



공개특허 10-2020-0088386

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2020-0088386
(43) 공개일자 2020년07월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/4725 (2006.01) *A61K 31/36* (2006.01)
A61K 31/4545 (2006.01) *A61K 31/496* (2006.01)
A61K 31/5377 (2006.01) *A61K 31/555* (2006.01)
A61K 33/243 (2019.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) *A61K 9/00* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/4725 (2013.01)*A61K 31/36* (2013.01)

(21) 출원번호 10-2020-7016752

(22) 출원일자(국제) 2018년11월09일

심사청구일자 2020년06월11일

(85) 번역문제출일자 2020년06월11일

(86) 국제출원번호 PCT/IB2018/058795

(87) 국제공개번호 WO 2019/097369

국제공개일자 2019년05월23일

(30) 우선권주장

62/585,781 2017년11월14일 미국(US)

(뒷면에 계속)

(71) 출원인

화이자 인코포레이티드

미국 뉴욕주 10017 뉴욕 이스트 42번 스트리트
235

(72) 발명자

크라우스 만프레드

미국 캘리포니아주 92130 샌 디에고 클레이몬트
코트 12990

쿵 폐이-폐이

미국 캘리포니아주 92130 샌 디에고 샤논 럭지 레
인 5504

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

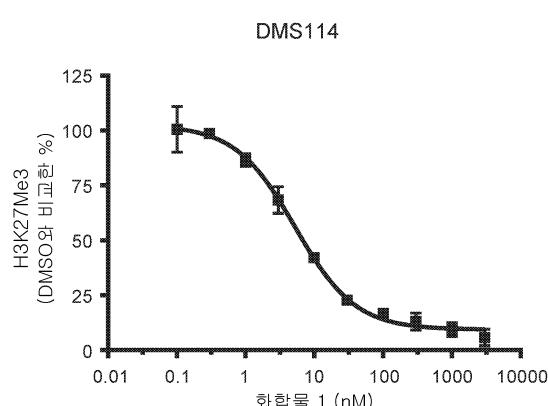
제일특허법인(유)

전체 청구항 수 : 총 31 항

(54) 발명의 명칭 EZH2 억제제 병용 요법

(57) 요 약

본 발명은 EZH2 억제제 및 화학 치료제를 포함하는 병용 요법, 및 관련된 약학 조성물, 치료 방법 및 약학적 용도에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1

(52) CPC특허분류

A61K 31/4545 (2013.01)

A61K 31/496 (2013.01)

A61K 31/5377 (2013.01)

A61K 31/555 (2013.01)

A61K 33/243 (2019.01)

A61K 45/06 (2013.01)

A61K 9/0019 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

(72) 발명자

폴 토마스 앤드류

미국 캘리포니아주 92128 샌 디에고 커지 플레이스
11933

샤르마 쉬카

미국 캘리포니아주 92126 샌 디에고 블랙 마운튼
로드 10232 아파트먼트 104

베헬레 도미니크

미국 매사추세츠주 02127 보스톤 비 스트리트 125
유닛 2씨

(30) 우선권주장

62/628,314 2018년02월09일 미국(US)

62/684,832 2018년06월14일 미국(US)

62/739,990 2018년10월02일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

EZH2(제스트 인핸서 상동체 2) 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 병용 요법을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 개체의 암의 치료 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

개체가 인간인, 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

암이 소세포 폐암인, 방법.

청구항 4

제3항에 있어서,

소세포 폐암이 확장기 질병으로 분류되는, 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

개체가 치료 무경험자인, 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,

EZH2 억제제가 하기 화합물 및 이의 약학적으로 허용되는 염으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법:

5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시)-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-페리딘-3-일)메틸]-7-[메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온;

5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시)-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-페리딘-3-일)메틸]-7-[(R)-메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온;

5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시)-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-페리딘-3-일)메틸]-7-[(S)-메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온;

5-브로모-8-클로로-2-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-7-(1,4-다이메틸-1H-1,2,3-트라이아졸-5-일)-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온;

5,8-다이클로로-7-(3,5-다이메틸-1,2-옥사졸-4-일)-2-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온;

N-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-5-[에틸(테트라하이드로-2H-페란-4-일)아미노]-4-메틸-4'-(모폴린-4-일메틸)바이페닐-3-카복스아미드;

N-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-5-[에틸(테트라하이드로-2H-페란-4-일)아미노]-4-메틸-4'-(모폴린-4-일메틸)바이페닐-3-카복스아미드;

N-[(4-메톡시)-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-2-메틸-1-[(1R)-1-[1-(2,2,2-트라이플루오로에틸)페리딘-4-일]에틸]-1H-인돌-3-카복스아미드;

N-(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일메틸)-1-이소프로필-3-메틸-6-[6-(4-메틸페페라진-1-일)페리딘-3-일]-1H-인돌-4-카복스아미드; 및

N-[(6-메틸-2-옥소-4-프로필-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-6-[2-(4-메틸페페라진-1-일)페리딘-4-일]-1-(프로판-2-일)-1H-인디졸-4-카복스아미드.

청구항 7

제6항에 있어서,

EZH2 억제제가 5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-페리딘-3-일)메틸]-7-[(R)-메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온 또는 이의 약학적으로 허용되는 염인, 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,

백금계 항신생물제가 시스플라틴 및 카보플라틴으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 9

제8항에 있어서,

백금계 항신생물제가 시스플라틴인, 방법.

청구항 10

제8항에 있어서,

백금계 항신생물제가 카보플라틴인, 방법.

청구항 11

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,

EZH2 억제제가 5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-페리딘-3-일)메틸]-7-[(R)-메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이고, 백금계 항신생물제가 시스플라틴인, 방법.

청구항 12

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,

EZH2 억제제가 5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-페리딘-3-일)메틸]-7-[(R)-메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이고, 백금계 항신생물제가 카보플라틴인, 방법.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

에토포시드를 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서,

항종양제, 항혈관신생제, 신호 전달 억제제 및 항증식제로부터 선택된 추가적 항암제를 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 15

제14항에 있어서,

항암제가 체세포 분열 억제제, 알킬화제, 항대사물질, 삽입성 항생제, 성장 인자 억제제, 방사선, 세포 주기 억제제, 효소, 토포이소머라제 억제제, 생체 반응 조절제, 항체, 세포 독성제, 항호르몬제, 안드로겐 결핍 치료 및 항안드로겐제로 이루어진 군으로부터 선택된 항종양제인, 방법.

청구항 16

제14항에 있어서,

항암제가 항-PD-1 항체, 항-PD-L1 항체 및 항-CTLA-4 항체로 이루어진 군으로부터 선택된 항종양제인, 방법.

청구항 17

제14항에 있어서,

항암제가 니볼루맙, 펜브롤리주맙, 피딜리주맙, 세미플리주맙, 티스렐리주맙, mAb7, mAb15, AMP-224, AGEN-2034, 스파르탈리주맙, YW243.55.S70, BMS-936559, 아테졸리주맙, 두르발루맙, 아벨루맙, 이필리무맙, 트레멜리무맙 및 AGEN-1884로 이루어진 군으로부터 선택된 항종양제인, 방법.

청구항 18

EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 조합.

청구항 19

암의 치료에서 사용하기 위한, EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 조합.

청구항 20

EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 상승작용성 조합.

청구항 21

암의 치료에서 사용하기 위한 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 상승작용성 조합.

청구항 22

EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 탑체를 포함하는 약학 조성물.

청구항 23

제1 용기, 제2 용기 및 패키지 삽입물을 포함하는 키트로서, 상기 제1 용기가 1회 이상의 투여량의 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하고, 상기 제2 용기가 1회 이상의 투여량의 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하고, 상기 패키지 삽입물이 약제를 사용하여 개체의 암을 치료하기 위한 지시서를 포함하는, 키트.

청구항 24

항종양제, 항혈관신생제, 신호 전달 억제제 및 항증식제로부터 선택된 추가적 항암제를 추가로 포함하는, 제18항 또는 제19항의 조합, 제20항 또는 제21항의 상승작용성 조합, 제22항의 약학 조성물 또는 제23항의 키트.

청구항 25

제24항에 있어서,

추가적 항암제가 체세포 분열 억제제, 알킬화제, 항대사물질, 삽입성 항생제, 성장 인자 억제제, 방사선, 세포 주기 억제제, 효소, 토포이소머라제 억제제, 생체 반응 조절제, 항체, 세포 독성제, 항호르몬제, 안드로겐 결핍 치료

치료 및 항안드로겐제로 이루어진 군으로부터 선택된 항종양제인, 조합, 상승작용성 조합, 약학 조성물 또는 키트.

청구항 26

제24항에 있어서,

추가적 항암제가 항-PD-1 항체, 항-PD-L1 항체 및 항-CTLA-4 항체로 이루어진 군으로부터 선택된 항종양제인, 조합, 상승작용성 조합, 약학 조성물 또는 키트.

청구항 27

제24항에 있어서,

추가적 항암제가 니볼루맙, 펜브롤리주맙, 피딜리주맙, 세미플리주맙, 티스렐리주맙, mAb7, mAb15, AMP-224, AGEN-2034, 스파르탈리주맙, YW243.55.S70, BMS-936559, 아테졸리주맙, 두르발루맙, 아벨루맙, 이필리무맙, 트레멜리무맙 및 AGEN-1884로 이루어진 군으로부터 선택된 항종양제인, 조합, 상승작용성 조합, 약학 조성물 또는 키트.

청구항 28

제18항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서,

백금계 항신생물제가 시스플라틴 및 카보플라틴으로 이루어진 군으로부터 선택되고, EZH2 억제제가 하기 화합물 및 이의 약학적으로 허용되는 염으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 조합, 상승작용성 조합, 약학 조성물 또는 키트:

5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-페리딘-3-일)메틸]-7-[메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온;

5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-페리딘-3-일)메틸]-7-[(R)-메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온;

5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-페리딘-3-일)메틸]-7-[(S)-메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온;

5-브로모-8-클로로-2-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-7-(1,4-다이메틸-1H-1,2,3-트라이아졸-5-일)-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온;

5,8-다이클로로-7-(3,5-다이메틸-1,2-옥사졸-4-일)-2-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온;

N-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-5-[에틸(테트라하이드로-2H-페란-4-일)아미노]-4-메틸-4'-(모폴린-4-일메틸)바이페닐-3-카복스아미드;

N-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-5-[에틸(테트라하이드로-2H-페란-4-일)아미노]-4-메틸-4'-(모폴린-4-일메틸)바이페닐-3-카복스아미드;

N-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-2-메틸-1-[(1R)-1-[(1-(2,2,2-트라이플루오로에틸)페리딘-4-일)에틸]-1H-인돌-3-카복스아미드;

N-(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일메틸)-1-이소프로필-3-메틸-6-[6-(4-메틸페페라진-1-일)페리딘-3-일]-1H-인돌-4-카복스아미드; 및

N-[(6-메틸-2-옥소-4-프로필-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-6-[2-(4-메틸페페라진-1-일)페리딘-4-일]-1-(프로판-2-일)-1H-인다졸-4-카복스아미드.

청구항 29

제18항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서,

EZH2 억제제가 5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-페리딘-3-일)메틸]-7-[(R)-메톡시

(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이고, 백금계 항신 생물제가 시스플라틴인, 조합, 상승작용성 조합, 약학 조성물 또는 키트.

청구항 30

제18항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서,

EZH2 억제제가 5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-피리딘-3-일)메틸]-7-[(R)-메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이고, 백금계 항신 생물제가 카보플라틴인, 조합, 상승작용성 조합, 약학 조성물 또는 키트.

청구항 31

제30항에 있어서,

에토포시드를 추가로 포함하는, 조합, 상승작용성 조합, 약학 조성물 또는 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 암의 치료에 유용한 병용 요법에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 제스트 인핸서 상동체 2(enhaner of zeste homolog 2; EZH2) 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 화학 치료제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 병용 요법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 관련된 치료 방법, 약학 조성물 및 약학적 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

후생적 변경은 세포 증식, 세포 분화 및 세포 생존을 비롯한 세포 과정의 조절에서 중요한 역할을 한다. 종양 억제 유전자의 후생적 침묵(silencing) 및 종양 유전자의 활성화는 DNA 메틸화 패턴의 변경, 히스톤 변형, 및 DNA 결합 염색질 리모델링 복합체의 이상조절을 통해 발생할 수 있다. 폴리콤(polycomb) 유전자는 후생적 효과 기의 세트이다. EZH2(제스트 인핸서 상동체 2)는 히스톤 H3에서 리신 27(H3K27)을 메틸화함으로써 유전자 전사를 억제하는 보존된 다중-하위단위 복합체인 폴리콤 억제 복합체 2(PRC2)의 촉매 성분이다. EZH2는 세포 운명 결정, 예컨대 분화 및 자가-재생을 조절하는 유전자 발현 패턴을 조절하는 주요한 역할을 한다. EZH2는 특정한 암 세포에서 과발현되고, 여기서 이는 세포 증식, 세포 침입, 화학내성 및 전이와 관련되어 있다.

[0003]

높은 EZH2 발현은 유방암, 대장암, 자궁내막암, 위암, 간암, 신장암, 폐암, 흑색종, 난소암, 췌장암, 전립선암 및 방광암을 비롯한 여러 암 유형에서 불량한 예후, 높은 등급 및 높은 단계와 관련되어 있다. 문헌[Crea et al., Crit. Rev. Oncol. Hematol. 2012, 83:184-193] 및 이에 인용된 참고문헌을 참조하고; 또한 문헌[Kleer et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2003, 100:11606-11]; [Mimori et al., Eur. J. Surg. Oncol. 2005, 31:376-80]; [Bachmann et al., J. Clin. Oncol. 2006, 24:268-273]; [Matsukawa et al., Cancer Sci. 2006, 97:484-491]; [Sasaki et al. Lab. Invest. 2008, 88:873-882]; [Sudo et al., Br. J. Cancer 2005, 92(9):1754-1758]; [Breuer et al., Neoplasia 2004, 6:736-43]; [Lu et al., Cancer Res. 2007, 67:1757-1768]; [Ougolkov et al., Clin. Cancer Res. 2008, 14:6790-6796]; [Varambally et al., Nature 2002, 419:624-629]; [Wagener et al., Int. J. Cancer 2008, 123:1545-1550]; [Weikert et al., Int. J. Mol. Med. 2005, 16:349-353]; [Jones P. A. et al., Nat Rev Genet, 2002, 3(6):415-428]; 및 [Ezponda T. et al., Clin Cancer Res, 2014, 20(19):5001-5008]을 참조한다.

[0004]

EZH2에서 체세포 돌연변이 재발은 미만성 거대 B-세포 림프종(DLBCL) 및 여포성 림프종(FL)에서 확인되었다. EZH2 티로신 641을 변경하는 돌연변이(예를 들면, Y641C, Y641F, Y641N, Y641S 및 Y641H)는 전하는 바에 따르면 배 중심 B-세포 DLBCL의 22% 이하 및 FL의 7%에서 관찰되었다(문헌[Morin et al., Nat. Genetics 2010, 42(2):181-185]). 알라닌 677(A677) 및 알라닌 687(A687)의 돌연변이가 또한 보고되었다(문헌[McCabe et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2012, 109:2989-2994]; [Majer et al., FEBS Letters 2012, 586:3448-3451]). EZH2 활성화 돌연변이는 기질 특이성을 변경하여 트라이메틸화된 H3K27(H3K27me3)의 상승된 수준을 야기하는 것으로 제시되었다(문헌[Sneeringer et al., Proc Natl Acad Sci USA 2010, 107(49):20980-5]).

[0005]

소세포 폐암(SCLC)(귀리 세포암으로도 공지됨)은 모든 폐암의 약 10 내지 15%를 구성한다. 폐의 소세포 암종은

대체로 중심 기도에 존재하고 점막하 조직을 침윤하여 기관지 기도의 좁아짐을 야기한다. 소세포 폐 암종 환자의 70% 초파가 전이성 질병을 겪고; 통상적 부위는 간, 부신, 뼈 및 뇌를 포함한다. SCLC는 불량하게 분화된 신생물이며, 이는 이의 신경내분비(NE) 특징에 의해 구별될 수 있다(문헌[Sabari J.K. et al. Nat Rev Clin Oncol, 2017, 14(9): 549-561]). 진단 후에, SCLC는 가장 통상적으로, 원격 전이의 유무에 따라, 제한기 질병(LD) 또는 확장기 질병(ED)으로 분류된다. 모든 SCLC 환자의 약 3분의 2가 ED로 진단 받았다. SCLC의 늦은 발견에도 불구하고, 화학 요법 및 방사선 요법에 대한 양호한 초기 반응이 대부분의 환자에서 관찰되었다. 불행히도, 이러한 초기 반응 후에, 거의 모든 환자에게서 6 내지 12개월 이내에 내성 질병이 재발한다(문헌[Semenova E. A. et al., Genes Dev, 2015, 29(14):1447-1462]). 소세포 폐암은, 종양 억제 TP53(종양 단백질 p53) 및 RB1(망막아종)의 기능의 거의 일률적인 손실을 특징으로 한다. EZH2의 과발현은 다른 폐암 아형 및 정상 조직과 비교하여 모든 SCLC 환자에게서 관찰된다. SCLC에서 RB1의 손실은 EZH2의 증가된 발현과 강하게 연관된다. 따라서, EZH2는 SCLC의 진행을 매개함에 있어서 역할을 할 수 있다(문헌[Poirier J. T. et al., Oncogene, 2015, 34(48): 5869-5878]; [Gardner E. E. et al., Cancer cell, 2017, 31(2): 286-299]).

[0006] 암의 치료를 위한 개선된 요법의 필요성이 남아 있다. 본 발명의 조합은 하나 이상의 유리점, 예컨대 단독 치료제를 사용한 치료보다 높은 효능; 약물-약물 상호작용의 감소 가능성; 개선된 투여 일정을 가능하게 하는 가능성; 부작용 감소 가능성; 내성 메카니즘의 극복 가능성 등을 갖는 것으로 생각된다. 본 발명의 상기 유리점 및 기타 유리점은 하기 설명부로부터 자명하다.

발명의 내용

- [0007] 본 발명은 암의 치료를 위한 치료 섭생에 관한 것이다.
- [0008] 본 발명은 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 병용 요법을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 개체의 암의 치료 방법에 관한 것이다.
- [0009] 또한, 본 발명은 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 조합에 관한 것이다.
- [0010] 또한, 본 발명은 암의 치료에서 사용하기 위한, EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 조합에 관한 것이다.
- [0011] 또한, 본 발명은 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 상승작용성 조합에 관한 것이다.
- [0012] 또한, 본 발명은 암의 치료에서 사용하기 위한, EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 상승작용성 조합에 관한 것이다.
- [0013] 또한, 본 발명은 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다.
- [0014] 또한, 본 발명은 제1 용기, 제2 용기 및 패키지 삽입물을 포함하는 키트에 관한 것으로서, 상기 제1 용기는 1회 이상의 투여량의 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하고, 상기 제2 용기는 1회 이상의 투여량의 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하고, 상기 패키지 삽입물은 약제를 사용하여 개체의 암을 치료하기 위한 지시서를 포함한다.
- [0015] 본 발명의 한 실시양태에서, 개체는 인간이다.
- [0016] 본 발명의 한 실시양태에서, 암은 소세포 폐암이다.
- [0017] 본 발명의 한 실시양태에서, 암은 난치성 소세포 폐암이다.
- [0018] 본 발명의 한 실시양태에서, 암은 재발성 소세포 폐암이다.
- [0019] 본 발명의 한 실시양태에서, 암은 소세포 폐암이고, 상기 소세포 폐암 확장기(extensive stage) 질병으로 분류된다.
- [0020] 본 발명의 한 실시양태에서, 개체는 치료 무경험자이다.
- [0021] 본 발명의 한 실시양태에서, 암은 재발성 소세포 폐암이고, 개체는 치료 무경험자이다.
- [0022] 본 발명의 한 실시양태에서, 암은 난치성 소세포 폐암이고, 개체는 치료 무경험자이다.

- [0023] 본 발명의 한 실시양태에서, 암은 확장기 질병 소세포 폐암이고, 개체는 치료 무경험자이다.
- [0024] 본 발명의 한 실시양태에서, 암은 난치성 확장기 질병 소세포 폐암이고, 개체는 치료 무경험자이다.
- [0025] 본 발명의 한 실시양태에서, 암은 재발성 확장기 질병 소세포 폐암이고, 개체는 치료 무경험자이다.
- [0026] 본 발명의 한 실시양태에서, EZH2 억제제는 하기 화합물 및 이의 약학적으로 허용되는 염으로 이루어진 군으로부터 선택된다:
- [0027] 5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-피리딘-3-일)메틸]-7-[메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온;
- [0028] 5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-피리딘-3-일)메틸]-7-[(R)-메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온;
- [0029] 5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-피리딘-3-일)메틸]-7-[(S)-메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온;
- [0030] 5-브로모-8-클로로-2-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로피리딘-3-일)메틸]-7-(1,4-다이메틸-1H-1,2,3-트라이아졸-5-일)-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온;
- [0031] 5,8-다이클로로-7-(3,5-다이메틸-1,2-옥사졸-4-일)-2-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로피리딘-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온;
- [0032] N-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로피리딘-3-일)메틸]-5-[에틸(테트라하이드로-2H-페란-4-일)아미노]-4-메틸-4'-(모폴린-4-일메틸)바이페닐-3-카복스아미드;
- [0033] N-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로피리딘-3-일)메틸]-5-[에틸(테트라하이드로-2H-페란-4-일)아미노]-4-메틸-4'-(모폴린-4-일메틸)바이페닐-3-카복스아미드;
- [0034] N-[(4-메톡시)-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로피리딘-3-일)메틸]-2-메틸-1-[(1R)-1-[1-(2,2,2-트라이플루오로에틸)피페리딘-4-일]에틸]-1H-인돌-3-카복스아미드;
- [0035] N-(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로피리딘-3-일메틸)-1-이소프로필-3-메틸-6-[6-(4-메틸페페라진-1-일)피리딘-3-일]-1H-인돌-4-카복스아미드; 및
- [0036] N-[(6-메틸-2-옥소-4-프로필-1,2-다이하이드로피리딘-3-일)메틸]-6-[2-(4-메틸페페라진-1-일)피리딘-4-일]-1-(프로판-2-일)-1H-인디졸-4-카복스아미드.
- [0037] 본 발명의 한 실시양태에서 EZH2 억제제는 5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-피리딘-3-일)메틸]-7-[(R)-메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이고, 백금계 항신생물제는 시스플라틴 및 카보플라틴으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0038] 본 발명의 한 실시양태에서, 백금계 항신생물제는 시스플라틴이다.
- [0039] 본 발명의 한 실시양태에서, 백금계 항신생물제는 카보플라틴이다.
- [0040] 본 발명의 한 실시양태에서, 백금계 항신생물제는 카보플라틴이다.
- [0041] 본 발명의 한 실시양태에서, EZH2 억제제는 5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-피리딘-3-일)메틸]-7-[(R)-메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이고, 백금계 항신생물제는 시스플라틴이다.
- [0042] 본 발명의 한 실시양태에서, EZH2 억제제는 5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-피리딘-3-일)메틸]-7-[(R)-메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이고, 백금계 항신생물제는 카보플라틴이다.
- [0043] 본 발명의 한 실시양태에서, 에토포시드가 추가로 투여된다.
- [0044] 하기에 기재된 본 발명의 실시양태 각각은 본원에 기재된 하나 이상의 다른 본 발명의 실시양태와 조합될 수 있으며, 이는 이것이 조합되는 실시양태와 모순되지 않는다. 또한, 본 발명을 기술하는 하기 실시양태 각각은 본 발명의 화합물의 다형체, 입체 이성질체 및 동위원소 표지된 베플을 포함하는, 약학적으로 허용되는 염, 이의

용매화물, 수화물 및 복합물, 및 이의 염의 용매화물, 수화물 및 복합물을 본 발명의 범위 내에서 고려한다. 따라서, 용어 "또는 이의 약학적으로 허용되는 염"은 본원에 기재된 모든 화합물의 기술에 내포된다.

도면의 간단한 설명

[0045]

도 1: DMS114 SCLC 세포에서 화합물 1에 의한 H3K27Me3의 억제. DMS114 SCLC 세포를 상이한 농도의 화합물 1로 3일 동안 처리하고, H3K27Me3 수준을 웨스턴 블로트(Western Blot) 분석을 사용하여 평가하였다. 각각의 데이터 점은 DMSO에 대해 정규화된 제시된 화합물 농도에서 H3K27Me3 수준(%)을 나타낸다(평균 ± SD; n=2 기술적 반복실험). 본 도면은 5회의 독립적 생물학적 반복실험의 대표이다.

도 2: 화합물 1에 의한 DMS114 SCLC 세포 증식의 억제. DMS114 SCLC 세포를 상이한 농도의 화합물 1로 19일 동안 처리하였다. 각각의 데이터 점은 DMSO에 대해 정규화된 제시된 화합물 농도에서의 생존 세포(%)를 나타낸다(평균 ± SD; n=6). 본 도면은 6회의 독립적 생물학적 반복실험의 대표이다.

도 3: 화합물 1은 DMS114 SCLC 세포에서 시스플라틴과의 조합에서 상승작용성 효과를 나타낸다. 세포를 화합물 1로 9일 동안 전처리한 후에, 시스플라틴으로 4일 동안 공동-처리하였다. 데이터를 미처리 DMSO/DMSO 샘플에 대해 정규화하고, 미처리 샘플의 %로 나타냈다. 데이터를 뢰베 가산성 조합 모델(Loewe additivity combination model)을 사용하여 분석하였다.

도 4: 화합물 1은 DMS114 SCLC 세포에서 에토포시드와의 조합에서 상승작용성 효과를 나타낸다. 세포를 화합물 1로 9일 동안 전처리한 후에, 에토포시드로 4일 동안 공동-처리하였다. 데이터를 미처리 DMSO/DMSO 샘플에 대해 정규화하고, 미처리 샘플의 %로 나타냈다. 데이터를 뢰베 가산성 조합 모델을 사용하여 분석하였다.

