



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0028512
(43) 공개일자 2023년02월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/506 (2006.01) A61K 31/4184 (2006.01)
A61K 31/4188 (2006.01) A61K 31/422 (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01) A61K 31/444 (2006.01)
A61K 31/454 (2006.01) A61K 31/47 (2006.01)
A61K 31/4709 (2006.01) A61K 31/517 (2006.01)
A61K 31/5377 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/506 (2013.01)
A61K 31/4184 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2023-7002916

(22) 출원일자(국제) 2021년06월24일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2023년01월25일

(86) 국제출원번호 PCT/EP2021/067346

(87) 국제공개번호 WO 2021/260109

국제공개일자 2021년12월30일

(30) 우선권주장

20182364.8 2020년06월25일
유럽특허청(EPO)(EP)

21167277.9 2021년04월07일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인

톨레모 테라퓨틱스 아게

스위스, 뮌헨즈 4132 호파커스트라쎄 40비

(72) 발명자

플루키겔-망구엘, 스테파니

스위스, 뮌헨즈 4132 호파커스트라쎄 40비 톨레모
테라퓨틱스 아게 내

그루벨, 도로시아

스위스, 뮌헨즈 4132 호파커스트라쎄 40비 톨레모
테라퓨틱스 아게 내

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인이름리온

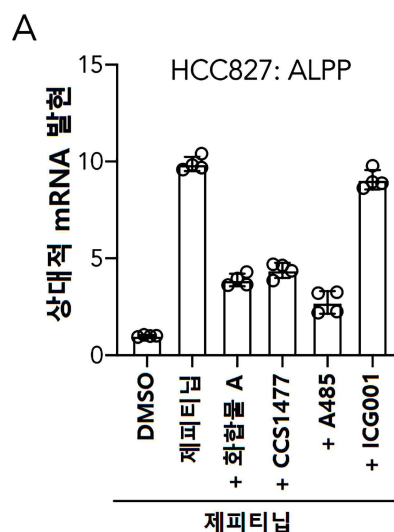
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 EGFR-돌연변이 NSCLC의 치료에 사용하기 위한 CBP/p300 브로모도메인 억제제 및 EGFR 억제제의 조합물

(57) 요약

본 발명은 특히 NSCLC를 앓고 있는 환자의 치료에 사용하기 위한 CBP/p300 브로모도메인 억제제 및 EGFR 억제제의 조합물에 관한 것이며, 여기서 NSCLC는 EGFR에서 종양원성 변경을 나타낸다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

A61K 31/4188 (2013.01)
A61K 31/422 (2013.01)
A61K 31/437 (2013.01)
A61K 31/444 (2013.01)
A61K 31/454 (2013.01)
A61K 31/47 (2013.01)
A61K 31/4709 (2013.01)
A61K 31/517 (2013.01)
A61K 31/5377 (2013.01)

(72) 발명자

보나커, 토마스

스위스, 뮌헨 4132 호파커스트라쎄 40비 툴레모
테라퓨틱스 아게 내

슈월, 마틴

스위스, 뮌헨 4132 호파커스트라쎄 40비 툴레모
테라퓨틱스 아게 내

슈미츠-로머, 데보라

스위스, 뮌헨 4132 호파커스트라쎄 40비 툴레모
테라퓨틱스 아게 내

파브리티우스, 찰스-헨리

스위스, 뮌헨 4132 호파커스트라쎄 40비 툴레모
테라퓨틱스 아게 내

라우다토, 사라

스위스, 뮌헨 4132 호파커스트라쎄 40비 툴레모
테라퓨틱스 아게 내

명세서

청구범위

청구항 1

비소세포폐암(non-small cell lung cancer, NSCLC)를 앓고 있는 환자의 치료에 사용하기 위한 (i) CBP/p300 브로모도메인 억제제 및 (ii) EGFR 억제제의 조합물(combination)로서,

상기 NSCLC는 상기 EGFR에서 종양원성 변경(oncogenic alteration)을 나타내는 것을 특징으로 하는, 조합물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 EGFR에서 종양원성 변경은 상기 EGFR의 과활성화를 초래하는 것을 특징으로 하는, 조합물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 종양원성 변경은 상기 EGFR 유전자의 엑손 18 또는 엑손 19 또는 엑손 20에서 결실 및/또는 삽입; 상기 EGFR 유전자에서 키나아제 도메인 중복; 상기 EGFR 유전자의 증폭; 상기 EGFR에서 L858R, G719S, G719A, G719C, V765A, T783A, S768I, S768V, L861Q, E709X, L819Q, A750P 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택된 아미노산 치환을 초래하는 상기 EGFR 유전자에서 적어도 하나의 염기 돌연변이—상기 X는 임의의 아미노산을 나타냄—; 및 전술한 것들의 임의의 조합에 의해 야기되는 것을 특징으로 하는, 조합물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 종양원성 변경은 상기 EGFR 유전자의 엑손 19에서의 결실, 바람직하게는 상기 EGFR에서 E746-A750 또는 L747-E749의 결실을 초래하는 결실; 상기 EGFR에서 L858R 또는 A750P 아미노산 치환을 초래하는 상기 EGFR 유전자에서 적어도 하나의 염기 돌연변이; 및 이들의 조합에 의해 야기되는 것을 특징으로 하는, 조합물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 NSCLC가 EGFR 억제제의 사전 투여로 인해 상기 EGFR에서 내성 변경을 추가로 나타내는 경우, 상기 조합물의 EGFR 억제제는 사전에 투여된 EGFR 억제제가 아닌 것을 특징으로 하는, 조합물.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 EGFR에서의 내성 변경은 상기 EGFR에서 T790M, C797X, L792X, G796X, L718Q, L718V, G724S, D761Y, V834L, T854A, 및 이들의 조합(상기 X는 임의의 아미노산을 나타냄)으로 구성된 군에서 선택된 아미노산 치환을 초래하는 상기 EGFR 유전자에서 적어도 하나의 염기 돌연변이에 의해 야기되는 것을 특징으로 하는, 조합물.

청구항 7

제5항 또는 제6항에 있어서,

상기 EGFR에서의 내성 변경은 상기 EGFR에서 T790M 아미노산 치환을 초래하는 상기 EGFR 유전자에서 적어도 하나의 염기 돌연변이에 의해 야기되는 것을 특징으로 하는, 조합물.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 CBP/p300 브로모도메인 억제제는 화합물 A, 화합물 C, 화합물 00030, 화합물 00071, CCS1477, GNE-781, GNE-049, SGC-CBP30, CPI-637, FT-6876, 화합물 462, 화합물 424 및 화합물 515로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는, 조합물.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 EGFR 억제제는 ABBV-321, 아비버티닙, 아파티닙(afatinib), 알플루티닙, 알모네르티닙, 아파티닙(apatinib), AZD3759, 브리가티닙, D 0316, D 0317, D 0318, 다코미티닙, DZD9008, 엘로티닙, FCN-411, 제피티닙, 이코티닙, 라파티닙, 레이저티닙, 모보서티닙, 나자티닙, 네라티닙, 올라페티닙, 오시머티닙, 포지오티닙, 파이로티닙, 레지버티닙, TAS6417, 반데타닙, 바리티닙, XZP-5809, 아미반타맙, CDP1, 세톡시맙, GC1118, HLX07, JMT101, M1231, 네시투무맙, 니모투주맙, 마투주맙, 파니투무맙, SCT200, SI-B001, SYN004, 잘루투무맙, 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는, 조합물.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조합물은 각각의 치료 주기 동안 상기 환자에게 투여되는 것을 특징으로 하는, 조합물.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 (i) 및 (ii)가 별개의 투여 형태로서 투여되거나 단일 투여 형태로 포함되는 것을 특징으로 하는, 조합물.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 (i) 및 (ii)가 별개의 투여 형태로서 투여되는 경우, 각각의 치료 주기 동안 상기 투여는 동시에 또는 순차적으로 이루어지는 것을 특징으로 하는, 조합물.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 치료는 단독 활성제로서 투여될 때의 상기 EGFR 억제제의 치료 효과의 지속 기간과 비교하여 치료 효과의 지속 기간의 연장을 초래하는 것을 특징으로 하는, 조합물.

청구항 14

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 치료는 단독 활성제로서 투여될 때의 상기 EGFR 억제제의 치료 효과와 비교하여 치료 효과의 증가를 초래하는 것을 특징으로 하는, 조합물.

청구항 15

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 치료는 상기 EGFR 억제제에 대한 내성의 예방을 초래하는 것을 특징으로 하는 조합물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 비소세포폐암(non-small cell lung cancer, NSCLC) 치료 분야에 관한 것이다. 따라서, 본 발명은 NSCLC를 앓고 있는 환자의 치료에 사용하기 위한 CBP/p300 브로모도메인 억제제 및 EGFR 억제제의 조합물에 관한 것이며, 여기서 NSCLC는 EGFR에서 종양원성 변경(oncogenic alteration)을 나타낸다.

배경 기술

[0002] 비소세포폐암(NSCLC)은 전 세계적으로 가장 흔한 악성 종양이고 암 사망의 주요 원인이며, 5년 생존율은 5% 이하이다.

[0003] Hou 등은 최근에 p300이 NSCLC 세포에서 상피-중간엽 전이를 유도함으로써 증식, 이동 및 침습을 촉진하는 것으로 보고하였다(Hou 등, *BMC Cancer* (2018) 18:641 참조). 이 결과들은 p300이 RNAi를 통해 하향조절된 NSCLC 세포주에서 얻었다. 따라서, p300 단백질의 발현은 핵산 유도 메커니즘에 의해 하향조절되었다.

[0004] p300(EP300 및 KAT3B로도 알려짐)은 많은 DNA-결합 전사 인자를 포함하는 다양한 단백질에 결합하는 많은 상이한 도메인을 갖는 큰 단백질이다. 사이클릭 AMP-반응요소 결합 단백질(cyclic AMP-responsive element-binding protein, CREB) 결합 단백질 CBP (CREBBP 및 KAT3A로도 알려짐)는 p300과 매우 밀접하게 관련된 단백질이고, 이 두 개의 단백질은 이들의 광범위한 서열 동일성 및 기능적 유사성의 관점에서 일반적으로 파라로그(paralog, 또는 '동종 상동')로 지칭된다.

[0005] CBP/p300은 히스톤 및 다른 단백질의 리신 측쇄에 대한 아세틸기의 부착을 촉매하는 것으로 밝혀진 리신 아세틸 전달효소이다. CBP/p300은 전사를 활성화시키는 것으로 제안되어 왔으며, 여기서 작용 메커니즘은 RNA 중합효소 기구에 DNA-결합 전사 인자를 가교시키는 데 또는 전사 개시 전 복합체를 조립하는 것을 돕는 데 있는 것으로 보인다. 이러한 목적을 위해, 상이한 CBP/p300 도메인은 상이한 유전자들의 전사를 위한 프로모터들 및 인핸서들에서 조립된 상이한 전사 인자들의 집합(arrays)과 상호작용하는 것으로 여겨진다(Dyson and Wright, *JBC* Vol 291, no 13, pp. 6714-6722, 도 2 참조).

[0006] CBP/p300의 다중 도메인들 중 하나는 브로모도메인이다. 이와 같은 브로모도메인은 1992년 초파리(*Drosophila*)에서 최초로 확인되었고 약 10년 후에 아세틸-리신에 대한 결합 모듈인 것으로 기술되었다. 인간에서, 서열 및 구조적 유사성에 기초하여 8개의 군으로 분류될 수 있는 많은 브로모도메인-함유 단백질이 존재한다. 모든 브로모도메인-함유 단백질은 전사 프로그램의 조절에 관여하는 것으로 보인다. 종양원성 재배열은 브로모도메인-함유 단백질들 및 보다 구체적으로 그들의 브로모도메인을 표적화하는 것이 특히 암의 치료에 유익할 수 있음을 시사한다.

[0007] 이러한 이유로, 브로모도메인-함유 단백질의 한 군을 구성하는, 통상적으로 BET-단백질로 지칭되는 소위 “브로모도메인 및 말단외 모티프” 단백질을 표적화하는, 현재 임상 시험을 받고 있는 몇몇 약물 후보가 개발되었다. BET-단백질 표적화 약물의 예는 INCB054329(Incyte Corporation), ABBV-075(AbbVie) 및 I-BET762(GlaxoSmithKline)이다. 브로모도메인-함유 단백질의 별개의 군의 일부인 CBP 및 p300의 브로모도메인을 선별적으로 표적화하는 약물이 또한 존재한다. 이러한 억제제는 예를 들어 전이성 거세 저항성 전립선암 및 혈

액성 악성 종양의 치료를 위한 임상 연구를 현재 진행중인 CCS1477(CellCentric) 또는 전이성 거세 저항성 전립선암의 치료를 위한 연구를 현재 진행중인 FT-7051(Forma Therapeutics Inc.)을 포함한다.

[0008] 상기 논의된 Hou 등에 의한 결과의 관점에서, 효과적인 NSCLC 치료를 제공하기 위해 NSCLC에서 p300 및 특히 이의 상이한 도메인들의 역할을 추가로 설명할 필요가 있다.

발명의 내용

[0009] 본 발명의 발명자들은 놀랍게도 CBP/p300 브로모도메인 억제제, 즉 CBP/p300의 브로모도메인에 선별적으로 결합하는 브로모도메인 억제제가 EGFR 억제제와 조합하여 투여되는 경우 EGFR에서 종양원성 변경(oncogenic alteration)을 나타내는 NSCLC의 효과적인 치료를 제공하는 반면, CBP/p300 브로모도메인 억제제는 단독으로 투여되는 경우 NSCLC 세포의 세포 증식에 영향을 미치지 않는다는 것을 발견하였다. 달리 말하면, 본 발명자들은 놀랍게도 CBP/p300 브로모도메인 억제제 및 EGFR 억제제의 조합물이, EGFR에서 종양원성 변경을 나타내는 NSCLC에 대해 두 활성 중 어느 하나가 그 자체로 나타내는 효과와 비교하여, EGFR에서 종양원성 변경을 나타내는 NSCLC를 치료하는 데 더 효과적이라는 것을 발견하였다. 따라서, 상기 언급된 바와 같이, CBP/p300 브로모도메인 억제제는 단독으로 제공되는 경우 효과를 갖지 않지만(이때 “효과 없음”은 특히 대상체에서 표적 병변 또는 비표적 병변에 대한 RECIST 1.1 반응 기준에 의해 정의된 바와 같은 객관적인 반응이 없다는 것을 의미함), EGFR 억제제의 효과는 단독으로 제공되는 경우 EGFR 억제제에 대한 내성의 발생으로 인해 시간이 지남에 따라 감소한다.

[0010] 제1 측면에서, 본 발명은 NSCLC를 앓고 있는 환자의 치료에 사용하기 위한 (i) CBP/p300 브로모도메인 억제제 및 (ii) EGFR 억제제의 조합물에 관한 것이며, 여기서 NSCLC는 EGFR에서 종양원성 변경을 나타낸다. 제1 측면은 또한 NSCLC를 앓고 있는 환자의 치료에 사용하기 위한 (i) CBP/p300 브로모도메인 억제제 및 (ii) EGFR 억제제의 조합물로 지칭될 수 있으며, 여기서 NSCLC는 조합물에 사용된 EGFR 억제제의 표지의 하나 이상의 전조에서 제공되는 EGFR-돌연변이 프로파일을 특징으로 하거나 NSCLC는 조합물에 사용된 EGFR 억제제에 의해 임상 시험 설정에서 표적화된 EGFR-돌연변이 프로파일을 특징으로 한다.

[0011] 제1 측면의 바람직한 구현예에서, EGFR에서 종양원성 변경은 EGFR의 과활성화를 초래한다. EGFR에서 종양원성 변경은 (이는 EGFR의 효소 활성, 즉 단백질-키나아제 활성이 구성적으로 활성이라는 의미에서) 심지어 구성적으로 활성인 EGFR을 초래할 수 있다.

[0012] 제1 측면의 추가 바람직한 구현예에서, 상기 EGFR에서 종양원성 변경은 EGFR 유전자의 엑손 18 또는 엑손 19 또는 엑손 20에서 결실 및/또는 삽입; EGFR 유전자에서 키나아제 도메인 중복; EGFR 유전자의 중복; EGFR에서 L858R, G719S, G719A, G719C, V765A, T783A, S768I, S768V, L861Q, E709X, L819Q, A750P 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택된 아미노산 치환을 초래하는 EGFR 유전자에서 적어도 하나의 염기 돌연변이; 및 전술한 것들의 조합에 의해 야기된다. 상기 종양원성 변경은 EGFR 유전자의 엑손 19에서의 결실; EGFR 유전자의 엑손 20에서의 삽입; EGFR에서 L858R, G719S, G719A, G719C, V765A, T783A, S768I, S768V, L861Q, E709X, L819Q, A750P 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택된 아미노산 치환을 초래하는 EGFR 유전자에서 적어도 하나의 염기 돌연변이; 및 전술한 것들의 조합에 의해 야기되는 것이 바람직할 수 있다. 상기 종양원성 변경은 EGFR 유전자의 엑손 19에서의 결실; EGFR에서 L858R 아미노산 치환을 초래하는 EGFR 유전자에서 적어도 하나의 염기 돌연변이; 및 이들의 조합에 의해 초래되는 것이 또한 바람직할 수 있다. EGFR 유전자의 엑손 18에서의 결실 및 삽입은 특히 EGFR에서 E709-T710의 결실 및 EGFR에서 이 위치에서의 D의 삽입을 초래하는 결실이다. EGFR 유전자의 엑손 19에서의 결실은 특히 EGFR에서 E746-A750 또는 L747-E749의 결실을 초래하는 결실이다. EGFR의 엑손 19에서의 결실 및 삽입은 특히 EGFR에서 L747-A750의 결실 및 EGFR에서 이 위치에서 P의 삽입 또는 EGFR에서 L747-T751의 결실 및 EGFR에서 이 위치에서 S의 삽입을 초래하는 결실이다. EGFR 유전자의 엑손 20에서의 삽입은 특히 D761-E762, A763-Y764, Y764-V765, A767-S768, S768-V769, V769-D770, D770-N771, N771-P772, P772-H773, H773-V774, V774-C775, V765-M766 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택된 두 개의 아미노산 사이에서 EGFR에서 위치에서의 아미노산(임의의 아미노산 또는 X의 의미에서)의 삽입을 초래하는 삽입이다. 상기 종양원성 변경은 EGFR 유전자의 엑손 19에서의 결실(특히 EGFR에서 E746-A750 또는 L747-E749의 결실을 초래하는 결실); EGFR에서 L858R 또는 A750P 아미노산 치환을 초래하는 EGFR 유전자에서 적어도 하나의 염기 돌연변이; 및 이들의 조합에 의해 초래되는 것이 가장 바람직할 수 있다. 상기 종양원성 변경은 EGFR 유전자의 엑손 19에서의 결실; 또는 EGFR에서 L858R 아미노산 치환을 초래하는 EGFR 유전자에서 적어도 하나의 염기 돌연변이에 의해 초래되는 것이 또한 매우 바람직할 수 있다. 본원에서 아미노산으로서 “X”를 언급할 때, “X”는 임의의 아미노산(그러나, 물론, 해당되는 경우, 예를 들어 E709X에 대해, 각각의 위치에서 야생형 아미노산과 상이한

아미노산)을 나타낸다.

- [0013] 제1 측면의 일 구현예에서, NSCLC는 EGFR에서 내성 변형을 추가로 나타내지 않는다. 따라서, 본 발명의 사용을 위한 조합물은 1차 치료로서 사용될 것이고, 조합물 중 EGFR 억제제는 EGFR에서 종양원성 변형을 나타내는 NSCLC를 치료하기 위해 투여되는 (또는 지시되는) 임의의 EGFR 억제제일 수 있다.
- [0014] 제1 측면의 다른 구현예에서, NSCLC는 EGFR에서 내성 변형을 추가로 나타낸다. 상기 EGFR에서의 내성 변형은 특히 EGFR에서 T790M, C797X (주로 C797S), L792X, G796X, L718Q, L718V, G724S, D761Y, V834L, T854A, 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택된 아미노산 치환을 초래하는 EGFR 유전자에서 적어도 하나의 염기 돌연변이에 의해 야기될 수 있다. 상기 EGFR에서의 내성 변형은 EGFR에서 T790M, C797X (주로 C797S), L718Q, L718V, T854A, 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택된 아미노산 치환을 초래하는 EGFR 유전자에서 적어도 하나의 염기 돌연변이에 의해 야기되는 것이 바람직할 수 있다. 상기 EGFR에서의 내성 변형은 EGFR에서 T790M 아미노산 치환을 초래하는 EGFR 유전자에서 적어도 하나의 염기 돌연변이에 의해 야기되는 것이 가장 바람직하다. 본원에서 아미노산으로서 “X”를 언급할 때, “X”는 임의의 아미노산(그러나, 물론, 해당되는 경우, 예를 들어 C797X에 대해, 각각의 위치에서 야생형 아미노산과 상이한 아미노산)을 나타낸다.
- [0015] NSCLC가 EGFR에서의 내성 변형을 추가로 나타내는 경우, 환자는 처음에는 효과적이었지만 내성 발생으로 인해, 특히 EGFR 내성 변형의 발생으로 인해 효과가 없게 된, (제1) EGFR 억제제로 이전에 치료를 받았다. 본 발명의 사용을 위한 조합물에서, 그러한 시나리오에서의 EGFR 억제제는 사전에 투여된 (제1) EGFR 억제제가 아니지만, 단독으로 투여될 때 적어도 하나의 내성 변형에도 불구하고 처음에 치료적으로 효과적인 (제2 또는 제3) EGFR 억제제인 것을 이해하는 것이 중요하다. 본 발명자들은 본원에서 “초기 치료적 유효성”을 지칭하는데, 이는 이러한 (제2 또는 제3) EGFR 억제제에 대한 또 다른 내성이 발생하여, 이러한 (제2 또는 제3) EGFR 억제제가 또한 궁극적으로 비효과적이 된다는 통상적인 관찰이다. 그러한 시나리오에서, 본 발명의 사용을 위한 조합물은 2차 또는 3차 치료로서 사용될 것이다. 예를 제공하면, 제피티닙은 종양원성 변형을 나타내는 NSCLC를 앓고 있는 환자에게 사전에 (1차 치료로서 단독) 투여되었을 수 있고, 상기 제피티닙 치료는 시간 경과에 따라(전형적으로 약 10 내지 약 12개월의 기간 후에) 비효과적이 되었고 EGFR T790M 내성 변형이 제피티닙-치료 동안 종양에서 발생하였다는 발견(예를 들어, EGFR 돌연변이를 검출하기 위한 생검 및 상응하는 시험을 통해)이 있다. 이러한 상황에서, 제피티닙은 본 발명의 사용을 위한 조합물에 사용되지 않을 것이지만, 특히 질환이 EGFR 티로신 키나아제 억제제(TKI) 요법 시 또는 후에 진행된 EGFR T790M 돌연변이-양성 NSCLC를 앓고 있는 환자의 치료에서 효과적인 것으로 밝혀진 (그리고 필요성이 나타난) 오시머티닙을 사용할 것이다.
- [0016] 상기를 고려하여, 일 구현예에서 본 발명은 NSCLC를 앓고 있는 환자의 치료에서 사용하기 위한 (i) CBP/p300 브로모도메인 억제제 및 (ii) EGFR 억제제의 조합물에 관한 것이고, 여기서 NSCLC는 EGFR에서 종양원성 변형을 나타내고, 단, NSCLC가 EGFR 억제제의 사전 투여로 인해 EGFR에서 내성 변형을 추가로 나타내는 경우, 조합물의 EGFR 억제제는 사전에 투여된 EGFR 억제제가 아니라 구체적으로 EGFR에서의 내성 변형(즉, 사전에 투여된 EGFR 억제제가 치료적으로 비효과적이 되게 한 내성 변형)에도 불구하고 치료적으로 효과적인 EGFR 억제제이다. 또한, NSCLC가 EGFR 억제제의 사전 투여로 인해 EGFR에서의 내성 변형을 추가로 나타내는 경우, 조합물의 EGFR 억제제는 사전에 투여된 EGFR 억제제가 아니라, 내성 변형에도 불구하고 단독으로 투여되는 경우 제1 치료 주기 동안 치료적으로 효과적인 EGFR 억제제인 단서 하에, 또는 NSCLC가 EGFR 억제제의 사전 투여로 인해 EGFR에서의 내성 변형을 추가로 나타내는 경우, 조합물의 EGFR 억제제는 사전에 투여된 EGFR 억제제가 아니라 EGFR에서의 내성 변형을 추가로 나타내는 NSCLC의 치료에 대해 필요성을 나타내는 EGFR 억제제인 단서 하에, 본 발명의 제1 측면에 따른 사용을 위한 조합물을 지칭할 수 있다.
- [0017] 두 개의 특이적 EGFR 억제제(즉, “X” 및 “조합물의 EGFR 억제제”)를 고려할 때 예들을 제공하면, 상기 단락은 일 구현예에서 NSCLC를 앓고 있는 환자의 치료에 사용하기 위한 (i) CBP/p300 브로모도메인 억제제 및 (ii) EGFR 억제제의 조합물을 지칭하는 것으로 이해되며, 여기서 NSCLC는 EGFR에서 종양원성 변형을 나타내고, 단, NSCLC가 EGFR 억제제 X의 사전 투여로 인해 EGFR에서 추가로 내성 변형을 나타내는 경우, 조합물의 EGFR 억제제는 EGFR 억제제 X가 아니다. 조합물의 EGFR 억제제는 EGFR에서의 내성 변형(즉, 사전에 투여된 EGFR 억제제 X가 치료적으로 비효과적이 되게 한 내성 변형)에도 불구하고 치료적이라는 것이 주목된다.
- [0018] 제1 측면의 다른 구현예에서, CBP/p300 브로모도메인 억제제는 소분자 억제제이다. 따라서, 이러한 구현예에서, CBP/p300 브로모도메인 억제제는 예를 들어 CBP 및/또는 p300에 대해 지시되는 shRNA 또는 RNAi와 같은 핵산-기반 억제제가 아니다.
- [0019] 제1 측면의 다른 구현예에서, EGFR 억제제는 소분자 억제제 또는 항체이다. 따라서, 이러한 구현예에서, EGFR

억제제는 예를 들어 EGFR에 대해 지시되는 shRNA 또는 RNAi와 같은 핵산-기반 억제제가 아니다. 제1 측면의 또 다른 구현예에서, EGFR 억제제는 소분자 억제제이다. 제1 측면의 추가 구현예에서, EGFR 억제제는 EGFR의 티로신 키나아제 활성을 억제한다.

[0020] 상기 CBP/p300 브로모도메인 억제제는 화합물 A, 화합물 C, 화합물 00030, 화합물 00071, CCS1477, GNE-781, GNE-049, SGC-CBP30, CPI-637, FT-6876, 화합물 462, 화합물 424 및 화합물 515로 구성된 군에서 선택될 수 있다. 이 화합물들은 상업적으로 입수가가능하거나 또는 하기에 추가로 약술된 바와 같이 공개적으로 개시되거나, 또는 이들의 합성 및 구조가 본 출원의 실시예들에 제시된다. 상기 CBP/p300 브로모도메인 억제제는 화합물 A, 화합물 C, CCS1477, GNE-781, GNE-049, CPI-637, 화합물 462, 화합물 424 및 화합물 515로 구성된 군에서 선택되는 것이 바람직할 수 있다.

[0021] 상기 EGFR 억제제는 ABBV-321, 아비버티닙, 아파티닙(afatinib), 알플루티닙, 알모네르티닙, 아파티닙(apatinib), AZD3759, 브리가티닙, D 0316, D 0317, D 0318, 다코미티닙, DZD9008, 엘로티닙, FCN-411, 제피티닙, 이코티닙, 라파티닙, 레이저티닙, 모보서티닙, 나자티닙, 네라티닙, 올라페티닙, 오시머티닙, 포지오티닙, 파이로티닙, 레지버티닙, TAS6417, 반데타닙, 바리티닙, XZP-5809, 아미반타맙, CDP1, 세톡시맙, GC1118, HLX07, JMT101, M1231, 네시투무맙, 니모투주맙, 마투주맙, 파니투무맙, SCT200, SI-B001, SYN004, 잘루투무맙, 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택될 수 있다. 상기 EGFR 억제제는 또한, 세톡시맙, 파니투무맙, 잘루투무맙, 니모투주맙, 마투주맙, 제피티닙, 엘로티닙, 라파티닙, 네라티닙, 반데타닙, 네시투무맙, 오시머티닙, 아파티닙(afatinib), 다코미티닙, 브리가티닙, 포지오티닙, 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택될 수 있다. 바람직한 일 구현예에서, 상기 EGFR 억제제는 아비버티닙, 아파티닙(afatinib), 알플루티닙, 알모네르티닙, 아파티닙(apatinib), AZD3759, 브리가티닙, D 0316, D 0317, D 0318, 다코미티닙, DZD9008, 엘로티닙, FCN-411, 제피티닙, 이코티닙, 라파티닙, 레이저티닙, 모보서티닙, 나자티닙, 네라티닙, 올라페티닙(olafertinib), 오시머티닙, 포지오티닙, 파이로티닙, 레지버티닙, TAS6417, 반데타닙, 바리티닙, XZP-5809, 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택된다. 더 바람직한 구현예에서, 상기 EGFR 억제제는 제피티닙 또는 오시머티닙이다. 상기 EGFR 억제제는 오시머티닙인 것이 가장 바람직할 수 있다.

[0022] 제1 측면의 바람직한 일 구현예에서, 상기 조합물은 각 치료 주기 동안 환자에게 투여된다.

[0023] 제1 측면의 또 다른 구현예에서, 상기 EGFR 억제제는 제1 치료 주기 동안 단독 활성제로서 투여되고, 이어서 이후의 치료 주기 동안 CBP/p300 브로모도메인 억제제가 추가 투여되며, 여기서 EGFR에서의 내성 변경은 제1 치료 주기 동안(즉, 본 발명의 조합물의 투여 전에) EGFR 억제제 단독의 투여에 반응하여 아직 발생하지 않았다. 상기 언급된 바와 같이, 내성 변경의 발생은 EGFR 돌연변이를 검출하기 위해 예를 들어 생검 및 상응하는 시험을 통해 평가될 수 있다. 본 발명에 따라 사용하기 위한 조합물을 사용할 때 내성의 발생이 방지될 수 있기 때문에, 각각의 치료 주기 동안 상기 조합물의 투여가 바람직하다.

[0024] 제1 측면의 또 다른 구현예에서, CBP/p300 브로모도메인 억제제 및 EGFR 억제제는 별개의 투여 형태로서 투여되거나 단일 투여 형태로 포함된다. CBP/p300 브로모도메인 억제제 및 EGFR 억제제가 별개의 투여 형태로서 투여되는 경우, 각각의 치료 주기 동안 투여는 동시에 또는 순차적으로 이루어질 수 있다. 이는 CBP/p300 브로모도메인 억제제가 먼저 투여되고, 이어서 EGFR 억제제가 투여되는 옵션을 포함한다.

[0025] 제1 측면의 또 다른 구현예에서, 상기 치료는 단독 활성제로서 투여될 때 EGFR 억제제의 치료 효과의 지속 기간과 비교하여 EGFR 억제제의 치료 효과의 지속 기간의 연장을 초래한다. 또 다른 구현예에서, 상기 치료는 단독 활성제로서 투여될 때 EGFR 억제제의 치료 효능과 비교하여 EGFR 억제제의 증가된 치료 효능을 초래한다. 다른 구현예에서, 상기 치료는 EGFR 억제제에 대한 내성의 예방을 초래한다.

[0026] 제1 측면의 다른 구현예에서, CBP/p300 브로모도메인 억제제는 약 1mg 내지 약 3000mg, 바람직하게는 약 10mg 내지 약 2000mg, 보다 바람직하게는 약 15mg 내지 약 1000mg의 일일 투여량으로 투여된다. CBP/p300 브로모도메인 억제제를 약 10mg, 약 15mg, 약 20mg, 약 50mg, 약 100mg, 약 250mg, 약 500mg, 약 1000mg, 약 1500mg, 약 2000mg, 약 2500mg, 또는 약 3000mg의 일일 투여량으로 투여하는 것이 바람직할 수 있다. 투여는 간헐적으로, 즉 매일 투여가 아닌 하루에 일어날 수 있지만, 상기 언급된 일일 투여량이 투여될 수 있다. CCS1477, 화합물 462, 화합물 424 또는 화합물 515가 CBP/p300 브로모도메인 억제제로서 사용되는 경우, 각각의 화합물은 약 10mg 내지 약 600mg의 일일 투여량으로 투여될 수 있다.

[0027] 제1 측면의 다른 구현예에서, EGFR 억제제는 EGFR 억제제가 유일한 활성제로서 투여되는 경우 전형적인 일일 투여량(특히 이용가능할 경우, 라벨 내의 EGFR 억제제에 대해 언급된 일일 투여량)의 범위 내에 있는 일일 투여량

으로 투여된다. 전형적인 일일 투여량 (또는 이용가능할 경우, 지시된 일일 투여량)은 사용될 특이적 EGFR 억제제에 따라 달라진다. 따라서, 제피티닙은 예를 들어 본 발명의 사용을 위한 조합물로 약 50 내지 약 300mg, 바람직하게는 약 100mg 내지 약 250mg, 가장 바람직하게는 약 150mg 내지 약 250mg의 일일 투여량으로 투여될 수 있다. 오시머티닙은 예를 들어 본 발명의 사용을 위한 조합물로 약 5 내지 약 1500mg, 바람직하게는 약 10mg 내지 약 100mg, 가장 바람직하게는 약 50mg 내지 약 80mg의 일일 투여량으로 투여될 수 있다. 엘로티닙은 예를 들어 본 발명의 사용을 위한 조합물로 약 10mg 내지 약 300mg, 바람직하게는 약 25mg 내지 약 200mg, 가장 바람직하게는 약 100mg 내지 약 150mg의 일일 투여량으로 투여될 수 있다. 아파티닙(afatinib)은 예를 들어 본 발명의 사용을 위한 조합물로 약 5mg 내지 약 100mg, 바람직하게는 약 10mg 내지 약 80mg, 가장 바람직하게는 약 20mg 내지 약 40mg의 일일 투여량으로 투여될 수 있다. 다코미티닙은 예를 들어 본 발명의 사용을 위한 조합물로 약 5mg 내지 약 100mg, 바람직하게는 약 10mg 내지 약 80mg, 가장 바람직하게는 약 15mg 내지 약 50mg의 일일 투여량으로 투여될 수 있다.

[0028] 제1 측면의 다른 구현예에서, EGFR 억제제는 EGFR 억제제가 유일한 활성제로서 투여되는 경우 상기 언급된 전형적인 일일 투여량보다 낮은 일일 투여량으로 투여된다. 다른 말로 하면, EGFR 억제제가 유일한 활성제로서 투여되지 않지만 본 발명에 따라 사용하기 위한 조합물로 투여되는 경우, EGFR 억제제는 EGFR 억제제가 유일한 활성제로서 투여되는 경우 사용되는 양보다 더 적은 양으로 투여될 수 있다. 이것은 예를 들어 위에 주어진 예들에서 일일 투여량이 주어진 범위들의 하한에 있거나 심지어 이 범위들 아래에 있음을 의미한다.

[0029] 제1 측면의 추가 구현예에서, 본 발명은 비소세포폐암(NSCLC)을 앓고 있는 환자의 치료에 사용하기 위한 (i) 화합물 A 및 (ii) EGFR 억제제의 조합물에 관한 것이며, 여기서 NSCLC는 EGFR에서 종양원성 변경을 나타낸다. 이 구현예에서, EGFR 억제제는 오시머티닙이고 상기 종양원성 변경은 EGFR 유전자의 엑손 19에서의 결실(특히 EGFR에서 E746-A750 또는 L747-E749의 결실을 초래하는 결실); EGFR에서 L858R 또는 A750P 아미노산 치환을 초래하는 EGFR 유전자에서 적어도 하나의 염기 돌연변이; 및 이들의 조합에 의해 초래되는 것이 바람직할 수 있다. EGFR에서의 내성 변경에 상응하는 EGFR에서의 T790M 아미노산 치환을 초래하는 EGFR 유전자에서의 적어도 하나의 염기 돌연변이는 EGFR 억제제가 오시머티닙인 구현예에서 존재할 수 있거나 존재하지 않을 수 있다.

[0030] 제1 측면의 추가 구현예에서, 본 발명은 비소세포폐암(NSCLC)을 앓고 있는 환자의 치료에 사용하기 위한 (i) 화합물 A 또는 화합물 C 및 (ii) EGFR 억제제의 조합물에 관한 것이며, 여기서 NSCLC는 EGFR에서 종양원성 변경을 나타낸다. 이 구현예에서, EGFR 억제제는 오시머티닙이고 상기 종양원성 변경은 EGFR 유전자의 엑손 19에서의 결실(특히 EGFR에서 E746-A750 또는 L747-E749의 결실을 초래하는 결실); EGFR에서 L858R 또는 A750P 아미노산 치환을 초래하는 EGFR 유전자에서 적어도 하나의 염기 돌연변이; 및 이들의 조합에 의해 초래되는 것이 바람직할 수 있다. EGFR에서의 내성 변경에 상응하는 EGFR에서의 T790M 아미노산 치환을 초래하는 EGFR 유전자에서의 적어도 하나의 염기 돌연변이는 EGFR 억제제가 오시머티닙인 구현예에서 존재할 수 있거나 존재하지 않을 수 있다.

[0031] 제1 측면의 추가 구현예에서, 본 발명은 비소세포폐암(NSCLC)을 앓고 있는 환자의 치료에 사용하기 위한 (i) CCS1477 및 (ii) EGFR 억제제의 조합물에 관한 것이며, 여기서 NSCLC는 EGFR에서 종양원성 변경을 나타낸다. 이 구현예에서, EGFR 억제제는 오시머티닙이고 상기 종양원성 변경은 EGFR 유전자의 엑손 19에서의 결실(특히 EGFR에서 E746-A750 또는 L747-E749의 결실을 초래하는 결실); EGFR에서 L858R 또는 A750P 아미노산 치환을 초래하는 EGFR 유전자에서 적어도 하나의 염기 돌연변이; 및 이들의 조합에 의해 초래되는 것이 바람직할 수 있다. EGFR에서의 내성 변경에 상응하는 EGFR에서의 T790M 아미노산 치환을 초래하는 EGFR 유전자에서의 적어도 하나의 염기 돌연변이는 EGFR 억제제가 오시머티닙인 구현예에서 존재할 수 있거나 존재하지 않을 수 있다.

[0032] 제1 측면의 추가 구현예에서, 본 발명은 비소세포폐암(NSCLC)을 앓고 있는 환자의 치료에 사용하기 위한 (i) GNE-781 또는 GNE-049 및 (ii) EGFR 억제제의 조합물에 관한 것이며, 여기서 NSCLC는 EGFR에서 종양원성 변경을 나타낸다. 이 구현예에서, EGFR 억제제는 오시머티닙이고 상기 종양원성 변경은 EGFR 유전자의 엑손 19에서의 결실(특히 EGFR에서 E746-A750 또는 L747-E749의 결실을 초래하는 결실); EGFR에서 L858R 또는 A750P 아미노산 치환을 초래하는 EGFR 유전자에서 적어도 하나의 염기 돌연변이; 및 이들의 조합에 의해 초래되는 것이 바람직할 수 있다. EGFR에서의 내성 변경에 상응하는 EGFR에서의 T790M 아미노산 치환을 초래하는 EGFR 유전자에서의 적어도 하나의 염기 돌연변이는 EGFR 억제제가 오시머티닙인 구현예에서 존재할 수 있거나 존재하지 않을 수 있다.

