(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0003546
(43) 공개일자 2022년01월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/517 (2006.01) *A61K 31/444* (2006.01)
A61K 31/4706 (2006.01) *A61K 31/519* (2006.01)
A61K 31/5377 (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)
A61K 9/20 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C12Q 1/6886 (2018.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/517 (2013.01)
A61K 31/444 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2021-7037153
(22) 출원일자(국제) 2020년04월16일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2021년11월12일
(86) 국제출원번호 PCT/US2020/028547
(87) 국제공개번호 WO 2020/214831
국제공개일자 2020년10월22일
(30) 우선권주장
62/835,354 2019년04월17일 미국(US)

(71) 출원인
더 보드 오브 리젠츠 오브 더 유니버시티 오브 텍사스 시스템
미국, 텍사스 78701, 오스틴, 210 웨스트 7 스트리트
(72) 발명자
로비쇼 재클린
미국, 텍사스 77030, 휴스턴, 1515 홀콤 블러바드, 씨/오 더 유니버시티 오브 텍사스 엠디 앤더슨 캔서 센터
닐슨 모니크
미국, 텍사스 77030, 휴스턴, 1515 홀콤 블러바드, 씨/오 더 유니버시티 오브 텍사스 엠디 앤더슨 캔서 센터
헤이맥 존 브이.
미국, 텍사스 77030, 휴스턴, 1515 홀콤 블러바드, 씨/오 더 유니버시티 오브 텍사스 엠디 앤더슨 캔서 센터
(74) 대리인
특허법인한얼

전체 청구항 수 : 총 73 항

(54) 발명의 명칭 **티로신 키나제 억제제 저항성 EGFR 돌연변이를 지니는 암 세포에 대한 항종양 활성을 갖는 화합물**

(57) 요 약

본 개시내용은 2세대 퀴나졸린아민 유도체 티로신 키나제 억제제를 투여함으로써 오시머티닙 저항성 EGFR 돌연변이를 갖는 것으로 결정된 환자에서 암을 치료하는 방법을 제공한다.

(52) CPC특허분류
A61K 31/4706 (2013.01)
A61K 31/519 (2013.01)
A61K 31/5377 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
A61K 9/2004 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
C12Q 1/6886 (2018.05)
C12Q 2600/106 (2013.01)
C12Q 2600/156 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

대상체(subject)에서 암을 치료하는 방법으로서, 유효량의 퀴나졸린아민 (quinazolinamine) 유도체 티로신 키나제 억제제 (TKI)를 대상체에 투여하는 단계를 포함하고, 대상체는 하나 이상의 표피 성장 인자 수용체 (epidermal growth factor recceptor; EGFR) TKI 저항성 돌연변이를 갖는 것으로 결정된 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, EGFR TKI 저항성 돌연변이는 획득된 비정형(atypical) EGFR 돌연변이인, 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 공유 결합 퀴나졸린아민 TKI인, 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 공유 결합 퀴나졸린아민 TKI는 아파티닙 (afatinib), 타를록소티닙 (tarloxotinib)-TKI, 다코미티닙 (dacomitinib), 펠리티닙 (pelitinib), 또는 알리티닙 (allitinib)인, 방법.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서, 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 비-공유 결합 퀴나졸린아민 TKI인, 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 비-공유 결합 퀴나졸린아민 TKI는 사파티닙 (sapatinib), AZD3759, 바를리티닙 (Varlitinib), TAK-285, 또는 제피티닙 (gefitinib)인, 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 정제로 제형화되는, 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이(resistant point mutation)는 엑손 18, 19, 20, 또는 21에서 1 내지 18개의 뉴클레오타이드의 점 돌연변이, 삽입, 및/또는 결실을 포함하는, 방법.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 엑손 18의 아미노산 688 내지 728에 3 내지 18개의 뉴클레오타이드의 하나 이상의 점 돌연변이, 삽입, 및/또는 결실을 포함하는, 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 하나 이상의 EGFR 엑손 18 돌연변이는 E709, L718, G719, S720, 및 G724로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 잔기에 위치하는, 방법.

청구항 11

제9항 또는 제10항에 있어서, 하나 이상의 EGFR 엑손 18 돌연변이는 E709A, L718Q, L718V, G719A, G719S, S720P, 및/또는 G724S를 포함하는, 방법.

청구항 12

제8항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 EGFR 엑손 18 돌연변이는 E709A, E790K, L718Q, L718V, G719A, G719S, S720P, 및/또는 G724S를 포함하는, 방법.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 엑손 19의 아미노산 729 내지 761에 3 내지 18개의 뉴클레오타이드의 하나 이상의 점 돌연변이, 삽입, 및/또는 결실을 포함하는, 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 하나 이상의 EGFR 엑손 19 돌연변이는 I744, L747, L747, A755, K757, 및/또는 D761로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 잔기에 위치하는, 방법.

청구항 15

제13항 또는 제14항에 있어서, 하나 이상의 EGFR 엑손 19 돌연변이는 I744V, I744T L747S, L747FS, A755T, K757R, 및/또는 D761N을 포함하는, 방법.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 엑손 20의 아미노산 763 내지 823에 3 내지 18개의 뉴클레오타이드의 하나 이상의 점 돌연변이, 삽입, 및/또는 결실을 포함하는, 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, 하나 이상의 EGFR 엑손 20 돌연변이는 A763, S768, V769, H773, D770, V774, C775, S784, L792, G796, C797, S811, 및 R776으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 잔기에 위치하는, 방법.

청구항 18

제16항 또는 제17항에 있어서, 하나 이상의 EGFR 엑손 20 돌연변이는 D770insNPG, S784F, R776C, S768I, V774M, S768I, H773insAH, H773insNPH, V774A, V769L, V769M, S768dupSVD, A763insLQEA, L792H, G796D, S784F, C775Y 및/또는 S811F를 포함하는, 방법.

청구항 19

제16항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 EGFR 엑손 20 돌연변이는 D770insNPG, S784F, R776C, S768I, V774M, S768I, H773insAH, H773insNPH, V774A, V769L, V769M, S768dupSVD, A763insLQEA, L792H, G796D, G796S, S784F, C775Y 및/또는 S811F를 포함하는, 방법.

청구항 20

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 엑손 21의 아미노산 824 내지 875에 3 내지 18개의 뉴클레오타이드의 하나 이상의 점 돌연변이, 삽입, 및/또는 결실을 포함하는, 방법.

청구항 21

제20항에 있어서, 하나 이상의 EGFR 엑손 21 돌연변이는 L833, V834, G836, V843, T854, L861, L861, L862, L844 및 L858로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 잔기에 위치하는, 방법.

청구항 22

제20항 또는 제21항에 있어서, 하나 이상의 EGFR 엑손 21 돌연변이는 L833F, V834L, L858R, L861Q, V843I, L861R, L862V, L844V, L861Q, G836S, 및/또는 T854I를 포함할 수 있는, 방법.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 2, 3, 또는 4개의 EGFR TKI 저항성 돌연변이를 갖는 것으로 결정된, 방법.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 이전에 TKI로 투여된, 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 대상체는 이전에 투여된 TKI에 저항성인, 방법.

청구항 26

제24항 또는 제25항에 있어서, TKI는 라파티닙 (lapatinib), 에를로티닙 (erlotinib), 제피티닙, 로실레티닙 (rociletinib), 올무티닙 (olmutinib), 나퀴티닙 (naquotinib), 오시머티닙 (osimertinib), 이브루티닙 (ibrutinib), 또는 나자르티닙 (nazartinib)인, 방법.

청구항 27

제24항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, TKI는 제피티닙, 에를로티닙, 또는 오시머티닙인, 방법.

청구항 28

제24항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, TKI는 오시머티닙인, 방법.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 잔기 E709, L718, G719, G724, C797, V843, T854, L861, 및/또는 L792에 존재하는, 방법.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 잔기 C797 또는 T790에 EGFR 돌연변이를 갖지 않는 것으로 결정된, 방법.

청구항 31

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 잔기 T790에 EGFR 돌연변이를 갖지 않는 것으로 결정된, 방법.

청구항 32

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 T790 돌연변이를 갖는, 방법.

청구항 33

제32항에 있어서, 대상체는 적어도 하나의 추가 돌연변이와 조합된 T790 돌연변이를 갖는, 방법.

청구항 34

제31항에 있어서, 대상체는 C797의 잔기에 돌연변이를 갖는 것으로 결정된, 방법.

청구항 35

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 G719X, E709X, G724S, L718X, L861Q, T8541, V8431, C797S, 및/또는 L792X로 이루어진 군으로부터 선택되고, X는 임의의 아미노산인, 방법.

청구항 36

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 L861Q, G719S, L858R/L792H, L858R/C797S, 및 Ex19del/C797S로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 37

제1항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 환자로부터의 게놈 샘플(genomic sample)을 분석함으로써 EGFR TKI 저항성 돌연변이를 갖는 것으로 결정된, 방법.

청구항 38

제37항에 있어서, 게놈 샘플은 타액, 혈액, 소변, 정상 조직 또는 종양 조직으로부터 단리되는, 방법.

청구항 39

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR TKI 저항성 돌연변이의 존재는 핵산 서열분석 (sequencing) 또는 PCR 분석에 의해 결정되는, 방법.

청구항 40

제1항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 경구 투여되는, 방법.

청구항 41

제1항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 매일 투여되는, 방법.

청구항 42

제41항에 있어서, 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 지속적 기준으로 투여되는, 방법.

청구항 43

제42항에 있어서, 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 28일 주기로 투여되는, 방법.

청구항 44

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 추가의 항암 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 45

제44항에 있어서, 추가의 항암 요법은 화학요법, 방사선요법, 유전자 요법, 수술, 호르몬 요법, 항혈관형성 요법(anti-angiogenic therapy) 또는 면역요법인, 방법.

청구항 46

제44항에 있어서, 퀴나졸린아민 유도체 TKI 및/또는 항암 요법은 정맥내, 피하, 골내, 경구, 경피, 지속 방출로, 제어 방출로, 지연 방출로, 좌약으로서, 또는 설하 투여되는, 방법.

청구항 47

제44항에 있어서, 퀴나졸린아민 유도체 TKI 및/또는 항암 요법의 투여는 국소, 국부 또는 전신 투여를 포함하는, 방법.

청구항 48

제44항에 있어서, 퀴나졸린아민 유도체 TKI 및/또는 항암 요법은 2회 이상 투여되는, 방법.

청구항 49

제1항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 암은 구강암, 구인두암, 비인두암, 호흡기암, 비뇨생식기암, 위장관암, 중추 또는 말초 신경계 조직암, 내분비 또는 신경내분비 암 또는 조혈 암, 신경교종, 육종, 암종, 림프종, 흑색종, 섬유종, 수막종, 뇌암, 구인두암, 비인두암, 신장암, 담도암, 갈색세포종, 췌도세포암, 리-프라우메니 (Li-Fraumeni) 종양, 갑상선암, 부갑상선암, 뇌하수체 종양, 부신 종양, 골형성 육종 종양, 다발성 신경내분비 1형 및 2형 종양, 유방암, 폐암, 두경부암, 전립선암, 식도암, 기관암, 간암, 방광암, 위암, 췌장암, 난소암, 자궁암, 자궁경부암, 고환암, 결장암, 직장암 또는 피부암인, 방법.

청구항 50

제1항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 암은 비소세포 폐암인, 방법.

청구항 51

제1항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 환자는 인간인, 방법.

청구항 52

하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이를 갖는 것으로 결정된 대상체에서 사용하기 위한, 퀴나졸린아민 유도체 TKI를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 53

제52항에 있어서, 경구 조성물로서 추가로 규정되는, 조성물.

청구항 54

제52항 또는 제53항에 있어서, 5 내지 25 mg의 퀴나졸린아민 유도체 TKI를 포함하는, 조성물.

청구항 55

제52항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 정제로 제형화되는, 조성물.

청구항 56

제52항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 엑손 18, 19, 20, 또는 21에서 1 내지 18개의 뉴클레오타이드의 점 돌연변이, 삽입, 및/또는 결실을 포함하는, 조성물.

청구항 57

제52항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 2, 3, 또는 4개의 EGFR TKI 저항성 돌연변이를 갖는 것으로 결정된, 조성물.

청구항 58

제52항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 잔기 E709, L718, G719, G724, C797, V843, T854, L861, 및/또는 L792에 존재하는, 조성물.

청구항 59

제52항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 잔기 C797 또는 T790에 EGFR 돌연변이를 갖지 않는 것으로 결정된, 조성물.

청구항 60

제52항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 G719X, E709X, G724S, L718X, L861Q, T8541, V8431, C797S, 및/또는 L792X로 이루어진 군으로부터 선택되고, X는 임의의 아미노산인, 조성물.

청구항 61

제52항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 L861Q, G719S, L858R/L792H, L858R/C797S, 및 Ex19del/C797S로 이루어진 군으로부터 선택되는, 조성물.

청구항 62

제52항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 항암 요법으로 치료 중인, 조성물.

청구항 63

암에 걸린 대상체에서 퀴나졸린아민 유도체 TKI 단독 또는 제2 항암 요법과의 조합에 대한 반응을 예측하는 방법으로서, 상기 환자로부터 획득된 게놈 샘플에서 EGFR TKI 저항성 돌연변이를 검출하는 단계를 포함하고, 샘플이 EGFR TKI 저항성 돌연변이의 존재에 대해 양성인 경우, 이후에 환자는 퀴나졸린아민 유도체 TKI 단독 또는

항암 요법과의 조합에 대해 유리한 반응을 나타낼 것으로 예측되는, 방법.

청구항 64

제63항에 있어서, EGFR TKI 저항성 돌연변이는 잔기 E709, L718, G719, G724, C797, V843, T854, L861, 및/또는 L792에 존재하는, 방법.

청구항 65

제63항 또는 제64항에 있어서, 게놈 샘플은 타액, 혈액, 소변, 정상 조직 또는 종양 조직으로부터 단리되는, 방법.

청구항 66

제63항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서, HER 엑손 21 돌연변이의 존재는 핵산 서열분석 또는 PCR 분석에 의해 결정되는, 방법.

청구항 67

제63항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR TKI 저항성 돌연변이는 G719X, E709X, G724S, L718X, L861Q, T8541, V8431, C797S, 및/또는 L792X로 이루어진 군으로부터 선택되고, X는 임의의 아미노산인, 방법.

청구항 68

제63항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR TKI 저항성 돌연변이는 L861Q, G719S, L858R/L792H, L858R/C797S, 및 Ex19del/C797S로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 69

제63항 내지 제68항 중 어느 한 항에 있어서, 퀴나졸린아민 유도체 TKI 단독 또는 항암 요법과의 조합에 대한 유리한 반응은 종양 크기 또는 부담(burden)의 감소, 종양 성장의 차단, 종양 관련 통증의 감소, 암 관련 병리의 감소, 암 관련 증상의 감소, 암 비진행(cancer non-progression), 무질병 기간 증가, 진행까지의 시간 증가, 관해 유도(induction of remission), 전이 감소 또는 환자 생존 증가를 포함하는, 방법.

청구항 70

제63항 내지 제69항 중 어느 한 항에 있어서, 유리한 반응을 나타낼 것으로 예측된 상기 환자에게 퀴나졸린아민 유도체 TKI 단독으로 또는 제2 항암 요법과 조합하여 투여하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 71

제63항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 경구 투여되는, 방법.

청구항 72

제63항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서, 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 5 내지 25 mg의 투여량으로 투여되는, 방법.

청구항 73

제63항 내지 제72항 중 어느 한 항에 있어서, 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 정제로 제형화되는, 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 출원은 2019년 4월 17일에 출원된 미국 가출원 제 62/835,354호의 우선권 이익을 주장하며, 상기 문헌은 그 전문이 본 명세서에 참조로 포함된다.

[0002] 본 발명은 일반적으로 분자 생물학 및 의학 분야에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 티로신 키나제 억

제제 저항성(tyrosine kinase inhibitor resistant) EGFR 돌연변이를 갖는 환자를 치료하는 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 비-소세포성 폐암 (NSCLC)의 대략 10%는 표피 성장 인자 수용체 (EGFR) 돌연변이를 가지고 있어서 제피티닙 (gefitinib) 에를로티닙 (erlotinib) 및 오시머티닙 (osimertinib)과 같은 티로신 키나제 억제제 (TKI)에 대한 감응성이 증가된다. 최근 오시머티닙은 EGFR 돌연변이 NSCLC4의 1차 치료제로 승인되었지만 최초 저항성과 획득된 저항성은 여전히 많은 환자에게 치료 장애물이다. 일련의 비정형 및 획득된 EGFR 돌연변이는 잠재적으로 오시머티닙 저항성을 부여할 수 있다. 연구에 따르면 이러한 비정형 및 획득된 저항성 돌연변이는 오시머티닙의 용매 전면 근처에 있는 약물 결합 포켓의 확인을 변경하여 수용체에 대한 약물의 결합 친화도(binding affinity)를 변화시키는 것으로 나타났다. 따라서, 저항성 EGFR 돌연변이 암을 치료하기 위한 신규 요법에 대한 충족되지 않은 요구가 있다.

발명의 내용

[0004] 본 개시내용의 실시양태는 저항성 EGFR 돌연변이를 갖는 환자에서 암을 치료하기 위한 방법 및 조성물을 제공한다. 제1 실시양태에서, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 대상체에 유효량의 퀴나졸린아민 (quinazolinamine) 유도체 티로신 키나제 억제제 TKI를 투여하는 단계를 포함하고, 대상체는 하나 이상의 표피 성장 인자 수용체 (EGFR) TKI 저항성 돌연변이를 갖는 것으로 결정된 방법이 제공된다. 일부 양태에서, 환자는 인간이다.

[0005] 특정 양태에서, 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 공유 결합 퀴나졸린아민 TKI이다. 일부 양태에서, 공유 결합 퀴나졸린아민 TKI는 아파티닙 (afatinib), 타를록소티닙 (tarloxotinib)-TKI, 다코미티닙 (dacomitinib), 펠리티닙 (pelitinib), 또는 알리티닙 (allitinib)이다. 특정 양태에서, 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 비-공유 결합 퀴나졸린아민 TKI이다. 일부 양태에서, 비-공유 결합 퀴나졸린아민 TKI는 사파티닙 (sapatinib), AZD3759, 바를리티닙 (Varlitinib), TAK-285, 또는 제피티닙이다. 특정 양태에서, 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 정제로 제형화된다.

[0006] 특정 양태에서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 엑손 18, 19, 20, 또는 21에서 1 내지 18개의 뉴클레오타이드의 점 돌연변이, 삽입, 및/또는 결실을 포함한다. 일부 양태에서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 엑손 18의 아미노산 688 내지 728에 3 내지 18개의 뉴클레오타이드의 하나 이상의 점 돌연변이, 삽입, 및/또는 결실을 포함한다. 특정 양태에서, 하나 이상의 EGFR 엑손 18 돌연변이는 E709, L718, G719, S720, 및 G724로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 잔기에 위치한다. 구체적 양태에서, 하나 이상의 EGFR 엑손 18 돌연변이는 E709A, E790K, L718Q, L718V, G719A, G719S, S720P, 및/또는 G724S을 포함한다. 일부 양태에서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 엑손 19의 아미노산 729 내지 761에 3 내지 18개의 뉴클레오타이드의 하나 이상의 점 돌연변이, 삽입, 및/또는 결실을 포함한다. 특정 양태에서, 하나 이상의 EGFR 엑손 19 돌연변이는 I744, L747, L747, A755, K757, 및/또는 D761로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 잔기에 위치한다. 특정 양태에서, 하나 이상의 EGFR 엑손 19 돌연변이는 I744V, I744T, L747S, L747FS, A755T, K757R, 및/또는 D761N을 포함한다. 일부 양태에서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 엑손 20의 아미노산 763 내지 823에 3 내지 18개의 뉴클레오타이드의 하나 이상의 점 돌연변이, 삽입, 및/또는 결실을 포함한다. 특정 양태에서, 하나 이상의 EGFR 엑손 20 돌연변이는 A763, S768, V769, H773, D770, V774, C775, S784, L792, G796, C797, S811, 및 R776으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 잔기에 위치한다. 일부 양태에서, 하나 이상의 EGFR 엑손 20 돌연변이는 D770insNPG, S784F, R776C, S768I, V774M, S768I, H773insAH, H773insNPH, V774A, V769L, V769M, S768dupSVD, A763insLQEA, L792H, G796D, G796S, S784F, C775Y 및/또는 S811F를 포함한다. 특정 양태에서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 엑손 21의 아미노산 824 내지 875에 3 내지 18개의 뉴클레오타이드의 하나 이상의 점 돌연변이, 삽입, 및/또는 결실을 포함한다. 구체적 양태에서, 하나 이상의 EGFR 엑손 21 돌연변이는 L833, V834, G836, V843, T854, L861, L861, L862, L844 및 L858로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 잔기에 위치한다. 일부 양태에서, 하나 이상의 EGFR 엑손 21 돌연변이는 L833F, V834L, L858R, L861Q, V843I, L861R, L862V, L844V, L861Q, G836S, 및/또는 T854I를 포함할 수 있다. 일부 양태에서, 대상체는 2, 3, 또는 4개의 EGFR TKI 저항성 돌연변이를 갖는 것으로 결정된다. 특정 양태에서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 잔기 E709, L718, G719, G724, C797, V843, T854, L861, 및/또는 L792에 존재한다. 일부 양태에서, 대상체는 잔기 C797 또는 T790에 EGFR 돌연변이를 갖지 않는 것으로 결정된다. 특정 양태에서, 대상체는 잔기 T790에 EGFR 돌연변이를 갖지 않는 것으로 결정된다. 다른 양태에서, 대상체는 T790 돌연변이 단독 또는 또 다른 돌연변이와의 조합을 갖는 것으로 결정된다. 특정 양태에서, 대상체는

C797의 잔기에 돌연변이를 갖는 것으로 결정된다. 일부 양태에서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 G719X, E709X, G724S, L718X, L861Q, T8541, V8431, C797S, 및/또는 L792X로 이루어진 군으로부터 선택되고, X는 임의의 아미노산이다. 특정 양태에서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 L861Q, G719S, L858R/L792H, L858R/C797S, 및 Ex19del/C797S로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0007] 일부 양태에서, 대상체는 이전에 TKI로 투여된다. 특정 양태에서, 대상체는 이전에 투여된 TKI에 저항성이다. 일부 양태에서, TKI는 라파티닙 (lapatinib), 아파티닙 (afatinib), 다코미티닙 (dacomitinib), 오시머티닙 (osimertinib), 이브루티닙 (ibrutinib), 나자르티닙 (nazartinib), 올무티닙 (olmutinib), 로실레티닙 (rociletinib), 나퀴티닙 (naquotinib) 또는 네라티닙 (neratinib)이다. 특정 양태에서, TKI는 오시머티닙, 이브루티닙, 나자르티닙, 올무티닙, 로실레티닙, 또는 나퀴티닙이다. 구체적 양태에서, TKI는 오시머티닙이다.