도 5: DMS114 SCLC 이종 이식 모델에서 단일 제제 화합물 1의 항종양 효능. 화합물 1 처리 아암에 대한 DMS114 종양의 성장 곡선 및 TGI 값(기하평균 ± SEM). 무작위화 및 처리를 암컷 NOD/SCID 마우스에게 이식한 후 제20일에 시작하였다. P 값: 양측 t-검정. 30 및 100 mg/kg BID 처리군은 300 mg/kg BID 군보다 유의미하게 낮은 TGI를 나타냈다. 체중 변화율은 제20일에 치료 개시에 상대적으로 나타냈다(평균 ± SEM).

도 6: DMS114 SCLC 이종 이식 모델에서 화합물 1에 의한 H3K27Me3 및 Me2의 투여량-의존성 억제. 상이한 투여량의 화합물 1로 처리된 DMS114 종양에서 (A) H3K27Me3 및 (B) H3K27Me2의 조절. 히스톤을 제55일에 채취한 스냅-동결된 종양으로부터 추출하고, 메틸화 수준을 ELISA 분석을 사용하여 평가하였다(평균 ± SEM; *ns P > 0.05; *P ≤ 0.05; **P ≤ 0.01; ***P ≤ 0.001; ****P ≤ 0.0001).

도 7: DMS114 SCLC 이종 이식 모델에서 시스플라틴 및 화합물 1의 조합 항종양 이익. A. 화합물 1 및 시스플라틴 처리 아암에 DMS114 종양의 성장 곡선 및 TGI 값(기하평균 ± SEM). 무작위화 및 처리를 암컷 NOD/SCID 마우스에게 이식한 후 제20일에 개시한다. P 값: 양측 t-검정. 화합물 1 100 mg/kg BID 및 시스플라틴 단일 요법 군은 조합 처리군보다 유의미하게 낮은 TGI를 나타냈다. B. 체중 변화율을 제20일에 처리 개시에 상대적으로 나타냈다(평균 ± SEM). C. 조합 처리군에 대한 개별적 종양 성장 곡선. 치료 개시시 종양 크기와 비교하여 조합으로 처리된 마우스의 50%에서 종양 부피 퇴화가 나타났다(회색 선/면 원으로 나타냄).

도 8: EZH2-wt DMS114 피하 SCLC 이종 이식 모델에서 화합물 1과 조합된 시스플라틴으로 처리된 마우스의 연장된 생존. 카풀란 마이어(Kaplan Meier) 생존 곡선은 500 mm³ 종양 부담에서 생존 컷-오프(cut-off)를 기초로 한다. 무작위화를 암컷 NOD/SCID 마우스에게 이식한 후 제20일에 수행하였다. P 값은 Log-순위 검정(만텔-콕스(Mantel-Cox); 그래프패드-프리즘(Graphpad-Prism) 소프트웨어)을 기초로 한다. 시스플라틴에 의한 제3 처리 후 및 제55일의 2개의 시스플라틴 처리군의 체중 회복.

도 9: DMS114 SCLC 이종 이식 모델에서 개별적 종양 성장 곡선. 암컷 NOD/SCID 마우스에서 이식 후(50% 매트리겔을 갖는 0.1 mL PBS에 107개의 세포) 제20일에 무작위화.

도 10: 화합물 1에 의한 H841 SCLC 세포 증식의 억제. H841 SCLC 세포를 상이한 농도의 화합물 1로 21일 동안 처리하였다. 각각의 데이터 점은 DMSO에 대해 정규화된 제시된 화합물 농도에서 생존 세포(%)를 나타낸다(평균 ± SEM; n=3 기술적 반복실험). 본 도면은 2개의 독립적 생물학적 반복실험의 대표이다.

도 11: 화합물 1에 의한 H446 SCLC 세포 증식의 억제. H446 SCLC 세포를 상이한 농도의 화합물 1로 21일 동안 처리하였다. 각각의 데이터 점은 DMSO에 대해 정규화된 제시된 화합물 농도에서 생존 세포(%)를 나타낸다(평균 ± SEM; n=3 기술적 반복실험).

도 12: 화합물 1에 의한 H69 SCLC 세포 증식의 억제. H69 SCLC 세포를 상이한 농도의 화합물 1로 21일 동안 처

리하였다. 각각의 데이터 점은 DMSO에 대해 정규화된 제시된 화합물 농도에서 생존 세포(%)를 나타낸다(평균 ± SEM; n=3 기술적 반복실험).

도 13: 화합물 1은 H841 SCLC 세포에서 시스플라틴과의 조합에서 상승작용성/가산적 효과를 나타낸다. H841 세포를 화합물 1로 9일 동안 전처리한 후에, 시스플라틴으로 4일 동안 공동-처리하였다. 데이터를 미처리 DMSO/DMSO 샘플에 대해 정규화하고, 미처리 샘플의 %로 나타냈다. 데이터를 뢰베 가산성 조합 모델을 사용하여 분석하였다.

도 14: 화합물 1은 H841 SCLC 세포에서 에토포시드와의 조합에서 상승작용성/가산적 효과를 나타낸다. H841 세포를 화합물 1로 9일 동안 전처리한 후에, 에토포시드로 4일 동안 공동-처리하였다. 데이터를 미처리 DMSO/DMSO 샘플에 대해 정규화하고, 미처리 샘플의 %로 나타냈다. 데이터를 뢰베 가산성 조합 모델을 사용하여 분석하였다.

도 15: 화합물 1은 H446 SCLC 세포에서 시스플라틴과의 조합에서 상승작용성 효과를 나타낸다. H446 세포를 화합물 1로 9일 동안 전처리한 후에, 시스플라틴으로 4일 동안 공동-처리하였다. 데이터를 미처리 DMSO/DMSO 샘플에 대해 정규화하고, 미처리 샘플의 %로 나타냈다. 데이터를 뢰베 가산성 조합 모델을 사용하여 분석하였다.

도 16: 화합물 1은 H446 SCLC 세포에서 에토포시드와의 조합에서 상승작용성 효과를 나타낸다. H446 세포를 화합물 1로 9일 동안 전처리한 후에, 에토포시드로 4일 동안 공동-처리하였다. 데이터를 미처리 DMSO/DMSO 샘플에 대해 정규화하고, 미처리 샘플의 %로 나타냈다. 데이터를 뢰베 가산성 조합 모델을 사용하여 분석하였다.

도 17: 화합물 1은 H69 SCLC 세포에서 시스플라틴과의 조합에서 상승작용성 효과를 나타낸다. H69 세포를 화합물 1로 9일 동안 전처리한 후에, 시스플라틴으로 4일 동안 공동-처리하였다. 데이터를 미처리 DMSO/DMSO 샘플에 대해 정규화하고, 미처리 샘플의 %로 나타냈다. 데이터를 뢰베 가산성 조합 모델을 사용하여 분석하였다.

도 18: 화합물 1은 H69 SCLC 세포에서 에토포시드와의 조합에서 상승작용성 효과를 나타낸다. H69 세포를 화합물 1로 9일 동안 전처리한 후에, 에토포시드로 4일 동안 공동-처리하였다. 데이터를 미처리 DMSO/DMSO 샘플에 대해 정규화하고, 미처리 샘플의 %로 나타냈다. 데이터를 뢰베 가산성 조합 모델을 사용하여 분석하였다.

도 19: 화합물 1은 SCLC 세포주에서 SLFN11 발현을 유도한다. SCLC 세포주를 500 nM의 화합물 1로 7일 동안 처리하고, SLFN11 발현을 웨스턴 블로팅을 사용하여 검출하였다.

도 20: 시스플라틴과 조합된 화합물 1은 H841 SCLC 세포주에서 증가된 γ-H2AX foci를 유도한다. H841 세포를 화합물 1로 7일 동안 전처리 한 후에, 시스플라틴으로 16시간 동안 공동-처리하였다. 이어서, 세포를 γ-H2AX에 대해 염색시켰다.

도 21: COMET 분석에서 나타난 바와 같이, 시스플라틴과 조합된 화합물 1은 H841 SCLC 세포주에서 증가된 DNA 손상을 유도한다. H841 세포를 화합물 1로 7일 동안 전처리 한 후에, 시스플라틴으로 3일 동안 공동-처리하였다. 이어서, 세포를 COMET 분석을 사용하여 DNA 손상에 대해 분석하였다.

도 22: COMET 분석에서 나타난 바와 같이, 시스플라틴과 조합된 화합물 1은 H69 SCLC 세포주에서 증가된 DNA 손상을 유도한다. H69 세포를 화합물 1로 7일 동안 전처리한 후에, 시스플라틴으로 3일 동안 공동-처리하였다. 이어서, 세포를 COMET 분석을 사용하여 DNA 손상에 대해 분석하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0046]

본 발명은, 본 발명의 바람직한 실시양태 및 본원에 포함된 실시예에 대한 하기의 상세한 설명을 참조하여 보다 용이하게 이해될 수 있다. 본원에서 사용된 용어는 특정 실시양태만을 기술하기 위한 것이며 제한하려는 것이 아님을 이해해야 한다. 본원에 구체적으로 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 용어는 관련 분야에 공지된 바와 같은 통상적인 의미가 부여됨을 추가로 이해해야 한다.

[0047]

본원에 사용된 바와 같이, 달리 지시되지 않는 한, 단수 형태는 복수 지시대상을 포함한다. 예를 들어, 치환기는 하나 이상의 치환기를 포함한다.

[0048]

수치적으로 한정된 파라미터(예를 들어, EZH2 억제제의 투여량, 백금계 항신생물제, 예컨대 시스플라틴의 투여량, 화학 치료제, 예컨대 에토포시드의 투여량 등)를 수식하는 데 사용될 때 "약"은 상기 파라미터가 상기 파라미터에 대해 언급된 수치 값 위아래로 10%만큼 변할 수 있음을 의미한다. 예를 들어, 약 5 mg/kg의 투여량은, 상기 투여량이 4.5 내지 5.5 mg/kg에서 변할 수 있음을 의미하는 것으로 이해되어야 한다.

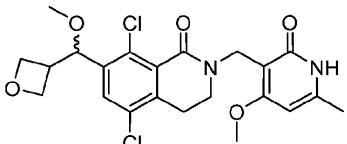
- [0049] 용어 "비정상적 세포 성장" 및 "과증식성 장애"는 본원에서 상호교환적으로 사용된다.
- [0050] 본원에 사용된 "비정상적 세포 성장"은, 달리 지시되지 않는 한, 정상 조절 메카니즘과 독립적인 세포 성장(예를 들어 접촉 저해 손실)을 지칭한다. 비정상적 세포 성장은 양성(비-암성) 또는 악성(암성)일 수 있다.
- [0051] 용어 "암", "암성" 또는 "악성"은, 조절되지 않는 세포 성장을 전형적으로 특징으로 하는 포유동물에서의 생리학적 상태를 지칭하거나 설명한다. 본원에 사용된 "암"은 비정상적 세포 성장에 의해 야기된 임의의 암성 및/또는 침윤성 성장 또는 종양을 지칭한다. 본원에 사용된 "암"은 이를 형성하는 세포의 유형에 따서 명명한 고형 종양, 혈액암, 골수암 또는 림프계암을 지칭한다. 고형 종양의 예는 비제한적으로 육종 및 암종을 포함한다. 혈액암의 예는 비제한적으로 백혈병, 림프종 및 골수종을 포함한다. 용어 "암"은 비제한적으로 신체 특정 부위에서 비롯된 원발암, 발생지로부터 신체의 다른 부분으로 퍼진 전이성 암, 차도 후에 본래 원발암으로부터의 재발, 및 나중 것과 상이한 유형의 이전 암 병력을 갖는 인간에서의 새로운 원발암인 이차성 원발암을 포함한다. 암의 예는 비제한적으로 암종, 림프종, 백혈병, 아세포종 및 육종을 포함한다. 이러한 암의 보다 특정한 예는 편평상피 세포 암종, 골수종, 소세포 폐암, 비-소세포 폐암, 신경교종, 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 여포성 림프종(FL), 미만성 거대 B-세포 림프종(DLCBCL), 급성 골수 백혈병(AML), 다발성 골수종, 위장(관)암, 신장암, 난소암, 간암, 신장암, 전립선암, 거세 저항성 전립선암(CRPC), 갑상선암, 흑색종, 연골육종, 신경아세포종, 췌장암, 다형 교아세포종, 자궁경부암, 뇌암, 위암, 방광암, 간 세포 암, 유방암, 결장 암종 및 두경부암을 포함한다.
- [0052] 용어 "환자" 또는 "개체"는 치료가 필요하거나 임상 시험 또는 역학 연구에 참여하거나 대조군으로서 사용되는, 인간 및 수의학적 포유동물 환자, 예컨대 소, 말, 개 및 고양이를 포함하는 임의의 단일 개체를 지칭한다. 특정한 바람직한 실시양태에서, 개체는 인간이다.
- [0053] 본원에 사용된 용어 암을 "치료하다" 또는 "치료함"은, 본 발명에 따른 병용 요법을 암을 앓거나 암을 진단 받은 개체에게 투여하여 하나 이상의 긍정적인 치료적 효과, 예컨대 감소된 암 세포 수, 감소된 종양 크기, 말초기관 내로의 침윤의 감소된 속도 또는 종양 전이 또는 종양 성장의 감소된 속도, 또는 상기 용어가 적용되는 장애 또는 질환 또는 이러한 장애 또는 질환의 하나 이상의 증상의 역전, 경감, 이의 진행의 억제, 또는 예방을 달성하는 것을 의미한다. 본원에 사용된 용어 "치료"는, 달리 지시되지 않는 한, 바로 위에 정의된 "치료함"과 같은 치료함의 작용을 지칭한다. 또한, 용어 "치료함"은 개체의 보조 및 신보조 치료를 포함한다. 본 발명에 있어서, 유익하거나 바람직한 임상 결과는 비제한적으로 하기 중 하나 이상을 포함한다: 신생 또는 암성 세포의 증식 감소(또는 파괴); 전이 또는 신생 세포 억제; 종양 크기의 축소 또는 감소; 암의 차도; 암으로부터 초래된 증상 감소; 암을 앓는 개체의 생활의 질 증가; 암을 치료하는 데 필요한 다른 약의 투여량 감소; 암의 진행 저연; 암의 치유; 암의 하나 이상의 내성 메카니즘 극복; 및/또는 암 환자의 생존 연장. 암의 긍정적인 치료적 효과는 많은 방법으로 측정될 수 있다(예를 들어 문헌[W. A. Weber, J. Nucl. Med. 50:1S-10S (200)]). 일부 실시양태에서, 본 발명의 조합에 의해 달성된 치료는 부분 반응(PR), 완전 반응(CR), 전체 반응(OR), 무진행 생존(PFS), 무질병 생존(DFS) 및 전체 생존(OS) 중 임의의 것이다. PFS("종양 진행까지의 시간"으로도 지칭됨)는 암이 성장하지 않는 치료 동안 및 후 시간의 길이를 나타내고, 환자가 CR 또는 PR을 경험하는 시간의 양, 뿐만 아니라 환자가 안정기 질병(SD)을 경험하는 시간의 양을 포함한다. DFS는 환자가 질병이 없는 치료 동안 및 후 시간의 길이를 지칭한다. OS는 무경험 또는 미처리 개체 또는 환자와 비교하여 기대 수명의 연장을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 조합에 대한 반응은 PR, CR< PFS, DFS, OR 또는 OS 중 임의의 것이며, 이는 고형 종양 반응 평가 기준(RECIST) 1.1 반응 기준을 사용하여 평가된다. 암 환자를 치료하는 데 효과적인 본 발명의 조합의 치료 섭생은 인자, 예컨대 환자의 질병 상태, 연령 및 체중, 및 개체에서 항암 반응을 유도하는 요법의 능력에 따라 변할 수 있다. 본 발명의 양태 중 어느 하나의 실시양태가 모든 개체에서 궁극적인 치료적 효과를 달성하는 데 효과적이지 않을 수 있지만, 이는 당분야에 공지된 임의의 통계 검정, 예컨대 스튜던트 t-검정, chi²-검정, 만(Mann) 및 휘트니(Whitney)에 따른 U-검정, 크루스칼-월리스(Kruskal-Wallis) 검정(H-검정), 존키어-터프스프라(Jonckheere-Terpstra) 검정 및 윌콘 온-테스트(Wilcon on-test)에 의해 결정되는 바와 같이 통계적으로 유의미한 수의 개체에서 그려해야 한다. 또한, 용어 "치료"는 예를 들어 시약, 진단, 결합 화합물 또는 다른 세포에 의한 세포의 시험판내 및 생체외 치료를 포함한다.
- [0054] 용어 "치료 섭생", "투여 프로토콜" 및 "투여 섭생"은 본 발명의 조합에서 각각의 치료제의 투여의 투여량 및 시기 선택을 지칭하는 데 상호교환적으로 사용된다.
- [0055] "개선"은 본 발명의 방법 또는 섭생의 치료제를 투여받지 않은 것과 비교하여 하나 이상의 증상의 감소 또는 개선을 의미한다. 또한, "개선"은 증상의 기간의 단축 또는 감소를 포함한다.

- [0056] 본원에 사용된 약물, 화합물 또는 약학 조성물의 "유효 투여량" 또는 "유효량"은 질병의 발병 동안 나타나는 질병, 이의 합병증 및 중간 병리학적 표현형의 생화학적, 조직학적 및/또는 행동적 증상을 포함하여 임의의 하나 이상의 유익하거나 바람직한 효과를 나타내기에 충분한 양이다. 치료적 용도를 위해, "치료적 유효량"은 치료 할 장애의 증상 중 하나 이상을 다소 완화시킬 수 있는 투여하는 화합물의 양을 지칭한다. 암의 치료와 관련하여, 치료적 유효량은 하기 효과를 갖는 양을 지칭한다: (1) 종양 크기 감소, (2) 종양 전이 억제(즉, 다소 감속, 바람직하게는 중단), (3) 종양 성장 또는 종양 침윤 다소 억제(즉, 다소 감속, 바람직하게는 중단), (4) 암과 관련된 하나 이상의 징후 또는 증상 다소 완화(또는 바람직하게는 제거), (5) 질병을 치료하는 데 필요한 다른 약의 투여량 감소, 및/또는 (6) 또 다른 약의 효과 증진 및/또는 환자의 질병 진행 지연. 유효 투여량은 1회 이상의 투여로 투여될 수 있다. 본 발명에 있어서, 약물, 화합물, 또는 약학 조성물의 유효 투여량은 직접적으로 또는 간접적으로 예방적 또는 치료적 치료를 달성하는 데 충분한 양이다. 임상적 맥락에서 이해되는 바와 같이, 약물, 화합물 또는 약학 조성물의 유효 투여량은 또 다른 약물, 화합물 또는 약학 조성물과 함께 달성되지 않거나 달성될 수 있다.
- [0057] 암으로 진단 받거나 암을 앓는 것으로 추정되는 개체에게 적용될 때 "종양"은 임의의 크기의 악성 또는 잠재적 악성 신생물 또는 조직 덩어리를 지칭하고, 원발 종양 및 이차 신생물을 포함한다. 고형 종양은 대개 낭포 또는 액체 영역을 함유하지 않는 비정상적 성장의 조직 덩어리이다. 고형 종양의 예는 육종, 암종 및 림프종이다. 백혈병(혈액암)은 일반적으로 고형 종양을 형성하지 않는다(국립 암 연구소, 암 용어 사전).
- [0058] 또한, "종양 부담"("종양 로드(tumor load)"로도 지칭됨)은 신체에 걸쳐 분포된 종양 물질의 총량을 지칭한다. 종양 부담은 림프절 및 골수를 포함하는 신체에 걸친 암 세포의 총 수 또는 종양의 전체 크기를 지칭한다. 종양 부담은 당분야에 공지된 다양한 방법, 예컨대, 예를 들어 캘리퍼를 사용하거나, 체내에서 이미지화 기술, 예를 들어 초음파, 뼈 스캔, 컴퓨터 토포그래피(CT) 또는 자기 공명 이미지화(MRI) 스캔을 사용함으로써 측정될 수 있다.
- [0059] 용어 "종양 크기"는 종양의 길이 및 너비로서 측정될 수 있는 종양의 전체 크기를 지칭한다. 종양 크기는 당분야에 공지된 다양한 방법, 예컨대 개체로부터 제거시 예를 들어 캘리퍼를 사용하여 종양 치수를 측정함으로써, 또는 채내에서 이미지화 기술, 예를 들어 뼈 스캔, 초음파, CR 또는 MRI 스캔을 사용함으로써 결정될 수 있다.
- [0060] 용어 "가산적"은, 2개의 화합물, 성분 또는 표적화된 제제의 조합의 결과가 개별적으로 각각의 화합물, 성분 또는 표적화된 제제의 합보다 크지 않은 것을 의미하도록 사용된다.
- [0061] 용어 "상승작용" 또는 "상승작용성"은 2개의 화합물, 성분 또는 표적화된 제제의 조합의 결과가 개별적으로 각각의 화합물, 성분 또는 표적화된 제제의 합보다 큰 것을 의미하도록 사용된다. 치료할 질병, 질환 또는 장애에서 이러한 개선은 "상승작용성" 효과이다. "상승작용성 양"은 상승작용성 효과를 야기하는("상승작용성"은 본원에 정의된 바와 같다) 2개의 화합물, 성분 또는 표적화된 제제의 조합의 양이다.
- [0062] 1 또는 2개의 성분 사이의 상승작용성 상호작용을 결정하는 경우, 효과에 대한 최적의 범위 및 각각의 성분의 절대 투여량 범위는 상이한 투여량 범위에 걸쳐 성분의 투여 및/또는 치료가 필요한 환자에 대한 투여량 비에 의해 명확하게 측정될 수 있다. 그러나, 시험관내 모델 또는 생체내 모델에서 상승작용의 관찰은 인간 및 다른 종에서의 효과를 예측할 수 있고, 시험관내 모델 또는 생체내 모델은 본원에 기재된 바와 같이 상승작용성 효과를 측정하기 위해 존재한다. 또한, 이러한 연구의 결과는 예컨대 약동학 및/또는 약역학 방법의 적용에 의해 인간 및 다른 종에서 필요한 유효 투여량 및 혈장 농도 비 범위 및 절대 투여량 및 혈장 농도를 예측하는 데 사용될 수 있다.
- [0063] 본원에 사용된 "비표준 임상 투약 요법"은 물질, 제제, 화합물 또는 조성물을 투여하기 위한 섭생을 지칭하며, 이는 임상 세팅에서 물질, 제제, 화합물 또는 조성물에 전형적으로 사용되는 양, 투여량 또는 일정과 상이하다. "비표준 임상 투약 섭생"은 "비표준 임상 투여량" 또는 "비표준 투여 일정"을 포함한다.
- [0064] 본원에 사용된 "저 투여량 섭생"은 섭생의 하나 이상의 물질, 제제, 화합물 또는 조성물이 예를 들어 제제가 단일 요법과 같이 투여될 때 해당 제제의 임상 세팅에서 전형적으로 사용되는 것보다 적은 양 또는 투여량으로 투여되는 투여 섭생을 지칭한다.
- [0065] 제스트 인핸서 상동체 2
- [0066] 본 발명의 실시양태는 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함한다.
- [0067] 본원에 사용된 용어 "제스트 인핸서 상동체 2 (EZH2) 억제제" 및 "EZH2 억제제"는 상호교환적으로 사용되며

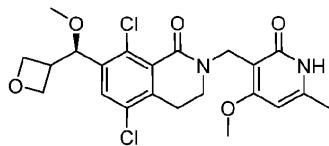
EZH2의 야생형 및/또는 돌연변이체의 억제제를 의미한다. EZH2의 억제제는 당업자에게 공지된 방법에 의해 결정될 수 있고, 예를 들어 생물학적 활성은 EZH2 효소 분석, 예컨대 문헌[Kung, P. P. et al., J Med Chem, 2016, 59, 8306-8325]에 개시된 것에 의해 결정될 수 있다.

- [0068] 본 발명에 유용한 특정 EZH2 억제제의 예는 PCT/IB2015/054272(WO 2015/193765로서 2015년 12월 23일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시된 것을 포함한다. 본 발명에서 EZH2 억제제로서 유용한 본원에 개시된 특정 EZH2 억제제의 예는 비제한적으로 하기 화합물 및 이의 약학적으로 허용되는 염으로 이루어진 군으로부터 선택된 EZH2 억제제를 포함한다:
- [0069] 5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-페리딘-3-일)메틸]-7-[메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온;
- [0070] 5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-페리딘-3-일)메틸]-7-[(R)-메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온; 및
- [0071] 5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-페리딘-3-일)메틸]-7-[(S)-메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온.
- [0072] 본 발명에 유용한 특정 EZH2 억제제의 다른 예는 PCT/IB2013/060682(WO 2014/097041로서 2014년 6월 26일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시된 것을 포함한다. 본 발명에서 EZH2 억제제로서 유용한 본원에 개시된 특정 EZH2 억제제의 예는 비제한적으로 하기 화합물 및 이의 약학적으로 허용되는 염으로 이루어진 군으로부터 선택된 EZH2 조절제를 포함한다:
- [0073] 5-브로모-8-클로로-2-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-7-(1,4-다이메틸-1H-1,2,3-트라이아졸-5-일)-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온; 및
- [0074] 5,8-다이클로로-7-(3,5-다이메틸-1,2-옥사졸-4-일)-2-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온.
- [0075] 본 발명에 유용한 특정 EZH2 억제제의 다른 예는 PCT/IB2013/058580(WO 2014/049488로서 2014년 4월 3일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시된 것을 포함한다. 본 발명에서 EZH2 억제제로서 유용한 본원에 개시된 특정 EZH2 억제제의 예는 비제한적으로 하기 화합물 및 이의 약학적으로 허용되는 염으로 이루어진 군으로부터 선택된 EZH2 억제제를 포함한다:
- [0076] 5-[2-(다이메틸아미노)페리미딘-5-일]-N-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-2-메틸-3-(1-메틸-1H-페라졸-5-일)벤즈아미드;
- [0077] N-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-2-메틸-5-[2-(메틸아미노)페리미딘-5-일]-3-(1-메틸-1H-페라졸-5-일)벤즈아미드;
- [0078] N-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-3-(1,4-다이메틸-1H-페라졸-5-일)-2-메틸-5-[2-(메틸아미노)페리미딘-5-일]벤즈아미드;
- [0079] 5-(6-아미노페리딘-3-일)-N-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-2-메틸-3-(1-메틸-1H-페라졸-5-일)벤즈아미드;
- [0080] N-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-3-(1,4-다이메틸-1H-페라졸-5-일)-2-메틸-5-(2-모폴린-4-일페리미딘-5-일)벤즈아미드;
- [0081] N-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-3-(1,4-다이메틸-1H-페라졸-5-일)-2-메틸-5-{2-[(1S,4S)-2-옥사-5-아자바이사이클로[2.2.1]헵트-5-일]페리미딘-5-일}벤즈아미드;
- [0082] N-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-3-(1,4-다이메틸-1H-페라졸-5-일)-2-메틸-5-{2-[(3-옥사-8-아자바이사이클로[3.2.1]옥트-8-일]페리미딘-5-일}벤즈아미드;
- [0083] N-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-3-(1,4-다이메틸-1H-페라졸-5-일)-5-[2-(3-풀루오로아제티딘-1-일)페리미딘-5-일]-2-메틸벤즈아미드; 및
- [0084] N-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-2-메틸-5-[6-(4-메틸페라진-1-일)페리딘-3-일]-3-(1-메틸-1H-페라졸-5-일)벤즈아미드.

