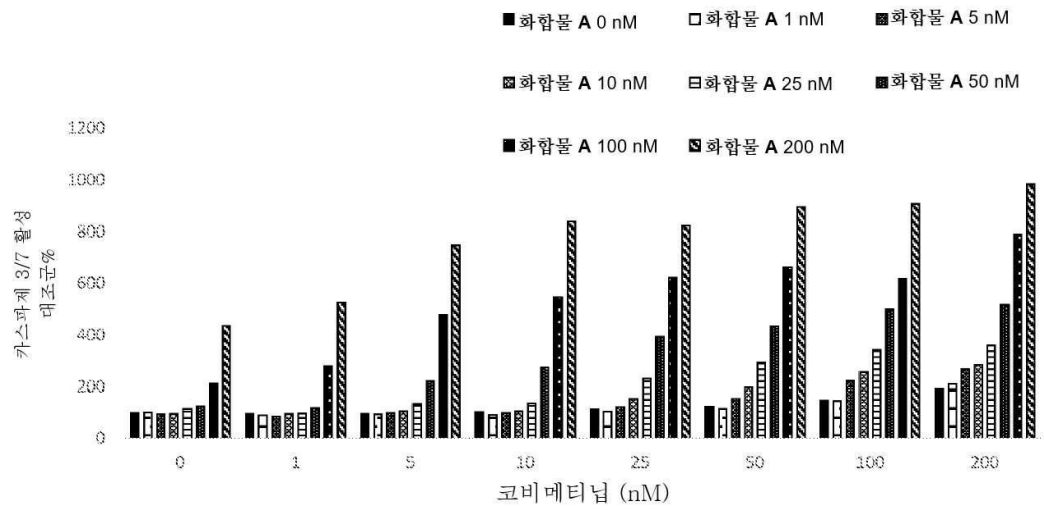
도면5b

CI	화합물 B 1 nM	화합물 B 5 nM	화합물 B 10 nM	화합물 B 25 nM	화합물 B 50 nM	화합물 B 100 nM	화합물 B 200 nM	화합물 B 500 nM
비니메티닙 25 nM	1.16697	1.12369	1.92347	1.87175	1.33032	0.40022	0.08512	0.00433
비니메티닙 50 nM	0.80429	1.59151	1.83453	1.76275	0.64013	0.24461	0.04974	0.00128
비니메티닙 100 nM	2.04491	2.46078	1.33485	1.04913	0.35742	0.12945	0.03332	0.00166
비니메티닙 250 nM	1.19498	1.06822	0.83211	0.43195	0.20689	0.06245	0.01894	3.14E-05
비니메티닙 500 nM	1.32017	0.62726	0.56972	0.28981	0.15592	0.0513	0.00726	5.92E-05
비니메티닙 1000 nM	2.02996	0.4532	0.37085	0.30154	0.17875	0.06054	0.01473	0.00107
비니메티닙 2000 nM	0.8794	0.43685	0.25074	0.25665	0.1561	0.04969	0.0117	0.00191

도면5c



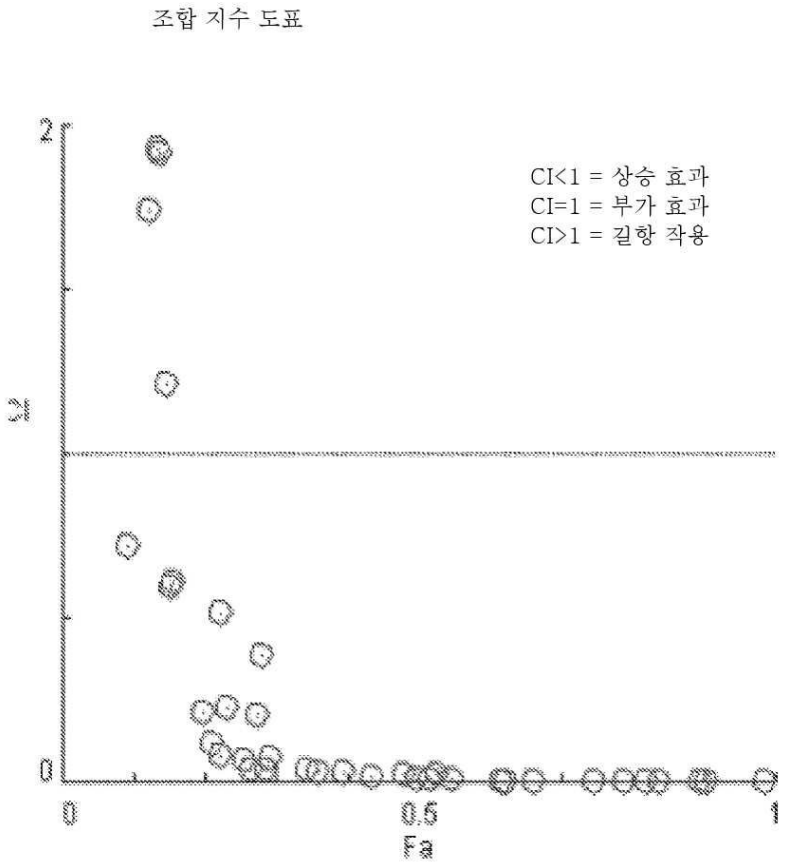
도면6a



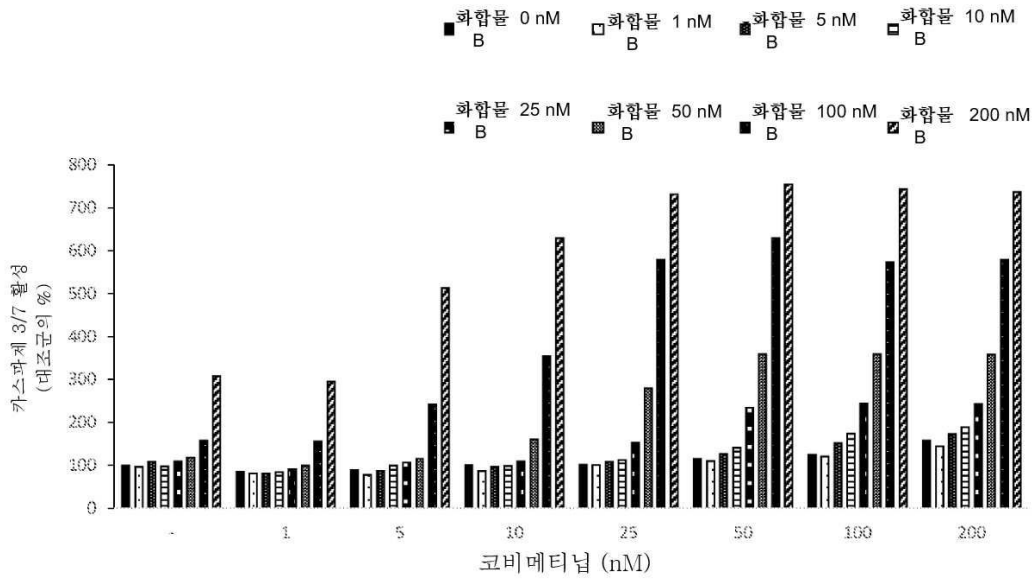
도면6b

CI	화합물 A 1 nM	화합물 A 5 nM	화합물 A 10 nM	화합물 A 25 nM	화합물 A 50 nM	화합물 A 100 nM	화합물 A 200 nM
코비메티닙 1 nM	0.72367	2.58457	2.84597	6.37493	5.86712	0.38735	0.02608
코비메티닙 5 nM	2.03327	2.22709	2.49475	1.92929	0.5199	0.02364	0.00107
코비메티닙 10 nM	4.07508	3.47138	3.05888	1.91627	0.20704	0.00993	1.78E-04
코비메티닙 25 nM	4.08228	1.74076	0.60978	0.22536	0.03575	0.0036	2.63E-04
코비메티닙 50 nM	3.97974	0.59607	0.21652	0.07886	0.02071	0.00202	3.67E-05
코비메티닙 100 nM	1.21021	0.08536	0.0658	0.03731	0.00925	0.00381	2.38E-05
코비메티닙 200 nM	0.11777	0.03679	0.04185	0.02953	0.00733	2.49E-04	4.83E-08