[0008] 특정 양태에서, 대상체는 환자로부터의 게놈 샘플을 분석함으로써 EGFR TKI 저항성 돌연변이를 갖는 것으로 결정된다. 일부 양태에서, 게놈 샘플은 타액, 혈액, 소변, 정상 조직 또는 종양 조직으로부터 단리된다. 특정 양태에서, EGFR TKI 저항성 돌연변이의 존재는 핵산 서열분석 (sequencing) 또는 PCR 분석에 의해 결정된다.

[0009] 일부 양태에서, 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 경구 투여된다. 특정 양태에서, 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 매일 투여된다. 특정 양태에서, 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 지속적 기준으로 투여된다. 일부 양태에서, 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 28일 주기로 투여된다.

[0010] 추가의 양태에서, 본 방법은 추가의 항암 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 양태에서, 추가의 항암 요법은 화학요법, 방사선요법, 유전자 요법, 수술, 호르몬 요법, 항혈관형성 요법 또는 면역요법이다. 특정 양태에서, 포지오티닙 (poziotinib) 및/또는 항암 요법은 정맥내, 피하, 골내, 경구, 경피, 지속 방출로, 제어 방출로, 지연 방출로, 좌약으로서, 또는 설하 투여된다. 일부 양태에서, 포지오티닙 및/또는 항암 요법의 투여는 국소, 국부 또는 전신 투여를 포함한다. 특정 양태에서, 포지오티닙 및/또는 항암 요법은 2회 이상 투여된다.

[0011] 일부 양태에서, 암은 구강암, 구인두암, 비인두암, 호흡기암, 비뇨생식기암, 위장관암, 중추 또는 말초 신경계 조직암, 내분비 또는 신경내분비 암 또는 조혈 암, 신경교종, 육종, 암종, 림프종, 흑색종, 섬유종, 수막종, 뇌암, 구인두암, 비인두암, 신장암, 담도암, 갈색세포종, 췌도세포암, 리-프라우메니 (Li-Fraumeni) 종양, 갑상선암, 부갑상선암, 뇌하수체 종양, 부신 종양, 골형성 육종 종양, 다발성 신경내분비 1형 및 2형 종양, 유방암, 폐암, 두경부암, 전립선암, 식도암, 기관암, 간암, 방광암, 위암, 췌장암, 난소암, 자궁암, 자궁경부암, 고환암, 결장암, 직장암 또는 피부암이다. 특정 양태에서, 암은 비소세포 폐 암이다.

[0012] 본 명세서에서 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이를 갖는 것으로 결정된 대상체에 사용하기 위한 퀴나졸린아민 유도체 TKI를 포함하는 약제학적 조성물이 추가로 제공된다. 일부 양태에서, 본 조성물은 경구 조성물로서 추가로 규정된다. 특정 양태에서, 본 조성물은 5 내지 25 mg의 퀴나졸린아민 유도체 TKI를 포함한다. 일부 양태에서, 본 조성물은 정제로 제형화된다. 일부 양태에서, 대상체는 항암 요법으로 치료 중이다.

[0013] 특정 양태에서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 엑손 18, 19, 20, 또는 21에서 1 내지 18개의 뉴클레오타이드의 점 돌연변이, 삽입, 및/또는 결실을 포함한다. 일부 양태에서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 엑손 18의 아미노산 688 내지 728에 3 내지 18개의 뉴클레오타이드의 하나 이상의 점 돌연변이, 삽입, 및/또는 결실을 포함한다. 특정 양태에서, 하나 이상의 EGFR 엑손 18 돌연변이는 E709, L718, G719, S720, 및 G724로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 잔기에 위치한다. 구체적 양태에서, 하나 이상의 EGFR 엑손 18 돌연변이는 E709A, L718Q, L718V, G719A, G719S, S720P, 및/또는 G724S를 포함한다. 일부 양태에서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 엑손 19의 아미노산 729 내지 761에 3 내지 18개의 뉴클레오타이드의 하나 이상의 점 돌연변이, 삽입, 및/또는 결실을 포함한다. 특정 양태에서, 하나 이상의 EGFR 엑손 19 돌연변이는 I744, L747, L747, A755, K757, 및/또는 D761로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 잔기에 위치한다. 특정 양태에서, 하나 이상의 EGFR 엑손 19 돌연변이는 I744V, I744T, L747S, L747FS, A755T, K757R, 및/또는 D761N을 포함한다. 일부 양태에서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 엑손 20의 아미노산 763 내지 823에 3 내지 18개의 뉴클레오타이드의 하나 이상의 점 돌연변이, 삽입, 및/또는 결실을 포함한다. 특정 양태에서, 하나 이상의 EGFR 엑손 20 돌연변이는 A763, S768, V769, H773, D770, V774, C775, S784, L792, G796, C797, S811, 및 R776으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 잔기에 위치한다. 일부 양태에서, 하나 이상의 EGFR 엑손 20 돌연변이는 D770insNPG, S784F, R776C, S768I, V774M, S768I, H773insAH, H773insNPH, V774A, V769L, V769M, S768dupSVD, A763insLQEA, L792H, G796D, S784F, C775Y 및/또는 S811F를 포함한다. 특정 양태에서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 엑손 21의 아미노산 824 내지 875에 3 내지 18개의 뉴클레오타이

드의 하나 이상의 점 돌연변이, 삽입, 및/또는 결실을 포함한다. 구체적 양태에서, 하나 이상의 EGFR 엑손 21 돌연변이는, L833, V834, G836, V843, T854, L861, L861, L862, L844 및 L858로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 잔기에 위치한다. 일부 양태에서, 하나 이상의 EGFR 엑손 21 돌연변이는 L833F, V834L, L858R, L861Q, V843I, L861R, L862V, L844V, L861Q, G836S, 및/또는 T854I를 포함할 수 있다. 일부 양태에서, 대상체는 2, 3, 또는 4개의 EGFR TKI 저항성 돌연변이를 갖는 것으로 결정된다. 특정 양태에서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 잔기 E709, L718, G719, G724, C797, V843, T854, L861, 및/또는 L792에 존재한다. 일부 양태에서, 대상체는 잔기 C797 또는 T790에 EGFR 돌연변이를 갖지 않는 것으로 결정된다. 특정 양태에서, 대상체는 잔기 T790에 EGFR 돌연변이를 갖지 않는 것으로 결정된다. 다른 양태에서, 대상체는 T790 돌연변이 단독 또는 또 다른 돌연변이와의 조합을 갖는 것으로 결정된다. 특정 양태에서, 대상체는 C797의 잔기에 돌연변이를 갖는 것으로 결정된다. 일부 양태에서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 G719X, E709X, G724S, L718X, L861Q, T8541, V8431, C797S, 및/또는 L792X로 이루어진 군으로부터 선택되고, X는 임의의 아미노산이다. 특정 양태에서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 L861Q, G719S, L858R/L792H, L858R/C797S, 및 Ex19del/C797S로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0014] 추가의 실시양태에서, 암에 걸린 대상체에서 퀴나졸린아민 유도체 TKI 단독 또는 제2 항암 요법과의 조합에 대한 반응을 예측하는 방법으로서, 상기 환자로부터 획득된 게놈 샘플에서 EGFR TKI 저항성 돌연변이를 검출하는 단계를 포함하고, 샘플이 EGFR TKI 저항성 돌연변이의 존재에 대해 양성인 경우 그 후 환자는 퀴나졸린아민 유도체 TKI 단독 또는 항암 요법과의 조합에 대해 유리한 반응을 나타낼 것으로 예측되는 방법이 제공된다. 일부 양태에서, 게놈 샘플은 타액, 혈액, 소변, 정상 조직 또는 종양 조직으로부터 단리된다. 특정 양태에서, HER 엑손 21 돌연변이의 존재는 핵산 서열분석 또는 PCR 분석에 의해 결정된다.

[0015] 특정 양태에서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 엑손 18, 19, 20, 또는 21에서 1 내지 18개의 뉴클레오타이드의 점 돌연변이, 삽입, 및/또는 결실을 포함한다. 일부 양태에서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 엑손 18의 아미노산 688 내지 728에 3 내지 18개의 뉴클레오타이드의 하나 이상의 점 돌연변이, 삽입, 및/또는 결실을 포함한다. 특정 양태에서, 하나 이상의 EGFR 엑손 18 돌연변이는 E709, L718, G719, S720, 및 G724로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 잔기에 위치한다. 구체적 양태에서, 하나 이상의 EGFR 엑손 18 돌연변이는 E709A, L718Q, L718V, G719A, G719S, S720P, 및/또는 G724S를 포함한다. 일부 양태에서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 엑손 19의 아미노산 729 내지 761에 3 내지 18개의 뉴클레오타이드의 하나 이상의 점 돌연변이, 삽입, 및/또는 결실을 포함한다. 특정 양태에서, 하나 이상의 EGFR 엑손 19 돌연변이는 I744, L747, L747, A755, K757, 및/또는 D761로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 잔기에 위치한다. 특정 양태에서, 하나 이상의 EGFR 엑손 19 돌연변이는 I744V, I744T, L747S, L747FS, A755T, K757R, 및/또는 D761N을 포함한다. 일부 양태에서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 엑손 20의 아미노산 763 내지 823에 3 내지 18개의 뉴클레오타이드의 하나 이상의 점 돌연변이, 삽입, 및/또는 결실을 포함한다. 특정 양태에서, 하나 이상의 EGFR 엑손 20 돌연변이는 A763, S768, V769, H773, D770, V774, C775, S784, L792, G796, C797, S811, 및 R776으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 잔기에 위치한다. 일부 양태에서, 하나 이상의 EGFR 엑손 20 돌연변이는 D770insNPG, S784F, R776C, S768I, V774M, S768I, H773insAH, H773insNPH, V774A, V769L, V769M, S768dupSVD, A763insLQEA, L792H, G796D, S784F, C775Y 및/또는 S811F를 포함한다. 특정 양태에서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 엑손 21의 아미노산 824 내지 875에 3 내지 18개의 뉴클레오타이드의 하나 이상의 점 돌연변이, 삽입, 및/또는 결실을 포함한다. 구체적 양태에서, 하나 이상의 EGFR 엑손 21 돌연변이는 L833, V834, G836, V843, T854, L861, L861, L862, L844 및 L858로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 잔기에 위치한다. 일부 양태에서, 하나 이상의 EGFR 엑손 21 돌연변이는 L833F, V834L, L858R, L861Q, V843I, L861R, L862V, L844V, L861Q, G836S, 및/또는 T854I를 포함할 수 있다. 일부 양태에서, 대상체는 2, 3, 또는 4개의 EGFR TKI 저항성 돌연변이를 갖는 것으로 결정된다. 특정 양태에서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 잔기 E709, L718, G719, G724, C797, V843, T854, L861, 및/또는 L792에 존재한다. 일부 양태에서, 대상체는 잔기 C797 또는 T790에 EGFR 돌연변이를 갖지 않는 것으로 결정된다. 특정 양태에서, 대상체는 잔기 T790에 EGFR 돌연변이를 갖지 않는 것으로 결정된다. 다른 양태에서, 대상체는 T790 돌연변이 단독 또는 또 다른 돌연변이와의 조합을 갖는 것으로 결정된다. 특정 양태에서, 대상체는 C797의 잔기에 돌연변이를 갖는 것으로 결정된다. 일부 양태에서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 G719X, E709X, G724S, L718X, L861Q, T8541, V8431, C797S, 및/또는 L792X로 이루어진 군으로부터 선택되고, X는 임의의 아미노산이다. 특정 양태에서, 하나 이상의 EGFR TKI 저항성 돌연변이는 L861Q, G719S, L858R/L792H, L858R/C797S, 및 Ex19del/C797S로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0016] 추가의 실시양태는 퀴나졸린아민 유도체 TKI 단독 또는 항암 요법과의 조합에 대한 유리한 반응은 종양 크기

또는 부담(burden)의 감소, 종양 성장의 차단, 종양 관련 통증의 감소, 암 관련 병리의 감소, 암 관련 증상의 감소, 암 비진행, 무질병 기간 증가, 진행까지의 시간 증가, 관해 유도, 전이 감소 또는 환자 생존 증가를 포함함을 제공한다.

[0017] 추가 양태에서, 본 방법은 유리한 반응을 나타낼 것으로 예측된 상기 환자에게 퀴나졸린아민 유도체 TKI 단독 또는 제2 항암 요법과의 조합을 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 양태에서, 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 경구 투여된다. 특정 양태에서, 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 5 내지 25 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 양태에서, 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 정제로 제형화된다.

[0018] 본 발명의 다른 목적, 특징 및 이점은 다음의 상세한 설명으로부터 명백해질 것이다. 그러나, 본 발명의 사상 및 범위 내에서 다양한 변화 및 변형이 본 상세한 설명으로부터 당업자에게 명백할 것이므로, 상세한 설명 및 특정 실시예는 본 발명의 바람직한 실시양태를 나타내면서 단지 예시의 목적으로 제공되는 것으로 이해되어야 한다.

도면의 간단한 설명

[0019] 다음 도면은 본 명세서의 일부를 형성하고 본 발명의 특정 양태을 추가로 설명하기 위해 포함된다. 본 발명은 본 명세서에 제시된 특정 실시양태의 상세한 설명과 함께 이들 도면 중 하나 이상을 참조함으로써 더 잘 이해될 수 있다.

도 1a 내지 도 1d: 2세대 퀴나졸린 기반 TKI는 시험관내 비정형 EGFR 돌연변이에서 오시머티닙과 같은 3세대 TKI보다 더 강력하고 선택적이다. **(도 1a)** 72시간 동안 표시된 억제제로 처리된 엑손 18 내지 21 범위의 1차 비정형 돌연변이를 발현하는 Ba/F3 세포의 Log IC_{50} 값의 히트맵. 돌연변이는 가장 저항성이 강한 것부터 가장 감응성이 높은 것까지 상부에서 하부로 순서대로 정렬되고 약물은 좌측에서 우측으로 가장 낮은 IC_{50} 값에서 가장 높은 IC_{50} 값으로 정렬된다. **(도 1b)** 엑손 18 내지 21 범위의 1차 비정형 돌연변이를 발현하는 Ba/F3 세포의 IC_{50} 값을 72 시간 동안 표시된 억제제로 처리된 WT EGFR (+10 ng/ml EGF)을 발현하는 Ba/F3 세포의 IC_{50} 값으로 나눈 비율의 히트맵. 돌연변이의 순서는 패널 A와 동일하게 유지되었지만 약물은 가장 선택적인 것부터 최소한으로 선택적인 것까지 좌측에서 우측으로 재정렬되었다. **(도 1c)** 약물 클래스별로 분리된 비정형 돌연변이를 발현하는 Ba/F3 세포의 IC_{50} 값의 평균 ± SEM의 막대 그래프. N=40 세포주이고, 기호는 각 세포주를 나타낸다. 통계적 유의도는 ANOVA에 의해 결정되었다. **(도 1d)** 약물 클래스별로 분리된 비정형 돌연변이를 발현하는 Ba/F3 세포의 돌연변이/WT EGFR 비율의 평균 ± SEM의 막대 그래프. N=40 세포주이고, 기호는 각 세포주를 나타낸다. 통계적 유의도는 ANOVA에 의해 결정되었다.

도 2a 내지 도 2d: P-루프 엑손 18 돌연변이는 생체 내에서 오시머티닙에 대한 1차 저항성을 유도하지만 다른 EGFR TKI는 그러하지 않다. **(도 2a)** 28일 동안 표시된 억제제로 처리된 EGFR 엑손 18 P-루프 돌연변이 (G719A)를 보유하는 NSCLC의 PDX 모델의 종양 성장 곡선. **(도 2b)** 표시된 억제제로 처리한 후 28일 실험 종료 시 G719A 종양 부피의 변화 퍼센트의 평균 ± SEM의 막대 그래프. 기호는 개별 마우스를 나타낸다. 다중 비교를 위한 ANOVA 및 Tukey 테스트에 의해 유의한 차이가 결정되었다. **(도 2c)** 28일 동안 표시된 억제제로 처리된 비-P-루프 엑손 18 EGFR 돌연변이 (E709K L858R)를 갖는 NSCLC PDX 모델의 종양 성장 곡선. **(도 2d)** 표시된 억제제로 처리한 후 28일 실험 종료 시 E709K/L858R 종양 부피의 변화 퍼센트의 평균 ± SEM의 막대 그래프. 기호는 개별 마우스를 나타낸다. 다중 비교를 위한 ANOVA 및 Tukey 테스트에 의해 유의한 차이가 결정되었다.

도 3a 내지 도 3d: 획득된 비정형 돌연변이는 오시머티닙에 대한 저항성을 유도하지만 퀴나졸린 TKI에 감응성이며, 동시 발생 돌연변이의 약물 감응성/저항성 특성은 1차 돌연변이에 의해 유도될 수 있다. **(도 3a)** 72시간 동안 표시된 억제제로 처리된 엑손 18 내지 21 범위의 획득된 비정형 돌연변이를 발현하는 Ba/F3 세포의 Log IC_{50} 값의 히트맵. 돌연변이는 가장 저항성이 강한 것부터 가장 감응성이 높은 것까지 상부에서 하부로 순서대로 정렬되고 약물은 좌측에서 우측으로 가장 낮은 IC_{50} 값에서 가장 높은 IC_{50} 값으로 정렬된다. **(도 3b)** 엑손 18 내지 21 범위의 획득된 비정형 돌연변이를 발현하는 Ba/F3 세포의 IC_{50} 값을 72시간 동안 표시된 억제제로 처리된 WT EGFR (+10 ng/ml EGF)을 발현하는 Ba/F3 세포의 IC_{50} 값으로 나눈 비율의 히트맵(heatmap). 돌연변이의 순서는 패널 A와 동일하게 유지되었지만 약물은 가장 선택적인 것부터 최소한으로 선택적인 것까지 좌측에서 우측으로 재정렬되었다**(도 3c-d)**. 약물 클래스별로 1차 돌연변이의 존재 및 부재 하에 Ex19del **(도 3c)** 및 L858R **(도 3d)** 1차 돌연변이의 돌연변이/WT 비율의 막대 그래프. 1차 돌연변이 단독 (비채색(open) 막대) 기호는 개별 약

물에 대한 평균 돌연변이/WT 비율을 나타내고, 1차 돌연변이 + 비정형 돌연변이 (채색 막대)의 경우 기호는 각 돌연변이에 대해 표시된 약물 클래스의 모든 약물의 평균 돌연변이/WT 비율을 나타낸다. 통계적 차이는 비대칭 표본 크기로 인해 비모수적 스튜던트 t-검정을 사용하여 결정되었다.