- [0085] 본 발명에 유용한 특정 EZH2 억제제의 다른 예는 PCT/US2011/035336(WO 2011/140324로서 2011년 11월 10일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시된 것을 포함한다.
- [0086] 본 발명에 유용한 특정 EZH2 억제제의 다른 예는 PCT/US2011/035340(WO 2011/140325로서 2011년 11월 10일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시된 것을 포함한다.
- [0087] 본 발명에 유용한 특정 EZH2 억제제의 다른 예는 PCT/US2011/035344(WO 2012/005805로서 2012년 1월 12일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시된 것을 포함한다.
- [0088] 본 발명에 유용한 특정 EZH2 억제제의 다른 예는 PCT/US2012/058188(WO 2013/049770으로서 2013년 4월 4일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시된 것을 포함한다.
- [0089] 본 발명에 유용한 특정 EZH2 억제제의 다른 예는 PCT/US2013/041115(WO 2013/173441로서 2013년 11월 21일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시된 것을 포함한다.
- [0090] 본 발명에 유용한 특정 EZH2 억제제의 다른 예는 PCT/US2011/051258(WO 2012/034132로서 2013년 3월 15일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시된 것을 포함한다.
- [0091] 본 발명에 유용한 특정 EZH2 억제제의 다른 예는 PCT/US2012/026953(WO 2012/118812로서 2012년 9월 7일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시된 것을 포함한다.
- [0092] 본 발명에 유용한 특정 EZH2 억제제의 다른 예는 PCT/US2012/033648(WO 2012/142504로서 2012년 10월 18일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시된 것을 포함한다. 본 발명에서 EZH2 억제제로서 유용한 본원에 개시된 특정 EZH2 억제제의 예는 N-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-5-[에틸(테트라하이드로-2H-피란-4-일)아미노]-4-메틸-4'-(모폴린-4-일 메틸)바이페닐-3-카복스아미드, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함한다.
- [0093] 본 발명에 유용한 특정 EZH2 억제제의 다른 예는 PCT/US2012/033662(WO 2012/142513으로서 2012년 10월 18일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시된 것을 포함한다.
- [0094] 본 발명에 유용한 특정 EZH2 억제제의 다른 예는 PCT/US2011/061740(WO 2012/068589로서 2012년 5월 24일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시된 것을 포함한다.
- [0095] 본 발명에 유용한 특정 EZH2 억제제의 다른 예는 PCT/US2013/025639(WO 2013/120104로서 2013년 8월 15일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시된 것을 포함한다.
- [0096] 본 발명에 유용한 특정 EZH2 억제제의 다른 예는 PCT/US2014/015706(WO 2014/124418로서 2014년 8월 14일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시된 것을 포함한다.
- [0097] 본 발명에 유용한 특정 EZH2 억제제의 다른 예는 PCT/US2013/065112(WO 2014/062720으로서 2014년 8월 24일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시된 것을 포함한다.
- [0098] 한 실시양태에서, 본 발명에 유용한 EZH2 억제제는 하기 화학식의 5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-페리딘-3-일)메틸]-7-[메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염으로서, 이는 PCT/IB2015/054272(WO 2015/193765로서 2015년 12월 23일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시되어 있다:

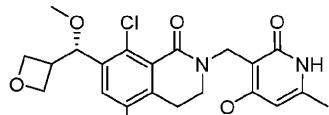


- [0099] 한 실시양태에서, 본 발명에 유용한 EZH2 억제제는 하기 화학식의 5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-페리딘-3-일)메틸]-7-[(R)-메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염으로서, 이는 PCT/IB2015/054272(WO 2015/193765로서 2015년 12월 23일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시되어 있다:
- [0100] 한 실시양태에서, 본 발명에 유용한 EZH2 억제제는 하기 화학식의 5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-페리딘-3-일)메틸]-7-[(R)-메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염으로서, 이는 PCT/IB2015/054272(WO 2015/193765로서 2015년 12월 23일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시되어 있다:



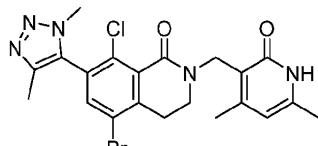
[0101]

[0102] 한 실시양태에서, 본 발명에 유용한 EZH2 억제제는 하기 화학식의 5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-피리딘-3-일)메틸]-7-[(S)-메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염으로서, 이는 PCT/IB2015/054272(WO 2015/193765로서 2015년 12월 23일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시되어 있다:



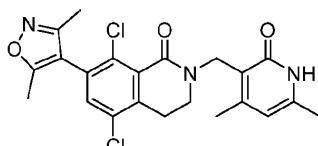
[0103]

[0104] 한 실시양태에서, 본 발명에 유용한 EZH2 억제제는 하기 화학식의 5-브로모-8-클로로-2-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로피리딘-3-일)메틸]-7-(1,4-다이메틸-1H-1,2,3-트라이아졸-5-일)-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염으로서, 이는 PCT/IB2013/060682(WO 2014/097041로서 2014년 6월 26일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시되어 있다:



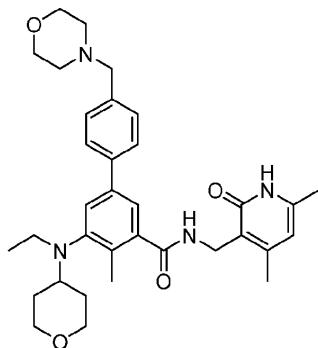
[0105]

[0106] 한 실시양태에서, 본 발명에 유용한 EZH2 억제제는 하기 화학식의 5,8-다이클로로-7-(3,5-다이메틸-1,2-옥사졸-4-일)-2-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로피리딘-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염으로서, 이는 PCT/IB2013/060682(WO 2014/097041로서 2014년 6월 26일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시되어 있다:



[0107]

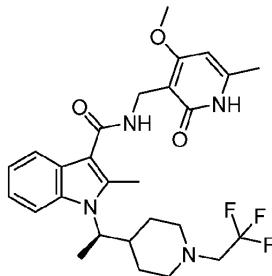
[0108] 한 실시양태에서, 본 발명에 유용한 EZH2 억제제는 하기 화학식의 N-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로피리딘-3-일)메틸]-5-[에틸(테트라하이드로-2H-페란-4-일)아미노]-4-메틸-4'-(모폴린-4-일메틸)바이페닐-3-카복스아미드, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염으로서, 이는 타제메토스타트(tazemetostat), EPZ-5687 또는 EPZ-6438로도 공지되어 있고, PCT/US2012/033648(WO 2012/142504로서 2012년 10월 18일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시되어 있다:



[0109]

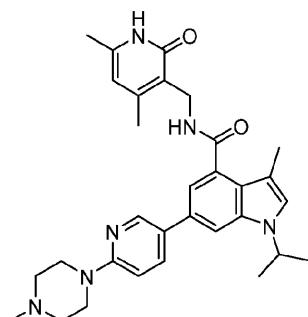
[0110] 한 실시양태에서, 본 발명에 유용한 EZH2 억제제는 하기 화학식의 N-[(4-메톡시)-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드

로페리딘-3-일)메틸]-2-메틸-1-[^(1R)-1-[1-(2,2,2-트라이플루오로에틸)페페리딘-4-일]에틸]-1H-인돌-3-카복스아미드, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염으로서, 이는 CPI-1205로도 공지되어 있고, PCT/US2013/025639(WO 2013/120104로서 2013년 8월 15일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시되어 있다:



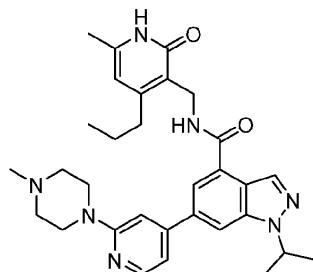
[0111]

[0112] 한 실시양태에서, 본 발명에 유용한 EZH2 억제제는 하기 화학식의 N-(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일메틸)-1-이소프로필-3-메틸-6-[6-(4-메틸페페라진-1-일)페리딘-3-일]-1H-인돌-4-카복스아미드, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염으로서, 이는 GSK-503으로도 공지되어 있고, PCT/US2011/035336(WO 2011/140324로서 2011년 11월 10일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시되어 있다:



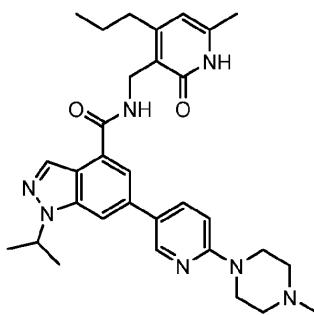
[0113]

[0114] 한 실시양태에서, 본 발명에 유용한 EZH2 억제제는 하기 화학식의 N-[(6-메틸-2-옥소-4-프로필-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-6-[2-(4-메틸페페라진-1-일)페리딘-4-일]-1-(프로판-2-일)-1H-인다졸-4-카복스아미드, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염으로서, 이는 GSK-126으로도 공지되어 있고, PCT/US2011/035340(WO 2011/140325로서 2011년 11월 10일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시되어 있다:



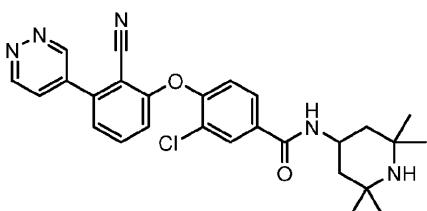
[0115]

[0116] 한 실시양태에서, 본 발명에 유용한 EZH2 억제제는 하기 화학식의 1-이소프로필-N-(6-메틸-2-옥소-4-프로필-1,2-다이하이드로페리딘-3-일메틸)-6-[6-(4-메틸페페라진-1-일)페리딘-3-일]-1H-인다졸-4-카복스아미드, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염으로서, 이는 PCT/US2011/035340(WO 2011/140325로서 2011년 11월 10일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시되어 있다:



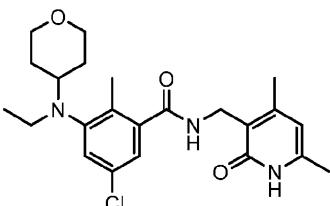
[0117]

한 실시양태에서, 본 발명에 유용한 EZH2 억제제는 하기 화학식의 3-클로로-4-[2-시아노-3-(피리다진-4-일)페녹시]-N-(2,2,6,6-테트라메틸페리딘-4-일)벤즈아미드, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염으로서, 이는 PCT/US2011/061740(WO 2012/068589로서 2012년 5월 24일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시되어 있다:



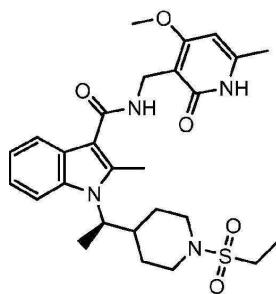
[0119]

한 실시양태에서, 본 발명에 유용한 EZH2 억제제는 하기 화학식의 5-클로로-N-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-3-[에틸(테트라하이드로-2H-페란-4-일)아미노]-2-메틸벤즈아미드, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염으로서, 이는 PCT/US2012/033662(WO 2012/142513으로서 2012년 10월 18일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시되어 있다:



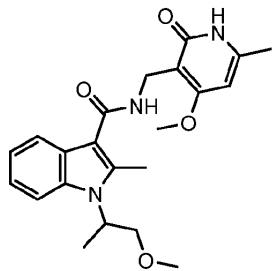
[0121]

한 실시양태에서, 본 발명에 유용한 EZH2 억제제는 하기 화학식의 1-[(1R)-1-[1-(에틸설폰일)페리딘-4-일]에틸]-N-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-2-메틸-1H-인돌-3-카복스아미드, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염으로서, 이는 PCT/US2013/025639(WO 2013/120104로서 2013년 8월 15일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시되어 있다:



[0123]

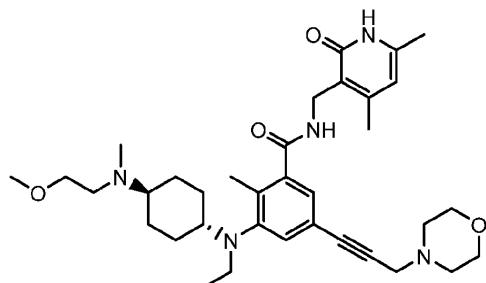
한 실시양태에서, 본 발명에 유용한 EZH2 억제제는 하기 화학식의 N-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-1-(1-메톡시프로판-2-일)-2-메틸-1H-인돌-3-카복스아미드, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염으로서, 이는 PCT/US2013/025639(WO 2013/120104로서 2013년 8월 15일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시되어 있다:



[0125]

[0126]

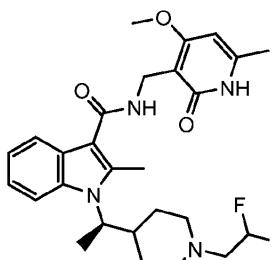
한 실시양태에서, 본 발명에 유용한 EZH2 억제제는 하기 화학식의 N-[4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일]메틸]-3-(에틸[트랜스-4-[2-메톡시에틸](메틸)아미노]사이클로헥실)아미노)-2-메틸-5-[3-(모폴린-4-일)프로프-1-인-1-일]벤즈아미드, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 임의적으로 타르트레이트 염으로서, 이 화합물은 PCT/US2013/065112(WO 2014/062720으로서 2014년 4월 24일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시되어 있다:



[0127]

[0128]

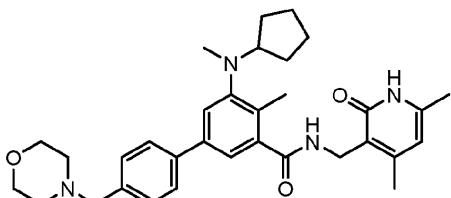
한 실시양태에서, 본 발명에 유용한 EZH2 억제제는 하기 화학식의 1-[(1R)-1-[1-(2,2-다이플루오로에틸)페리딘-4-일]에틸]-N-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-2-메틸-1H-인돌-3-카복스아미드, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염으로서, 이는 PCT/US2014/015706(WO 2014/124418로서 2014년 8월 14일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시되어 있다:



[0129]

[0130]

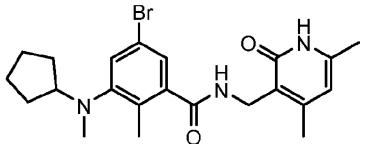
한 실시양태에서, 본 발명에 유용한 EZH2 억제제는 하기 화학식의 5-[사이클로펜틸(메틸)아미노]-N-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-4-메틸-4'-(모폴린-4-일)메틸][1,1'-바이페닐]-3-카복스아미드, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염으로서, 이는 PCT/US2012/033648(WO 2012/142504로서 2012년 10월 18일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시되어 있다:



[0131]

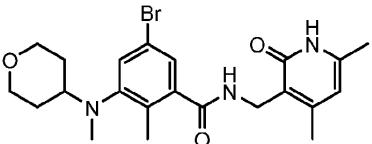
[0132]

한 실시양태에서, 본 발명에 유용한 EZH2 억제제는 하기 화학식의 5-브로모-3-[사이클로펜틸(메틸)아미노]-N-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-2-메틸벤즈아미드, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염으로서, 이는 PCT/US2012/033662(WO 2012/142513로서 2012년 10월 18일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시되어 있다:



[0133]

[0134] 한 실시양태에서, 본 발명에 유용한 EZH2 억제제는 하기 화학식의 5-브로모-N-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-2-메틸-3-[메틸(옥산-4-일)아미노]벤즈아미드, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염으로서, 이는 PCT/US2012/033662(WO 2012/142513으로서 2012년 10월 18일에 공개됨)(이의 내용은 본원에 참고로 포함됨)에 개시되어 있다:



[0135]

[0136] 본 발명에 유용한 바람직한 EZH2 억제제는 하기 화합물 및 이의 약학적으로 허용되는 염으로 이루어진 군으로부터 선택된다:

[0137]

5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시)-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-7-[메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온;

[0138]

5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시)-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-7-[(R)-메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온;

[0139]

5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시)-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-7-[(S)-메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온;

[0140]

5-브로모-8-클로로-2-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-7-(1,4-다이메틸-1H-1,2,3-트라이아졸-5-일)-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온;

[0141]

5,8-다이클로로-7-(3,5-다이메틸-1,2-옥사졸-4-일)-2-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온;

[0142]

N-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-5-[에틸(테트라하이드로-2H-피란-4-일)아미노]-4-메틸-4'-(모폴린-4-일메틸)바이페닐-3-카복스아미드;

[0143]

N-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-5-[에틸(테트라하이드로-2H-피란-4-일)아미노]-4-메틸-4'-(모폴린-4-일메틸)바이페닐-3-카복스아미드;

[0144]

N-[(4-메톡시)-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-2-메틸-1-[(1R)-1-[(1-(2,2,2-트라이플루오로에틸)피페리딘-4-일)에틸]-1H-인돌-3-카복스아미드;

[0145]

N-(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일메틸)-1-이소프로필-3-메틸-6-[6-(4-메틸페라진-1-일)페리딘-3-일]-1H-인돌-4-카복스아미드; 및

[0146]

N-[(6-메틸-2-옥소-4-프로필-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-6-[2-(4-메틸페라진-1-일)페리딘-4-일]-1-(프로판-2-일)-1H-인디졸-4-카복스아미드.

[0147]

본 발명에 유용한 보다 바람직한 EZH2 억제제는 하기 화합물 및 이의 약학적으로 허용되는 염으로 이루어진 군으로부터 선택된다:

[0148]

5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시)-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-7-[메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온;

[0149]

5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시)-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-7-[(R)-메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온;

[0150]

5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시)-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-7-[(S)-메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온; 및

- [0151] 5-브로모-8-클로로-2-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로페리딘-3-일)메틸]-7-(1,4-다이메틸-1H-1,2,3-트라이아졸-5-일)-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온.
- [0152] 달리 지시되지 않는 한, EZH2 억제제에 대한 본원에서의 모든 언급은 다형체, 입체 이성질체 및 동위원소 표지된 버전을 포함하는, 약학적으로 허용되는 염, 용매화물, 수화물 및 이의 복합물, 및 이의 염의 용매화물, 수화물 및 복합물의 언급을 포함한다.
- [0153] **화학 치료제**
- [0154] 본 발명의 실시양태는 화학 치료제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염에 관한 것이다.
- [0155] 한 실시양태에서, 화학 치료제는 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다.
- [0156] 본 발명의 한 실시양태에서, 화학 치료제는 시스플라틴이다.
- [0157] 본 발명의 한 실시양태에서, 화학 치료제는 카보플라틴이다.
- [0158] 본 발명의 한 실시양태에서, 화학 치료제는 에토포시드이다.
- [0159] 본 발명의 한 실시양태에서, 화학 치료제는 시스플라틴 및 에토포시드이다.
- [0160] 본 발명의 한 실시양태에서, 화학 치료제는 카보플라틴 및 에토포시드이다.
- [0161] **치료 방법 및 용도**
- [0162] 본 발명의 방법 및 병용 요법은 암의 치료에 유용하다. 일부 실시양태에서, 제공된 방법은 하기 효과 중 하나 이상을 초래한다: (1) 암 세포 증식 억제; (2) 암 세포 침윤 억제; (3) 암 세포의 세포 자멸 유도; (4) 암 세포 전이 억제; (5) 혈관신생 억제; 또는 (6) 암 치료과 관련된 하나 이상의 내성 메카니즘의 극복.
- [0163] 한 실시양태에서, 본 발명은 개체에게 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 병용 요법을 투여하는 단계를 포함하는, 개체의 암의 치료 방법에 관한 것이다.
- [0164] 한 실시양태에서, 본 발명은 개체에게 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염으로 이루어진 병용 요법을 투여하는 단계를 포함하는, 개체의 암의 치료 방법에 관한 것이다.
- [0165] 한 실시양태에서, 본 발명은 개체에게 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염으로 본질적으로 이루어진 병용 요법을 투여하는 단계를 포함하는, 개체의 암의 치료 방법에 관한 것이다.
- [0166] 또 다른 양태에서, 본 발명은 개체의 암의 치료에서 사용하기 위한 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염에 관한 것으로서, 여기서 상기 EZH2 억제제는 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염과 조합으로 사용된다.
- [0167] 또 다른 양태에서, 본 발명은 개체의 암의 치료에서 사용하기 위한 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염에 관한 것으로서, 여기서 상기 항신생물제는 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염과 조합으로 사용된다.
- [0168] 또 다른 양태에서, 본 발명은 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 조합에 관한 것이다.
- [0169] 또 다른 양태에서, 본 발명은 약제로서 사용하기 위한, EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 조합에 관한 것이다.
- [0170] 또 다른 양태에서, 본 발명은 개체의 암의 치료에서 사용하기 위한, EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 조합에 관한 것이다.
- [0171] 또 다른 양태에서, 본 발명은 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 상승작용성 조합에 관한 것이다.
- [0172] 또 다른 양태에서, 본 발명은 약제로서 사용하기 위한, EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 상승작용성 조합에 관한 것이다.

- [0173] 또 다른 양태에서, 본 발명은 개체의 암의 치료에서 사용하기 위한, EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 상승작용성 조합에 관한 것이다.
- [0174] 또 다른 양태에서, 본 발명은 개체의 암의 치료용 약제의 제조에서, EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 용도에 관한 것이다.
- [0175] 또 다른 양태에서, 본 발명은 개체의 암의 치료에서 사용하기 위한, EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학 조성물에 관한 것으로서, 상기 EZH2 억제제를 포함하는 약학 조성물은 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학 조성물과 조합으로 사용된다.
- [0176] 또 다른 양태에서, 본 발명은 개체의 암의 치료에서 사용하기 위한, 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학 조성물에 관한 것으로서, 상기 백금계 항신생물제를 포함하는 약학 조성물은 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학 조성물과 조합으로 사용된다.
- [0177] 또 다른 양태에서, 본 발명은 개체의 암의 치료에서 사용하기 위한, EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다.
- [0178] 본 발명의 한 실시양태에서, 개체는 포유동물이다.
- [0179] 본 발명의 한 실시양태에서, 개체는 인간이다.
- [0180] 일부 실시양태에서, 본 발명의 방법 및 조합은 비제한적으로 하기 암을 포함하는 암의 치료에서 유용할 수 있다:
- [0181] 순환계암, 예를 들어 심장암(육종[혈관 육종, 섬유 육종, 횡문근 육종, 지방 육종], 점액종, 횡문근종, 섬유종, 지방종 및 기형종), 종격암 및 흉막암, 및 기타 흉곽내 기관암, 맥관 종양 및 종양-연관된 맥관 조직;
- [0182] 기도암, 예를 들어 비강암 및 중이암, 부비강암, 후두암, 기관암, 기관지암 및 폐암, 예컨대 소세포 폐암(SCLC), 비-소세포 폐암(NSCLC), 기관지 암종(편평상피 세포, 미분화된 소세포, 미분화된 대세포, 선암종), 폐포(세기관지) 암종, 기관지 선종, 육종, 림프종, 연골종 과오종, 중피종;
- [0183] 위장관계암, 예를 들어 식도암(편평상피 세포 암종, 선암종, 평활근 육종, 림프종), 위암(암종, 림프종, 평활근 육종), 위암, 췌장암(관 선암종, 인슐린종, 글루카곤종, 가스트린종, 유암종, 비포마), 소장암(선암종, 림프종, 유암종, 카포시 육종, 평활근종, 혈관종, 지방종, 신경 섬유종, 섬유종), 대장암(선암종, 관상 선종, 용모 선종, 과오종, 평활근종);
- [0184] 비뇨생식관암, 예를 들어 신장암(선암종, 월름즈 종양[신아세포종], 림프종, 백혈병), 방광암 및/또는 요도암(편평상피 세포 암종, 이행 세포 암종, 선암종), 전립선암(선암종, 육종), 고환암(정상피종, 기형종, 배아성 암종, 기형 암종, 용모 암종, 육종, 사이 세포 암종, 섬유종, 섬유선종, 선종성 종양, 지방종);
- [0185] 간암, 예를 들어 간 세포암(간 세포 암종), 담관 암종, 간아세포종, 혈관 육종, 간 세포 선종, 혈관종, 췌장 내분비 종양(예컨대 크롬 친화성 세포종, 인슐린종, 혈관작용 장 팹티드 종양, 섬 세포 종양 및 글루카곤종);
- [0186] 골암, 예를 들어 골원성 육종(골 육종), 섬유 육종, 악성 섬유 조직구종, 연골 육종, 유잉 육종, 악성 림프종(세망 세포 육종), 다발성 골수종, 악성 거대 세포 종양 척삭종, 골연골종(골연골성 외골증), 양성 연골종, 연골 아세포종, 연골점액 섬유종, 유골 골종 및 거대 세포 종양;
- [0187] 신경계암, 예를 들어 중추 신경계(CNS)의 신생물, 원발성 CNS 림프종, 두개골암(골종, 혈관종, 육아종, 황색종, 변형성 콜염), 수막암(수막종, 수막육종, 신경교종증), 뇌암(성상 세포종, 수아세포종, 신경교종, 뇌실막종, 배세포종[송과체종], 다형 교아세포종, 펩지교종, 신경집종, 망막아종, 선천적 종양), 척수 신경 섬유종, 수막종, 신경교종, 육종;
- [0188] 생식계암, 예를 들어 부인과 암, 자궁암(자궁내막 암종), 자궁경부암(자궁경부 암종, 종양전 자궁경부 형성 장애), 난소암(난소 암종[장액낭 선암종, 점액낭 선암종, 분류되지 않은 암종], 과립 난포막 세포 종양, 세르톨리-라이디히 세포 종양, 미분화 세포종, 악성 기형종), 음문암(편평상피 세포 암종, 상피내 암종, 선암종, 섬유육종, 흑색종), 질암(투명 세포 암종, 편평상피 세포 암종, 포도상 육종(배아성 횡문근 육종), 나팔관암(암종)