[0033] 제1 측면의 추가 구현예에서, 본 발명은 비소세포폐암(NSCLC)을 앓고 있는 환자의 치료에 사용하기 위한 (i) CPI-637 및 (ii) EGFR 억제제의 조합물에 관한 것이며, 여기서 NSCLC는 EGFR에서 종양원성 변경을 나타낸다. 이

구현예에서, EGFR 억제제는 오시머티닙이고 상기 종양원성 변경은 EGFR 유전자의 엑손 19에서의 결실(특히 EGFR에서 E746-A750 또는 L747-E749의 결실을 초래하는 결실); EGFR에서 L858R 또는 A750P 아미노산 치환을 초래하는 EGFR 유전자에서 적어도 하나의 염기 돌연변이; 및 이들의 조합에 의해 초래되는 것이 바람직할 수 있다. EGFR에서의 내성 변경에 상응하는 EGFR에서의 T790M 아미노산 치환을 초래하는 EGFR 유전자에서의 적어도 하나의 염기 돌연변이는 EGFR 억제제가 오시머티닙인 구현예에서 존재할 수 있거나 존재하지 않을 수 있다.

[0034] 제1 측면의 추가 구현예에서, 본 발명은 비소세포폐암(NSCLC)을 앓고 있는 환자의 치료에 사용하기 위한 (i) 화합물 462 또는 화합물 424 또는 화합물 515 및 (ii) EGFR 억제제의 조합물에 관한 것이며, 여기서 NSCLC는 EGFR에서 종양원성 변경을 나타낸다. 이 구현예에서, EGFR 억제제는 오시머티닙이고 상기 종양원성 변경은 EGFR 유전자의 엑손 19에서의 결실(특히 EGFR에서 E746-A750 또는 L747-E749의 결실을 초래하는 결실); EGFR에서 L858R 또는 A750P 아미노산 치환을 초래하는 EGFR 유전자에서 적어도 하나의 염기 돌연변이; 및 이들의 조합에 의해 초래되는 것이 바람직할 수 있다. EGFR에서의 내성 변경에 상응하는 EGFR에서의 T790M 아미노산 치환을 초래하는 EGFR 유전자에서의 적어도 하나의 염기 돌연변이는 EGFR 억제제가 오시머티닙인 구현예에서 존재할 수 있거나 존재하지 않을 수 있다.

[0035] 제2 측면에서, 본 발명은 NSCLC의 치료를 필요로 하는 환자에서 이를 치료하는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 유효량의 (i) CBP/p300 브로모도메인 억제제 및 유효량의 (ii) EGFR 억제제를 환자에게 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 NSCLC는 EGFR에서 종양원성 변경을 나타낸다.

[0036] 제3 측면에서, 본 발명은 EGFR 억제제의 치료 효과의 지속 기간 연장을 필요로 하는 환자에서 연장시키는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 유효량의 (i) CBP/p300 브로모도메인 억제제 및 유효량의 (ii) EGFR 억제제를 환자에게 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 NSCLC는 EGFR에서 종양원성 변경을 나타낸다. 다시 말하면, (조합물로 투여되는 경우) EGFR 억제제의 치료 효과의 지속 기간은 NSCLC 치료에서 유일한 활성체로서 투여되는 경우에 EGFR 억제제의 치료 효과의 지속 기간과 비교하여 연장된다.

[0037] 제4 측면에서, 본 발명은 EGFR 억제제의 치료 효과의 치료 효능의 증가를 필요로 하는 환자에서 증가시키는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 유효량의 (i) CBP/p300 브로모도메인 억제제 및 유효량의 (ii) EGFR 억제제를 환자에게 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 NSCLC는 EGFR에서 종양원성 변경을 나타낸다. 다시 말하면, (조합물로 투여되는 경우) EGFR 억제제의 치료 효능은 NSCLC 치료에서 유일한 활성체로서 투여되는 경우에 EGFR 억제제의 치료 효능과 비교하여 증가된다.

[0038] 제5 측면에서, 본 발명은 NSCLC 세포의 증식을 차단하는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 유효량의 (i) CBP/p300 브로모도메인 억제제 및 유효량의 (ii) EGFR 억제제를 상기 세포에 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 NSCLC 세포는 EGFR에서 종양원성 변경을 나타낸다.

[0039] 제6 측면에서, 본 발명은 NSCLC 세포의 증식을 지연시키는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 유효량의 (i) CBP/p300 브로모도메인 억제제 및 유효량의 (ii) EGFR 억제제를 상기 세포에 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 NSCLC 세포는 EGFR에서 종양원성 변경을 나타낸다.

[0040] 제1 측면에 대해 상기 약술된 구현예들은 제2 측면 내지 제6 측면의 방법에 동일하게 적용된다.

도면의 간단한 설명

[0041] 도 1: 브로모도메인(화합물 A, CCS1477) 또는 HAT 도메인(A485)에 결합하는 CBP/p300 억제제들만이 EGFR-돌연변이된 비소세포폐암 세포들(NSCLC)에서 EGFR 억제제-유도된 유전자 발현을 둔화시키지만, CBP와 β -카테닌(ICG001)의 상호작용을 방지하는 억제제는 아니다. 두 개의 상이한 EGFR 억제제는 저항-유발 게이트키퍼 돌연변이 T790M을 보유하거나 보유하지 않는 세포주에서 사용된다. 제시된 조절된 유전자의 예는 ALPP(알칼리 포스파타아제, 태반 유형; A 및 C) 및 HOPX(호메오도메인-단독 단백질; B 및 D)이다. 2회 qPCR을 사용한 2개의 독립적인 실험의 데이터(평균 $\pm$ SD).

도 2: CBP/p300의 브로모도메인(BRD)(화합물 A)에 결합하는 거울상 이성질체만이 농도-의존적 방식으로 EGFR 억제제-매개된 NSCLC 세포 증식 억제를 강화시키며, 하지만 CBP/p300의 브로모도메인(화합물 B)에 결합하지 않는 거울상 이성질체는 그렇지 않다. EGFR-돌연변이된 HCC827 세포의 세포 수를 시간 경과에 따라 모니터링하였다. (a) 세포를 DMSO 단독(채워진 원)으로, 20nM EGFR 억제제 단독(제피티닙; 1세대 EGFR 억제제, 개방 원)으로, 또는 CBP/p300 BRD 억제제의 브로모도메인-결합 거울상 이성질체(화합물 A)와 조합하여 치료하였다. (b) HCC827 세포들을 EGFR 억제제의 부재 하에 화합물 A & B에 노출시켰다. EGFR 억제제의 부재 하에 화합물 A는 EGFR-돌연

변이된 NSCLC 세포의 증식에 대한 그의 효과를 상실하고, CBP/p300의 브로모도메인에 결합하지 않는 화합물 B와 같이 거동한다. 제시된 그래프들은 각각의 시점 및 조건 (평균 $\pm$ SD)에 대해 3회 반복한 하나의 실험으로부터 온 것이다.

도 3: CBP/p300의 브로모도메인(화합물 A, CCS1477)에 결합하는 억제제만이 EGFR 억제제의 부재 하에 세포 성장에 영향을 미치지 않으면서 EGFR 억제제의 효과를 강화시킨다. CBP/p300 억제제의 히스톤 아세틸 전달효소(HAT) 도메인(A485)을 억제하는 CBP/p300 억제제는 EGFR 억제제의 부재 하에도 EGFR-돌연변이된 NSCLC 세포의 세포 증식에 영향을 미친다. (a), (b), (c), (d) 및 (e) EGFR-돌연변이된 NSCLC 세포주 HCC827의 세포 수를 핵 형광 염색을 사용하여 96-웰 플레이트들에서 측정된 시간[일 수]에 걸쳐 약물 치료들(그래프 범례에서 기호들)의 함수로서 도표화하였다. 도 3 a 및 b 및 c 좌측: 화합물 A(도 3a), CCS1477(도 3b), SGC-CBP30(도 3c) 또는 A485를 사용한 세포의 단일 제제 치료. CBP/p300의 브로모도메인을 표적화하는 화합물 A CCS1477, SGC-CBP30은 EGFR 억제제의 부재 하에 EGFR-돌연변이된 NSCLC 세포의 세포 증식에 영향을 미치지 않는다. 도 3 a 및 b 및 c 우측 및 도 3 d 및 e: 300nM 제피티닙(EGFR 억제제)의 존재 하에 화합물 A (a) 및 CCS1477(CBP/p300 BRD-I) (b) 및 SGC-CBP30 (c) 및 화합물 00071 (d) 및 화합물 00030 (e) 및 A485(CBP/p300 HAT-I)의 항-증식 활성. CBP/p300의 브로모도메인을 표적화하는 화합물 A 및 CCS1477 및 SGC-CBP30 및 화합물 00071 및 화합물 00030은 화합물이 EGFR 억제제 없이 사용될 때 항증식 효과의 부재에도 불구하고 EGFR-돌연변이된 NSCLC 세포에서 EGFR 억제제의 효과를 강화시킨다(좌측). 제시된 곡선들은 3회의 한 실험으로부터 온 것이다(평균 $\pm$ SD).

도 4: (a) 시간 경과[h]에 따른 HCC827 세포 수의 평가. 화합물 A는 EGFR 억제제의 부재 하에 EGFR-돌연변이된 NSCLC 세포의 세포 증식에 영향을 미치지 않지만, EGFR 억제제와 조합될 경우 약물 내성의 발달을 방지한다. 치료(treatments, 처치): 범례에 따른 DMSO, 1 μ M 화합물 A, 300nM 제피티닙 또는 300nM 제피티닙과 1 μ M 화합물 A의 조합. 예시 그래프들은 DMSO 및 화합물 A 치료에 대한 6개의 웰 또는 제피티닙 또는 제피티닙 + 화합물 A 치료에 대한 24개의 웰의 세포 수(평균 $\pm$ SD)를 나타낸다. (b) 제피티닙 또는 제피티닙 + 화합물 A로 0 또는 22일 동안 치료한, 점 도표로 표시한 웰당 세포 수(A에서와 같이 2개 실험 플레이트로부터, 조건당 n=48개 웰). **** p<0.0001, 크러스칼-윌리스 검증, 던(Dunn)의 다중 비교. (c) 특정 웰 상의 초기 세포 수의 로그 배수 변화로서 22일 후에 치료에 대한 반응을 나타내는 (A)에 따라 분석된, 2개의 플레이트(48개 웰/조건당)로부터 300nM 제피티닙 또는 300nM 제피티닙 + 1 μ M 화합물 A로 치료된 웰들의 폭포 도표. 웰을 가장 높은 로그 배수 변화로부터 가장 낮은 로그 배수 변화로 분류하였다. 빈 막대는 제피티닙-치료된 웰이고, 채워진 막대는 제피티닙 + 화합물 A로 치료된 웰을 나타낸다. 세포가 화합물 A 단독에 반응하지 않더라도, 화합물 A는 이와 같이 조합될 때 EGFR 억제제에 대한 반응을 유의하게 증가시킨다.

도 5: CBP/p300의 브로모도메인에 결합하는 억제제는 T790M-게이트키퍼 돌연변이를 갖는 EGFR-돌연변이된 NSCLC 세포에서 EGFR 억제제의 부재 하에 세포 성장에 영향을 미치지 않으면서 3세대 EGFR 억제제의 효과를 강화시킨다. (a) DMSO, 50nM 오시머티닙, 2 μ M 화합물 A 또는 50nM 오시머티닙과 2.0, 0.5 또는 0.125 μ M 화합물 A의 조합물의 존재 하에 시간[h]의 함수로서 NCI-H1975 세포 수의 평가. 화합물 A는 3세대 EGFR 억제제의 부재 하에 T790M-게이트키퍼 돌연변이를 갖는 EGFR-돌연변이된 NSCLC 세포의 세포 증식에 영향을 미치지 않지만, EGFR 억제제와 조합될 경우 약물 내성의 발달을 방지한다. (b) DMSO, 50nM 오시머티닙, 2 μ M CCS1477 또는 50nM 오시머티닙과 2.0, 0.5 또는 0.125 μ M CCS1477의 조합물의 존재 하에 NCI-H1975 세포 성장의 평가. CCS1477은 3세대 EGFR 억제제의 부재 하에 T790M-게이트키퍼 돌연변이를 갖는 EGFR-돌연변이된 NSCLC 세포의 세포 증식에 영향을 미치지 않지만, EGFR 억제제와 조합될 경우 약물 내성의 발달을 방지한다. (예시 그래프들은 그래프패드 프리즘(GraphPad Prism)에서 계산된 로지스틱 성장 곡선 맞춤(logistic growth curve fit)을 갖는 각각의 데이터 및 시점의 중복을 나타낸다).

도 6: CBP/p300의 브로모도메인에 결합하는 억제제들은 EGFR 억제제의 부재 하에 사용될 때 생체내에서 효과를 갖지 않지만, 이들은 상기와 같이 조합될 경우 시간 경과에 따른 보다 우수한 종양-제어 및 요법에 대한 보다 우수한 반응 속도를 제공하는 EGFR 억제제의 효과를 강화시킨다. (a) EGFR-돌연변이된 NCI-H1975 이종이식의 평균 종양 부피(+SEM)를 시간 경과에 따라 도표화한다. 네 개의 상이한 치료군이 도시된다: 매개물(30% PEG300/H2O; X표 원; n=4), 20mg/kg CCS1477(개방 원; n=4), 2mg/kg 오시머티닙(채워진 원; n=9) 또는 20mg/kg CCS1477과 조합된 2mg/kg 오시머티닙(반 채워진 원; n=10). CCS1477이 EGFR 억제제의 부재 하에 사용될 때, 이것은 종양 성장에 대해 효과를 갖지 않는다. 그러나, 이것이 EGFR 억제제와 조합될 때, 요법에 대한 반응이 증가되고, 종양 크기는 요법의 과정에 걸쳐 보다 잘 제어된다. (b) 모든 4개의 치료군에 대한 최상의 평균 반응이 폭포 도표(회색의 매개물, 흰색의 20mg/kg CCS1477, 검은색의 2mg/kg 오시머티닙 및 정사각형 표시의 20mg/kg CCS1477과 조합된 2mg/kg 오시머티닙)로 도시된다. 점선은 초기 종양 부피의 30%의 감소를 나타낸다. 브로모도

메인-결합 억제제(CCS1477) 단독에 대한 반응의 부재에도 불구하고, 브로모도메인-결합 억제제(CCS1477)가 EGFR 억제제(오시머티닙)와 조합될 때 요법에 대한 반응률이 증가한다.

도 7: 화합물 00004와 복합체화된 인간 CREBBP의 브로모도메인의 결정 구조의 결정에서, REFMAC5를 사용한 화합물의 모델링 전에 초기 모델의 정제로부터 초래된 모델의 초기 Fo-Fc 차이 전자 밀도 지도(4.0 σ 로 윤곽 표시).

도 8: EGFR 억제제 제피티닙과 조합된 화합물 A는 HCC4006 장기 세포 증식의 억제를 매개한다 - 상세는 실시예 9에서 제공된다.

도 9: EGFR 억제제 오시머티닙과 조합된 화합물 A, 화합물 C 및 구조적으로 관련되지 않은 선별적 CBP/p300 브로모도메인 억제제들(CCS1477, FT-6876 및 GNE-781)은 HCC827 장기 세포 증식의 억제를 매개한다 - 상세는 실시예 10에서 제공된다.

도 10: EGFR 억제제 오시머티닙과 조합된 화합물 A, 화합물 C 및 구조적으로 관련되지 않은 선별적 CBP/p300 브로모도메인 억제제들(CCS1477, FT-6876 및 GNE-781)은 HCC4006 장기 세포 증식의 억제를 매개한다 - 상세는 실시예 11에서 제공된다.

도 11: CBP/p300의 브로모도메인에 결합하는 억제제들은 EGFR 억제제의 부재 하에 사용될 때 생체내에서 효과를 갖지 않지만, 이들은 EGFR 억제제들과 조합될 경우 시간 경과에 따른 보다 우수한 종양-제어 및 요법에 대한 보다 우수한 반응 속도를 제공하는 EGFR 억제제의 효과를 강화시킨다. (a) EGFR-돌연변이된 NCI-H1975 이종이식의 평균 종양 부피(±SEM)를 시간 경과에 따라 도표화한다. 네 개의 상이한 치료군이 도시된다: 매개물(X표 원), 90mg/kg 화합물 C(개방 원), 2mg/kg 오시머티닙(채워진 원) 및 90mg/kg 화합물 C와 조합된 2mg/kg 오시머티닙(반 채워진 원). (b) 모든 4개의 치료군에 대한 최상의 평균 반응이 폭포 도표(회색의 매개물, 흰색의 90mg/kg 화합물 C, 검은색의 2mg/kg 오시머티닙 및 정사각형 표시의 90mg/kg 화합물 C와 조합된 2mg/kg 오시머티닙)로 도시된다. 점선은 초기 종양 부피의 30%의 감소를 나타낸다 - 상세는 실시예 12에 제공된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0042] 본 발명을 보다 상세히 설명하기 전에, 하기 정의가 도입된다.

[0043] 1. 정의

[0044] 본 명세서 및 청구범위에서 사용될 때, 단수 형태(“a”, 및 “an”)는 문맥상 명백하게 다르게 지시하지 않는 한 상응하는 복수를 포함한다.

[0045] 본 발명의 맥락에서 용어 “약(about)”은 당업자가 해당 특징의 기술적 효과를 여전히 보장하기 위해 이해할 수 있는 정확도의 간격을 의미한다. 상기 용어는 전형적으로 표시된 수치 값으로부터 $\pm 10\%$, 바람직하게는 $\pm 5\%$ 의 편차를 나타낸다.

[0046] 용어 “포함하는(comprising)”은 제한되지 않는 것으로 이해되어야 한다. 본 발명의 목적을 위해, 용어 “~로 이루어진(consisting of)”은 용어 “포함하는(comprising)”의 바람직한 구현예인 것으로 간주된다. 이후, 어떤 군(group)이 적어도 특정 수의 구현예를 포함하는 것으로 정의되는 경우, 이는 또한 바람직하게는 이 구현예들만으로 이루어진 군을 포함하는 것을 의미한다.

[0047] 본원에 사용된 용어 “CBP/p300 브로모도메인 억제제”는 CBP의 브로모도메인 및 p300의 브로모도메인에 강하고 선별적으로 결합하는 소분자를 의미한다. 이 용어는 용어 “CBP/p300의 브로모도메인에 선별적으로 결합하는 브로모도메인 억제제” 및 “CBP/p300의 억제에 대해 선별적인 브로모도메인 억제제”와 동의어이다. 이와 관련하여 “강한 결합”은 CBP의 브로모도메인 및 p300의 브로모도메인에 결합할 때 약 300nM 미만, 바람직하게는 약 100nM 미만의 Kd를 의미한다. 이와 관련하여 “선별적 결합”은 소분자가, 바람직하게는 실시예 4에 나타난 바와 같이 BROMOscan™을 수행할 때 본 출원의 실시예 4의 DiscoverX 유전자 기호에 의해 표시된 추가의 브로모도메인-함유 단백질 또는 브로모도메인과 비교할 때, BROMOscan™의 임의의 다른 브로모도메인-함유 단백질 또는 브로모도메인의 결합에 대한 Kd보다 적어도 약 20배 낮은, 바람직하게는 적어도 약 30배 낮은, 보다 바람직하게는 적어도 약 50배 낮은, 가장 바람직하게는 적어도 약 70배 낮은 Kd로, CBP의 브로모도메인 및 p300의 브로모도메인에 결합하는 것을 의미한다. 비교를 위해, CBP 및 p300을 제외한 BROMOscan™의 임의의 브로모도메인-함유 단백질 또는 브로모도메인의 최저 Kd는 CBP 및 p300의 최고 Kd와 비교된다. 따라서, 예를 들어 BRD4(전장, 짧은

-이소)에 대한 Kd가 CBP 및 p300을 제외한 모든 브로모도메인-함유 단백질 또는 브로모도메인의 최저 Kd이고 7100nM인 경우, 이는 (12nM이고 따라서 CBP에 대한 Kd보다 낮은, p300에 대한 Kd가 아니고) 29nM인 CBP에 대한 Kd와 비교된다. 상기 언급된 예는 하기 실시예 4의 표에서 화합물 A에 대해 제조된다.

[0048] 상기 개략된 바와 같이 강하고 선별적인 결합에 의해, CBP/p300의 브로모도메인을 통해 통상적으로 발생하는 세포 내의 상호작용 파트너와의 상호작용은 그 분자가 “억제제”로서 지칭되도록 억제된다. 용어 “상호작용을 억제하는”은 바람직하게는 CBP/p300의 브로모도메인과 상호작용 파트너 사이에 전혀(적어도 검출 가능한 수준이 아니게) 상호작용이 발생하지 않는 것을 의미한다. 그러나, CBP/p300의 브로모도메인과 상호작용 파트너 사이의 주어진 상호작용(100%로 설정됨)이 예를 들어 약 50%, 약 40%, 약 30%, 바람직하게는 약 20%, 더욱 바람직하게는 약 10% 또는 가장 바람직하게는 약 5% 이하의 수준으로 크게 감소될 때, 이러한 감소된 상호작용은 여전히 용어 “상호작용을 억제하는”에 의해 포괄된다. 상호작용을 억제하는 화합물의 의학적 용도의 관점에서, 상호작용의 완전한 억제는 충분한 치료 효과를 달성하기 위해 요구되지 않을 수 있다. 따라서, 본원에 사용된 용어 “억제하는”은 또한 목적하는 효과를 달성하기에 충분한 상호작용의 감소를 지칭하는 것으로 이해될 필요가 있다.

[0049] 본원에 사용된 용어 “EGFR”은 단백질 “표피 성장 인자 수용체”를 지칭한다. EGFR은 표피 성장 인자를 포함한 특정 리간드들의 결합에 의해 활성화되는 막관통 단백질이다. 성장 인자 리간드들에 의한 활성화시, EGFR은 불활성 단량체 형태로부터 활성 동종이량체로의 전이를 겪는다. 리간드 결합 후 동종이량체를 형성하는 것 이외에, EGFR은 ErbB2/Her2/neu와 같은 ErbB 수용체 패밀리의 또 다른 멤버와 쌍을 이루어 활성화된 이종이량체를 생성할 수 있다. EGFR 이량체화는 그의 내재적 세포내 단백질-티로신 키나아제 활성을 자극한다. 그 결과, EGFR의 C-말단 도메인 내의 몇몇 티로신 잔기의 자가인산화가 일어나고, 이는 그들 자신의 포스포티로신-결합 SH2 도메인들을 통해 인산화된 티로신들과 회합하는 몇몇 다른 단백질에 의한 하류 활성화 및 신호전달을 유도한다. 이들 하류 신호전달 단백질은 여러 신호 전달 계단식 다단계 반응, 주로 MAPK, Akt 및 JNK 경로를 개시하여 DNA 합성 및 세포 증식을 유도한다. EGFR 과활성화로 이어지는 돌연변이는 폐암을 비롯한 다수의 암과 관련이 있으며, 특히 그의 일정한 활성화를 초래할 수 있으며, 이는 제어되지 않은 세포 분열을 초래한다.

[0050] 본원에 사용된 용어 “EGFR 억제제”는 궁극적으로 세포 증식을 초래하는 세포내 하류 신호전달이 억제되도록 EGFR에 작용할 수 있는 분자를 지칭한다. 이러한 맥락에서 용어 “억제된”은 바람직하게는 하류 신호전달이 더 이상 발생하지 않는 것을 의미한다. 그러나, 주어진 하류 신호전달(100%로 설정됨)이 예를 들어 약 70%, 약 60%, 약 50%, 약 40%, 약 30%, 바람직하게는 약 20%, 더욱 바람직하게는 약 10% 또는 가장 바람직하게는 약 5% 이하의 수준으로 크게 감소될 때, 이러한 감소된 하류 신호전달은 여전히 용어 “세포내 하류 신호전달을 억제하는”에 의해 포괄된다. 하류 신호전달을 억제하는 화합물의 의학적 용도의 관점에서, 상기 신호전달의 완전한 억제는 충분한 치료 효과를 달성하기 위해 요구되지 않을 수 있다. 따라서, 이러한 맥락에서 본원에 사용된 용어 “억제하는”은 또한 목적하는 효과를 달성하기에 충분한 하류 신호전달의 감소를 지칭하는 것으로 이해될 필요가 있다. EGFR 억제제는 EGFR의 세포외 리간드 결합 도메인에 결합하여 이를 차단할 수 있다. 이러한 EGFR 억제제는 전형적으로 항체, 특히 아미반타맵, CDP1, 세툽시맵, GC1118, HLX07, JMT101, M1231, 네시투무맵, 니모투주맵, 마투주맵, 파니투무맵, SCT200, SI-B001, SYN004, 잘루투주맵, 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택된 단클론 항체이다. EGFR 억제제는 또한 수용체의 세포질 측에 결합하여 EGFR 티로신 키나아제 활성을 억제할 수 있다. 이러한 EGFR 억제제는 전형적으로 소분자, 특히 아비버티닙, 아파티닙(afatinib), 알플루티닙, 알모네르티닙, 아파티닙(apatinib), AZD3759, 브리가티닙, D 0316, D 0317, D 0318, 다코미티닙, DZD9008, 엘로티닙, FCN-411, 제피티닙, 이코티닙, 라파티닙, 레이저티닙, 모보서티닙, 나자티닙, 네라티닙, 올라페티닙(olafertinib), 오시머티닙, 포지오티닙, 파이로티닙, 레지버티닙, TAS6417, 반데타닙, 바리티닙, XZP-5809, 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택된 소분자이다.

[0051] 본원에 사용된 “NSCLC가 EGFR에서 종양원성 변경을 나타낸다”라는 말은 NSCLC 종양이 EGFR의 돌연변이된 버전을 갖는 것을 의미하며, 여기서 EGFR의 이러한 돌연변이된 버전은 NSCLC의 발달에 결부된다. 즉, EGFR의 돌연변이된 버전은 선택적으로 다른 인자들 중에서 NSCLC의 발달에 연계되거나 그의 원인이 되는 것으로 간주될 수 있다. EGFR의 돌연변이된 버전은 EGFR 유전자에서의 변경 때문에 NSCLC 종양에 존재하며, 여기서 이러한 변경은 특히 EGFR 유전자에서의 결실, EGFR 유전자에서의 삽입, EGFR 유전자에서의 결실 및 삽입, EGFR 유전자에서의 중복, EGFR 유전자의 중복, 및/또는 EGFR에서의 아미노산 치환을 초래하는 EGFR 유전자에서의 적어도 하나의 염기 돌연변이이다. 상응하는 특이적 변경은 위에 개략되어 있다. EGFR 유전자에서 이러한 변경의 조합이 빈번하게 발견된다. “EGFR에서의 종양원성 변경”은 하기 정의된 바와 같은 “EGFR에서의 내성 변경”이 아니다.

[0052] 본원에 사용된 용어 “EGFR에서의 내성 변경”은 EGFR 억제제로 치료시, NSCLC 종양이 (종양원성 변경 이외에)

EGFR에서의 추가의 변경을 획득하였으며, 여기서 EGFR에서의 이러한 추가 변경은 상기 EGFR 억제제(즉, 치료에 사용되었고 NSCLC가 처음에 민감성이었던 EGFR 억제제)에 의한 치료에 대해 NSCLC를 내성이 되게 한다. 이 내성은 EGFR 유전자에서의 변경에 의해 매개되며, 이는 특히 EGFR에서의 아미노산 치환을 초래하는 EGFR 유전자에서 적어도 하나의 염기 돌연변이일 수 있다. 따라서, 상기 정의된 바와 같은 “EGFR에서의 종양원성 변경” 과 대조적으로, “내성 변경” 은 NSCLC의 초기 발생과 연관되거나 그의 원인이 되는 것으로 간주되지 않는다. 오히려, 이는 사전에 투여된 특이적 EGFR 억제제에 의한 치료에 대해 NSCLC에 내성을 부여한다는 (그리고 내성 변경이 이 치료에 대한 종양의 반응으로서 발생하기 전에 NSCLC를 치료하는 데 효과적이었다는) 점에서 NSCLC에 대한 추가의 성장 이점을 제공한다. EGFR에서의 현저한 “내성 변경” 은 EGFR에서의 T790M 아미노산 치환이며, 이는 또한 게이트-키퍼 돌연변이로 지칭된다. “EGFR에서의 내성 변경” 은 상기 정의된 바와 같은 “EGFR에서의 종양원성 변경” 이 아니다. 그러나, 두 변경 유형은 물론 NSCLC 종양의 EGFR에 존재할 수 있고, 환자들에서 빈번하게 검출되며, 상응하는 세포주가 모델 시스템으로서 존재한다(예를 들어, 세포주 NCI-H1975 참조).

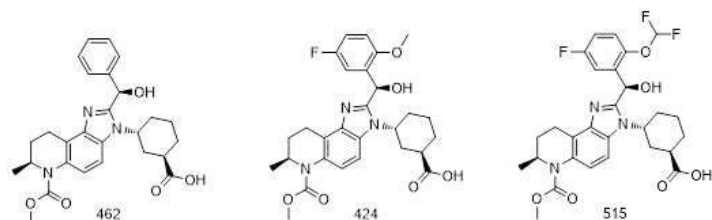
[0053] 본원에 사용된 용어 EGFR의 “과활성화” 는 EGFR이 야생형 상황에 비해 더 활성이고, 특히 하류 활성화 및 신호 전달에 대해 더 활성이어서, 암성 세포 성장을 초래한다는 것을 의미한다.

[0054] 본원에 사용된 용어 “소분자(small molecule)” 는 저분자량을 갖는 소형 유기 화합물을 지칭한다. 본 발명의 맥락에서 소분자는 바람직하게는 5000 돌턴 미만, 보다 바람직하게는 4000 돌턴 미만, 보다 바람직하게는 3000 돌턴 미만, 보다 바람직하게는 2000 돌턴 미만 또는 훨씬 더 바람직하게는 1000 돌턴 미만의 분자량을 갖는다. 특히 바람직한 구현예에서, 본 발명의 맥락에서 소분자는 800 돌턴 미만의 분자량을 갖는다. 또 다른 바람직한 구현예에서, 본 발명의 맥락에서 소분자는 50 내지 3000 돌턴, 바람직하게는 100 내지 2000 돌턴, 보다 바람직하게는 100 내지 1500 돌턴 및 훨씬 더 바람직하게는 100 내지 1000 돌턴의 분자량을 갖는다.

[0055] 본원에 사용된 용어 “치료” 는 질병을 치유 또는 개선시키고, 질병의 재발을 방지하고, 질병의 증상을 완화시키고, 질병의 임의의 직접적 또는 간접적 병리학적 결과를 감소시키고, 질병의 안정화된(즉, 악화되지 않는) 상태를 달성하고, 전이를 방지하고, 질병 진행 속도를 감소시키고, 및/또는 치료를 받지 않는 경우 예상되는 생존과 비교하여 생존을 연장시키기 위한 임상적 개입을 지칭한다.

[0056] 본원에 사용된 용어 “치료 주기” 는 약제가 환자의 병태의 초기 평가 후에 일정 기간 동안 투여되고, 이때 환자의 병태는 이어서 전형적으로 또 다른 치료 주기를 시작하기 전에 재평가되는 것을 의미한다.

[0057] 본원에 언급된 CBP/p300 브로모도메인 억제제의 세부사항은 다음과 같다: 화합물 A, 화합물 C, 화합물 00030 및 화합물 00071의 구조는 본 출원의 실시예 섹션에 제시되어 있다. 추가로, 이들 화합물에 대한 합성 경로는 본 출원의 실시예 섹션에 제시되어 있다. CCS1477은 예를 들어 Aobius에서 상업적으로 입수가능하고, 이의 CAS 등록 번호는 2222941-37-7이다. GNE-781은 예를 들어 MCE(MedChemExpress)에서 상업적으로 입수가능하고, 이의 CAS 등록 번호는 1936422-33-1이다. GNE-049는 예를 들어 MCE(MedChemExpress)에서 상업적으로 입수가능하고, 이의 CAS 등록 번호는 1936421-41-8이다. SGC-CBP30은 예를 들어 MCE(MedChemExpress)에서 상업적으로 입수가능하고, 이의 CAS 등록 번호는 1613695-14-9이다. CPI-637은 예를 들어 MCE(MedChemExpress)에서 상업적으로 입수가능하고, 이의 CAS 등록 번호는 1884712-47-3이다. FT-6876은 예를 들어 MCE(MedChemExpress)에서 상업적으로 입수가능하고, 이의 CAS 등록 번호는 2304416-91-7(FT-6876은 또한 “CBP/p300-IN-8” 로 지칭됨)이다. 화합물 462, 424 및 515의 구조는 하기에 도시되어 있으며, 여기서 이들 구조 및 합성 경로는 WO 2020/006483(특히 화합물 424의 경우 33 및 34페이지, 화합물 462의 경우 42 및 43페이지, 및 화합물 515의 경우 47 및 48페이지 참조)에 제시되어 있다:



[0058]

[0059] 2. 본 발명자들에 의한 놀라운 발견

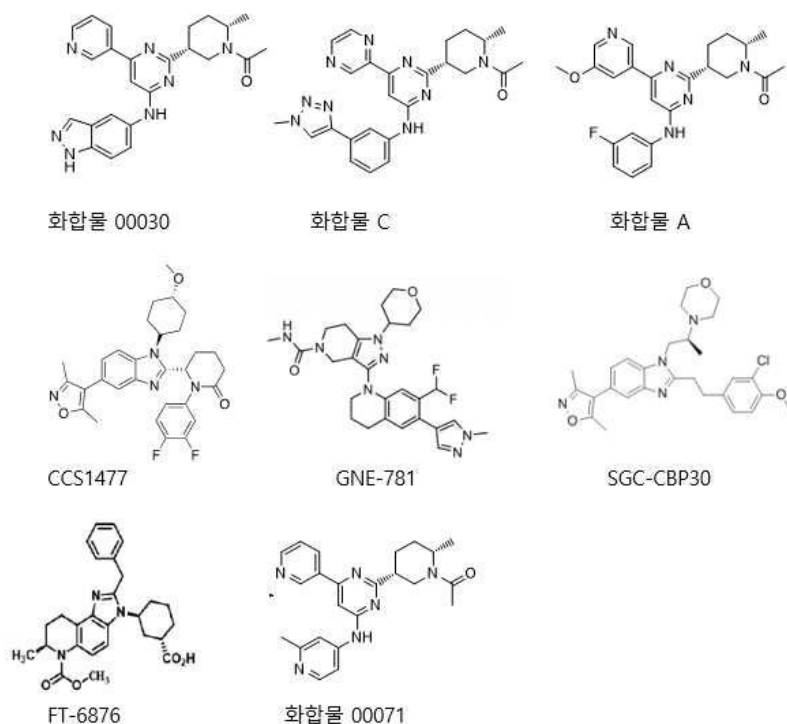
[0060] 본 발명자들은 CBP/p300의 브로모도메인에 강하게 결합하는 신규한 화합물을 확인하였고, 브로모도메인을 포함하는 많은 단백질이 존재하는 것으로 널리 알려져 있기 때문에, CBP/p300의 브로모도메인에 대한 결합이 또한 선별적임을 보여주었다.