도 4a 내지 도 4d: T790M 돌연변이는 1차 또는 3차 돌연변이에 관계없이 1세대 및 2세대 약물에 대한 저항성을 유도하지만 고유한 3세대 TKI 및 약물 용도 변경은 3차, T790M 양성, 약물 저항성을 극복할 수 있다. (도 4a) 72시간 동안 표시된 통상의 EGFR 억제제로 처리된 것으로 T790M 돌연변이와 동시 발생한 EGFR 돌연변이를 발현하는 Ba/F3 세포의 Log IC_{50} 값의 히트맵. 돌연변이는 가장 저항성이 강한 것부터 가장 감응성이 높은 것까지 상부에서 하부로 순서대로 정렬되고 약물은 좌측에서 우측으로 가장 낮은 IC_{50} 값에서 가장 높은 IC_{50} 값으로 정렬된다. **(도 4b)** T790M 돌연변이와 동시 발생하는 EGFR 돌연변이를 발현하는 Ba/F3 세포의 IC_{50} 값을 72시간 동안 표시된 통상의 EGFR 억제제로 처리된 WT EGFR (+10 ng/ml EGF)을 발현하는 Ba/F3 세포의 IC_{50} 값으로 나눈 비율의 히트맵. 돌연변이의 순서는 패널 A와 동일하게 유지되었지만, 약물은 가장 선택적인 것부터 최소한의 표시된 통상의 EGFR 억제제 선택적인 것으로 좌측에서 우측으로 재정렬되었다. **(도 4c)** 72시간 동안 표시된 용도 변경 억제제로 처리된 것으로 T790M 돌연변이와 동시 발생하는 EGFR 돌연변이를 발현하는 Ba/F3 세포의 Log IC_{50} 값의 히트맵. 돌연변이의 순서는 패널 A와 동일하게 유지되었으며 약물은 좌측에서 우측으로 가장 낮은 IC_{50} 값에서 가장 높은 IC_{50} 값으로 정렬된다. **(도 4d)** T790M 돌연변이와 함께 발생하는 EGFR 돌연변이를 발현하는 Ba/F3 세포의 IC_{50} 값을 72시간 동안 표시된 용도 변경 억제제로 처리된 WT EGFR (+10 ng/ml EGF)을 발현하는 Ba/F3 세포의 IC_{50} 값으로 나눈 비율의 히트맵. 돌연변이의 순서는 패널 A와 동일하게 유지되었지만 약물은 가장 선택적인 것부터 최소한으로 선택적인 것까지 좌측에서 우측으로 재정렬되었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0020] 본 연구는 NSCLC와 같은 다양한 악성 종양에 걸쳐 오시머티닙 저항성 EGFR 돌연변이를 확인하였다. 체계적으로, TKI에 걸친 저항성 돌연변이의 약물 감응성을 평가하였다. 저항성 EGFR 돌연변이가 2세대 퀴나졸린아민 유도체 TKI에 감응성인 것으로 밝혀졌다.

[0021] 따라서, 본 개시내용의 특정 실시양태는 오시머티닙 저항성 EGFR 돌연변이를 갖는 암 환자를 치료하는 방법을 제공한다. 특히, 본 방법은 획득된 비정형 돌연변이 및/또는 통상의 돌연변이와 같이, 엑손 18, 19, 20 또는 21 돌연변이와 같은 하나 이상의 오시머티닙 저항성 EGFR 돌연변이를 갖는 것으로 확인된 환자에게 2세대 퀴나졸린아민 유도체 TKI를 투여하는 단계를 포함한다. 2세대 퀴나졸린아민 유도체 TKI의 크기와 가요성은 입체 장애를 극복하여 낮은 나노몰 농도에서 EGFR 돌연변이를 억제한다. 따라서, 2세대 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 오시머티닙 저항성 EGFR 돌연변이를 표적화하는데 사용할 수 있는 강력한 EGFR 억제제이다.

[0022] **I. 정의**

[0023] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 단수형 ("a" 또는 "an")은 하나 이상을 의미할 수 있다. 청구항 (들)에서 본 명세서에 사용된 바와 같이, "~를 포함하는"이라는 단어와 함께 사용될 때, 단수형 단어는 하나 이상을 의미할 수 있다.

[0024] 청구범위에서 용어 "또는"의 사용은 본 개시내용이 양자택일 및 "및/또는"만을 지칭하는 정의를 지지하지만 양자택일만을 지칭하거나 양자택일이 상호 배타적이라고 명시적으로 나타내지 않는 한 "및/또는"을 의미하는 것으로 사용된다. 본 명세서에 사용된 "다른"은 적어도 2번째 이상을 의미할 수 있다.

[0025] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 특정 성분과 관련하여 "필수적으로 부재하는"은 특정 성분 중 어느 것도 조성물로 의도적으로 제형화되지 않았고/거나, 오염 물질로서 또는 미량으로만 존재한다는 것을 의미하기 위해 본 명세서에 사용된다. 조성물의 임의의 의도하지 않은 오염으로 인한 특정 성분의 총량은 통상적으로 조성물의 1% 미만, 보다 바람직하게는 0.1% 미만, 더욱 더 바람직하게는 0.01% 미만이다. 가장 바람직한 것은 특정 성분의 측정 가능한 양이 표준 분석 방법으로 검출될 수 없는 조성물이다.

[0026] "필수적으로"라는 용어는 방법 또는 조성물이 단지 명시된 단계 또는 재료를 포함하고 이러한 방법 및 조성물의 기본적이고 신규한 특성에 실질적으로 영향을 미치지 않는 것을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0027] "실질적으로 부재하는"이라는 용어는 나열된 성분의 98% 및 조성물 또는 입자에 실질적으로 부재하는 성분의 2% 미만에 사용된다.

[0028] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "실질적으로" 또는 "대략적으로"는 관련된 기본` 기능의 변경을 초래하지 않으면서 가능하게 변할 수 있는 임의의 양적 비교, 값, 측정 또는 기타 표현을 수정하는데 적용될 수 있다.

[0029] 용어 "약"은 일반적으로 명시된 값을 측정하기 위한 표준 분석 기술을 사용하여 결정된 명시된 값의 표준 편차 이내를 의미한다. 이 용어는 또한 명시된 값의 플러스 또는 마이너스 5%를 지칭하여 사용할 수 있다.

[0030] "치료" 또는 "치료하는"은 (1) 질병의 병리 또는 증상을 경험하거나 나타내는 대상체 또는 환자의 질병 억제 (예를 들어, 병리 및/또는 증상의 추가 진행 정지), (2) 질병의 병리 또는 증상을 경험하거나 나타내는 대상체 또는 환자의 질병 개선 (예를 들어, 병리 및/또는 증상의 반전), 및/또는 (3) 질병의 병리 또는 증상을 경험하거나 나타내는 대상체 또는 환자의 질병에서 임의의 측정 가능한 감소의 초래를 포함한다. 예를 들어, 치료는 유효량의 2세대 퀴나졸린아민 유도체 TKI를 투여하는 단계를 포함할 수 있다.

[0031] "예방적으로 치료하는"은 (1) 질병의 위험이 있고/거나, 소인이 있지만 아직 질병의 임의의 병리 또는 증상 또는 모두를 경험하거나 나타내지 않은 대상체 또는 환자에서 질병이 발생할 위험의 감소 또는 완화, 및/또는 (2) 질병의 위험이 있고/거나, 소인이 있지만 아직 질병의 임의의 병리 또는 증상 또는 모두를 경험하거나 나타내지 않은 대상체 또는 환자에서 질병의 병리 또는 증상의 발병의 지연을 포함한다.

[0032] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "환자" 또는 "대상체"는 살아있는 포유류 유기체, 예컨대 인간, 원숭이, 소, 양, 염소, 개, 고양이, 마우스, 랫트, 기니피그, 또는 이의 형질전환 종을 지칭한다. 특정 실시양태에서, 환자 또는 대상체는 영장류이다. 인간 환자의 비제한적 예는 성인, 청소년, 유아 및 태아이다.

[0033] 본 명세서 및/또는 청구범위에서 사용되는 용어 "유효한"은 적절하거나, 예상되거나 의도된 결과를 달성하기에 적합한 것을 의미한다. 화합물로 환자 또는 대상체를 치료하는 상황에서 사용될 때 "유효량", "치료 유효량" 또는 "약제학적 유효량"은 질병의 치료 또는 예방을 위해 대상체 또는 환자에게 투여될 때 화합물의 양이 이러한 질병의 치료 또는 예방에 영향을 미치기에 충분한 양을 의미한다.

[0034] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "IC_{50}"은 획득된 최대 반응의 50%인 억제 투여량을 지칭한다. 이러한 정량적 측정은 소정의 생물학, 생화학 또는 화학적 과정 (또는 과정의 구성요소, 즉 효소, 세포, 세포 수용체 또는 미생물)을 절반으로 억제하는데 특정 약물 또는 기타 물질 (억제제)이 얼마나 필요한지를 나타낸다.

[0035] "항암" 제제는 예를 들어, 암세포의 사멸 촉진, 암세포에서 세포자멸사(apoptosis) 유도, 암세포의 성장률을 감소시키고, 전이의 빈도 또는 횟수의 감소, 종양 크기 감소, 종양 성장 억제, 종양 또는 암 세포로의 혈액 공급 감소, 암 세포 또는 종양에 대한 면역 반응 촉진, 암 진행 예방 또는 억제, 또는 암에 걸린 대상체의 수명 연장에 의해 대상체에서 암 세포/종양에 부정적인 영향을 줄 수 있다.

[0036] 용어 "삽입 (들)" 또는 "삽입 돌연변이 (들)"는 DNA 서열 내로의 하나 이상의 뉴클레오타이드 염기쌍의 추가를 지칭한다.

[0037] "혼성화하다" 또는 "혼성화"는 핵산 간의 결합을 지칭한다. 혼성화 조건은 결합하고자 하는 핵산의 서열 상동성에 따라 달라질 수 있다. 따라서 대상체 핵산 간의 서열 상동성이 높으면 엄격한 조건이 사용된다. 서열 상동성이 낮으면 온건한 조건이 사용된다. 혼성화 조건이 엄격할 경우, 혼성화 특이성이 증가하고, 이러한 혼성화 특이성의 증가는 비특이적 혼성화 산물의 수율을 감소시킨다. 그러나 온건한 혼성화 조건에서는 혼성화 특이성이 감소하고, 이러한 혼성화 특이성의 감소는 비특이적 혼성화 산물의 수율을 증가시킨다.

[0038] "프로브(probe)" 또는 "프로브들"은 적어도 여덟 (8)개의 뉴클레오타이드 길이인 폴리뉴클레오타이드를 지칭하며, 이는 표적 영역의 서열과 프로브 내의 적어도 하나의 서열의 상보성으로 인해 표적 서열과 혼성체 구조를 형성한다. 폴리뉴클레오타이드는 DNA 및/또는 RNA로 구성될 수 있다. 특정 실시양태에서 프로브는 검출 가능하게 표지된다. 프로브의 크기는 크게 다를 수 있다. 일반적으로, 프로브는 예를 들어 적어도 8 내지 15개 뉴클레오타이드 길이이다. 다른 프로브는 예를 들어 적어도 20, 30 또는 40개의 뉴클레오타이드 길이이다. 또 다른 프로브는 적어도 예를 들어 50, 60, 70, 80 또는 90개 뉴클레오타이드 길이로서 다소 더 길다. 프로브는 또한 앞서 말한 범위에 속하는 임의의 특정 길이일 수 있다. 바람직하게는, 프로브는 중합효소 연쇄 반응 동안 표적 서열을 프라이밍하는데 사용되는 서열 (들)에 상보적인 서열을 포함하지 않는다.

[0039] "올리고뉴클레오타이드" 또는 "폴리뉴클레오타이드"는 변형되지 않은 RNA 또는 DNA 또는 변형된 RNA 또는 DNA일 수 있는 단일 가닥 또는 이중 가닥 데옥시리보뉴클레오타이드 또는 리보뉴클레오타이드의 중합체를 지칭한다.

[0040] "변형된 리보뉴클레오타이드" 또는 데옥시리보뉴클레오타이드는 핵산에서 자연 발생 염기 대신에 사용될 수 있

는 분자를 지칭하며 다음에 제한되는 것은 아니나, 변형된 퓨린 및 피리미딘, 소수 염기, 전환 가능한 뉴클레오사이드, 퓨린 및 피리미딘의 구조적 유사체, 표지, 유도체화 및 변형된 뉴클레오사이드 및 뉴클레오타이드, 접합된 뉴클레오사이드 및 뉴클레오타이드, 서열 변형인자, 말단 변형인자, 스페이서 변형인자, 및 다음에 제한되는 것은 아니나, 리보스 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 골격 변형 뉴클레오타이드, 포스포라미데이트, 포스포로티오에이트, 포스포아미다이트, 메틸 포스포네이트, 메틸 포스포아미다이트, 메틸 포스포아미다이트, 5'-β-시아노에틸 포스포아미다이트, 메틸렌포스포네이트, 포스포로디티오에이트, 펩타이드 핵산, 아키랄 및 중성 뉴클레오타이드간 연결을 포함한다.

[0041] "변이체"는 각각 하나 이상의 뉴클레오타이드 또는 아미노산의 교체, 결실 또는 삽입에 의해 개체 집합에서 야생형 또는 가장 우세한 형태에 대비하여 상이한 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드를 지칭한다. 교체, 결실 또는 삽입된 뉴클레오타이드 또는 아미노산의 수는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 이상, 예컨대 25, 30, 35, 40, 45 또는 50일 수 있다.

[0042] "프라이머" 또는 "프라이머 서열"은 핵산 합성 반응을 프라이밍하기 위해 표적 핵산 서열 (예를 들어, 증폭될 DNA 주형)에 혼성화하는 올리고뉴클레오타이드를 지칭한다. 프라이머는 DNA 올리고뉴클레오타이드, RNA 올리고뉴클레오타이드 또는 키메라 서열일 수 있다. 프라이머는 천연, 합성 또는 변형된 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 프라이머 길이의 상한과 하한은 모두 경험적으로 결정된다. 프라이머 길이의 하한은 핵산 증폭 반응 조건에서 표적 핵산과 혼성화 시 안정한 이중체를 형성하는데 필요한 최소 길이이다. 매우 짧은 프라이머 (보통 3개 내지 4개 미만의 뉴클레오타이드 길이)는 이러한 혼성화 조건에서 표적 핵산과 열역학적으로 안정한 이중체를 형성하지 않는다. 상한은 종종 표적 핵산에서 소정의 핵산 서열 이외의 영역에서 이중체가 형성될 가능성에 의해 결정된다. 일반적으로, 적합한 프라이머 길이는 약 10 내지 약 40개의 뉴클레오타이드 길이 범위이다. 특정 실시양태에서, 예를 들어 프라이머는 10 내지 40, 15 내지 30, 또는 10 내지 20 뉴클레오타이드 길이일 수 있다. 프라이머는 적절한 조건 하에 적용될 때 폴리뉴클레오타이드 서열에 대한 합성 개시점으로 작용할 수 있다.

[0043] "검출", "검출 가능한" 및 이의 문법적 균등물은 표적 핵산 서열의 존재 및/또는 양 및/또는 동일성을 결정하는 방법을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 표적 핵산 서열을 증폭하는 검출이 이루어진다. 다른 실시양태에서, 표적 핵산의 서열분석은 표적 핵산을 "검출"하는 것으로 특징지어질 수 있다. 프로브에 부착된 표지는 예를 들어 화학 또는 물리적 수단에 의해 검출될 수 있는 당업계에 공지된 다양한 상이한 표지 중 임의의 것을 포함할 수 있다. 프로브에 부착할 수 있는 표지에는 예를 들어 형광 및 발광 물질이 포함될 수 있다.

[0044] "증폭하는", "증폭" 및 그 문법적 균등물은 표적 핵산 서열의 적어도 일부가 주형 의존적 방식으로 복제되는 임의의 방법을 지칭하며, 이는 다음에 제한되는 것은 아니나, 선형 또는 지수적으로 핵산 서열을 증폭하기 위한 광범위한 기술을 포함한다. 증폭 단계를 수행하기 위한 예시적인 수단은 리가아제 연쇄 반응 (LCR), 리가아제 검출 반응 (LDR), 결찰 후 Q-복제효소 증폭, PCR, 프라이머 연장, 가닥 치환 증폭 (SDA), 과분지형 가닥 치환 증폭, 다중 치환 증폭 (MDA), 핵산 가닥 기반 증폭 (NASBA), 2단계 다중 증폭, 롤링 서클 증폭 (RCA), 재조합효소-중합효소 증폭 (RPA) (TwistDx, Cambridg, UK) 및 자체 유지 서열 복제 (3SR), 예를 들어 다음에 제한되는 것은 아니나, OLA/PCR, PCR/OLA, LDR/PCR, PCR/PCR/LDR, PCR/LDR, LCR/PCR, PCR/LCR (조합 연쇄 반응-CCR로도 공지됨)을 포함하는 다중 버전 또는 이의 조합 등을 포함한다. 이러한 기술에 대한 설명은 특히 다른 문헌 [Sambrook *et al.* Molecular Cloning, 3rd Edition]에서 찾아볼 수 있다.

[0045] 본 명세서에서 일반적으로 사용되는 바와 같이, "약제학적으로 허용 가능한"은 건전한 의학적 판단의 범위 내에서 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응 또는 기타 문제나 합병증이 없이, 합리적인 이익/위험 비율에 상응하는 것으로 인간 및 동물의 조직, 기관 및/또는 체액과의 접촉 사용에 적합한 화합물, 물질, 조성물 및/또는 투여 형태를 지칭한다.

[0046] "약제학적으로 허용 가능한 염"은 상기 규정된 바와 같이 약제학적으로 허용되고 적절한 약리학적 활성을 갖는 본 발명의 화합물의 염을 의미한다. 이러한 염의 비제한적인 예로는 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산 및 인산과 같은 무기산; 또는 유기산, 예컨대 1,2-에탄디술폰산, 2-하이드록시에탄술폰산, 2-나프탈렌술폰산, 3-페닐프로피온산, 4,4'-메틸렌비스(3-하이드록시-2-엔-1-카복실산), 4-메틸비사이클로[2.2.2]옥트-2-엔-1-카복실산, 아세트산, 지방족 모노 및 디카복실산, 지방족 황산, 방향족 황산, 벤젠술폰산, 벤조산, 캄포르술폰산, 탄산, 신남산, 시트르산, 사이클로펜탄프로피온산, 에탄술폰산, 푸마르산, 글루코헵톤산, 글루콘산, 글루탐산, 글리콜산, 헵탄산, 헥산산, 하이드록시나프토산, 락트산, 라우릴황산, 말레산, 말산, 말론산, 만델산, 메탄술폰산, 뮤콘산, o-(4-하이드록시벤조일)벤조산, 옥살산, p-클로로벤젠술폰산, 페닐-치환 알칸산, 프로피온산, p-톨루엔

술폰산, 피루브산, 살리실산, 스테아르산, 숙신산, 타르타르산, 3차부틸아세트산 및 트리메틸아세트산으로 형성된 산부가염을 포함한다. 약제학적으로 허용 가능한 염은 또한 존재하는 산성 양성자가 무기 또는 유기 염기와 반응할 수 있을 때 형성될 수 있는 염기 부가 염을 포함한다. 허용 가능한 무기 염기는 수산화나트륨, 탄산나트륨, 수산화칼륨, 수산화알루미늄 및 수산화칼슘을 포함한다. 허용 가능한 유기 염기의 비제한적 예는 에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민, 트로메타민 및 N 메틸글루카민을 포함한다. 본 발명의 임의의 염의 일부를 형성하는 특정 음이온 또는 양이온은 염이 전체적으로 약리학적으로 허용 가능한 한 중요하지 않음을 이해해야 한다. 약제학적으로 허용 가능한 염 및 이의 제조 및 사용 방법의 추가 예는 문헌[*Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, and Use* (P. H. Stahl & C. G. Wermuth eds., Verlag Helvetica Chimica Acta, 2002)]에 제시되어 있다.

[0047] **II. 저항성 EGFR 돌연변이**

[0048] 본 개시내용의 특정 실시양태는 대상체가 엑손 18, 19, 20 또는 21 돌연변이와 같은 하나 이상의 오시머티닙 저항성 EGFR 돌연변이를 갖는지를 결정하는 것에 관한 것이다. 대상체는 2, 3, 4개 이상의 EGFR 엑손 20 돌연변이를 가질 수 있다. 하나 이상의 EGFR 돌연변이는 E709, L718, G719, G724, C797, V843, T854, L861, 및 L792로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 잔기에 위치할 수 있다. 하나 이상의 EGFR 돌연변이는 G719X, E709X, G724S, L718X, L861Q, T8541, V8431, C797S, 및/또는 L792X일 수 있으며, X는 임의의 아미노산이다. 돌연변이 검출 방법은 PCR 분석 및 핵산 서열분석뿐만 아니라 FISH 및 CGH를 포함하여 당업계에 공지되어 있다. 특정 양태에서, EGFR 돌연변이는 예를 들어 종양 또는 혈장으로부터의 순환 유리 DNA로부터의 DNA 서열분석에 의해 검출된다.