및 여성 생식 기관과 연관된 다른 부위의 암; 태반암, 음경암, 전립선암, 고환암, 및 남성 생식 기관과 연관된 다른 부위의 암;

- [0189] 혈액암, 예를 들어 혈액암(골수성 백혈병[급성 및 만성], 급성 램프아구 백혈병, 만성 램프구성 백혈병, 척수 중식성 질병, 다발성 골수종, 골수 이형성 증후군), 호지킨 질병, 비-호지킨 램프종[악성 램프종];
- [0190] 구강암, 예를 들어, 구순암, 설암, 치은암, 구저암, 구개암 및 입의 다른 부분의 암, 이하선암 및 침샘의 다른 부분의 암, 편도선암, 구인두암, 비인두암, 이상화암, 하인두암 및 입술의 다른 부분의 암, 구강 및 인두의 암;
- [0191] 피부암, 예를 들어 악성 흑색종, 피부 흑색종, 기저 세포 암종, 편평상피 세포 암종, 카포시 육종, 이형성 모반, 지방종, 혈관종, 피부 섬유종 및 켈로이드;
- [0192] 부신암: 신경아세포종; 및
- [0193] 기타 조직암, 예컨대 결합조직 및 연조직의 암, 후복막강 및 복막의 암, 안암, 안내 흑색종 및 안내 부속기암, 유방암, 두경부암, 항문부암, 갑상선암, 부갑상선암, 부신암 및 기타 내분비선 및 관련된 구조의 암, 램프절의 이차 및 상세불명 악성 신생물, 호흡계 및 소화계의 이차 악성 신생물, 및 기타 부위의 이차 악성 신생물.
- [0194] 보다 더 구체적으로, 본 발명과 관련하여 본원에 사용될 때, "암"의 예는 폐암(NSCLC 및 SCLC), 유방암(삼중 음성 유방암, 호르몬 양성 유방암 및 HER2 양성 유방암을 포함함), 난소암, 결장암, 직장암, 항문부암, 전립선암(호르몬 감수성 전립선암 및 호르몬 난치성 전립선암(거세 저항성 전립선암으로도 공지됨)을 포함), 간 세포 암 종, 미만성 거대 B-세포 램프종, 여포성 램프종, 흑색종 또는 전술된 암 중 하나 이상의 것의 조합으로부터 선택된 암을 포함한다.
- [0195] 본 발명의 한 실시양태에서, 암은 고형 종양이다.
- [0196] 한 실시양태에서, 암은 전립선암이다.
- [0197] 한 실시양태에서, 암은 호르몬 감수성 전립선암이다.
- [0198] 한 실시양태에서, 암은 거세 저항성 전립선암(호르몬 난치성 전립선암 또는 안드로겐 독립적 전립선암으로도 공지됨)이다.
- [0199] 한 실시양태에서, 암은 비-전이성 거세 저항성 전립선암이다.
- [0200] 한 실시양태에서, 암은 전이성 거세 저항성 전립선암이다.
- [0201] 한 실시양태에서, 암은 유방암이다.
- [0202] 한 실시양태에서, 암은 삼중 음성 유방암이다.
- [0203] 한 실시양태에서, 암은 에스트로겐 양성 및/또는 프로게스테론 양성 유방암을 포함하는 호르몬 양성 유방암이다.
- [0204] 한 실시양태에서, 암은 HER2 양성 유방암이다.
- [0205] 한 실시양태에서, 암은 간 세포 암종이다.
- [0206] 한 실시양태에서, 암은 소세포 폐암이다.
- [0207] 한 실시양태에서, 암은 난치성 소세포 폐암이다.
- [0208] 한 실시양태에서, 암은 재발성 소세포 폐암이다.
- [0209] 한 실시양태에서, 암은 난치성 소세포 폐암이고, 개체는 치료 무경험자이다.
- [0210] 한 실시양태에서, 암은 재발성 소세포 폐암이고, 개체는 치료 무경험자이다.
- [0211] 한 실시양태에서, 암은 소세포 폐암이되, 상기 소세포 폐암은 제한기(limited stage) 질병으로 분류된다.
- [0212] 한 실시양태에서, 암은 소세포 폐암이되, 상기 소세포 폐암은 확장기 질병으로 분류된다.
- [0213] 한 실시양태에서, 암은 확장기 질병 소세포 폐암이고, 개체는 치료 무경험자이다.
- [0214] 한 실시양태에서, 암은 난치성 확장기 질병 소세포 폐암이고, 개체는 치료 무경험자이다.

- [0215] 한 실시양태에서, 암은 재발성 확장기 질병 소세포 폐암이고, 개체는 치료 무경험자이다.
- [0216] 한 실시양태에서, 암은 소세포 폐암이되, 상기 소세포 폐암은 종양 억제 TP53의 기능 손실을 특징으로 한다.
- [0217] 한 실시양태에서, 암은 소세포 폐암이되, 상기 소세포 폐암은 종양 억제 RB1의 기능 손실을 특징으로 한다.
- [0218] 한 실시양태에서, 암은 소세포 폐암이되, 상기 소세포 폐암은 종양 억제 TP53의 기능 손실 및 종양 억제 RB1의 기능 손실을 특징으로 한다.
- [0219] 한 실시양태에서, 암은 소세포 폐암이되, 상기 소세포 폐암은 제한기 질병으로 분류되고, 상기 소세포 폐암은 종양 억제 TP53의 기능 손실을 특징으로 한다.
- [0220] 한 실시양태에서, 암은 소세포 폐암이되, 상기 소세포 폐암은 제한기 질병으로 분류되고, 상기 소세포 폐암은 종양 억제 RB1의 기능 손실을 특징으로 한다.
- [0221] 한 실시양태에서, 암은 소세포 폐암이되, 상기 소세포 폐암은 제한기 질병으로 분류되고, 상기 소세포 폐암은 종양 억제 TP53의 기능 손실 및 종양 억제 RB1의 기능 손실을 특징으로 한다.
- [0222] 한 실시양태에서, 암은 소세포 폐암이되, 상기 소세포 폐암은 확장기 질병으로 분류되고, 상기 소세포 폐암은 종양 억제 TP53의 기능 손실을 특징으로 한다.
- [0223] 한 실시양태에서, 암은 소세포 폐암이되, 상기 소세포 폐암은 확장기 질병으로 분류되고, 상기 소세포 폐암은 종양 억제 RB1의 기능 손실을 특징으로 한다.
- [0224] 한 실시양태에서, 암은 소세포 폐암이되, 상기 소세포 폐암은 확장기 질병으로 분류되고, 상기 소세포 폐암은 종양 억제 TP53의 기능 손실 및 종양 억제 RB1의 기능 손실을 특징으로 한다.
- [0225] 한 실시양태에서, 암은 미만성 거대 B-세포 림프종이다.
- [0226] 한 실시양태에서, 암은 여포성 림프종이다.
- [0227] 한 실시양태에서, 암은 흑색종이다.
- [0228] 한 실시양태에서, 암은 국소 진행성이다.
- [0229] 한 실시양태에서, 암은 비-전이성이다.
- [0230] 한 실시양태에서, 암은 전이성이다.
- [0231] 한 실시양태에서, 암은 난치성이다.
- [0232] 한 실시양태에서, 암은 재발성이다.
- [0233] 한 실시양태에서, 암은 표준 치료에 대해 불관용성이다.
- [0234] 또 다른 양태에서, 본 발명은 개체의 암 세포 증식을 억제하는 방법을 제공하되, 이는 개체에게 세포 증식을 억제하는 데 효과적인 양으로 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 병용 요법을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0235] 또 다른 양태에서, 본 발명은 개체의 암 세포 침윤성을 억제하는 방법을 제공하되, 이는 개체에게 세포 침윤성을 억제하는 데 효과적인 양으로 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 병용 요법을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0236] 또 다른 양태에서, 본 발명은 개체의 암 세포 전이를 억제하는 방법을 제공하되, 이는 개체에게 세포 전이를 억제하는 데 효과적인 양으로 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 병용 요법을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0237] 또 다른 양태에서, 본 발명은 개체의 암 세포의 세포 자멸을 유도하는 방법을 제공하되, 이는 개체에게 세포 자멸을 유도하는 데 효과적인 양으로 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 병용 요법을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0238] 추가적 양태에서, 본 발명은 개체의 세포 자멸을 유도하는 방법을 제공하되, 이는 개체에게 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 병용 요법을 투여하는 단계를 포함한다.

- [0239] "접촉"은 화합물이 직접적으로 또는 간접적으로 이의 효과를 확고히 할 수 있도록(예를 들어 EZH2의 활성에 영향을 미치도록) 본 발명에 사용되는 화합물 또는 약학적으로 허용되는 염 및 세포(예를 들어 EZH2를 발현하는 것)를 접촉시키는 것을 지칭한다. 접촉은 시험관내(즉, 인공적 환경 내에서, 예컨대 비제한적으로 시험관 또는 배양 배지내에서) 또는 생체내(즉, 살아있는 유기체, 예컨대 비제한적으로 마우스, 래트 또는 토끼내에서) 달성을 수 있다.
- [0240] 일부 실시양태에서, 세포는 세포주, 예컨대 암 세포주이다. 다른 실시양태에서, 세포는 조직 또는 종양에 존재하고, 상기 조직 또는 종양은 인간을 포함하는 개체에 존재한다.
- [0241] **투여량 형태 및 섭생**
- [0242] 본 발명의 방법 및 병용 요법의 각각의 치료제는 약학 관례에 따라 단독으로, 또는 치료제 및 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제를 포함하는 약제(본원에서 약학 조성물로도 지칭됨)로 투여될 수 있다.
- [0243] 본원에 사용된 용어 "병용 요법"은 본 발명의 병용 요법의 각각의 치료제를 단독으로 또는 약제로 순차적으로, 공동으로 또는 동시에 투여하는 것을 지칭한다.
- [0244] 본원에 사용된 용어 "순차적" 또는 "순차적으로"는 본 발명의 병용 요법의 각각의 치료제를, 단독으로 또는 약제로, 하나를 나머지 하나 후에 투여하는 것을 지칭하되, 여기서 상기 각각의 치료제는 임의의 순서로 투여될 수 있다. 순차적 투여는, 병용 요법의 치료제가 상이한 투여량 형태로 존재하는 경우, 예를 들어 하나의 제제가 정제이고, 또 다른 제제가 멜균 액체인 경우, 및/또는 상이한 투여 일정에 따라 투여되는 경우, 예를 들어 하나의 제제가 매일 투여되고, 제2 제제가 덜 빈번히, 예컨대 매주 투여되는 경우 특히 유용하다.
- [0245] 본원에 사용된 용어 "공동으로"는 본 발명의 병용 요법의 각각의 치료제가 단독으로 또는 개별적 약제로 투여되는 것을 지칭하되, 여기서 제2 치료제는 제1 치료제 직후에 투여되나, 치료제는 임의의 순서로 투여될 수 있다. 바람직한 실시양태에서 치료제는 공동으로 투여된다.
- [0246] 본원에 사용된 용어 "동시"는 본 발명의 병용 요법의 각각의 치료제가 동일한 약제로 투여되는 것을 지칭한다.
- [0247] 본 발명의 한 실시양태에서, EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 투여 전에 투여된다.
- [0248] 본 발명의 한 실시양태에서, 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 투여 전에 투여된다.
- [0249] 본 발명의 한 실시양태에서, EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염과 공동으로 투여된다.
- [0250] 본 발명의 한 실시양태에서, EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염과 동시에 투여된다.
- [0251] 당업자에게 이해되는 바와 같이, 병용 요법은 치료의 상이한 단계 동안 개체에게 유용하게 투여될 수 있다.
- [0252] 본 발명의 한 실시양태에서, 병용 요법은 이전에 미처리된 개체(즉, 치료 무경험자)에게 투여된다.
- [0253] 본 발명의 한 실시양태에서, 병용 요법은 생물 치료제 또는 화학 치료제에 의한 이전 요법 후에 지속적인 반응을 달성하는 테 실패한 개체(즉, 치료 경험자)에게 투여된다.
- [0254] 병용 요법은 종양을 제거하는 후속 수술 전에 또는 후에 투여될 수 있고/있거나 방사선 요법 전에, 동안에 또는 후에 사용될 수 있고/있거나 화학 요법 전에, 동안에 또는 후에 사용될 수 있다.
- [0255] 본 발명의 화합물을 투여는 화합물을 작용 부위에 전달할 수 있는 임의의 방법에 의해 수행될 수 있다. 이들 방법은 경구 경로, 삼이지장내 경로, 비경구 주사(정맥내, 피하, 근육내, 혈관내 또는 주입을 포함함), 국소 및 직장 투여 포함한다.
- [0256] 투여량 섭생은 최적의 바람직한 반응을 제공하도록 조정될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 병용 요법의 치료제는 단일 볼루스로서, 또는 시간에 따라 투여되는 여러 분할된 투여량으로서 투여될 수 있거나, 투여량은 치료적 상황의 긴급성에 의해 권고되는 바와 같이 비례적으로 감소되거나 증가될 수 있다. 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 치료제를 투여량 단위 형태로 제형화하는 것이 특히 유리할 수 있다. 본원에 사용된 투여량 단

위 형태는, 치료받을 포유동물 개체를 위해 하나로 구성된 투여량으로서 적절한 물리적으로 별개의 단위를 지칭하고; 각각의 단위는 필요한 약학 담체와 공동으로 바람직한 치료적 효과를 생성하는 것으로 계산된 미리 결정된 양의 활성 화합물을 함유한다. 본 발명의 투여량 단위 형태의 설명서는 (a) 화학 치료제의 독특한 특징, 및 달성할 치료적 또는 예방적 효과, 및 (b) 개체의 감수성 치료를 위해 이러한 활성 화합물을 배합하는 기술에 내재된 한계에 의해 영향을 받고 여기에 직접 의존적일 수 있다.

[0257] 따라서, 숙련가는 본원에 제공된 개시내용을 기반으로 투여량 및 투여 섭생이 치료 기법에 주지된 방법에 따라 조정된다는 것을 이해할 수 있다. 즉, 최대 관용성 투여량이 용이하게 확립될 수 있고, 개체에게 검출가능한 치료적 이익을 제공하는 각각의 제제에 대한 시간적 필요요건과 같이 개체에게 검출가능한 치료적 이익을 제공하는 유효량이 또한 결정될 수 있다. 따라서, 특정 투여량 및 투여 섭생이 본원에 예시되나, 이를 실시예는 본 발명의 실행에 있어서 개체에게 제공될 수 있는 투여량 및 투여 섭생을 조금도 제한하지 않는다.

[0258] 투여량 값은 경감시킬 질환의 유형 및 중증도에 따라 변할 수 있고, 단일 또는 다중 투여량을 포함할 수 있는 것에 주목해야 한다. 임의의 특정 개체의 경우, 특정 투여량 섭생이 시간이 흐름에 따라 개체의 필요성 및 조성물의 투여를 투여하거나 감시하는 사람의 전문적 판단에 따라 인자, 예컨대 장애 또는 질환의 중증도, 투여 속도, 화합물의 성질 및 처방한 의사의 재량을 고려하여 조정되어야 함이 추가로 이해될 수 있다. 본원에 제시된 투여량 범위는 단지 예시적인 것이며 청구된 조성물의 범위 또는 실행을 제한하려는 것이 아니다. 예를 들어, 투여량은, 임상적 효과, 예컨대 독성 효과 및/또는 실험실 값을 포함할 수 있는 약동학적 또는 약역학적 파라미터를 기반으로 조정될 수 있다. 따라서, 본 발명은 숙련가에 의해 결정된 환자내 투여량-상승을 포함한다. 화학 치료제의 투여를 위해 적절한 투여량 및 섭생의 결정은 관련 기술에 주지되어 있고 제공되었을 때 숙련가에 의해 본원에 개시된 교시가 포괄되는 것으로 이해될 수 있다.

[0259] 일부 실시양태에서, 병용 요법의 하나 이상의 치료제는 동일한 투여량 섭생(투여량, 빈도 및 치료 기간)을 사용하여 투여된다, 즉, 전형적으로 제제가 동일한 암을 치료하기 위한 단일 요법으로서 사용되는 경우 사용된다. 다른 실시양태에서, 개체는, 제제가 단일 요법으로서 사용될 때보다 적은 총량(예를 들어 치료제의 보다 적은 투여량, 감소된 투여 빈도 및/또는 보다 짧은 투여 기간)의 병용 요법의 하나 이상의 치료제를 제공받는다.

[0260] EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 유효 투여량은, 단일 또는 분할 투여량으로서 약 0.001 내지 약 100 mg/kg 체중/일, 바람직하게는 약 1 내지 약 35 mg/kg/일 범위이다. 70 kg 인간의 경우, 이는 약 0.01 내지 약 7 g/일, 바람직하게는 약 0.02 내지 약 2.5 g/일의 양일 수 있다. 일부 경우에, 전술된 범위의 하한 미만의 투여량 수준이 보다 적절할 수 있는 반면에, 다른 경우에는 보다 많은 투여량이 임의의 유해한 부작용을 야기하지 않고 사용될 수 있되, 이러한 보다 많은 투여량은 하루에 걸친 투여를 위해 여러 적은 투여량으로 먼저 분할된다.

[0261] 한 실시양태에서, EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 약 10 내지 약 7000 mg/일, 바람직하게는 약 20 내지 약 2500 mg/일, 보다 바람직하게는 약 50 내지 약 1000 mg/일의 1일 투여량으로 투여된다. 한 실시양태에서, EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 약 500 mg/일의 1일 투여량으로 투여된다.

[0262] 바람직한 실시양태에서, EZH2 억제제는 5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-페리딘-3-일)메틸]-7-[(R)-메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이고, 약 50 내지 약 2000 mg/일, 약 50 mg/일, 약 100 mg/일, 약 150 mg/일, 약 200 mg/일, 약 250 mg/일, 약 300 mg/일, 약 350 mg/일, 약 400 mg/일, 약 450 mg/일, 약 500 mg/일, 약 550 mg/일, 약 600 mg/일, 약 650 mg/일, 약 700 mg/일, 약 750 mg/일, 약 800 mg/일, 약 850 mg/일, 약 900 mg/일, 약 950 mg/일, 약 1000 mg/일, 약 1100 mg/일, 약 1200 mg/일, 약 1300 mg/일, 약 1400 mg/일 또는 약 1500 mg/일의 1일 투여량으로 투여된다. 이러한 투여량은 임의적으로 보다 적은 투여량으로 더 분할될 수 있고, 예를 들어 150 mg/일의 투여량이 75 mg 투여량으로서 1일 당 2회 투여될 수 있다.

[0263] 한 실시양태에서, 화학 치료제는 에토포시드이고, 상기 에토포시드는 승인된 라벨에 따라, 예를 들어 50 내지 100 mg/m²의 투여량으로 1일 1회 제1일 내지 제5일에; 또는 5 내지 100 mg/m²의 투여량으로 1일 1회 제1일, 제3일 및 5일에 정맥내로 투여된다. 한 예에서, 에토포시드는 80 내지 120 mg/m²의 투여량으로 각각의 21-일 주기의 제1일, 제2일 및 제3일에 1, 2, 3, 4, 5 또는 6주기 동안 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 화학 치료제(예를 들어 에토포시드)는 백금계 항신생물제(예를 들어 시스플라틴 또는 카보플라틴)와 조합으로 사용된다.

[0264] 한 실시양태에서, 백금계 항신생물제는 시스플라틴이고, 상기 시스플라틴은 승인된 라벨에 따라 정맥내로 투여

된다. 한 예에서, 시스플라틴은 60 내지 80 mg/m²의 투여량으로 각각의 21-일 주기의 제1일에 1, 2, 3, 4, 5 또는 6주기 동안 투여될 수 있다.

[0265] 한 실시양태에서, 백금계 항신생물제는 카보플라틴이고, 상기 카보플라틴은 승인된 라벨에 따라 정맥내로 투여된다. 한 예에서, 카보플라틴은 5 내지 6 mg/mL/분의 초기 표적 AUC를 달성하기 위해 각각의 21-일 주기의 제1일에 1, 2, 3, 4, 5 또는 6주기 동안 투여될 수 있다. 한 예에서, 카보플라틴은 400 mg/m²의 투여량으로 각각의 21-일 주기의 제1일에 1, 2, 3, 4, 5 또는 6주기 동안 투여될 수 있다.

[0266] 투여 또는 투여 섭생의 반복, 또는 투여 또는 투여 섭생의 조정은 목적하는 치료를 달성하기 위해 필요에 따라 수행될 수 있다. 본원에 사용된 "연속 투여 일정"은 투여량 중단이 없는, 예를 들어 치료의 쉬는 날 없는 투여 또는 투여 섭생이다. 치료 주기 사이에 투여량 중단이 없는 21 또는 28일 치료 주기의 반복은 연속 투여 일정의 예이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 조합의 화합물은 연속 투여 일정으로 투여될 수 있다.

[0267] 본 발명의 한 실시양태에서, EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은, 함께 암을 치료하는 데 효과적인 양으로 투여된다.

[0268] 본 발명의 한 실시양태에서, EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은, 함께 상승작용성인 양으로 투여된다.

[0269] 본 발명의 한 실시양태에서, EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은, 비-표준 투여 섭생으로 투여된다.

[0270] 본 발명의 한 실시양태에서, EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은, 저 투여량 섭생으로 투여된다.

약학 조성물 및 투여 경로

[0272] "약학 조성물"은 활성 성분으로서 본원에 기재된 하나 이상의 치료제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 용매화물, 수화물 또는 전구약물, 및 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제의 혼합물을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 약학 조성물은 2개 이상의 약학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 포함한다.

[0273] 본원에 사용된 "약학적으로 허용되는 담체"는, 유기체에게 유의미한 자극을 야기하지 않고 활성 화합물 또는 치료제의 생물학적 활성 및 특성을 제거하지 않는 담체 또는 희석제를 지칭한다.

[0274] 한 실시양태에서, 본 발명은 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다.

[0275] 약학적으로 허용되는 담체는 임의의 통상적 약학 담체 또는 부형제를 포함할 수 있다. 담체 및/또는 부형제의 선택은 인자, 예컨대 투여의 특정한 모드, 용해도 및 안정성에 대한 부형제의 효과, 및 투여량 형태의 성질에 크게 좌우될 것이다.

[0276] 적합한 약학 담체는 희석제 또는 충전제, 물 및 다양한 유기 용매(예컨대 수화물 및 용매화물)를 포함한다. 약학 조성물은 필요에 따라 추가적 성분, 예컨대 향미제, 바인더, 부형제 등을 함유할 수 있다. 따라서, 경구 투여의 경우, 다양한 부형제, 예컨대 시트르산을 함유하는 정제는 다양한 봉해제, 예컨대 전분, 알긴산 및 특정 복합 실리케이트, 및 결합제, 예컨대 수크로스, 젤라틴 및 아카시아와 함께 사용될 수 있다. 비제한적으로 부형제의 예는 칼슘 카보네이트, 칼슘 포스페이트, 다양한 당 및 전분 유형, 셀룰로스 유도체, 젤라틴, 식물 오일 및 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 또한, 윤활제, 예컨대 마그네슘 스테아레이트, 나트륨 라우릴 세레이트 및 활석이 정제화 목적을 위해 흔히 유용하다. 또한, 유사한 유형의 고체 조성물이 연질 및 경질의 충전된 젤라틴 캡슐에서 사용될 수 있다. 따라서, 물질의 비제한적인 예는 락토스 및 유당 및 고분자량 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 수성 혼탁액 또는 엘릭시르가 경구 투여를 위해 목적되는 경우, 내부의 활성 화합물은 희석제, 예컨대 물, 에탄올, 프로필렌 글리콜, 글리세린 또는 이들의 조합과 함께, 다양한 감미제 또는 향미제, 착색 물질 또는 염료, 및 필요에 따라 유화제 또는 혼탁제와 조합될 수 있다.

[0277] 약학 조성물은 예를 들어 경구 투여에 적합한 정제, 캡슐, 환약, 분말, 서방형 제형, 용액 또는 혼탁액의 형태, 비경구 주사에 적합한 멸균 용액, 혼탁액 또는 유화액의 형태, 국소 투여에 적합한 연고 또는 크림의 형태, 또는 직장 투여에 적합한 좌제의 형태일 수 있다.

[0278] 예시적인 비경구 투여 형태는 멸균 수용액, 예를 들어 프로필렌 글리콜 또는 벡스트로스 수용액 등의 활성 화합

물의 용액 또는 혼탁액을 포함한다. 이러한 투여량 형태는 필요에 따라 적합하게는 완충될 수 있다.

[0279] 약학 조성물은 정밀한 양의 단일 투여에 적합한 단위 투여량 형태일 수 있다.

[0280] 본 발명의 병용 요법의 치료제의 전달에 적합한 약학 조성물, 및 이의 제조 방법은 용이하게 당업자에게 자명할 것이다. 이러한 조성물 및 이의 제조 방법은 예를 들어 문헌['Remington's Pharmaceutical Sciences', 19th Edition (Mack Publishing Company, 1995)]에서 찾아볼 수 있고, 이의 개시 내용은 그 전문이 본원에 참고로 포함된다.

[0281] 본 발명의 병용 요법의 치료제는 경구로 투여될 수 있다. 경구 투여는 치료제가 위장관에 진입하도록 연하를 수반할 수 있거나, 볼 또는 설하 투여가 사용되어 치료제가 입으로부터 직접 혈류에 진입한다.