- [0061] CBP/p300은 진행 전사 조절 네트워크에서 중심 노드로서 및 400개 넘는 전사 인자 및 다른 조절 단백질과 상호 작용하는 것으로 확인되었다. CBP/p300은 다수의 세포 신호전달 경로 사이의 혼선 및 간섭을 조절하고, 세포 조절 기구를 하이재킹하기 위해 종양 바이러스에 의해 표적화된다(상기 문헌[Dyson and Wright, page 6714, right column] 참조). CBP/p300은 상기 문헌[Dyson and Wright]의 도 1로부터 유도될 수 있는 바와 같이, 여러 도메인을 함유하는 큰 단백질이다. 이 도메인들은 NRID, TAZ1, TAZ2, KIX, CRD1, BRD, CH2(PHD 도메인 및 RING 핑거 도메인을 가짐), HAT, ZZ 및 NCBP 도메인이다. 이 단백질들의 크기 및 이들의 상이한 도메인으로부터, CBP/p300이 할 수 있는 다양한 상호작용으로 인해, 예를 들어 많은 상이한 상호작용 파트너와 상호작용함으로써 이들의 세포 기능이 매우 다양하다는 것은 이미 명백하다. 히스톤 아세틸전달효소로서 CBP/p300의 효소 활성은 HAT 도메인에 위치한다. 상기 언급된 바와 같이, 이러한 효소적 기능은 주로 전사 활성화에 결부되어 있다. CBP/p300은 또한 번역후 변형들, 특히 인산화를 겪는다. 이들 자신의 효소 활성 뿐만 아니라 번역후 변형들을 겪는 단백질들은 CBP/p300의 다양한 기능 및 효과에 또 다른 수준의 복잡성을 도입한다. 이 기능들 및 효과들이 심지어 반대될 수도 있다는 것이 문헌[Goodman and Smolnik, *Genes & Development* 2000, 14:1553-1577]의 도입부에서 잘 요약되어 있으며, 여기서 CBP/p300 기능에서의 주요 역설 중 하나는 이 단백질들이 직접 방향으로 반대되는 세포 과정에 기여할 수 있는 것으로 나타났고, CBP/p300이 세포자멸사를 촉진하는지 또는 세포 증식을 촉진하는지에 대해 고도로 맥락 의존적인 것으로 나타났다고 언급되어 있다. 질병에, 특히 암에 미치는 영향에 대해, 이는 특정 질병 및 특정 암 유형의 맥락이, CBP/p300이 어쨌든 관여한다면 관여하는 방식에 결정적일 것임을 의미한다.
- [0062] 상기의 관점에서, 예를 들어 일반적인 “CBP/p300 억제제”에 의해 영향을 받을 수 있는, 세포 과정에서 CBP/p300에 단일 기능을 할당하는 것이 가능하지 않다는 것은 놀랍지 않다. 오히려, 거대한 수준의 복잡성으로 인해, CBP/p300의 다양한 기능의 면밀한 분석은, CBP/p300의 특정 도메인을 조사할 때, 즉 예를 들어 이들의 HAT 도메인에서 CBP/p300의 효소 활성을 억제할 때 또는 특정 도메인을 차단(또는 “억제”)함으로써 상호작용 파트너에 대한 특이적 상호작용을 불가능하게 할 때 달성된 효과를 분석함으로써 단지 가능한 것으로 나타났다. 또한, 이는 상기 개괄된 바와 같이, 각각의 맥락에서, 예를 들어 특정 질병 또는 암 유형에서 관찰되어야 한다.
- [0063] 따라서, 본 발명자들은 특정 맥락에서 이들의 효과를 연구하기 위해 계속했으며, 여기서 이들의 억제제는 CBP/p300의 브로모도메인을 통해 상호작용 파트너와의 상호작용을 불가능하게 한다. 현재, CBP/p300의 브로모도메인은 p53 및 CREB의 것들을 포함하는 전사 인자 IDR들(본질적으로 무질서한 영역들) 및 히스톤 코리틀에서 아세틸-리신 잔기들을 인식하는 것으로 알려져 있다(상기 문헌 [Dyson and Wright, page 6717, right column] 참조). 본 발명자들은 상기 Hou 등의 최근의 문헌의 관점에서 비소세포폐암(NSCLC) 세포에서 이들의 억제제의 효과를 조사하는 데 착수하였다. 이 문헌에서는, p300의 shRNA-매개 하향조절에 기초하여, p300이 중요한 종양 프로모터로서 NSCLC 세포에서 세포 증식, 이동 및 침윤을 촉진한다는 결론을 내렸다. 그러나, 본 발명자들은 억제제 단독을 적용할 때 시험된 NSCLC 세포주의 증식에 대한 효과를 확인하지 못하였다. 따라서, 예를 들어 전립선암과 같은 다른 암 유형과 대조적으로, CBP/p300 브로모도메인 억제제는 NSCLC 세포의 증식에 대한 효과를 갖지 못하며, CBP/p300의 상이한 도메인을 표적화하는 억제제가 완전한 p300 단백질이 NSCLC 세포에서 RNAi에 의해 하향조절되는 경우에 관찰되는 효과를 나타낼 수 있는지 여부는 확인되지 않았다.
- [0064] 본 발명자들은 CBP/p300 브로모도메인 억제제를 시험하기 위해 계속하였고, 놀랍게도 이들의 CBP/p300 브로모도메인 억제제가 EGFR 억제제 단독의 투여와 비교하여 EGFR에서의 종양원성 변경을 나타내는 NSCLC 세포에서 EGFR 억제제의 효과를 연장시켰다는 것을 발견하였다. 다시 말하면, EGFR에서의 종양원성 변경을 나타내는 NSCLC의 증식에 대해 그 자체의 효과를 갖지 못하는 반면, 본 발명자들의 CBP/p300 브로모도메인 억제제는 EGFR 억제제에 의한 효과를 나타내었다. 다시 말하면, 본 발명자들의 CBP/p300 브로모도메인 억제제 및 EGFR 억제제의 조합은 시간이 지남에 따라 시험된 EGFR-돌연변이 NSCLC 세포의 현저한 증식 억제를 초래하였다.
- [0065] 이들의 실험을 위해, 본 발명자들은 종양원성 변경으로서 EGFR 유전자의 엑손 19에서의 결실을 갖는 NSCLC 세포주(엑손 19에서의 결실을 갖는 HCC827은 EGFR에서의 E746 내지 A750의 결실을 초래하고, 엑손 19에서의 결실을 갖는 HCC4006은 EGFR에서의 L747 내지 E749의 결실을 초래함)를 사용하였지만, EGFR에서 내성 변경은 없었다. 따라서, 이들 세포주는 종양이 “EGFR 엑손 19 결실”을 갖는 NSCLC를 가진 환자의 1차 치료를 위한 모델 시스템으로서 간주될 수 있다. 제피티닙 및 오시머티닙을 CBP/p300 브로모도메인 억제제와 조합하여 각각의 EGFR 억제제로서 사용하였다(하기 실시예들 참조). 본 발명자들은 또한 종양원성 변경 L858R 뿐만 아니라 내성 변경 T790M(NCI-H1975)을 나타내는 EGFR을 갖는 NSCLC 세포주를 사용하였다. EGFR T790M은 예를 들어 제피티닙 치료에 대한 반응으로 내성 변경으로서 발생하여 제피티닙 치료가 비효과적이게 만드는 것으로 알려져 있다. 따라서, 이 세포주는 종양이 초기 EGFR 억제제 치료에 대한 내성을 발생시킨 NSCLC를 갖는 환자의 2차 치료를

위한 모델 시스템으로서 간주될 수 있다. 이 세포주에서, 본 발명자들은 오시머티닙만을 CBP/p300 브로모도메인 억제제와 조합하여 사용하였다(오시머티닙은 EGFR에서 내성 변형 T790M에도 불구하고 효과적인 것으로 나타났으며, 이는 제피티닙을 효과적이지 않게 한다). 제피티닙과 CBP/p300 브로모도메인 억제제의 조합에 대한 시험은 T790M 돌연변이의 관점에서 볼 때 무의미했다.

[0066]

모든 시험된 세포주에서 상기 조합에 대한 장기간 인큐베이션에 대한 관찰된 현저한 증식 억제는 특히 주목할 만한데, 그 이유는 - 내성의 발생으로 인해 - EGFR 억제제를 단독으로 사용할 경우 시간 경과에 따른 증식 억제 가 완전한 상태로 유지되지 않기 때문이다. 아래 실험 섹션의 데이터에서 알 수 있듯이 이는 제피티닙 단독 적용 시 뿐만 아니라 오시머티닙 단독 적용 시에도 마찬가지이다. 따라서, 오시머티닙은 초기에 돌연변이 EGFR T790M에 의해 제공되는 내성을 극복할 수 있고 따라서 초기에 효과적이지만(NSCLC가 이미 내성인 제피티닙과 대조적으로), 또한 오시머티닙에 대한 내성도 시간이 지남에 따라 발생하며, 이는 궁극적으로 오시머티닙이 효과적이지 않게 된다. 이들의 CBP/p300 억제제에 대한 결과를 고려하여, 본 발명자들은 관찰된 효과가 이와 같이 CBP/p300 억제제에 일반화될 수 있는지 여부를 조사하였다. 이를 위해, 추가의 CBP/p300 브로모도메인 억제제, 즉 CCS1477, SGC-CBP30, FT-6876 및 GNE-781을 시험하였다. 본 발명자들에 의해 시험된 상이한 세트의 CBP/p300 억제제의 구조는 이들의 공통 특징이 이들 억제제에 의해 달성되는 효과, 즉 CBP/p300 브로모도메인의 선택적 억제와 배타적으로 관련되도록 관련되지 않는다는 것이 주목된다. 모든 시험된 CBP/p300 억제제의 구조는 하기와 같다:



[0067]

[0068]

시험된 EGFR 억제제들인 제피티닙 및 오시머티닙은 이들의 구조 및 작용에서 상당히 상이하지만(제피티닙은 “비공유 억제제”인 반면, 오시머티닙은 “공유 억제제”임) EGFR의 키나아제 활성화에 대한 억제 기능을 공통적으로 갖는 것도 언급되어야 한다. 또한, 이들은 이들의 개발의 관점에서 상당히 상이한데, 즉 NSCLC를 치료하기 위한 제1 세대의 약물(즉, 제피티닙) 및 NSCLC를 치료하기 위한 제3 세대의 약물(즉, 오시머티닙)이다.

[0069]

또한, 본 발명자들은 단일 NSCLC 세포주를 시험하였을 뿐만 아니라, 세 개의 상이한 NSCLC 세포주(HCC827, HCC4006 및 NCI-H1975)를 사용하였다. 이는 주어진 질병의 단일 세포주에 의한 시험관내 실험이 신뢰할 수 없는 결과를 제공할 수도 있는 반면, 주어진 질병의 적어도 두 개의 상이한 세포주에서 동일한 결과를 수득하는 것은 수득된 결과가 신뢰할 수 있다는 훨씬 더 강한 지표라는 점에서 특히 중요하다. 또한, 특히 치료 수일 후에 CBP/p300 브로모도메인 억제제의 효과를 보다 신뢰할 수 있게 분석하기 위해 EGFR 억제제에 의해 초기에 완전히 성장-억제되는 위치에 있는 이러한 분석에서 NSCLC 세포주를 사용하는 것이 바람직한 것으로 보인다. 물론, 이 종이식 모델에 기초하고 NSCLC 세포주를 사용할 때 초기 발견과 일치하는 결과는 실험들로부터 도출될 수 있는 전체적인 결론을 훨씬 더 잘 확인해준다. 이러한 이종이식 데이터는 본원의 하기 실시예 섹션에 제시된 바와 같

이 본 발명자들에 의해서도 얻어졌다.

[0070] 3. 본 발명의 화합물의 약학 조성물

[0071] “CBP/p300 브로모도메인 억제제” 및 “EGFR 억제제”는 본원에 청구된 바와 같은 용도를 위한 “약학적 활성제”이다. 상기 언급된 바와 같이, 이들은 별개의 투여 형태로 존재하거나 단일 투여 형태로 포함될 수 있다.

[0072] 본원에 사용된 “약학적 활성제”는 화합물이 환자, 즉 생체내 인간 또는 동물에서 반응을 조절하는 데 강력하다는 것을 의미한다. 본원에 사용된 용어 “약학적으로 허용 가능한 부형제”는 당업자에게 알려진 약학 조성물에 통상적으로 포함되는 부형제를 지칭한다. 이러한 부형제는 하기에 예시적으로 열거된다. 상기 제시된 바와 같은 “약학적 활성제”의 정의의 관점에서, 약학적으로 허용 가능한 부형제는 약학적으로 불활성인 것으로 정의될 수 있다.

[0073] 시판된 EGFR 억제제가 CBP/p300 브로모도메인 억제제와 조합되어 사용되는 경우, 투여가 별개의 투여 형태를 통해 일어나고 EGFR 억제제가 이 투여 형태로 및 승인된 투여 경로를 통해 투여되는 것이 바람직하다. CBP/p300 브로모도메인 억제제는 하기 제시된 바와 같은 투여 형태로 또는 현재 임상 시험을 받고 있는 투여 형태로 투여될 수 있다.

[0074] 본 발명에 따른 사용을 위한 투여 형태는 경구, 협측, 비강, 직장, 국소, 경피 또는 비경구 적용을 위해 제형화될 수 있다. 경구 적용이 바람직할 수 있다. 비경구 적용이 또한 바람직할 수 있고, 정맥내, 근육내 또는 피하투여를 포함한다. 본 발명의 투여 형태는 또한 제형 또는 약학 조성물로서 지정될 수 있다.

[0075] 일반적으로, 본 발명에 따른 약학 조성물은 다양한 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함할 수 있으며, 이는 조성물에 대해 어느 기능성이 달성될 것인지에 따라 선택될 것이다. 본 발명의 의미에서 “약학적으로 허용 가능한 부형제”는 코팅 재료, 필름-형성 재료, 충전제, 봉해제, 방출-개질 재료, 운반체 재료, 희석제, 결합제 및 다른 보조제를 비롯한 약학적 투여 형태의 조제에 사용되는 임의의 물질일 수 있다. 전형적인 약학적으로 허용 가능한 부형제는 수크로스, 만니톨, 소르비톨, 전분 및 전분 유도체, 락토스, 및 스테아린산마그네슘과 같은 윤활제, 봉해제 및 완충제 등의 물질을 포함한다.

[0076] 용어 “운반체”는 활성 성분이 조합되어 적용을 용이하게 하는 약학적으로 허용 가능한 유기 또는 무기 운반체 물질을 나타낸다. 적합한 약학적으로 허용 가능한 운반체는, 예를 들어, 물, 염 용액, 알코올, 오일, 바람직하게는 식물성 오일, 폴리에틸렌 글리콜, 젤라틴, 락토스, 아밀로스, 스테아린산마그네슘, 계면활성제, 향수 오일, 지방산 모노글리세리드 및 디글리세리드, 페트로에트랄 지방산 에스테르, 히드록시메틸-셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈 등을 포함한다. 약학 조성물은 멸균될 수 있고, 원하는 경우, 활성 화합물과 유해하게 반응하지 않는, 윤활제, 보존제, 안정화제, 습윤제, 유화제, 삼투압에 영향을 미치는 염, 완충제, 착색제, 향미제 및/또는 방향족 물질 등과 같은 보조제와 혼합될 수 있다.

[0077] 액체 투여 형태가 본 발명에 대해 고려되는 경우, 이는 본 기술분야에서 통상적으로 사용되는 물과 같은 불활성 희석제를 함유하는 약학적으로 허용 가능한 에멀션, 용액, 현탁액 및 시럽을 포함할 수 있다. 이들 투여 형태는 예를 들어 벌크를 부여하기 위한 미세결정질 셀룰로오스, 알긴산 또는 알긴산나트륨을 현탁제로서 함유할 수 있고, 메틸셀룰로오스를 점도 증진제 및 감미제/향미제로서 함유할 수 있다.

[0078] 비경구 적용을 위해, 특히 적합한 매개물은 용액, 바람직하게는 유성 또는 수성 용액 뿐만 아니라 현탁액, 에멀션 또는 이식물로 이루어진다. 비경구 투여를 위한 약학적 제형이 특히 바람직하고, 수용성 형태의 수용액을 포함한다. 추가로, 현탁액은 적절한 유성 주사 현탁액으로서 제조될 수 있다. 적합한 친유성 용매 또는 매개물은 참기름과 같은 지방 오일, 또는 에틸 올레에이트 또는 트리글리세리드와 같은 합성 지방산 에스테르, 또는 리포솜을 포함한다. 수성 주사 현탁액은 현탁액의 점도를 증가시키는 나트륨 카르복시메틸 셀룰로오스, 소르비톨 또는 텍스트란과 같은 물질을 함유할 수 있다.

[0079] 특히 바람직한 투여 형태는 본 발명의 약학 조성물의 주사가 가능한 조제품이다. 따라서, 멸균 주사가 가능한 수성 또는 유성 현탁액은, 예를 들어 적합한 분산제, 습윤제 및/또는 현탁제를 사용하여 관련 기술분야에 알려진 방법에 따라 제형화될 수 있다. 멸균 주사가 가능한 조제품은 또한 비독성 비경구적으로 허용되는 희석제 또는 용매 중의 멸균 주사가 가능한 용액 또는 현탁액일 수 있다. 사용될 수 있는 허용되는 매개물 및 용매 중에는 물 및 등장성 염화나트륨 용액이 있다. 멸균 오일은 또한 용매 또는 현탁 배지로서 통상적으로 사용된다.

[0080] 본 발명의 약학 조성물의 직장 투여를 위한 좌제(suppositories)는 예를 들어 화합물을 적합한 비-자극성 부형제, 예컨대 코코아 버터, 합성 트리글리세리드 및 폴리에틸렌 글리콜(실온에서는 고체이지만 직장 온도에서는

액체임)과 혼합하여 제조될 수 있으며 이렇게 하여 이들은 직장에서 용융되고 상기 좌제로부터 활성제를 방출시킬 것이다.

[0081] 흡입에 의한 투여를 위해, 본 발명에 따른 화합물을 포함하는 약학 조성물은 적합한 추진제, 예를 들어 디클로로디플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 디클로로테트라플루오로에탄, 이산화탄소 또는 다른 적합한 기체를 사용하여 가압 액 또는 분무기로부터 에어로졸 스프레이의 형태로 편리하게 전달될 수 있다. 가압 에어로졸의 경우에, 투여량 단위는 계량된 양을 전달하기 위한 밸브를 제공함으로써 결정될 수 있다. 흡입기 또는 취입기에 사용하기 위한 예를 들어 젤라틴의 캡슐 및 카트리지는 화합물의 분말 혼합물 및 적합한 분말 베이스, 예컨대 락토스 또는 전분을 함유하여 제형화될 수 있다.

[0082] 경구 투여 형태는 액체 또는 고체일 수 있고, 예를 들어 정제, 트로키, 알약, 캡슐, 분말, 발포성 제형, 당의정 및 과립을 포함한다. 경구 사용을 위한 약학 조제품은 고체 부형제로서 수득될 수 있고, 선택적으로, 생성된 혼합물을 분쇄하고, 필요한 경우 적합한 보조제를 첨가한 후에 과립의 혼합물을 가공하여 정제 또는 당의정 코어를 수득할 수 있다. 적합한 부형제는, 특히 락토스, 수크로스, 만니톨 또는 소르비톨을 포함한 당과 같은 충전제; 예를 들어 옥수수 전분, 밀 전분, 벼 전분, 감자 전분, 젤라틴, 트라가칸트 검, 메틸 셀룰로오스, 히드록시프로필메틸-셀룰로오스, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스, 및/또는 폴리비닐피롤리돈(PVP)과 같은 셀룰로오스 조제품이다. 원하는 경우, 붕해제, 예컨대 가교된 폴리비닐 피롤리돈, 한천, 또는 알긴산 또는 그의 염, 예컨대 알긴산나트륨이 첨가될 수 있다. 경구 투여 형태는 활성제의 즉시 방출 또는 활성제의 서방성을 보장하도록 제형화될 수 있다.

[0083] 4. 추가 개시내용 및 구현예

[0084] 수용체 티로신 키나아제(RTK) 억제제 및 다른 키나아제 억제제의 임상 항종양 효과는 오래가지 않는다. 이 억제제들에 대한 내성은 통상적으로 발생한다. 보다 구체적으로, EGFR 억제제(EGFRi)의 임상 항종양 효과는 오래가지 않는다. EGFR 억제제에 대한 내성은 치료제 및 임상 환경에 따라 통상적으로 9 내지 19개월 이내에 발생한다. 따라서, 암 환자에게서 약물 내성을 예방할 암 치료 방식을 개발하는 것이 바람직하다. 역사적으로, 약물 내성을 해결하기 위한 대부분의 접근법은 재발성 종양의 유전적 동인(genetic driver)들에 초점을 맞추었다. 이미 확립된 약물 내성을 극복하기 위한 노력으로, 종양 재성장을 유도하는 새로이 돌연변이된 단백질은 단독으로 또는 원발성 암 약물과 조합하여 치료적으로 표적화될 것이다. EGFRi 치료에 대한 하나의 내성 메커니즘은 EGFR 단백질에서, EGFRi를 비효과적으로 만드는 돌연변이인, 게이트키퍼 돌연변이의 발생이다. 가장 일반적으로, 이 게이트키퍼 돌연변이는 T790M 돌연변이이다. 오시머티닙과 같은 돌연변이-특이적 억제제는 돌연변이된 EGFR T790M을 억제하지 않는 제1 세대 EGFR 억제제에 대한 확립된 약물 내성을 극복하기 위해 사용된다. EGFRi 치료에 대한 또 다른 내성 메커니즘은, 예를 들어 MET, ErbB2, HGF, ErbB3, IGF1R, AXL, NTRK1, BRAF, FGFR3, 또는 FGFR1의 증폭, 과발현 또는 활성화를 통해, 다른 수용체 티로신 키나아제를 통해 활성화되는 우회 신호전달이다. 우회 신호전달을 억제하기 위한 치료적 개입은 병원에서 혼합된 결과로 시험되었다.

[0085] 문헌[특허 출원 W02018022637]과 같은 이전의 개시내용들은 CBP/p300 억제제의 신규 암 요법으로서의 용도, 특히 p300 돌연변이를 갖는 암의 치료를 위한 용도를 기재한다. W02011085039는 CBP/p300 히스톤 아세틸전달효소(HAT)의 활성을 억제하는 것, 및 암에 걸린 대상체를 치료하기 위한, 특히 DNA 손상 화학요법 항암제와 조합된 CBP/p300 HAT 억제제의 용도를 포함하는 암의 치료 방법을 기재한다.

[0086] 암 약물 내성의 발생을 예방하기 위한 신규한 효과적인 방법 및 조성물이 필요하다. 이는 특히 본 섹션 4의 구현예들에 의해 다루어진다.

[0087] 구현예 1: 암의 치료를 필요로 하는 동물에 EGFR, ALK, MET, HER2, ROS1, RET, NTRK1 및 AXL 억제제로 구성된 군에서 선택된 수용체 티로신 키나아제 억제제, 또는 KRas(커스텐 쥐 육종) 또는 BRAF(원종양유전자 B-Raf 및 v-Raf 뮤린 육종 바이러스 종양유전자 동족체 B) 억제제 및 CBP/p300 브로모도메인 억제제를 투여하는 것을 포함하는, 상기 동물에서 암을 치료하는 방법에 사용하기 위한 CBP/p300 브로모도메인 억제제로서, 여기서 상기 암은 상기 상응하는 수용체 티로신 키나아제에서 또는 KRas 또는 BRAF에서의 변형을 포함하고, 여기서 상기 CBP/p300 브로모도메인 억제제 단독은 상기 암의 진행을 늦추지 않는 것을 특징으로 한다.

[0088]

[0089] 구현예 2: 암에 걸린 동물에 CBP/p300 브로모도메인 억제제 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 투여하는 것을 포함하는, 동물에서 수용체 티로신 키나아제 억제제 또는 KRas 또는 BRAF 억제제 암 요법의 반응 지속 기간을 연장하는 방법에 사용하기 위한 CBP/p300 브로모도메인 억제제로서, 상기 CBP/p300 브로모도메인 억제제

또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 투여될 때 반응 지속 기간은 상기 CBP/p300 브로모도메인 억제제 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 투여의 부재 하에서 상기 암 요법에 대한 반응 지속 기간과 비교하여 연장되고, 상기 수용체 티로신 키나아제 억제제는 EGFR, ALK, MET, HER2, ROS1, RET, NTRK1 및 AXL 억제제로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 한다.

[0090] 구현예 3: 암의 치료에 사용하기 위한 조성물로서, 상기 조성물은 CBP/p300 브로모도메인 억제제 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 EGFR, ALK, MET, HER2, ROS1, RET, NTRK1 및 AXL의 억제제로 구성된 군에서 선택된 수용체 티로신 키나아제 억제제, 또는 KRas 또는 BRAF 억제제의 상승작용적 조합물을 포함하며, 여기서 상기 암은 상기 상응하는 수용체 티로신 키나아제 또는 KRas 또는 BRAF에서의 변경을 포함하고, 여기서 상기 CBP/p300 브로모도메인 억제제 단독은 상기 암의 진행을 늦추지 않는 것을 특징으로 하는, 조성물.

[0091] 구현예 4: EGFR, ALK, MET, HER2, ROS1, RET, NTRK1 및 AXL 억제제로 구성된 군에서 선택된 수용체 티로신 키나아제 억제제, 또는 KRas 또는 BRAF 억제제 및 CBP/p300 브로모도메인 억제제를 투여하는 것을 포함하는, 암세포의 성장을 억제하는 방법으로서, 여기서 상기 암세포는 상기 상응하는 수용체 티로신 키나아제 또는 KRas 또는 BRAF에서의 변경을 포함하고, 여기서 상기 CBP/p300 브로모도메인 억제제 단독은 상기 암세포의 성장을 억제하지 않는 것을 특징으로 하는, 방법.

[0092] 구현예 5: 상기 수용체 티로신 키나아제에 대한 또는 KRas 또는 BRAF에 대한 변경은 종양원성 변경인 것을 특징으로 하는, 구현예 1 내지 구현예 4 중 어느 하나에 따른 사용을 위한 CBP/p300 브로모도메인 억제제 또는 조성물, 또는 방법.

[0093] 구현예 6: 상기 수용체 티로신 키나아제 억제제는 EGFR 억제제인 것을 특징으로 하는, 구현예 1 내지 구현예 5 중 어느 하나에 따른 사용을 위한 CBP/p300 브로모도메인 억제제 또는 조성물, 또는 방법.

[0094] 구현예 7: 상기 수용체 티로신 키나아제에 대한 변경은 EGFR에서의 돌연변이인 것을 특징으로 하는, 구현예 6에 따른 사용을 위한 CBP/p300 브로모도메인 억제제 또는 조성물, 또는 방법.

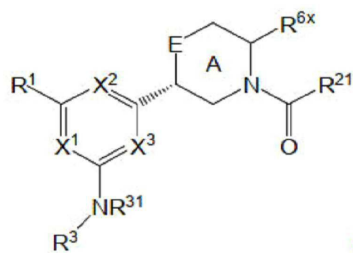
[0095] 구현예 8: 상기 CBP/p300 브로모도메인 억제제 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 수용체 티로신 키나아제 억제제 또는 KRas 또는 BRAF 억제제의 조성물 또는 조합물은, 상기 CBP/p300 억제제 단독 또는 상기 수용체 티로신 키나아제 또는 KRas 또는 BRAF 억제제 단독과 비교하여, 암을 치료하는데 있어 상승작용적인 것을 특징으로 하는, 구현예 1 내지 구현예 7 중 어느 하나에 따른 사용을 위한 CBP/p300 브로모도메인 억제제 또는 조성물, 또는 방법.

[0096] 구현예 9: 상기 CBP/p300 브로모도메인 억제제 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 수용체 티로신 키나아제 억제제 또는 KRas 또는 BRAF 억제제의 조성물 또는 조합물은, 상기 수용체 티로신 키나아제 억제제 또는 KRas 또는 BRAF 억제제에 대한 상기 암의 내성 위험을 지연시키거나 감소시키는 것을 특징으로 하는, 구현예 1 내지 구현예 8 중 어느 하나에 따른 사용을 위한 CBP/p300 브로모도메인 억제제 또는 조성물, 또는 방법.

[0097] 구현예 10: 상기 CBP/p300 브로모도메인 억제제는 상기 수용체 티로신 키나아제 억제제 또는 KRas 또는 BRAF 억제제에 대한 상기 암세포의 내성을 예방하기에 유효량으로 투여되는 것을 특징으로 하는, 구현예 1 내지 구현예 9 중 어느 하나에 따른 사용을 위한 CBP/p300 브로모도메인 억제제 또는 조성물, 또는 방법.

[0098] 구현예 11: 상기 EGFR 억제제는 세톡시맙, 파니투무맙, 잘루투무맙, 니모투주맙, 마투주맙, 제피티닙, 엘로티닙, 다코미티닙, 라파티닙, 네라티닙, 반데타닙, 네시투무맙, 오시머티닙, 아파티닙(afatinib), AP26113, EGFR 억제제 (CAS 등록 번호 879127-07-8), EGFR/ErbB2/ErbB-4 억제제(CAS 등록 번호 881001-19-0), EGFR/ErbB-2 억제제(CAS 등록 번호 17924861-4), EGFR 억제제 II(BIBX 1382, CAS 등록 번호 196612-93-8), EGFR 억제제 III(CAS 등록 번호 733009-42-2), EGFR/ErbB-2/ErbB-4 억제제 II(CAS 등록 번호 944341-54-2) 또는 PKC β II/EGFR 억제제(CAS 등록 번호 145915-60-2)를 포함하는 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는, 구현예 1 내지 구현예 10 중 어느 하나에 따른 사용을 위한 CBP/p300 브로모도메인 억제제 또는 조성물, 또는 방법.

[0099] 구현예 12: 구현예 1 내지 구현예 11 중 어느 하나에 따른 사용을 위한 CBP/p300 브로모도메인 억제제 또는 조성물, 또는 방법으로서, 상기 CBP/p300 억제제는 화학식 (I)의 화합물이고



(I)

[0100]

[0101]

여기서,

[0102]

R^1 은 할로젠 및 -(1 내지 20개 탄소 원자 및 선택적으로 O, N 및 S에서 선택된 1 내지 15개 헤테로 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 탄화수소기)로부터 선택되고;

[0103]

R^{21} 은 수소, -(선택적으로 치환된 C_{1-6} 알킬)(이는 탄소 원자들 사이에 한 개 내지 세 개의 산소 원자를 함유할 수 있음), 및 -(선택적으로 치환된 C_{3-6} 사이클로알킬)로부터 선택되고;

[0104]

R^3 은 -(선택적으로 치환된 헤테로사이클일(heterocyclyl)), -(선택적으로 치환된 카르보사이클일(carbocyclyl)), -(선택적으로 치환된 C_{1-6} 알킬렌)-(선택적으로 치환된 헤테로사이클일) 및 -(선택적으로 치환된 C_{1-6} 알킬렌)-(선택적으로 치환된 카르보사이클일)로부터 선택되고;

[0105]

X^1 , X^2 및 X^3 각각은 N, CH 및 CR^x 로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 상기 X^1 , X^2 및 X^3 중 적어도 하나는 N이고;

[0106]

R^{31} 은 -수소, $-C_{1-6}$ -알킬, 및 -(하나 이상의 F로 치환된 C_{1-6} -알킬)로부터 선택되고; 여기서 R^3 및 임의의 R^{31} 은 선택적으로 연결될 수 있고; 그리고

[0107]

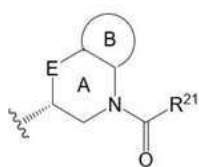
E는 부재하거나 $-CH_2-$, $-CHR^x-$, $-CR^x_2-$, $-NH-$, $-NR^x-$, $-O-$, $-L^1-L^2-$ 및 $-L^2-L^1-$ 중에서 선택되고, 여기서 L^1 은 $-CH_2-$, $-CHR^x-$, $-CR^x_2-$, $-NH-$, $-NR^x-$ 및 $-O-$ 중에서 선택되고 L^2 는 $-CH_2-$, $-CHR^x-$ 및 $-CR^x_2-$ 중에서 선택되고;

[0108]

R^{6x} 는 -할로젠, $-OH$, $=O$, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, 하나 이상의 OH가 치환된 C_{1-6} 알킬, 하나 이상의 R^{xb} 로 선택적으로 치환된 모노사이클릭 아릴, 하나 이상의 R^{xb} 로 선택적으로 치환된 모노사이클릭 헤테로아릴, R^{xb} 로 선택적으로 치환된 모노사이클릭 사이클로알킬, 하나 이상의 R^{xb} 로 선택적으로 치환된 모노사이클릭 헤테로사이클로알킬, 하나 이상의 R^{xb} 로 선택적으로 치환된 모노사이클릭 사이클로알케닐, 하나 이상의 R^{xb} 로 선택적으로 치환된 모노사이클릭 헤테로사이클로알케닐이고, 여기서 상기 R^{xb} 는 -할로젠, $-OH$, $=O$, C_{1-4} 알킬, C_{1-2} 할로알킬, 하나 또는 두 개의 OH로 치환된 C_{1-2} 알킬 중에서 독립적으로 선택되고;

[0109]

여기서 고리 A는 하나 이상의 R^x 기로 치환될 수 있고, 여기서 고리 A에서 임의의 두 개의 R^x 기는 선택적으로 연결될 수 있고/거나 고리 A에서 임의의 R^x 기는 선택적으로 R^{21} 과 연결될 수 있고; 및/또는 여기서 고리 A는 R^{6x} 와 함께 다음과 같은 부분 구조를 가진 바이사이클릭(bicyclic) 모이어티를 형성하도록 하나의 R^x 기로 더 치환될 수 있으며:



[0110]

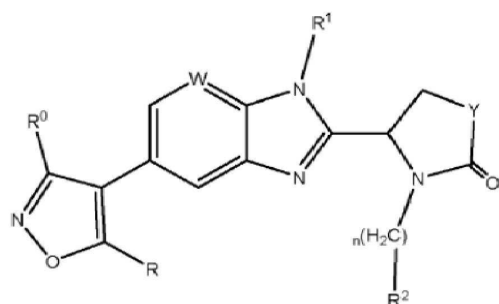
[0111] 여기서 고리 B는 -(선택적으로 치환된 헤테로사이클) 또는 -(선택적으로 치환된 탄소고리)이고;

[0112] 각각의 R^x 는 -할로젠, -OH, -O-(선택적으로 치환된 C_{1-6} 알킬), -NH-(선택적으로 치환된 C_{1-6} 알킬), -N(선택적으로 치환된 C_{1-6} 알킬)₂, =O, -(선택적으로 치환된 C_{1-6} 알킬), -(선택적으로 치환된 카르보사이클릴(carbocyclyl)), -(선택적으로 치환된 헤테로사이클릴), -(선택적으로 치환된 C_{1-6} 알킬렌)-(선택적으로 치환된 카르보사이클릴), -(선택적으로 치환된 C_{1-6} 알킬렌)-(선택적으로 치환된 헤테로사이클릴), -O-(선택적으로 치환된 C_{1-6} 알킬렌)-(선택적으로 치환된 카르보사이클릴), 및 -O-(선택적으로 치환된 C_{1-6} 알킬렌)-(선택적으로 치환된 헤테로사이클릴) 중에서 독립적으로 선택되고, 그리고

[0113] 여기서 상기 선택적으로 치환된 탄화수소기, 선택적으로 치환된 C_{3-6} 사이클로알킬, 선택적으로 치환된 헤테로사이클릴, 선택적으로 치환된 헤테로사이클, 선택적으로 치환된 카르보사이클릴, 선택적으로 치환된 카르보사이클 및 선택적으로 치환된 C_{1-6} 알킬렌의 선택적 치환기는 -(하나 이상의 할로젠으로 선택적으로 치환된 C_{1-6} 알킬), -할로젠, -CN, -NO₂, 옥소(oxo), -C(O)R*, -COOR*, -C(O)NR*R*, -NR*R*, -N(R*)-C(O)R*, -N(R*)-C(O)-OR*, -N(R*)-C(O)-NR*R*, -N(R*)-S(O)₂R*, -OR*, -O-C(O)R*, -O-C(O)-NR*R*, -SR*, -S(O)R*, -S(O)₂R*, -S(O)₂-NR*R*, -N(R*)-S(O)₂-NR*R*, 할로젠 또는 C_{1-6} 알킬로 선택적으로 치환된 헤테로사이클릴, 및 할로젠 또는 C_{1-6} 알킬로 선택적으로 치환된 카르보사이클릴 중에서 독립적으로 선택되고; 여기서 각 R*은 H, 할로젠으로 선택적으로 치환된 C_{1-6} 알킬, 할로젠 또는 C_{1-6} 알킬로 선택적으로 치환된 헤테로사이클릴, 및 할로젠 또는 C_{1-6} 알킬로 선택적으로 치환된 카르보사이클릴 중에서 독립적으로 선택되고; 여기서 동일한 질소 원자에 연결된 임의의 두 개의 R*이 선택적으로 연결될 수 있고, 그리고

[0114] 여기서 상기 선택적으로 치환된 C_{1-6} 알킬 및 선택적으로 치환된 C_{1-6} 알킬렌의 선택적 치환기는 -할로젠, -CN, -NO₂, oxo, -C(O)R**, -COOR**, -C(O)NR**R**, -NR**R**, -N(R**)C(O)R**, -N(R**)C(O)-OR**, -N(R**)C(O)-NR**R**, -N(R**)S(O)₂R**, -OR**, -O-C(O)R**, -O-C(O)-NR**R**, -SR**, -S(O)R**, -S(O)₂R**, -S(O)₂-NR**R**, 및 -N(R**)S(O)₂-NR**R** 중에서 독립적으로 선택되고; 여기서 R**은 H, 할로젠으로 선택적으로 치환된 C_{1-6} 알킬, 할로젠 또는 C_{1-6} 알킬로 선택적으로 치환된 헤테로사이클릴, 및 할로젠 또는 C_{1-6} 알킬로 선택적으로 치환된 카르보사이클릴 중에서 독립적으로 선택되고; 여기서 동일한 질소 원자에 연결된 임의의 두 개의 R**이 선택적으로 연결될 수 있다.

[0115] 구현예 13: 구현예 1 내지 구현예 12 중 어느 하나에 따른 사용을 위한 CBP/p300 브로모도메인 억제제 또는 조성물, 또는 방법으로서, 상기 CBP/p300 억제제는 화학식 (A)의 아릴이미다졸일 이소옥사졸(arylimidazolyl isoxazole)이고



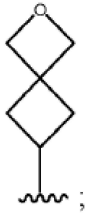
[0116] (A), 여기서

[0117] 동일하거나 상이한 R^0 및 R은 각 H 또는 OH, -OC(O)R' 또는 OR'에 의해 비치환된 또는 치환된 C_{1-6} 알킬이고 R'는 비치환된 C_{1-6} 알킬이고;

[0118] W는 N 또는 CH이고;

[0119] R^1 은 비치환된 또는 치환된 기(group)이고 C-연결된 4- 내지 6-멤버의 헤테로사이클릴; C_{3-6} 사이클로알킬; 비치환된 또는 C_{6-10} 아릴, 5- 내지 12-멤버의 N-함유 헤테로아릴, C_{3-6} 사이클로알킬, OH, -OC(O)R' 또는 OR'

에 의해 치환된 C_1-C_6 알킬(여기서 R' 는 상기 정의된 바와 같음); 및 다음 화학식의 스피로기(spiro group):



[0120]

중에서 선택되고;

[0121]

Y 는 CH_2- , $-CH_2CH_2-$ 또는 $-CH_2CH_2CH_2-$ 이고;

[0122]

n 은 0 또는 1이고;

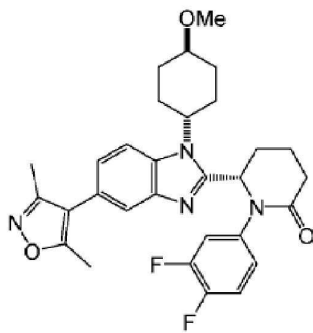
[0123]

R^2 는 C_6-C_{10} 아릴, 5- 내지 12-멤버의 N-함유 헤테로아릴, C_3-C_6 사이클로알킬 및 C_5-C_6 사이클로알케닐 중에서 선택된 기(group)이고, 여기서 상기 기는 비치환되거나 치환되고 여기서 C_6-C_{10} 아릴이 5- 또는 6-멤버의 헤테로사이클 고리에 선택적으로 융합되고;

[0124]

또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 여기서 바람직하게 상기 아릴이미다졸일 이소옥사졸은 화학식 (Aa*):

[0125]

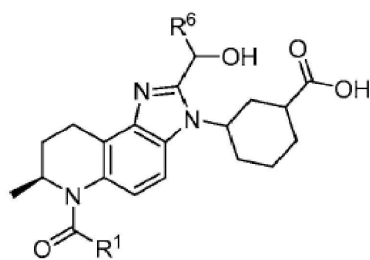


[0126]

(Aa*; CCS1477 [CAS 2222941-37-7])를 갖는다.