[0049] EGFR 엑손 18 돌연변이 (들)는 아미노산 688 내지 728 사이의 엑손 18의 프레임내 결실의 아미노산 사이의 3 내지 18개의 뉴클레오타이드의 하나 이상의 점 돌연변이, 삽입 및/또는 결실을 포함할 수 있다. 하나 이상의 EGFR 엑손 18 돌연변이는 E709, L718, G719, S720, 및 G724로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 잔기에 위치할 수 있다. 하나 이상의 EGFR 엑손 18 돌연변이는 E709A, L718Q, L718V, G719A, G719S, S720P, 및 G724S를 포함할 수 있다.

[0050] EGFR 엑손 19 돌연변이 (들)는 아미노산 729 내지 761 사이의 엑손 19의 프레임내 결실의 아미노산 사이의 3 내지 18개 뉴클레오타이드의 하나 이상의 점 돌연변이, 삽입 및/또는 결실을 포함할 수 있다. 하나 이상의 EGFR 엑손 19 돌연변이는 I744, L747, L747, A755, K757, 및/또는 D761로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 잔기에 위치할 수 있다. 하나 이상의 EGFR 엑손 19 돌연변이는 I744V, I744T L747S, L747FS, A755T, K757R, 및/또는 D761N을 포함할 수 있다.

[0051] EGFR 엑손 20 돌연변이 (들)는 아미노산 763 내지 823 사이의 3 내지 18개 뉴클레오타이드의 하나 이상의 점 돌연변이, 삽입 및/또는 결실을 포함할 수 있다. 하나 이상의 EGFR 엑손 20 돌연변이는 G724, A763, S768, V769, H773, V774, C775, S784, G796, C797, S811, 및 R776으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 잔기에 위치할 수 있다. 하나 이상의 EGFR 엑손 20 돌연변이는 S784F, R776C, S768I, V774M, S768I, H773insAH, V774A, V769M, S768dupSVD, A763insLQEA, G796D, S784F, C775Y 및/또는 S811F를 포함할 수 있다.

[0052] EGFR 엑손 21 돌연변이 (들)는 아미노산 824 내지 875 사이의 엑손 21의 프레임내 결실의 아미노산 사이의 3 내지 18개 뉴클레오타이드의 하나 이상의 점 돌연변이, 삽입 및/또는 결실을 포함할 수 있다. 하나 이상의 EGFR 엑손 19 돌연변이는 S784, G796, C797, S811, L833, G836, V843, T854, L862, L844, 및 L858로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 잔기에 위치할 수 있다. 하나 이상의 EGFR 엑손 21 돌연변이는 L858R, L833F, L861Q, V843I, L861R, L862V, L844V, L861Q, G836S, 및/또는 T854I를 포함할 수 있다.

[0053] 일부 양태에서, 대상체는 EGFR 잔기 C797에서 돌연변이를 갖거나 발생할 수 있으며, 이는 2세대 퀴나졸린아민 유도체 TKI과 같은 TKI에 대한 저항성을 초래할 수 있다. 따라서, 특정 양태에서, 대상체는 EGFR C797 및/또는 T790, 예컨대 C797S 및/또는 T790M에서 돌연변이를 갖지 않는 것으로 결정된다. 일부 양태에서, T790M과 같은 T790 돌연변이가 있는 대상체에 오시머티닙이 투여될 수 있고 C797S와 같은 C797 돌연변이가 있는 대상체에는 화학요법 및/또는 방사선요법이 투여될 수 있다. 예를 들어, C797S가 통상의 EGFR 돌연변이 (예를 들어, L858R 또는 엑손 19 결실)와 관련하여 획득되고 T790M이 존재하지 않는 경우 이러한 돌연변이는 퀴나졸린아민 TKI에 감응성일 수 있다. 그러나 C797S 돌연변이가 T790M 돌연변이 또는 엑손 20 삽입 돌연변이로 획득된 경우 이러한 돌연변이는 퀴나졸린아민 TKI에 저항성일 수 있다. 또한, T790M 돌연변이가 통상의 돌연변이 (예를 들어, L858R 또는 엑손 19 결실)로 획득된 경우 이러한 돌연변이는 퀴나졸린아민 TKI에 저항성일 수 있지만 오시머티닙에 감응성일 수 있다. 또한 시험관내에서 엑손 18점 돌연변이 (G719X/T790M)로 T790M 돌연변이가 획득된 경우 이러한

돌연변이는 퀴나졸린아민 TKI에 감응성인 상태로 유지되는 것으로 보인다. 일부 양태에서, L858R/C797S, Ex19del/C797S, 또는 G719X/T790M 돌연변이는 퀴나졸린아민 TKI에 감응성이다. 그러나, 특정 양태에서, L858R/T790M/C797S, 엑손 19 결실/T790M/C797, 및 엑손 20 삽입+ C797S 또는 T790M 돌연변이는 EGFR TKI에 저항성이다.

[0054] 환자 샘플은 대상체의 폐암으로부터의 핵산을 포함하는 임의의 신체 조직 또는 체액일 수 있다. 특정 실시양태에서, 샘플은 순환하는 종양 세포 또는 무세포 DNA를 포함하는 혈액 샘플일 것이다. 다른 실시양태에서, 샘플은 폐 조직과 같은 조직일 수 있다. 폐 조직은 종양 조직으로부터 유래할 수 있으며 급속 동결 또는 포르말린 고정, 파라핀 포매 (FFPE)일 수 있다. 특정 실시양태에서, 폐 종양 FFPE 샘플이 획득된다.

[0055] 본 명세서에 기재된 방법에 사용하기에 적합한 샘플은 유전 물질, 예를 들어, 게놈 DNA (gDNA)를 포함한다. 게놈 DNA는 일반적으로 혈액 또는 입 안에서 긁어낸 점막과 같은 생물학적 샘플로부터 추출되지만 소변, 종양 또는 가래를 포함한 다른 생물학적 샘플로부터 추출될 수 있다. 샘플 자체는 일반적으로 정상 또는 종양 조직을 포함하여 대상체로부터 분리된 유핵 세포 (예를 들어, 혈액 또는 협측 세포) 또는 조직을 포함할 것이다. 샘플을 획득하고, 처리하고, 분석하기 위한 방법 및 시약은 당업계에 공지되어 있다. 일부 실시양태에서, 샘플은 예를 들어 채혈을 위해 의료 행위자의 도움으로 획득된다. 일부 실시양태에서, 샘플은 예를 들어 협측 면봉 또는 브러시를 사용하여 획득된 협측 세포를 포함하는 샘플 또는 구강 세척 샘플과 같이 샘플이 비침습적으로 획득되는 경우 의료 행위자의 도움 없이 획득된다.

[0056] 일부 경우에, 생물학적 샘플은 DNA 단리를 위해 처리될 수 있다. 예를 들어, 세포 또는 조직 샘플의 DNA는 샘플의 다른 구성요소로부터 분리될 수 있다. 세포는 당업계에 공지된 표준 기술을 사용하여 생물학적 샘플로부터 수확될 수 있다. 예를 들어, 세포 샘플을 원심분리하고 펠렛화된 세포를 재현탁하여 세포를 수확할 수 있다. 세포는 인산염 완충 식염수 (PBS)와 같은 완충 용액에 재현탁될 수 있다. 세포 현탁액을 원심분리하여 세포 펠릿을 획득한 후, 세포를 용해하여 DNA, 예를 들어 gDNA를 추출할 수 있다. 예를 들어, 문헌[Ausubel *et al.* (2003)]을 참조한다. 샘플을 농축 및/또는 정제하여 DNA를 단리할 수 있다. 임의의 종류의 추가 처리에 적용된 샘플을 포함하여 대상체로부터 획득된 모든 샘플은 대상체로부터 획득된 것으로 간주된다. 통상적인 방법은 예를 들어 페놀 추출을 포함하여 생물학적 샘플로부터 게놈 DNA를 추출하는데 사용될 수 있다. 대안적으로 QIAamp® 조직 키트 (Qiagen, Chatsworth, Calif.) 및 Wizard® 게놈 DNA 정제 키트 (Promega)와 같은 키트를 사용하여 게놈 DNA를 추출할 수 있다. 샘플 공급원의 비제한적 예에는 소변, 혈액 및 조직이 포함된다.

[0057] 본 명세서에 기재된 바와 같은 저항성 EGFR 돌연변이의 존재 또는 부재는 당업계에 공지된 방법을 사용하여 결정될 수 있다. 예를 들어, 겔 전기영동, 모세관 전기영동, 크기 배제 크로마토그래피, 서열분석 및/또는 어레이를 사용하여 삽입 돌연변이의 존재 또는 부재를 검출할 수 있다. 적절한 경우 핵산 증폭은 당업계에 공지된 방법, 예를 들어 PCR을 사용하여 달성할 수 있다. 일례에서, 샘플 (예를 들어, 게놈 DNA를 포함하는 샘플)은 대상체로부터 획득된다. 그런 다음 샘플의 DNA를 검사하여 본 명세서에 기재된 삽입 돌연변이의 정체를 결정한다. 삽입 돌연변이는 예를 들어 게놈 DNA, RNA 또는 cDNA의 유전자를 핵산 프로브, 예를 들어 DNA 프로브 (cDNA 및 올리고뉴클레오타이드 프로브 포함) 또는 RNA 프로브에 대한 혼성화 또는 서열분석에 의해 본 명세서에 기재된 임의의 방법에 의해 검출될 수 있다. 핵산 프로브는 특정 변이체와 특이적으로 또는 우선적으로 혼성화하도록 설계될 수 있다.

[0058] 프로브 세트는 일반적으로 본 개시내용의 실행 가능한 치료 권장 사항에 사용되는 표적 유전자 변이 (예를 들어, EGFR 돌연변이)를 검출하는데 사용되는 프라이머 세트, 일반적으로 프라이머 쌍 및/또는 검출 가능하게 표지된 프로브를 지칭한다. 프라이머 쌍은 전술한 유전자 각각에 대한 표적 유전자 변이에 대한 영역 범위의 앰플리콘을 규정하기 위해 증폭 반응에 사용된다. 앰플리콘 세트는 상응하는 프로브 세트에 의해 검출된다. 예시적인 실시양태에서, 본 방법은 EGFR 돌연변이와 같은 표적 유전적 변이의 세트를 검출하는데 사용되는 TaqMan™ (Roche Molecular Systems, Pleasanton, Calif.) 분석을 사용할 수 있다. 일 실시양태에서, 프로브 세트는 차세대 서열분석 반응과 같은 핵산 서열분석 반응에 의해 검출되는 앰플리콘을 생성하는데 사용되는 프라이머 세트이다. 이러한 실시양태에서, 예를 들어 AmpliSEQ™ (Life Technologies/Ion Torrent, Carlsbad, Calif.) 또는 TruSEQ™ (Illumina, San Diego, Calif.) 기술이 사용될 수 있다.

[0059] 핵산 마커의 분석은 제한 없이 서열 분석 및 전기영동 분석을 포함하는 당업계에 공지된 기술을 사용하여 수행될 수 있다. 서열 분석의 비제한적 예에는 Maxam-Gilbert 서열분석, Sanger 서열분석, 모세관 어레이 DNA 서열분석, 열 순환 서열분석 (문헌[Sears et al., 1992]), 고체상 서열분석 (문헌[Zimmerman et al., 1992]), 질량분석기에 의한 서열분석, 예컨대 매트릭스 보조 레이저 탈착/이온화 구동 시간 질량 분석기 (MALDI-TOF/MS; 문

헌[Fu et al., 1998]) 및 혼성화에 의한 서열분석 (문헌[Chee et al., 1996; Drmanac et al., 1993; Drmanac et al., 1998])을 포함한다. 전기영동 분석의 비제한적인 예에는 아가로스 또는 폴리아크릴아미드 겔 전기영동과 같은 slab 겔 전기영동, 모세관 전기영동 및 변성 구배 겔 전기영동이 포함된다. 또한, 차세대 서열분석 방법은 Life Technologies/Ion Torrent PGM 또는 Proton, Illumina HiSEQ 또는 MiSEQ, Roche/454 차세대 서열분석 시스템과 같은 회사의 상용 키트 및 기기를 사용하여 수행할 수 있다.

[0060] 핵산 분석의 다른 방법은 직접 수동 서열분석 (문헌[Church and Gilbert, 1988; Sanger et al., 1977]; 미국 특허 제 5,288,644호); 자동화된 형광 서열분석; 단일 가닥 입체형태 다형성 분석 (SSCP) (문헌[Schafer et al., 1995]); 클램프된 변성 겔 전기영동 (CDGE); 2차원 겔 전기영동 (2DGE 또는 TDGE); 입체형태적 감응성 겔 전기영동 (CSGE); 변성 구배 겔 전기영동 (DGGE) (문헌[Sheffield et al., 1989]); 고성능 액체 크로마토그래피 변성 (DHPLC, 문헌[Underhill et al., 1997]); 적외선 매트릭스 보조 레이저 탈착/이온화 (IR-MALDI) 질량분석 (WO 99/57318); 이동성 변화 분석 (문헌[Orita et al., 1989]); 제한 효소 분석 (문헌[Flavell et al., 1978; Geever et al., 1981]); 정량적 실시간 PCR (문헌[Raca et al., 2004]); 이종이량체 분석; 화학적 불일치 절단 (CMC) (문헌[Cotton et al., 1985]); RNase 보호 분석 (문헌[Myers et al., 1985]); 뉴클레오타이드 불일치를 인식하는 폴리펩타이드, 예를 들어 E. 콜라이 mutS 단백질의 사용; 대립유전자 특이적 PCR 및 이러한 방법의 조합을 포함할 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 공개 제 2004/0014095호를 참조하며, 상기 문헌은 그 전문이 본 명세서에 참조로 포함된다.

[0061] 일례에서, 샘플에서 EGFR 돌연변이를 확인하는 방법은 돌연변이 EGFR 단백질, 또는 돌연변이를 포함하는 이의 단편을 인코딩하는 핵산에 대해 특이적으로 혼성화할 수 있는 핵산 프로브와 상기 샘플로부터의 핵산을 접촉시키고, 상기 혼성화를 검출하는 단계를 포함한다. 특정 실시양태에서, 상기 프로브는 방사성 동위원소 (^{3}H, ^{32}P, 또는 ^{33}P), 형광제 (로다민 (rhodamine) 또는 플루오레세인 (fluorescein)) 또는 발색제로 검출가능하게 표지된다. 특정 실시양태에서, 프로브는 안티센스 올리고머, 예를 들어 PNA, 모르폴리노-포스포르아미데이트, LNA 또는 2'-알콕시알콕시이다. 프로브는 약 8개 뉴클레오타이드 내지 약 100개 뉴클레오타이드, 또는 약 10개 내지 약 75개, 또는 약 15개 내지 약 50개, 또는 약 20개 내지 약 30개일 수 있다. 또 다른 양태에서, 본 개시내용의 상기 프로브는 샘플에서 EGFR 돌연변이를 확인하기 위한 키트로서, 상기 키트는 EGFR 유전자의 돌연변이 부위에 특이적으로 혼성화하거나 이에 인접하는 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 키트는 키트를 사용한 혼성화 시험의 결과에 기반하여 2세대 퀴나졸린아민 유도체 TKI으로 EGFR 돌연변이를 포함하는 종양을 갖는 환자를 치료하기 위한 설명서를 추가로 포함할 수 있다.

[0062] 또 다른 양태에서, 샘플에서 EGFR 돌연변이를 검출하는 방법은 상기 샘플로부터 상기 EGFR 유전자에 상응하는 핵산, 또는 돌연변이를 포함하는 것으로 예측되는 이의 단편을 증폭하고, 증폭된 핵산의 전기영동 이동성을 해당 야생형 EGFR 유전자 또는 이의 단편의 전기영동 이동성과 비교하는 단계를 포함한다. 이동성의 차이는 증폭된 핵산 서열에 돌연변이가 존재함을 나타낸다. 전기영동 이동성은 폴리아크릴아미드 겔에서 결정될 수 있다.

[0063] 대안적으로, 핵산은 효소 돌연변이 검출 (EMD)을 사용하여 돌연변이의 검출을 위해 분석될 수 있다 (문헌[Del Tito et al., 1998]). EMD는 박테리오파지 분해효소 T_4 엔도뉴클레아제 VII를 사용하는데, 이는 점 돌연변이, 삽입 및 결실로 인한 염기쌍 불일치로 인한 구조적 변형을 검출하고 절단할 때까지 이중 가닥 DNA를 따라 스캔한다. 예를 들어 겔 전기영동에 의한 분해효소 절단에 의해 형성된 2개의 짧은 단편의 검출은 돌연변이의 존재를 나타낸다. EMD 방법의 이점은 PCR 반응으로부터 직접 분석된 점 돌연변이, 결실 및 삽입을 확인하는 단일 프로토콜로, 샘플 정제가 필요하지 않고 혼성화 시간이 단축되며 신호 대 잡음비가 증가한다. 최대 20배 초과의 정상 DNA 및 최대 4kb 크기의 단편을 포함하는 혼합 샘플을 분석할 수 있다. 그러나 EMD 스캐닝은 필요한 경우 돌연변이를 확인하기 위해 추가 서열분석 절차가 필요한 돌연변이 양성 샘플에서 발생하는 특정 염기 변화를 확인하지 못한다. CEL I 효소는 미국 특허 제 5,869,245호에서 입증된 바와 같이 분해효소 T_4 엔도뉴클레아제 VII와 유사하게 사용될 수 있다.

[0064] **III. 치료 방법**

[0065] 개체에서 암의 진행을 치료하거나 지연시키는 방법으로서, 저항성 EGFR 돌연변이를 갖는 것으로 결정된 대상체에게 유효량의 2세대 퀴나졸린아민 유도체 TKI 또는 구조적으로 유사한 억제제를 투여하는 단계를 포함하는 방법이 추가로 본 명세서에 제공된다. 대상체는 하나 초과의 EGFR 돌연변이를 가질 수 있다.

[0066] 치료가 고려되는 암의 예는 폐암, 두경부암, 유방암, 췌장암, 전립선암, 신장암, 골암, 고환암, 자궁경부암, 위장관암, 림프종, 폐의 종양 전 병변, 결장암, 흑색종 및 방광암을 포함한다. 특정 양태에서, 암은 비-소세포 폐

암이다.

[0067] 일부 실시양태에서, 대상체는 포유류, 예를 들어 영장류, 바람직하게는 고등 영장류, 예를 들어 인간 (예를 들어, 본 명세서에 기재된 장애를 갖거나 가질 위험이 있는 환자)이다. 일 실시양태에서, 대상체는 면역 반응을 향상시킬 필요가 있다. 특정 실시양태에서, 대상체는 면역이 저하되었거나 면역이 저하될 위험이 있다. 예를 들어, 대상체는 화학요법 치료 및/또는 방사선 요법을 받고 있거나 받은 적이 있다. 대안적으로, 또는 조합하여, 대상체는 감염의 결과로 면역이 저하되었거나 또는 면역이 저하될 위험이 있다.

[0068] 특정 실시양태는 오시머티닙 저항성 EGFR 돌연변이를 갖는 것으로 결정된 대상체에 2세대 퀴나졸린아민 유도체 TKI를 투여하는 것에 관한 것이다. 2세대 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 정제와 같이 경구 투여될 수 있다. 2세대 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 4 내지 25 mg의 투여량, 예컨대 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 또는 24 mg의 투여량으로 투여될 수 있다. 투여는 매일, 격일로, 3일마다 또는 매주 이루어질 수 있다. 투여는 28일 주기와 같이 연속적인 일정에 따라 이루어질 수 있다.

[0069] 오시머티닙, 화학요법 및/또는 방사선은 단독으로 또는 2세대 퀴나졸린아민 유도체 TKI과 조합하여 투여될 수 있다. 오시머티닙은 25 내지 100 mg, 예컨대 약 40 또는 80 mg의 투여량으로 투여될 수 있다. 투여는 매일, 격일로, 2일마다, 3일마다, 또는 매주 이루어질 수 있다. 오시머티닙은 정제와 같이 경구 투여될 수 있다.

[0070] **A. 약제학적 조성물**

[0071] 또한, 저항성 EGFR 돌연변이를 갖는 것으로 결정된 대상체에 대해 2세대 퀴나졸린아민 유도체 TKI 및 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물 및 제형이 본 명세서에 제공된다.