도면6c


조합 지수 도표
CI<1 = 상승 효과
CI=1 = 부가 효과
CI>1 = 길항 작용
2
1.5
1
0.5
0
0.5
1
Fa

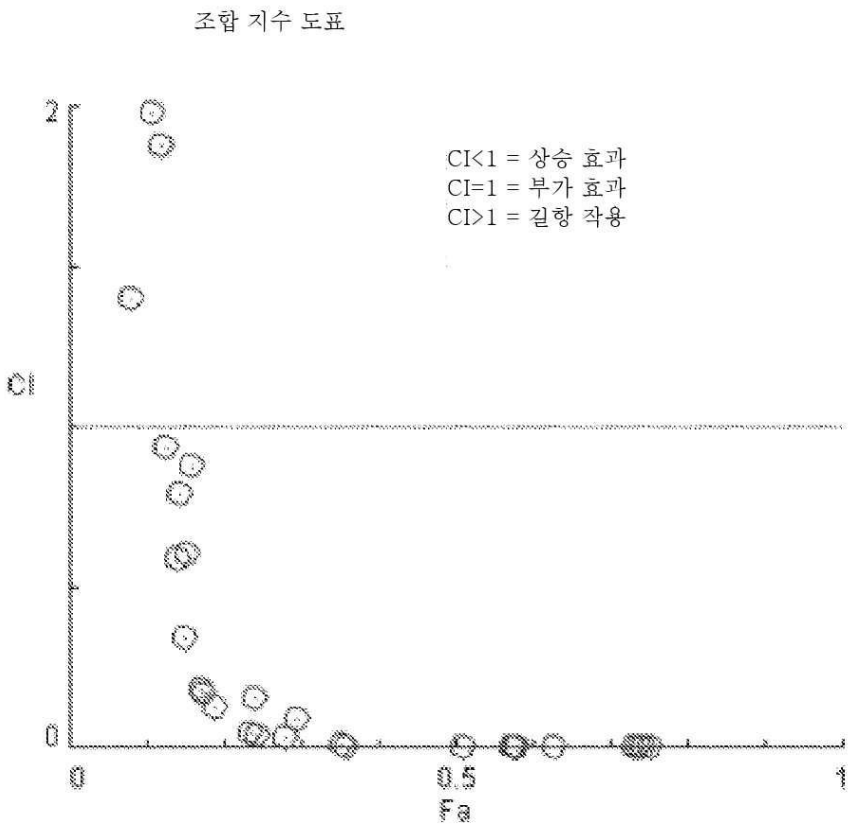
도면7a


HMC1.2 세포에서 화합물 B 및 코비메티닙의 조합
화합물 B 0 nM
화합물 B 1 nM
화합물 B 5 nM
화합물 B 10 nM
화합물 B 25 nM
화합물 B 50 nM
화합물 B 100 nM
화합물 B 200 nM
카스파제 3/7 활성 (대조군의 %)
800
700
600
500
400
300
200
100
0
-
1
5
10
25
50
100
200
코비메티닙 (nM)

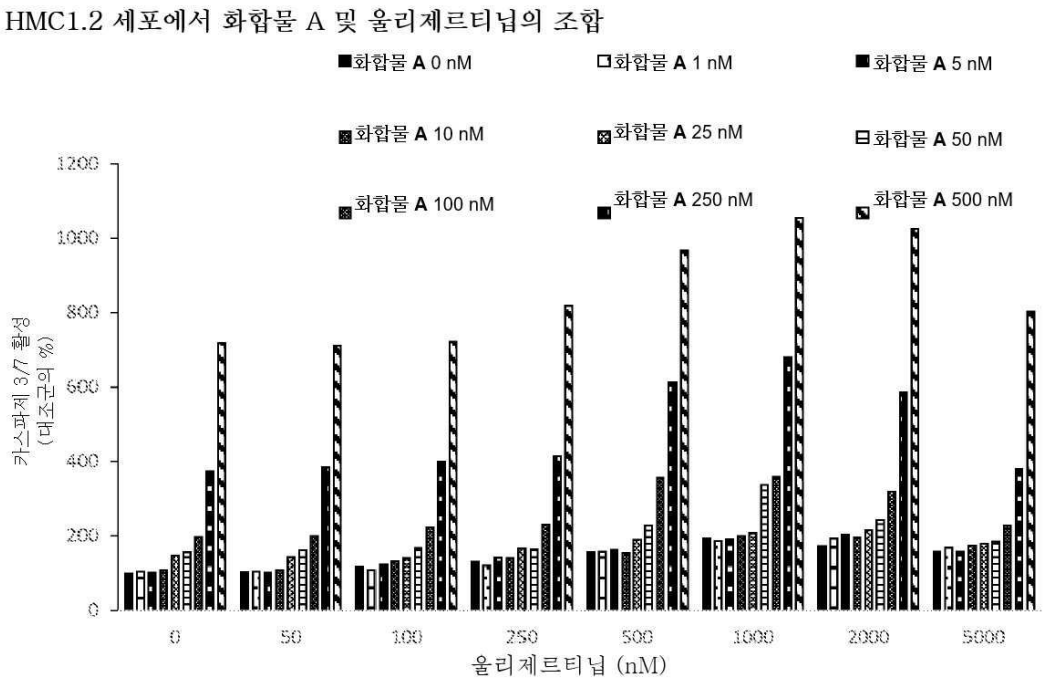
도면7b

CI	화합물 B 1 nM	화합물 B 5 nM	화합물 B 10 nM	화합물 B 25 nM	화합물 B 50 nM	화합물 B 100 nM	화합물 B 200 nM
코비메티닙 1 nM	1.39961	3.77808	5.66631	9.38659	11.3003	2.06695	0.08926
코비메티닙 5 nM	5.34532	4.24727	2.63326	4.01626	5.27338	0.1571	0.00124
코비메티닙 10 nM	4.35207	2.99291	3.57716	3.86343	0.87975	0.01274	1.33E-04
코비메티닙 25 nM	2.75567	1.98415	2.09289	0.60486	0.03221	1.80E-04	1.49E-05
코비메티닙 50 nM	2.28329	0.93831	0.593	0.04964	0.00576	6.67E-05	8.50E-06
코비메티닙 100 nM	1.88398	0.34755	0.17375	0.03918	0.00578	1.98E-04	1.09E-05
코비메티닙 200 nM	0.79643	0.18837	0.12431	0.04216	0.00592	1.77E-04	1.29E-05