[0127]

구현예 14: 구현예 1 내지 구현예 13 중 어느 하나에 따른 사용을 위한 CBP/p300 브로모도메인 억제제 또는 조성물, 또는 방법으로서, 상기 CBP/p300 억제제는 화학식 (Ba)



[0128]

(Ba)의 화합물이고, 여기서

[0129]

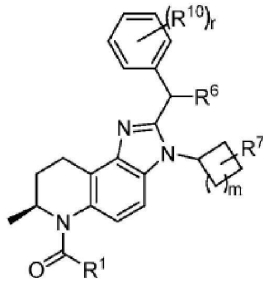
R^1 은 $-O(C_1-C_3\text{알킬})$ 이고;

[0130]

R^6 은 하나 이상의 R^B 로 독립적으로 선택적으로 치환된 페닐이고, 여기서 R^B 는 $-O-C_{1-6}$ 알킬, $-O-C_{3-6}$ 사이클로알킬, $-O$ -아릴, 또는 $-O$ -헤테로아릴 중에서 선택되고, 여기서 각각의 알킬, 사이클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴은 하나 이상의 할로겐으로 독립적으로 선택적으로 치환되고;

[0131]

또는 여기서 상기 CBP/p300 억제제는 화학식 (Bc)



[0132] (Bc)의 화합물이고, 여기서

[0133] R^1 은 $-OR^5$ 이고;

[0134] R^5 는 $-C_{1-6}$ 알킬, $-C_{3-8}$ 사이클로알킬, 헤테로사이클일, 아릴, 또는 헤테로아릴이고;

[0135] R^6 은 $-OH$, 할로젠, 옥소(oxo), $-NO_2$, $-CN$, $-NH_2$, $-C_{1-6}$ 알킬, $-C_{3-8}$ 사이클로알킬, $-C_{4-8}$ 사이클로알케닐, 헤테로사이클일, 아릴, 스피로사이클로알킬, 스피로헤테로사이클일, 헤테로아릴, $-OC_{3-6}$ 사이클로알킬, $-O$ 아릴, $-O$ 헤테로아릴, $-(CH_2)_n-OR^8$, $-C(O)R^{8'}$, $-C(O)OR^8$, 또는 $-C(O)NR^8R^9$, $-NHC_{1-6}$ 알킬, $-N(C_{1-6}알킬)_2$, $-S(O)_2NH(C_{1-6}알킬)$, $-S(O)_2N(C_{1-6}알킬)_2$, $-S(O)_2C_{1-6}알킬$, $-N(C_{1-6}알킬)SO_2C_{1-6}알킬$, $-S(O)(C_{1-6}알킬)$, $-S(O)N(C_{1-6}알킬)_2$, 또는 $-N(C_{1-6}알킬)S(O)(C_{1-6}알킬)$ 이고, 여기서 각각의 알킬, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 헤테로사이클일, 스피로사이클로알킬, 스피로헤테로사이클일, 헤테로아릴, 또는 아릴은 하나 이상의 R^{10} 으로 선택적으로 치환되고;

[0136] R^7 은 각 경우에 독립적으로 $-H$, 할로젠, $-OH$, $-CN$, $-OC_{1-6}알킬$, $-NH_2$, $-NH(C_{1-6}알킬)$, $-N(C_{1-6}알킬)_2$, $-S(O)_2H(C_{1-6}알킬)$, $-S(O)_2N(C_{1-6}알킬)_2$, $-S(O)_2(C_{1-6}알킬)$, $-S(O)_2OH$, $-C(O)C_{1-6}알킬$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NH(C_{1-6}알킬)$, $-C(O)N(C_{1-6}알킬)_2$, $-C(O)OH$, $-C(O)OC_{1-6}알킬$, $-N(C_{1-6}알킬)SO_2C_{1-6}알킬$, $-S(O)(C_{1-6}알킬)$, $-S(O)N(C_{1-6}알킬)_2$, $-S(O)_2NH_2$, $-N(C_{1-6}알킬)S(O)(C_{1-6}알킬)$ 또는 테트라졸이고;

[0137] R^{10} 은 각 경우에 독립적으로 $-C_{1-6}알킬$, $-C_{2-6}알케닐$, $-C_{2-6}알키닐$, $-C_{3-8}사이클로알킬$, $-C_{4-8}사이클로알케닐$, 헤테로사이클일, 헤테로아릴, 아릴, $-OH$, 할로젠, 옥소, $-NO_2$, $-CN$, $-NH_2$, $-OC_{1-6}알킬$, $-OC_{3-6}사이클로알킬$, $-O$ 아릴, $-O$ 헤테로아릴, $-NHC_{1-6}알킬$, $-N(C_{1-6}알킬)_2$, $-S(O)_2NH(C_{1-6}알킬)$, $-S(O)_2N(C_{1-6}알킬)_2$, $-S(O)_2C_{1-6}알킬$, $-C(O)C_{1-6}알킬$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NH(C_{1-6}알킬)$, $-NHC(O)C_{1-6}알킬$, $-C(O)N(C_{1-6}알킬)_2$, $-C(O)OC_{1-6}알킬$, $-N(C_{1-6}알킬)SO_2C_{1-6}알킬$, $-S(O)(C_{1-6}알킬)$, $-S(O)N(C_{1-6}알킬)_2$, 또는 $-N(C_{1-6}알킬)S(O)(C_{1-6}알킬)$ 이고, 여기서 각각의 알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 헤테로사이클일, 헤테로아릴, 또는 아릴은 하나 이상의 $-R^{12}$ 로 선택적으로 치환되고;

[0138] R^{12} 는 각 경우에 독립적으로 할로젠이고;

[0139] m 은 0 내지 5 사이의 정수이고;

[0140] r 은 0 내지 5 사이의 정수이다.

[0141] 구현예 15: RECIST 1.1 동물에서 표적 병변 또는 비표적 병변에 대한 반응 기준을 사용하여 상기 암의 느린 진행을 측정하는 것을 특징으로 하는, 구현예 14에 따른 사용을 위한 CBP/p300 브로모도메인 억제제 또는 조성물, 또는 방법.

[0142] 구현예 16: 상기 암은 비소세포폐암(NSCLC)인 것을 특징으로 하는, 구현예 1 내지 구현예 15 중 어느 하나에 따른 사용을 위한 CBP/p300 브로모도메인 억제제 또는 조성물, 또는 방법.

[0143] 구현예 17: 상기 CBP/p300 브로모도메인 억제제는 구현예 12의 화학식 (I)의 화합물이고, 상기 수용체 티로신 키나아제 억제제는 EGFR 억제제이고, 상기 수용체 티로신 키나아제는 EGFR이고 상기 암은 NSCLC이고, 더 바람직하게는 상기 NSCLC는 EGFR T790M 돌연변이를 포함하고, 더 바람직하게는 상기 수용체 티로신 키나아제 억제제는

오시머티닙인 것을 특징으로 하는, 구현예 16에 따른 사용을 위한 CBP/p300 브로모도메인 억제제 또는 조성물, 또는 방법.

- [0144] 구현예 18: 상기 CBP/p300 브로모도메인 억제제는 구현예 13의 화학식 (A)의 화합물이고, 바람직하게는 CCS1477(CAS 2222941-37-7)이고, 상기 수용체 티로신 키나아제 억제제는 EGFR 억제제이고, 상기 수용체 티로신 키나아제는 EGFR이고 상기 암은 NSCLC이고, 더 바람직하게는 상기 NSCLC는 EGFR T790M 돌연변이를 포함하고, 더 바람직하게는 상기 수용체 티로신 키나아제 억제제는 오시머티닙인 것을 특징으로 하는, 구현예 17에 따른 사용을 위한 CBP/p300 브로모도메인 억제제 또는 조성물, 또는 방법.
- [0145] 상기 구현예 13과 관련하여, 화학식 A의 화합물은 문헌[W02016170324, W02018073586 및 W02019202332]에 기재되어 있음을 주목해야 하며, 모든 출원 및 그의 개시내용은 그 전체가 특히 화학식 (A)의 화합물의 합성과 관련하여 본원에 참조로 포함된다.
- [0146] 다른 구현예에서, 암의 치료를 필요로 하는 동물에 EGFR, ALK, MET, HER2, ROS1, RET, NTRK1 및 AXL 억제제로 구성된 군에서 선택된 수용체 티로신 키나아제 억제제, 또는 KRas 또는 BRAF 억제제 및 CBP/p300 브로모도메인 억제제를 투여하는 것을 포함하는, 상기 동물에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 상기 암은 상기 상응하는 수용체 티로신 키나아제 또는 KRas 또는 BRAF에서의 변형을 포함하고, 여기서 상기 CBP/p300 브로모도메인 억제제 단독은 상기 암의 진행을 늦추지 않는다.
- [0147] 다른 구현예에서, 조성물로 암을 치료하는 방법이 제공되고, 상기 조성물은 CBP/p300 브로모도메인 억제제 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 EGFR, ALK, MET, HER2, ROS1, RET, NTRK1 및 AXL 억제제로 구성된 군에서 선택된 수용체 티로신 키나아제 억제제, 또는 KRas 또는 BRAF 억제제의 상승작용적 조합물을 포함하며, 여기서 상기 암은 상기 상응하는 수용체 티로신 키나아제 또는 KRas 또는 BRAF에서의 변형을 포함하고 상기 CBP/p300 브로모도메인 억제제 단독은 상기 암의 진행을 늦추지 않는다.
- [0148] 다른 구현예에서, 암에 걸린 동물에 CBP/p300 브로모도메인 억제제 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 투여하는 것을 포함하는, 동물에서 수용체 티로신 키나아제 억제제 또는 KRas 또는 BRAF 억제제 암 요법의 반응 지속 기간을 연장하는 방법이 제공되고, 여기서 상기 CBP/p300 억제제 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 투여될 때 반응 지속 기간은 상기 CBP/p300 억제제 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 투여의 부재 하에서 상기 암 요법에 대한 반응 지속 기간과 비교하여 연장되고, 상기 수용체 티로신 키나아제 억제제는 EGFR, ALK, MET, HER2, ROS1, RET, NTRK1 및 AXL로 구성된 군에서 선택되거나 KRas 또는 BRAF 억제제이다.
- [0149] 다른 구현예에서, EGFR, ALK, MET, HER2, ROS1, RET, NTRK1 및 AXL 억제제로 구성된 군에서 선택된 수용체 티로신 키나아제 억제제, 또는 KRas 또는 BRAF 억제제 및 CBP/p300 브로모도메인 억제제를 암세포에 투여하는 것을 포함하는, 상기 암세포의 성장을 억제하는 방법이 제공되고, 여기서 상기 암세포는 상기 상응하는 수용체 티로신 키나아제 또는 KRas 또는 BRAF에서의 변형을 포함하고 상기 CBP/p300 브로모도메인 억제제 단독은 상기 암세포의 성장을 억제하지 않으며 상기 CBP/p300 브로모도메인 억제제는 상기 키나아제 억제제에 대한 상기 암세포의 내성을 예방하기에 유효량으로 투여된다.
- [0150] 다른 구현예에서, 암세포에 EGFR, ALK, MET, HER2, ROS1, RET, NTRK1 및 AXL 억제제로 구성된 군에서 선택된 수용체 티로신 키나아제 억제제, 또는 KRas 또는 BRAF 억제제 및 CBP/p300 브로모도메인 억제제를 투여하는 것을 포함하는, 상기 암세포에서 세포 사멸을 유도하는 방법이 제공되며, 여기서 상기 암세포는 상기 상응하는 수용체 티로신 키나아제 또는 KRas 또는 BRAF에서의 변형을 포함하고 상기 CBP/p300 브로모도메인 억제제 단독은 암세포에서 세포 사멸을 유도하지 않는다.
- [0151] 일 구현예에서, 상기 수용체 티로신 키나아제에 대한 변형은 종양원성 변형일 수 있으며, 여기서 섹션 4의 본 구현예에서 “종양원성 변형”이라는 용어는 세포 원종양유전자에 대한 유전적 변형을 지칭할 수 있다. 이러한 유전적 변화/변형의 결과는 세포에 성장 이점을 부여하는 것일 수 있다. 일 구현예에서, 돌연변이, 유전자 증폭, 유전자 융합 및/또는 염색체 재배열의 유전적 기전은 인간 신생물에서 종양유전자를 활성화시킬 수 있다.
- [0152] 다른 구현예에서, 종양원성 변형은 EGFR-엑손 19 결실, EGFR-L858R, EGFR-T790M, EGFR-T854A, EGFR-D761Y, EGFR-L747S, EGFR-G796S/R, EGFR-L792F/H, EGFR-L718Q, EGFR-엑손 20 삽입, EGFR-G719X(여기서, X는 임의의 다른 아미노산임), EGFR-L861X, EGFR-S768I, 또는 EGFR 증폭을 포함하는 군에서 선택된 EGFR 유전자 돌연변이이다. 바람직한 구현예에서, 변형은 EGFR-T790M이다. 다른 구현예에서, 암은 NSCLC이고, 변형은 EGFR 엑손 19 결실, L858R 또는 T790M을 포함하는 돌연변이이다.
- [0153] 다른 구현예에서, 종양원성 변형은 KIF5B-RET, CCDC6-RET, NCOA4-RET, TRIM33-RET, RET-V804L, RET-L730, RET-

E732, RET-V738, RET-G810A, RET-Y806, RET-A807 또는 RET-S904F를 포함하는 군에서 선택된 RET 유전자 돌연변이 또는 재배열이다.

[0154] 다른 구현예에서, 종양원성 변경은 HER2 엑손 20 삽입 또는 돌연변이 및 HER2-C805S, HER2 T798M, HER2 L869R, HER2 G309E, HER2 S310F 또는 HER2 증폭을 포함하는 군에서 선택된 HER2 유전자 돌연변이이다.

[0155] 다른 구현예에서, 종양원성 변경은 CD74-ROS1, GOPC-ROS1, EZR-ROS1, CEP85L-ROS1, SLC34A2-ROS1, SDC4-ROS1, FIG-ROS1, TPM3-ROS1, LRIG3-ROS1, KDELR2-ROS1, CCDC6-ROS1, TMEM106B-ROS1, TPD52L1-ROS1, CLTC-ROS1 및 LIMA1-ROS1을 포함하는 군에서 선택된 ROS1 유전자 융합 또는 재배열이거나 ROS1 G2032R, D2033N, S1986Y/F, L2026M 및/또는 L1951R을 포함하는 돌연변이이다.

[0156] 다른 구현예에서, 종양원성 변경은 MET 유전자 증폭, MET 유전자 돌연변이, 예컨대 MET Y1230C, D1227N, D1228V, Y1248H 뿐만 아니라 MET 엑손 14 스킵핑, 또는 TPR-MET, CLIP2-MET, TFG-MET 융합, KIF5B-MET 융합을 포함하는 군에서 선택된 유전자 융합 재배열이다.

[0157] 다른 구현예에서, 종양원성 변경은 G12C, G12V, G12D, G13D, Q61H 또는 L 또는 R, K117N을 포함하는 군에서 선택된 KRas 유전자 돌연변이이다.

[0158] 다른 구현예에서, 종양원성 변경은 EML4-ALK, TFG-ALK, KIF5B-ALK, KLC1-ALK, STRN-ALK in NSCLC, EML4-ALK, C2orf44-ALK, EML4-ALK, TPM-ALK, VCL-ALK, TPM3-ALK, EML4-ALK, 또는 VCL-ALK를 포함하는 군에서 선택된 ALK 유전자 돌연변이 또는 유전자 융합 또는 재배열이다.

[0159] 다른 구현예에서, 종양원성 변경은 V600E 또는 V600K를 포함하는 군에서 선택된 BRAF 유전자 돌연변이이다.

[0160] 다른 구현예에서, 종양원성 변경은 TPM3-NTRK1, ETV6-NTRK3, TPM3-NTRK1, TPR-NTRK1, TFG-NTRK1, PPL-NTRK1, ETV6-NTRK3, TPR-NTRK1, MPRIP-NTRK1, CD74-NTRK1, SQSTM1-NTRK1, TRIM24-NTRK2, LMNA-NTRK, ETV6-NTRK3, BCAN-NTRK1, ETV6-NTRK3, AML, GIST, NFASC-NTRK1, BCAN-NTRK1, ABL4-NTRK2, VCL-NTRK2, ETV6-NTRK3, BTBD1-NTRK3, RFWD2-NTRK1, RABGAP1L-NTRK1, TP53-NTRK1, AFAP1-NTRK2, NACC2-NTRK2, OKI-NTRK2, PAN3-NTRK2를 포함하는 군에서 선택된 NTKR 유전자 융합 또는 재배열, 또는 F589L, G595R, G667C/S, A608D를 포함하는 군에서 선택된 NTKR1 유전자 돌연변이, 또는 G623R, G696A를 포함하는 군에서 선택된 NTRK3 유전자 돌연변이이다.

[0161] 다른 구현예에서, 수용체 티로신 키나아제 억제제는 EGFR 억제제이다. 일부 구현예에서, EGFR 억제제는 세특시맙, 파니투무맙, 잘루투무맙, 니모투주맙, 마투주맙, 제피티닙, 엘로티닙, 라파티닙, 네라티닙, 반데타닙, 네시투무맙, 오시머티닙, 아파티닙(afatinib), 다코미티닙, AP26113, 포지오티닙, EGFR 억제제 (CAS 등록 번호 879127-07-8), EGFR/ErbB2/ErbB-4 억제제(CAS 등록 번호 881001-19-0), EGFR/ErbB-2 억제제(CAS 등록 번호 17924861-4), EGFR 억제제 II(BIBX 1382, CAS 등록 번호 196612-93-8), EGFR 억제제 III(CAS 등록 번호 733009-42-2), EGFR/ErbB-2/ErbB-4 억제제 II(CAS 등록 번호 944341-54-2) 또는 PKC β II/EGFR 억제제(CAS 등록 번호 145915-60-2)를 포함하는 군에서 선택된다.

[0162] 다른 구현예에서, 수용체 티로신 키나아제에 대한 변경은 EGFR 유전자에서의 돌연변이이다.

[0163] 다른 구현예에서, 수용체 티로신 키나아제 억제제는 RET 억제제이다. 다른 구현예에서, RET 억제제는 카보잔티닙, 반데타닙, 렌바티닙, 알렉티닙, 아파티닙(Apatinib), 폰나티닙, LOXO-292, BLU-667, 또는 RXDX-105를 포함하는 군에서 선택된다.

[0164] 다른 구현예에서, 수용체 티로신 키나아제 억제제는 HER2 억제제이다. 다른 구현예에서, HER2 억제제는 트라스투주맙, 히알루로니다제/트라스투주맙 팜-트라스투주맙 데록스테칸, 아도-트라스투주맙 엠탄신, 라파티닙, 네라티닙, 페르투주맙, 투카티닙, 포지오티닙, 또는 다코미티닙을 포함하는 군에서 선택된다.

[0165] 다른 구현예에서, 수용체 티로신 키나아제 억제제는 ROS1 억제제이다. 다른 구현예에서, ROS1 억제제는 크리조티닙, 세리티닙, 브리가티닙, 로라티닙, 에트렉티닙, 카보잔티닙, DS-6051b, TPX-0005를 포함하는 군에서 선택된다.

[0166] 다른 구현예에서, 수용체 티로신 키나아제 억제제는 MET 억제제이다. 다른 구현예에서, MET 억제제는 크리조티닙, 카보잔티닙, MGCD265, AMG208, 알티라티닙, 골바티닙, 글레산티닙(glesatinib), 포레티닙, 아부마티닙(avumatinib), 티바티닙, 사볼리티닙, AMG337, 캅마티닙 및 테포티닙, OMO-1 [JNJ38877618] 또는 항-MET 항체 오나투주맙 및 에미베투주맙 [LY2875358] 또는 항-HGF 항체 피클라투주맙 [AV-299] 및 릴로투무맙 [AMG102]를 포함하는 군에서 선택된다.

- [0167] 다른 구현예에서, 억제제는 KRas 억제제이다. 다른 구현예에서, KRas 억제제는 AMG510, MRTX849, JNJ-74699157/ARS-3248, BI1701963, BAY-293, 또는 “RAS(ON)” 억제제를 포함하는 군에서 선택된다.
- [0168] 다른 구현예에서, 수용체 티로신 키나아제 억제제는 ALK 억제제이다. 다른 구현예에서, ALK 억제제는 크리조티닙, 세리티닙, 알렉티닙, 로라티닙 또는 브리가티닙을 포함하는 군에서 선택된다.
- [0169] 다른 구현예에서, 억제제는 BRAF 억제제이다. 다른 구현예에서, BRAF 억제제는 베무라페닙, 다브라페닙, 엔코라페닙 또는 임의의 비특이적 RAF 억제제를 포함하는 군에서 선택된다.
- [0170] 다른 구현예에서, 수용체 티로신 키나아제 억제제는 NTRK 억제제이다. 다른 구현예에서, NTRK 억제제는 엔트렉티닙, 라로트렉티닙(LOXO-101), LOCO-195, DS-6051b, 카보잔티닙, 메레스티닙, TSR-011, PLX7486, MGCD516, 크리조티닙, 레고라페닙, 도비티닙, 레스타우르티닙, BMS-754807, 다누세르티닙, ENMD-2076, 미도스타우린, PHA-848125 AC, BMS-777607, 알트리라티닙(altratinib), AZD7451, MK5108, PF-03814735, SNS-314, 포레티닙, 닌테다닙, 포나티닙, ONO-5390556 또는 TPX-0005를 포함하는 군에서 선택된다.
- [0171] 다른 구현예에서, CBP/p300 브로모도메인 억제제 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 수용체 티로신 키나아제 억제제 또는 KRas 또는 BRAF 억제제의 조성물 또는 조합물은, CBP/p300 억제제 단독 또는 수용체 티로신 키나아제 또는 KRas 또는 BRAF 억제제 단독과 비교하여, 암을 치료하는데 있어 상승작용적이다. 섹션 4의 구현예의 맥락에서 사용될 때, 용어 “상승작용적(synergistic)”은 약물들의 총 효과가 각각의 약물의 개별 효과의 합보다 더 크게 하는 둘 이상의 약물 사이의 상호작용을 지칭한다. 바람직한 구현예에서, 상승작용적 효과는 CBP/p300 브로모도메인 억제제 및 수용체 티로신 키나아제 억제제 또는 KRas 또는 BRAF 억제제의 조합물에 대한 동물의 반응물의 증가이다. 다른 구현예에서, 반응물의 증가는 암의 치료에서 효능의 증가로서 측정된다.
- [0172] 다른 구현예에서, CBP/p300 브로모도메인 억제제 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 수용체 티로신 키나아제 억제제 또는 Kras 또는 BRAF 억제제의 조성물 또는 조합물에 의해 제공되는 항암 효과는, 상기 CBP/p300 억제제 또는 수용체 티로신 키나아제 억제제 또는 KRas 또는 BRAF 억제제의 동일한 용량의 단일요법에 의해 제공되는 항암 효과보다 더 크다. 섹션 4의 구현예의 맥락에서 사용될 때, 용어 “항암(anti-cancer)”은 악성 또는 암성 질병의 치료를 지칭한다. 다른 구현예에서, 본 발명은 CBP/p300 브로모도메인 억제제 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 수용체 티로신 키나아제 억제제 또는 Kras 또는 BRAF 억제제의 조성물 또는 조합물에 의해 제공되는 항암 효과가 단일요법 단독보다 적어도 2배 더 크거나, 적어도 3배 더 크거나, 적어도 5배 더 크거나, 또는 적어도 10배 더 큰, 사용을 위한 조성물 또는 방법을 제공한다.
- [0173] 다른 구현예에서, CBP/p300 브로모도메인 억제제 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 수용체 티로신 키나아제 억제제 또는 Kras 또는 BRAF 억제제의 조성물 또는 조합물은, 수용체 티로신 키나아제 억제제 또는 Kras 또는 BRAF 억제제에 대한 암의 내성 위험을 지연시키거나 감소시킨다. 섹션 4의 구현예의 맥락에서 사용될 때, 용어 “암의 내성”은 약물의 효과성의 감소를 지칭하고; 더욱 구체적으로 상기 용어는 암 세포에 의한 약물 내성의 발생을 지칭할 수 있다. 다른 구현예에서, 암은 적어도 3개월, 6개월, 9개월, 12개월, 24개월, 48개월, 또는 60개월 동안 수용체 티로신 키나아제 억제제 또는 Kras 또는 BRAF 억제제에 대해 내성이 되지 않는다. 다른 구현예에서, CBP/p300 브로모도메인 억제제는 수용체 티로신 키나아제 억제제 또는 KRas 또는 BRAF 억제제에 대한 암세포의 내성을 예방하기에 유효량으로 투여된다.
- [0174] 다른 구현예에서, CBP/p300 브로모도메인 억제제는 CBP 및/또는 p300의 브로모도메인을 억제한다. p300(히스톤 아세틸전달효소 p300, E1A 결합 단백질 p300, E1A-연관 단백질 p300으로도 지칭됨) 및 CBP(CREB 결합 단백질 또는 CREBBP로도 알려짐)는 두 개의 구조적으로 매우 유사한 전사 공동-활성화 단백질이다.
- [0175] 섹션 4의 구현예의 맥락에서 사용될 때, 용어 “CBP/p300 브로모도메인 억제제”는 CBP 브로모도메인 및/또는 p300 브로모도메인에 결합하고 CBP 및/또는 p300의 생물학적 활성 또는 기능을 억제하고/거나 감소시키는 화합물을 지칭하는 것으로 간주될 수 있다. 일부 구현예에서, CBP/p300 브로모도메인 억제제는 CBP 브로모도메인 및/또는 p300 브로모도메인과의 주로(예를 들어, 단독으로) 접촉 및/또는 상호작용을 통해 CBP 및/또는 p300에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, CBP/p300 브로모도메인 억제제는 CBP 브로모도메인 및/또는 p300 브로모도메인과의 접촉 및/또는 상호작용뿐만 아니라 추가의 CBP 및/또는 p300 잔기 및/또는 도메인을 통해 CBP 및/또는 p300에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, CBP/p300 브로모도메인 억제제는 CBP 및/또는 p300의 생물학적 활성을 실질적으로 또는 완전히 억제할 수 있다. 일부 구현예에서, 생물학적 활성은 CBP 및/또는 p300의 브로모도메인의 염색질(예를 들어, DNA와 연관된 히스톤) 및/또는 또 다른 아세틸화된 단백질에 대한 결합할 수 있다. 섹션 4의 구현예의 맥락에서 특정 구현예에서, 억제제는 약 50 μ M 미만, 약 1 μ M 미만, 약 500nM 미만, 약 100nM

미만, 약 10nM 미만, 또는 약 1nM 미만의 IC50 또는 결합 상수를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, CBP/p300 브로모도메인 억제제는 CBP 브로모도메인에 결합하고 이를 억제할 수 있다. 일부 구현예에서, CBP/p300 브로모도메인 억제제는 p300 브로모도메인에 결합하고 이를 억제할 수 있다. 일부 구현예에서, CBP/p300 브로모도메인 억제제는 CBP/p300의 히스톤 아세틸 전달효소 활성을 억제하지 않을 수 있다.

[0176] 일 구현예에서, CBP/p300 브로모도메인 억제제는 화학식 (I)의 화합물이다. 일 구현예에서, CBP/p300 브로모도메인 억제제는 화학식 (A)의 화합물, 바람직하게는 CCS1477(CAS 2222941-37-7)이다. 일 구현예에서, CBP/p300 브로모도메인 억제제는 FT-7051이다. 다른 구현예에서, 화학식 (I)의 화합물, 화학식 (A)의 화합물, 바람직하게는 CCS1477, 또는 FT-7051은 10mg, 15mg, 25mg, 50mg, 100mg, 150mg, 또는 200mg을 포함하는 목록으로부터 선택된 농도의 약물의 일일 용량이다. 다른 구현예에서, CCS1477은 일주일에 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7일 투여된다. 다른 구현예에서, CCS1477은 하루에 두 번 투여된다. 다른 구현예에서, 암세포에 투여하는 단계는 암 세포를 CBP/p300 억제제 및 수용체 티로신 키나아제 억제제 또는 KRas 또는 BRAF 억제제와 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0177] 다른 구현예에서, 투여량은 환자의 연령, 체중 및 병태 및 투여 경로를 포함하는 다양한 인자에 의존한다. 일일 투여량은 넓은 한계 내에서 달라질 수 있고, 각각의 구체적인 경우에서 개별 요건으로 조정될 것이다. 그러나, 전형적으로, 화합물이 성인 인간에게 단독으로 투여될 때 각각의 투여 경로에 대해 채택된 투여량은 0.0001 내지 50mg/kg의 범위, 가장 일반적으로는 0.001 내지 10mg/kg(체중)의 범위, 예를 들어 0.01 내지 1mg/kg일 수 있다. 이러한 투여량은 예를 들어 매일 1 내지 5회 제공될 수 있다. 정맥내 주사의 경우, 적합한 일일 용량은 0.0001 내지 1mg/kg(체중), 바람직하게는 0.0001 내지 0.1mg/kg(체중)일 수 있다. 일일 투여량은 단일 용량으로서 또는 분할된 용량 스케줄에 따라 투여될 수 있다.

[0178] 다른 구현예에서, 암의 진행 또는 암 요법에 대한 반응 지속 기간은 RECIST 1.1 대상체/동물에서 표적 병변 또는 비표적 병변에 대한 반응 기준을 사용하여 측정될 수 있다.

[0179] 다른 구현예에서, “암의 진행을 늦추지 않는다”는 말은 섹션 4의 구현예에서 임의의 RECIST 1.1 임상 반응을 달성하지 않는 대상체로서 정의될 수 있다. 다른 구현예에서, “암의 진행을 늦추지 않는다”는 말은 섹션 4의 구현예에서 부분 RECIST 1.1 임상 반응을 달성하지 않는 대상체/동물로서 정의될 수 있다. 다른 구현예에서, “암의 진행을 늦추지 않는다”는 말은 RECIST 1.1에 따라 객관적 반응물이 없고/거나 무진행 생존이 증가하지 않는 것으로 측정된다. 다른 구현예에서, “암의 진행을 늦추지 않는다”는 말은 표적 병변의 가장 긴 직경의 기준선 합계를 기준으로 하여, 표적 병변의 가장 긴 직경의 합계에서 30% 미만의 감소로서 측정된다.

[0180] 특정 구현예에서, 암은 청신경종, 급성 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 급성 t-세포 백혈병, 기저 세포 암종, 담관 암종, 방광암, 뇌암, 유방암, 기관지원성 암종, 자궁경부암, 연골육종, 척삭종, 용모막암종, 만성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수구성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 결장암, 결장직장암, 두개인두종, 낭성암종, 미만성 거대 B 세포 림프종, 이상증식성 변화, 배아 암종, 자궁내막암, 내피육종, 뇌실막종, 상피 암종, 적백혈병, 식도암, 에스트로겐-수용체 양성 유방암, 본태성 혈소판증가증, 유잉 종양, 섬유육종, 여포성 림프종, 생식 세포 고환암, 신경교종, 교모세포종, 신경교육종, 중쇄병, 두경부암, 혈관모세포종, 간암, 간세포암, 호르몬 불감성 전립선암, 평활근육종, 백혈병, 지방육종, 폐암, 림프관내피육종, 림프관육종, 림프모구 백혈병, 림프종, T-세포 또는 B-세포 기원의 림프성 악성종양, 수질 암종, 수모세포종, 흑색종, 수막종, 중피종, 다발성 골수종, 골수성 백혈병, 골수종, 점액육종, 신경모세포종, NUT 중간선 암종(NMC), 비소세포 폐암(NSCLC), 회소돌기아교세포종, 구강암, 골원성 육종, 난소암, 췌장암, 유두상 선암종, 유두상 암종, 송과체종, 진성 적혈구증가증, 전립선암, 직장암, 신세포 암종, 망막모세포종, 횡문근육종, 육종, 피지선 암종, 정상피종, 피부암, 소세포 폐 암종, 고형 종양 (암종 및 육종), 소세포폐암, 위암, 편평 세포 암종, 활막종, 땀샘 암종, 갑상선암, 발덴스트롬 거대글로불린혈증, 고환 종양, 자궁암, 및 빌름스 종양 중에서 선택된다. 특정 구현예에서, 암은 흑색종, NSCLC, 신장암, 난소암, 결장암, 췌장암, 간세포암, 또는 유방암이다. 임의의 방법의 특정 실시예에서, 암은 폐암, 유방암, 췌장암, 결장직장암, 및/또는 흑색종이다. 특정 구현예에서, 암은 폐암이다. 특정 구현예에서, 암은 유방암이다. 특정 구현예에서, 암은 흑색종이다. 특정 구현예에서, 암은 결장직장암이다.

[0181] 다른 구현예에서, CBP/p300 브로모도메인 억제제 및 수용체 티로신 키나아제 억제제 또는 KRas 또는 BRAF 억제제는 단일 조성물로서 동시에 동물에 투여된다. 다른 구현예에서, CBP/p300 브로모도메인 억제제 및 수용체 티로신 키나아제 억제제 또는 KRas 또는 BRAF 억제제는 개별적으로 동물에 투여된다. 다른 구현예에서, CBP/p300 브로모도메인 억제제 및 수용체 티로신 키나아제 억제제 또는 KRas 또는 BRAF 억제제는 동시에 동물에

투여된다. 다른 구현예에서, CBP/p300 브로모도메인 억제제는 수용체 티로신 키나아제 억제제 또는 KRas 또는 BRAF 억제제 전에 동물에 투여된다. 다른 구현예에서, 동물은 인간이다.

[0182] 일 구현예에서, 제제, 예를 들어 약학 제형의 “유효량(effective amount)”이라는 말은 원하는 치료 또는 예방 결과를 달성하기 위해 필요한 투여량에서 및 기간 동안 유효한 양을 지칭할 수 있다. 일부 구현예에서, 유효량은 본원에 기재된 (i) 특정 질환, 병태 또는 장애를 치료하거나, (ii) 특정 질환, 병태 또는 장애의 하나 이상의 증상을 약화시키거나, 완화시키거나 또는 제거하거나, 또는 (iii) 특정 질환, 병태 또는 장애의 하나 이상의 증상의 발병을 예방하거나 또는 지연시키는 CBP/p300 브로모도메인 억제제 및 수용체 티로신 키나아제 억제제 또는 KRas 또는 BRAF 억제제의 양을 지칭한다. 일부 구현예에서, CBP/p300 브로모도메인 억제제 및 수용체 티로신 키나아제 억제제 또는 KRas 또는 BRAF 억제제의 유효량은 암 세포의 수를 감소시킬 수 있고/거나; 종양 크기를 감소시킬 수 있고/거나; 말초 기관 내로의 암세포 침윤을 억제할 수 있고/거나(즉, 어느 정도 늦추고 바람직하게는 정지시킬 수 있고/거나); 종양 전이를 억제할 수 있고/거나(즉, 어느 정도 늦추고 바람직하게는 정지시킬 수 있고/거나); 종양 성장을 어느 정도 억제할 수 있고/거나; 암과 연관된 증상들 중 하나 이상을 어느 정도 완화시킬 수 있다. 암 요법의 경우, 효능은 예를 들어 질병 진행까지의 시간(TTP)을 평가하고/거나 반응률(RR)을 결정함으로써 측정할 수 있다. 일부 구현예에서, 유효량은 약물 내성 또는 약물 내성 지속 암세포의 활성 또는 수를 유의하게 감소시키기에 충분한 본원에 기재된 CBP/p300 브로모도메인 억제제 및 수용체 티로신 키나아제 억제제 또는 KRas 또는 BRAF 억제제 실패의 양이다.

[0183] 일 구현예에서, 본 개시내용의 화합물은 암의 치료를 위한 방사선요법 또는 다른 화학요법제와 함께 인간 또는 동물 환자에 투여될 수 있다. 다른 구현예에서, CBP/P300 억제제 또는 RTK 억제제 또는 KRas 또는 BRAF 억제제가 암의 치료를 위해 방사선요법과 동시에 또는 순차적으로 투여되거나; 또는 순차적으로 또는 다른 화학요법제 또는 화학요법제들과의 조합 조제품으로서 투여되는, 병용 요법이 제공될 수 있다. 상기 또는 각각의 다른 화학요법제는 전형적으로 치료되는 암의 유형에 대해 통상적으로 사용되는 제제일 것이다. 병용을 위한 화학요법제의 부류는 일 구현예에서, 예를 들어 전립선암의 치료를 위한 안드로겐 수용체 길항제, 예를 들어 엔잘루타미드, 및 CYP17A1(17 α -수산화효소/C 17,20 리아제)의 억제제, 예를 들어 아비라테론일 수 있다. 다른 구현예들에서, 병용 요법에서 다른 화학요법제들에는 도세탁셀이 포함될 수 있다.

[0184] 일 구현예에서, 용어 “병용/조합물(combination)”은 섹션 4에서 동시, 개별 또는 순차적 투여를 지칭할 수 있다. 투여가 순차적 또는 개별적으로 되는 경우, 제2 성분을 투여하는 데 있어서의 지연은 병용(조합)의 유의한 효과를 상실하는 것과 같지 않아야 한다.

[0185] 다른 구현예에서, CBP/p300 브로모도메인 억제제 및 수용체 티로신 키나아제 억제제 또는 KRas 또는 BRAF 억제제에 대한 반응은 지속적인 반응이다. 일 구현예에서, “지속적인 반응(sustained response)”은 치료의 중단 후에 종양 성장을 감소시키는 데 있어서의 지속적인 효과를 지칭할 수 있다. 예를 들어, 종양 크기는 투여 단계의 시작 시의 크기와 비교하여 동일하거나 더 작게 유지될 수 있다.

[0186] 다른 구현예에서, 용어 “치료(치치)” (및 “치료하다(치치하다)” 또는 “치료하는(치치하는)” 등과 같은 변형)는 치료되는 개체 또는 세포의 자연적인 과정을 변경하려는 시도에서 임상적 개입을 지칭할 수 있고, 예방을 위해 또는 임상 병리학의 과정 동안 수행될 수 있다. 치료의 바람직한 효과는 질병의 발생 또는 재발을 방지하는 것, 증상의 완화, 질병의 임의의 직접 또는 간접 병리학적 결과의 감소, 질병의 안정화된 (즉, 악화되지 않는) 상태, 전이를 방지하는 것, 질병 진행의 속도를 감소시키는 것, 질환 상태의 개선 또는 완화, 치료 및 완화를 받지 않으면 예상되는 생존과 비교하여 생존을 연장하는 것 및 관해 또는 개선된 예후 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, CBP/p300 브로모도메인 억제제 및 수용체 티로신 키나아제 또는 KRas 또는 BRAF 억제제는 질병 또는 장애의 발달을 지연시키거나 또는 질병 또는 장애의 진행을 늦추는 데 사용될 수 있다. 일 구현예에서, 치료를 필요로 하는 개체는 이미 병태 또는 장애를 갖고 있는 개체 뿐만 아니라 병태 또는 장애를 가질 성향이 있는 개체(예를 들어, 유전자 또는 단백질의 유전자 돌연변이 또는 이상 발현을 포함) 또는 병태 또는 장애가 예방되어야 하는 개체를 포함할 수 있다.

[0187] 일 구현예에서, 용어 “지연”은 질병(예컨대 암) 또는 질병의 내성의 발달을 미루거나, 방해하거나, 늦추거나, 지연시키거나, 안정화시키고/거나, 또는 연기하는 것을 지칭할 수 있다. 상기 지연은 치료 중인 개체 및/또는 질병의 이력에 따라 다양한 시간의 길이일 수 있다. 해당 개체가 질병을 발달시키지 않는다는 점에서 충분하거나 유의미한 지연이 사실상 예방을 포함할 수 있다는 것은 당업자에게는 자명하다. 예를 들면, 전이의 발병과 같은 말기 단계 암이 지연될 수 있다.