[0072] 본 명세서에 기재된 바와 같은 약제학적 조성물 및 제형은 적절한 순도를 갖는 활성 성분 (예를 들어, 항체 또는 폴리펩타이드)을 하나 이상의 임의의 약제학적으로 허용 가능한 담체와 혼합함으로써 동결건조 제형 또는 수용액 형태로 제조될 수 있다 (문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences 22nd edition, 2012]). 약제학적으로 허용 가능한 담체는 일반적으로 사용되는 투여량 및 농도에서 수용체에게 무독성이며, 다음에 제한되는 것은 아니나, 포스페이트, 시트레이트 및 기타 유기산과 같은 완충제; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함하는 항산화제; 보존제 (예를 들어, 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤잘코늄 클로라이드; 벤제토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 메틸 또는 프로필 파라벤과 같은 알킬 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 사이클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량 (약 10개 미만의 잔기) 폴리펩타이드; 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린과 같은 단백질; 폴리비닐피롤리돈과 같은 친수성 중합체; 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 라이신과 같은 아미노산; 글루코스, 만노스 또는 덱스트린을 포함하는 단당류, 이당류, 및 기타 탄수화물; EDTA와 같은 킬레이트제; 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨과 같은 당류; 나트륨과 같은 염 형성 반대 이온; 금속 착물 (예를 들어, Zn-단백질 착물); 및/또는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)과 같은 비이온성 계면활성제를 포함한다. 본 명세서에서 예시적인 약제학적으로 허용 가능한 담체는 간질 약물 분산제, 예컨대 가용성 중성-활성 히알루로니다제 당단백질 (sHASEGP), 예를 들어 인간 가용성 PH-20 히알루로니다제 당단백질, 예컨대 rHuPH20 (HYLENEX®, Baxter International, Inc.)을 추가로 포함한다. rHuPH20을 포함하는 특정 예시적인 sHASEGP 및 사용 방법은 미국 특허 공개 제 2005/0260186호 및 제 2006/0104968호에 기재되어 있다. 일 양태에서, sHASEGP는 콘드로이티나제와 같은 하나 이상의 추가 글리코사미노글리카나제와 조합된다.

[0073] **B. 조합 요법**

[0074] 특정 실시양태에서, 본 실시양태의 조성물 및 방법은 적어도 하나의 추가 요법과 조합된 2세대 퀴나졸린아민 유도체 TKI를 포함한다. 추가 요법은 방사선 요법, 수술 (예를 들어, 종괴 절제술 및 유방 절제술), 화학 요법, 유전자 요법, DNA 요법, 바이러스 요법, RNA 요법, 면역요법, 골수 이식, 나노 요법, 단일클론 항체 요법 또는 이의 조합일 수 있다. 추가 요법은 애주번트 또는 네오애주번트 요법의 형태일 수 있다.

[0075] 일부 실시양태에서, 추가 요법은 소분자 효소 억제제 또는 항전이제의 투여이다. 일부 실시양태에서, 추가 요법은 부작용 제한제 (예를 들어, 항메스꺼움제 등과 같은 치료 부작용의 발생 및/또는 중증도를 감소시키도록 의도된 제제)의 투여이다. 일부 실시양태에서, 추가 요법은 방사선 요법이다. 일부 실시양태에서, 추가 요법은 수술이다. 일부 실시양태에서, 추가 요법은 방사선 요법 및 수술의 조합이다. 일부 실시양태에서, 추가 요법은 감마 조사이다. 일부 실시양태에서, 추가 요법은 PBK/AKT/mTOR 경로, HSP90 억제제, 튜불린 억제제, 세포자멸사 억제제, 및/또는 화학보존제를 표적화하는 요법이다. 추가 요법은 당업계에 공지된 하나 이상의 화학요법제일 수 있다.

[0076] 2세대 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 면역 체크포인트 요법과 같은 추가적인 암 요법 이전, 동안, 이후에, 또는 다양한 조합으로 투여될 수 있다. 투여는 동시에서 수 분, 수 일 수 주 범위의 간격으로 이루어질 수 있다. 2세대 퀴나졸린아민 유도체 TKI가 추가 치료제와 별도로 환자에게 제공되는 실시양태에서, 일반적으로 두 화합물이 환자에 유리하게 조합된 효과를 여전히 발휘할 수 있도록 각 전달 시간 사이에 상당한 기간이 경과되지 않도록 할 것이다. 이러한 경우에, 항체 요법 및 항암 요법은 서로 약 12 내지 24 또는 72시간 이내에, 보다 구체적으로는 서로 약 6 내지 12시간 이내에 환자에게 제공할 수 있는 것으로 고려된다. 일부 상황에서는 각 투여 사이에 수 일 (2, 3, 4, 5, 6 또는 7) 내지 수 주 (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8)가 경과되도록 치료 기간을 유의하게 연장하는 것이 바람직할 수 있다.

[0077] 다양한 조합이 사용될 수 있다. 아래 예에서 2세대 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 "A"이고 항암 요법은 "B"이다:

[0078] A/B/A B/A/B B/B/A A/A/B A/B/B B/A/A A/B/B/B B/A/B/B

[0079] B/B/B/A B/B/A/B A/A/B/B A/B/A/B A/B/B/A B/B/A/A

[0080] B/A/B/A B/A/A/B A/A/A/B B/A/A/A A/B/A/A A/A/B/A

[0081] 임의의 화합물 또는 본 실시양태의 요법을 환자에게 투여하는 단계는 존재하는 경우 제제의 독성을 고려하여 이러한 화합물의 투여를 위한 일반적인 프로토콜을 따를 것이다. 따라서, 일부 실시양태에서 조합 요법에 기인하는 독성을 모니터링하는 단계가 있다.

[0082] **1. 화학 요법**

[0083] 매우 다양한 화학요법제가 본 실시양태에 따라 사용될 수 있다. "화학 요법"이라는 용어는 암을 치료하기 위해 약물을 사용하는 것을 지칭한다. "화학요법제"는 암 치료에 투여되는 화합물 또는 조성물을 의미하는 것으로 사용된다. 이러한 제제 또는 약물은 세포내 활성 모드, 예를 들어 세포 주기에 영향을 미치는지 및 그 단계에 따라 분류된다. 대안적으로, 제제는 DNA를 직접 교차 연결하거나, DNA에 삽입하거나, 핵산 합성에 영향을 주어 염색체 이상 및 유사분열 이상을 유도하는 능력을 기반으로 특성화될 수 있다.

[0084] 화학요법제의 예에는 티오테파 및 사이클로포스파미드와 같은 알킬화제; 부술판, 임프로술판, 피포술판과 같은 알킬술폰산염 ; 벤조도파, 카보쿠온, 메투레도파 및 우레도파와 같은 아지리딘; 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포르아미드, 트리에틸렌티오포스포르아미드, 및 트리메틸올로멜라민을 포함하는 에틸렌이민 및 메틸아멜라민; 아세토게닌 (특히 불라타신 및 불라타시논); 캄프토테신 (합성 유사체 토포테칸 포함); 브리오스타틴; 칼리스타틴; CC-1065 (이의 아도젤레신, 카르젤레신 및 비젤레신 합성 유사체 포함); 크립토피신 (특히 크립토피신 1 및 크립토피신 8); 돌라스타틴; 듀오카르마이신 (합성 유사체, KW-2189 및 CB1-TM1 포함); 엘류테로빈; 판크라티스타틴; 사르코딕틴; 스폰지스타틴; 클로람부실, 클로르나파진, 콜로포스파미드, 에스트라무스틴, 이포스파미드, 메클로레타민, 메클로레타민 옥사이드 하이드로클로라이드, 멜팔란, 노벰비친, 페네스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파미드 및 우라실 머스타드와 같은 질소 머스타드; 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴 및 라님누스틴과 같은 니트로우레아; 엔디인 항생제 (예를 들어, 칼리케아미신, 특히 칼리케아미신 감마I 및 칼리케아미신 오메가I1)와 같은 항생제; 다이네미신 A를 포함하는 다이네미신; 클로드로네이트와 같은 비스포스포네이트; 에스페라미신; 뿐만 아니라 네오카르지노스타틴 발색단 및 관련 발색단백 엔디인 항생물질 발색단, 아클라시노마이신, 악티노마이신, 아우트라르니신, 아자세린, 블레오마이신, 칵티노마이신, 카라비신, 카르미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, 독소루비신 (모르폴리노-독소루비신, 시아노모르폴리노-독소루비신, 2-피롤리노-독소루비신 및 데옥시독소루비신 포함), 에피루비신, 에소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신, 예컨대 미토마이신 C, 마이코페놀산, 노갈라나이신, 올리보마이신, 페플로마이신, 포트피로마이신, 퓨로마이신, 쿠엘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니멕스, 지노스타틴 및 조루비신; 메토트렉세이트 및 5-플루오로우라실 (5-FU)과 같은 항대사물질; 데놉테린, 프테롭테린 및 트리메트렉세이트와 같은 엽산 유사체; 플루다라빈, 6-메르캅토퓨린, 티아미프린 및 티오구아닌과 같은 퓨린 유사체; 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자우리딘, 카르모푸르, 시타라빈, 디데옥시우리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈 및 플록수리딘과 같은 피리미딘 유사체; 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스탄올, 메피티오스탄 및 테스토락톤과 같은 안드로겐; 미토탄 및 트리로스탄과 같은 항-부신; 프롤린산과 같은 엽산 보충제; 아세글라톤; 알도포스파미드 글리코사이드; 아미노레불린산; 에닐루라실; 암사크린; 베스트라부실; 비산트렌; 에다트락세이트; 데파민; 데메콜신; 디아지쿠온; 엘포르미틴; 엘립티늄 아세테이트; 에포틸론; 에토글루시드; 질산갈륨; 하이드록시우레아; 렌티난; 로니다이닌; 메이탄신 및 안사미토신과 같은 메이탄시노이드;

미토구아존; 미톡산트론; 모피단몰; 니트라에린; 펜토스타틴; 페나멧; 피라루비신; 로속산트론; 포도필린산; 2-에틸히드라지드; 프로카바진; PSK다당류 복합체; 라족산; 리족신; 시조피란; 스피로게르마늄; 테누아존산; 트리아지쿠온; 2,2',2'-트리클로로트리에틸아민; 트리코테센 (특히 T-2 독소, 베라쿠린 A, 로리딘 A 및 안귀딘); 우레탄; 빈데신; 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미톨락톨; 피포브로만; 가시토신; 아라비노사이드 ("Ara-C"); 사이클로포스파미드; 탁소이드, 예를 들어 파클리탁셀 및 도세탁셀 젬시타빈; 6-티오구아닌; 머캅토퓨린; 시스플라틴, 옥살리플라틴 및 카보플라틴과 같은 백금 배위 착물; 빈블라스틴; 백금; 에토포사이드 (VP-16); 이포스파미드; 미톡산트론; 빈크리스틴; 비노렐빈; 노반트론; 테니포사이드; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 젤로다; 이반드로네이트; 이리노테칸 (예를 들어, CPT-11); 토포이소머라제 억제제 RFS 2000; 디플루오로메틸로니틴 (DMFO); 레티노산과 같은 레티노이드; 카페시타빈; 카보플라틴, 프로카르바진, 플리코마이신, 젬시타비엔, 나벨빈, 파르네실-단백질 탄스페라제 억제제, 트랜스플라티늄, 및 상기 임의의 것의 약제학적으로 허용 가능한 염, 산 또는 유도체가 포함된다.

[0085] **2. 방사선 요법**

[0086] DNA 손상을 유발하고 광범위하게 사용되는 다른 인자는 일반적으로 γ-선, X-선, 및/또는 종양 세포로의 방사성 동위원소의 유도 전달로 공지된 것을 포함한다. 마이크로파, 양성자 빔 조사 (미국 특허 제 5,760,395호 및 제 4,870,287호) 및 UV 조사와 같은 다른 형태의 DNA 손상 인자가 또한 고려된다. 이러한 모든 인자는 DNA, DNA 전구체, DNA 복제 및 복구, 염색체 조립 및 유지에 대한 광범위한 손상에 영향을 미칠 가능성이 가장 높다. X선의 선량 범위는 장기간 (3 내지 4주) 동안 50 내지 200 뢴트겐의 일일 선량에서 2000 내지 6000 뢴트겐의 단일 선량 범위이다. 방사성 동위원소의 선량 범위는 매우 다양하며 동위원소의 반감기, 방출되는 방사선의 강도와 유형, 신생물 세포의 흡수에 따라 다르다.

[0087] **3. 면역요법**

[0088] 당업자는 추가적인 면역요법이 실시양태의 방법과 조합 또는 결합하여 사용될 수 있음을 이해할 것이다. 암 치료와 관련하여, 면역치료제는 일반적으로 암세포를 표적화하고 파괴하기 위해 면역 효과기 세포 및 분자의 사용에 의존한다. 리툭시맙 (RITUXAN®)이 그러한 예이다. 면역 효과기는 예를 들어 종양 세포 표면의 일부 마커에 특이적인 항체일 수 있다. 항체는 단독으로 요법의 효과기 역할을 하거나 다른 세포를 집합시켜 실제로 세포 사멸을 유발할 수 있다. 항체는 또한 약물 또는 독소 (화학요법제, 방사성핵종, 리신 A 사슬, 콜레라 독소, 백일해 독소 등)에 접합될 수 있고 표적화제로 작용할 수 있다. 대안적으로, 효과기는 종양 세포 표적과 직접 또는 간접적으로 상호작용하는 표면 분자를 운반하는 림프구일 수 있다. 다양한 효과기 세포에는 세포독성 T 세포 및 NK 세포가 포함된다.

[0089] 항체-약물 접합체는 암 치료제 개발에 대한 획기적인 접근법으로 등장하였다. 암은 세계에서 사망의 주요 원인 중 하나이다. 항체-약물 접합체 (ADC)는 세포 사멸 약물에 공유결합에 의해 연결된 단일클론 항체 (MAb)를 포함한다. 이 접근법은 항원 표적에 대한 MAb의 높은 특이성을 매우 강력한 세포독성 약물과 조합하여 항원 수준이 다량 존재하는 종양 세포에 함유물 (약물)을 전달하는 "무장된" MAb를 생성한다. 약물의 표적 전달은 또한 정상 조직에서의 노출을 최소화하여 독성을 감소시키고 치료 지수를 향상시킨다. FDA는 2011년 ADCETRIS® (브렌툭시맙 베도틴) 및 2013년 KADCYLA® (트라스투주맙 엠탄신 또는 T-DM1)의 두 가지 ADC 약물의 승인을 통해 이 접근법을 검증하였다. 현재 암 치료에 대한 임상 시험의 다양한 단계에서 30개 초과의 ADC 약물 후보가 있다 (문헌 [Leal et al., 2014]). 항체 조작 및 링커 함유물 최적화가 점점 더 발전함에 따라 신규한 ADC의 발견 및 개발은 이 접근 방식에 적합한 새로운 표적의 확인 및 검증과 표적 MAb 생성에 대한 의존도가 증가하고 있다. ADC 표적에 대한 두 가지 기준은 종양 세포에서의 상향 조절/높은 수준의 발현 및 강력한 내재화이다.

[0090] 면역요법의 일 양태에서, 종양 세포는 표적화될 수 있는, 즉 대다수의 다른 세포에 존재하지 않는 일부 마커를 보유해야 한다. 많은 종양 마커가 존재하고 이들 중 임의의 것이 본 실시양태와 관련하여 표적화에 적합할 수 있다. 일반적인 종양 마커는 CD20, 암배아 항원, 티로시나제 (p97), gp68, TAG-72, HMFG, 시알릴 루이스 항원, MucA, MucB, PLAP, 라미닌 수용체, erb B 및 p155를 포함한다. 면역 요법의 대안적 양태는 항암 효과와 면역 자극 효과를 조합하는 것이다. IL-2, IL-4, IL-12, GM-CSF, 감마-IFN과 같은 사이토카인, MIP-1, MCP-1, IL-8과 같은 케모카인 및 FLT3 리간드와 같은 성장 인자를 포함하는 면역 자극 분자가 또한 존재한다.

[0091] 면역 요법의 예에는 면역 애주번트, 예를 들어 Mycobacterium bovis, Plasmodium falciparum, 디니트로클로로벤젠 및 방향족 화합물 (미국 특허 제 5,801,005호 및 제 5,739,169호; 문헌[Hui and Hashimoto, 1998; Christodoulides *et al.*, 1998]); 사이토카인 요법, 예를 들어, 인터페론 α, β, 및 γ, IL-1, GM-CSF, 및 TNF (문헌[Bukowski *et al.*, 1998; Davidson *et al.*, 1998; Hellstrand *et al.*, 1998]); 유전자 요법, 예를

들어, TNF, IL-1, IL-2 및 p53 (문헌[Qin et al., 1998; Austin-Ward and Villaseca, 1998]; 미국 특허 제 5,830,880호 및 제 5,846,945호); 및 단일클론 항체, 예를 들어 항-CD20, 항-강글리오사이드 GM2 및 항-p185 (문헌[Hollander, 2012; Hanibuchi et al., 1998]; 미국 특허 제 5,824,311호)가 포함된다. 하나 이상의 항암 요법이 본 명세서에 기재된 항체 요법과 함께 사용될 수 있는 것으로 고려된다.

[0092] 일부 실시양태에서, 면역요법은 면역 체크포인트 억제제일 수 있다. 면역 체크포인트는 신호 (예를 들어, 공자극 분자)를 개시시키거나 신호를 종료시킨다. 면역 체크포인트 차단에 의해 표적화될 수 있는 억제 면역 체크포인트에는 아데노신 A2A 수용체 (A2AR), B7-H3 (CD276이라고도 함), B 및 T 림프구 감쇠인자 (BTLA), 세포독성 T-림프구 관련 단백질 4 (CTLA-4, CD152라고도 함), 인돌아민 2,3-디옥시게나제 (IDO), 킬러 세포 면역글로불린 (KIR), 림프구 활성화 유전자-3 (LAG3), 계획된 사멸 1 (PD-1), T 세포 면역글로불린 도메인 및 뮤신 도메인 3 (TIM-3) 및 V-도메인 Ig T 세포 활성화 억제인자 (VISTA)가 포함된다. 특히, 면역 체크포인트 억제제는 PD-1 축 및/또는 CTLA-4를 표적화한다.

[0093] 면역 체크포인트 억제제는 소분자, 리간드 또는 수용체의 재조합 형태와 같은 약물일 수 있거나, 특히 인간 항체와 같은 항체일 수 있다 (예를 들어, 국제 특허 공개 WO2015016718; 문헌[Pardoll, Nat Rev Cancer, 12 (4): 252-64, 2012]; 상기 두 문헌 모두 본 명세서에 참조로 포함됨). 면역 체크포인트 단백질 또는 이의 유사체의 공지된 억제제가 사용될 수 있으며, 특히 키메라화, 인간화 또는 인간 형태의 항체가 사용될 수 있다. 당업자가 알고 있는 바와 같이, 본 개시내용에서 언급된 특정 항체에 대해 대안 및/또는 균등한 명칭이 사용될 수 있다. 그러한 대안 및/또는 균등한 명칭은 본 발명과 관련하여 혼용 가능하다. 예를 들어, 람브롤리주맙은 대안 및 균등한 명칭 MK-3475 및 펨브롤리주맙으로도 언급되는 것으로 알려져 있다.

[0094] 일부 실시양태에서, PD-1 결합 길항제는 PD-1이 이의 리간드 결합 대상체에 결합하는 것을 억제하는 분자이다. 특정 양태에서, PD-1 리간드 결합 대상체는 PDL1 및/또는 PDL2이다. 또 다른 실시양태에서, PDL1 결합 길항제는 PDL1이 이의 결합 대상체에 결합하는 것을 억제하는 분자이다. 특정 양태에서, PDL1 결합 대상체는 PD-1 및/또는 B7-1이다. 또 다른 실시양태에서, PDL2 결합 길항제는 PDL2가 이의 결합 대상체에 결합하는 것을 억제하는 분자이다. 특정 양태에서, PDL2 결합 대상체는 PD-1이다. 길항제는 항체, 이의 항원 결합 단편, 면역접합체, 융합 단백질, 또는 올리고펩타이드일 수 있다. 예시적인 항체는 미국 특허 제 8,735,553호, 제 8,354,509호 및 제 8,008,449호에 기재되어 있으며, 상기 문헌 모두는 본 명세서에 참조로 포함된다. 본 명세서에 제공된 방법에 사용하기 위한 다른 PD-1 축 길항제는 미국 특허 공개 US20140294898, US2014022021, 및 US20110008369에 기재된 바와 같이 당업계에 공지되어 있으며, 상기 문헌 모두는 본 명세서에 참조로 포함된다.

[0095] 일부 실시양태에서, PD-1 결합 길항제는 항-PD-1 항체 (예를 들어, 인간 항체, 인간화 항체, 또는 키메라 항체)이다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맙, 펨브롤리주맙, 및 CT-011로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, PD-1 결합 길항제는 면역접합체 (예를 들어, 불변 영역 (예를 들어, 면역글로불린 서열의 Fc 영역)에 융합된 PDL1 또는 PDL2의 세포외 또는 PD-1 결합 부분을 포함하는 면역접합체)이다. 일부 실시양태에서, PD-1 결합 길항제는 AMP-224이다. MDX-1106-04, MDX-1106, ONO-4538, BMS-936558, 및 OPDIVO®로도 공지된 니볼루맙은 WO2006/121168에 기재된 항-PD-1 항체이다. MK-3475, Merck 3475, 람브롤리주맙, KEYTRUDA® 및 SCH-900475로도 공지된 펨브롤리주맙은 WO2009/114335에 기재된 항-PD-1 항체이다. hBAT 또는 hBAT-1로도 공지된 CT-011은 WO2009/101611에 기재된 항-PD-1 항체이다. B7-DCIg로도 공지된 AMP-224는 WO2010/027827 및 WO2011/066342에 기재된 PDL2-Fc 융합 가용성 수용체이다.