도면7c



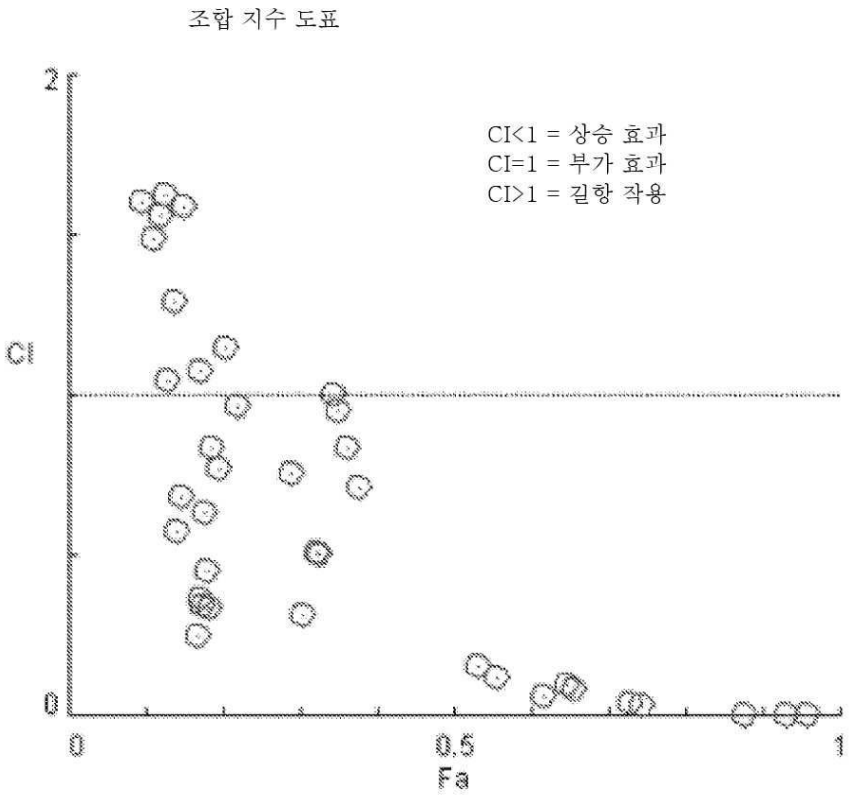
도면8a



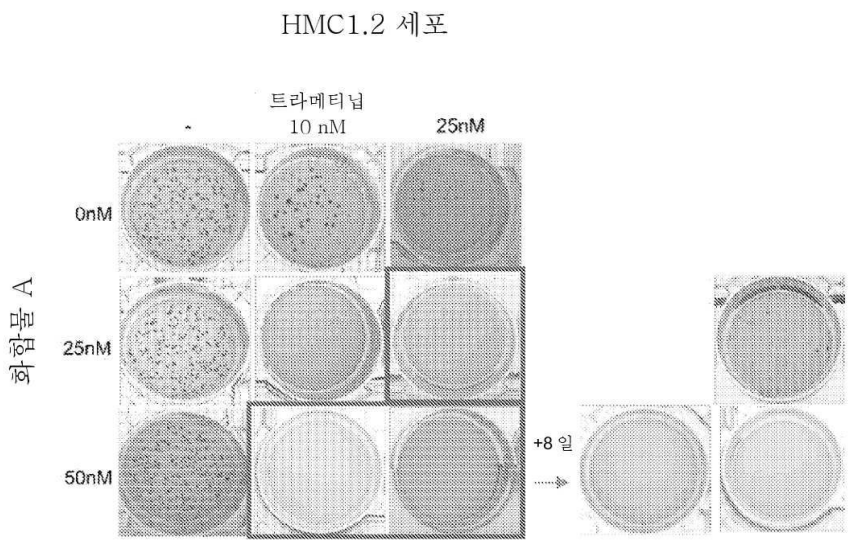
도면8b

CI	화합물 A 1 nM	화합물 A 5 nM	화합물 A 10 nM	화합물 A 25 nM	화합물 A 50 nM	화합물 A 100 nM	화합물 A 250 nM	화합물 A 500 nM
울리제르티닙 50 nM	1.60258	2.92097	2.92056	2.33011	3.16429	3.40419	0.95172	0.0969
울리제르티닙 100 nM	2.34725	1.48965	1.55963	2.64283	2.89453	2.47874	0.83763	0.0861
울리제르티닙 250 nM	2.52682	1.04818	1.63023	1.59316	3.17247	2.16888	0.71586	0.03154
울리제르티닙 500 nM	0.5764	0.68476	1.29507	1.07784	1.14575	0.51154	0.12022	0.00349
울리제르티닙 1000 nM	0.25087	0.36296	0.45054	0.83564	0.31409	0.5004	0.065	2.04E-04
울리제르티닙 2000 nM	0.34059	0.33951	0.63595	0.77262	0.96933	0.75802	0.15375	7.35E-04
울리제르티닙 5000 nM	2.6495	5.10326	2.44488	2.61636	3.22495	2.41533	1.00502	0.03806