[0282] 경구 투여에 적합한 제형은 고체 제형, 예컨대 정제, 미립자, 액체 또는 분말을 함유하는 캡슐, 로젠지(액체 충전물 포함), 츄, 멀티- 및 나노-미립자, 젤, 고용체, 리포좀, 필름(점막-접착제 포함), 오불(ovule), 스프레이 및 액체 제형을 포함한다.

[0283] 액체 제형은 혼탁액, 용액, 시럽 및 엔터시르를 포함한다. 이러한 제형은 연질 또는 경질 캡슐의 충전제로서 사용될 수 있고, 전형적으로 담체, 예를 들어 물, 에탄올, 폴리에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 메틸셀룰로스, 또는 적합한 오일, 및 하나 이상의 유화제 및/또는 혼탁제를 포함한다. 또한, 액체 제형은 예를 들어 사쉐로부터의 고체의 재구성에 의해 제조될 수 있다.

[0284] 또한, 본 발명의 병용 요법의 치료제는 신속 용해성, 신속 봉해성 투여량 형태, 예컨대 문헌[Expert Opinion in Therapeutic Patents, 11 (6), 981-986 by Liang and Chen (2001)](이의 개시 내용은 그 전문이 본원에 참고로 포함됨)에 기재된 것의 형태로 사용될 수 있다.

[0285] 정제 투여량 형태의 경우, 치료제는 투여량 형태의 1 내지 80 중량%, 보다 전형적으로 투여량 형태의 5 내지 60 중량%를 구성할 수 있다. 활성제에 더하여, 정제는 일반적으로 봉해제를 함유한다. 봉해제의 예는 나트륨 전분 글리콜레이트, 나트륨 카복시메틸 셀룰로스, 칼슘 카복시메틸 셀룰로스, 크로스카멜로스 나트륨, 크로스포비돈, 폴리비닐피롤리돈, 메틸 셀룰로스, 미정질 셀룰로스, 저급 알킬-치환된 하이드록시프로필 셀룰로스, 전분, 사전 젤라틴화된 전분 및 나트륨 알기네이트를 포함한다. 일반적으로, 봉해제는 투여량 형태의 1 내지 25 중량%, 바람직하게는 5 내지 20 중량%를 차지할 수 있다.

[0286] 바인더는 일반적으로 정제 제형에 회합성 특성을 제공하는 데 사용된다. 적합한 바인더는 미정질 셀룰로스, 젤라틴, 설탕, 폴리에틸렌 글리콜, 천연 및 합성 검, 폴리비닐피롤리돈, 사전 젤라틴화된 전분, 하이드록시프로필 셀룰로스 및 하이드록시프로필 메틸 셀룰로스를 포함한다. 또한, 정제는 회석제, 예컨대 락토스(일수화물, 분무-건조된 일수화물, 무수물 등), 만니톨, 자일리톨, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 미정질 셀룰로스, 전분 및 이염기성 칼슘 포스페이트 이수화물을 함유할 수 있다.

[0287] 또한, 정제는 임의적으로 표면 활성제, 예컨대 나트륨 라우릴 설페이트 및 폴리소르베이트 80, 및 화백제, 예컨대 이산화 규소 및 활석을 포함할 수 있다. 존재하는 경우, 표면 활성제는 전형적으로 정제의 0.2 내지 5 중량%의 양으로 존재하고, 화백제는 전형적으로 정제의 0.2 내지 1 중량%의 양으로 존재한다.

[0288] 또한, 정제는 일반적으로 윤활제, 예컨대 마그네슘 스테아레이트, 칼슘 스테아레이트, 아연 스테아레이트, 나트륨 스테아릴 퓨마레이트, 및 마그네슘 스테아레이트와 나트륨 라우릴 설페이트의 혼합물을 함유한다. 윤활제는 일반적으로 정제의 0.25 내지 10 중량%, 바람직하게는 0.5 내지 3 중량%의 양으로 존재한다.

[0289] 다른 통상적인 성분은 산화방지제, 착색제, 향미제, 보존제 및 맛-차폐제를 포함한다.

[0290] 예시적 정제는 약 80 중량% 이하의 활성제, 약 10 내지 약 90 중량%의 바인더, 약 0 내지 약 85 중량%의 회석제, 약 2 내지 약 10 중량%의 봉해제, 및 약 0.25 내지 약 10 중량%의 윤활제를 함유할 수 있다.

[0291] 정제 블렌드는 직접 또는 롤러에 의해 압착되어 정제를 형성할 수 있다. 정제 블렌드 또는 블렌드의 일부는 대안적으로 정제화 전에 습식-, 건식-, 또는 용융-과립화될 수 있거나, 용융 응결되거나 압출될 수 있다. 최종 제형은 하나 이상의 층을 포함할 수 있고, 코팅되지 않거나 코팅될 수 있거나, 캡슐화될 수 있다.

[0292] 정제의 제형화는 문헌["Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Vol. 1", by H. Lieberman and L. Lachman, Marcel Dekker, N.Y., N.Y., 1980 (ISBN 0-8247-6918-X)](이의 개시 내용은 그 전문이 본원에 참고로 포함됨)에 상세히 논의되어 있다.

- [0293] 경구 투여를 위한 고체 제형은 즉시 방출형 및/또는 변형 방출형으로 제형화될 수 있다. 변형 방출형 제형은 지연 방출, 서방형 방출, 펄스화된 방출, 제어된 방출, 표적화된 방출 및 프로그래밍된 방출을 포함한다.
- [0294] 적합한 변형 방출형 제형은 US 6,106,864에 기재되어 있다. 다른 적합한 방출 기술, 고에너지 분산 및 삼투성의 코팅된 입자의 세부사항은 문헌[Verma et al, Pharmaceutical Technology On-line, 25(2), 1-14 (2001)]에서 찾아볼 수 있다. 제어된 방출을 달성하기 위한 츄잉껌의 사용은 WO 00/35298에 기재되어 있다. 이를 참고 문헌의 개시내용은 그 전문이 본원에 참고로 포함된다.
- [0295] **비경구 투여**
- [0296] 또한, 본 발명의 병용 요법의 치료제는 혈류내로, 근육내로 또는 내부 기관내로 직접 투여될 수 있다. 비경구 투여에 적합한 방법은 정맥내, 동맥내, 복강내, 수막내, 심실내, 요도내, 흉골내, 구개내, 근육내 및 피하를 포함한다. 비경구 투여에 적합한 장치는 바늘(마이크로 바늘을 포함함) 주사기, 무-바늘 주사기 및 주입 기술을 포함한다.
- [0297] 비경구 제형은 전형적으로 부형제, 예컨대 염, 탄수화물 및 완충제(바람직하게는 3 내지 9의 pH)를 함유할 수 있는 수용액이나, 일부 적용례의 경우, 이는 보다 적합하게는 적합한 비히클, 예컨대 멸균의 무-발열원 물과 함께 사용하기 위한 멸균 비-수용액 또는 건조된 형태로 제형화될 수 있다.
- [0298] 멸균 조건 하에 예를 들어 동결 건조에 의한 비경구 제형의 제조는 당업자에게 주지된 표준 약학 기술을 사용하여 용이하게 달성될 수 있다.
- [0299] 비경구 용액의 제조에 사용되는 치료제의 용해도는 적절한 제형화 기술의 사용, 예컨대 용해도 증진제의 혼입에 의해 잠재적으로 증가될 수 있다.
- [0300] 비경구 투여를 위한 제형은 즉시 방출형 및/또는 변형 방출형으로 제형화될 수 있다. 변형 방출형 제형은 지연 방출, 서방형 방출, 펄스화된 방출, 제어된 방출, 표적화된 방출 및 프로그래밍된 방출을 포함한다. 따라서, 본 발명의 병용 요법의 치료제는 잠재적으로 활성 화합물의 변형 방출을 제공하는 주입된 테포제로서 투여하기 위해 고체, 반고체 또는 틱소트로픽 액체로 제형화될 수 있다. 이러한 제형의 예는 약물-코팅된 스텐트 및 PGLA 마이크로 스피어를 포함한다.
- [0301] 또한, 본 발명의 병용 요법의 치료제는 잠재적으로 국소적으로 피부 또는 점막에, 즉 피부에 또는 경피로 투여될 수 있다. 이를 위한 전형적인 제형은 젤, 하이드로겔, 로션, 용액, 크림, 연고, 살포 분말, 드레싱, 포말, 필름, 피부 패취, 웨이퍼, 임플란트, 스폰지, 섬유, 밴드 및 마이크로 유화액을 포함한다. 또한, 리포좀이 사용될 수 있다. 전형적인 담체는 알코올, 물, 미네랄 오일, 액체 바셀린, 백색 바셀린, 글리세린, 폴리에틸렌 글리콜 및 프로필렌 글리콜을 포함한다. 침투 증진제가 혼입될 수 있다; 예를 들어 문헌[J Pharm Sci, 88 (10), 955-958 by Finnin and Morgan (October 1999)]을 참조한다. 국소 투여의 다른 방법은 전기천공법, 이온영동법, 음파영동법, 초음파영동법, 및 마이크로 바늘 또는 무-바늘(예를 들어 파우더제트(Powderject, 상표), 바이오제트(Bioject, 상표) 등) 주사에 의한 전달을 포함한다. 이를 참고문헌의 개시내용은 그 전문이 본원에 참고로 포함된다.
- [0302] 국소 투여를 위한 제형은 즉시 방출형 및/또는 변형 방출형으로 제형화될 수 있다. 변형 방출형 제형은 지연 방출, 서방형 방출, 펄스화된 방출, 제어된 방출, 표적화된 방출 및 프로그래밍된 방출을 포함한다.
- [0303] 또한, 본 발명의 병용 요법의 치료제는 잠재적으로 비강내로 또는 흡입에 의해 전형적으로 건조 분말 흡입기로부터의 건조 분말(단독으로, 예를 들어 락토스와의 건조 블렌드에서 혼합물로서, 또는 예를 들어 인지질, 예컨대 포스파티딜콜린과 혼합된 혼합 성분 입자로서)의 형태로, 또는 적합한 추진제, 예컨대 1,1,1,2-테트라플루로에탄 또는 1,1,1,2,3,3,3-헵타플루오로프로판을 사용하거나 사용하지 않는 가압된 용기, 펌프, 스프레이, 분무기(바람직하게는 미세 안개를 생성하는 전기유체역학을 사용하는 분무기) 또는 네뷸라이저로부터 에어로졸 스프레이로서 투여될 수 있다. 비강내 사용을 위해, 분말은 생체 접착제, 예를 들어 키토산 또는 사이클로텍스트린을 포함할 수 있다.
- [0304] 가압된 용기, 펌프, 스프레이, 분무기 또는 네뷸라이저는, 예를 들어 에탄올, 수성 에탄올, 또는 활성제의 분산, 가용화 또는 이의 방출의 연장을 위한 적합한 대안적 제제, 용매로서 추진제, 및 임의적 계면활성제, 예컨대 솔비탄 트라이올레이트, 올레산 또는 올리고락트산을 포함하는 본 발명의 화합물의 용액 또는 혼탁액을 함유할 수 있다.
- [0305] 건조 분말 또는 혼탁액 제형에서 사용하기 전에, 화합물은 흡입에 의한 전달에 적합한 크기(전형적으로 5 μm

미만)로 미분화될 수 있다. 이는 임의의 적절한 분쇄 방법, 예컨대 스파이럴 제트 밀링, 유동층 제트 밀링, 나노 입자를 형성하는 초임계 유체 처리, 고압 균질화 또는 분무 건조에 의해 달성될 수 있다.

[0306] 흡입기 또는 췌입기에서 사용하기 위한 캡슐(예를 들어 젤라틴 또는 HPMC으로부터 제조됨), 블리스터 및 카트리지는 치료제, 적합한 분말 기재(예컨대 락토스 또는 전분) 및 성능 변형제(예컨대 L-류신, 만니톨 또는 마그네슘 스테아레이트)의 분말 믹스를 함유하도록 제형화될 수 있다. 락토스는 무수물 또는 일수화물의 형태, 바람직하게는 후자일 수 있다. 다른 적합한 부형제는 텍스트란, 글루코스, 말토스, 솔비톨, 자일리톨, 프룩토스, 수크로스 및 트레할로스를 포함한다.

[0307] 미세 안개를 생성하는 전기유체역학을 사용하는 분무기에서 사용하기 위한 적합한 용액 제형은 작동량 당 1 μg 내지 20 mg의 치료제를 함유할 수 있고, 작동 부피는 1 μL 내지 100 μL로 변할 수 있다. 전형적인 제형은 치료제, 프로필렌 글리콜, 멸균수, 에탄올 및 염화 나트륨을 포함한다. 프로필렌 글리콜 대신에 사용될 수 있는 대안적 용매는 글리세롤 및 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다.

[0308] 적합한 향미제, 예컨대 멘톨 및 레보멘톨, 또는 감미제, 예컨대 사카린 또는 사카린 나트륨이 흡입/비강내 투여에 의도된 이들 제형에 투여될 수 있다.

[0309] 흡입/비강내 투여를 위한 제형은 예를 들어 폴리(DL-락틱-코글리콜산)(PGLA)을 사용하여 즉시 방출형 및/또는 변형 방출형으로 제형화될 수 있다. 변형 방출형 제형은 지연 방출, 서방형 방출, 펄스화된 방출, 제어된 방출, 표적화된 방출 및 프로그래밍된 방출을 포함한다.

[0310] 건조 분말 흡입기 및 에어로졸의 경우, 투여량 단위는 계량된 양을 전달하는 밸브에 의해 결정된다. 본 발명에 따른 단위는 전형적으로 목적하는 양의 치료제를 함유하는 계량된 투여량 또는 "퍼프(puff)"를 투여하도록 배열된다. 전체적인 1일 투여량은 단일 투여량으로, 또는 보다 통상적으로는 하루에 결친 분할된 투여량으로서 투여될 수 있다.

[0311] 본 발명의 병용 요법의 치료제는 잠재적으로 직장에 또는 질에 예를 들어 좌제, 폐서리 또는 관장제의 형태로 투여될 수 있다. 코코아 버터는 통상적인 좌제 기재이나, 다양한 대체물이 적절하게 사용될 수 있다.

[0312] 직장/질 투여를 위한 제형은 즉시 방출형 및/또는 변형 방출형으로 제형화될 수 있다. 변형 방출형 제형은 지연 방출, 서방형 방출, 펄스화된 방출, 제어된 방출, 표적화된 방출 및 프로그래밍된 방출을 포함한다.

[0313] 또한, 본 발명의 병용 요법의 치료제는 잠재적으로 직접적으로 눈 또는 귀에 전형적으로 등장성의 pH-조정된 멸균 염수 중의 미분화된 혼탁액 또는 용액의 드롭의 형태로 투여될 수 있다. 눈 또는 귀에 적합한 다른 제형은 연고, 생분해성(예를 들어 흡수성 겔 스폰지, 콜라겐) 및 비-생분해성(예를 들어 실리콘) 임플란트, 웨이퍼, 렌즈, 및 미립자 또는 소낭 시스템, 예컨대 나오좀(niosome) 또는 리포좀을 포함할 수 있다. 중합체, 예컨대 가교결합된 폴리락트산, 폴리비닐알코올, 히알루론산, 셀룰로스계 중합체, 예를 들어 하이드록시프로필메틸셀룰로스, 하이드록시에틸셀룰로스 또는 메틸 셀룰로스, 또는 헤테로폴리사카라이드 중합체, 예를 들어 겔란 검이 보존제, 예컨대 벤즈알코늄 클로라이드와 함께 혼입될 수 있다. 또한, 이러한 제형은 이온영동법에 의해 전달될 수 있다.

[0314] 한 실시양태에서, 본 발명의 병용 요법에 유용한 약학 조성물은 단일 치료제만, 예를 들어 하기로부터 선택된 1 개의 단일 제제만을 포함한다: (a) EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; (b) 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 및 (c) 화학 치료제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염.

[0315] 한 실시양태에서, 본 발명의 병용 요법에 유용한 약학 조성물은 2 또는 3개의 치료제, 예를 들어 하기로부터 선택되는 2 또는 3개의 제제를 포함한다: (a) EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; (b) 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 및 (c) 화학 치료제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염.

[0316] 한 실시양태에서, 본 발명의 병용 요법에 유용한 약학 조성물은 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 화학 치료제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 모두를 포함한다.

[0317] 한 실시양태에서, 본 발명의 병용 요법에 유용한 약학 조성물은 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 모두를 포함한다.

키트

[0319] 본 발명의 병용 요법의 치료제는 편리하게 조성물의 공동투여에 적합한 키트의 형태로 조합될 수 있다.

- [0320] 한 양태에서, 본 발명은 제1 용기, 제2 용기 및 패키지 삽입물을 포함하는 키트에 관한 것으로서, 상기 제1 용기는 1회 이상의 투여량의 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하고, 상기 제2 용기는 1회 이상의 투여량의 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하고, 상기 패키지 삽입물은 약제를 사용하여 개체의 암을 치료하기 위한 지시서를 포함한다.
- [0321] 한 양태에서, 본 발명은 제1 용기, 제2 용기, 제3 용기 및 패키지 삽입물을 포함하는 키트에 관한 것으로서, 상기 제1 용기는 1회 이상의 투여량의 EZH2 억제제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하고; 상기 제2 용기는 1회 이상의 투여량의 백금계 항신생물제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하고; 상기 제3 용기는 1회 이상의 투여량의 화학 치료제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하고; 상기 패키지 삽입물은 약제를 사용하여 개체의 암을 치료하기 위한 지시서를 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 키트는 약학 조성물의 형태로 하나 이상의 활성제를 포함할 수 있고, 상기 약학 조성물은 활성제 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 키트는 상기 조성물을 개별적으로 함유하는 수단, 예컨대 용기, 분할된 병 또는 분할된 호일 패킷을 함유할 수 있다. 이러한 키트의 예는 정제, 캡슐 등의 패키징에 사용되는 친숙한 블리스터 팩이다.
- [0322] 키트는 상이한 투여량 형태(예를 들어 경구 및 비경구)를 투여하기 위해, 상이한 투여량 간격으로 개별적 조성물을 투여하기 위해, 또는 개별적 조성물을 서로에 대해 적정하기 위해 특히 적합할 수 있다. 이행을 보조하기 위해, 키트는 전형적으로 투여에 대한 지침서를 포함하고, 기억 보조물과 함께 제공될 수 있다. 키트는 약제를 투여하는 데 유용할 수 있는 다른 물질, 예컨대 희석제, 충전제, IV 백 및 라인, 바늘 및 시린지 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [0323] **추가적 치료제**
- [0324] 추가적 양태에서, 본 발명의 방법 및 병용 요법은 추가적 항암제, 예컨대 항종양제, 항혈관신생제, 신호 전달 억제제 및 항증식제를 투여하는 단계를 추가적으로 포함할 수 있고, 이의 양은 함께 상기 암을 치료하는데 효과적이다. 일부 이러한 실시양태에서, 항종양제는 체세포 분열 억제제, 알킬화제, 항대사물질, 삽입성 항생제, 성장 인자 억제제, 방사선, 세포 주기 억제제, 효소, 토포이소머라제 억제제, 생체 반응 조절제, 항체, 세포 독성제, 항호르몬제, 안드로겐 결핍 치료 및 항안드로겐제로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 항종양제는 항체, 예를 들어 항-PD-1 항체[예를 들어 MDX-1106(니볼루맙(nivolumab)), MK-3475(펩브롤리주맙(pembrolizumab)), CT-011(피딜리주맙(pidilizumab)), REGN2810(세미플리맙(cemiplimab)), BGB-A317(티스렐리주맙(tislelizumab) 또는 BGB-A317), mAb7(RN888 또는 PF-06801591), mAb15, AMP-224(B7-DCIg), AGEN-2034w(AGEN-2034로도 공지됨) 및 스파르탈리주맙(spartalizumab)], 항-PD-L1 항체[예를 들어 YW243.55.S70, MDX-1105(BMS-936559), MPDL3280A(아테졸리주맙(atezolizumab)), MEDI4736(두르발루맙(durvalumab)) 및 MSB0010718C(아벨루맙(avelumab))] 및 항-CTLA-4 항체[예를 들어 이필리무맙(ipilimumab), 트레멜리무맙(tremelimumab) 및 AGEN-1884]로부터 선택된다.
- [0325] 니볼루맙은 예를 들어 WO 2006/121168(2006년 11월 16일에 공개됨)(2006년 5월 2일에 출원된 PCT/JP2006/309606)에 개시되어 있다. 펩브롤리주맙은 예를 들어 WO 2009/114335(2009년 9월 17일 공개됨)(2009년 3월 3일에 출원된 PCT/US2009/035825)에 개시되어 있다. 피딜리주맙은 예를 들어 WO 2009/101611(2009년 8월 20일에 공개됨)(2009년 2월 11일에 출원된 PCT/IL2009/000153)에 개시되어 있다. 세미플리맙은 예를 들어 WO 2011/066389(2011년 6월 3일에 공개됨)(2010년 11월 24일에 출원된 PCT/US2010/058007)에 개시되어 있다. BGB-A317은 예를 들어 WO 2015/035606(2015년 3월 19일에 공개됨)(2013년 9월 13일에 출원된 PCT/CN2013/083467)에 개시되어 있다. mAb7(RN888 또는 PF-06801591)은 예를 들어 WO 2016/092419(2016년 6월 16일에 공개됨)(2015년 12월 2일에 출원된 PCT/IB2015/059268)에 개시되어 있다. mAb15는 WO 2016/092419(2016년 6월 16일에 공개됨)(2015년 12월 2일에 출원된 PCT/IB2015/059268)에 개시되어 있다. AMP-224(B7-DCIg)는 예를 들어 WO 2010/027827(2010년 3월 11일에 공개됨)(2009년 8월 25일에 출원된 PCT/US2009/054969) 및 WO 2011/066342(2011년 6월 3일에 공개됨)(2010년 11월 24일에 출원된 PCT/US2010/057940)에 개시되어 있다. AGEN-2034w(AGEN-2034로도 공지됨)는 예를 들어 WO 2017/040790(2017년 3월 9일에 공개됨)(PCT/US2016/049913)에 개시되어 있다. 스파르탈리주맙은 예를 들어 WO 2015/112900(2015년 7월 30일에 공개됨)(2015년 1월 23일에 출원된 PCT/US2015/012754)에 개시되어 있다.
- [0326] YW243.55.S70은 예를 들어 WO 2010/077634(2010년 7월 8일에 공개됨)(2009년 12월 8일에 출원된 PCT/US2009/067104)에 개시되어 있다. MDX-1105(BMS-936559)는 예를 들어 WO 2018/106529(2018년 6월 14일에 공개됨)(2017년 12월 1일에 출원된 PCT/US2017/064207) 및 WO 2007/005874(2007년 1월 11일에 공개됨)(2006년

6월 30일에 출원된 PCT/US2006/026046)에 개시되어 있다. MPDL3280A(아테졸리주맙)는 예를 들어 WO 2018/106529(2018년 6월 14일에 공개됨)(2017년 12월 1일에 출원된 PCT/US2017/064207)에 개시되어 있다. MEDI4736(두르발루맙)은 예를 들어 WO 2011/066389(2011년 6월 3일에 공개됨)(2010년 11월 24일에 출원된 PCT/US2010/058007) 및 WO 2018/106529(2018년 6월 14일에 공개됨)(2017년 12월 1일에 출원된 PCT/US2017/064207)에 개시되어 있다. MSB0010718C(아벨루맙)는 예를 들어 WO 13/079174(2013년 6월 6일에 공개됨)(2012년 11월 21일에 출원된 PCT/EP2012/004822)에 개시되어 있다. 이필리무맙은 예를 들어 항체 10D1로서 WO 01/14424(2001년 3월 1일에 공개됨)(2000년 8월 24일에 출원된 PCT/US00/23356) 및 US 2015/0283234(2015년 10월 8일에 공개됨)(2015년 4월 20일에 출원된 US 14/437,029)에 개시되어 있다. 트레멜리무맙은 항체 11.2.1로서 US 6,682,736(2004년 1월 27일에 특허결정됨)(1999년 12월 23일에 출원된 US 09/472,087)에 개시되어 있다. AGEN-1884는 예를 들어 실시예 1로서 WO 2016/196237(2016년 12월 8일에 공개됨)(2016년 5월 27일에 출원된 PCT/US2016/034508)에 개시되어 있다.