[0096] 본 명세서에 제공된 방법에서 표적화될 수 있는 또 다른 면역 체크포인트는 CD152로도 공지된 세포독성 T-림프구-연관 단백질 4 (CTLA-4)이다. 인간 CTLA-4의 완전한 cDNA 서열은 Genbank 수탁번호 L15006이다. CTLA-4는 T 세포 표면에 존재하며 항원 제시 세포 표면의 CD80 또는 CD86에 결합할 때 "종료" 스위치로 작용한다. CTLA4는 헬퍼 T 세포의 표면에서 발현되고 억제 신호를 T 세포에 전달하는 면역글로불린 슈퍼패밀리의 구성원이다. CTLA4는 T 세포 공자극 단백질인 CD28과 유사하며 두 분자 모두 항원 제시 세포에서 각각 B7-1 및 B7-2라고도 하는 CD80 및 CD86에 결합한다. CTLA4는 억제 신호를 T 세포에 전달하고 CD28은 자극 신호를 전달한다. 세포내 CTLA4는 또한 조절 T 세포에 존재하며 그 기능에 중요할 수 있다. T 세포 수용체 및 CD28을 통한 T 세포 활성화는 B7 분자에 대한 억제 수용체인 CTLA-4의 발현을 증가시킨다.

[0097] 일부 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 항-CTLA-4 항체 (예를 들어, 인간 항체, 인간화 항체, 또는 키메라 항체), 이의 항원 결합 단편, 면역접합체, 융합 단백질, 또는 올리고펩타이드이다.

[0098] 본 방법에 사용하기에 적합한 항-인간-CTLA-4 항체 (또는 이로부터 유래된 VH 및/또는 VL 도메인)는 당업계에 널리 공지된 방법을 사용하여 생성될 수 있다. 대안적으로, 당업계에서 인정된 항-CTLA-4 항체가 사용될 수 있

다. 예를 들어, 미국 특허 제 8,119,129호; 국제 특허 공개 제 WO 01/14424, WO 98/42752 및 WO 00/37504 (CP675,206, 트레멜리무맙으로도 공지됨; 이전에는 티실리무맙); 미국 특허 제 6,207,156호; 문헌[Hurwitz et al., 1998; Camacho et al., 2004; 및 Mokyr et al., 1998]에 개시된 항-CTLA-4 항체은 본 명세서에 개시된 방법에 사용될 수 있다. 전술한 각 간행물의 교시 내용은 본 명세서에 참조로 포함된다. CTLA-4에 대한 결합에 대해 당업계에 인정된 항체 중 임의의 것과 경쟁하는 항체가 또한 사용될 수 있다. 예를 들어, 인간화 CTLA-4 항체는 국제 특허 출원 WO2001014424, WO2000037504, 및 미국 특허 제 8,017,114호에 기재되어 있으며; 상기 문헌 모두 본 명세서에 참조로 포함된다.

[0099] 예시적인 항-CTLA-4 항체는 이필리무맙 (10D1, MDX-010, MDX-101 및 Yervoy®로도 공지됨) 또는 이의 항원 결합 단편 및 변이체 (예를 들어, WO 01/14424 참조)이다. 다른 실시양태에서, 항체는 이필리무맙의 중쇄 및 경쇄 CDR 또는 VR을 포함한다. 따라서, 일 실시양태에서, 항체는 이필리무맙의 VH 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인, 및 이필리무맙의 VL 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 상기 언급된 항체와 CTLA-4 상의 동일한 에피토프와 결합하기 위해 경쟁하고/거나, 결합한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 상기 언급된 항체와 적어도 약 90%의 가변 영역 아미노산 서열 동일성을 갖는다 (예를 들어, 이필리무맙과 적어도 약 90%, 95%, 또는 99% 가변 영역 동일성).

[0100] CTLA-4를 조절하기 위한 다른 분자는 문헌 모두 본 명세서에 참조로 포함되는 미국 특허 제 5,844,905호, 제 5,885,796호 및 국제 특허 출원 WO1995001994 및 WO1998042752에 기재된 것과 같은 CTLA-4 리간드 및 수용체; 본 명세서에 참조로 포함되는 미국 특허 제 8,329,867호에 기재된 것과 같은 면역접합체가 포함된다.

[0101] **4. 수술**

[0102] 암에 걸린 자의 약 60%는 예방, 진단 또는 병기, 치료 및 고식적 수술을 포함하는 일부 유형의 수술을 받을 것이다. 치료적 수술은 암 조직의 전체 또는 일부를 물리적으로 제거, 절제 및/또는 파괴하는 절개를 포함하며, 본 실시양태의 치료, 화학요법, 방사선 요법, 호르몬 요법, 유전자 요법, 면역요법 및/또는 대체 요법과 같은 다른 요법과 함께 사용될 수 있다. 종양 절개는 종양의 적어도 일부를 물리적으로 제거하는 것을 말한다. 수술에 의한 치료에는 종양 절개 외에 레이저 수술, 냉동 수술, 전기 수술, 현미경 제어 수술 (모스 수술)을 포함한다.

[0103] 암세포, 조직 또는 종양의 일부 또는 전부를 절제하면 체내에 공동이 형성될 수 있다. 치료는 추가 항암 요법과 함께 해당 부위의 국소 적용, 관류, 또는 직접 주사에 의해 달성될 수 있다. 이러한 치료는 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7일마다, 또는 1, 2, 3, 4 및 5주마다 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12개월마다 반복될 수 있다. 이러한 치료는 또한 다양한 투여량으로 이루어질 수 있다.

[0104] **5. 기타 제제**

[0105] 치료의 치료 효능을 개선하기 위해 다른 제제가 본 실시양태의 특정 양태과 조합되어 사용될 수 있음이 고려된다. 이러한 추가 제제에는 세포 표면 수용체 및 GAP 접합부의 상향조절에 영향을 미치는 제제, 세포증식억제 및 분화 제제, 세포 부착 억제제, 세포자멸사 유도제에 대한 과증식성 세포의 감응성을 증가시키는 제제, 또는 기타 생물학적 제제가 포함된다. GAP 접합의 수를 증가시킴으로써 세포간 신호전달의 증가는 인접하는 과증식 세포 집합에 대한 항과증식 효과를 증가시킬 것이다. 다른 실시양태에서, 세포증식억제 또는 분화 제제는 치료의 항과증식성 효능을 개선하기 위해 본 실시양태의 특정 양태과 조합하여 사용될 수 있다. 세포 부착의 억제제는 본 실시양태의 효능을 개선하기 위해 고려된다. 세포 부착 억제제의 예는 국소 부착 키나제 (FAK) 억제제 및 로바스타틴이다. 항체 c225와 같은 세포자멸사사에 대한 과증식성 세포의 감응성을 증가시키는 다른 제제가 치료 효능을 개선하기 위해 본 실시양태의 특정 양태과 조합되어 사용될 수 있음이 추가로 고려된다.

[0106] **IV. 키트**

[0107] 또한, 본 명세서에 개시된 것과 같은 오시머티닙 저항성 EGFR 돌연변이를 검출하기 위한 키트가 본 개시내용의 범위 내에 있다. 이러한 키트의 예는 오시머티닙 저항성 EGFR 돌연변이-특이적 프라이머 세트를 포함할 수 있다. 키트는 본 명세서에 기재된 특정 오시머티닙 저항성 EGFR 돌연변이의 존재 또는 부재를 검출하기 위한 프라이머의 사용에 대한 지침을 추가로 포함할 수 있다. 키트는 암 환자로부터의 샘플에서 본 명세서에 기재된 오시머티닙 저항성 EGFR 돌연변이의 양성 확인이 2세대 퀴나졸린아민 유도체 TKI 또는 구조적으로 유사한 억제제에 대한 감응성을 나타낸다는 것을 제시하는 진단 목적을 위한 지침을 추가로 포함할 수 있다. 키트는 암 환자로부터의 샘플에서 본 명세서에 기재된 오시머티닙 저항성 EGFR 돌연변이의 양성 확인이 환자가 2세대 퀴나졸린아민 유도체 TKI 또는 구조적으로 유사한 억제제로 치료되어야 함을 나타냄을 제시하는 지침을 추가로 포함할

수 있다.

[0108] **V. 실시예**

[0109] 하기 실시예는 본 발명의 바람직한 실시양태를 나타내기 위해 포함된다. 하기 실시예에 개시된 기술은 본 발명의 실시에서 적절히 기능하는 것으로 본 발명자가 발견한 기술을 나타내고, 따라서 본 실시를 위한 바람직한 모드를 구성하는 것으로 간주될 수 있다는 것이 당업자에 의해 이해되어야 한다. 그러나, 당업자는 본 개시내용에 비추어, 개시되는 특정 실시양태에서 많은 변경이 이루어질 수 있고 본 발명의 사상 및 범위를 벗어나지 않고 여전히 유사하거나 근사한 결과를 획득할 수 있음을 인식해야 한다.

[0110] **실시예 1 - 오시머티닙 저항성 EGFR 돌연변이를 갖는 암세포에 대한 약물의 확인**

[0111] 엑손 18 내지 21 범위의 비정형 EGFR 돌연변이 및 통상의 EGFR 돌연변이를 포함하는 오시머티닙 또는 에를로티닙 저항성 돌연변이를 발현하는 Ba/F3 세포주의 패널을 생성하였다. 돌연변이의 형질전환 능력을 IL-3 결핍에 따른 지속적인 세포 생존율에 의해 평가하였다. 그런 다음 활성화 EGFR 돌연변이 Ba/F3 세포를 EGFR TKI에 대해 스크리닝하였다. 세포 생존율을 세포 역가 Glo 분석에 의해 결정하였다.

[0112] 2세대 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 L861Q, G719S, L858R/L792H, L858R/C797S, 및 Ex19del/C797S와 같은 비정형 돌연변이를 발현하는 Ba/F3 세포주의 증식을 억제하였고, IC50 값은 3 nM 미만이었다.

[0113] 또 다른 연구에서, EGFR 엑손 18 P-루프 돌연변이(G719A)를 보유하는 NSCLC의 PDX 모델을 28일 동안 표시된 억제제로 치료하였다. P-루프 엑손 18 돌연변이가 생체내에서 오시머티닙에 대한 1차 저항성을 유발하지만 다른 EGFR TKI는 그러하지 않은 것으로 추가로 밝혀졌다 (도 2).

[0114] 엑손 18 내지 21 범위의 획득된 비정형 돌연변이를 발현하는 Ba/F3 세포를 72시간 동안 억제제로 처리하였다. 획득된 비정형 돌연변이가 오시머티닙에 대한 저항성을 유도하지만 퀴나졸린 TKI에 감응성이고, 동시 발생 돌연변이의 약물 감응성/저항성 특성은 1차 돌연변이에 의해 유도될 수 있다 (도 3). 또한 T790M 돌연변이는 1차 또는 3차 돌연변이와 상관없이 1세대 및 2세대 약물에 대한 저항성을 유도하지만 고유한 3세대 TKI 및 약물 용도 변경이 3차, T790M 양성, 약물 저항성을 극복할 수 있는 것으로 나타났다.

[0115] [표 1]

[0116] 1차 비정형 EGFR 돌연변이의 IC50 값.

IC₅₀ 값, nM	에를로티닙	사파티닙	AZD3759	CUDC-101	아파티닙	다코미티닙	네라티닙	이브루티닙	오시머티닙	로실레티닙	나자르티닙	올무티닙	나퀴티닙
E709K	327.03	22.19	325.10	306.03	1.45	16.52	19.65	30.99	255.17	1403.00	385.40	655.97	355.63
E709_T710del1insD	561.63	ND	ND	ND	5.71	4.16	150.53	ND	171.41	ND	ND	271.60	ND
E709A	282.60	2.79	109.75	443.27	0.60	4.54	11.56	32.53	56.22	1157.25	174.61	372.45	254.60
E709A G719S	99.57	4.07	221.40	252.47	0.09	0.10	0.55	2.02	69.01	207.53	119.77	144.47	45.13
E709K L858R	103.94	3.50	22.55	612.50	0.15	0.50	2.54	21.11	7.53	61.66	25.53	16.12	11.02
E709K G719S	55.90	2.01	77.75	239.23	0.11	0.05	3.24	0.33	54.22	94.44	43.97	57.34	15.23
L718Q	1700.67	370.60	1762.33	765.90	12.05	28.76	98.23	521.63	1532.00	1142.00	1614.00	3952.67	733.60
L718V	656.05	230.77	716.75	229.50	4.59	6.55	117.20	185.35	171.70	1387.90	1021.55	139.17	78.41
G719S	83.55	36.47	52.44	145.70	0.70	0.14	0.53	17.09	130.21	150.32	105.57	214.26	36.72
G719A	148.62	2.31	104.07	300.55	0.77	0.12	0.14	10.76	105.12	145.47	87.55	141.19	18.11
G719A/R776C	143.40	8.93	205.47	192.53	0.15	0.16	0.10	4.42	63.41	280.40	56.55	150.73	39.03
G719A L561Q	153.51	5.42	77.49	57.65	1.30	0.14	0.34	27.10	31.01	38.07	65.93	73.95	4.22
S720F	5.57	0.79	0.75	ND	0.07	0.49	0.55	ND	24.57	180.10	22.63	57.50	52.95
G724S	641.54	25.73	65.95	201.50	5.32	14.76	41.75	19.16	67.25	306.63	126.76	52.95	55.07
T725M	101.53	1.22	110.02	250.67	0.15	1.90	5.73	5.23	47.20	385.47	55.55	250.02	77.55
I740dupIFVAK	94.44	1.52	93.35	237.17	1.23	0.55	6.11	10.65	25.10	433.23	75.36	135.36	67.67
L747P	472.10	8.61	305.20	553.90	4.90	15.44	245.30	424.40	93.79	630.23	257.97	392.93	472.23
L747_K754del1insATSPE	5015.67	1456.33	5117.00	140.25	37.56	339.13	399.17	1741.00	0.40	0.92	1.55	0.14	0.55
L747S	114.16	0.95	54.39	202.93	0.41	0.40	277.67	34.59	25.91	247.70	51.72	62.99	120.00
E754E	110.23	0.56	45.33	206.33	0.23	2.01	4.43	2.62	12.67	217.57	61.57	55.50	66.00
E757R	280.47	59.11	351.55	200.00	20.00	50.15	23.64	52.34	120.00	709.45	623.55	144.07	122.35
A767insASV	16773.67	407.57	4316.00	505.70	125.91	159.67	236.60	513.40	342.67	2479.67	827.50	650.17	216.57
S765dupSVD	3160.00	456.67	3194.67	305.57	24.52	54.73	62.57	11565.67	143.53	1152.40	519.73	554.07	152.53
S765I	396.10	5.72	355.47	555.20	1.56	3.50	63.23	159.30	210.47	1735.00	513.60	537.40	503.03
S765I/V769L	907.03	47.35	734.77	203.60	4.35	12.94	13.14	65.70	90.94	570.73	292.17	355.70	233.57
S765I V774M	287.60	45.33	265.50	200.00	4.95	5.73	51.97	71.19	3.26	180.43	124.00	111.10	66.22
V769L	1293.00	36.36	1014.53	792.37	6.01	5.70	10.13	5.70	185.27	1040.60	253.50	312.57	215.70
D770insIPG	4848.33	916.67	3955.00	924.57	195.20	335.37	1573.47	953.27	191.60	914.53	655.97	310.47	174.57
V771dupIG724S	1701.67	134.64	1307.07	509.00	42.36	196.15	129.15	123.50	170.34	1143.00	435.73	417.07	374.50
H773insIPH	1545.00	230.53	1622.33	352.10	64.55	102.05	515.90	955.10	133.53	1165.33	550.10	425.00	145.05
V774M	324.33	10.15	326.17	256.23	1.09	2.50	127.09	0.53	4.25	109.43	152.93	69.97	35.54
R776C	387.57	3.67	155.11	446.03	1.20	7.54	16.55	74.57	235.13	1560.00	389.03	513.77	575.00
R776H	50.67	0.35	22.70	110.09	0.10	0.05	1.05	1.13	17.52	215.30	46.69	114.73	65.62
S784F	138.53	15.53	72.93	245.43	1.76	4.53	35.63	21.35	101.99	690.27	402.90	140.17	70.19
S811F	332.30	23.09	145.00	ND	7.43	67.09	90.95	ND	96.17	545.50	742.50	760.60	173.10
L833F	171.72	1.21	129.74	331.50	1.06	11.56	21.56	27.54	101.35	506.53	252.89	329.03	411.27
L833V	240.55	2.30	135.70	214.35	0.25	3.91	21.23	25.10	63.44	503.30	246.20	394.40	402.00
L861Q	173.63	2.31	92.72	177.50	0.97	0.13	1.16	29.63	27.27	201.00	53.40	53.55	77.43
L861R	95.91	0.51	35.49	71.36	0.13	0.10	0.42	1.41	6.55	42.50	14.53	29.41	12.19

[0117]

[0118] [표 2]

[0119] 획득된 오시머티닙 저항성 돌연변이 (T790M 음성)

IC₅₀ 값, nM	에를로티닙	아파티닙	다코미티닙	네라티닙	오시머티닙	나자르티닙	올무티닙	로실레티닙	나퀴티닙	사파티닙	AZD3759	CUDC-101	이브루티닙
L858R S784F	10000.00	56.49	226.27	298.87	580.67	427.93	437.33	1083.87	353.73	10000.00	10000.00	452.23	232.90
Ex19del G724S	3134.50	3.16	14.53	30.97	316.33	3021.33	331.37	5805.50	697.45	3850.00	17022.00	974.05	1865.00
Ex19del/L792H	9745.67	62.74	51.78	453.53	87.00	56.70	19.26	504.17	3.94	9760.33	10000.00	719.80	745.63
Ex19del/C797S	2.09	0.90	1.09	1052.93	1442.27	3977.00	2143.00	1448.67	1541.33	0.11	0.14	9.19	11008.00
Ex19del T854I	17937.50	5.69	44.74	27.58	24.12	138.07	95.02	149.85	112.39	46.51	1675.50	108.10	66.18
L858R/C797S	7.93	4.74	2.82	156.10	2369.00	4487.00	2245.00	1166.80	709.13	0.20	1.97	34.40	6882.00
L858R G796S	3742.00	22.27	22.67	430.43	296.77	856.33	957.90	1704.67	423.03	624.90	4243.33	451.53	535.53
L858R L718Q	400.90	2.60	3.17	42.74	1811.60	808.40	2327.33	3961.03	747.00	35.80	391.23	698.43	649.50
Ex19del G796S	3962.00	34.88	44.72	49.64	70.34	210.18	254.27	453.25	53.17	120.05	1249.24	419.40	169.60
L858R/L792H	39.97	0.53	0.18	3.11	59.12	74.41	140.69	1263.37	34.33	2.26	32.47	1030.93	ND
L858R/L718V	219.67	0.09	0.09	1.50	168.69	335.07	864.03	274.20	18.83	10.18	250.20	134.73	71.73
L858R G724S	4.95	4.09	32.28	116.40	19.12	248.20	164.80	177.00	108.40	0.04	0.28	ND	ND
Ex19del L718Q	50.24	0.69	4.13	499.00	22.63	72.01	52.75	23.19	2.64	9.97	21.60	ND	ND
Ex19del L718V	64.96	0.05	0.38	87.17	13.92	86.60	87.68	131.70	13.94	1.12	42.88	300.85	67.60
L858R/V834L	7.74	0.35	0.58	2.66	1.02	14.56	6.73	33.59	7.19	0.34	2.33	37.90	64.39

[0120]

[0121] [표 3]

[0122] 획득된 저항성 돌연변이 (T790M 양성) - 통상적인 EGFR TKI.