[0188] 5. 실시예들

- [0189] 하기 실시예들은 단지 예시적인 것이며, 추가의 방식으로 본 발명을 기술할 것이다. 이 실시예들은 본 발명에 의해 제한하는 것으로 해석되지 않아야 한다.
- [0190] 화합물 00003(화합물 B), 00004(화합물 A), 00030, 00071 및 화합물 C의 제조를 하기에 기술한다. 도움이 되는 경우, 중간체 화합물 및/또는 상기 언급된 화합물에 가까운 화합물에 대한 합성 경로가 제공된다.
- [0191] **일반적인 실험 방법**
- [0192] LCMS 방법:
- [0193] 방법 A: 장치: Agilent 1260 Bin. 펌프: G1312B, 탈기; 오토샘플러, ColCom, DAD: Agilent G1315D, 220-320nm, MSD: Agilent LC/MSD G6130B ESI, pos/neg 100-800, ELSD Alltech 3300 가스 유량 1.5mL/min, 가스 온도: 40 ° C; 컬럼: Waters XSelect™ C18, 30x2.1mm, 3.5 μ, 온도: 35 ° C, 유량: 1mL/min, 구배: t₀ = 5% A, t_{1.6}분 = 98% A, t_{3분} = 98% A, 사후 시간: 1.3분, 용리액 A: 아세토니트릴 중 0.1% 포름산, 용리액 B: 물 중 0.1% 포름산.
- [0194] 방법 B: 장치: Agilent 1260 Bin. 펌프: G1312B, 탈기; 오토샘플러, ColCom, DAD: Agilent G1315D, 220-320nm, MSD: Agilent LC/MSD G6130B ESI, pos/neg 100-800, ELSD Alltech 3300 가스 유량 1.5mL/min, 가스 온도: 40 ° C; 컬럼: Waters XSelect™ C18, 50x2.1mm, 3.5 μ, 온도: 35 ° C, 유량: 0.8mL/min, 구배: t₀ = 5% A, t_{3.5분} = 98% A, t_{6분} = 98% A, 사후 시간: 2분; 용리액 A: 아세토니트릴 중 0.1% 포름산, 용리액 B: 물 중 0.1% 포름산.
- [0195] 방법 C: 장치: Agilent 1260 Bin. 펌프: G1312B, 탈기; 오토샘플러, ColCom, DAD: Agilent G1315C, 220-320nm, MSD: Agilent LC/MSD G6130B ESI, pos/neg 100-800; 컬럼: Waters XSelect™ CSH C18, 30x2.1mm, 3.5 μ, 온도: 25 ° C, 유량: 1mL/min, 구배: t₀ = 5% A, t_{1.6분} = 98% A, t_{3분} = 98% A, 사후 시간: 1.3분, 용리액 A: 95% 아세토니트릴 + 아세토니트릴 중 물 중 5% 10mM 중탄산암모늄, 용리액 B: 물 중 10mM 중탄산암모늄 (pH=9.5).
- [0196] 방법 D: 장치: Agilent 1260 Bin. 펌프: G1312B, 탈기; 오토샘플러, ColCom, DAD: Agilent G1315C, 220-320nm, MSD: Agilent LC/MSD G6130B ESI, pos/neg 100-800; 컬럼: Waters XSelect™ CSH C18, 50x2.1mm, 3.5 μ, 온도: 25 ° C, 유량: 0.8mL/min, 구배: t₀ = 5% A, t_{3.5분} = 98% A, t_{6분} = 98% A, 사후 시간: 2분, 용리액 A: 95% 아세토니트릴 + 아세토니트릴 중 물 중 5% 10mM 중탄산암모늄, 용리액 B: 물 중 10mM 중탄산암모늄 (pH=9.5).
- [0197] UPLC 방법:
- [0198] 방법 A: 장치: Agilent Infinity II; Bin. 펌프: G7120A, 멀티샘플러, VTC, DAD: Agilent G7117B, 220-320nm, PDA: 210-320nm, MSD: Agilent G6135B ESI, pos/neg 100-1000, ELSD G7102A: Evap 40 ° C, Neb 50 ° C, 가스 유량 1.6mL/min, 컬럼: Waters XSelect CSH C18, 50x2.1mm, 2.5 μm 온도: 25 ° C, 유량: 0.6mL/분, 구배: t₀ = 5% B, t_{2분} = 98% B, t_{2.7분} = 98% B, 사후 시간: 0.3분, 용리액 A: 물 중 10mM 중탄산암모늄(pH=9.5), 용리액 B: 아세토니트릴.
- [0199] 방법 B: 장치: Agilent Infinity II; Bin. 펌프: G7120A, 멀티샘플러, VTC, DAD: Agilent G7117B, 220-320nm, PDA: 210-320nm, MSD: Agilent G6135B ESI, pos/neg 100-1000, ELSD G7102A: Evap 40 ° C, Neb 40 ° C, 가스 유량 1.6mL/min, 컬럼: Waters XSelect™ CSH C18, 50x2.1mm, 2.5 μm 온도: 40 ° C, 유량: 0.6mL/분, 구배: t₀ = 5% B, t_{2분} = 98% B, t_{2.7분} = 98% B, 사후 시간: 0.3분, 용리액 A: 물 중 0.1% 포름산, 용리액 B: 아세토니트릴 중 0.1% 포름산.
- [0200] GCMS 방법:
- [0201] 방법 A: 기기: GC: Agilent 6890N G1530N 및 MS: MSD 5973 G2577A, EI-양성, Det. 온도: 280 ° C 질량 범위: 50-550; 컬럼: Rxi-5MS 20m, ID 180 μm, df 0.18 μm; 평균 속도: 50cm/s; 주입 부피: 1 μl; 주입기 온도: 250 ° C; 분할비: 100/1; 운반체 가스: He; 초기 온도: 100 ° C; 초기 시간: 1.5분; 용매 지연: 1.0분; 속도 75 ° C/

분; 최종 온도 250° C; 유지 시간 4.3분.

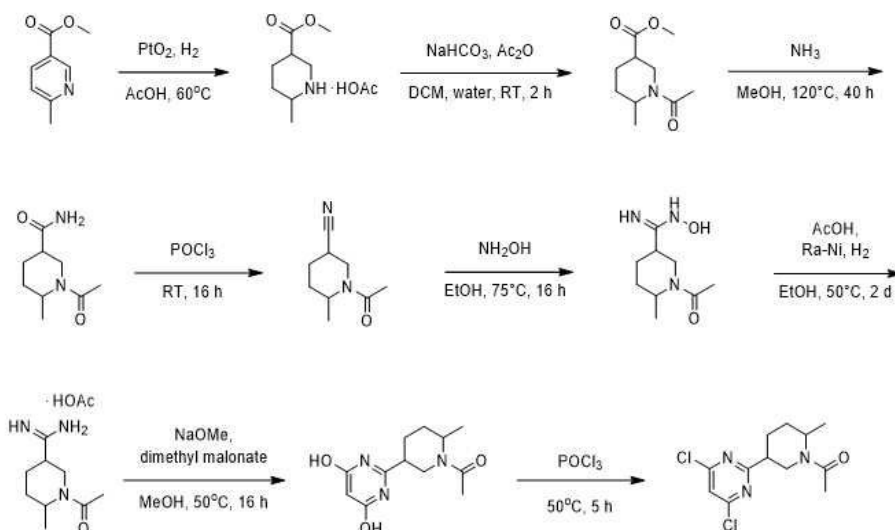
- [0202] 방법 B: 기기: GC: Agilent 6890N G1530N, FID: Det. 온도: 300° C 및 MS: MSD 5973 G2577A, EI-양성, Det. 온도: 280° C 질량 범위: 50-550; 컬럼: Restek RXi-5MS 20m, ID 180 μm, df 0.18 μm; 평균 속도: 50cm/s; 주입 부피: 1 μl; 주입기 온도: 250° C; 분할비: 20/1; 운반체 가스: He; 초기 온도: 60° C; 초기 시간: 1.5분; 용매 지연: 1.3분; 속도 50° C/분; 최종 온도 250° C; 유지 시간 3.5분.
- [0203] 방법 C: 기기: GC: Agilent 6890N G1530N, FID: Det. 온도: 300° C 및 MS: MSD 5973 G2577A, EI-양성, Det. 온도: 280° C 질량 범위: 50-550; 컬럼: Restek RXi-5MS 20m, ID 180 μm, df 0.18 μm; 평균 속도: 50cm/s; 주입 부피: 1 μl; 주입기 온도: 250° C; 분할비: 20/1; 운반체 가스: He; 초기 온도: 100° C; 초기 시간: 1.5분; 용매 지연: 1.3분; 속도 75° C/분; 최종 온도 250° C; 유지 시간 4.5분.
- [0204] 카이랄 LC:
- [0205] 방법 A: (장치: Agilent 1260 Quart. 펌프: G1311C, 오토샘플러, ColCom, DAD: Agilent G4212B, 220-320nm, 컬럼: Chiralcel® OD-H 250x4.6mm, 온도: 25 °C, 유량: 1mL/min, 등용매: 90/10, 시간: 30분, 용리액 A: 헵탄, 용리액 B: 에탄올).
- [0206] 조제용 역상 크로마토그래피:
- [0207] 방법 A: 기기 유형: Reveleris™ prep MPLC; 컬럼: Phenomenex LUNA C18 (150x25mm, 10 μ); 유량: 40mL/min; 컬럼 온도: 실온; 용리액 A: 물 중 0.1%(v/v) 포름산, 용리액 B: 아세트니트릴 중 0.1%(v/v) 포름산; 구배: t=0분 5% B, t=1분 5% B, t=2분 30% B, t=17분 70% B, t=18분 100% B, t=23분 100% B; 검출 UV: 220/254nm. 적절한 분획을 조합하고 동결건조시켰다.
- [0208] 방법 B: 기기 유형: Reveleris™ prep MPLC; 컬럼: Waters XSelect™ CSH C18 (145x25mm, 10 μ); 유량: 40mL/min; 컬럼 온도: 실온; 용리액 A: 물 중 10mM 중탄산암모늄(pH=9.0); 용리액 B: 99% 아세트니트릴 + 물 중 1% 10mM 중탄산암모늄; 구배: t=0분 5% B, t=1분 5% B, t=2분 30% B, t=17분 70% B, t=18분 100% B, t=23분 100% B; 검출 UV: 220/254nm. 적절한 분획을 조합하고 동결건조시켰다.
- [0209] 카이랄 (조제용) SFC
- [0210] 방법 A: (컬럼: SFC 기기 모듈들: Waters Prep100q SFC 시스템, PDA: Waters 2998, 분획 수집기: Waters 2767; 컬럼: Phenomenex Lux Amylose-1(250x20mm, 5 μm), 컬럼 온도: 35° C; 유량: 100mL/min; ABPR: 170 bar; 용리액 A: CO₂, 용리액 B: 메탄올 중 20mM 암모니아; 등용매 10% B, 시간: 30분, 검출: PDA (210-320nm); PDA에 기초한 분획 수집).
- [0211] 방법 B: (컬럼: SFC 기기 모듈들: Waters Prep100q SFC 시스템, PDA: Waters 2998, 분획 수집기: Waters 2767; 컬럼: Phenomenex Lux Celulose-1(250x20mm, 5 μm), 컬럼 온도: 35° C; 유량: 100mL/min; ABPR: 170 bar; 용리액 A: CO₂, 용리액 B: 메탄올 중 20mM 암모니아; 등용매 10% B, 시간: 30분, 검출: PDA (210-320nm); PDA에 기초한 분획 수집).
- [0212] 방법 C: (컬럼: SFC 기기 모듈들: Waters Prep100q SFC 시스템, PDA: Waters 2998; 컬럼: Chiralpak IC(100x4.6mm, 5 μm), 컬럼 온도: 35° C; 유량: 2.5mL/min; ABPR: 170 bar; 용리액 A: CO₂, 용리액 B: 20mM 암모니아를 포함한 메탄올; t=0분 5% B, t=5분 50% B, t=6분 50% B, 검출: PDA (210-320nm); PDA에 기초한 분획 수집).
- [0213] 방법 D: (컬럼: SFC 기기 모듈들: Waters Prep 100 SFC UV/MS 지향 시스템; Waters 2998 광다이오드 어레이 (PDA) 검출기; Waters Acquity QDa MS 검출기; Waters 2767 샘플 매니저; 컬럼: Waters Torus 2-PIC 130A OBD (250x19mm, 5 μm); 컬럼 온도: 35° C; 유량: 70mL/min; ABPR: 120 bar; 용리액 A: CO₂, 용리액 B: 메탄올 중 20mM 암모니아; 선형 구배: t=0분 10% B, t=4분 50% B, t=6분 50% B, 검출: PDA (210-400nm); PDA TIC에 기초한 분획 수집).
- [0214] 출발 물질
- [0215] 표준 시약 및 용매를 가장 높은 상업적 순도로 획득하였고, 그대로 사용하였으며, 구입한 구체적인 시약은 하기에 기재되어 있다.

화합물 명칭	공급자	CAS
테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0)	Sigma-Aldrich	14221-01-3
1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센팔라듐(II) 디클로라이드	Sigma-Aldrich	72287-26-4
2-디시클로헥실포스피노-2',4',6'- 트리아소프로필비페닐	Sigma-Aldrich	564483-18-7
비스(트리페닐포스핀)팔라듐(II) 디클로라이드	Fluorochem	13965-03-2
2-트리부틸스타닐피라진	Combi-Blocks	205371-27-3
N-아세틸-D-류신	Accela Chembio	19764-30-8
메틸 6-메틸피페리딘-3-카복실레이트	Combi-Blocks	908245-03-4
3-브로모-5-플루오로아닐린	Combi-Blocks	134168-97-1
1-메틸-4-(트리부틸스타닐)-1H-이미다졸	Synthonix	446285-73-0
3-플루오로-5-요오도아닐린	Combi-Blocks	660-49-1
4-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란-2-일)- 1H-피라졸	Combi-Blocks	269410-08-4
3-브로모아닐린	Combi-Blocks	591-19-5
1,3,5-트리메틸-4-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2- 디옥사보롤란-2-일)-1H-피라졸	Combi-Blocks	844891-04-9
3-플루오로-5-니트로벤조산	Combi-Blocks	14027-75-9
아세토히드라지드	Combi-Blocks	1068-57-1
N-(3-디메틸아미노프로필)-N'- 에틸카르보디이미드 염산염	Fluorochem	25952-53-8
1-하이드록시-7-아자벤조트리아졸	Enamine	39968-33-7
(메톡시카르보닐솔파모일)트리에틸암모늄 하이드록사이드(Burgess 시약)	Combi-Blocks	29684-56-8
3-니트로페닐아세틸렌	Combi-Blocks	3034-94-4
L-아스코르브산 나트륨 염	Sigma-Aldrich	134-03-2
2-아지도프로판, DMF 중 2.5M	Enamine	691-57-6
아지도옥세탄, MTBE 중 0.5M	Enamine	81764-67-2
아지도트리메틸실란	Acros	4648-54-8
1-플루오로-3-요오도-5-니트로벤젠	Combi-Blocks	3819-88-3
1-브로모-3-클로로-5-니트로벤젠	Combi-Blocks	219817-43-3
2-요오도-1-메틸-4-니트로벤젠	Fluorochem	7745-92-8
3-브로모-5-니트로톨루엔	Combi-Blocks	52488-28-5
4-브로모-1-메틸-1,2,3-트리아졸	Combi-Blocks	13273-53-5

3-니트로벤조알데히드	Acros	99-61-6
3-니트로페닐아세틸렌	Combi-Blocks	3034-94-4
클로로(펜타메틸시클로펜타디에닐)비스(트리페닐 포스핀)루테튬(II)	STREM chemicals	92361-49-4
THF 중 테트라부틸암모늄 플루오라이드 1.0M 용액	Fluorochem	429-41-4
3-에틸닐-4-플루오로아닐린	Synthonix	77123-60-5
터트-부틸 3-시아노피페리딘-1-카복실레이트	Combi-Blocks	91419-53-3
Raney®-니켈, 물 중 50% 슬러리	Acros Organics	7440-02-0
트리스(디벤질리덴아세톤)디팔라듐(0)	Sigma-Aldrich	51364-51-3
Xphos	Sigma-Aldrich	564483-18-7
2-(트리부틸스타닐)-피리미딘	Sigma-Aldrich	153435-63-3
활성탄에 10% 팔라듐	ACROS	7440-05-3

주요 중간체에 대한 합성 절차

[0219] 중간체 1: 1-(5-(4,6-디클로로피리미딘-2-일)-2-메틸피페리딘-1-일)에탄-1-온



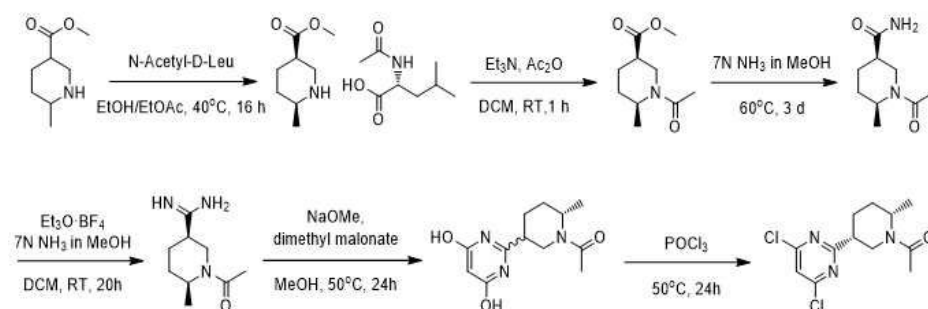
[0220]

[0221]

1L 강철 오토클레이브 중 아세트산(250mL) 중 메틸 6-메틸니코티네이트(100g, 662mmol)의 용액에 산화백금(IV)(0.5g, 2.202mmol)을 첨가한 후, 반응 혼합물을 60° C에서 10 bar 수소 대기 하에 교반하였다. 빠른 수소 소비가 관찰되었고, 수소 소비가 중단되고 환원이 완료될 때까지 오토클레이브를 수회 재충전하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 셀라이트 상에 여과하였다. 여액을 농축시켜 메틸 6-메틸피페리딘-3-카르복실레이트 아세테이트를 부분입체 이성질체(143.8g, 100%)의 혼합물로서 수득하였으며, 이를 다음 단계에서 그대로 사용하였다. GCMS (방법 A): tR 2.40 (80%) 및 2.48분 (20%), 100%, MS (EI) 157.1 (M)+, 142.1 (M-Me)+. 물(500 mL) 및 디클로로메탄(500 mL)의 혼합물 중 메틸 6-메틸피페리딘-3-카르복실레이트 아세테이트(53g, 244mmol)의 용액에 중탄산나트륨(82g, 976mmol)을 조심스럽게 (거품!) 첨가한 후, 아세트산 무수물(29.9g, 293mmol)을 천천히 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 유기 층을 분리하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켜 메틸 1-아세틸-6-메틸피페리딘-3-카르복실레이트(49g, 100%)를 황색 오일로서 수득하였다. 메탄올(7N, 500mL, 3.5mol) 중 암모니아 중 메틸 1-아세틸-6-메틸피페리딘-3-카르복실레이트(49g, 246mmol)의 용액을 압력 용기 내에서 120° C에서 40시간 동안 교반하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 농축시켜 담황색 고체를 수득하였다. 이 고체를 디클로로메탄에 용해시키고, 실리카의 플러그 상에서 여과하였다. 여액을 농축시켜 1-아세틸-6-메틸피페리딘-3-카르복사미드를 황백색 고체로서 수득하였으며, 이를 다음 단계에서 그대로 사용하였다. 옥시염화인(500mL, 5.37mol) 중 이전 단계로부터의 1-아세틸-6-메틸피페리딘-3-카르복사미드(266mmol)의 용액을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 진공 하에 증발시켜 농후한 오일을 수득하였다. 이 오일을 톨루엔과 2회 공증발시키고, 차가운 포화 탄산나트륨 (거품!)과 에틸 아세테이트 사이에 조심스럽게 분배하였다. 유기 층을 염기성 수성 층으로부터 분리하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켜 생성물을 정치시 고체화되는 농후한 오일로서 수득하였다. 상기 미정제물(crude)을 디클로로메탄에 용해시키고, 실리카의 플러그 상에서 여과하였다(디클로로메탄 중 10% 메탄올로 용리시킴). 이를 정치시 고체화되는 오일로서 1-아세틸-6-메틸피페리딘-3-카르보니트릴(28g, 63%)을 수득하였다. GCMS (방법 A): tR 3.78 (63%) 및 3.89분 (37%), 100%, MS (EI) 166.1 (M)+. 에탄올(300mL) 중 1-아세틸-6-메틸피페리딘-3-카르보니트릴(23g, 138mmol)의 용액에, 하이드록실아민 용액(물 중 50%, 25.4mL, 415mmol)을 첨가한 후, 반응 혼합물을 환류 하에 16시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 농축시키고, 에틸 아세테이트와 3회 공증발시켜 건조시켜 1-아세틸-N-하이드록시-6-메틸피페리딘-3-카르복사미드아미드를 점착성 고체로서 수득하였다. LCMS (방법 A): tR 0.13분, 100%, MS (ESI) 200.2 (M+H)+. 정량적 수율을 가정하여, 생성물을 다음 단계에서 그대로 사용하였다. 에탄올(500mL) 중 이전 단계로부터의 1-아세틸-N-하이드록시-6-메틸피페리딘-3-카르복사미드아미드(23g, 138mmol)의 용액에, 물(5mL) 중 아세트산(23.79mL, 416mmol) 및 50% Raney® 니켈 슬러리를 첨가한 후, 반응 혼합물을 수소 대기 하에 50° C에서 2일 동안 교반하였다. 혼합물을 셀라이트 상에서 여과하고, 일부 에탄올로 세척하고, 농축시켜 70g의 농후한 오일을 수득하였다. 이를 에틸 아세테이트와 2회 공증발시키고, 진공 하에 광범위하게 건조시켜 1-아세틸-6-메틸피페리딘-3-카르복사미드아미드 아세테이트(33g, 98%)를 녹색 오일로서 수득하였으며, 이를 다음 단계에서 그대로 사용하였다. LCMS (방법 A): tR 0.14분, 90%, MS (ESI) 184.1 (M+H)+. 질소 대기 하에 건조 메탄올(60 mL) 중 나트륨(18.14g, 789mmol)의 용액에 1-아세틸-6-메틸피페리딘-3-카르복사미드아미드 아세테이트(32g, 132mmol)

및 디메틸 말로네이트(26.1g, 197mmol)를 첨가한 후, 반응 혼합물을 50° C에서 16시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 농축시키고, 물(300 mL)에 녹이고, 6N 염산을 사용하여 pH 4로 산성화시키고, 침전시켰다. 침전물을 여과해 내고, 1-(5-(4,6-디하이드록시피리미딘-2-일)-2-메틸피페리딘-1-일)에탄-1-온을 황색 고체(10.4g, 31%)로서 수득하였으며, 이를 다음 단계에 그대로 사용하였다. 옥시염화인(200mL, 2146mmol) 중 1-(5-(4,6-디하이드록시피리미딘-2-일)-2-메틸피페리딘-1-일)에탄-1-온(10.4g, 41.4mmol)의 현탁액을 50° C에서 교반하였다. 대략 3시간 후에 고체를 서서히 용해시켰다. 5시간 후, 반응 혼합물을 진공 하에 농축시키고, 톨루엔과 2회 공증발시켰다. 잔류 오일을 조심스럽게 얼음으로 퀀칭하고, 포화 수성 중탄산나트륨으로 중화시키고, 에틸 아세테이트(2 x 100mL)로 추출하였다. 결합한 유기 층들을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜 1-(5-(4,6-디클로로피리미딘-2-일)-2-메틸피페리딘-1-일)에탄-1-온(중간체 1, 6.8g, 57%)을 황색 오일로서 수득하였으며, 이를 정치 시에 고체화시켰다. LCMS (방법 A): tR 1.88분, 100%, MS (ESI) 288.1 (M+H)+.

[0222] 중간체 2: 1-((2S,5R)-5-(4,6-디클로로피리미딘-2-일)-2-메틸피페리딘-1-일)에탄-1-온



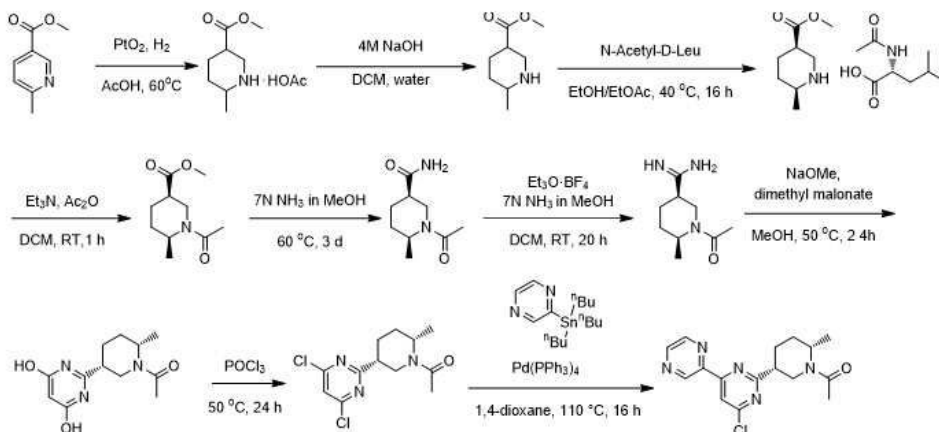
[0223]

[0224]

에탄올(1.5L) 중 N-아세틸-D-류신(1kg, 5.77mol)의 용액에 에틸 아세테이트(3L) 중 메틸 6-메틸피페리딘-3-카르복실레이트(934g, 2.38mol, 중간체 1 하에 제조됨)의 용액을 첨가하고, 혼합물을 40° C로 가열하였다. 생성된 용액을 16시간에 걸쳐 실온에 도달하게 하고 그 동안 침전이 일어나게 하였다. 침전물을 여과해 내고, 디에틸 에테르(500mL)로 세척하고, 공기 건조시켜 미정제(crude) 메틸 (3R,6S)-6-메틸피페리딘-3-카르복실레이트 아세틸-D-류시네이트(287g, 34%)를 백색 고체로서 수득하였다. 미정제 메틸 (3R,6S)-6-메틸피페리딘-3-카르복실레이트 아세틸-D-류시네이트(287g, 869mmol)를 에탄올 및 에틸 아세테이트 1:2(1L)의 뜨거운 혼합물로부터 결정화하였다. 침전물을 여과해 내고, 필터 케이크를 디에틸 에테르 및 n-헵탄 1:1(500mL)의 혼합물 중에서 분쇄하였다. 침전물을 여과해 내고, 공기 건조시켜 메틸 (3R,6S)-6-메틸피페리딘-3-카르복실레이트 아세틸-D-류시네이트(128g, 44%)를 백색 고체로서 수득하였다. 디클로로메탄(1L) 중 메틸 (3R,6S)-6-메틸피페리딘-3-카르복실레이트 아세틸-D-류시네이트(128g, 387mmol)의 용액에 포화 탄산나트륨 용액(1L)을 첨가하였다. 이상성 시스템을 10분 동안 격렬하게 교반하고, 층들을 분리하였다. 유기 층을 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하여 투명한 용액을 수득하였다. 이어서, 트리에틸아민(65mL, 465mmol) 및 아세트산 무수물(44mL, 465mmol)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 포화 중탄산나트륨 용액으로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 농축시켜 메틸 (3R,6S)-1-아세틸-6-메틸피페리딘-3-카르복실레이트(93g)를 담황색 고체로서 수득하였다. 오토클레이브를 메탄올(600mL, 4200mmol) 중 7N 암모니아 중 메틸 (3R,6S)-1-아세틸-6-메틸피페리딘-3-카르복실레이트(93g, 387mmol)로 충전하고, 60° C로 3일 동안 가열하였다. 혼합물을 농축시켜 (3R,6S)-1-아세틸-6-메틸피페리딘-3-카르복사미드(102g)를 연노랑색 오일로서 수득하였다. 정량적 수율을 가정하여, 생성물을 다음 단계에서 그대로 사용하였다. 카이랄 LC (방법 A) tR = 12.35분, >98% ee. 디클로로메탄(500mL) 중 (3R,6S)-1-아세틸-6-메틸피페리딘-3-카르복사미드(50g, 271mmol)의 용액에 트리에틸옥소늄 테트라플루오로보레이트(77g, 407mmol)를 조금씩 첨가하고, 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반하였다. 서서히, 메탄올(200mL, 9.15mol) 중 7N 암모니아를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축시켜 (3R,6S)-1-아세틸-6-메틸피페리딘-3-카르복사미드(50g)를 분홍색 고체로서 수득하여 다음 단계에서 그대로 사용하였다. 메탄올(200mL) 중 메탄올(99mL, 535mmol) 중 5.4M 나트륨 메톡시드의 용액에 메탄올(400mL) 중 (3R,6S)-1-아세틸-6-메틸피페리딘-3-카르복사미드(49g, 267mmol) 및 디메틸 말로네이트(61.4mL, 535mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 50° C로 가열하고, 24시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농염산으로 산성화시키고(pH ~ 3), 더 작은 부피로 농축시켰다. 잔류물을 실리카(디클로로메탄 중 20% 메탄올)를 통해 여과하고, 농축시켜 오렌지색 오일을 수득하였다. 미정제 생성물을 실리카 컬럼 크로마토그래피(디클로로메탄 중 0% 내지 20% 메탄올)로 정제하여 1-((2S,5R)-5-(4,6-디하이드록시피리미딘-2-일)-2-메틸피페리딘-1-일)에탄-1-온(12g, 17%)을 무색 검으로서 수득하였다. LCMS (방법 C): tR 0.17분, 100%, MS (ESI) 252.1 (M+H)+. 옥시염화인(80mL, 858mmol) 중 1-((2S,5R)-5-(4,6-디하이드록시피리미딘-2-일)-2-메틸피페리딘-1-일)에탄-1-온(12g, 47.8mmol)의 용액을 60° C에서 24시간

동안 교반하였다. 반응 혼합물을 농축시키고, 톨루엔과 2회 공증발시켜 황색 오일을 수득하였다. 그 오일을 에틸 아세테이트 중에 용해시키고, 포화 중탄산나트륨 용액으로 세척하였다. 수성 층을 에틸 아세테이트로 2회 추출하였다. 결합한 유기 층들을 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 농축시켜 황색 오일을 수득하였다. 그 오일을 실리카 컬럼 크로마토그래피(톨루엔 중 0% 내지 20% 테트라히드로푸란)로 정제하여 1-((2S,5R)-5-(4,6-디클로로피리미딘-2-일)-2-메틸피페리딘-1-일)에탄-1-온(중간체 2, 1.5g, 11%)을 무색 검으로 수득하였다. LCMS (방법 B): tR 3.34분, 100%, MS (ESI) 288.0 (M+H)⁺; 카이랄 UPLC (방법: A) tR 2.54분, >95% ee 및 de.

[0225] 중간체 3: 1-((2S,5R)-5-(4-클로로-6-(피라진-2-일)피리미딘-2-일)-2-메틸피페리딘-1-일)에탄-1-온의 합성



[0226]

[0227]

1L 강철 오토클레이브 중 아세트산(250mL) 중 메틸 6-메틸니코티네이트(100g, 662mmol)의 용액에 산화백금(IV)(0.5g, 2.202mmol)을 첨가한 후, 반응 혼합물을 60° C에서 10 bar 수소 대기 하에 교반하였다. 빠른 수소 소비가 관찰되었고, 수소 소비가 중단될 때까지 오토클레이브를 수회 재충전하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 셀라이트 상에 여과하였다. 여액을 조심스럽게 농축시켜 메틸 6-메틸피페리딘-3-카르복실레이트 아세테이트를 부분입체 이성질체(143.8g, 100%)의 혼합물로서 수득하였으며, 이를 다음 단계에서 그대로 사용하였다. GCMS (방법 A): t_R 2.40(80%) 및 2.48분(20%), 100%, MS (EI) 157.1 (M)⁺. 부분입체 이성질체(2.1kg, 9924mmol)의 혼합물로서 메틸 6-메틸피페리딘-3-카르복실레이트 아세테이트를 디클로로메탄(4L)으로 희석하고, 4M 수산화나트륨 용액을 pH ~9가 될 때까지 서서히 첨가하였다. 층들을 분리하고, 수성 층을 디클로로메탄으로 2회 추출하였다(수성 층을 각각의 추출 후에 4M 수산화나트륨 용액으로 pH ~9로 재염기화하였다). 결합한 유기 층들을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 보다 작은 부피(~2L)로 농축시켜(35° C, 450mbar) 메틸 6-메틸피페리딘-3-카르복실레이트(2.8kg, 8905mmol)를 디클로로메탄 중 ~50% 황색 용액으로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 회전 이성질체들의 혼합물) δ 5.10 (s, 3H), 3.63 (s, 1H), 3.49 - 3.42 (m, 2.2H), 3.41 - 3.34 (m, 0.8H), 3.18 - 3.10 (m, 0.8H), 3.09 - 3.03 (m, 0.2H), 2.64 - 2.54 (m, 0.8H), 2.53 - 2.34 (m, 1.2H), 2.30 - 2.20 (m, 1H), 1.95 - 1.76 (m, 1H), 1.53 - 1.36 (m, 1H), 1.35 - 1.21 (m, 1H), 1.04 - 0.90 (m, 1H), 0.89 - 0.84 (m, 0.8H), 0.83 - 0.76 (m, 2.2H). 에탄올 (1.5L) 중 N-아세틸-D-류신(1kg, 5.77mol)의 용액에 에틸 아세테이트(3L) 중 메틸 6-메틸피페리딘-3-카르복실레이트(934g, 2.38mol)의 용액을 첨가하고, 혼합물을 40° C로 가열하였다. 생성된 용액을 16시간에 걸쳐 실온에 도달하게 하고 그 동안 침전이 일어나게 하였다. 침전물을 여과해 내고, 디에틸 에테르(500mL)로 세척하고, 공기 건조시켜 미정제(crude) 메틸 (3R,6S)-6-메틸피페리딘-3-카르복실레이트 아세틸-D-류시네이트(287g, 34%)를 백색 고체로서 수득하였다. 미정제 메틸 (3R,6S)-6-메틸피페리딘-3-카르복실레이트 아세틸-D-류시네이트(287g, 869mmol)를 에탄올 및 에틸 아세테이트 1:2(1L)의 뜨거운 혼합물로부터 결정화하였다. 침전물을 여과해 내고, 필터 케이크를 디에틸 에테르 및 n-펜탄 1:1(500mL)의 혼합물 중에서 분쇄하였다. 침전물을 여과해 내고, 공기 건조시켜 메틸 (3R,6S)-6-메틸피페리딘-3-카르복실레이트 아세틸-D-류시네이트(128g, 44%)를 백색 고체로서 수득하였다. ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.80 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 5.80 - 5.00 (s, 2H), 4.20 - 4.04 (m, 1H), 3.63 (s, 3H), 3.32 - 3.21 (m, 1H), 2.93 - 2.80 (m, 2H), 2.73 - 2.65 (m, 1H), 2.04 - 1.94 (m, 1H), 1.82 (s, 3H), 1.68 - 1.49 (m, 3H), 1.49 - 1.37 (m, 2H), 1.30 - 1.15 (m, 1H), 1.02 (d, J = 6.4 Hz, 3H), 0.85 (m, 6H). 디클로로메탄(1L) 중 메틸 (3R,6S)-6-메틸피페리딘-3-카르복실레이트 아세틸-D-류시네이트(128g, 387mmol)의 용액에 포화 탄산나트륨 용액(1L)을 첨가하였다. 이상성 시스템을 10분 동안 격렬하게 교반하고, 층들을 분리하였다. 유기 층을 황산나트륨

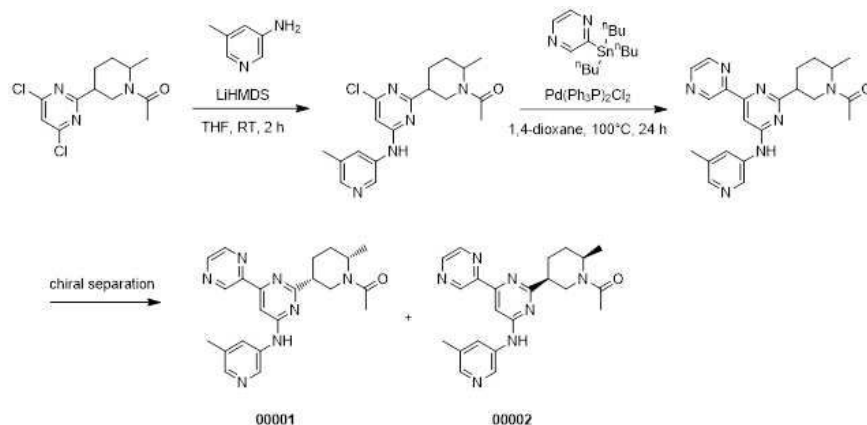
으로 건조시키고, 여과하여 투명한 용액을 수득하였다. 이어서, 트리에틸아민(65mL, 465mmol) 및 아세트산 무수물(44mL, 465mmol)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 포화 수성 중탄산나트륨 용액으로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 농축시켜 메틸 (3R,6S)-1-아세틸-6-메틸피페리딘-3-카르복실레이트(93g)를 담황색 고체로서 수득하였다. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 회전 이성질체들의 혼합물) δ 5.02 - 4.87 (m, 0.5H), 4.84 - 4.68 (m, 0.5H), 4.18 - 4.05 (m, 0.5H), 3.89 - 3.77 (m, 0.5H), 3.71 (d, J = 11.6 Hz, 3H), 3.31 - 3.18 (m, 0.5H), 2.79 - 2.67 (m, 0.5H), 2.51 - 2.31 (m, 1H), 2.11 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 2.01 - 1.90 (m, 1H), 1.88 - 1.55 (m, 3H), 1.33 - 1.21 (m, 1.5H), 1.20 - 1.06 (m, 1.5H). 오토클레이브를 메탄올(600mL, 4200mmol) 중 7N 암모니아 중 메틸 (3R,6S)-1-아세틸-6-메틸피페리딘-3-카르복실레이트(93g, 387mmol)로 충전하고, 60° C로 3일 동안 가열하였다. 혼합물을 농축시켜 (3R,6S)-1-아세틸-6-메틸피페리딘-3-카르복사미드(102g)를 연노랑색 오일로서 수득하였다. 정량적 수율을 가정하여, 생성물을 다음 단계에서 그대로 사용하였다. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, 회전 이성질체들의 혼합물) δ 7.38 (s, 1H), 6.89 (d, J = 24.7 Hz, 1H), 4.76 - 4.59 (m, 0.5H), 4.39 - 4.24 (m, 0.5H), 4.16 - 4.01 (m, 0.5H), 3.72 - 3.51 (m, 0.5H), 3.14 - 2.99 (m, 0.5H), 2.68 - 2.51 (m, 0.5H), 2.30 - 2.12 (m, 0.5H), 2.11 - 1.92 (m, 3.5H), 1.78 - 1.38 (m, 4H), 1.23 - 1.11 (m, 1.5H), 1.09 - 0.94 (m, 1.5H); 카이랄 LC (방법 A) t_R = 12.35분, >98% ee. 디클로로메탄(500mL) 중 (3R,6S)-1-아세틸-6-메틸피페리딘-3-카르복사미드(50g, 271mmol)의 용액에 트리에틸옥소늄 테트라플루오로보레이트(77g, 407mmol)를 조금씩 첨가하고, 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반하였다. 서서히, 메탄올(200mL, 9.15mol) 중 7N 암모니아를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축시켜 (3R,6S)-1-아세틸-6-메틸피페리딘-3-카르복사미드(50g)를 분홍색 고체로서 수득하여 다음 단계에서 그대로 사용하였다. 메탄올(200mL) 중 메탄올(99mL, 535mmol) 중 5.4M 나트륨 메톡시드의 용액에 메탄올(400mL) 중 (3R,6S)-1-아세틸-6-메틸피페리딘-3-카르복사미드(49g, 267mmol) 및 디메틸 말로네이트(61.4mL, 535mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 50° C로 가열하고, 24시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농염산으로 산성화시키고(pH ~ 3), 더 작은 부피로 농축시켰다. 잔류물을 실리카(디클로로메탄 중 20% 메탄올)를 통해 여과하고, 농축시켜 오렌지색 오일을 수득하였다. 미정제 생성물을 실리카 컬럼 크로마토그래피(디클로로메탄 중 0% 내지 20% 메탄올)로 정제하여 1-((2S,5R)-5-(4,6-디하이드록시피리미딘-2-일)-2-메틸피페리딘-1-일)에탄-1-온(12g, 17%)을 무색 점으로서 수득하였다. LCMS (방법 C): t_R 0.17분, 100%, MS (ESI) 252.1 (M+H) $^+$. 옥시염화인(80mL, 858mmol) 중 1-((2S,5R)-5-(4,6-디하이드록시피리미딘-2-일)-2-메틸피페리딘-1-일)에탄-1-온(12g, 47.8mmol)의 용액을 60° C에서 24시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 농축시키고, 톨루엔과 2회 공증발시켜 황색 오일을 수득하였다. 그 오일을 에틸 아세테이트 중에 용해시키고, 포화 중탄산나트륨 용액으로 세척하였다. 수성 층을 에틸 아세테이트로 2회 추출하였다. 결합한 유기 층들을 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 농축시켜 황색 오일을 수득하였다. 그 오일을 실리카 컬럼 크로마토그래피(톨루엔 중 0% 내지 20% 테트라히드로푸란)로 정제하여 1-((2S,5R)-5-(4,6-디클로로피리미딘-2-일)-2-메틸피페리딘-1-일)에탄-1-온(1.5g, 11%)을 무색 점으로서 수득하였다. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, 회전 이성질체들의 혼합물) δ 7.95 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 4.85 - 4.72 (m, 1H), 4.69 - 4.62 (m, 1H), 4.23 - 4.13 (m, 1H), 4.07 - 3.98 (m, 1H), 3.97 - 3.88 (m, 1H), 3.00 - 2.89 (m, 1H), 2.81 - 2.67 (m, 1H), 2.09 - 1.72 (m, 7H), 1.71 - 1.58 (m, 2H), 1.25 - 1.14 (m, 3H), 1.12 - 1.05 (m, 2H); LCMS (방법 B): t_R 3.34분, MS (ESI) 288.0 (M+H) $^+$; 카이랄 UPLC (방법: A) t_R 2.54분, >95% ee 및 de. 아르곤 하에, 1,4-디옥산(20mL) 중 2-트리부틸스타닐피라진(607mg, 1.65mmol), 1-((2S,5R)-5-(4,6-디클로로피리미딘-2-일)-2-메틸피페리딘-1-일)에탄-1-온(500mg, 1.74mmol) 및 비스(트리페닐포스핀)팔라듐(II) 클로라이드(244mg, 0.34mmol)를 100° C로 가열하고, 32시간 동안 교반하였다. 혼합물을 1% 트리에틸아민을 함유한 디클로로메탄으로 희석하고, 실리카 상에 코팅하였다. 이를 실리카 컬럼 크로마토그래피(1% 트리에틸아민을 함유한 디클로로메탄 중 0% 내지 40% 아세토니트릴)로 정제하여 1-((2S,5R)-5-(4-클로로-6-(피라진-2-일)피리미딘-2-일)-2-메틸피페리딘-1-일)에탄-1-온(중간체 3, 134mg, 18%)을 오렌지색 점으로서 수득하였다. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, 회전 이성질체들의 혼합물) δ 9.46 - 9.41 (m, 1H), 8.80 - 8.76 (m, 1H), 8.65 - 8.59 (m, 1H), 8.33 - 8.29 (m, 1H), 7.66 - 7.59 (m, 1H), 4.86 - 4.70 (m, 0.5H), 4.27 - 4.17 (m, 0.5H), 4.09 - 3.97 (m, 0.5H), 3.55 - 3.41 (m, 0.5H), 3.06 - 2.98 (m, 0.5H), 2.88 - 2.82 (m, 0.5H), 2.10 - 1.90 (m, 6H), 1.89 - 1.76 (m, 0.5H), 1.75 - 1.61 (m, 1.5H), 1.29 - 1.20 (m, 1.5H), 1.17 - 1.10 (m, 1.5H); LCMS (방법 C): t_R 1.81분, MS (ESI) 331.1 (M+H) $^+$.