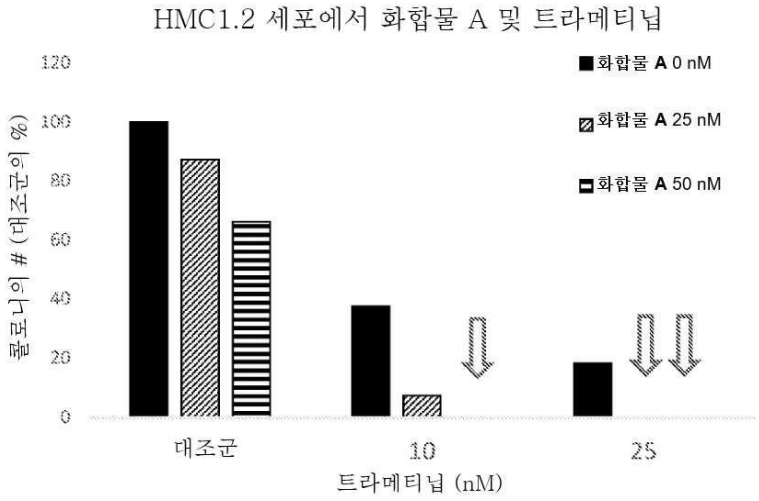
도면8c


조합 지수 도표
CI<1 = 상승 효과
CI=1 = 부가 효과
CI>1 = 길항 작용
CI
2
0
0
0.5
1
Fa

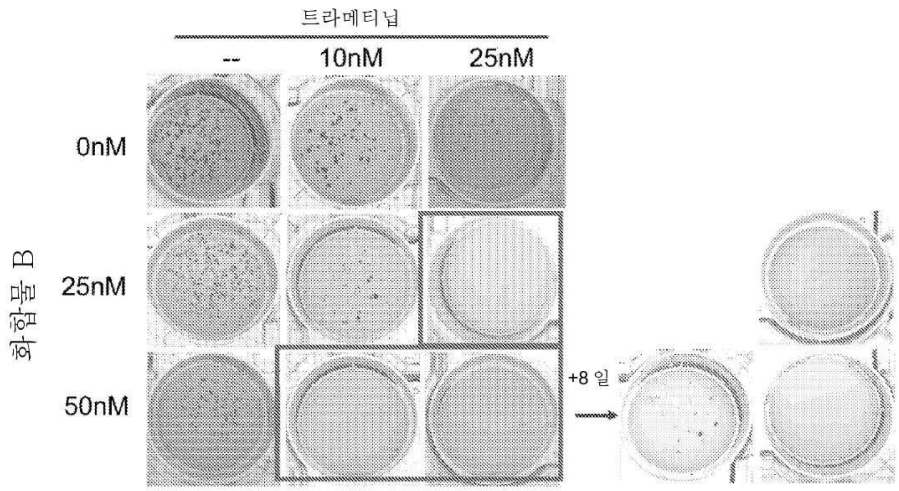
도면9a


HMC1.2 세포
트라메티닙
-
10 nM
25nM
하이드록시우레아
0nM
25nM
50nM
+8 일

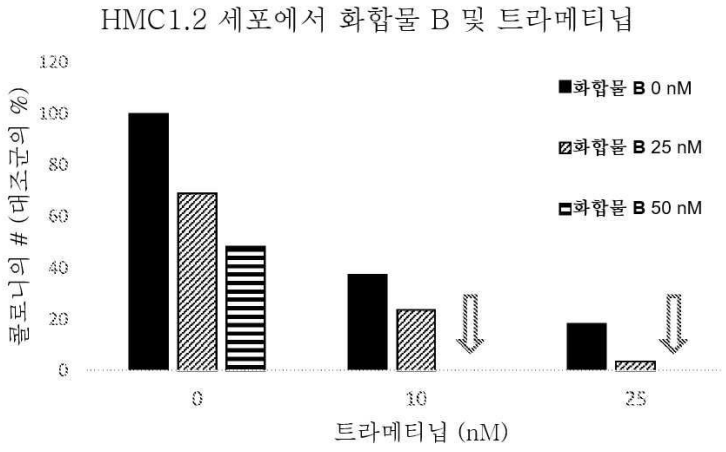
도면9b



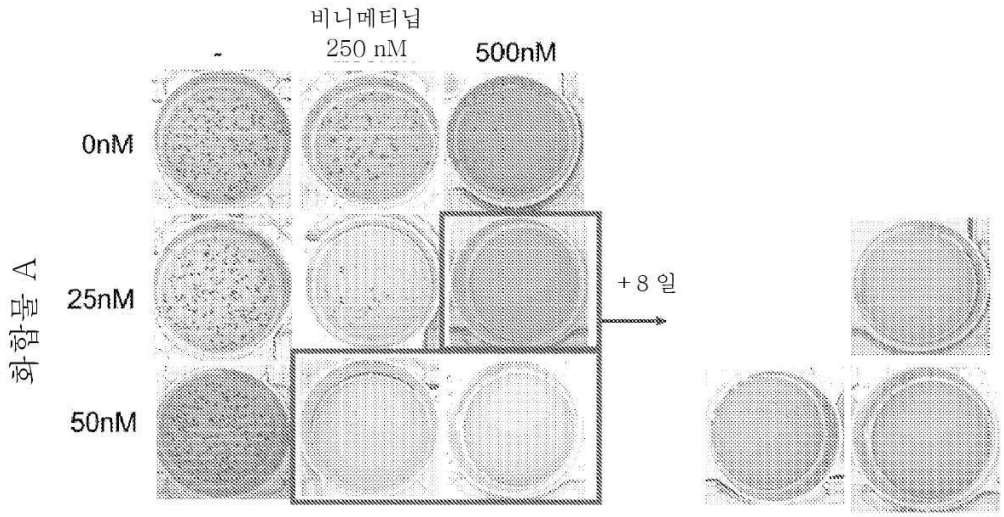
도면10a



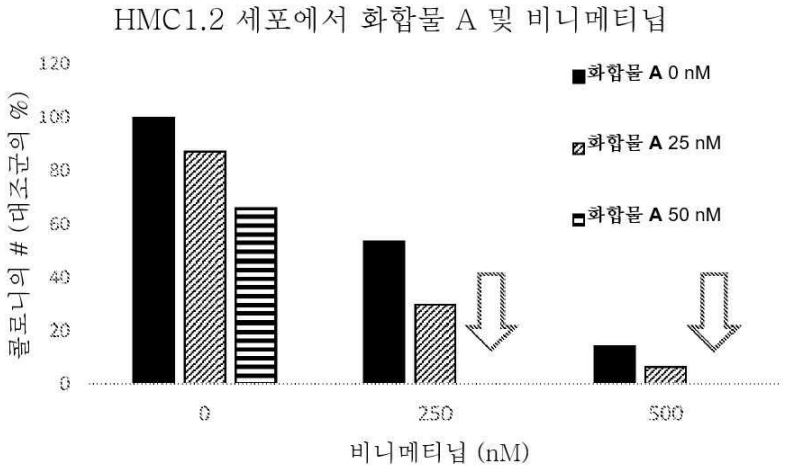
도면10b



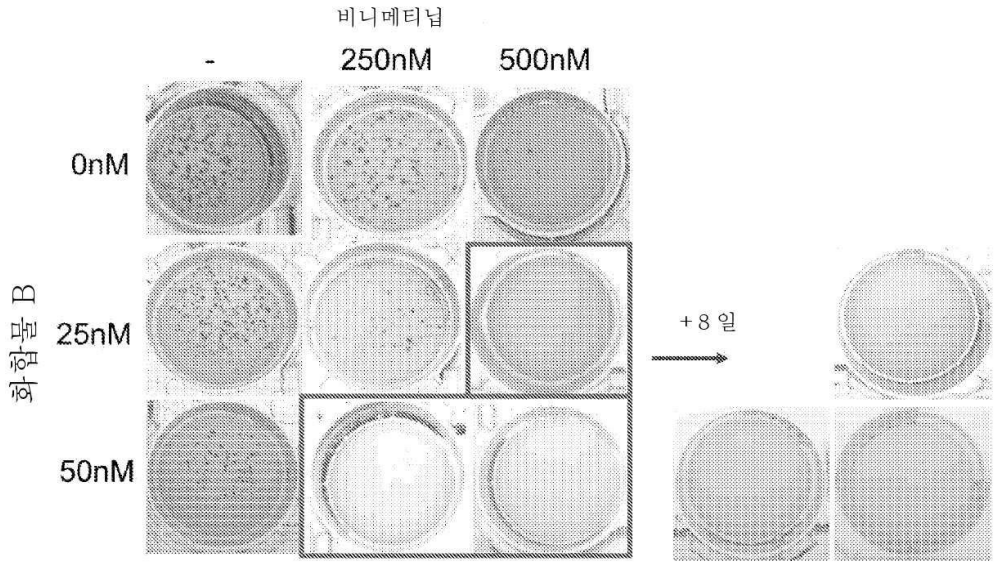
도면11a


비니메티닙
-
250 nM
500nM
0nM
25nM
50nM
화합물 A
+8 일

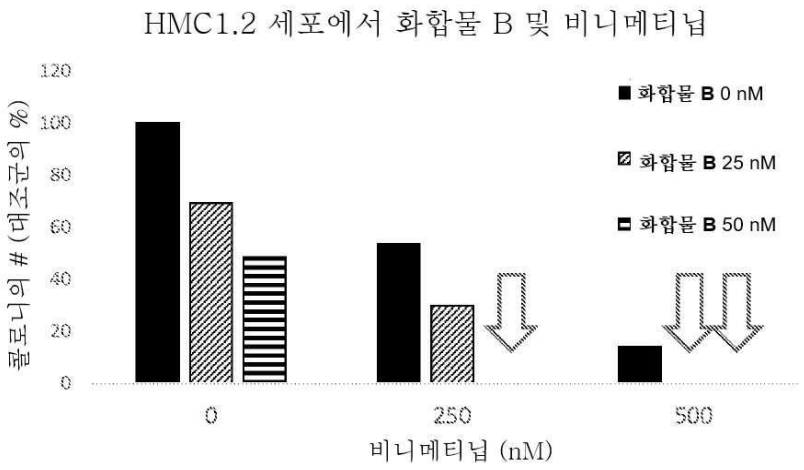
도면11b


HMC1.2 세포에서 화합물 A 및 비니메티닙
콜로니의 # (대조군의 %)
120
100
80
60
40
20
0
화합물 A 0 nM
화합물 A 25 nM
화합물 A 50 nM
0
250
500
비니메티닙 (nM)