- [0327] 본 발명의 방법 및 병용 요법의 한 실시양태에서, 섭생은 추가적 활성제를 포함하고, 여기서 상기 추가적 활성제는 에토포시드이다.
- [0328] 하기에 열거되는 예시적 특정 실시양태를 비롯한 본 발명의 이들 양태 및 기타 양태는 본원에 포함된 교시로부터 자명할 것이다.
- [0329] **실시예**
- [0330] 화합물 1은 PCT/IB2015/054272(WO 2015/193765로서 2015년 12월 23일에 공개됨)에 개시된 5,8-다이클로로-2-[(4-메톡시-6-메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-파리딘-3-일)메틸]-7-[(R)-메톡시(옥세탄-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온이었다.
- [0331] 화합물 2는 PCT/IB2013/060682(WO 2014/097041로서 2014년 6월 26일에 공개됨)에 개시된 5,8-다이클로로-7-(3,5-다이메틸-1,2-옥사졸-4-일)-2-[(4,6-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로파리딘-3-일)메틸]-3,4-다이하이드로이소퀴놀린-1(2H)-온이었다.
- [0332] 달리 명시되지 않는 한, 화합물 1 및 화합물 2는 필요에 따라 추가적 희석을 위해 DMSO 중의 스톡 용액으로서 제조하였다.
- [0333] 하기 약어가 본원에서 사용된다:
- [0334] ANCOVA – 공분산 분석
- [0335] BID – 매일 2회
- [0336] BW – 체중
- [0337] BWL – 체중 손실
- [0338] CR – 완전 반응
- [0339] DMSO – 다이메틸셀록사이드
- [0340] IP – 복강내
- [0341] N 또는 n – 개체의 수
- [0342] NOD/SCID – 비-비만성 당뇨병/중증 복합 면역 결핍병
- [0343] NS – 유의미하지 않음
- [0344] NSG – NOD scid 감마
- [0345] PCR – 폴리머라제 연쇄 반응
- [0346] PO – 경구로
- [0347] QD – 매일 1회
- [0348] qRT – 정량적 실시간
- [0349] RT – 역전사

- [0350] SD - 표준 편차
- [0351] SEM - 평균의 표준 오차
- [0352] TGI - 종양 성장 억제
- [0353] WT - 야생형.
- [0354] 실시예 1 내지 9의 방법 및 프로토콜
- [0355] 세포 배양: SCLC 세포주 DMS114를 아메리칸 타입 컬쳐 콜렉션(American Type Culture Collection, ATCC CRL-2066)으로부터 입수하고 웨이머스(Waymouth) 배지 MB 752/1(깁코(Gibco)/라이프 테크놀로지스(Life Technologies) 카탈로그 번호 11220-035) + 10% 소태아 혈청(FBS)(깁코/라이프 테크놀로지스 카탈로그 번호 10082-147) 및 1% Pen/Strep에서 배양하였다. COR-L88(92031917) 세포를 ECACC로부터 구매하였다. H841(CRL-5845), H446(HTB-171), NCI-H889(CRL-5817), DMS79(CRL2049) 및 H69(HTB-119)를 아메리칸 타입 컬쳐 콜렉션으로부터 구매하고 권고되는 배지(H841: 5% FBS로 보충된 HITES; H446, COR-L88, NCI-H889, DMS79 및 H69: RPMI-1640 배지 + 10% FBS)에서 배양하였다. RPMI1640을 인비트로겐(Invitrogen)(카탈로그 번호 11875-093; 로트 번호 1694256)으로부터 구매하였다. HITES 배지를 하기 성분의 혼합물로 보충된 DMEM:F12 배지(인비트로겐, 카탈로그 번호 11320-033; 로트 번호 1677218)의 기본 배지를 사용하여 아메리칸 타입 컬쳐 콜렉션 지시서에 따라 준비하였다: 0.005 mg/ml 인슐린 및 0.01 mg/ml 트랜스페린, 30 nM 나트륨 셀레나이트(ITS-X(인비트로겐, 카탈로그 번호 51500-056, 로트 번호 1582940), 10 nM 하이드로코르티손(시그마(Sigma), 카탈로그 번호 H0888-1G, 로트 번호 061M1142V), 10 nM 베타-에스트라다이올(시그마, 카탈로그 번호 E2257-1mg, 로트 번호 107K8630), 4.5 mM의 최종 농도를 위한 추가의 2 mM L-글루타민(인비트로겐, 카탈로그 번호 25030-081, 로트 번호 1552995), 5% 소태아 혈청(인비트로겐, 카탈로그 번호 10099-141, 로트 번호 1565565). 모든 세포를 37°C에서 5% 이산화 탄소(CO₂)를 함유하는 가습된 항온처리기에서 유지하였다.
- [0356] 세포내 웨스턴 블로트 프로토콜: 세포를 웰 당 1500개의 세포로 96-웰의 흑색의 평평한 투명-바닥 플레이트(팔콘(Falcon), BD-353219)에 플레이팅하였다. 다음 날, 화합물을 3 μM 내지 0.1 nM의 최종 농도 범위로 3-배 희석으로 상기 웰에 첨가하고, 일부 세포는 대조군을 위해 빈 상태로 남겨두었다: "DMSO 유일(일차 및 이차 항체)" 및 "DMSO 유일(이차 항체 유일)". 72시간 후에, 배지를 제거하고, 3.7% 폼알데하이드를 고정을 위해 흡후드에서 포스페이트-완충된 염수(PBS, 긱코 라이프 테크놀로지스, 카탈로그 번호 10010-023)에 20분 동안 첨가하였다. 이어서, 폼알데하이드를 제거하고, 빙냉 메탄올(MeOH, 150 μl)을 첨가하여 세포를 투과성으로 만들었다. 플레이트를 싸고 밤새 동결시켰다. 다음 날, MeOH를 제거하고, 오디세이(Odyssey) 차단 완충제(150 μl)를 첨가하고, 플레이트를 회전 진탕기(VWR) 상에서 2시간 동안 유지하였다. 차단 완충제를 제거하고, 50 μl의 오디세이 차단 완충제(LiCor #927-40000)에 사전에 1:800으로 희석된 H3K27Me3 항체(셀 시그널링(Cell Signaling) 9733)를 첨가하였다. 이어서, 플레이트를 찬 방에서 회전 진탕기(VWR) 상에 두고 밤새 4°C에서 항온처리하였다. 다음 날, 일차 항체를 제거하고, 세포를 1x PBS + 0.1% 트윈(Tween) 20(PBST)에 의해 총 5회 각각 5분 동안 세척하였다. 이차 항체(셀 시그널링 5151 항-토끼)를 오디세이 완충제(50 μl)에 1:800으로 희석한 후에, 정규화를 위해 오디세이 완충제(5 mM)에 1:10,000으로 희석된 DRAQ5 시약(셀 시그널링 #4084)과 함께 각각의 웰에 첨가하였다. 2시간 후에, 이차 항체를 제거하고, 플레이트를 다시 5회 PBST에서 각각 5분 동안 세척한 후에, 형광 신호를 오디세이 LiCOR 기기(초점 거리 3 mm; 800 nm(이차) 및 700 nm 웰터(DRAQ5)를 모두 함께 사용함) 상에서 검출하였다. IC₅₀ 값을 4-파라미터 피트를 사용하여 그래프패드 프리즘 버전 7.02에 의해 계산하고, 모든 생물학적 반복실험의 산술 평균을 계산하였다.
- [0357] DMS114 SCLC 세포의 세포 성장 억제 분석: DMS114 SCLC 세포를 12-웰의 투명한 평평한 바닥의 폴리스티렌 조직 배양 플레이트(팔콘, 카탈로그 번호 353225)에서 상기에 기재된 완전 세포 배양 배지(1 mL/웰)에 10,000 세포/웰의 밀도로 플레이팅하였다. 플레이트를 밤새 16시간 동안 37°C 및 5% CO₂에서 항온처리하였다. 이어서, 세포를 3 μM의 고농도에서 출발하는 화합물 1의 10-포인트 3-배 연속 희석물에 의해 3일 동안 처리하였다. 3일 후에, 각각의 개별적 투여량 처리군의 세포를 트립신-EDTA(0.25%)(깁코/라이프 테크놀로지스 카탈로그 번호 25200-056)에 의해 해리하고 신선한 배지에 재현탁하고 Vi-Cell 세포 계수기 및 세포 생존능 분석기(베크만 쿨터(Beckman Coulter), 카탈로그 번호 383556)를 사용하여 계수하여였다. 이어서, 각각의 개별적 투여량 처리군의 세포를 96-웰 초저부착(ULA) 플레이트(코닝 인코포레이티드(Corning Inc), 카탈로그 번호 7007)에서 상기에 기재된 완전 세포 배양 배지(100 μL/웰)에 500 세포/웰의 밀도로 재플레이팅하였다. 세포를 다시 밤새 16시간 동안 37°C에서 및 5% CO₂에서 항온처리하였다. 다음 날, 화합물 1을 3 μM의 고농도에서 출발하는 화합물 1의

10-포인트, 3-배 연속 희석물을 사용하여 상기에 제시된 바와 같이 이들 각각의 투여량으로 첨가하였다. 이어서, 플레이트를, 3일마다 상기에 기재된 투여 일정에 따라 신선한 성장 배지 및 약물을 재보충하면서, 37°C에서 및 5% CO₂에서 추가적 14 내지 18일 동안 항온처리하였다. 세포를 총 17 내지 21일 동안 화합물로 처리하였다.

항온처리 기간의 말에, 19 μL의 알라마블루(AlamarBlue)(써모피셔(ThermoFisher) 카탈로그 번호 DAL102)를 각각의 웰에 첨가하고, 플레이트를 37°C에서 16시간 동안 항온처리하였다. 이어서, 플레이트를 540 내지 570 nm의 형광 여기 파장(파크 여기는 570 nm임) 및 580 내지 610 nm의 형광 방출 파장(파크 방출은 585 nm임)을 사용하여 인피니트(Infinite) M200 프로 마이크로 플레이트 리더(테칸(Tecan) 카탈로그 번호 396235)에서 판독하였다. IC₅₀ 값을 그래프웨드 프리즘 버전 7.02에서 비선형 회귀 투여량 반응 곡선 피트를 사용하여 계산하였다.

[0358]

H841, H446 및 H69 SCLC 세포의 세포 성장 억제: H841, H446 및 H69 세포를, 각각의 세포주에 대해 100,000 세포/웰의 밀도로 12-웰 플레이트에 3회 반복실험으로 이들의 권고되는 상기에 기재된 완전 배양 배지(1 mL/웰)에 플레이팅하였다. 플레이트를 밤새 37°C에서 및 5% CO₂에서 항온처리하였다. 화합물 1 스톡을 50 mM으로 DMSO에 제조하고, 여려 1회용 분액으로 나누고 -20°C에서 저장하였다. 화합물 플레이트를 제조하기 위해, 화합물 1을 DMSO에서 3 mM로 희석한 후에, 3-배 연속 희석물을 DMSO에서 제조하였다(총 10개의 투여량). 세포 플레이팅 24시간 후에, DMSO 대조군과 함께 1 μl의 약물을 희석물을 1 mL의 배지(1000× 희석)에서 세포를 함유하는 12-웰 플레이트의 적절한 웰에 첨가하였다. 각각의 웰에서 모든 희석 후에 약물의 최종 농도는 3, 1, 0.333, 0.111, 0.037, 0.012, 0.004, 0.001, 0.0005, 0.0002 μM이었다. DMSO를 3개의 반복실험 대조군 웰에 첨가하였다. 플레이트를 수동으로 진탕하여 적절하게 약물을 혼합하였다. 이어서, 세포를 37°C에서 항온처리기에서 유지하였다. 3 또는 4일 후에, 세포를 세포 성장 속도에 따라 1:2 또는 1:3 분할하였다. 혼탁 세포의 경우, 세포를 1 mL 피펫을 사용하여 완전히 혼합한 후에, 500 μl(1:2 분할) 또는 667 μl(1:3 분할)의 세포를 제거하였다. 부착 세포의 경우, 세포를 트립신화하고, 1:2 또는 1:3 분할하였다. 동일 부피의 신선한 배지를 각각의 웰에 첨가하여 1 mL 이하의 부피를 만들었다. 세포가 반-부착성(semi-adherent)인 경우, 상청액의 혼탁 세포를 트립신화된 부착 세포와 함께 수집하였다. 신선한 약물을 상기에 기재된 바와 같이 각각의 웰에 첨가하였다. 세포를 분할하고, 배지/약물 보충을 제21일까지 3 내지 4일마다 유사하게 반복하였다. 제21일에, 세포 형태학을 현미경 하에 관찰하였고, 화합물 처리시 임의의 형태학 변화를 기록하였다. 혼탁 세포의 경우, 세포를 피펫질에 의해 반복하여 혼합하고 3개의 반복실험 웰로부터 흡입하고 15 mL 투브에 옮겼다. 부착 세포의 경우, 상청액을 제거하고, 500 μl의 트립신을 각각의 웰에 첨가하였다. 세포가 바닥으로부터 해리된 후에, 1 mL의 완전 배지를 각각의 웰에 첨가하였다. 세포를 단일 세포 혼탁액으로 나누고 15 mL 투브에 옮기고 1000 rpm에서 5분 동안 원심분리하였다. 상청액을 제거하고, 세포를 반복실험 웰로부터 펠릿의 크기에 따라 1000 내지 3000 μl의 배지에서 재현탁시켰다. 50 내지 100 μl의 부피를 세포 + 배지 웰로부터 96-웰의 평평한 바닥의 흑색 CTG 플레이트(코닝, 카탈로그 번호 CLS3904)에 옮기고, 동일한 부피의 CTG 시약(프로메가(Promega), 카탈로그 번호 G7571, 로트 번호 0000089186)을 첨가하였다. 세포 혼탁액의 부피를 신호가 CTG 분석에서 선형 범위에 있도록 조정하였다(세포가 너무 많거나 너무 적지 않음). 이어서, 세포를 어둠에서 5분 동안 진탕하였다. 세포 생존 능을 제조사의 지시서에 따라 사용하여 측정하였다.

[0359]

EZH2 억제제를 치료기준 화학 치료제(시스플라틴 및 에토포시드, 화학 요법에서 치료기준으로서 단일로 또는 조합으로 사용될 수 있음)와 조합하는 것의 상승작용성 항증식 효과를 평가하기 위해, 상기에 기재된 세포주 각각을 배양 플라스크에서 9일 동안 한정된 투여량의 화합물 1에 의해 전처리한 후에, 96-웰 플레이트에서 4일 동안 시스플라틴 또는 에토포시드와 함께 공동-처리하였다. 세포 증식에 대한 효과를 본원에 기재된 방법에 따라 셀 타이터-글로(CellTiter-Glo) 세포 증식 분석을 사용하여 평가하고, 첼리스 바이오인포메틱스(Chalice Bioinfomatics) 소프트웨어(호라이즌 디스커버리(Horizon Discovery), 버전 1.6)를 사용하여 결과를 분석하고 상승작용 점수를 계산하였다. 데이터를 미처리 DMSO/DMSO 샘플에 대해 정규화시키고 미처리 샘플의 %로서 나타냈다. 데이터를 뢰베 가산성 조합 모델을 사용하여 분석하고, 초과 속성을 사용하여, 뢰베 모델에 의해 각각의 투여량에 대해 예측되는 부가적 효과를 초과하는 관찰된 결과의 규모를 평가하였다.

[0360]

SLFN11 웨스턴 블로팅 프로토콜: SCLC 세포주를 DMSO 중의 500 nM의 화합물 1에 의해 7일 동안 처리한 후에, SLFN11 단백질 수준 변화를 웨스턴 블로팅을 사용하여 평가하였다. 약물 처리 후에, 세포를 트립신화하고(부착 세포) 2000 rpm에서 실온에서 원심분리에 의해 채취하고 PBS로 세척한 후에, 원심분리에 의해 세포 펠릿을 수집하였다. 세포 펠릿을 적절한 부피의 RIPA 완충제(시그마; 카탈로그 번호 R0278; 100 μl/5 내지 10x10⁵ 세포)에 재현탁시키고 얼음 상에서 10 내지 15분 동안 항온처리하고 12,000 g에서 4°C에서 10분 동안 원심분리한 후에, 상청액을 수집하였다. 15 ug의 전체 단백질 용해물을 1xNuPAGE(상표) MOPS SDS 러닝 완충제(NP0001) 중의 4

내지 12% NuPAGE(상표) Bis-Tris 단백질 겔(NP0336Box) 상에 통과시켰다. 겔을 열음 상에 80 V에서 20분 동안, 이어서 150 V에서 60분 동안 통과시켰다. 단백질 이동을 위해, iBlot2 드라이 블롯팅 시스템(카탈로그 번호 IB21001)을 iBlot2 레귤러 니트로셀룰로스 이동 스택(카탈로그 번호 IB23001)과 함께 제조사의 지시서에 따라 사용하였다. iBlot2 레귤러 니트로셀룰로스 이동 스택을 조립하고 iBlot2 드라이 블롯팅 시스템 내로 위치시켰다. 이동을 20 V의 정전압에서 7분 동안 제조사의 지시서에 따라 템플레이트 방법 P3을 사용하여 작동시켰다. 이동을 완료시킨 후에, 니트로셀룰로스 막을 5% 무지 우유에서 1시간 동안 RT에서 진탕과 함께 차단하였다. 일차 항체 용액을, 1:100 희석된 5% 무지 우유 차단 완충제 중의 SLFN11 항체(E-4)(카탈로그 번호 sc374339)에 의해 제조하였다. 막을 밤새 4°C에서 진탕과 함께 항온처리하였다. 다음 날, 막을 3회 사내 제조된 1x Tris 완충된 염수, 0.1% 트윈-20(TBS-T)으로 10분 동안 각각 진탕기 상에서 세척하였다. 막을 1시간 동안 5% 무지 우유 차단 완충제에서 1:2,000으로 희석된 이차 항-마우스 IgG HRP-결합된 Ab(카탈로그 번호 CST7076S)에서 항온처리한 후에, 3회 1x TBST에 의해 10분 동안 진탕기 상에서 세척하였다. 신호를 ECL 시스템(써모-34078 및 -34096)을 사용하여 검출하고 이미지퀀트(ImageQuant) LAS400 이미저(imager) 상에서 이미지화하였다.

[0361]

COMET 분석: 혼탁 또는 부착 SCLC 세포주를 T75 플라스크에 50000 세포/mL의 밀도로 시딩하고, DMSO 중의 0.3 μM의 최종 농도의 화합물 1 또는 DMSO 대조군(0.01%)을 함유하는 완전 세포 배양 배지에서 7일 동안 37°C에서 및 5% CO₂에서 배양하였다. 신선한 성장 배지 및 약물을 3 내지 4일마다 보충하였다. 처리 7일 후에, 세포를 상이한 투여량의 시스플라틴(시그마-알더리치(Sigma-Aldrich) 카탈로그 번호 P4394)과 조합된 0.3 μM 화합물 1 또는 DMSO 대조군으로 3일 동안 처리하였다. 세포를 원심분리에 의해 채취하고, 세포 펠릿을 빙냉 1xPBS(Ca⁺⁺ 및 Mg⁺⁺ 미함유)에서 단일 세포 혼탁액에 1x10⁵ 세포/mL로 재현탁하고 사용을 위해 실온에서 저장하였다. LM 아가로스(트레비젠(Trevigen) 4250-050-02)를 끓는 물의 비커에서 5분 동안 용융시킨 후에, 아가로스 병을 37°C 항온처리기에 두어 냉각시켰다. 1:10(v/v)의 비로 LM 아가로스(37°C에서)와 조합된 1x10⁵/mL의 세포를 카밋슬라이드(CometSlide, 상표)(트레비젠 4250-050-03)에 피펫(50 μl)으로 옮겨 샘플 면적을 완전히 덮었다. 슬라이드를 반듯이 4°C에서 어둠에서 10 내지 20분 동안 두고, 찬 용해 용액(트레비젠 4250-050-01)에 침지시키고 밤새 4°C에서 항온처리하였다. 용해 용액에서 항온처리한 후에, 슬라이드를 배수시키고 갓 제조한 알칼리성 풀림 용액(20 mM NaOH, 1 mM EDTA pH>13)에 1시간 동안 4°C에서 어둠에서 침지시켰다. 슬라이드를, 21 V에서 30 분 동안 갓 제조한 알칼리성 전기영동 용액(20 mM NaOH, 1 mM EDTA pH>13)을 사용하여 트레비젠 CometAssay ES 시스템(트레비젠 4250-050-ES)으로 전기영동시켰다. 전기영동 후에, 슬라이드를 과량의 전기영동 용액에서 배수시키고 2회 H₂O에 5분 동안 조심히 침지시키킨 후에, 각각 70% 에탄올에 5분 동안 침지시켰다. 슬라이드를 어둠에서 밤새 기간하고 실온에서 저장하였다. 건조한 슬라이드를 100 μl의 희석된 SYBR 골드(인비트로겐 카탈로그 번호 S11494 TE 완충제 중에 1:10000)에 의해 몇 분동안 어둠에서 염색시켰다. 염색한 슬라이드를 니콘(Nikon) 형광 현미경(496 nm/522 nm에서의 최대 여기/방출)에 의해 이미지화하였다.

[0362]

γ-H2AX 염색: 멸균 SLIP-RITE 커버 글래스(써모사이언스(ThermoScience) 22x22#1.5 카탈로그 번호 152222)를 6-웰 플레이트에 두었다. 6x10⁴ 세포를 각각의 커버 글래스에 시딩하고, 신선한 성장 배지 및 약물을 7일 동안 3 내지 4일마다 보충하면서, 37°C에서 및 5% CO₂에서 DMSO 중의 0.3 μM 화합물 1 또는 DMSO 대조군(0.01%)을 함유하는 2 mL의 완전 배양 배지에서 배양하였다. 처리 7일 후에, 세포를 상이한 투여량의 시스플라틴(시그마-알더리치 카탈로그 번호 P4394)과 조합된 DMSO 중의 0.3 μM 화합물 1 또는 DMSO 대조군으로 밤새(16시간) 처리하였다. 조합 처리 말에, 세포를 3회 1x 포스페이트-완충된 염수(PBS)(Ca⁺⁺ 및 Mg⁺⁺ 미함유)로 세척하고 1 mL의 4% 파라폼알데하이드(일렉트론 마이크로스코피 사이언시스(Electron Microscopy Sciences) 카탈로그 번호 15710)에서 고정시키고 밤새 4°C에서 저장하였다. 고정 후에, 세포를 3회 1x PBS에서 세척하고 실온에서 10분 동안 0.25% Triton X-100(시그마, 카탈로그 번호 T8787)을 함유하는 1 mL의 PBS에서 항온처리에 의해 투과성으로 만들었다. 투과성으로 만든 후에, 세포를 3회 1xPBS로 세척하고 10% 당나귀 혈청(시그마-알드리치(Sigma-Aldrich) 카탈로그 번호 D9663, PBS에 1:10 희석됨)과 함께 실온에서 1시간 동안 항온처리하여 항체의 미결합을 차단하였다. 차단 후에, 세포를 마우스 항-포스포-히스톤 H2A.X(Ser139) 항체(밀리포어(Millipore) 카탈로그 번호 05-636, 1% BSA에 1:1000 희석됨)와 함께 밤새 4°C에서 항온처리하였다. 다음 날에, 세포를 3회 1xPBS로 세척하고 알렉사 플루오르(Alexa Fluor, 상표) 488 당나귀 항-마우스 IgG 항체(인비트로겐 카탈로그 번호 A21202, 1% BSA에 1:2000 희석됨)와 함께 1시간 동안 실온에서 항온처리하였다. 이어서, 설치 전에, 세포를 3회 1x PBS로 세척하였다. 커버 글래스 및 세포를 플루오로마운트-지(Fluoromount-G, 상표)에 의해 DAPI(인비트

로겐 카탈로그 번호 004959-52)와 함께 COLORFROST PLUS 현미경 슬라이드(씨모사이언스 카탈로그 번호 9991004)에 위치시키고 설치하였다. 설치된 슬라이드를 니콘 A1R 공초점 현미경 상에 이미지화하였다.

[0363] EZH2-WT DMS114 SCLC 생체내 이종 이식 연구:

[0364] (i) 화합물 제형화: 화합물 1을 경구 섭식 투여를 위한 습식-밀링된 나노 혼탁액(2.5% w/v 폴리비닐 피롤리돈(PVP), 수성 0.5% w/v 마크로골(Macrogol) 15 하이드록시스테아레이트(Kolliphor HS15)에서 24시간 밀링, <1 μm 입자 크기 분포(PSD; 약 650 nm 중간 직경(d50))으로 제형화하였다.

[0365] (ii) 세포 이식, 화합물 투여 및 조직 수집: 비-비만성 당뇨병 백그라운드의 중증 복합 면역 결핍병(SCID) 돌연변이를 갖는 면역 결핍 암컷 마우스(NOD SCID; 6 내지 8주령; NOD.CB17-Prkdcscid/NCrCr1, 찰스 리버 래보래토리즈(Charles River Laboratories))에게, 우측 옆구리에 7.5×10^6 DMS114 세포(1:1 매트리겔(트레비젠, Cultrex BME Path Clear(등록상표), 로트 번호 30625F14) 내에 존재, 전체 부피 200 μl)의 피하(SC) 이식을 제공하였다. 종양 부피 및 체중을 1주일에 2회 측정하였다. 이식 후 제20일에, 64마리의 마우스를 투여량에 상응하는 6개의 군으로 약 160 mm³의 기하평균에서 종양 크기를 기준으로 무작위화시켰다(표 1). 화합물을 각각 10 mg/kg 경구 섭식에 의해(화합물 1; BID(7/17 시간 간격)) 또는 복강내 주사(시스플라틴)에 의해 투여하였다. 시스플라틴 투여 일정은 3주 동안 1주일에 1회(Q7Dx3)였고, 무작위화 및 화합물 1의 처리 개시 7일 후에 시작하였다.

[0366] [표 1]

[0367] 연구 아암, 시스플라틴 및 화합물 1 투여량, 투여 섭생 및 경로의 정의

군 번호	약물	n	투여량 (mg/kg/투여)	1일 투여 량 (mg/kg/ 일)	제형	투여 경로	섭생
1	비히클	8 (10) ^a	0	0	습식-밀링 된 나노 혼탁액	PO	BID (7/17시간 간격)
2	화합물 1	9 (10) ^a	30	60	습식-밀링 된 나노 혼탁액	PO	BID (7/17시간 간격)
3	화합물 1	10	100	200	습식-밀링 된 나노 혼탁액	PO	BID (7/17시간 간격)
4	화합물 1	10	300	600	습식-밀링 된 나노 혼탁액	PO	BID (7/17시간 간격)
5	시스플라틴	12	4	4	염수	IP	Q7D x3
6	시스플라틴 화합물 1	12	4 100	4 200	염수 습식-밀링 된 나노 혼탁액	IP PO	Q7D x3 BID(7/17 시간)

BID = 1일 2회; IP = 복강내; n = 샘플 수; PO = 경구로; Q7D x 3= 3주 동안 1주일에 1회.
 a. 연구 개시시 군의 마우스 수. 비히클 군(n=2) 및 화합물 1 30 mg/kg 군(n=1)의 일부 동물을 연구 종결 전에 희생시켰다. 따라서, 이를 동물의 데이터는 TGI 및 통계 분석, 뿐만 아니라 하기에 나타낸 55-일 플롯에서 배제되었다.

[0368] [0369] 제55일에, 연구 군 1, 2, 3 및 4를 종결시켰다(표 1). 종양(스냅 동결됨) 샘플을, 약역학(PD) 분석을 위한 마지막 투여 4시간 후에 수집하였다. 시스플라틴 처리군(5 및 6) 모두를 무작위화 후 제81일까지 연구를 유지하여 종양 퇴화 및 재성장을 모니터링하였다. 군 5 및 6의 종양 샘플을 이용가능한 종양 크기에 따라 마지막 투여 3시간 후에 수집하였다.

[0370] 이들 동물에 대해 수행된 모든 절차는 규정 및 확립된 가이드라인에 따르고, 화이자(Pfizer)의 동물 관리 및 사용 위원회에 의해 검토되고 승인되었다.