[0228] 최종 생성물에 대한 합성 절차

[0229] 실시예

1:

1-((2S,5R)-2-메틸-5-(4-((5-메틸피리딘-3-일)아미노)-6-(피라진-2-일)피리미딘-2-일)피페리딘-1-일)에탄-1-온(00001) 및 1-((2R,5S)-2-메틸-5-(4-((5-메틸피리딘-3-일)아미노)-6-(피라진-2-일)피리미딘-2-일)피페리딘-1-일)에탄-1-온(00002)의 합성



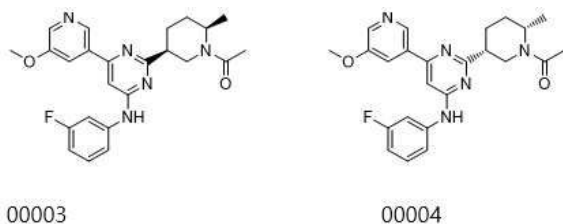
[0230]

[0231]

테트라히드로푸란(20mL) 중 3-아미노-5-메틸피리딘(0.751g, 6.94mmol)의 용액에 테트라히드로푸란(6.94mL, 6.94mmol) 중 1M 리튬 비스(트리메틸실릴)아미드를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 10분 동안 교반하였다. 이어서, 테트라히드로푸란(20mL) 중 1-(5-(4,6-디클로로피리미딘-2-일)-2-메틸피페리딘-1-일)에탄-1-온(중간체 1, 1g, 3.47mmol)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 포화 염화암모늄 용액에 붓고, 에틸 아세테이트로 2회 추출하였다. 결합한 유기 층들을 염수로 한 번 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 농축시켜 황색 고체를 수득하였다. 그 고체를 실리카 컬럼 크로마토그래피(디클로로메탄 중 0% 내지 5% 메탄올)로 정제하여 1-(5-(4-클로로-6-((5-메틸피리딘-3-일)아미노)피리미딘-2-일)-2-메틸피페리딘-1-일)에탄-1-온(788mg, 60%)을 황색 발포체로서 수득하였다. LCMS (방법 B): tR 1.81분, 100%, MS (ESI) 360.1 (M+H)+. 질소 하에, 2-(트리부틸스타닐)피라진(103mg, 0.28mmol), 1-(5-(4-클로로-6-((5-메틸피리딘-3-일)아미노)피리미딘-2-일)-2-메틸피페리딘-1-일)에탄-1-온(50mg, 0.14mmol) 및 비스(트리페닐포스핀)팔라듐(II) 디클로라이드(9.75mg, 0.01mmol)를 N,N-디메틸포름아미드(3mL) 중에 용해시켰다. 혼합물을 80°C로 24시간 동안 가열하고, 실온으로 냉각시켰다. 혼합물을 C18 플러그를 통해 아세토니트릴을 사용하여 용리시키고, 여과물을 역상 크로마토그래피(방법 B)로 정제하고, 동결건조시켜 1-(2-메틸-5-(4-((5-메틸피페리딘-3-일)아미노)-6-(피라진-2-일)피리미딘-2-일)피페리딘-1-일)에탄-1-온(22mg, 37%)을 백색 고체로서 수득하였다. 수득한 시스(cis) 거울상 이성질체의 혼합물을 카이랄 조제용 SFC(방법 A)에 대해 제공하고, 동결건조시켜 입체 이성질체 둘 모두를 수득하였다. 1-((2S,5R)-2-메틸-5-(4-((5-메틸피리딘-3-일)아미노)-6-(피라진-2-일)피리미딘-2-일)피페리딘-1-일)에탄-1-온(5mg, 22%) LCMS (방법 D): tR 3.17분, 100%, MS (ESI) 404.1 (M+H)+; 카이랄 UPLC (방법 A): tR 3.17분, >95% ee 및 de. 1-((2R,5S)-2-메틸-5-(4-((5-메틸피리딘-3-일)아미노)-6-(피라진-2-일)피리미딘-2-일)피페리딘-1-일)에탄-1-온(6mg, 27%) LCMS (방법 D): tR 3.17분, 100%, MS (ESI) 404.2 (M+H)+; 카이랄 UPLC (방법 A): tR 4.60분, >95% ee 및 de.

[0232]

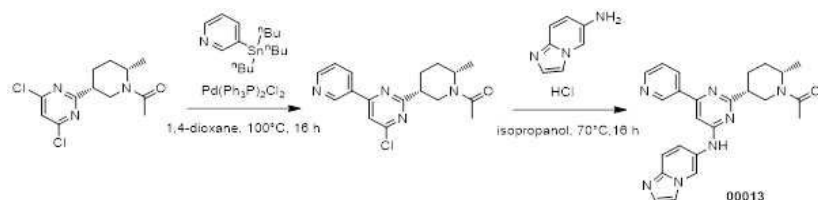
화합물 00003(본원에서 화합물 B로도 지칭됨) 및 00004(본원에서 화합물 A로도 지칭됨)를 적절한 출발 물질을 사용하여 실시예 1과 유사한 절차를 사용하여 조제하였다.



[0233]

[0234]

실시예 2: 1-((2S,5R)-5-(4-(이미다조[1,2-a]피리딘-6-일아미노)-6-(피리딘-3-일)피리미딘-2-일)-2-메틸피페리딘-1-일)에탄-1-온(00013)의 합성



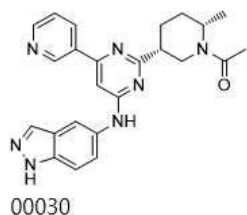
[0235]

[0236]

아르곤 하에, 1,4-디옥산(20mL) 중 3-(트리부틸스타닐)피리딘(607mg, 1.65mmol), 1-((2S,5R)-5-(4,6-디클로로 피리미딘-2-일)-2-메틸피페리딘-1-일)에탄-1-온(중간체 2, 500mg, 1.74mmol) 및 비스(트리페닐포스핀)팔라듐 (II) 클로라이드(244mg, 0.34mmol)를 100° C로 가열하고, 32시간 동안 교반하였다. 혼합물을 1% 트리에틸아민을 함유한 디클로로메탄으로 희석하고, 실리카 상에 코팅하였다. 이를 실리카 컬럼 크로마토그래피(1% 트리에틸아민을 함유한 디클로로메탄 중 0% 내지 40% 아세토니트릴)로 정제하여 1-((2S,5R)-5-(4-클로로-6-(피리딘-3-일) 피리미딘-2-일)-2-메틸피페리딘-1-일)에탄-1-온(134mg, 18%)을 오렌지색 검으로서 수득하였다. LCMS (방법 C): tR 1.81분, 100%, MS (ESI) 331.1 (M+H)+. 2-프로판올(2mL) 중 1-((2S,5R)-5-(4-클로로-6-(피리딘-3-일) 피리미딘-2-일)-2-메틸피페리딘-1-일)에탄-1-온(30mg, 0.09mmol)의 용액에 이미다조[1,2-a]피리딘-6-아민(36.2mg, 0.27mmol) 및 염산(0.02mL, 0.27mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 60° C에서 16시간 동안 교반하고, 포화 수성 중 탄산나트륨 용액에 붓고, 에틸 아세테이트로 2회 추출하였다. 결합한 유기 층들을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 농축시켜 황색 오일을 수득하였다. 그 오일을 역상 크로마토그래피(방법 B)로 정제하고, 동결건조시켜 1-((2S,5R)-5-(4-(이미다조[1,2-a]피리딘-6-일아미노)-6-(피리딘-3-일) 피리미딘-2-일)-2-메틸피페리딘-1-일)에탄-1-온을 청색빛의 고체로서 수득하였다. LCMS (방법 B): tR 2.19분, 100%, MS (ESI) 428.1 (M+H)+.

[0237]

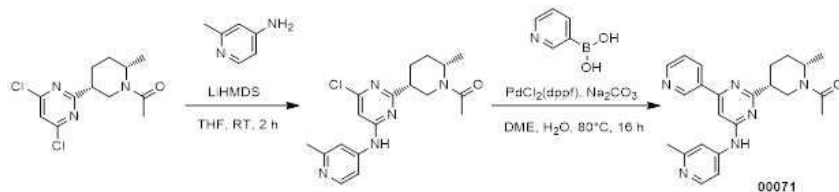
화합물 00030을 적절한 출발 물질을 사용하여 실시예 2와 유사한 절차를 따라 조제하였다.



[0238]

[0239]

실시예 3A: 1-((2S,5R)-2-메틸-5-(4-((2-메틸피리딘-4-일)아미노)-6-(피리딘-3-일) 피리미딘-2-일) 피페리딘-1-일)에탄-1-온(00071)의 합성



[0240]

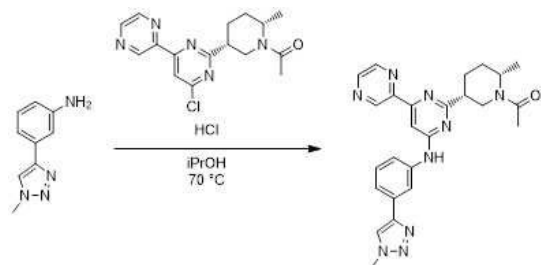
[0241]

건조 테트라히드로푸란(100mL) 중 2-메틸피리딘-4-아민(3.19g, 29.5mmol)의 용액에 테트라히드로푸란(29.5mL, 29.5mmol) 중 1M 리튬 비스(트리메틸실릴)아미드를 첨가하고, 혼합물을 10분 동안 교반하였다. 이어서, 건조 테트라히드로푸란(100mL) 중 1-((2S,5R)-5-(4,6-디클로로피리미딘-2-일)-2-메틸피페리딘-1-일)에탄-1-온(중간체 2, 850mg, 2.95mmol)을 10분에 걸쳐 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 포화 염화 암모늄 용액에 붓고, 에틸 아세테이트로 2회 추출하였다. 결합한 유기 층들을 염수로 한 번 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 농축시켜 갈색 오일을 수득하였다. 그 오일을 실리카 컬럼 크로마토그래피(n-헵탄 중 80% 내지 100% 에틸 아세테이트에 이어서 디클로로메탄 중 0% 내지 10% 메탄올)에 의해 정제하여 1-((2S,5R)-5-(4-클로로-6-((2-메틸피리딘-4-일)아미노) 피리미딘-2-일)-2-메틸피페리딘-1-일)에탄-1-온(275mg 25%)을 황색 오일로서 수득하였다. LCMS (방법 A): tR 1.49분, 100%, MS (ESI) 360.1 (M+H)+. 질소 하에, 1-((2S,5R)-5-(4-클로로-6-((2-메틸피리딘-4-일)아미노) 피리미딘-2-일)-2-메틸피페리딘-1-일)에탄-1-온(275mg, 0.76mmol), 탄산나트륨(162mg, 1.53mmol), 피리딘-3-보론산(188mg, 1.53mmol) 및 PdCl2(dppf)-CH2Cl2 부가물(62.4mg, 0.08mmol)을 1,2-디메톡시에탄(6mL) 및 물(2mL)의 혼합물 중에 용해시켰다. 혼합물을 80° C로 1시간 동안 가열하고, C18-플러그를 통해 여과하고, 농축시켜 어두운 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 역상 크로마토그래피(방법 B)에 의해 정제하고, 동결건조시켜 담황색 고체를 수득하였다. 생성물을 카이랄 조제용 SFC(방법 B)에 의해 추가로 정제하

고, 동결건조시켜 1-((2S,5R)-2-메틸-5-(4-((2-메틸피리딘-4-일)아미노)-6-(피리딘-3-일)피리미딘-2-일)피페리딘-1-일)에탄-1-온(135mg, 41%)을 베이지색 고체로서 수득하였다. LCMS (방법 D): t_R 3.06분, 100%, MS (ESI) 403.2 (M+H)⁺; 카이랄 SFC(방법 B): t_R 3.60분, >95% ee 및 de.

[0242]

실시예 3B: 1-((2S,5R)-2-메틸-5-(4-((3-(1-메틸-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)페닐)아미노)-6-(피라진-2-일)피리미딘-2-일)피페리딘-1-일)에탄-1-온(화합물 C)의 합성



[0243]

[0244]

2-프로판올(2mL) 중 1-((2S,5R)-5-(4-클로로-6-(피라진-2-일)피리미딘-2-일)-2-메틸피페리딘-1-일)에탄-1-온(중간체 3, 120mg, 0.36mmol)의 용액에 3-(1-메틸-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)아닐린(188mg, 1.08mmol) 및 염산(0.08mL, 1.08mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 70° C에서 16시간 동안 교반하고, 포화 수성 중탄산나트륨 용액에 붓고, 에틸 아세테이트로 2회 추출하였다. 결합한 유기 층들을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 농축시켜 황색 오일을 수득하였다. 그 오일을 역상 크로마토그래피(방법 B)에 의해 정제하고, 동결건조시켜 1-((2S,5R)-2-메틸-5-(4-((3-(1-메틸-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)페닐)아미노)-6-(피라진-2-일)피리미딘-2-일)피페리딘-1-일)에탄-1-온(화합물 C, 102mg, 60%)을 백색 고체로서 수득하였다. ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, 회전 이성질체들의 혼합물) δ 10.01 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 9.56 (dd, *J* = 11.0, 1.1 Hz, 1H), 8.80 (d, *J* = 1.5 Hz, 2H), 8.54 - 8.42 (m, 2H), 7.72 - 7.54 (m, 2H), 7.53 - 7.39 (m, 2H), 4.86 - 4.76 (m, 1H), 4.27 - 4.16 (m, 0.5H), 4.15 - 4.03 (m, 3.5H), 3.58 - 3.42 (m, 0.5H), 3.00 - 2.86 (m, 1H), 2.86 - 2.68 (m, 0.5H), 2.17 - 1.96 (m, 5H), 1.93 - 1.77 (m, 0.5H), 1.76 - 1.64 (m, 1.5H), 1.27 (d, *J* = 6.8 Hz, 1.5H), 1.13 (d, *J* = 7.0 Hz, 1.5H); LCMS (방법 D): t_R 3.31분, MS (ESI) 470.2 (M+H)⁺.

[0245]

실시예 4: 화합물 A, 화합물 C 및 CCS1477에 대한 화합물 00004 및 BROMOscanTM 결과와 복합체에서 인간 CREBBP의 브로모도메인의 결정 구조

[0246]

결정화

[0247]

실험 설정: 결정화에 사용된 구조체는 잔기 1081 내지 1197을 포함하였다. 화합물 00004와의 복합체에서 CREBBP의 결정(crystal)은 현직 증기-확산(hanging-drop vapour-diffusion) 설정을 사용하여 얻었다. 20.3mg/ml(10mM HEPES, 500mM NaCl, 5% 글리세롤, 0.5mM TCEP, pH 7.4)의 농도의 CREBBP를 4.3mM(3.0-배 물 과량)의 00004(DMSO 중 150mM)와 함께 1시간 동안 예비-인큐베이션하였다. 그런 다음 단백질 용액 1μl를 저장 용액(0.1M MgCl₂, 0.1M MES/NaOH pH 6.3, 18%(w/v) PEG 6000 및 10%(v/v) 에틸렌 글리콜) 1μl와 혼합하고 0.4ml의 저장 용액으로 4° C에서 평형화했다. 양호한 회절 결정이 나타났고 4일에 걸쳐 완전한 크기로 성장하였다.

[0248]

데이터 수집

[0249]

마운팅 전에 결정화 액적에 10% 글리세롤(최종 농도)을 첨가하여 결정을 동결-보호하였다. CREBBP/00004 결정의 완전한 1.6Å 데이터 세트를 다이아몬드 광원(Diamond Light Source, UK, 빔라인 i03)에서 수집하고, 데이터를 통합하고, 분석하고, autoPROC 파이프라인 내에서 XDS, Pointless 및 Aimless에 의해 스케일링하였다(표 1).

[0250] 표 1: 데이터 수집 통계

공간 그룹	P2 ₁
단위 세포 매개변수들 [Å]	a=70.4, b=58.6, c=73.2 $\alpha=90.0$, $\beta=115.4$, $\gamma=90.0$
해상도 [Å]	66.14-1.60 (1.63-1.60)
# 고유 반사	68872 (2664)
I/ $\sigma(I)$	14.9 (2.2)
완성도 [%]	97.2 (75.5)
다중도	3.3 (2.1)
R _{meas}	0.050 (0.460)

[0251]

[0252] 구조 결정 및 정제

[0253] 출발 모델로서 CREBBP의 이전에 결정된 구조를 사용하여 분자 대체를 수행하였다. REFMAC5에 의한 교대 수동 재구성 및 정제의 여러 라운드는 최종 모델을 생성하였다(표 2). 원자 변위 인자는 원자당 단일 등방성 B-인자로 모델링되었다.

[0254] 표 2: 정제 통계

해상도	35.00-1.60 (1.64-1.60)
R _{work}	0.151 (0.305)
R _{free}	0.190 (0.351)
완성도 [%]	97.2 (77.6)

[0255]

[0256] 결과: 본 발명자들은 1.6 Å 해상도로 회절되고 단백질-리간드 복합체의 3차원 구조를 결정하는 CREBBP/00004의 결정을 생성하였다. CREBBP의 각 사슬 내의 화합물 결합 부위에서의 초기 모델의 Fo-Fc 생략 지도 내의 투명 전자 밀도는 전체 화합물의 결합을 밝혀내고(도 7), 이의 명확한 배치를 허용하였다. 추가적으로, 구조는 또한 화합물 00004(피페리딘 모이어티 상의 2S, 5R)의 절대 입체화학을 확인해준다.

[0257] 브로모KdMAX-분석

[0258] 브로모KdMAX를 디스커버엑스(DiscoverX)에서 수행하였다. 이 분석법은 화합물이 특정 Kd(예를 들어, 100 nM 이하)를 갖는 p300의 브로모도메인 및/또는 CBP의 브로모도메인에 결합하는지 여부를 결정하기 위해 사용될 수 있다.

[0259] 분석 원리는 다음과 같다: BROMOscan™은 소분자 브로모도메인 억제제를 식별하기 위한 신규 산업 선도 플랫폼이다. 입증된 KINOMEScan™ 기술에 기초하여, BROMOscan™은 시험 화합물들과 브로모도메인들 사이의 상호작용을 정량적으로 측정하기 위해 독점적 리간드 결합 부위-지향 경쟁 분석을 이용한다. 이 강력하고 신뢰성 있는 분석 패널은 고처리량 스크리닝에 적합하고, 강력하고 선별적인 소분자 브로모도메인 억제제의 식별 및 최적화를 용이하게 하기 위해 정량적 리간드 결합 데이터를 전달한다. BROMOscan™ 분석은 미량 브로모도메인 농도(<0.1nM)를 포함하고, 이에 의해 광범위한 친화도(<0.1nM 내지 >10uM)에 걸쳐 진정한 열역학적 억제제 Kd 값을 보고한다.

[0260] 분석은 다음과 같이 수행되었다: 브로모도메인 분석을 위해, 브로모도메인을 나타내는 T7 파지 균주를 BL21 균주로부터 유래된 대장균 숙주 내의 24-웰 블록에서 병렬로 성장시켰다. 대장균을 대수기(log-phase)로 성장시키고, 동결된 스톱으로부터의 T7 파지로 감염시키고(감염의 다중도 = 0.4), 용해(90-150분)까지 진탕하면서 32 ° C에서 인큐베이션하였다. 용해물을 원심분리하고(5,000 x g), 여과하여(0.2 μm), 세포 잔해를 제거하였다. 스트렙타비딘-코팅된 자성 비드를 30분 동안 실온에서 비오틀화 소분자 또는 아세틸화 펩타이드 리간드로 처리하여 브로모도메인 분석을 위한 친화성 수지를 생성하였다. 리간드화된 비드를 과량의 비오틀화로 차단하고, 차단 완충제(SeaBlock (Pierce), 1% BSA, 0.05% Tween 20, 1mM DTT)로 세척하여 비결합 리간드를 제거하고, 비특이적 파지 결합을 감소시켰다. 결합 반응들은 1× 결합 완충제(17% SeaBlock, 0.33× PBS, 0.04% Tween 20, 0.02% BSA, 0.004% 아지드화 나트륨, 7.4mM DTT) 중 브로모도메인들, 리간드화된 친화성 비드들, 및 시험 화합물들(즉, 화합물 A, 화합물 C 또는 CCS1477)을 조합함으로써 집합시켰다. 시험 화합물들을 100% DMSO 중에서 1000X 스톱으로서 조제하였다. Kd들은 하나의 DMSO 대조군 포인트와 함께 11-포인트 3배 화합물 희석 시리즈를 사용하여 결정되었다. Kd 측정을 위한 모든 화합물은 100% DMSO 중에서 음향 전달(비점축 분배)에 의해 분배된다. 이어서, 화합물을 분석 내로 직접 희석하여 DMSO의 최종 농도가 0.09%가 되게 하였다. 모든 반응은 폴립

로필렌 384-웰 플레이트들에서 수행되었다. 각각의 최종 부피는 0.02ml였다. 분석 플레이트들을 실온에서 1시간 동안 진탕시키면서 인큐베이션하고, 친화성 비드들을 세척 완충제(1x PBS, 0.05% Tween 20)로 세척하였다. 이어서, 비드들을 용리 완충제(1x PBS, 0.05% Tween 20, 2 μ M 비-비오틴화 친화성 리간드) 중에 재현탁시키고, 실온에서 30분 동안 진탕시키면서 인큐베이션하였다. 용리액 중의 브로모도메인 농도를 qPCR에 의해 측정하였다.

결과는 하기와 같았다:

	화합물 A	화합물 C	CCS1477
DiscoverX Gene Symbol 유전자 기호	Kd [nM]	Kd [nM]	Kd [nM]
ATAD2A	>10000	>10000	>10000
ATAD2B	>10000	>10000	>10000
BAZ2A	>10000	>10000	>10000
BAZ2B	>10000	>10000	>10000
BRD1	>10000	>10000	>10000
BRD2(1)	>10000	3700	230
BRD2(1.2)	7600	4500	610
BRD2(2)	>10000	>10000	2100
BRD3(1)	>10000	3700	320
BRD3(1.2)	>10000	7300	1400
BRD3(2)	>10000	>10000	3900
BRD4(1)	>10000	2500	250
BRD4(1.2)	>10000	>10000	6900
BRD4(2)	>10000	>10000	5200
BRD4(전장, 짧은-이소)	7100	1200	440
BRD7	>10000	8000	5100
BRD8(1)	>10000	8400	>10000
BRD8(2)	>10000	>10000	>10000
BRD9	>10000	6300	790
BRDT(1)	>10000	3600	390
BRDT(1.2)	>10000	8500	2400
BRDT(2)	>10000	>10000	8900
BRPF1	>10000	7800	1400
BRPF3	>10000	>10000	>10000
CECR2	>10000	9800	>10000
CREBBP	29	3.2	0.47
EP300	12	2.1	0.26
FALZ	>10000	>10000	5500
GCN5L2	>10000	>10000	>10000
PBRM1(2)	>10000	>10000	>10000
PBRM1(5)	>10000	>10000	3100
PCAF	>10000	9400	>10000
SMARCA2	>10000	>10000	>10000
SMARCA4	>10000	>10000	>10000
TAF1(2)	>10000	230	7900
TAF1L(2)	>10000	1600	>10000
TRIM24(Bromo.)	>10000	7900	680
TRIM24(PHD,Bromo.)	>10000	>10000	1900
TRIM33(PHD,Bromo.)	>10000	>10000	>10000
WDR9(2)	>10000	4100	>10000

상응하는 데이터는 i) SGC-CBP30에 대해, 예를 들어 문헌 [Wu 등, NATURE COMMUNICATIONS (2019)10:1915 <https://doi.org/10.1038/s41467-09672-2>]의 보충 정보에서; ii) GNE-781에 대해, 예를 들어 문헌 [Romero 등, *J. Med. Chem.* 2017, 60, 9162-9183]에서; 및 iii) FT-6876에 대해, 예를 들어 문헌[AACR Annual Meeting 2020, Virtual Meeting II, June 22-24, 2020의 Poster #3079](“FT-6876, AR-양성 유방암에서 항종양 활성을 갖는 CBP/p300의 강력하고 선택적인 억제제”)에서 공개적으로 입수가능하다.

실시예 5

재료 및 방법

유전자 발현 분석:

250000 HCC827(ATCC; CRL 2868; EGFR 엑손 19 결실 E746-A750을 가짐) 세포들/웰 또는 200000 NCI-H1975(ATCC; CRL 5908; EGFR L858R 및 T790M) 세포들/웰을 10% FCS 및 2mM L-글루타민을 함유하는 RPMI 배지에서 약물 치료 하루 전에 6-웰 디쉬들(Greiner Bio-One, 7657160)에 시딩하였다. 이어서, 세포들을 1 μ M 화합물 A(화합물 A는 또한 본원에서 화합물 00004로도 지칭됨), CCS1477(Chemgood; C1505), A-485(Lucerna-Chem; HY-107455) 또는 ICG-001(Selleckchem, S2662)이 있거나 없이, DMSO, EGFR 억제제(HCC827 제피티닙 [100nM 최종, LC

Laboratories; G-4408]; NCI-H1975 오시머티닙 [20nM 최종, LC Laboratories; 0-7200]에 대한 것임)로 24시간 동안 처리하였다. 후속적으로, 세포들을 2ml PBS로 3회 세척하고, 300 µl 용해 완충제(RA1 + 1% TCEP [Sigma 646547]) 중에 용해시켰다. RNA를 RNA 추출을 위한 진공(740698.5)에 대해 Macherey-Nagel NucleoSpin 8 RNA 키트 프로토콜에 따라 추출하고, RNA를 H2O 중에서 용리시켰다. 0.5 - 2 µg RNA를 Thermo Scientific 고품량 cDNA 역전사 키트(4368813)를 사용하여 역전사시켰다. 이어서, 동일한 양의 cDNA를 384 웰 포맷의 Kapa SYBR 신속 키트(KK4611)를 사용하여 Roche Light Cycler 480에서 qPCR 분석에 적용하였다. 유전자들의 유전자 발현을 관심 유전자의 CT로부터 하우스키핑 유전자 CT-값들(b-액틴)을 감산하고, 관심 샘플로부터의 DMSO 대조군 값을 빼서 $\Delta \Delta CT$ 를 계산하여, 최종적으로 처리된 대 대조군 처리된 샘플의 배수 변화 차이를 계산함으로써 평가하였다.

[0268]

[0269] 프라이머:

[0270] ACTB (b-액틴): fwd 5` GCC CCAGCTCACCATGGAT 3` (서열 번호: 1), rev 5` TGGGCTCGTCGCCACATA 3` (서열 번호: 2);

[0271] ALPP: fwd 5` AGAAAGCAGGAAGTCAGTGG 3` (서열 번호: 3), rev 5` CGAGTACCAGTTGCGGTTC 3` (서열 번호: 4);

[0272] HOPX: fwd 5` GACCATGTCGGCGGAGACC 3` (서열 번호: 5), rev 5` GCGCTGCTTAAACCATTCTGGG 3` (서열 번호: 6).

[0273] 브로모도메인- 및 HAT 도메인-결합 CBP/p300 억제제는 EGFR-돌연변이된 비소세포폐암 세포(NSCLC)에서 CBP와 β -카테닌 둔화된 EGFR 억제제-유도된 유전자 발현 사이의 상호작용을 방지하는 억제제는 아니다.

[0274] 상이한 작용 방식(즉, CBP/p300의 상이한 단백질 도메인들에 결합)을 갖는 다른 CBP/p300-억제제(CBP-I)와 병행하여 화합물 A에 대한 유전자 발현을 평가하였다. 화합물 A 및 CCS1477은 CBP/p300의 브로모도메인(BRD-I)에 결합하고, A-485는 CBP/p300의 촉매 히스톤 아세틸 전달효소(HAT) 활성(HAT-I)을 표적화하고, ICG-001은 β -카테닌(CBP/ β -Cat-I)과 CBP의 상호작용을 방해한다.

[0275] 도 1은 ALPP(알칼리 포스파타아제, 태반 유형; 도 1a 및 도 1c) 및 HOPX(호메오도메인-단독 단백질; 도 1b 및 도 1d)를 보여주는 조절된 유전자들을 보여준다. HCC827에서의 유전자 발현을 24시간 동안 20nM 제피티닙(EGFR 억제제)에 노출하거나 또는 20nM 제피티닙의 존재 하에 1 µM의 상이한 CBP-억제제들과 함께 노출시켰다(도 1a-b). (제피티닙-내성을 초래하는 EGFR T790M 돌연변이를 보유한) NCI-H1975에서의 유전자 발현을 24시간 동안 내지 20nM 오시머티닙(3세대 EGFR 억제제)에 노출하거나 또는 20nM 오시머티닙의 존재 하에 1 µM의 상이한 CBP/p300 억제제들과 함께 노출시켰다. 데이터는 qPCR을 사용한 2회의 독립적인 실험(평균 $\pm$ SEM)으로부터 얻는 것이다(도 1c-d).

[0276] 결과: EGFR-돌연변이된 NSCLC 세포주 둘 다는 두 개의 상이한 EGFR 억제제(1세대 제피티닙 및 3세대 오시머티닙)에 의한 치료에 대한 예시적인 유전자 ALPP 및 HOPX의 상향조절로 반응한다. 화합물 A 및 CCS1477(둘 모두 CBP/p300 브로모도메인 결합제) 및 A-485(CBP/p300의 촉매 억제)는 EGFR 억제제-유도된 유전자 발현을 역전시킨다. β -카테닌과 CBP의 상호작용을 방지하는 작용 화합물(ICG001)의 상이한 방식은 EGFR-유도된 유전자 발현을 둔화시키지 않는다.

[0277] 실시예 6

[0278] 재료 및 방법

[0279] 세포 계수:

[0280] 2000 HCC827(ATCC; CRL 2868) 세포들/웰을 10% FCS 및 2mM L-글루타민을 함유하는 RPMI 배지에서 약물 치료 하루 전에 96 웰 플레이트들(Greiner BioOne 655090)에 시딩하였다. 여러 플레이트를 시딩하였고, 세포 계수의 각 시점의 경우 하나의 플레이트를 고정하고 분석을 위해 염색하였다. 다음날 세포들을 표지된 화합물 및 농도로 [도 2는 화합물 A 및 B를 나타내고; 도 3은 화합물 A, CCS1477(Chemgood; C1505), SGC-CBP30(Selleckchem; S7256; CAS 등록 번호 1613695-14-9), A-485(Lucerna-Chem; HY-107455), 화합물 00071 및 화합물 00030을 나타낸다] DMSO 또는 제피티닙(도 2에서 20nM 또는 도 3에서 300nM)과 조합하여 치료하였다. 세포 배양을 각각의 플레이트에 대한 고정 및 분석 시간까지 계속하였다. 연장된 시점들에 대해, 배지 및 약물들을 매주 두 번 보충하였다.

[0281] 고정 및 영상화:

- [0282] 주어진 시간에 플레이트들을 PBS로 3회 세척하고, 세포들을 80 μ l 4% PFA로 10분 동안 RT에서 고정하였다. PBS를 사용한 3회 세척 단계 후, 세포들을 100 μ l PBS 중 10 μ g/ml Hoechst33342(Thermo Scientific H12492)로 2시간 동안 RT에서 암실에서 염색하였다. 3x PBS 세척-단계 후, Hoechst33342 신호를 동력 설비를 갖춘 X/Y 스테이지 및 5x 대물렌즈를 갖는 Zeiss Apotome를 사용하여 자동화된 영상화 모드에서 획득하였다. Hoechst33342 스팟(핵)의 영상 분석 및 결정을 ImageJ를 사용하여 수행하였다. 핵의 수를 그래프패드 프리즘(GraphPad Prism)을 사용하여 시간의 함수로서 도표화하였다.
- [0283] 세포 증식의 무표지 결정:
- [0284] 2000 HCC827(ATCC; CRL 2868) 세포들/웰 또는 2000 NCI-H1975(ATCC; CRL 5908)를 10% FCS 및 2mM L-글루타민을 함유하는 RPMI 배지에서 약물 치료 하루 전에 96 웰 플레이트들(Greiner BioOne 655090)에 시딩하였다. 다음날 웰들을 CELIGO Imaging Cytometer(영상화 세포측정기) 상에서 명시야 영상화를 사용하여 무표지로 영상화하여 초기 세포 수를 결정하였다. 후속적으로, 세포들을 DMSO로 단일 약물들 또는 약물 조합물들로 치료하고, 명시야 모드(CELIGO 영상화 세포측정기)를 사용하여 여러 주에 걸쳐 규칙적으로 영상화하여 시간에 따라 각각의 웰에서 세포 증식을 추적하였다. 성장 배지 및 치료를 매주 두 번 보충하였다. HCC827에 대한 약물 및 농도: 300nM 제피티닙, 1 μ M 화합물 A 및 300nM 제피티닙 + 1 μ M 화합물 A. 약물 및 농도 NCI-H1975: 도면들에 표시된 바와 같이 50nM 오시머티닙(LC Laboratories; O-7200), 0.125, 0.5 또는 2 μ M CCS1477(Chemgood; C1505) 및 0.125, 0.5 또는 2 μ M 화합물 A 또는 조합물들. 명시야 모드에서 CELIGO 소프트웨어의 내장된 “직접 세포 계수” 분석 도구를 사용하여 세포 수를 결정하였다.
- [0285] *CBP/p300의 브로모도메인(화합물 A)에 결합하는 거울상 이성질체만이 농도-의존적 방식으로 EGFR 억제제-매개된 NSCLC 세포 증식의 억제를 강화시키며, 하지만 CBP/p300의 브로모도메인(화합물 B)에 결합하지 않는 거울상 이성질체는 그렇지 않다.*
- [0286] EGFR-돌연변이된 HCC827 세포의 세포 수를 시간 경과에 따라 모니터링하였다. 도 2a는 DMSO 단독(채워진 원)으로, 20nM EGFR 억제제 단독(제피티닙; 1세대 EGFR 억제제, 개방 원)으로, 또는 표시된 화합물 농도에서 CBP/p300의 브로모도메인에 결합하지 않는 CBP/p300 BRD 억제제 화합물 A(상단)의 활성 거울상 이성질체 또는 그의 거울상 이성질체 화합물 B(화합물 B는 또한 본원에서 화합물 00003으로 지칭됨)(하단)와 조합하여 치료한 세포들을 나타낸다. 도 2b HCC827 세포들을 EGFR 억제제의 부재 하에 화합물 A & B에 노출시켰다. 제시된 그래프들은 각각의 시점 및 조건 (평균 $\pm$ SD)에 대해 3회 반복한 하나의 실험으로부터 온 것이다.
- [0287]
- [0288] 결과: HCC827 세포 수는 초기에 20nM 제피티닙에 의한 치료 하에 감소하지만, 연속적인 제피티닙 노출 하에 재성장하기 시작한다. 재성장은 BRD-I 화합물 A를 사용하여 CBP/p300을 억제함으로써 조사 기간 동안 억제되지만 상응하는 비브로모도메인 결합 거울상 이성질체 화합물 B로는 억제되지 않는다. 흥미롭게도, 재성장을 방지하기 위한 병용 요법에서 BRD-I 효과는 단일 제제로서 그의 불활성에도 불구하고 발생한다.
- [0289] *EGFR 억제제 매개 HCC827 세포 증식 억제와 조합한 화합물 A 및 벤치마크 CBP/p300 억제제.*
- [0290] 도 3a 및 3b 및 3c 및 도 3d 및 도 3e는 EGFR-돌연변이된 NSCLC 세포주 HCC827의 세포 수를 핵 형광 염색을 사용하여 96-웰 플레이트들에서 측정된 시간[일 수]에 걸쳐 약물 치료들(그래프 범례에서 기호들)의 함수로서 보여 준다. 도 3a 및 3b 및 3c의 좌측 그래프: 화합물 A(도 3a), CCS1477(도 3b), SGC-CBP30(도 3c) 또는 A485를 사용한 세포의 단일 제제 치료. 도 3 a 및 b 및 c의 우측 그래프 및 도 3 c 및 d: 300nM 제피티닙의 존재 하에 화합물 A(도 3a) 및 CCS1477(CBP/p300 BRD-I)(도 3b) 및 화합물 SGC-CBP30(도 3c) 및 화합물 00071(도 3d) 및 화합물 00030(도 3e) 및 A485(CBP/p300 HAT-I)의 항-증식 활성. 제시된 곡선들은 한 가지 실험을 3회 하여 얻은 것이고(평균 $\pm$ SD), 유사한 결과가 유사한 실험들에서 반복적으로 획득되었다.
- [0291] 도 4a는 시간 경과[h]에 따른 HCC827 세포 수의 평가를 나타낸다. 화합물 A는 EGFR 억제제의 부재 하에 EGFR-돌연변이된 NSCLC 세포의 세포 증식에 영향을 미치지 않지만, EGFR 억제제와 조합될 경우 약물 내성의 발달을 방지한다(1 실시예 플레이트는 제피티닙에 대해 n=24개 웰을 나타내고, 제피티닙 + 화합물 A 치료에 대해 n=24개 웰을 나타내고, DMSO: n=6, 화합물 A: n=6, 평균 $\pm$ SD). 도 4b는 제피티닙 또는 제피티닙 + 화합물 A로 0 또는 22일 동안 치료한, 점 도표로 표시한 웰당 세포 수를 도시한다(A에서와 같이 2개 실험 플레이트로부터, 조건당 n=48개 웰). 도 4c는 도 4a에 따라 분석된, 2개의 플레이트(48개 웰/조건당)로부터 300nM 제피티닙 또는 300nM 제피티닙 + 1 μ M 화합물 A로 치료된 웰들의 폭포 도표를 도시한다. 각각의 웰에서 22일째의 세포 수의 증가는 약물 치료 전에(0일째) 각각의 웰의 초기 세포 수로부터 로그 배수 변화로서 계산되었다.