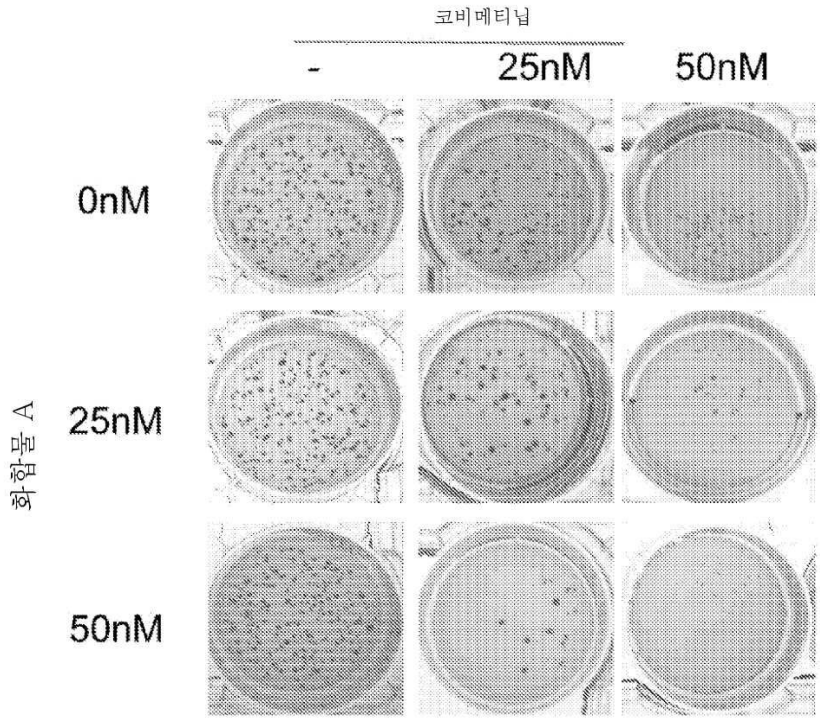
도면12a


비니메티닙
-
250nM
500nM
0nM
25nM
50nM
화합물 B
+8 일

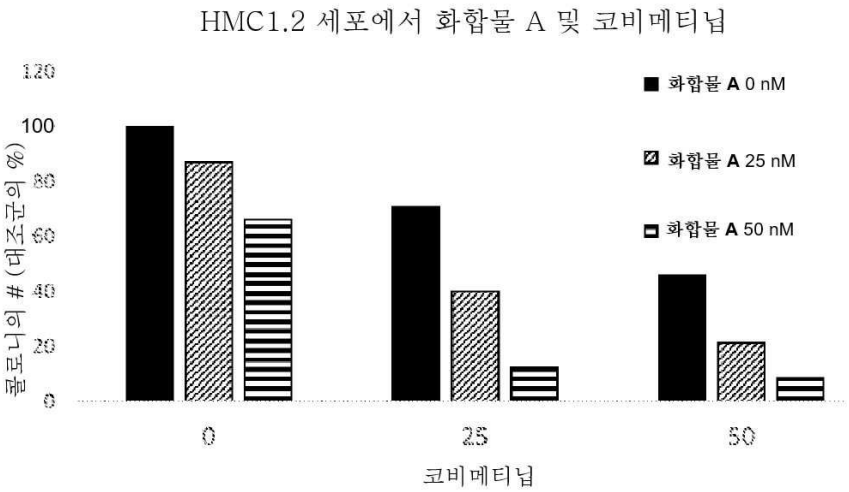
도면12b


HMC1.2 세포에서 화합물 B 및 비니메티닙
콜로니의 # (대조군의 %)
120
100
80
60
40
20
0
화합물 B 0 nM
화합물 B 25 nM
화합물 B 50 nM
0
250
500
비니메티닙 (nM)

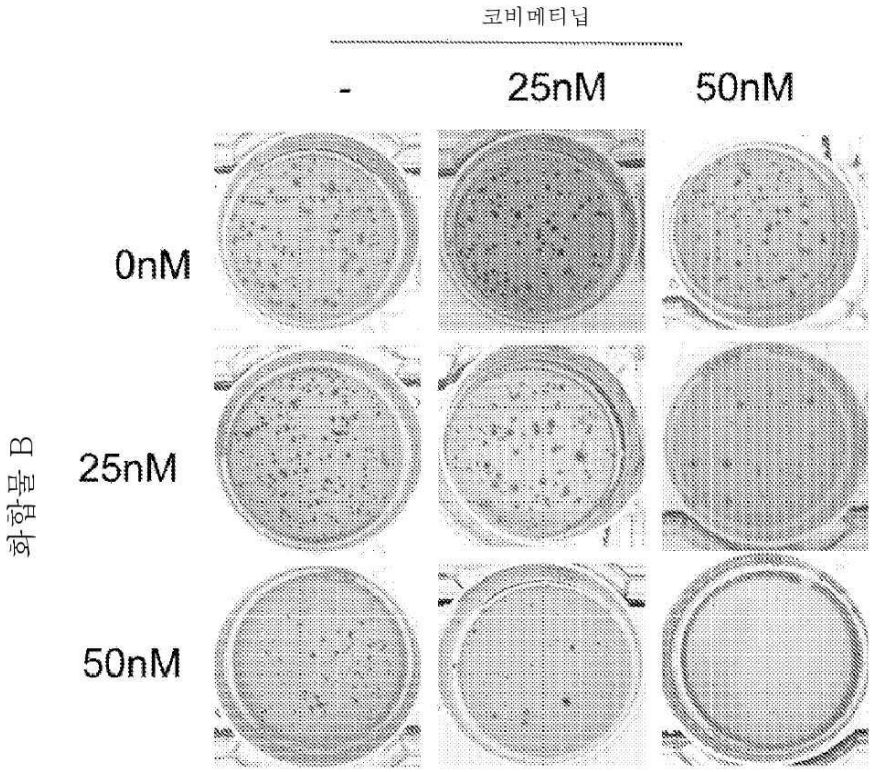
도면13a


코비메티닙
-
25nM
50nM
0nM
25nM
50nM
화합물 A

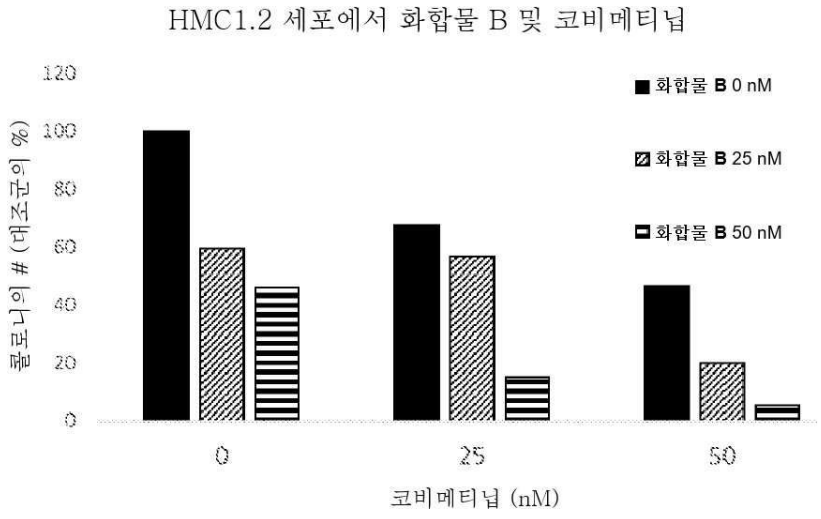
도면13b


HMC1.2 세포에서 화합물 A 및 코비메티닙
화합물 A 0 nM
화합물 A 25 nM
화합물 A 50 nM
콜로니의 # (대조군의 %)
120
100
80
60
40
20
0
0
25
50
코비메티닙