[0371] (iii) 데이터 해석: 각각의 실험에서, 계산을 수행하고 그래프를 각각 마이크로소프트 엑셀(Microsoft Excel)

및 그라프패드 프리즘 버전 7.02로 생성하였다. 종양 부피를 $0.5 \times \text{길이} \times \text{너비}^2$ 으로 계산하였다. 종양 성장 억제(TGI)를 하기 수학식에 의해 결정하였다:

$$[0372] \%TGI = [1 - (V_{tx} - V_{t0} / V_{cx} - V_{c0})] \times 100$$

[0373] 상기 식에서, V_c 및 V_t 는 대조군 및 처리군의 기하평균이다. X는 연구 제X일을 의미하고, 0은 투여 개시일을 의미한다.

ELISA 분석:

[0375] (i) 히스톤 추출: 히스톤 추출을 에피퀵(EpiQuick) 히스톤 추출 키트(에피젠텍(Epigentek) OP0006)를 사용하여 수행하였다. 동결시킨 종양 샘플을 절단하고 드라이아이스 상에서 찬 막사사발 및 막자를 사용하여 균질화하였다. 균질화된 혼합물을 1.5 mL 퓨브에서 폐닐메틸설폰일 플루로라이드(PMSF)를 함유하는 1X Pre-Lysis 완충제(200 mg/mL)에 옮겼다. 샘플을 부드럽게 혼합하고 얼음 상에서 15분 동안 항온처리하고 3,000 rpm에서 5분 동안 4°C에서 스핀다운시켰다. 조직 펠릿을 히스톤 추출 키트로부터 3 부피의 용해 완충제(100 mg의 조직 당 약 200 μL)에 재현탁시키고 얼음 상에서 30분 동안 항온처리하고 12,000 rpm에서 5분 동안 4°C에서 스핀다운시켰다. 평형-DTT 완충제를 DTT 용액을 평형 완충제에 1:500 비로 첨가함으로써 제조하였다. 상청액(산 가용성 단백질을 함유함)을 새로운 1.5 mL 퓨브에 옮기고, 히스톤 추출 키트로부터의 0.3 부피의 평형-다이티오티레이톨(DTT) 완충제를 즉시 각각의 샘플에 첨가하였다. 종양 용해물을 간략히 4주기 동안(30초 작동 및 30초 중단) 고강도로 바이오ruptor 플러스(Bioruptor Plus)(디아제노드(Diagenode) #B01020001)를 사용하여 초음파처리하였다. 추출물을 분액화하고 -20°C에서(단기) 또는 -80°C에서(장기) 저장하였다. 단백질 농도를 쿠마시 플러스(Coomassie Plus)(브래드포드(Bradford)) 분석 키트(씨모 #23236)를 사용하여 정량화하였다.

[0376] (ii) H3K27Me3 및 Me2 ELISA 분석: 히스톤 추출물을 100 μL의 코팅 완충제(0.05% 소 혈청 알부민(BSA)을 함유하는 포스페이트-완충된 염수(PBS))에 400 ng(또는 800 ng)의 최종 농도로 희석하였다. 400 ng(또는 800 ng)의 각각의 샘플을 96-웰 분석 마이크로 플레이트(코닝 코스타)에 2회 반복실험으로 샘플을 웰마다 첨가하고 단단히 밀폐하고 밤새 4°C에서 항온처리하였다. 다음 날, 각각의 플레이트의 웰을 3회 300 μL 세척 완충제(PBS, 0.05% 트윈 20)로 세척한 후에, 300 μL의 차단 완충제(PBS, 0.05% 트윈 20, 2% BSA)에 의해 2시간 동안 실온에서 차단하였다. 세척 완충제(PBS, 0.05% 트윈 20)에 의한 추가적 회차의 세척 후에, 100 μL의 검출 항체(차단 완충제에 1:2000 희석된 셀 시그널링 #9733 H3K27Me3; 차단 완충제에 1:2000 희석된 셀 시그널링 #9728 H3K27Me2; 차단 완충제에 1:5000 희석된 ABCAM ab1791 전체 히스톤 H3)를 각각의 플레이트의 각각의 웰에 첨가하고 실온에서 1.5시간 동안 항온처리하였다. 세척 완충제(PBS, 0.05% 트윈 20)에 의한 추가적 회차의 세척 후에, 1:2000(H3K27Me3 및 Me2) 또는 1:10,000(전체 H3) 희석된 100 μL의 이차 항체(항-Rb-IgG-HRP, 셀 시그널링 7074)를 각각의 웰에 첨가하고, 플레이트를 실온에서 1.5시간 동안 항온처리하였다. 세척 완충제(PBS, 0.05% 트윈 20)에 의한 추가적 회차의 세척 후에, 100 μL의 TMB 기질(씨모 사이언티픽, N301)을 각각의 웰에 첨가하고, 플레이트를 10분 동안 항온처리하고, 100 μL의 중단 용액(0.16 M 황산, 것 제조되거나 씨모사이언티픽 N600으로부터 구매)을 각각의 웰에 첨가하고, 부드럽게 진탕하고, 450 nm에서의 흡광도를 판독함으로써 검출을 수행하였다. 데이터를 그라프패드 프리즘 버전 7.02를 사용하여 분석하였다. P-값을 1-원 ANOVA(터키(Tukey) 다중 비교 검정)를 사용하여 결정하였다.

실시예 1 - DMS114 SCLC 세포에서 화합물 1의 항증식 효과.

[0378] EZH2에 대한 화합물 1의 활성을 야생형 EZH2를 함유하는 DMS114 SCLC 세포에서 평가하였다. EZH2 억제제 활성을 세포에서 세포 H3K27Me3 수준의 상대적 양의 측정에 의해 결정하였다. DMS114 세포를 지시된 농도의 화합물 1로 3일 동안 처리하고, H3K27Me3 수준을 상기에 기재된 세포내 웨스턴 분석을 사용하여 측정하였다. 결과를 표 2 및 도 1에 나타냈다. 도 1은 5개의 독립적 생물학적 반복실험의 대표이다. 3 μM 내지 0.1 nM의 농도 범위에서의 처리 3일 후에, 화합물 1은 투여량-의존성 H3K27Me3 억제 및 9.48 nM의 세포 평균 IC₅₀을 나타냈다.

[0379] 또한, EZH2-WT DMS114 SCLC 세포의 세포 증식 억제에 있어서 화합물 1의 활성을 상기에 기재된 DMS114 SCLC 세포의 세포 증식 분석을 사용하여 평가하였다. DMS114 세포를 3 μM 내지 0.1 nM의 10-포인트 투여량 곡선(1:3 희석)을 사용하는 상이한 농도의 화합물 1로 17 내지 21일 동안 처리한 후에, 세포 생존능을 평가하였다. 결과를 표 2 및 도 2에 나타냈다. 도 2는 6개의 독립적 생물학적 반복실험의 대표이다. 결과는, 화합물 1이 DMS114 세포에서 세포 증식의 강한 투여량-의존성 억제 및 18.8 nM의 평균 IC₅₀을 나타냈음을 보여주었다.

[0380] [표 2]

[0381] DMS114 세포에서 H3K27Me3의 억제 및 세포 증식에 있어서 화합물 1의 세포 효능

세포주	암 유형	H3K27Me3 IC ₅₀ ± SD (nM) (n)	증식 IC ₅₀ ± SD (nM) (n)
DMS114	SCLC	9.48 ± 5.34 (5)	18.8 ± 13.2 (6)
IC ₅₀ = 반 최고치 억제 농도; SD = 표준 편차			

[0382] IC₅₀ = 반 최고치 억제 농도; SD = 표준 편차

[0383] 실시예 2 - 화합물 1 + SCLC 치료기준 제제 시스플라틴 또는 에토포시드의 조합의 항증식 상승작용 평가.

SCLC DMS114 세포주의 성장 억제에 있어서 화합물 1에 의해 관찰된 강한 효능을 고려하여, 현재 치료기준 화학 치료제와 조합된 화합물 1을 조사하였다. 실험을 상기에 기재된 방법에 따른 DMS114 SCLC 세포의 세포 성장 억제 분석을 사용하여 수행하였고, 결과를 도 3 및 4에 나타냈다. 도 3은 단독으로 투여되거나 시스플라틴과 조합으로 투여된 화합물 1의 IC₅₀ 곡선을 보여준다. 도 4는 단독으로 투여되거나 에토포시드와 조합으로 투여된 화합물 1의 IC₅₀ 곡선을 보여준다. 이들 실험은 화합물 1에 의한 전처리가 DMS114 세포에서 시스플라틴 또는 에토포시드 둘 모두의 항증식 효과를 강하게 증가시켰음을 보여준다. 또한, 도 3 및 4는 상기에 기재된 뢰베 가산성(ADD) 모델을 사용한 조합 데이터의 추가적 분석의 결과를 보여준다. 이러한 분석은, 둘 모두의 화합물에 대해 IC₅₀ 초과의 투여량에 의해 달성된 성장 억제의 수준이 둘 모두의 화합물의 효과가 가산적인 경우 예상되는 것보다 강했음을 보여주었다.

[0385] 실시예 3 - 단일 제제 화합물 1은 DMS114 SCLC 이종 이식 모델에서 생체내 종양 성장을 억제한다.

화합물 1의 항종양 효능을 상기에 기재된 생체내 이종 이식 연구 프로토콜을 사용하여 DMS114 SCLC 이종 이식 모델에서 생체내 시험하였다. 연구 아암, 투여 섭생 및 투여 경로의 정의를 표 1에 개괄하였다. 결과를 도 5에 나타냈다. 화합물 1은 투여량-의존성 효능 반응, 및 300 mg/kg 1일 2회(BID)에서 69 내지 79%의 최대 종양 성장 억제(TGI)를 나타냈다. 종양 세포 이식 후 제20일에, 마우스를 종양 크기를 기준으로 무작위화시켰다. 무작위화시 각각의 군의 종양 크기의 기하평균은 약 160 mm³였다. 도 5에 나타낸 결과로부터, 100 mg/kg BID 및 300 mg/kg BID로 투여된 화합물 1 모두는 비히클을 투여받은 대조군과 비교하여 유의미한 항종양 이익을 나타냈음을 알 수 있다. 투여량-의존성 효능을 나타내면서, 30 mg/kg BID 및 100 mg/kg BID 처리와 비교하여 최고 300 mg/kg BID 투여량의 경우 유의미한 TGI 이익이 존재하였다(제55일; 양측 t-검정). 완전한 종양 퇴화가 화합물 1 단독 요법 아암에서 관찰되지 않았다. 화합물 1은 제한된 체중 손실로 인해 매우 관용적이었다.

[0387] 실시예 4 - 단일 제제 화합물 1은 DMS114 SCLC 이종 이식 모델에서 생체내 H3K27Me3 및 Me2의 투여량-의존성 바이오마커 억제를 나타낸다.

DMS114 SCLC 이종 이식 모델에서 EZH2에 대한 화합물 1의 생체내 활성을, 상기 실시예 3에 기재된 연구로부터 제55일에 채취한 종양 조직 샘플을 사용하여 ELISA에 의해 세포 H3K27Me3 및 Me2 수준의 상대적인 양의 측정에 의해 결정하였다. 결과를 도 6에 나타냈다. 화합물 1은 종양 샘플에서 H3K27Me3 및 Me2의 투여량-의존성 억제, 및 300 mg/kg BID에서 각각 H3K27Me3 및 Me2에 대한 96% 및 82%의 최대 억제를 나타냈다.

[0389] 실시예 5 - 화합물 1은 DMS114 SCLC 이종 이식 모델에서 시스플라틴과 함께 조합 항종양 활성을 나타낸다.

시스플라틴과 조합된 화합물 1의 항종양 효능을 상기에 기재된 생체내 이종 이식 연구 프로토콜을 사용하여 EZH2-WT DMS114 SCLC 이종 이식 모델에서 생체내 시험하였다. 연구 아암, 투여 섭생 및 투여 경로의 정의는 표 1에 개괄되어 있다. 결과를 도 7에 나타냈다. 제55일에, 시스플라틴 및 화합물 1 단일 처리군에서, 간헐적인 종양 축소가 시스플라틴 투여 후에 관찰되었지만, 모든 종양은 진행하였고 치료 개시시보다 컸다. 대조해보면, 조합 군에서, 12개의 종양 중 6개가 출발 종양 부담과 비교하여 퇴화하였다. 제55일까지 조합 처리는 95%의 TGI를 초래하였고, 시스플라틴(51%의 TGI; P=0.019 vs 시스플라틴) 또는 화합물 1(50%의 TGI; P=0.016 vs 100 mg/kg 화합물 1)을 사용한 단독 요법보다 유의미하게 효과적이었다. 시스플라틴 처리는 단일 제제 및 조합 아암 둘 모두에서 제3 투여 후 중단되었는데, 이는 마우스의 체중 손실을 야기하였기 때문이다(도 7). 화합물 1 단일 제제 처리는 매우 관용적인 반면에(도 7), 화합물 1 + 시스플라틴 조합은 시스플라틴 단독 요법 처리군보다 유의미하게 확연한 체중 손실을 나타냈다(제27일 이후 모든 측정에 대해 P < 0.05; 양측 t-검정).

[0391] 반응의 지속성에 대한 EZH2 억제의 효과를 평가하기 위해, 시스플라틴 단일 요법 군 및 병용 요법 군을 제55일

후 연구를 지속하였다. 이들 처리 아암 모두에서, 마지막 시스플라틴 처리는 제42일에 제공되었다. 조합 아암에서, 단독 요법 화합물 1의 투여만이 추가적 3주 동안 유지 요법으로서 계속되었다(시스플라틴 투여 없음). 결과를 도 7에 나타냈다. 화합물 1의 유지 투여량은 시스플라틴 중단 후 추가적 34일 동안 조합 아암에서 종양 퇴화를 지속시킨 반면에, 추가적 처리를 제공받지 않은 시스플라틴 단독 요법 아암에서 모든 종양은 진행하였다. 조합 아암에서, 및 시스플라틴 처리가 중단된 후에, 체중은 화합물 1에 의한 유지 투여 동안 완전히 회복하였고, 이는 최소 독성이 화합물 1 유지 투여량으로부터 야기되었음을 시사한다(도 7).

[0392] 또한, 도 8 및 9의 데이터로부터, 시스플라틴 및 화합물 1 조합이 비히클, 또는 화합물 1 또는 시스플라틴 단독 요법과 비교하여 유의미한 생존 이익을 제공하였음을 알 수 있다. 생존 판독을 위해, 최대 종양 부담은 500 mm³로 설정되었다. 100 mg/kg BID 화합물 1 군 및 시스플라틴 단일 요법 군은 비히클 대조군과 비교하여 Log-순위 검정(만렐-콕스)에서 P <0.05 유의도 수준에 도달하지 않았다. 중간 생존은 비히클 군의 34일, 100 mg/kg BID 화합물 1군의 39일, 및 시스플라틴 군의 37.5일과 비교하여 조합 군에서 74.5일로 증가하였다.

[0393] 요약하면, 화합물 1은 DMS114 SCLC 이종 이식 모델에서 생체내의 종양 성장의 투여량-의존성 억제를 나타냈다. 또한, 투여량-의존성 억제는 H3K27Me3 및 Me2 바이오마커의 강한 억제와 연관성이 있었다. 관찰된 최소 체중 변화를 기반으로, 화합물 1의 투여가 마우스에서 관용적이었음이 결론 내려졌다. 화합물 1과 일선 치료기준 시스플라틴의 조합의 투여는 시스플라틴 단독 요법과 비교하여 유의미하게 항종양 효능 및 항종양 반응의 지속성 모두를 증가시켰고, 이는 유의미한 생존 이익을 야기하였다. 또한, 본원에 기재된 비-임상 연구는, 화합물 1이 H3K27Me3 및 Me2 억제에 의해 측정시 생체내 EZH2 촉매 활성을 억제하고, 이는 DMS114 SCLC 이종 이식 모델에서 단일 제제로서 및 시스플라틴과의 조합에서 종양 성장의 강한 억제를 유도하였음을 입증한다.

실시예 6 - 추가적 SCLC 세포주에서 화합물 1의 항증식 효과.

[0395] DMS114 세포에서 화합물 1의 사용시 관찰된 강한 활성을 기반으로(상기 실시예 1 참조), 화합물 1의 항증식 활성을 또한 상기에 기재된 세포 증식 분석을 사용하여 3개의 추가적 SCLC 세포주(즉, H841, H446 및 H69)에서 시험하였다. 각각의 세포주를 3 μM 내지 0.1 nM에서 21일 동안 10-포인트 투여량 곡선(DMSO에서 1:3 희석)을 사용하여 상이한 농도의 화합물 1로 처리한 후에, 세포 생존능을 평가하였다. 결과를 도 10(H841), 도 11(H446) 및 도 12(H69)에 나타냈다. 21일의 처리 후에, 화합물 1은 세포 증식의 강한 투여량-의존성 억제, 및 H841 세포주에서 73.15 nM; H446 세포주에서 108.6 nM; 및 H69 세포주에서 224.1 nM의 평균 IC₅₀을 나타냈다.

실시예 7 - H841, H446 및 H69 세포주에서 화합물 1 + SCLC 치료기준 제제 시스플라틴 또는 에토포시드의 조합의 항증식 상승작용 평가.

[0397] SCLC H841, H446 및 H69 세포주의 성장을 억제함에 있어서 화합물 1을 사용하여 관찰된 강한 효능을 고려하여, 화합물 1과 현재 치료기준 화학 치료제 시스플라틴 또는 에토포시드의 조합을 조사하였다. 실험을 상기에 기재된 방법에 따라 H841, H446 또는 H69 SCLC 세포의 세포 성장 억제 분석을 사용하여 수행하고, 결과를 도 13 및 14(H841 세포주); 도 15 및 16(H446 세포주) 및 도 17 및 18(H69 세포주)에 나타냈다. 도 13, 15 및 17은 단독으로 및 시스플라틴과 조합으로 투여된 화합물 1의 IC₅₀ 곡선을 보여준다. 도 14, 16 및 18은 단독으로 및 에토포시드와 조합으로 투여된 화합물 1의 IC₅₀ 곡선을 보여준다. DMS114를 사용하였을 때와 같이, 이들 실험은 화합물 1에 의한 전처리가 H841, H446 및 H69 세포주에서 시스플라틴 또는 에토포시드 모두의 항증식 효과를 강하게 증가시켰음을 보여준다.

[0398] 또한, 도 13 내지 18은 상기에 기재된 뢰베 가산성(ADD) 모델을 사용한 조합 데이터의 추가적 분석의 결과를 보여준다. 이러한 분석은, 둘 모두의 화합물에 대해 IC₅₀ 초과의 투여량에 의해 달성된 성장 억제의 수준이 둘 모두의 화합물의 효과가 가산적인 경우 예상되는 것보다 강했음을 보여주었다.

실시예 8 - 화합물 1은 SCLC 세포주에서 SLFN11의 발현을 유도한다.

[0400] 화학 치료제를 사용하여 관찰된 EZH2i 상승작용에 책임이 있는 잠재적 메카니즘을 이해하기 위해, DNA 손상제에 대한 증감제인 SLFN11 발현에 대한 화합물 1 처리의 효과를 평가하였다. 여러 SCLC 세포주를 500 nM의 화합물 1로 7일 동안 처리하고, SLFN11 단백질 수준의 변화를 상기에 기재된 방법론에 따라 웨스턴 블로팅을 사용하여 평가하였다. 결과를 도 19에 나타냈다. 이러한 결과는 SLFN11 발현의 강한 유도가 화합물 1로 처리시 여러 세포주에서 관찰되었음을 나타낸다.

실시예 9 - 화합물 1 + SCLC 치료기준 제제 시스플라틴의 조합은 SCLC 세포주에서 증가된 DNA 손상을 유도한다.

[0402]

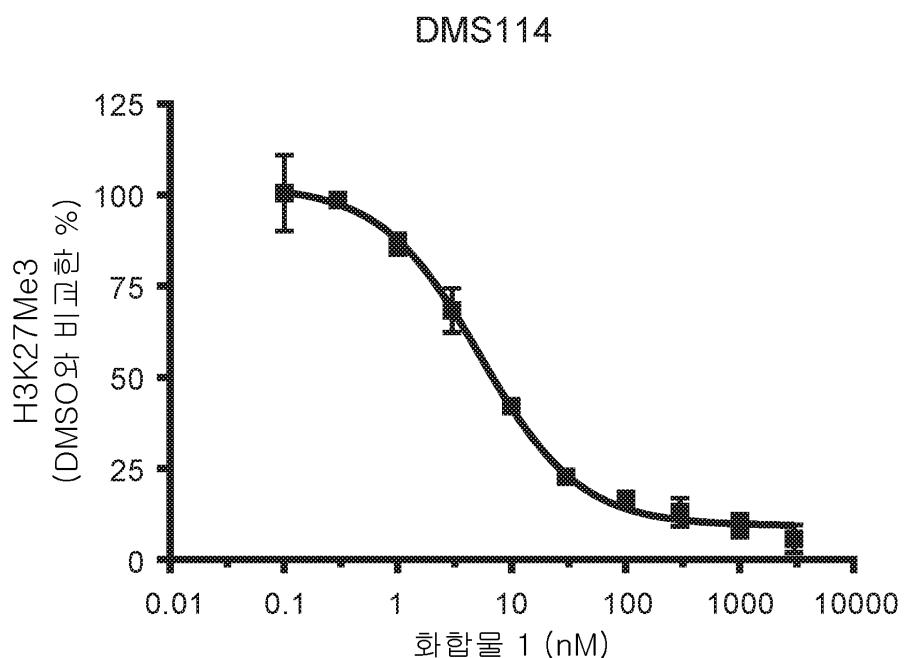
DNA 손상에 대한 화학 치료제 시스플라틴과 조합된 화합물 1의 효과를 DNA 손상 마커 γ -H2AX 염색 또는 상기에 기재된 방법론에 따른 COMET 분석에 의한 DNA 손상의 평가를 사용하여 평가하였다. SCLC 세포주 H841 또는 H69를 화합물 1로 7일 동안 전처리한 후에, 시스플라틴과 함께 16시간 (γ -H2AX) 또는 3일 (COMET 분석)동안 공동-처리하였다. 결과를 도 20 내지 22에 나타냈다. 도 20에서, H841 세포주의 결과는, γ -H2AX foci 형성의 강한 증가가, 단독 요법으로 처리된 것과 비교시, 조합으로 처리된 세포에서 관찰되었음을 나타낸다. 도 21에서, H841 세포주의 결과는 DNA 손상의 강한 증가 (COMET 분석)가, 단독 요법으로 처리된 것과 비교시, 조합으로 처리된 세포에서 관찰되었음을 나타낸다. 유사한 결과를 H69 세포주 COMET 분석에서 수득하였다(도 22 참조).

[0403]

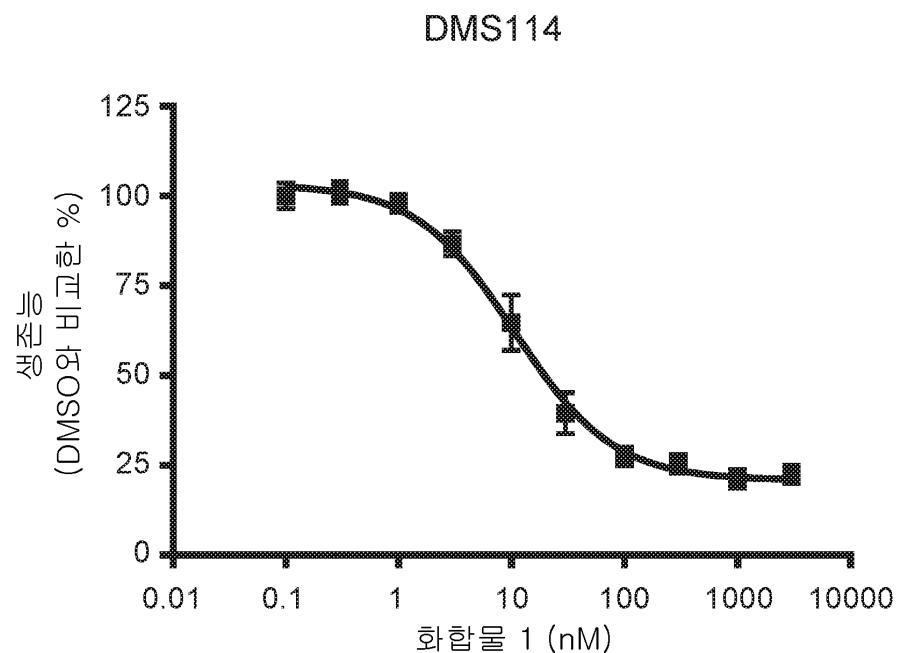
본원에 인용된 모든 공보 및 특허/특허출원은 그 전문이 본원에 참고로 포함된다. 전술한 발명이 예시 및 실시예에 의해 다소 상세히 기재되었지만, 본 발명의 교시에 비추어 첨부된 특허청구범위의 사상 또는 범위로부터 벗어나지 않고 특정 변경 및 변형이 이루어질 수 있음이 당업자에게 용이하게 자명할 것이다.