- [0292] 결과:
- [0293] 도 3a 및 3b 및 3c 및 3d 및 3e: HCC827 세포 수는 초기에 300nM 제피티닙에 의한 치료 후에 감소하지만, 연속적인 제피티닙 노출 하에 재성장하기 시작한다. 재성장은 다섯 개의 독립적인 BRD-I 또는 HAT-I를 사용하여 CBP/p300을 억제함으로써 조사 기간 동안 억제된다. 흥미롭게도, 재성장을 방지하기 위한 병용 요법에서 BRD-I 효과는 단일 제제로서 그의 불활성에도 불구하고 발생한다.
- [0294] 도 4a 및 4b 및 4c: 화합물 A는 그 자체로 세포 수에 대해 약한/무 효과를 갖는 반면, 300nM 제피티닙은 초기에 세포 증식을 완전히 차단한다. 그러나, 장기 배양에서, 세포는 제피티닙 단독으로 치료되는 경우에 재성장하는 반면, 화합물 A와 공동-치료는 조사 기간(>22일) 동안 재성장을 유의하게 지연시키거나 완전히 방지한다.
- [0295] EGFR 억제제 매개 NSCLC 세포 증식 억제 - NCI-H1975 - 와 조합한 화합물 A 및 벤치마크 CBP/p300 억제제.
- [0296] 도 5a는 DMSO, 50nM 오시머티닙, 2μM 화합물 A 또는 50nM 오시머티닙과 2.0, 0.5 또는 0.125μM 화합물 A의 조합물의 존재 하에 시간[h]의 함수로서 NCI-H1975 세포 수의 평가를 도시한다. 도 5b는 DMSO, 50nM 오시머티닙, 2μM CCS1477 또는 50nM 오시머티닙과 2.0, 0.5 또는 0.125μM CCS1477의 조합물의 존재 하에 NCI-H1975 세포 성장의 평가를 도시한다. (예시 그래프들은 그래프패드 프리즘(GraphPad Prism)에서 계산된 로지스틱 성장 곡선 맞춤(logistic growth curve fit)을 갖는 각각의 데이터 및 시점의 중복을 나타낸다).
- [0297] 결과: 도 5: CBP/p300 BRD-I 및 EGFR-I의 조합 효과는 추가의 EGFR-돌연변이된 NSCLC 세포주들 및 상이한 EGFR-I 화합물들에 대해 사실이다. 화합물 A 및 CCS1477은 그 자체로 세포 수에 대해 무/약한 효과를 갖는 반면, 50nM 오시머티닙은 초기에 세포 증식을 차단한다. 그러나, 장기간 세포는 50nM 오시머티닙의 존재 하에서도 느린 속도로 계속 성장하며, 이는 화합물 A 또는 CCS1477과의 공동-치료를 의해 용량-의존적으로 지연된다.
- [0298] 실시예 7
- [0299] 이종이식: 2백만개의 NCI-H1975 세포(ATCC; CRL 5908)를 NMRI-Nude 마우스들(Janvier)의 양쪽 옆구리에 주사하였다. 마우스들은 더 큰 종양이 약 200mm³의 부피에 도달했을 때 치료군에 분배했다. 마우스들을 매개물(30% PEG300/H2O; 202371 Sigma-Aldrich), 20mg/kg CCS1477(ChemieTek; CT-CCS1477), 2mg/kg 오시머티닙(0-7200 LC Laboratories) 또는 20mg/kg CCS1477과 조합한 2mg/kg 오시머티닙(사전-혼합된 DMSO 스톱)으로 매일 경구로 치료하였다. 종양 부피를 수동 캘리퍼를 사용하여 일주일에 두 번 내지 세 번 측정하였다. 종양 부피는 다음 공식: “더 큰 종양 직경 x 더 작은 종양 직경의 제곱을 2로 나눔”을 사용하여 계산하였다. 평균 종양 부피들의 선형 맞춤(linear fit)에 기초하여, 곡선들의 기울기를 회귀 분석(양측검정)에 의해 비교하였다. 오시머티닙과 오시머티닙/CCS1477 군 사이에 유의한 차이가 검출되었다. 매개물과 CCS1477 단일 제제 치료 사이에는 유의한 차이를 관찰할 수 없었다.
- [0300] 시간 t에서의 종양 부피 변화를 그의 기준선과 비교함으로써 반응을 결정하였다: % 종양 부피 변화 = $\Delta \text{Volt} = 100\% \times ((V_t - V_{\text{initial}}) / V_{\text{initial}})$. 최상 반응은 $t \geq 10d$ 에 대한 ΔVolt 의 최소 값이었다. 각각의 시간 t에 대해, $t = 0$ 부터 t까지의 ΔVolt 의 평균을 또한 계산하였다. BestAvgResponse(최상평균반응)는 $t \geq 10d$ 에 대한 이 평균의 최소 값으로 정의된다. 이 메트릭은 반응의 속도, 강도 및 지속성의 조합을 단일 값으로 포착한다. 반응에 대한 기준(mRECIST)은 RECIST 기준 21로부터 적용되었고 하기와 같이 정의된다(이 순서로 적용됨): mCR, BestResponse < -95% 및 BestAvgResponse < -40%; mPR, BestResponse < -50% 및 BestAvgResponse < -20%; mSD, BestResponse < 35% 및 BestAvgResponse < 30%; mPD, 달리 분류되지 않음. 이들이 시험에서 14d를 완료하기 전에 이상 반응으로 인해 희생된 마우스들을 데이터 세트로부터 제거하였다.
- [0301] EGFRi 및 CBP/p300i의 조합물의 생체내 효능
- [0302] 도 6a는 EGFR-돌연변이된 NCI-H1975 이종이식의 평균 종양 부피(+SEM)를 시간 경과에 따라 도표화한 것을 보여준다. 네 개의 상이한 치료군이 도시된다: 매개물(30% PEG300/H2O; X표 원; n=4), 20mg/kg CCS1477(개방 원; n=4), 2mg/kg 오시머티닙(채워진 원; n=9) 또는 20mg/kg CCS1477과 조합된 2mg/kg 오시머티닙(반 채워진 원; n=10). 도 6b는 모든 4개의 치료군에 대한 최상의 평균 반응이 폭포 도표(회색의 매개물, 흰색의 20mg/kg CCS1477, 검은색의 2mg/kg 오시머티닙 및 정사각형 표시의 20mg/kg CCS1477과 조합된 2mg/kg 오시머티닙)로 도시된 것을 보여준다. 점선은 초기 종양 부피의 30%의 감소를 나타낸다.
- [0303] 결과: 도 6: CBP/p300의 브로모도메인 억제제들이 EGFR 억제제의 부재 하에 사용되는 경우, 이들은 EGFR-돌연변이된 NSCLC 이종이식 종양 성장에 대해 효과를 갖지 않는다. 그러나, 이들이 EGFR 억제제와 조합될 때, 요법에 대한 반응이 증가되고, 종양 크기는 요법의 과정에 걸쳐 보다 잘 제어된다. 놀랍게도, 브로모도메인-결합 억제

제(CCS1477)가 EGFR 억제제(오시머티닙)와 조합되는 경우, 브로모도메인-결합 억제제(CCS1477) 단독에 대한 반응의 부재에도 불구하고 요법에 대한 반응률이 증가한다.

[0304] 실시예 8

[0305] 재료 및 방법:

[0306] CBP 브로모도메인 결합 분석(TR-FRET):

[0307] DMSO 중 10mM의 화합물 용액들을 DMSO 중 25x 스톱 용액들로 DMSO에서 사전-희석하였다. 이어서, 이들을 분석 완충제에서 4x로 희석하였다. 분석 완충제 중 희석 시리즈를 DMSO 농도를 안정하게 유지하면서 수행하였다. 분석 완충제 중 5 μ l의 화합물을 분석 플레이트(분석 키트에 의해 제공됨) 내로 옮기고, TR-FRET 분석(Cayman chemicals; 600850)을 제조업체의 지침을 사용하여 수행하였다. 암실에서 실온으로 1시간 인큐베이션한 후, 분석 플레이트들을 TR-FRET 모드(상부 판독; 여기(excitation) 340nm 대역폭 20nm; 방출 620nm 대역폭 7nm; 제1 웰에 대해 최적 결정된 이득, 플래쉬의 수: 5; 플래쉬 주파수 100Hz; 적분 시간: 500 μ s, 지체 시간: 100 μ s, 실온)을 사용하여 Tecan M1000 플레이트 판독기에서 판독하였다. TR-FRET 비를 670nm 방출을 620nm 방출로 나눔으로써 계산하였다. EC50의 계산을 정규화된 값들(DMSO = 1) 및 양성 대조군(0)에 대해 수행하였다. 값들을 로그 변환하고, 가변 기울기(4개 매개변수)를 이용한 비선형 회귀를 사용하여 값들을 용량-반응 곡선에 맞추어 EC50 값들을 평가하였다(하기 표 3 참조).

[0308] 표 3:

[0309] 범례 EC50: A* < 0.2 μ M < A < 1 μ M < B < 10 μ M < C

화합물 #	EC50
00003	C
00004	A*
00030	A
00071	A*

[0310]

[0311] EC50 > 10 μ M인 화합물 00003이 본원에 정의된 바와 같은 CBP/p300 브로모도메인 억제제에 반응하지 않는다는 것이 TR-FRET 데이터로부터 명백하다.

[0312] 실시예 9

[0313] 재료 및 방법

[0314] 세포 증식의 무표지 결정:

[0315] 2000 HCC4006(ATCC; CRL2871; EGFR 엑손 19 결실 L747 내지 E749를 가짐)을 10% FCS 및 2mM L-글루타민을 함유하는 RPMI 배지에서 약물 치료 하루 전에 96 웰 플레이트들(Greiner BioOne 655090)에 시딩하였다. 다음날 웰들을 CELIGO ImageCytometer(영상화 세포측정기) 상에서 명시야 영상화를 사용하여 무표지로 영상화하여 초기 세포 수를 결정하였다. 후속적으로, 세포들을 DMSO로 단일 약물들 또는 약물 조합물들로 치료하고, 명시야 모드(CELIGO 영상화 세포측정기)를 사용하여 여러 주에 걸쳐 규칙적으로 영상화하여 시간에 따라 각각의 웰에서 세포 증식을 추적하였다. 성장 배지 및 치료를 매주 두 번 보충하였다. HCC4006에 대한 약물 및 농도: 300nM 제피티닙(LC Laboratories; G-4408), 1 μ M 화합물 A 및 300nM 제피티닙 + 1 μ M 화합물 A. 명시야 모드에서 CELIGO 소프트웨어의 내장된 “직접 세포 계수” 분석 도구를 사용하여 세포 수를 결정하였다.

[0316] 도 8a는 시간 경과[일 수]에 따른 HCC4006 세포 수의 평가를 나타낸다. 화합물 A는 EGFR 억제제의 부재 하에 EGFR-돌연변이된 NSCLC 세포의 세포 증식에 영향을 미치지 않지만, EGFR 억제제와 조합될 경우 약물 내성의 발달을 방지한다(DMSO: n=6, 화합물 A: n=6, 제피티닙: n=24, 제피티닙 + 화합물 A: n= 24, 평균 $\pm$ SD). 도 8b는 제피티닙 또는 제피티닙 + 화합물 A로 0 또는 20일 동안 치료한, 점 도표로 표시한 웰당 세포 수를 도시한다(A에서와 같은 실험으로부터, 조건당 24개 웰, x-축 표지에서의 “+”는 제피티닙 + 화합물 A를 나타냄). 도 8c는 도 4a에 따라 분석된, 300nM 제피티닙 또는 300nM 제피티닙 + 1 μ M 화합물 A(24개 웰/조건당)로 치료된 웰들의 폭포 도표를 도시한다. 각각의 웰에서 20일째의 세포 수의 증가는 약물 치료 전에(0일째) 각각의 웰의 초기 세포 수로부터 로그 배수 변화로서 계산되었다.

[0317] 결과: 도 8a 및 8b 및 8c: 화합물 A는 그 자체로 HCC4006 세포 수에 대해 무/기껏해야 매우 약한 효과를 갖는

반면, 300nM 제피티닙은 초기에 세포 증식을 완전히 차단한다. 그러나, 장기 배양에서, HCC4006 세포는 제피티닙 단독으로 치료되는 경우에 재성장하는 반면, 화합물 A와 공동-치료는 조사 기간(>20일) 동안 재성장을 완전히 방지한다.

[0318] 실시예 10

[0319] 재료 및 방법

[0320] 세포 증식의 무표지 결정:

[0321] 2000 HCC827(ATCC; CRL 2868)을 10% FCS 및 2mM L-글루타민을 함유하는 RPMI 배지에서 약물 치료 하루 전에 96 웰 플레이트들(Greiner BioOne 655090)에 시딩하였다. 다음날 웰들을 CELIGO Image Cytometer(영상화 세포측정기) 상에서 명시야 영상화를 사용하여 무표지로 영상화하여 초기 세포 수를 결정하였다. 후속적으로, 세포들을 단일 약물(오시머티닙, 및 CBP/p300 브로모도메인 억제제들 각각) 또는 100nM 오시머티닙 및 하나의 CBP/p300 브로모도메인 억제제의 약물 조합(약물 농도는 하기에 주어짐)과 함께 DMSO 중 어느 하나로 치료하였다. 플레이트들을 명시야 모드(CELIGO Imaging Cytometer)를 사용하여 여러 주 동안 정기적으로 이미징하여, 시간 경과에 따른 각각의 웰에서 세포 증식을 추적하였다. 성장 배지 및 치료를 매주 두 번 보충하였다. HCC827에 대한 약물 및 농도: 100nM 오시머티닙(EGFR-억제제, LC Laboratories; O-7200) 및 CBP/p300 브로모도메인 억제제: 1 μ M 화합물 A, 0.2 μ M 화합물 C, 0.2 μ M CCS1477(ChemiTek; CT-CCS1477), 1 μ M FT-6876(“CBP/P300-IN-8”, MedChemExpress; HY-136920) 및 0.2 μ M GNE-781(MedChemExpress; HY-108696). 명시야 모드에서 CELIGO 소프트웨어의 내장된 “직접 세포 계수” 분석 도구를 사용하여 세포 수를 결정하였다.

[0322] 도 9a 내지 도 9e는 21일에 걸친 HCC827 세포 수의 평가를 나타낸다. CBP/p300 브로모도메인 억제제들[(a) 화합물 A, (b) 화합물 C, (c) CCS1477, (d) FT-6876 및 (e) GNE-781]은 EGFR 억제제의 부재 하에 EGFR-돌연변이된 NSCLC 세포의 세포 증식에 영향을 미치지 않지만, 오시머티닙과 조합될 때 100nM 오시머티닙에 대한 약물 내성의 발달을 방지한다. 100nM 오시머티닙 치료에 대한 DMSO 곡선 및 시간 코스는 패널들 9a 내지 9e에서 동일하며, 이는 모든 조건이 병렬로 실행되었기 때문임을 주목한다(DMSO: 18개 웰, CBP/p300 브로모도메인 억제제: 각각 6개 웰, 오시머티닙: 12개 웰 및 오시머티닙 + CBP/p300 브로모도메인 억제제의 모든 조합: 12개 웰, 평균 $\pm$ SD).

[0323] 결과: 도 9a 내지 도 9e: CBP/p300 브로모도메인 억제제들은 그 자체로 HCC827 세포 수에 대해 무/기껏해야 약한 효과를 갖는 반면, 100nM 오시머티닙은 초기에 세포 증식을 완전히 차단한다. 그러나, 장기 배양에서, HCC827 세포는 오시머티닙 단독으로 치료되는 경우에 재성장하는 반면, 상이한 CBP/p300 브로모도메인 억제제들과 공동-치료는 21일의 조사 기간 동안 재성장을 완전히 방지한다.

[0324] 실시예 11

[0325] 재료 및 방법

[0326] 세포 증식의 무표지 결정:

[0327] 2000 HCC4006(ATCC; CRL2871)을 10% FCS 및 2mM L-글루타민을 함유하는 RPMI 배지에서 약물 치료 하루 전에 96 웰 플레이트들(Greiner BioOne 655090)에 시딩하였다. 다음날 웰들을 CELIGO Image Cytometer(영상화 세포측정기) 상에서 명시야 영상화를 사용하여 무표지로 영상화하여 초기 세포 수를 결정하였다. 후속적으로, 세포들을 단일 약물(오시머티닙, 및 CBP/p300 브로모도메인 억제제들 각각) 또는 100nM 오시머티닙 및 하나의 CBP/p300 브로모도메인 억제제의 약물 조합(약물 농도는 하기에 주어짐)과 함께 DMSO 중 어느 하나로 치료하였다. 플레이트들을 명시야 모드(CELIGO Imaging Cytometer)를 사용하여 여러 주 동안 정기적으로 이미징하여, 시간 경과에 따른 각각의 웰에서 세포 증식을 추적하였다. 성장 배지 및 치료를 매주 두 번 보충하였다. HCC827에 대한 약물 및 농도: 100nM 오시머티닙(EGFR-억제제, LC Laboratories; O-7200) 및 CBP/p300 브로모도메인 억제제: 1 μ M 화합물 A, 0.2 μ M 화합물 C, 0.2 μ M CCS1477(ChemiTek; CT-CCS1477), 1 μ M FT-6876(“CBP/P300-IN-8”, MedChemExpress; HY-136920) 및 0.2 μ M GNE-781(MedChemExpress; HY-108696). 명시야 모드에서 CELIGO 소프트웨어의 내장된 “직접 세포 계수” 분석 도구를 사용하여 세포 수를 결정하였다.

[0328] 도 10a 내지 도 10e는 21일에 걸친 HCC4006 세포 수의 평가를 나타낸다. CBP/p300 브로모도메인 억제제들[(a) 화합물 A, (b) 화합물 C, (c) CCS1477, (d) FT-6876 및 (e) GNE-781]은 EGFR 억제제의 부재 하에 EGFR-돌연변이된 NSCLC 세포의 세포 증식에 영향을 미치지 않지만, 오시머티닙과 조합될 때 100nM 오시머티닙에 대한 약물 내성의 발달을 방지한다. 100nM 오시머티닙 치료에 대한 DMSO 곡선 및 시간 코스는 패널들(a 내지 e)에서 동일

하며, 이는 모든 조건이 병렬로 실행되었기 때문임을 주목한다(DMSO: 18개 웰, CBP/p300 브로모도메인 억제제: 각각 6개 웰, 오시머티닙: 12개 웰 및 오시머티닙 + CBP/p300 브로모도메인 억제제의 모든 조합: 12개 웰, 평균 $\pm$ SD).

[0329] 결과: 도 10a 내지 도 10e: CBP/p300 브로모도메인 억제제들은 그 자체로 HCC4006 세포 수에 대해 무/기껏해야 약한 효과를 갖는 반면, 100nM 오시머티닙은 초기에 세포 증식을 완전히 차단한다. 그러나, 장기 배양에서, HCC4006 세포는 오시머티닙 단독으로 치료되는 경우에 재성장하는 반면, 상이한 CBP/p300 브로모도메인 억제제들과 공동-치료는 21일의 조사 기간 동안 재성장을 유의하게 지연시키거나 완전히 방지한다.

[0330] 실시예 12

[0331] 이 이중이식 실시예를 상기 실시예 7에서와 같이 라인을 따라 수행하였다. 따라서, 2백만개의 NCI-H1975 세포(ATCC; CRL 5908)를 NMRI-Nude 마우스들(Janvier)의 양쪽 옆구리에 주사하였다. 마우스들은 더 큰 종양이 약 200mm³의 부피에 도달했을 때 치료군에 분배했다. 마우스들을 매개물(pH 4 아세트이트 완충제 0.1M 중 0.8% (vol) DMSO (CAS [67-68-5]; 5% (vol) NMP (CAS [872-50-4]), 4.2% (vol) DMA (CAS [127-19-5]), 40% (wt/vol)의 90% (vol) 캡티솔(Captisol) (CAS [182410-00-0]) , 90mg/kg 화합물 C, 2mg/kg 오시머티닙(O-7200 LC Laboratories) 또는 2mg/kg 오시머티닙과 90mg/kg 화합물 C(사전혼합됨)와의 조합으로 매일 경구로 치료하였다. 종양 부피를 캘리퍼를 사용하여 일주일에 두 번 내지 세 번 측정하였다. 종양 부피는 다음 공식: “더 큰 종양 직경 x 더 작은 종양 직경의 제곱을 2로 나눔”을 사용하여 계산하였다. 평균 종양 부피들의 선형 맞춤(linear fit)에 기초하여, 곡선들의 기울기를 회귀 분석(양측검정)에 의해 비교하였다. 오시머티닙과 오시머티닙/화합물 C 군 사이에 유의한 차이가 검출되었다. 매개물과 화합물 C 단일 제제 치료 사이에는 유의한 차이를 관찰할 수 없었다.

[0332] 시간 t에서의 종양 부피 변화를 그의 기준선과 비교함으로써 반응을 결정하였다: % 종양 부피 변화 = $\Delta \text{Voll} = 100\% \times ((V_t - V_{\text{initial}}) / V_{\text{initial}})$. 최상 반응은 $t \geq 6d$ 에 대한 ΔVoll 의 최소 값이었다. 각각의 시간 t에 대해, $t = 0$ 부터 t까지의 ΔVoll 의 평균을 또한 계산하였다. BestAvgResponse(최상평균반응)는 $t \geq 10d$ 에 대한 이 평균의 최소 값으로 정의된다. 이 메트릭은 반응의 속도, 강도 및 지속성의 조합을 단일 값으로 포착한다. 반응에 대한 기준(mRECIST)은 RECIST 기준 21로부터 적용되었고 하기와 같이 정의된다(이 순서로 적용됨): mCR, BestResponse < -95% 및 BestAvgResponse < -40%; mPR, BestResponse < -50% 및 BestAvgResponse < -20%; mSD, BestResponse < 35% 및 BestAvgResponse < 30%; mPD, 달리 분류되지 않음. 이들이 시험에서 14d를 완료하기 전에 이상 반응으로 인해 희생된 마우스들을 데이터 세트로부터 제거하였다.

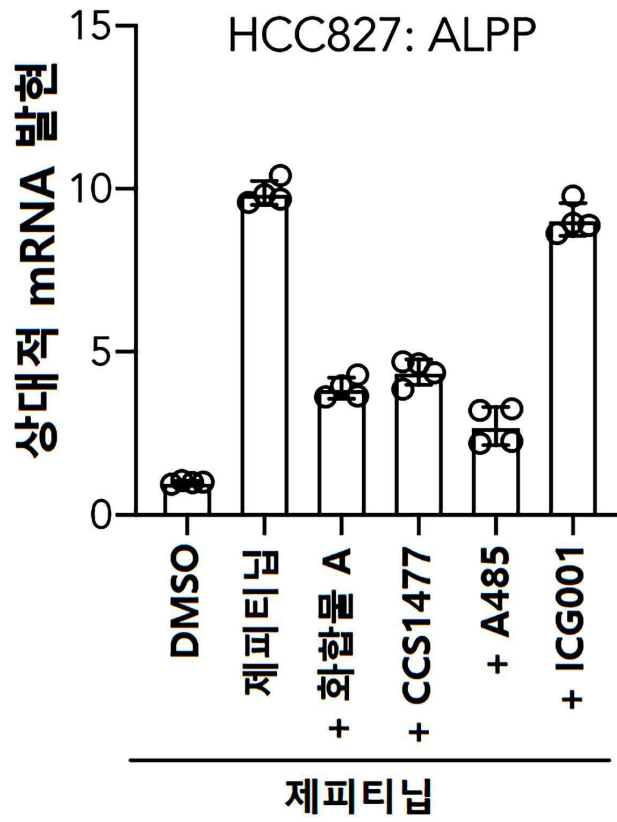
[0333] 도 11a는 EGFR-돌연변이된 NCI-H1975 이중이식의 평균 종양 부피(+SEM)를 시간 경과에 따라 도표화한 것을 보여준다. 네 개의 상이한 치료군이 도시된다: 매개물(X표 원; n=8), 90mg/kg 화합물 C(개방 원; n=6), 2mg/kg 오시머티닙(채워진 원; n=9) 또는 90mg/kg 화합물 C와 조합된 2mg/kg 오시머티닙(반 채워진 원; n=12). 치료의 시간 경과에 따라 평균 종양 부피의 선형 회귀 맞춤을 수행하고, 오시머티닙 및 화합물 C와 조합된 오시머티닙의 기울기를 비교하였다. 두 개의 군 사이의 기울기의 유의한 차이가 검출될 수 있었고, 이는 각각 오시머티닙군(+6.4)에서 양성이고 조합군(-7.4)에서 음성이었다. 도면 11b는 모든 4개의 치료군에 대한 최상의 평균 반응을 폭포 도표(회색의 매개물, 흰색의 90mg/kg 화합물 C, 검은색의 2mg/kg 오시머티닙 및 정사각형 표시의 90mg/kg 화합물 C와 조합된 2mg/kg 오시머티닙)로 도시한다. 점선은 초기 종양 부피의 30%의 감소를 나타낸다.

[0334] 결과: 본 결과들은 상기 실시예 7에서 수득된 결과들을 이번에는 CBP/p300 브로모도메인 억제제로서 CCS1477 대신에 화합물 C에 대해 확인해주며, 여기서 두 개의 억제제는 구조적으로 관련되지 않지만 동일한 기능을 갖는다. 따라서, CBP/p300 브로모도메인 억제제가 EGFR 억제제의 부재 하에 사용되는 경우, EGFR-돌연변이된 NSCLC 이중이식 종양 성장에 대한 효과가 없다. 그러나, CBP/p300 브로모도메인 억제제(실시예 7의 CCS1477, 본 실시예의 화합물 C)를 EGFR 억제제(여기서는 오시머티닙)와 조합하는 경우, 요법에 대한 반응이 유의하게 증가되고, 종양 크기가 요법의 과정에 걸쳐 훨씬 더 잘 제어된다.

도면

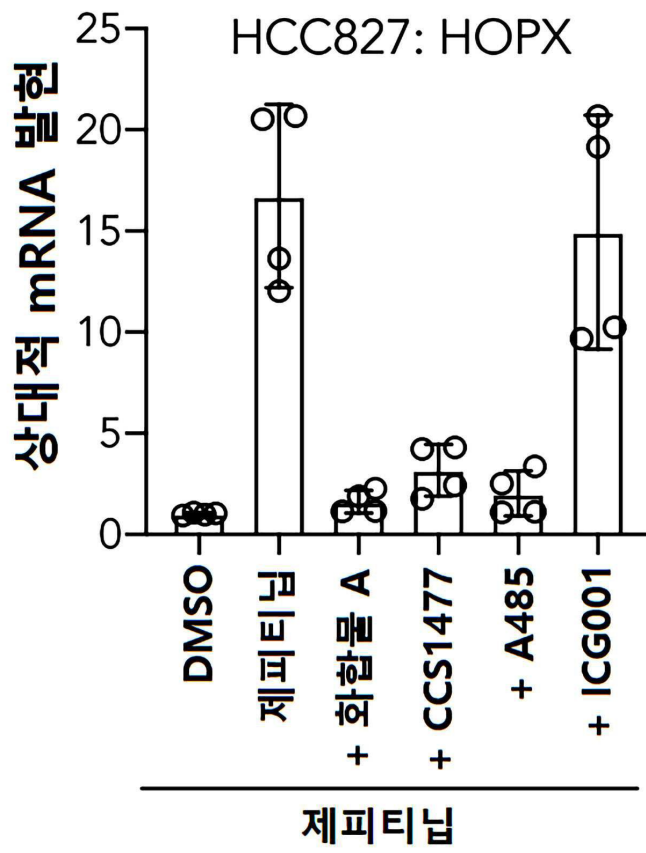
도면1a

A



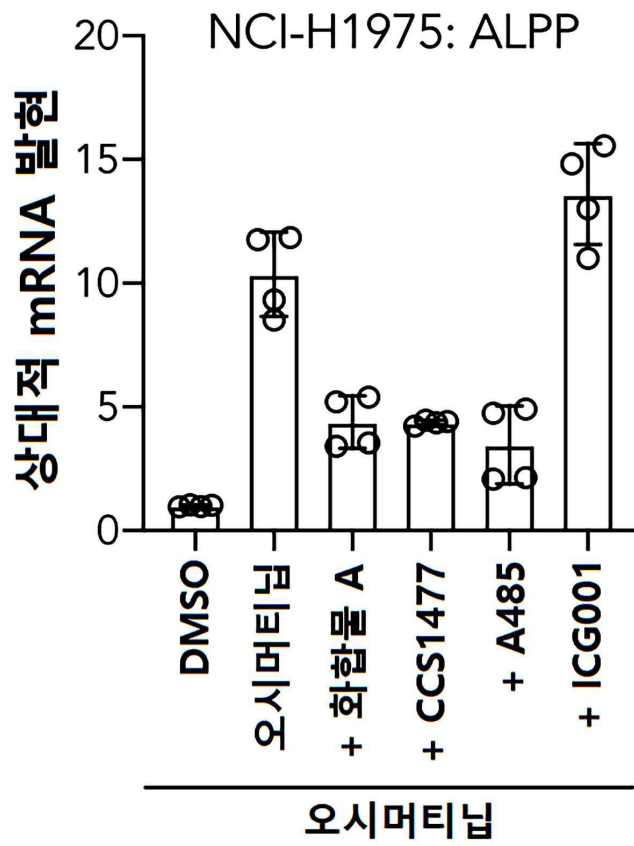
도면1b

B



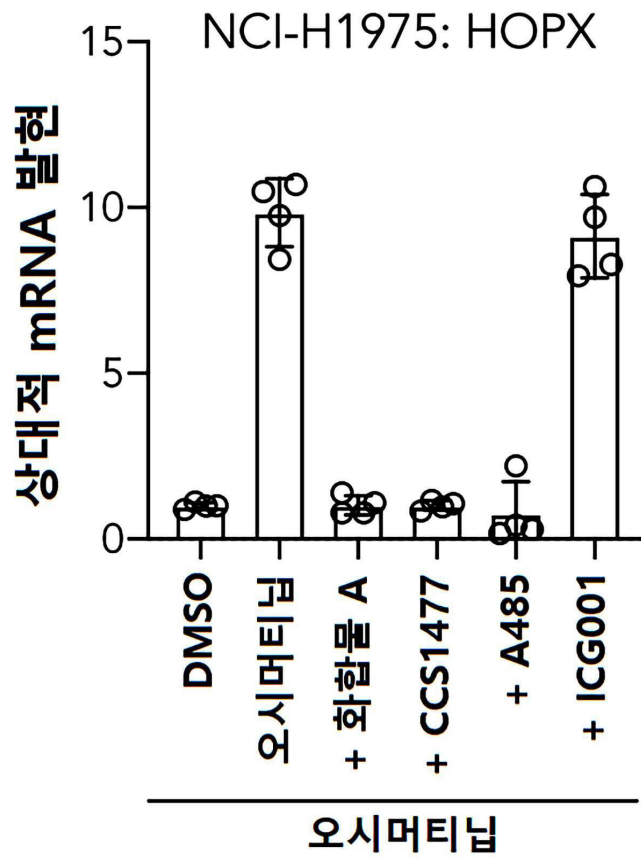
도면1c

C

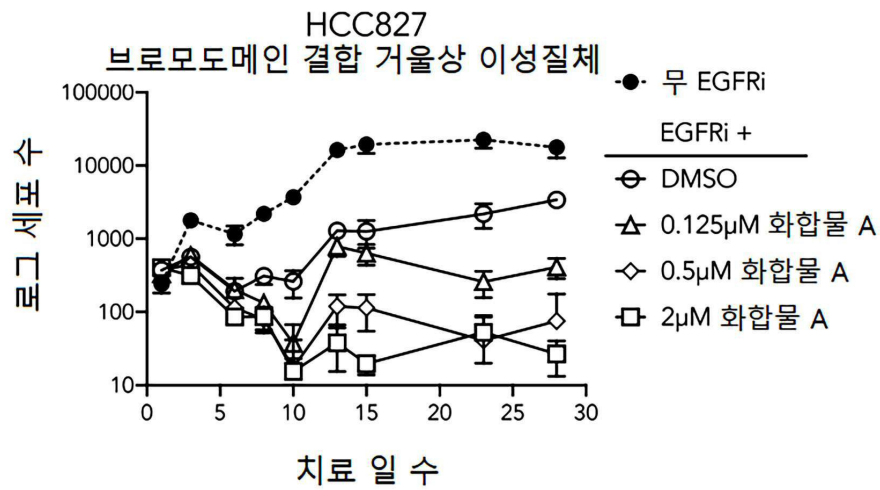
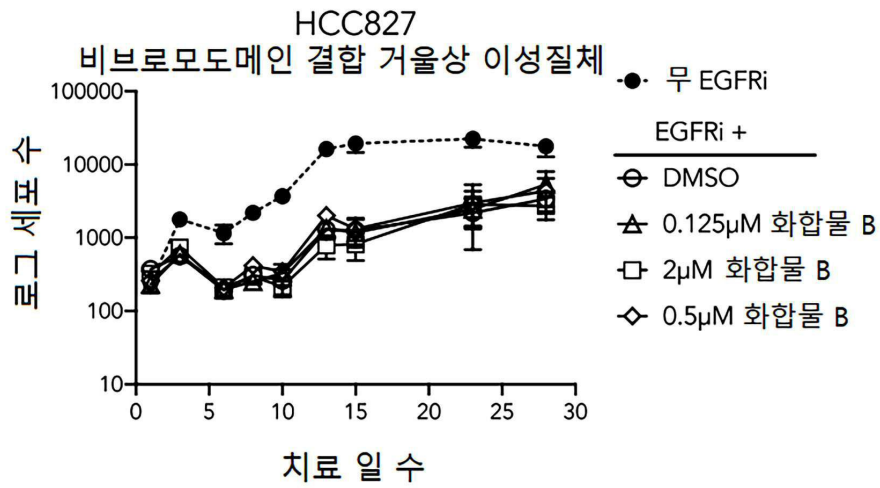


도면1d

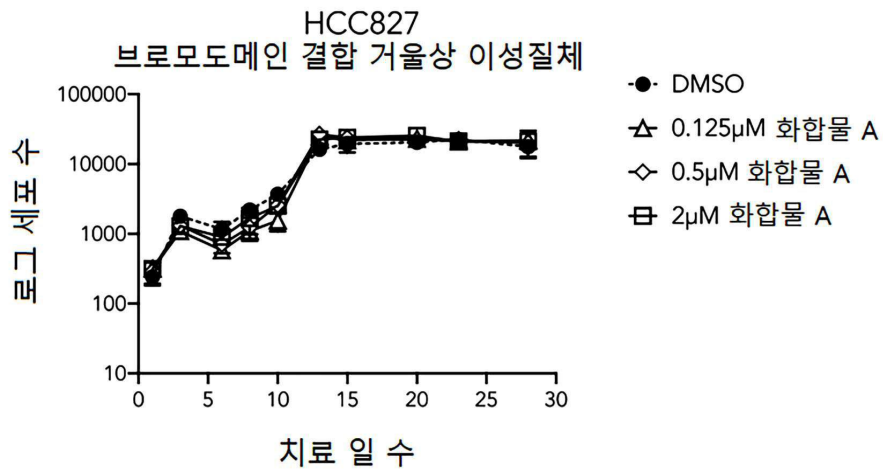
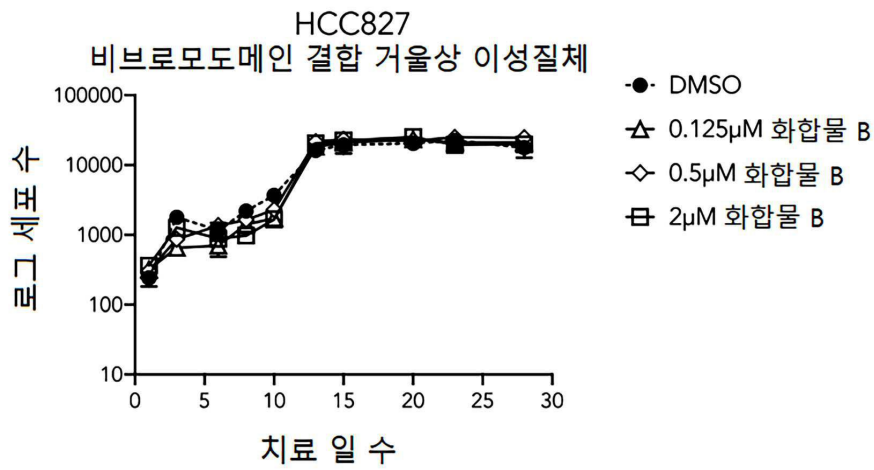
D