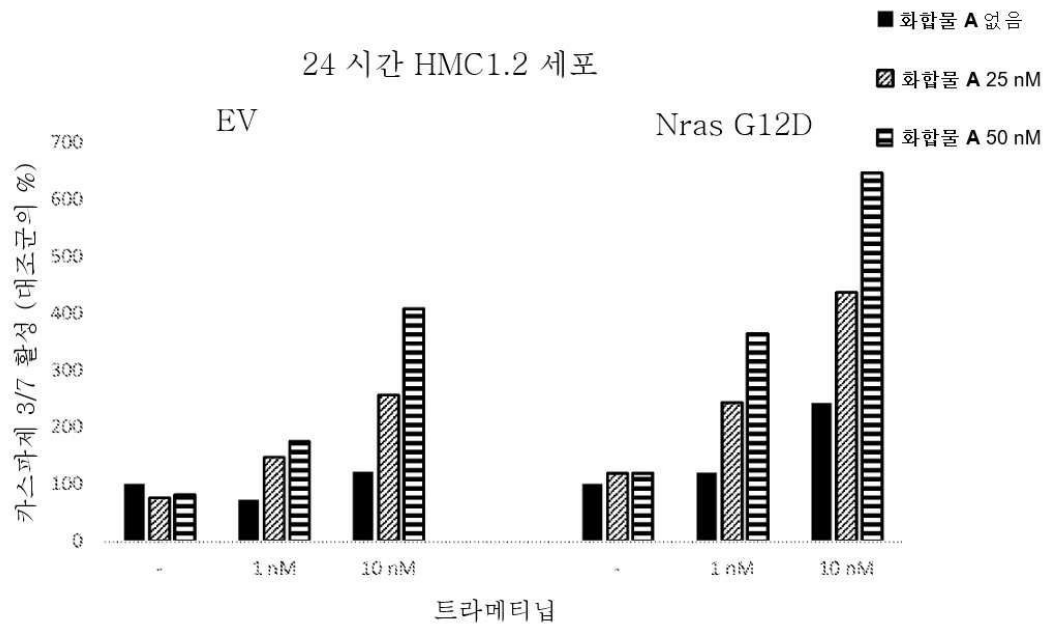
도면14a


코비메티닙
-
25nM
50nM
화합물 B
0nM
25nM
50nM

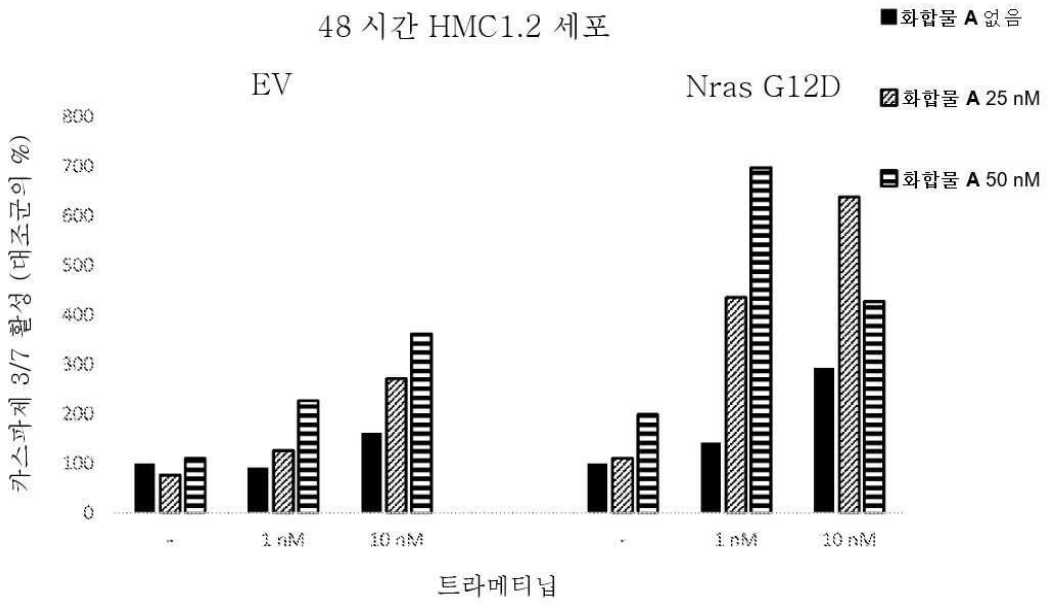
도면14b


HMC1.2 세포에서 화합물 B 및 코비메티닙
콜로니의 # (대조군의 %)
120
100
80
60
40
20
0
화합물 B 0 nM
화합물 B 25 nM
화합물 B 50 nM
0
25
50
코비메티닙 (nM)

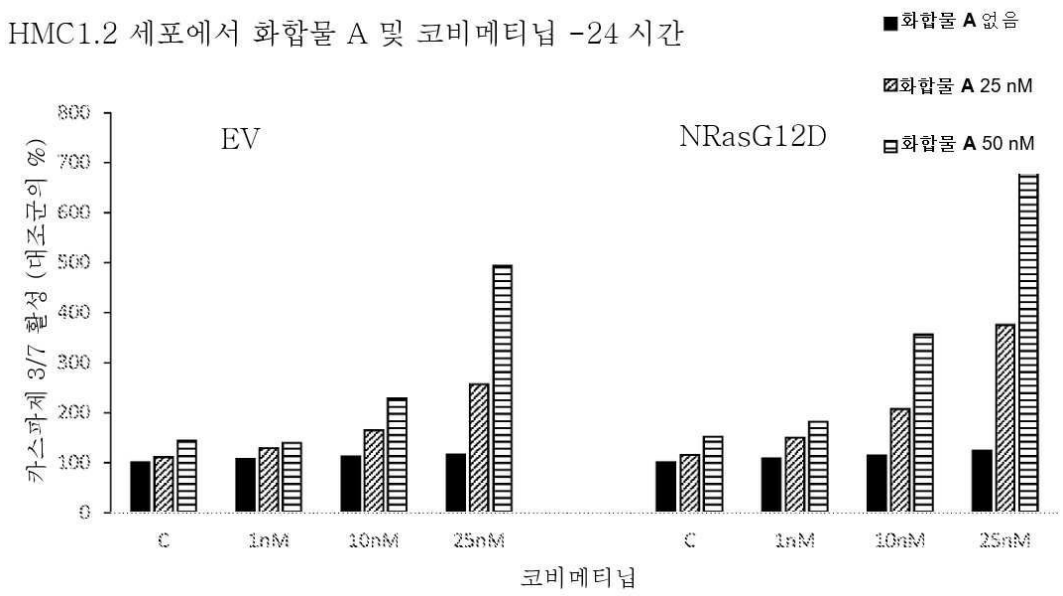
도면15a


24 시간 HMC1.2 세포
EV
Nras G12D
화합물 A 없음
화합물 A 25 nM
화합물 A 50 nM
카스파제 3/7 활성 (대조군의 %)
700
600
500
400
300
200
100
0
-
1 nM
10 nM
-
1 nM
10 nM
트라메티닙

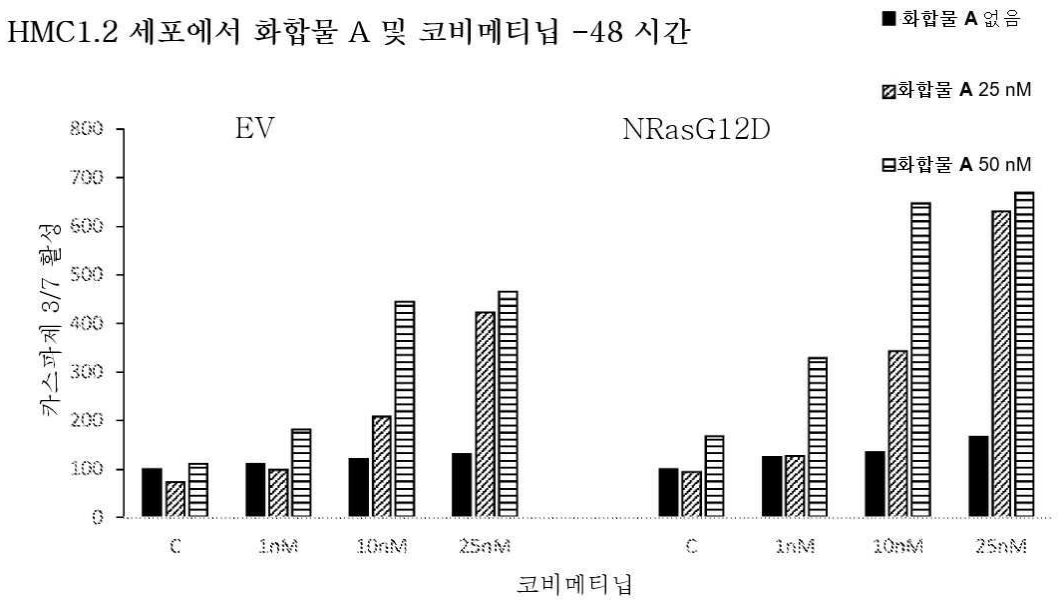
도면15b


48 시간 HMC1.2 세포
EV
Nras G12D
화합물 A 없음
화합물 A 25 nM
화합물 A 50 nM
카스파제 3/7 활성 (대조군의 %)
800
700
600
500
400
300
200
100
0
-
1 nM
10 nM
-
1 nM
10 nM
트라메티닙