IC50 값, nM	나쿼티닙	올무티닙	오시머티닙	로실레티닙	나자르티닙	아파티닙	CUDC-101	다코미티닙	네라티닙	이브루티닙	자파티닙	AZD3759	에를로티닙
L858R T790M L792H	624.07	2220.67	2503.00	1005.87	5565.67	1411.50	342.70	3010.00	1635.37	2654.33	82444.98	>10000	>10000
L858R/T790M/C797S	4349.00	4116.33	2931.00	1421.67	3434.67	1937.33	274.08	2587.00	2815.67	>10000	>10000	>10000	>10000
Ex19del T790M C797S	1971.67	1928.26	2328.68	1106.66	7205.56	2504.81	58.96	2360.05	1782.95	9293.04	3126.67	>10000	>10000
L858R/T790M/L718Q	91.78	620.43	332.70	1112.20	1000.20	1344.33	217.67	2840.67	1069.67	3676.33	5000.00	>5000	>5000
L718Q T790M	212.30	358.37	829.13	1029.30	411.00	69.50	275.57	296.87	3560.00	217.40	>10000	>10000	>10000
L858R T790M L718V	4.03	21.68	189.70	70.13	336.33	218.10	457.25	5561.00	2714.67	>5000	>5000	>5000	3490.85
Ex19del T790M L718V	7.72	189.57	53.09	108.52	211.37	458.73	393.90	1281.67	591.33	2023.00	7572.33	>10000	74558.35
Ex19del/T790M/L792H	4.75	4.76	38.57	497.10	37.40	669.27	173.33	514.50	1338.13	2972.33	>10000	>10000	7093.00
G724S T790M	18.78	19.88	37.06	120.32	242.11	112.63	413.53	747.83	217.83	406.20	8874.67	8000.67	8427.33
T790M	54.37	46.17	34.88	103.19	151.23	85.06	77.97	376.09	121.51	148.42	12869.00	>10000	>10000
Ex19del/T790M/G724S	3.84	5.08	21.04	39.66	79.32	32.94	245.83	243.65	354.45	501.40	4773.67	4826.00	5294.00
L858R T790M V843I	2.05	0.77	6.08	4.74	32.39	331.67	273.43	1244.67	4677.66	780.20	8943.67	>10000	>10000
L858R/T790M	1.88	0.79	1.84	4.21	25.38	335.27	240.43	620.77	831.13	163.90	7093.33	>10000	>10000
S768I/T790M	19.20	21.53	3.11	25.89	25.55	23.87	814.70	79.55	47.17	109.04	>10000	7500.00	4943.34
G719A T790M	11.72	11.41	49.78	13.01	34.40	41.61	136.47	57.06	65.10	118.70	>10000	>10000	8879.51
Ex19del T790M	1.41	0.41	2.80	4.77	16.40	127.51	151.52	302.23	2295.38	251.10	1959.00	13176.66	4973.66

[0123]

[0124] [표 4]

[0125] 획득된 저항성 돌연변이 (T790M 양성) - 비통상적/용도변경 EGFR TKI.

IC50 값, nM	레스타우르티닙	미도스타우린	브리가티닙	AZD3463	루북시스타우린	소트라스타우린
L858R T790M L792H	116.60	270.67	659.93	1546.00	331.70	10728.00
L858R/T790M/C797S	102.13	251.00	290.83	1271.87	364.48	9867.33
Ex19del T790M C797S	0.53	880.53	1019.57	1444.00	486.70	1041.00
L858R/T790M/L718Q	78.22	2976.00	1073.27	1120.67	3868.33	6936.33
L718Q T790M	115.87	1568.00	1489.00	1141.00	4360.00	9785.33
L858R T790M L718V	83.95	1378.60	772.50	662.27	2045.00	4240.50
Ex19del T790M L718V	287.03	3545.33	1095.67	1342.33	2289.00	3333.67
Ex19del/T790M/L792H	97.10	119.43	979.03	1094.00	2520.33	5809.00
G724S T790M	12.80	143.67	454.13	695.00	546.93	2887.67
T790M	93.78	2945.67	858.93	1269.00	3911.67	5790.00
Ex19del/T790M/G724S	364.25	3607.67	1537.00	1611.33	6571.00	20067.00
L858R T790M V843I	15.43	1328.30	350.83	768.27	1002.47	1424.47
WT EGFR	416.90	755.33	684.23	1632.33	4879.00	13959.33
L858R/T790M	216.70	2861.33	2613.00	2404.33	3842.67	19878.33
S768I/T790M	297.05	194.73	770.47	1732.67	5923.33	14076.33
G719A T790M	141.20	213.80	336.37	1340.70	2487.67	10471.01
Ex19del T790M	3.71	526.30	140.60	255.10	633.10	863.07

[0126]

[0127] [표 5]

[0128] EGFR 돌연변이 벡터

EGFR 돌연변이	출발 벡터	게놈 변화	제조업체
A767insASV	N/A	N/A	Addgene #32066
D770insNPG	N/A	N/A	Addgene #11016
Ex19del (746_A750del)	N/A	N/A	Addgene # 32062
Ex19del/T790M	N/A	N/A	Addgene #32072
G719S	N/A	N/A	Addgene #11013
L858R	N/A	N/A	Addgene #11012
L858R/T790M	N/A	N/A	Addgene #32073
L861Q	N/A	N/A	Addgene #32068
T790M	N/A	N/A	Addgene #32070
WT	N/A	N/A	Addgene #11011
D761N	EGFR WT	c.2281G>A	GeneScript
E709_T710del insD	EGFR WT	c.2127_2129del	GeneScript
E709A	EGFR WT	c.2126A>C	GeneScript
E709A G719S	EGFR G719S	c.2126A>C	GeneScript
E709K	EGFR WT	c.2125G>A	GeneScript
E709K G719S	EGFR G719S	c.2125G>A	GeneScript
E709K L858R	EGFR L858R	c.2125G>A	GeneScript
Ex19del G724S	EGFR Ex19del	c.2313_2314insAAC	GeneScript
Ex19del G796S	EGFR Ex19del	c.2386G>A	GeneScript
Ex19del L718Q	EGFR Ex19del	c.2153T>A	Bioinnovatise
Ex19del L718V	EGFR Ex19del	c.2152C>G	Bioinnovatise
Ex19del T854I	EGFR Ex19del	c.2561C>T	GeneScript
Ex19del/C797S	EGFR Ex19del	c.2386, T>A	Bioinnovatise
Ex19del/L792H	EGFR Ex19del	c.2375T>A	Bioinnovatise
G719A	EGFR WT	c.2156G>C	Bioinnovatise
G719A L861Q	EGFR G719A	c.2582T>A	Bioinnovatise
G719A/R776C	EGFR G719A	c.2326C>T	GeneScript
G724S	EGFR WT	c.2170G>A	GeneScript
H773insNPH	EGFR WT	c.2319_2320insAACCCCCAC	Bioinnovatise
I740dupIPVAK	EGFR WT	c.2214_2231dup	Bioinnovatise
K754E	EGFR WT	c.2260A>G	GeneScript
K757R	EGFR WT	c.2270A>G	GeneScript
L718Q	EGFR WT	c.2153T>A	GeneScript
L718V	EGFR WT	c.2152C>G	GeneScript
L747_K754del insATSPE	EGFR WT	c.2239_2260delinsGCAACATCTCCGG (서열번호 1)	GeneScript
L747P	EGFR WT	c.2239_2240TT>CC	GeneScript
L747S	EGFR WT	c.2240T>C	GeneScript
L833F	EGFR WT	c.2499G>T	GeneScript
L833V	EGFR WT	c.2497T>G	GeneScript
L858R G724S	EGFR L858R	c.2313_2314insAAC	GeneScript
L858R G796S	EGFR L858R	c.2386G>A	GeneScript
L858R L718Q	EGFR L858R	c.2153T>A	GeneScript
L858R S784F	EGFR L858R	c.2351C>T	GeneScript
L858R/C797S	EGFR L858R	c.2386, T>A	Bioinnovatise
L858R/L718V	EGFR L858R	c.2152C>G	GeneScript
L858R/L792H	EGFR L858R	c.2375T>A	Bioinnovatise
L858R/V834L	EGFR L858R	c.2500G>T	Bioinnovatise
L861R	EGFR WT	c.2582T>G	GeneScript
N771dupN G724S	EGFR G724S	c.2313_2314insAAC	GeneScript
R776C	EGFR WT	c.2326C>T	GeneScript
R776H	EGFR WT	c.2327G>A	GeneScript
S720P	EGFR WT	c.2158T>C	GeneScript
S768dupSVD	EGFR WT	c.2303_2304dupAGCGTGGAC	Bioinnovatise
S768I	EGFR WT	c.2303G>T	Bioinnovatise
S768I Y774M	EGFR S768I	c.2320G>A	GeneScript
S768I/T790M	EGFR S768I	c.2369C>T	Bioinnovatise
S768I/V769L	EGFR S768I	c.2305G>T	GeneScript
S784F	EGFR WT	c.2351C>T	GeneScript
S811F	EGFR WT	c.2432C>T	GeneScript
T725M	EGFR WT	c.2174C>T	GeneScript
V769L	EGFR WT	c.2305G>T	Bioinnovatise
Y774M	EGFR WT	c.2320G>A	GeneScript

[0129]

[0130] 따라서, 2세대 퀴나졸린아민 유도체 TKI는 L861Q, G719S, L858R/L792H, L858R/C797S, 및 Ex19del/C797S를 포함하는 최초 및 획득된 비정형 오시머티닙 저항성 EGFR 돌연변이 NSCLC 둘 모두에 대해 유효한 억제제이다. 본 연구에 따르면 2세대 TKI는 비정형 EGFR 돌연변이 NSCLC에서 오시머티닙 저항성을 극복하는 것으로 나타났다.

[0131] **실시예 2 - 재료 및 방법**

[0132] **Ba/F3 세포주 생성 및 IL-3 결핍:** Ba/F3 세포주를 이전에 기재된 대로 확립하였다 (문헌[Robichaux et al., 2018]). 요약하면, 12시간 동안 Ba/F3 세포주의 레트로바이러스 형질도입에 의해 안정한 Ba/F3 세포주가 생성하였다. 레트로바이러스를 표 1 (Addgene 및 Bioinnovatise)에 요약된 pBabe-Puro 기반 벡터를 Lipofectamine 2000 (Invitrogen)을 사용하여 Phoenix 293T-ampho 세포 (Orbigen)에 형질감염시켜 생성하였다. 형질도입 3일 후, 2 μg/ml 퓨로마이신 (Invitrogen)을 RPMI 배지에 첨가하였다. 이어서, 세포주를 2주 동안 IL-3의 부재 하에 성장시키고 세포 생존율을 세포 역가 Glo 분석 (Progema)을 사용하여 3일마다 평가하였다. 생성된 안정한 세포주를 IL-3 부재 하에 10% FBS를 포함하는 RPMI-1640 배지에서 유지하였다.

[0133] **세포 생존율 분석 및 IC_{50} 추정:** 세포 생존율을 이전에 기술된 바와 같이 세포 역가 Glo 분석 (Promega)을 사용하여 결정하였다 (문헌[Robichaux et al., 2018]). 간단히 말해서, 웰당 2000 내지 3000개의 세포를 384-웰 플레이트 (Greiner Bio-One)에 기술적 삼중 반복 실험으로 플레이팅하였다. 세포를 7가지 농도의 티로신 키나제

억제제 또는 비히클 단독으로 웰당 40 μL의 최종 부피로 처리하였다. 3일 후, 11 μL의 세포 역가 Glo를 각 웰에 첨가하였다. 플레이트를 15분 동안 진탕시키고 FLUOstar OPTIMA 다중 모드 마이크로 플레이트 판독기 (BMG LABTECH)를 사용하여 생물발광을 결정하였다. 생물발광 값을 DMSO 처리된 세포에 대해 정규화하고, 정규화된 값을 가변 기울기를 갖는 정규화된 데이터에 대한 비선형 회귀 적용을 사용하여 GraphPad Prism에 도식화하였다. IC_{50} 값을 50% 억제에서 GraphPad Prism에 의해 계산하였다.

[0134] 본 명세서에 개시되고 청구된 모든 방법은 본 개시내용에 비추어 과도한 실험 없이 이루어지고 실행될 수 있다. 본 발명의 조성물 및 방법이 바람직한 실시양태의 관점에서 설명되었지만, 본 발명의 개념, 사상 및 범위를 벗어남이 없이 본 명세서에 기재된 방법 및 단계 또는 단계 순서에 변형이 적용될 수 있음이 당업자에게 명백할 것이다. 보다 구체적으로, 화학적 및 생리학적으로 모두 관련된 특정 제제가 본 명세서에 기재된 제제를 대체하여 동일하거나 유사한 결과가 달성될 수 있음이 명백할 것이다. 당업자에게 명백한 그러한 모든 유사한 대체물 및 변형은 첨부된 청구범위에 의해 규정된 본 발명의 사상, 범위 및 개념 내에 있는 것으로 간주된다.

[0135] **참조문헌**

[0136] 본 명세서에 기술된 것에 보충적인 예시적인 절차 또는 기타 세부사항을 제공하는 한, 다음 참조문헌은 명시적으로 본 명세서에 참조로 포함된다.

[0137] Arcila *et al.*, *Clin Cancer Res* 18:4910-8, 2012.

[0138] Arcila *et al.*, *Mol Cancer Ther* 12(2):220-229, 2013.

[0139] Austin-Ward and Villaseca, *Revista Medica de Chile*, 126(7):838-845, 1998.

[0140] Ausubel *et al.*, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, NY, 2003.

[0141] Bukowski *et al.*, *Clinical Cancer Res.*, 4(10):2337-2347, 1998.

[0142] Camacho *et al. J Clin Oncology* 22(145): Abstract No. 2505 (antibody CP-675206), 2004.

[0143] Cha *et al. Int J Cancer* 130:2445-54, 2012.

[0144] Chee *et al.*, *Science,* 274:610-614, 1996.

[0145] Cho *et al., Cancer Res* 73:6770-9, 2013.

[0146] Christodoulides *et al.*, *Microbiology*, 144(Pt 11):3027-3037, 1998.

[0147] Church and Gilbert, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:1991-1995 (1988).

[0148] Cotton *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:4397-4401 (1985).

[0149] Davidson *et al., J. Immunother.*, 21(5):389-398, 1998.

[0150] Davies *et al., Plos One* 8, *2013.*

[0151] Del Tito *et al.*, *Clinical Chemistry* 44:731-739, 1998.

[0152] Drmanac *et al.*, *Nat. Biotechnol.,* 16:54-58, 1998.

[0153] Drmanac *et al.*, *Science,* 260:1649-1652, 1993.

[0154] Ettinger *et al,. J Natl Compr Canc Netw* 16:807-21, 2018.

[0155] Flavell *et al.*, *Cell* 15:25 (1978).

[0156] Fu *et al.*, *Nat. Biotechnol.,* 16:381-384, 1998/

[0157] Geever *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:5081 (1981).

[0158] Hanibuchi *et al.*, *Int. J. Cancer*, 78(4):480-485, 1998.

[0159] Hellstrand *et al., Acta Oncologica*, 37(4):347-353, 1998.

[0160] Hollander, *Front. Immun.*, 3:3, 2012.

[0161] Hong *et al., J Biol Chem* 282:19781-7, 2007.

[0162] Hui and Hashimoto, *Infection Immun.,* 66(11):5329-5336, 1998.

[0163] Hurwitz *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 95(17): 10067-10071, 1998.

[0164] Hyman *et al., Nature* 554:189-94, 2018.

[0165] 국제 특허 공개 공보 WO 99/57318

[0166] 국제 특허 공개 공보 WO1995001994

[0167] 국제 특허 공개 공보 WO1998042752

[0168] 국제 특허 공개 공보 WO2000037504

[0169] 국제 특허 공개 공보 WO2001014424

[0170] 국제 특허 공개 공보 WO2009/101611

[0171] 국제 특허 공개 공보 WO2009/114335

[0172] 국제 특허 공개 공보 WO2010/027827

[0173] 국제 특허 공개 공보 WO2011/066342

[0174] 국제 특허 공개 공보 WO2015016718

[0175] 국제 특허 공개 공보 WO 00/37504

[0176] 국제 특허 공개 공보 WO01/14424

[0177] 국제 특허 공개 공보 WO98/42752

[0178] Kosaka *et al., Cancer Res* 2017.

[0179] Kris *et al., Ann Oncol* 26:1421-7, 2015.

[0180] Kris *et al., Ann Oncol* 26:1421-7, 2015.

[0181] Leal, M., *Ann N Y Acad Sci* 1321, 41-54, 2014.

[0182] Lynch *et al., N Engl J Med.* 350(21):2129-2139, 2004.

[0183] Ma *et al., J Clin Oncol* 33, 2015.

[0184] Maemondo *et al., N Engl J Med* 362:2380-8, 2010.

[0185] Meric-Bernstam *et al., Clin Cancer Res,* 2018.

[0186] Mitsudomi and Yatabe, *Cancer Sci.* 98(12):1817-1824, 2007.

[0187] Mokyr *et al. Cancer Res* 58:5301-5304, 1998.

[0188] Oxnard *et al., J Thorac Oncol.* 8(2):179-184, 2013.

[0189] Paez *et al., Science* 304(5676):1497-1500, 2004.

[0190] Pao *et al., Proc Natl Acad Sci USA* 101(36):13306-13311, 2004.

[0191] Pardoll, *Nat Rev Cancer,* 12(4): 252-64, 2012.

[0192] Perera *et al., Proc Natl Acad Sci U S A* 106:474-9, 2009.

[0193] Qin *et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA,* 95(24):14411-14416, 1998.

[0194] Raca *et al., Genet Test* 8(4):387-94 (2004).

[0195] Robichaux *et al., Nat Med* 24:638-46, 2018.

[0196] Sanger *et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74:5463-5467 (1977).

[0197] Sears *et al.*, *Biotechniques*, 13:626-633, 1992.

[0198] Sheffield *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:232-236 (1989).

[0199] Shen *et al.*, *J Recept Signal Transduct Res* 36:89-97, 2016.

[0200] Thress *et al.*, *Nat Med* 21:560-2, 2015.

[0201] 미국 특허 제 4,870,287호

[0202] 미국 특허 제 5,288,644호

[0203] 미국 특허 제 5,739,169호

[0204] 미국 특허 제 5,760,395호

[0205] 미국 특허 제 5,801,005호

[0206] 미국 특허 제 5,824,311호

[0207] 미국 특허 제 5,830,880호

[0208] 미국 특허 제 5,844,905호

[0209] 미국 특허 제 5,846,945호

[0210] 미국 특허 제 5,869,245호

[0211] 미국 특허 제 5,885,796호

[0212] 미국 특허 제 6,207,156호

[0213] 미국 특허 제 8,008,449호

[0214] 미국 특허 제 8,017,114호

[0215] 미국 특허 제 8,119,129호

[0216] 미국 특허 제 8,188,102호

[0217] 미국 특허 제 8,329,867호

[0218] 미국 특허 제 8,354,509호

[0219] 미국 특허 제 8,735,553호

[0220] 미국 특허 공개 공보 제 2004/0014095호

[0221] 미국 특허 공개 공보 제 2005/0260186호

[0222] 미국 특허 공개 공보 제 2006/0104968호

[0223] 미국 특허 공개 공보 제 20110008369호

[0224] 미국 특허 공개 공보 제 20130071452호

[0225] 미국 특허 공개 공보 제 2014022021호

[0226] 미국 특허 공개 공보 제 20140294898호

[0227] Underhill *et al.*, *Genome Res.* 7:996-1005 (1997).

[0228] Vogel *et al.*, *J Clin Oncol* 20:719-26, 2002.

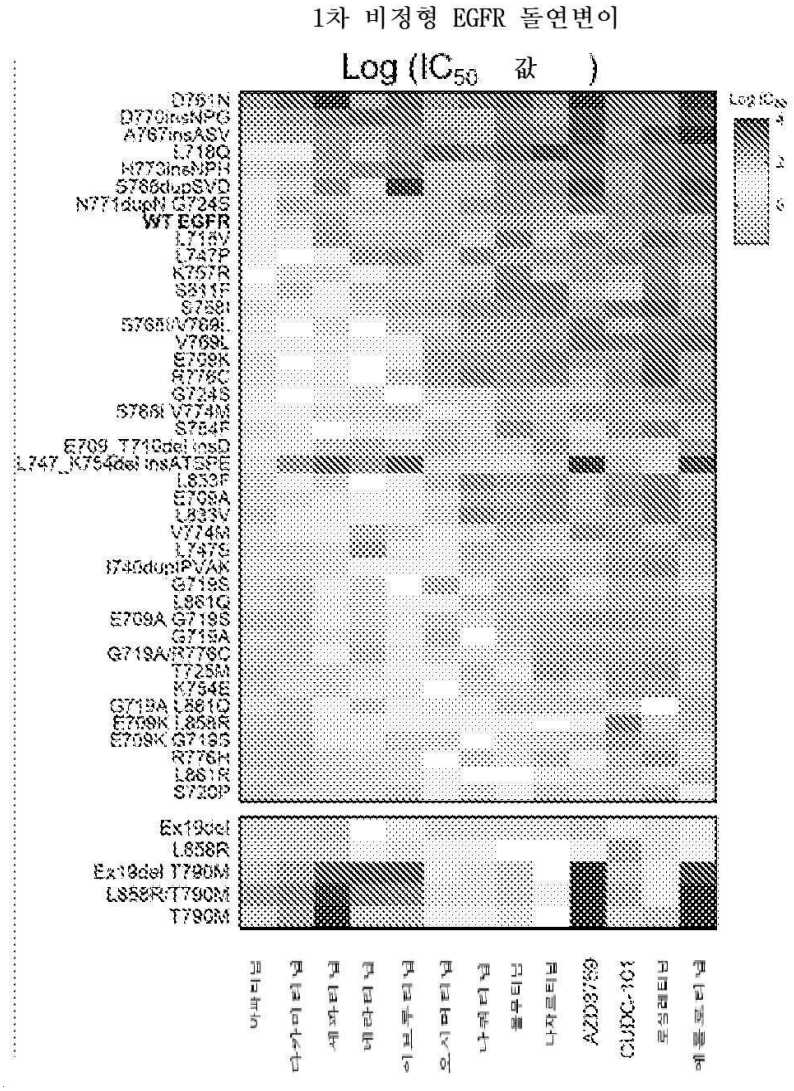
[0229] Yang *et al.*, *Int J Cancer* 2016.