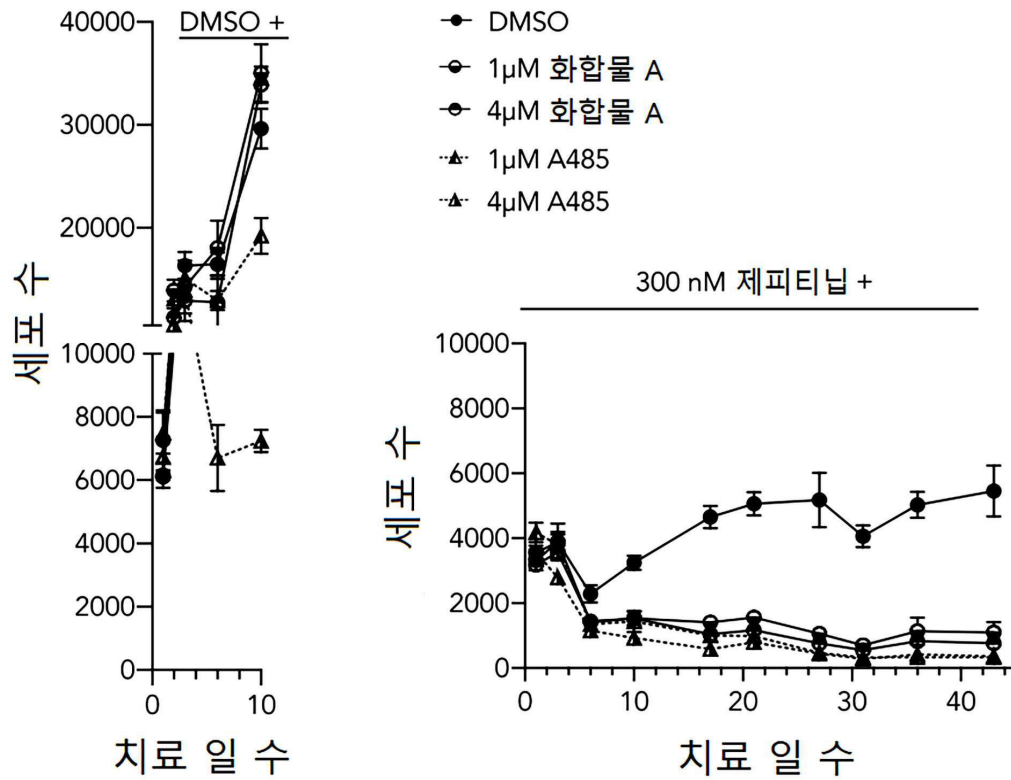
도면2a



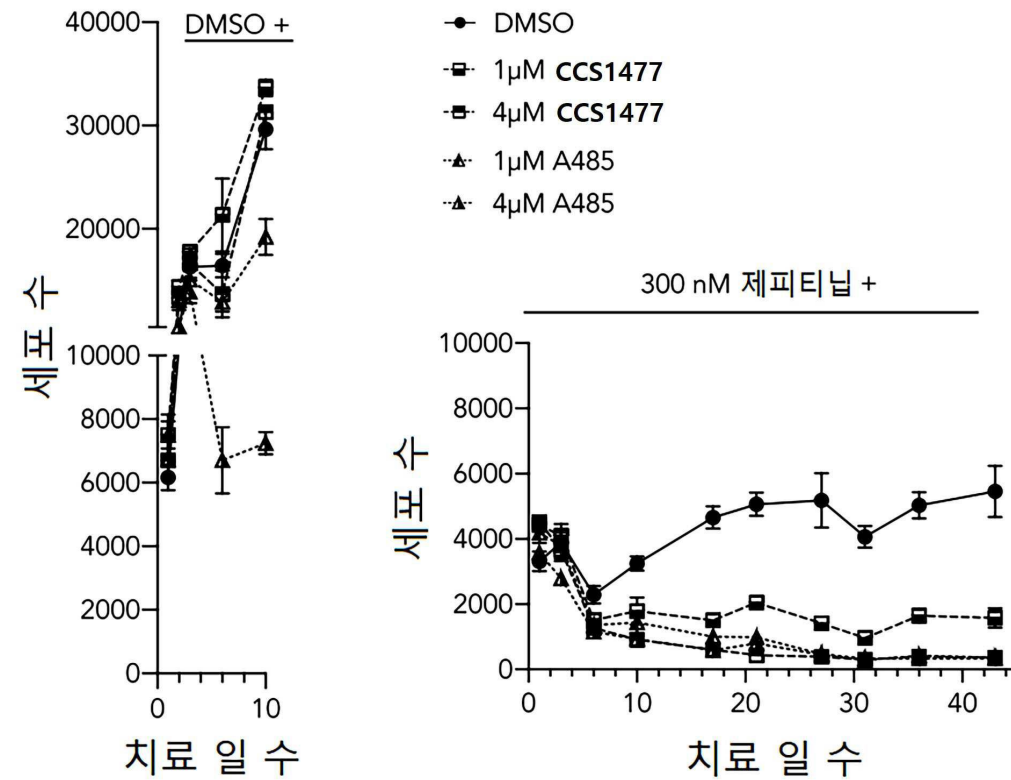
도면2b



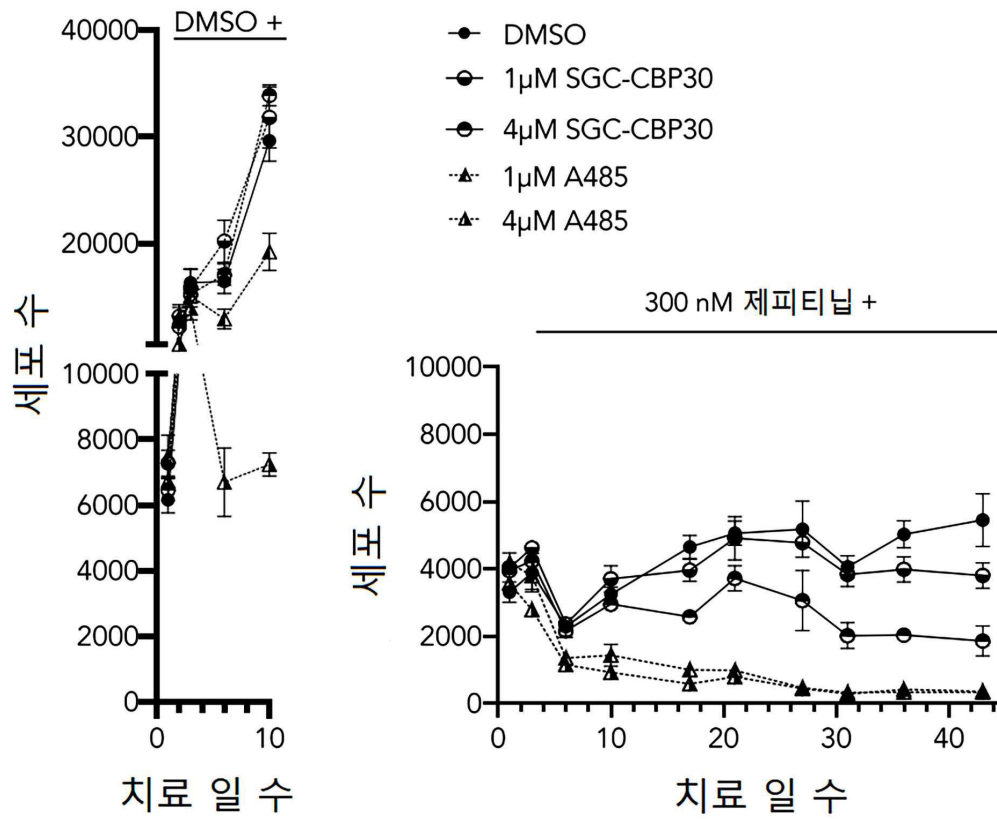
도면3a



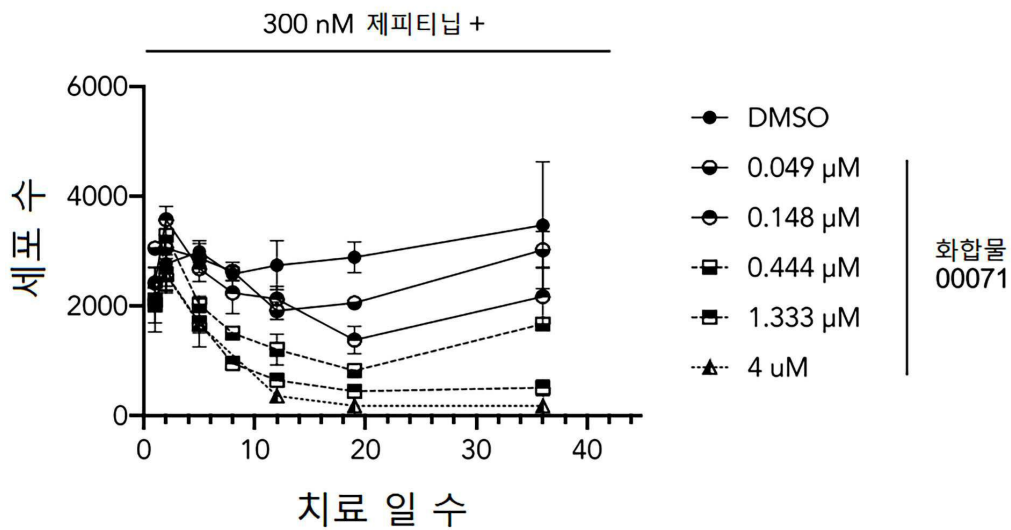
도면3b



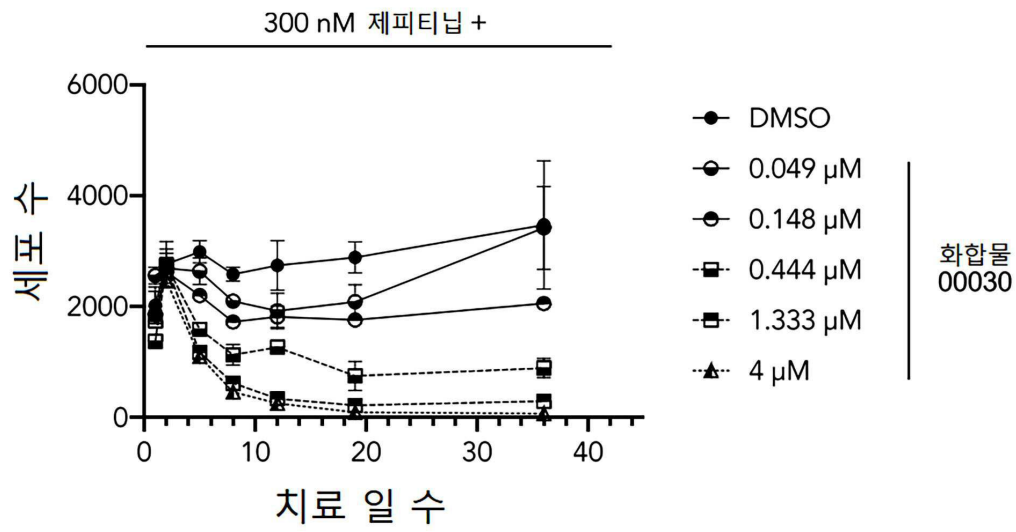
도면3c



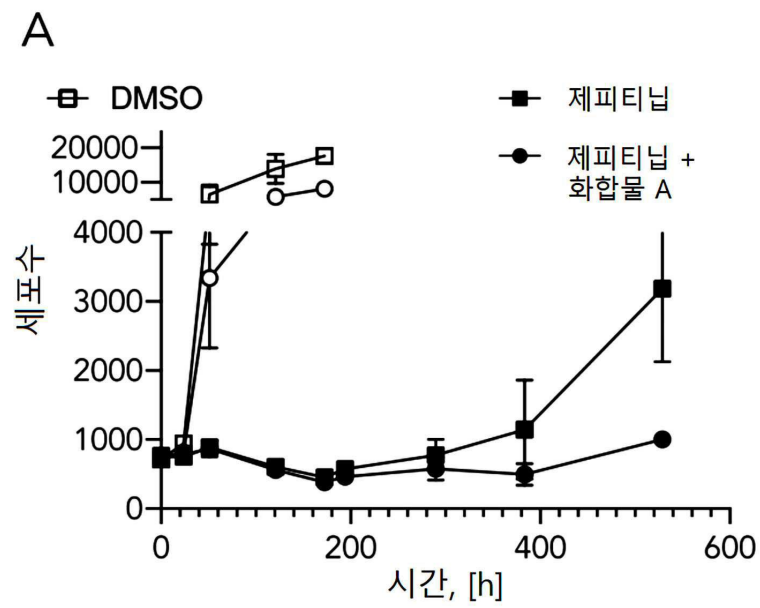
도면3d



도면3e

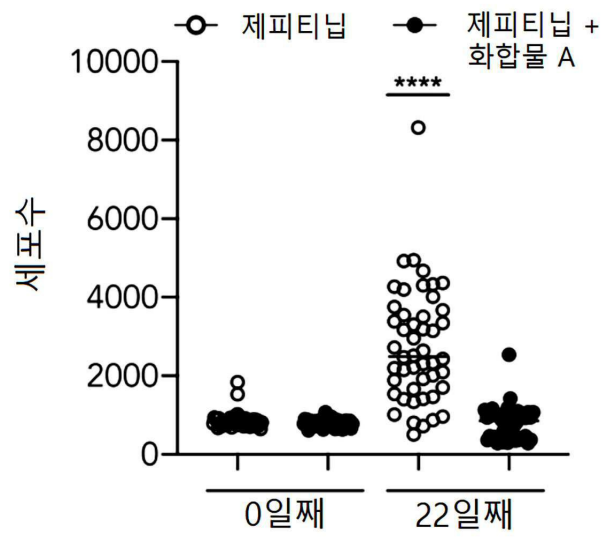


도면4a



도면4b

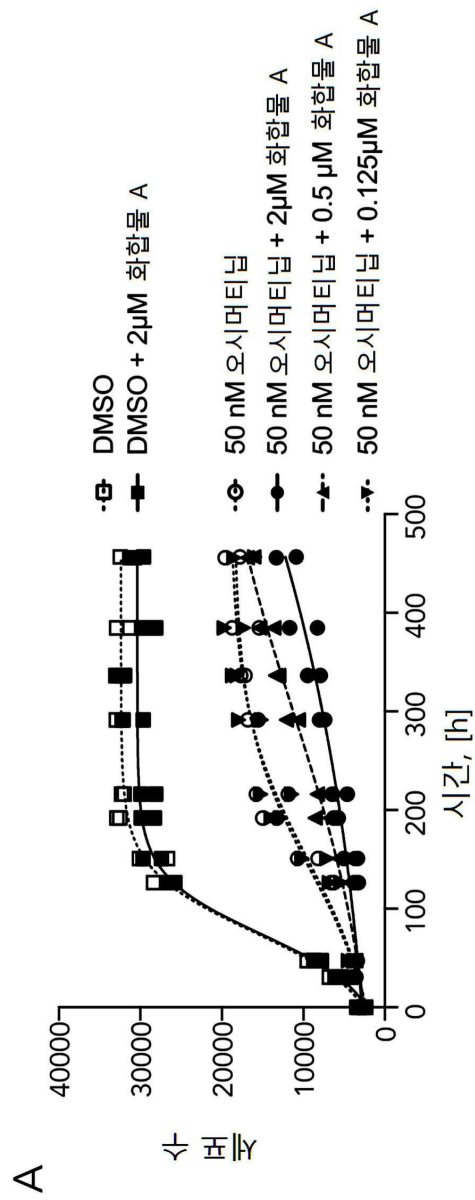
B



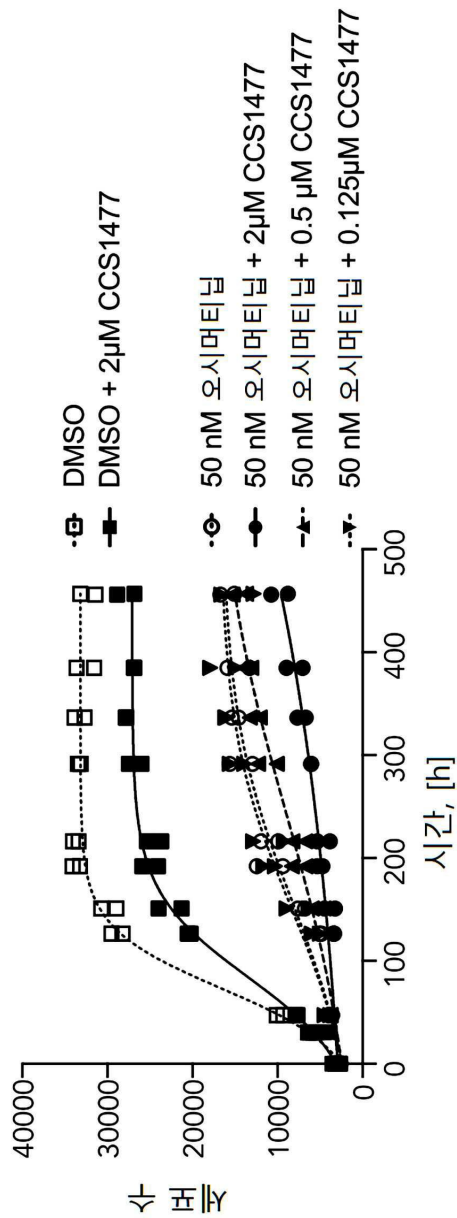
도면4c



도면5a

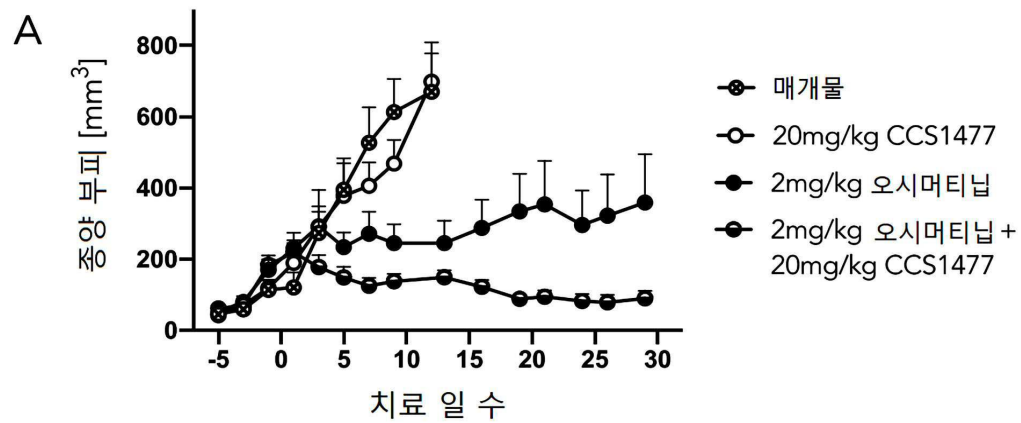


도면5b



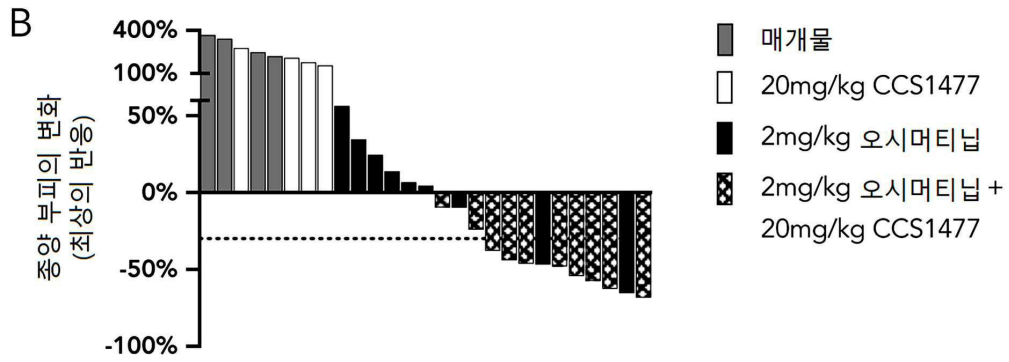
B

도면6a

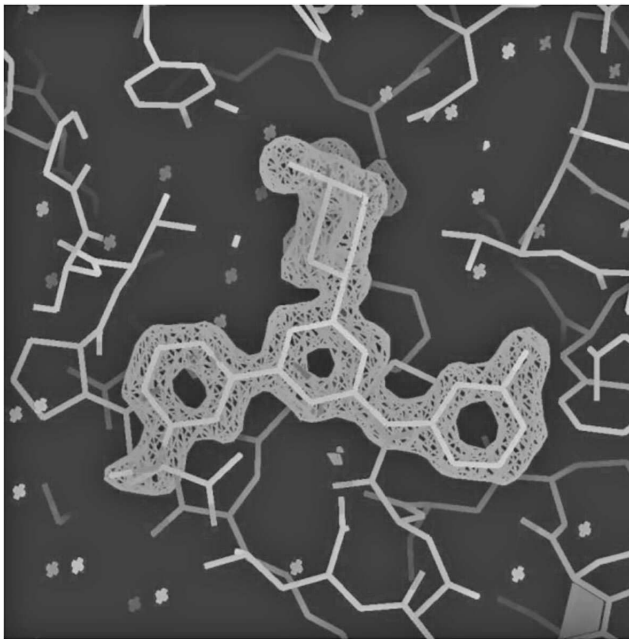


A

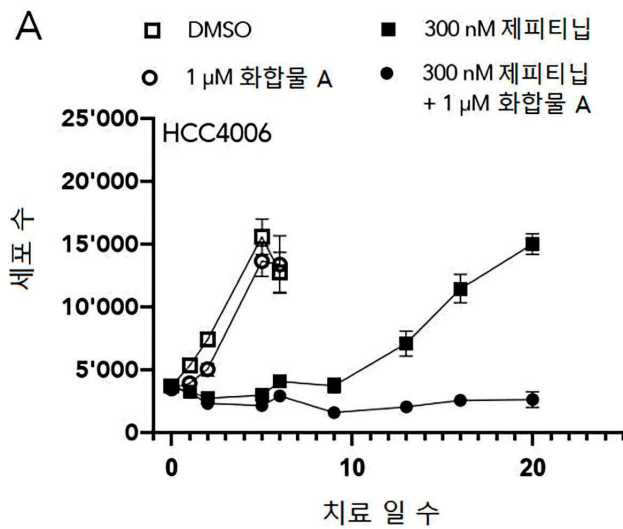
도면6b



도면7

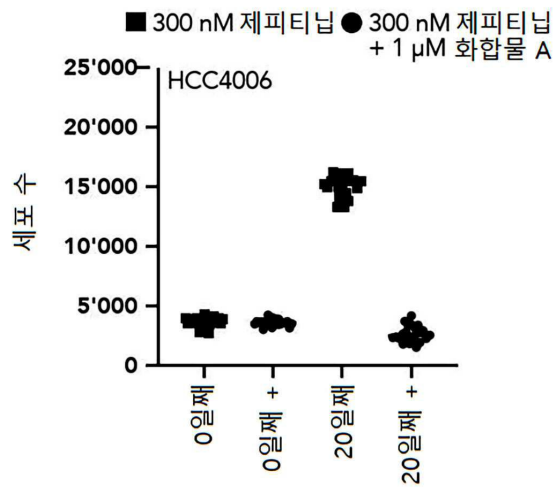


도면8a



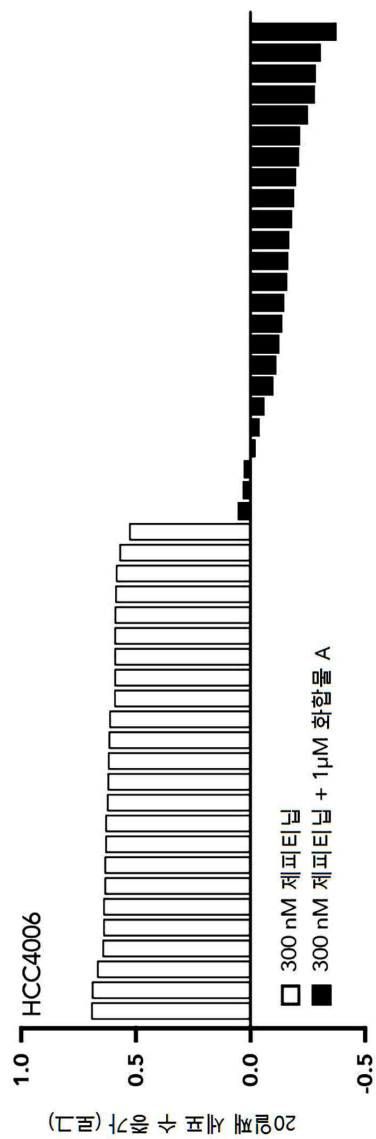
도면8b

B

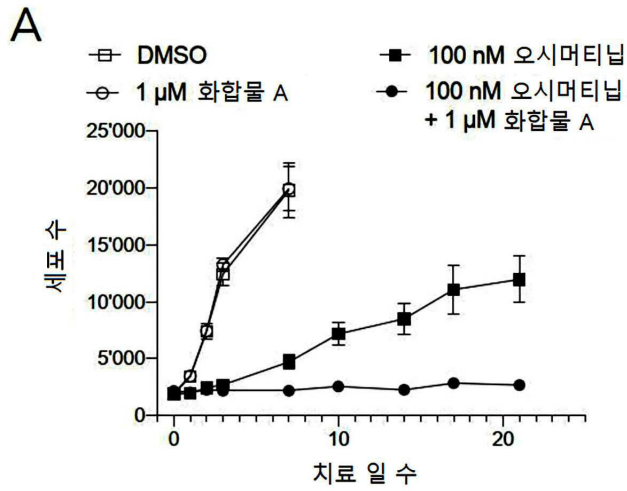


도면8c

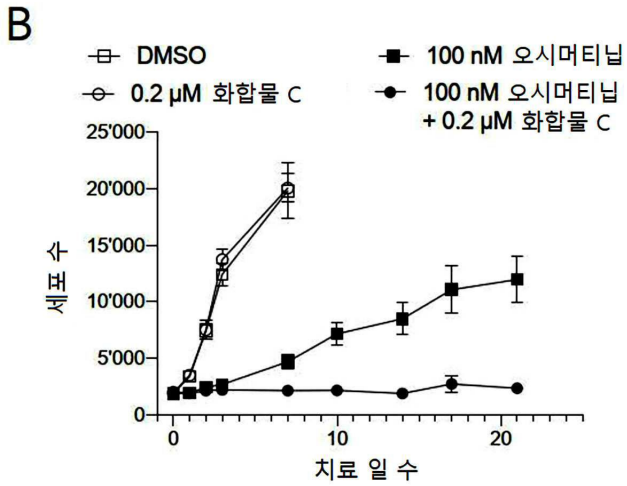
C



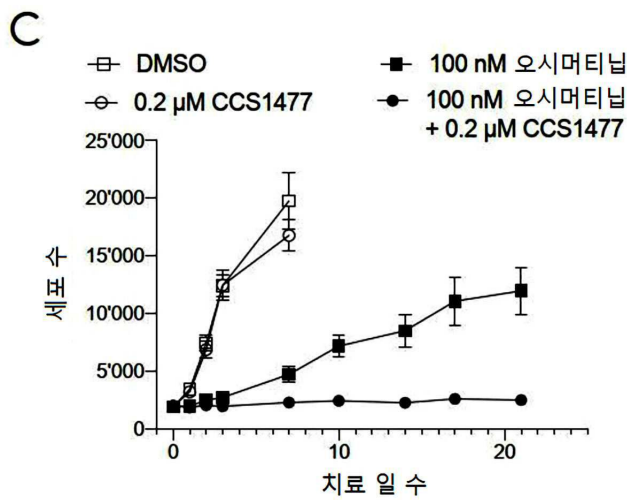
도면9a



도면9b

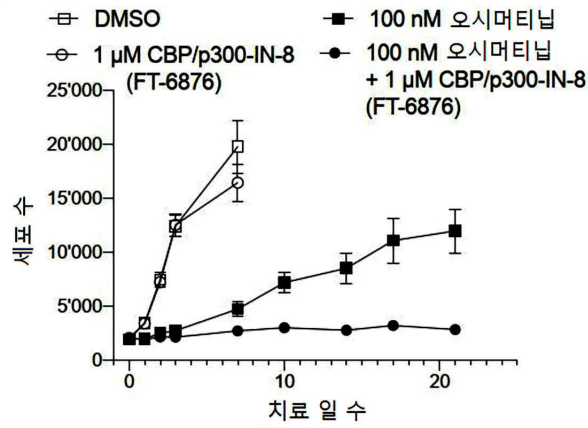


도면9c



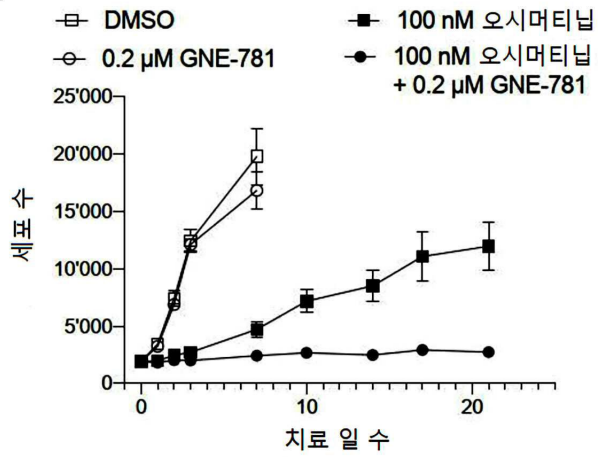
도면9d

D



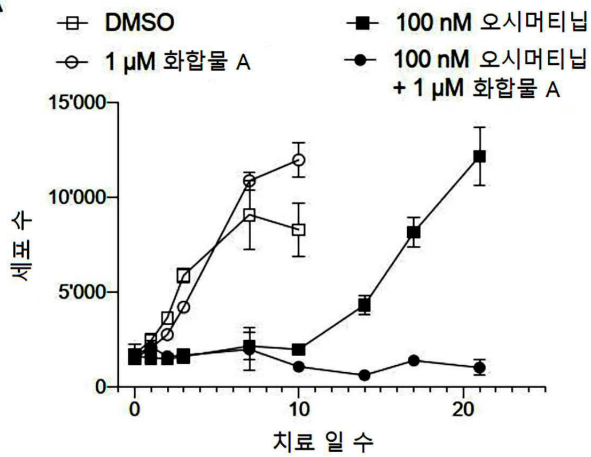
도면9e

E



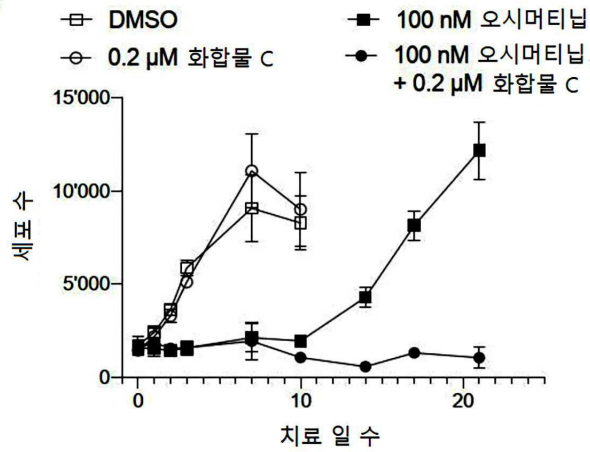
도면10a

A



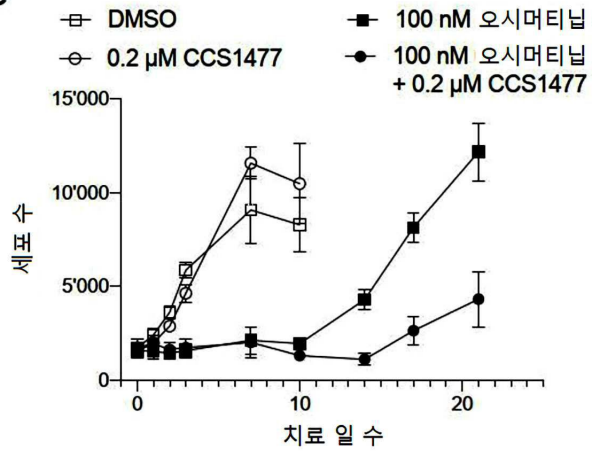
도면10b

B



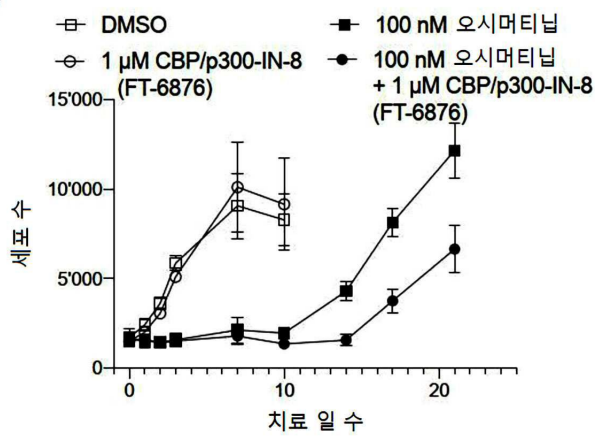
도면10c

C



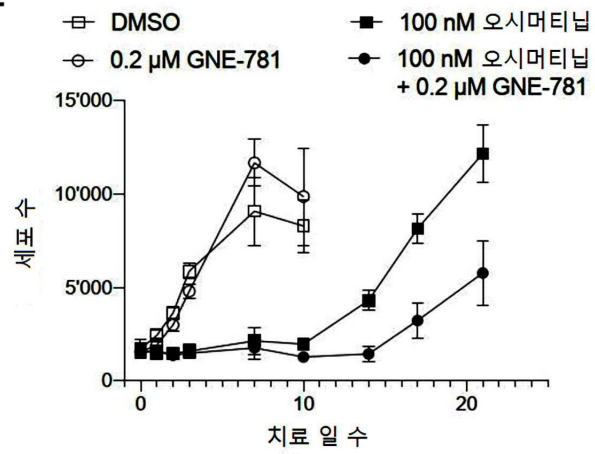
도면10d

D

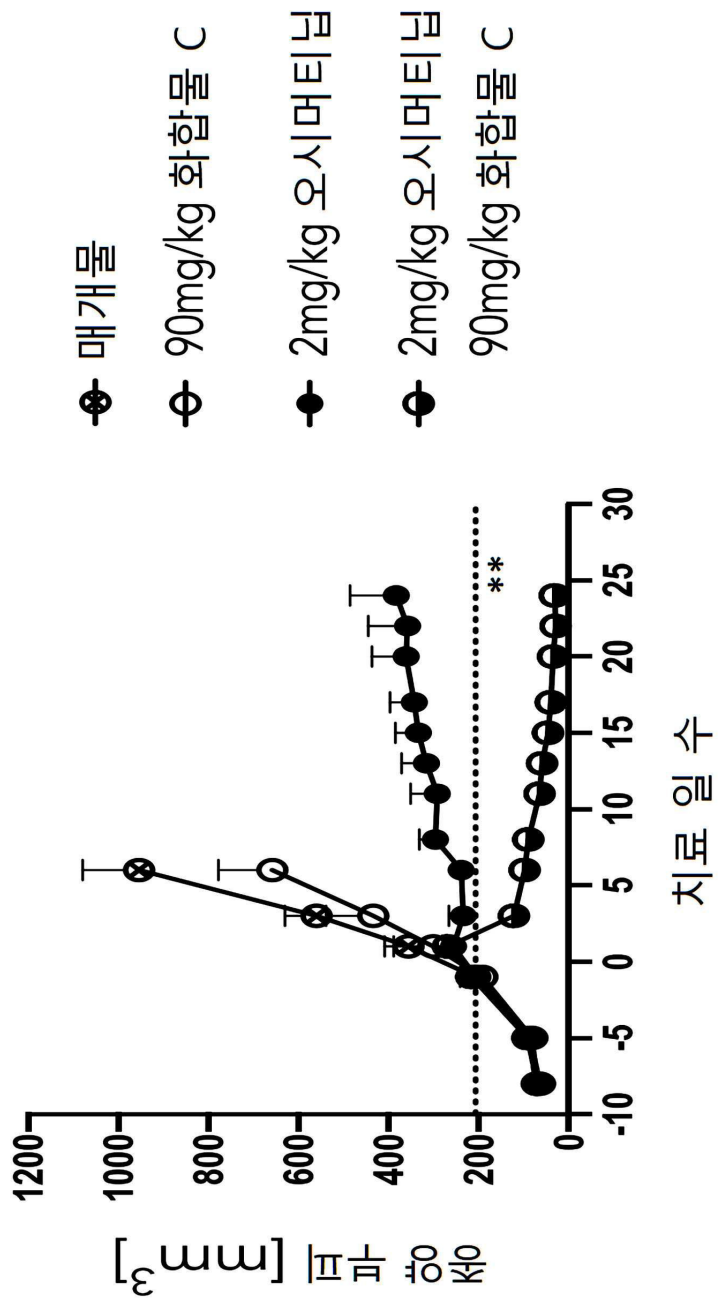


도면10e

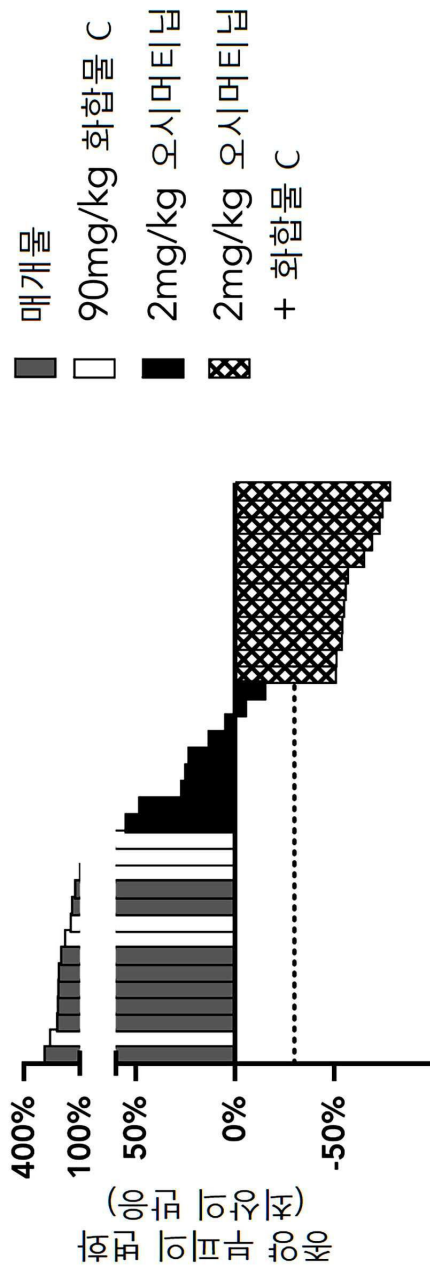
E



도면11a



도면11b



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> TOLREMO therapeutics AG

<120> A combination of a CBP/p300 bromodomain inhibitor and an EGFR inhibitor for use in treating EGFR-mutant NSCLC

<130> T08537W0

<160> 6

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Primer b-Actin fwd
 <400> 1
 gccccagctc accatggat 19
 <210> 2
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Primer b-actin rev
 <400> 2
 tgggcctcgt cgccacata 20
 <210> 3
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Primer ALPP fwd
 <400> 3
 agaaagcagg gaagtcagtg g 21
 <210> 4
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Primer ALPP rev
 <400> 4
 cgagtaccag ttgcggttca 20
 <210> 5
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Primer HOPX fwd
 <400> 5

gaccatgtcg gcggagacc	19
<210> 6	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Primer HOPX rev	
<400> 6	
gcgctgctta aaccatttct gg	22