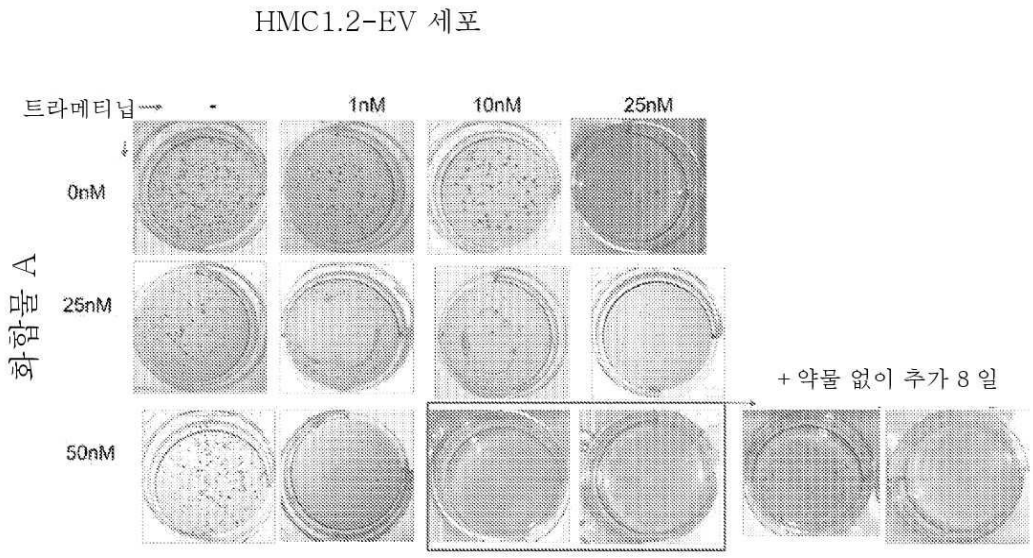
도면16a


HMC1.2 세포에서 화합물 A 및 코비메티닙 -24 시간
화합물 A 없음
화합물 A 25 nM
화합물 A 50 nM
EV
NRasG12D
카스파제 3/7 활성 (대조군의 %)
800
700
600
500
400
300
200
100
0
C
1nM
10nM
25nM
코비메티닙

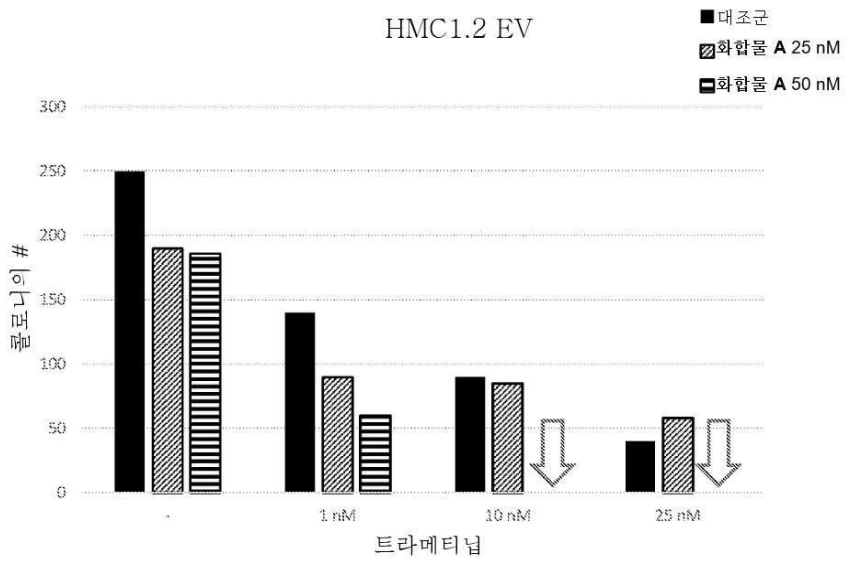
도면16b


HMC1.2 세포에서 화합물 A 및 코비메티닙 -48 시간
화합물 A 없음
화합물 A 25 nM
화합물 A 50 nM
EV
NRasG12D
카스파제 3/7 활성
800
700
600
500
400
300
200
100
0
C
1nM
10nM
25nM
코비메티닙

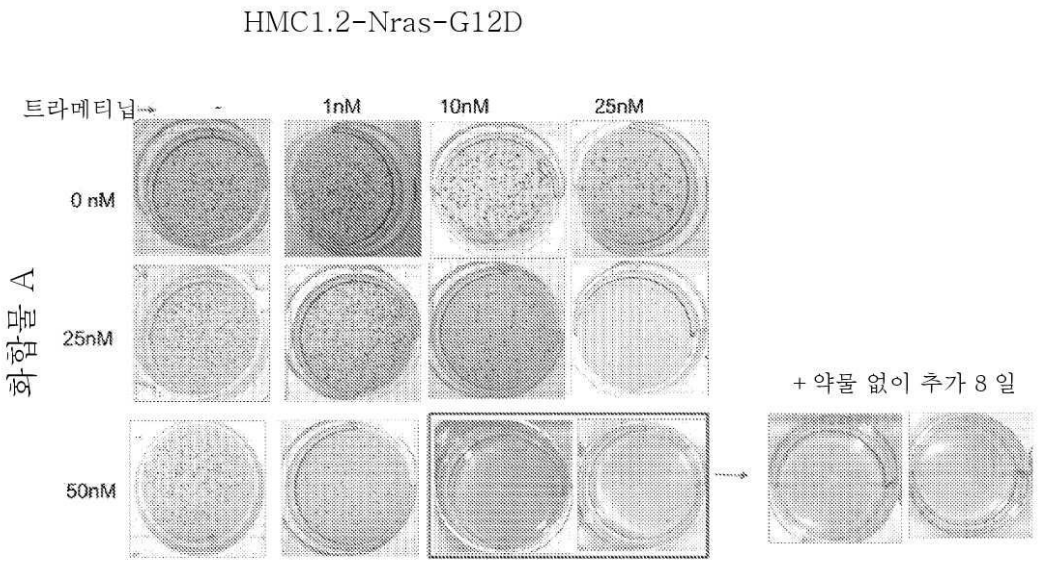
도면17a


HMC1.2-EV 세포
트라메티닙
-
1nM
10nM
25nM
0nM
25nM
50nM
화합물 A
+ 약물 없이 추가 8 일

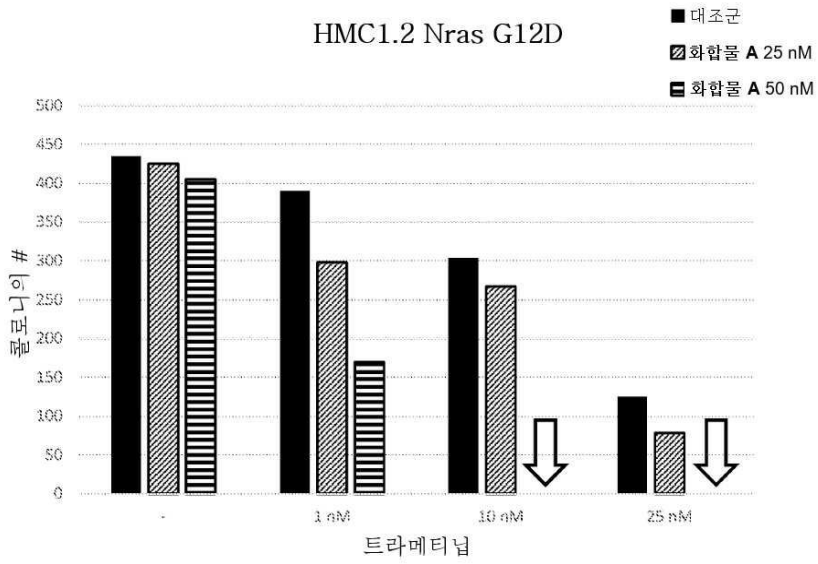
도면17b


HMC1.2 EV
대조군
화합물 A 25 nM
화합물 A 50 nM
300
250
200
150
100
50
0
콜로니의 #
-
1 nM
10 nM
25 nM
트라메티닙