[0230] Yasuda *et al.*, *Sci Transl Med* 5(216):216ra177, 2013.

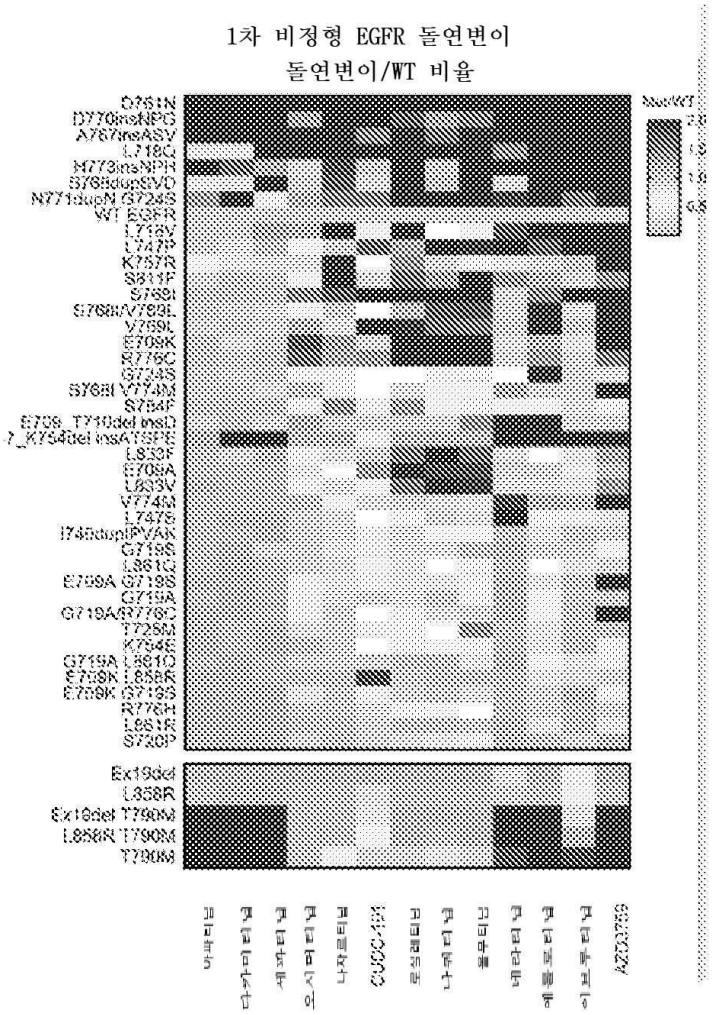
[0231] Zimmerman *et al.*, *Methods Mol. Cell. Biol.*, 3:39-42, 1992.

도면

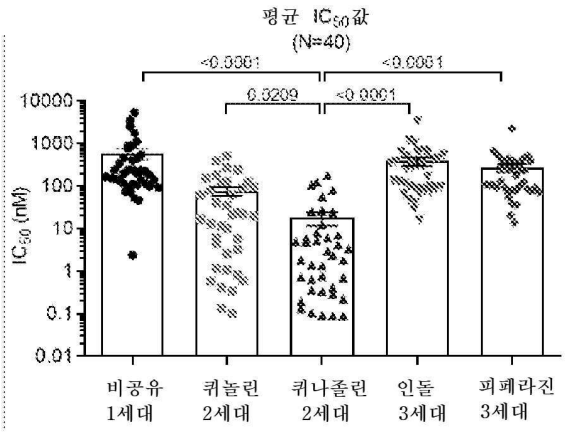
도면1a


1차 비정형 EGFR 돌연변이
Log (IC50 값)
D761N
D770insNPG
A767insASV
L718Q
H773insNPH
S768dupSVD
N771dupN G724S
WT EGFR
L718V
L747P
K757R
S811F
S768I
S768I V769L
V769L
E709K
R776C
G724S
S768I V774M
S784F
E709_T710delinsD
L747_K754delinsATSPE
L858R
E709A
L833V
V774M
L747S
I740dupIPVAK
G719S
L861Q
E709A G719S
G719A
G719A R776C
T725M
K754E
G719A L861Q
E709K L858R
E709K G719S
R776H
L861R
S720P
Ex19del
L858R
Ex19del T790M
L858R/T790M
T790M
아파티닙
다카티닙
세파티닙
네라티닙
이브루티닙
오시머티닙
나쿼티닙
폴무티닙
나자르티닙
AZD3759
CUDC-101
로실레티닙
에를로티닙

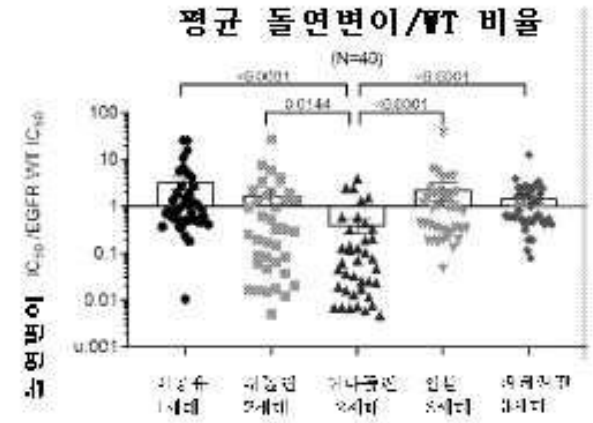
도면1b


1차 비정형 EGFR 돌연변이
돌연변이/WT 비율
Mut/WT
G761N
D770insNPG
A767insASV
L718Q
M773insNPH
S768dupSVD
N771dupN G724S
WT EGFR
L718V
L747P
K757R
S811F
S768I
S768I V769L
V769L
E709K
R776C
G724S
S768I V774M
S754F
E709_T710delinsD
T_K754delinsATSPE
L833F
E709A
L833V
V774M
L747S
I740dupIPVAK
G719S
L861Q
E709A G719S
G719A
G719A R776C
T725M
K754E
G719A L861Q
E709K L858R
E709K G719S
R776H
L861R
S720P
Ex19del
L858R
Ex19del T790M
L858R T790M
T790M

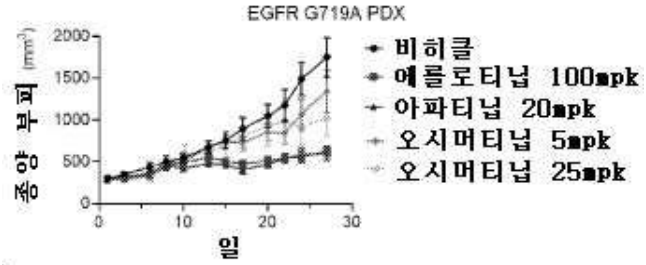
도면1c


평균 IC50값
(N=40)
<0.0001
<0.0001
0.3209
<0.0001
10000
1000
100
10
1
0.1
0.01
IC50 (nM)
비공유
1세대
퀴놀린
2세대
퀴나졸린
2세대
인돌
3세대
피페라진
3세대

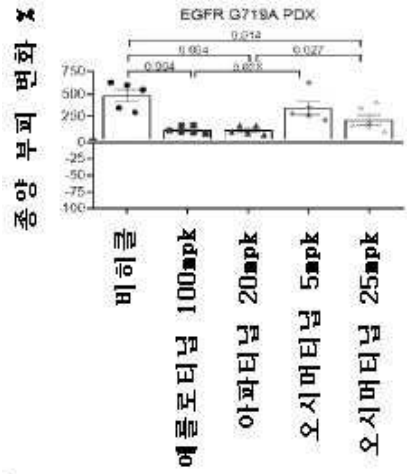
도면1d



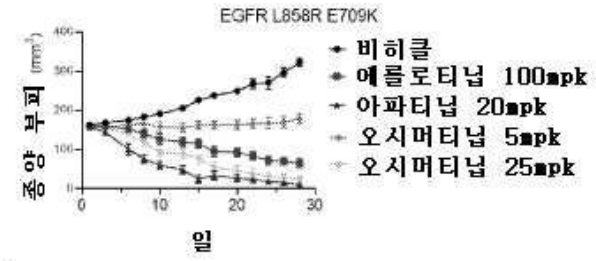
도면2a



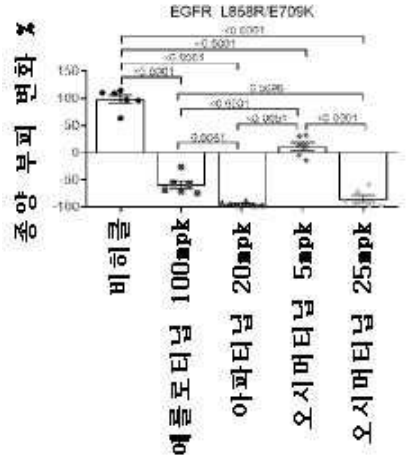
도면2b



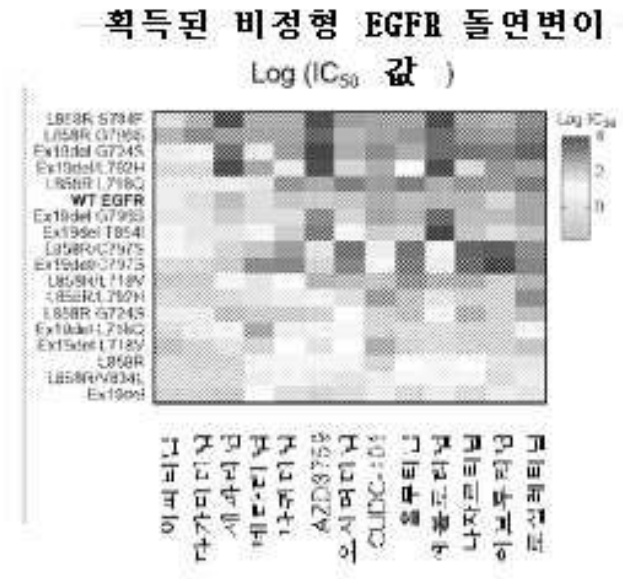
도면2c



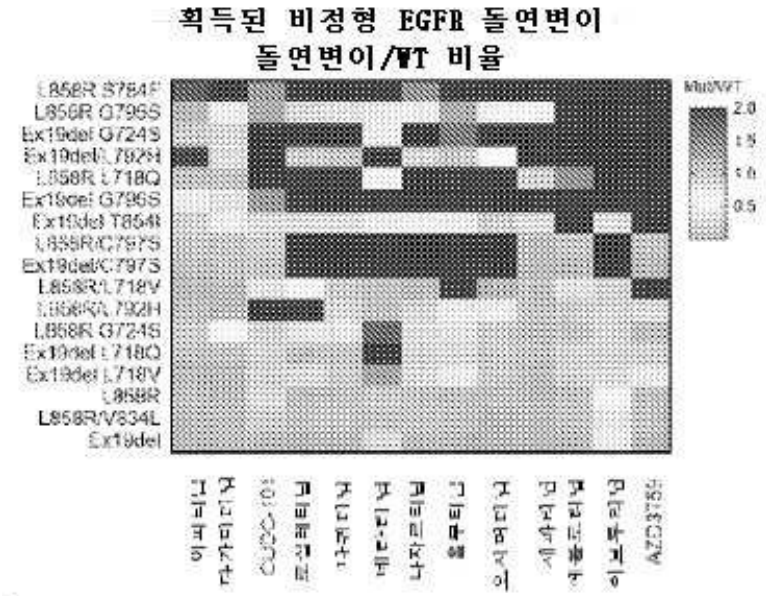
도면2d



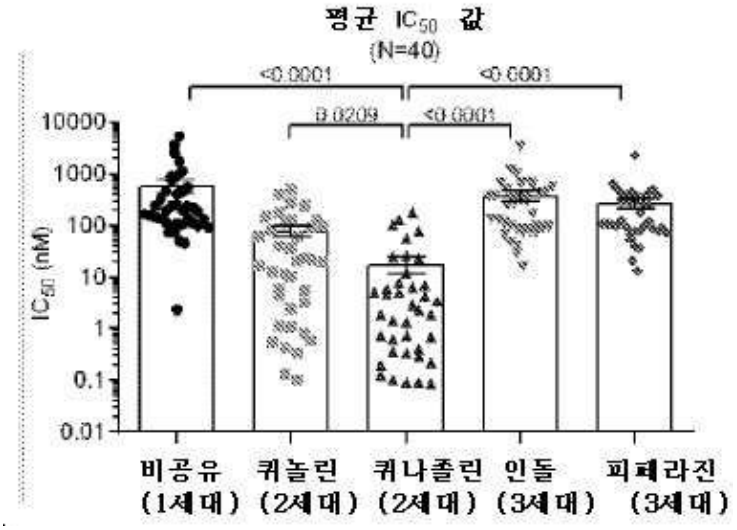
도면3a



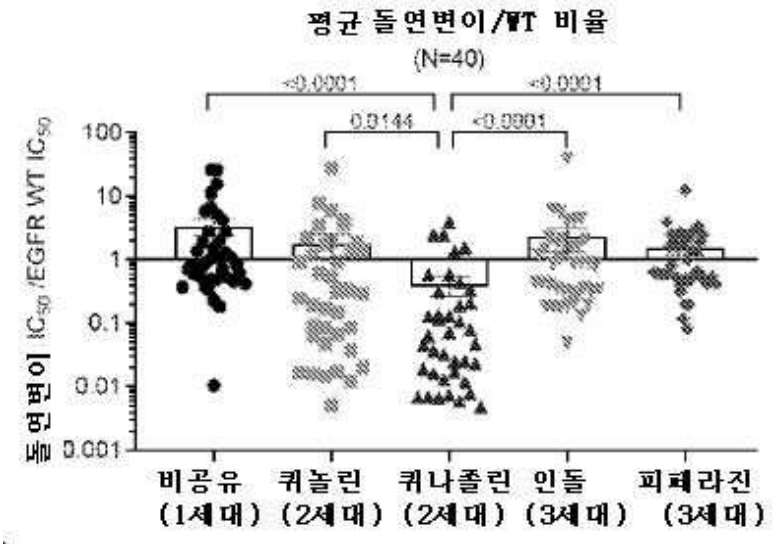
도면3b


획득된 비정형 EGFR 돌연변이
돌연변이/WT 비율
L858R S784F
L858R G796S
Ex19del G724S
Ex19del L792H
L858R L718Q
Ex19del G796S
Ex19del T854I
L858R/C797S
Ex19del/C797S
L858R/L718V
L858R/L792H
L858R G724S
Ex19del L718Q
Ex19del L718V
L858R
L858R/V834L
Ex19del
Mut/WT
2.0
1.5
1.0
0.5

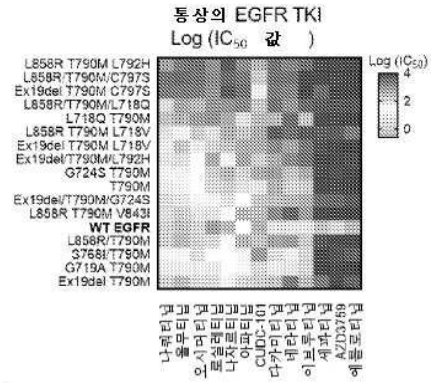
도면3c


평균 IC50 값
(N=40)
<0.0001
<0.0001
0.0209
<0.0001
10000
1000
100
10
1
0.1
0.01
IC50 (nM)
비공유 (1세대)
퀴놀린 (2세대)
퀴나졸린 (2세대)
인돌 (3세대)
피페라진 (3세대)

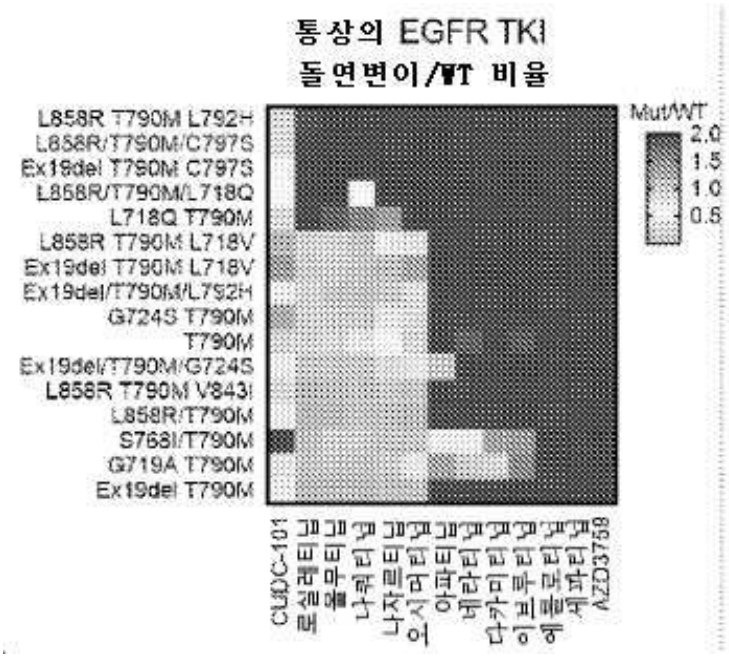
도면3d



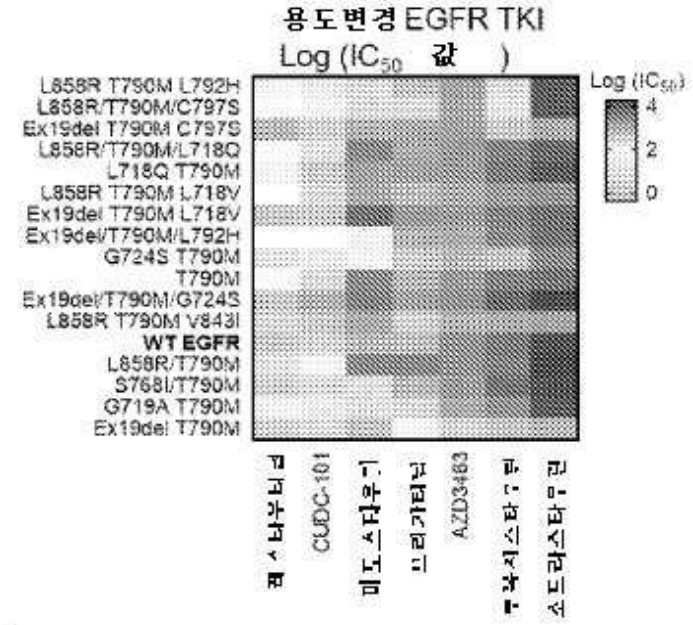
도면4a



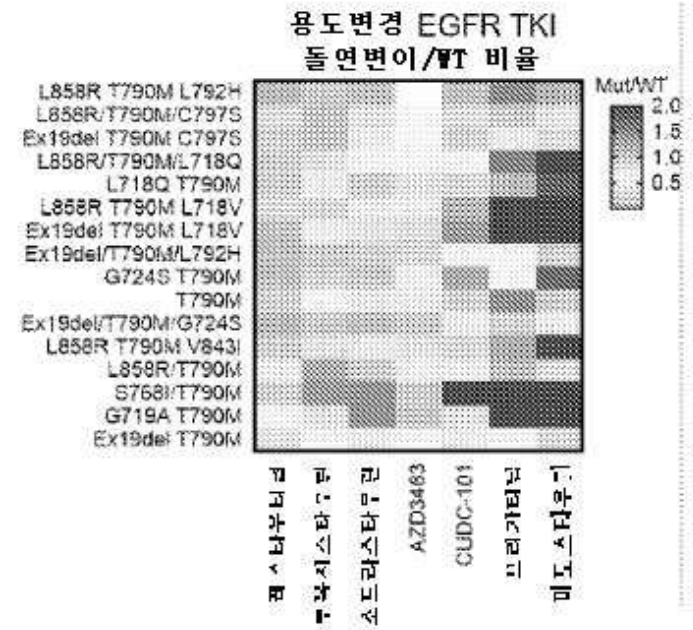
도면4b



도면4c



도면4d



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> BOARD OF REGENTS, THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM

<120> COMPOUNDS WITH ANTI-TUMOR ACTIVITY AGAINST CANCER CELLS BEARING TYROSINE KINASE INHIBITOR RESISTANT EGFR MUTATIONS

<130> UTFC.P1457WO

<140> Unknown

<141> 2020-04-16

<150> 62/835,354

<151> 2019-04-17

<160> 1

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 13

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligo

<400> 1

gcaacatctc cgg 13