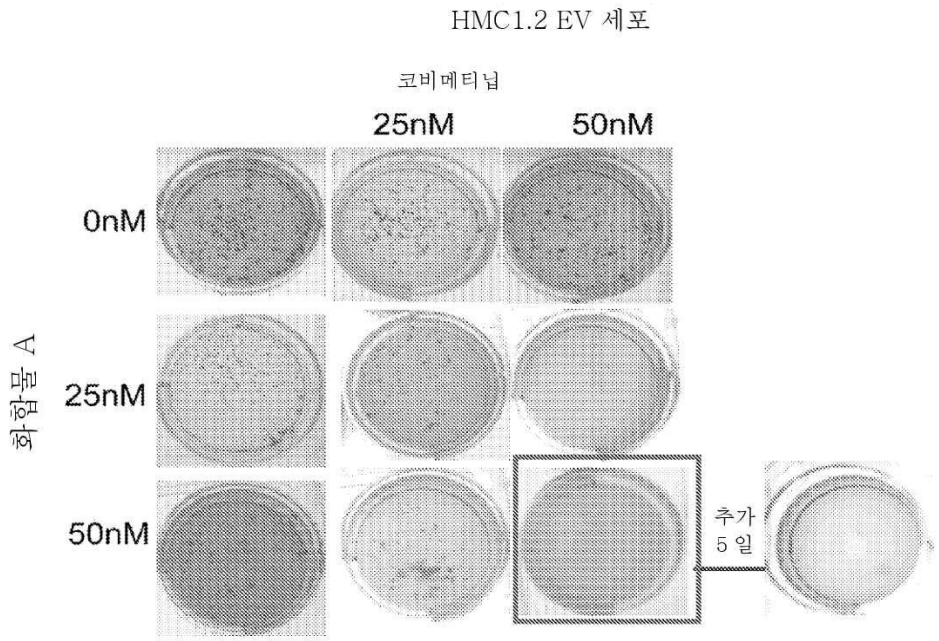
도면17c


HMC1.2-Nras-G12D
트라메티닙→
-
1nM
10nM
25nM
0 nM
25nM
50nM
화합물 A
+ 약물 없이 추가 8 일

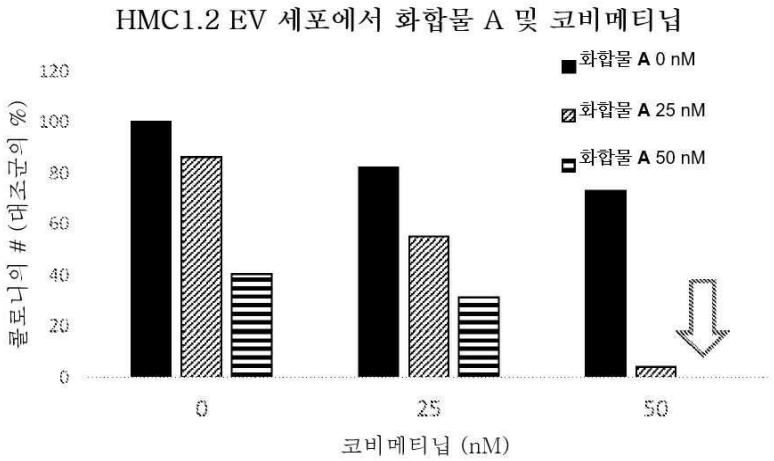
도면17d


HMC1.2 Nras G12D
대조군
화합물 A 25 nM
화합물 A 50 nM
500
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
콜로니 이 #
-
1 nM
10 nM
25 nM
트라메티닙

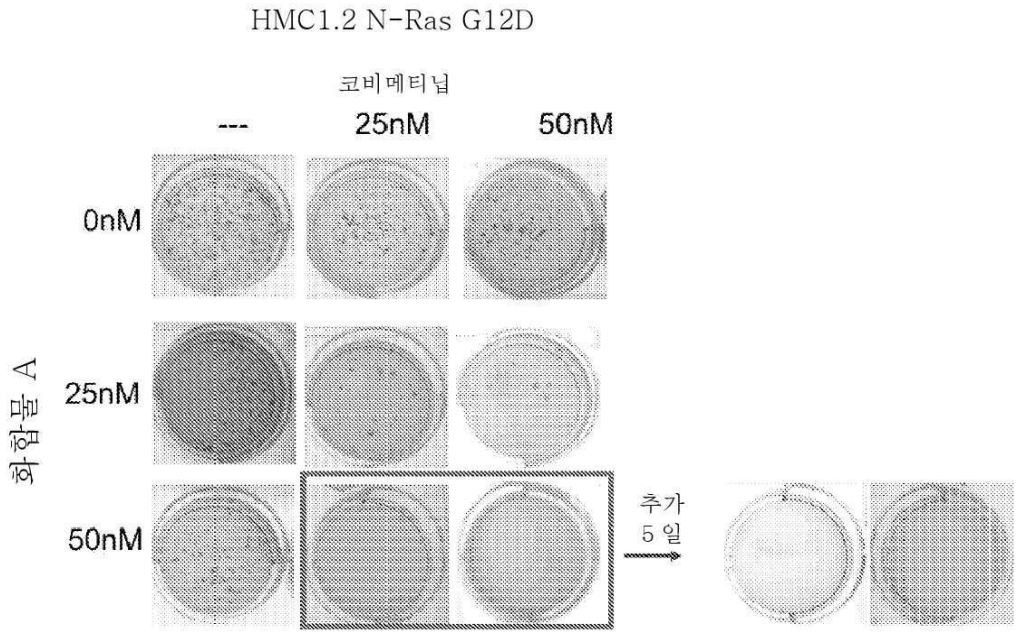
도면18a


HMC1.2 EV 세포
코비메티닙
25nM
50nM
0nM
25nM
50nM
화합물 A
추가
5 일

도면18b

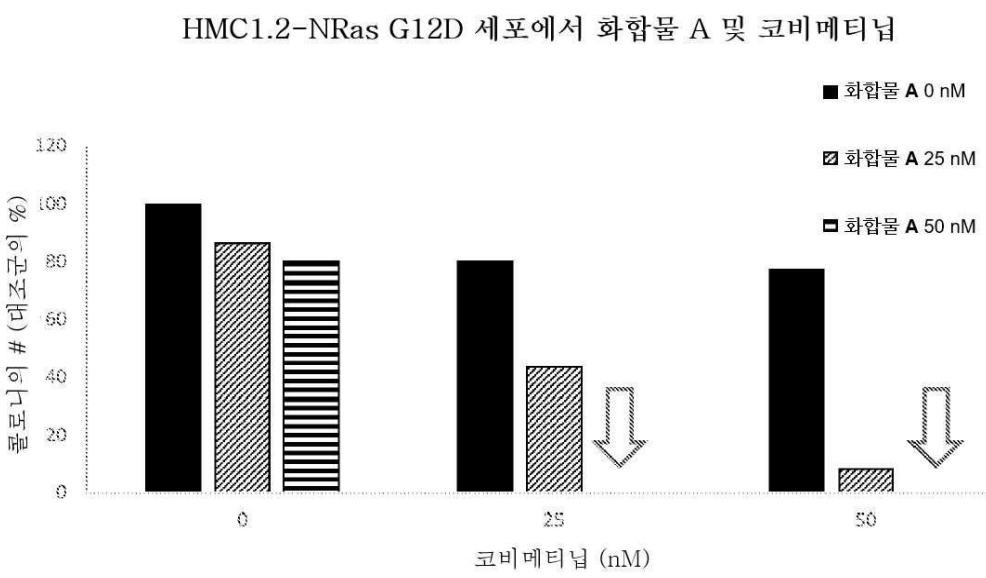

HMC1.2 EV 세포에서 화합물 A 및 코비메티닙
화합물 A 0 nM
화합물 A 25 nM
화합물 A 50 nM
콜로니의 # (대조군의 %)
120
100
80
60
40
20
0
0
25
50
코비메티닙 (nM)

도면18c


HMC1.2 N-Ras G12D
코비메티닙

25nM
50nM
0nM
25nM
50nM
화합물 A
추가
5 일

도면18d


HMC1.2-NRas G12D 세포에서 화합물 A 및 코비메티닙
화합물 A 0 nM
화합물 A 25 nM
화합물 A 50 nM
콜로니의 # (대조군의 %)
120
100
80
60
40
20
0
0
25
50
코비메티닙 (nM)