도면

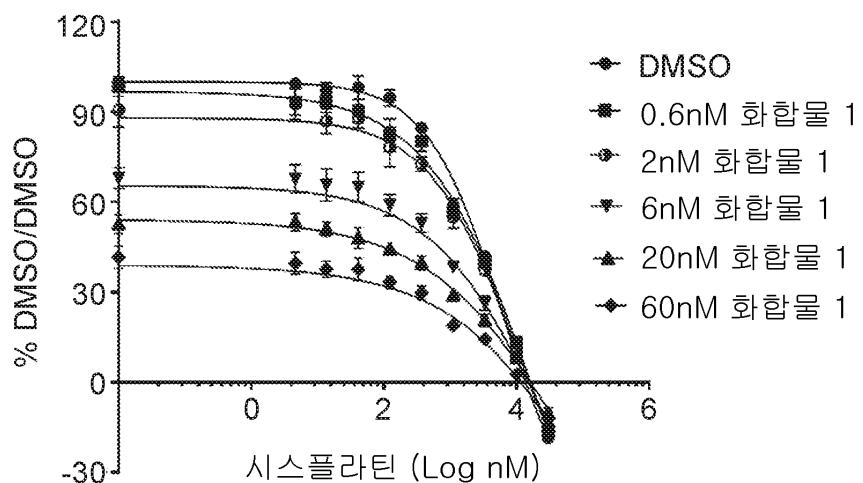
도면1



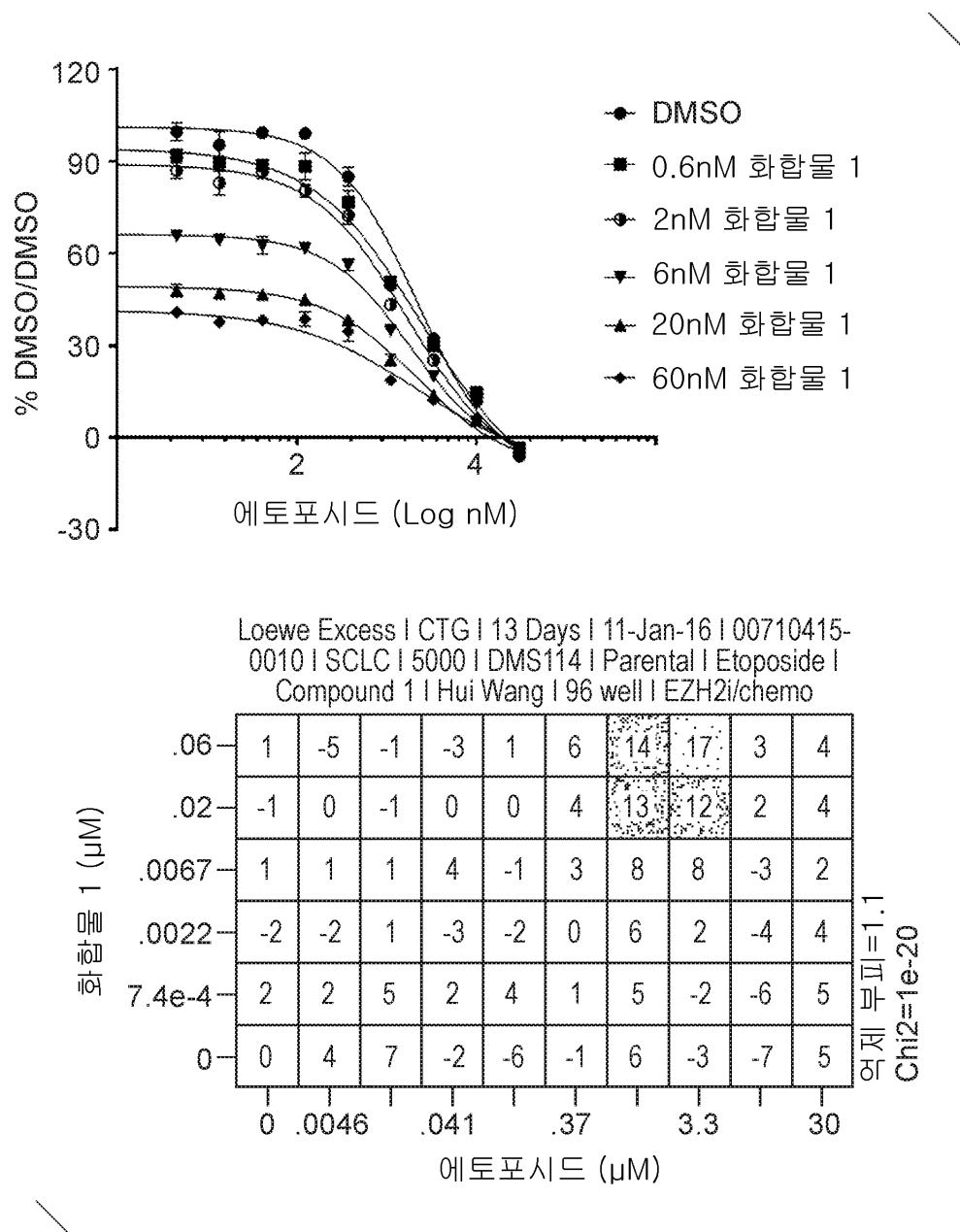
도면2



도면3



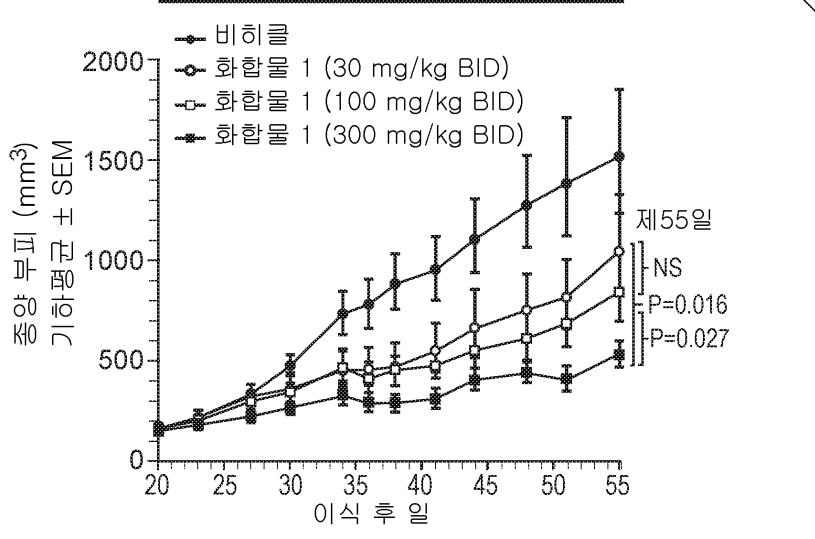
도면4



도면5

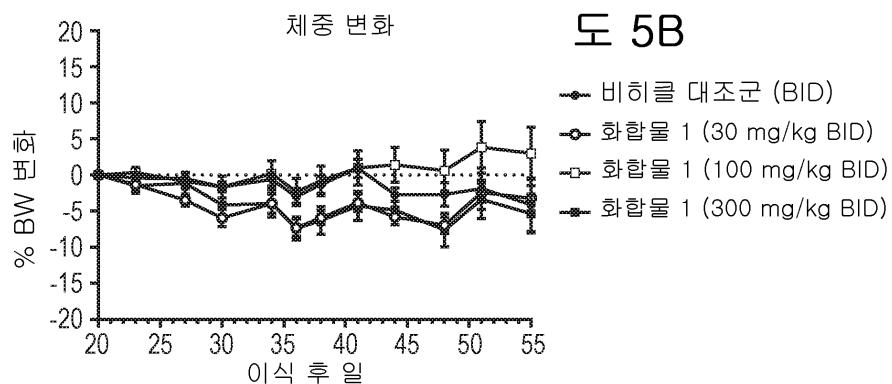
도 5A

처리 기간



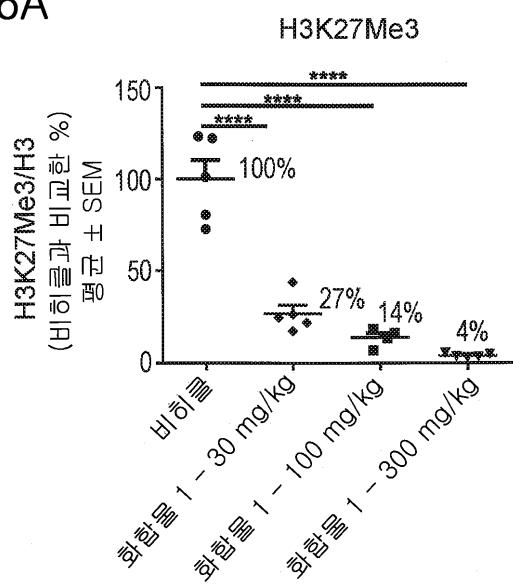
군	투여량 mg/kg	일정	% TGI 제34일	% TGI 제51일	% TGI 제55일	P-값 제51일 vs. 비히클	P-값 제55일 vs. 비히클	N
비히클	-	BID (7/17h)	-	-	-	-	-	8
화합물 1	30	BID (7/17h)	50	48	35	0.08	0.28	9
화합물 1	100	BID (7/17h)	48	58	50	0.016	0.036	10
화합물 1	300	BID (7/17h)	69	79	72	0.0011	0.0012	10

도 5B

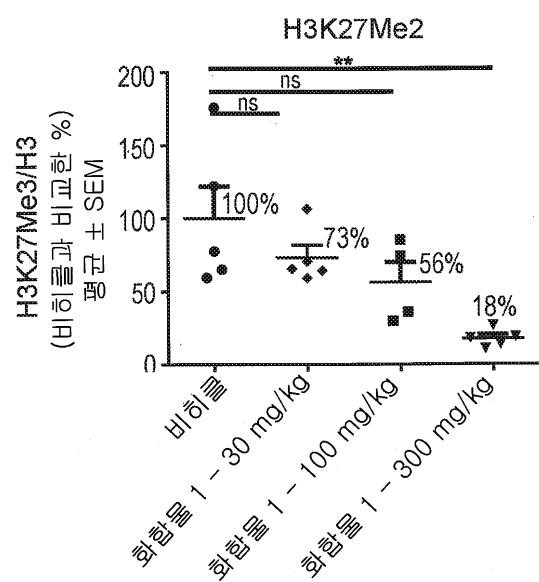


도면6

H 6A

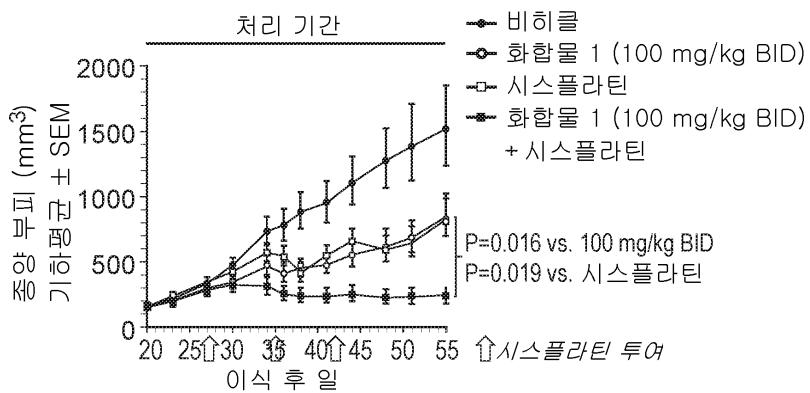


H 6B



도면7

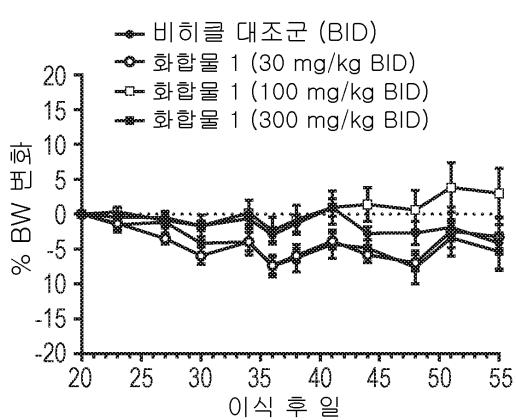
도 7A



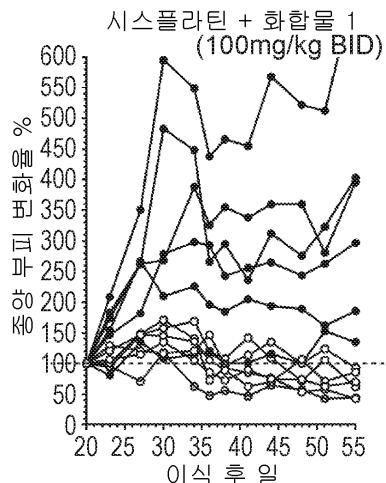
군	투여량 mg/kg	일정	% TGI 제34일	% TGI 제51일	% TGI 제55일	P-값 제51일 vs. 비히클	P-값 제55일 vs. 비히클	N
비히클	-	BID (7/17h)	-	-	-	-	-	8
화합물 1	100	BID (7/17h)	48	58	50	0.016	0.036	10
시스플라틴	4	Q7Dx3	29	61	51	0.011	0.033	12
화합물 1 시스플라틴	100 4	BID (7/17h) Q7Dx3	75	95	95	0.0003	0.0006	12

도 7B

체중 변화

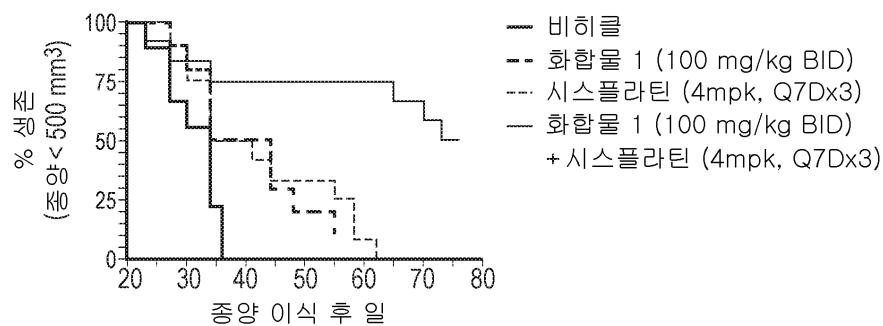


도 7C



도면8

도 8A

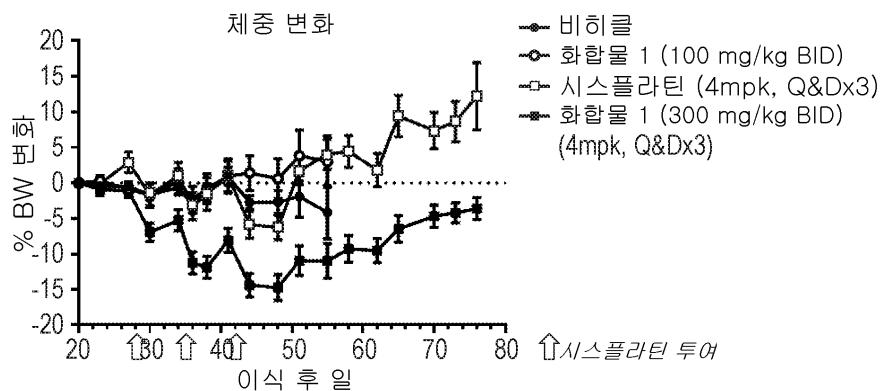


도 8B

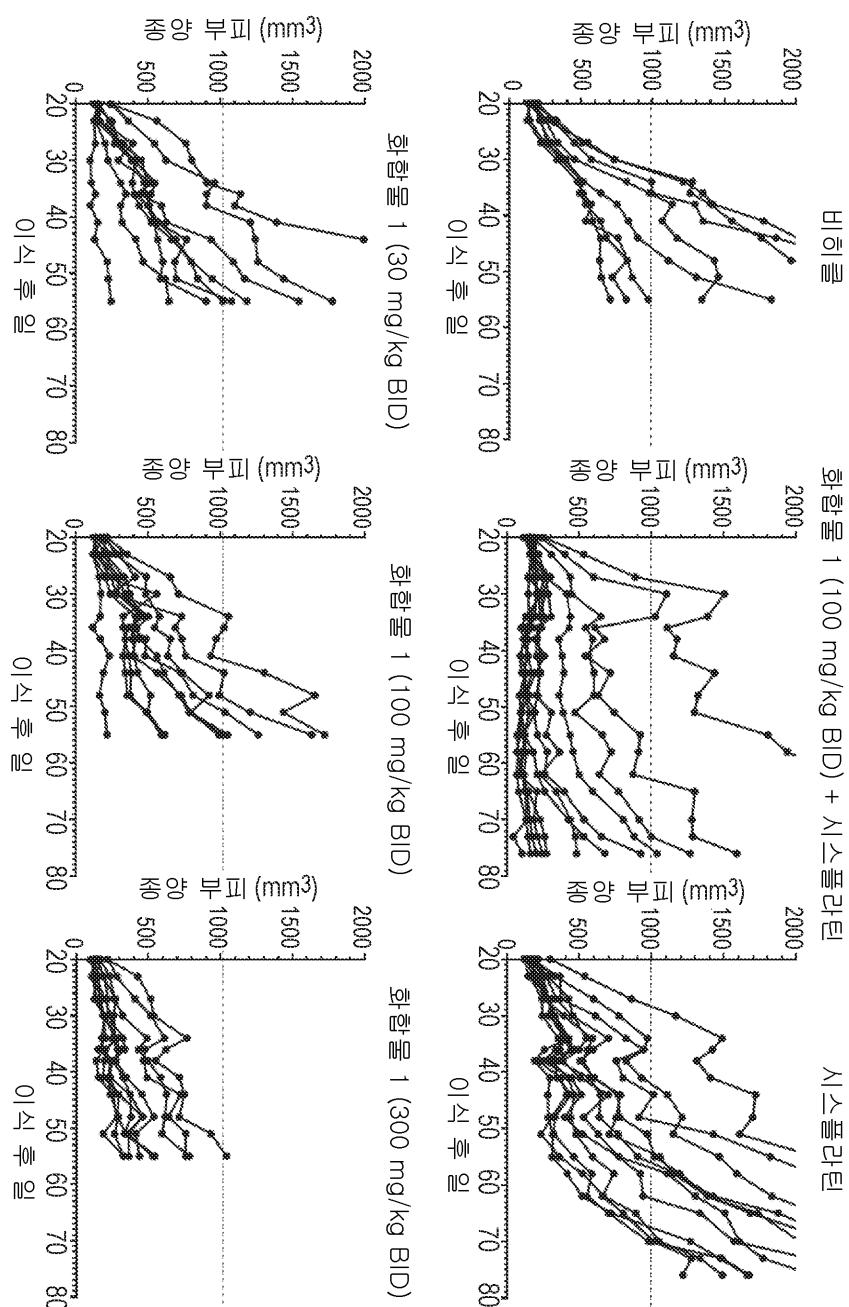
	비히클	시스플라티 (Q3Dx3)	화합물 1 (100 mg/kg BID)	조합	
중간 생존	34	37.5	39	74.5	일

P-글리 만텔-콕스	비히클	시스플라티 (Q3Dx3)	화합물 1 (100 mg/kg BID)	조합
비히클		0.073	0.055	0.0054
시스플라틴 (Q3Dx3)			0.069	0.0008
화합물 1 (100 mg/kg BID)				0.0085
조합				

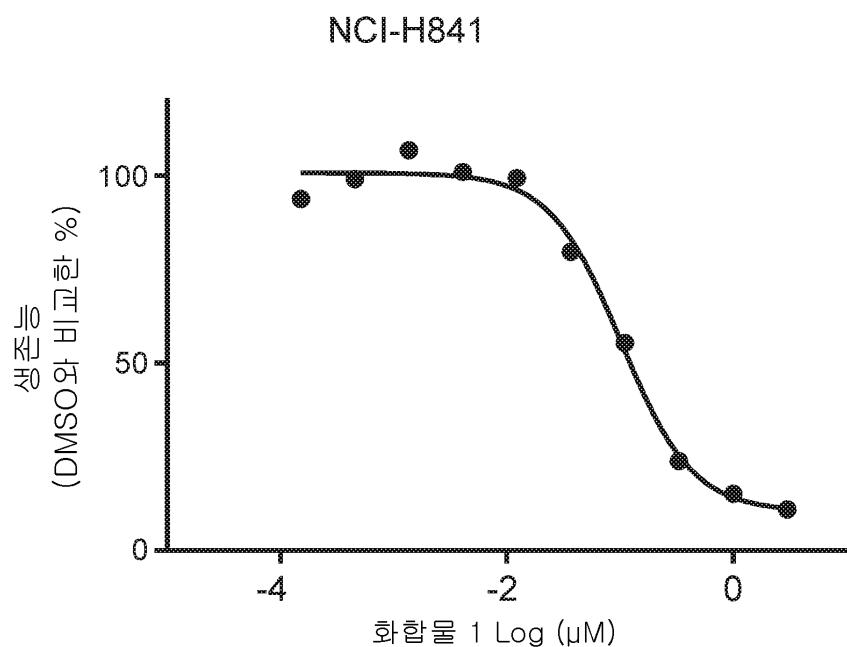
도 8C



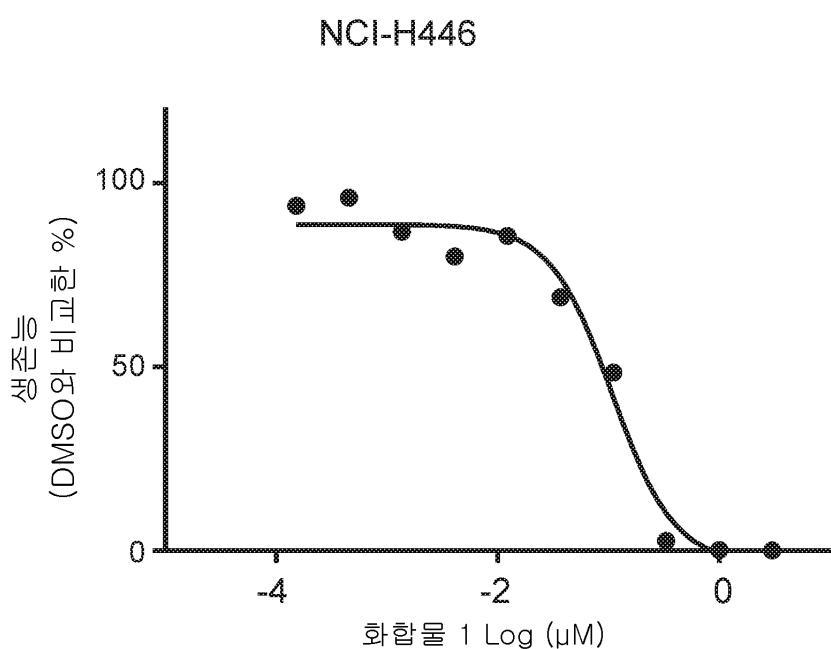
도면9



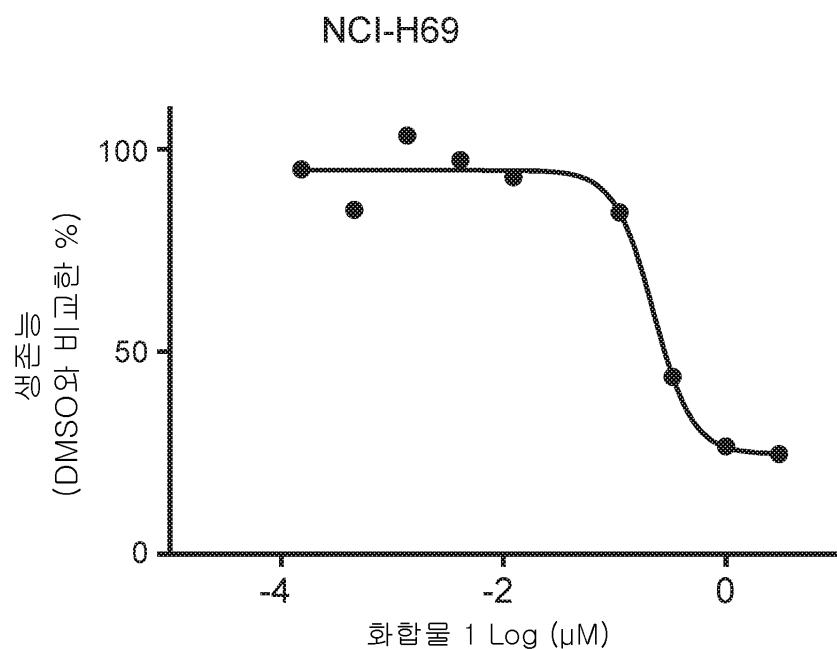
도면10



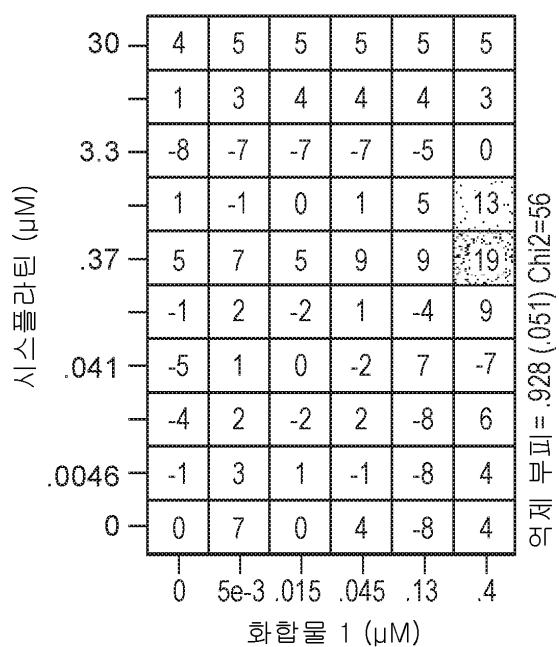
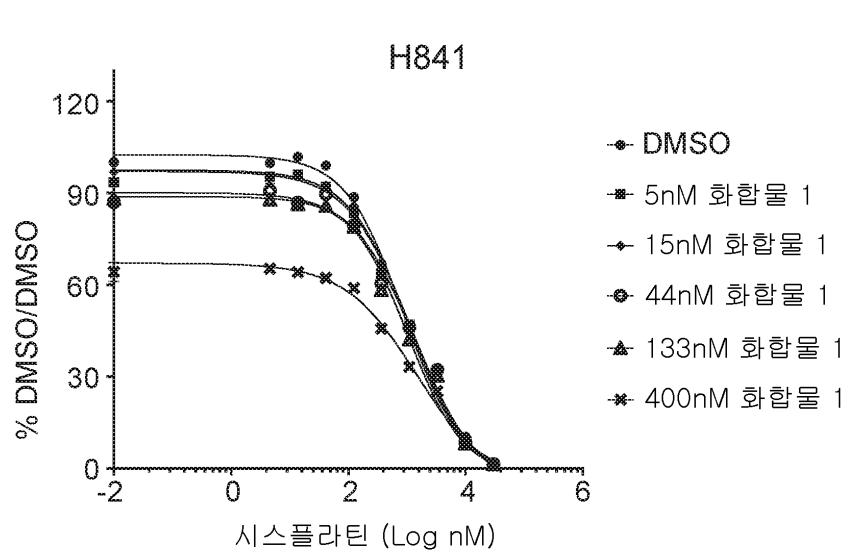
도면11



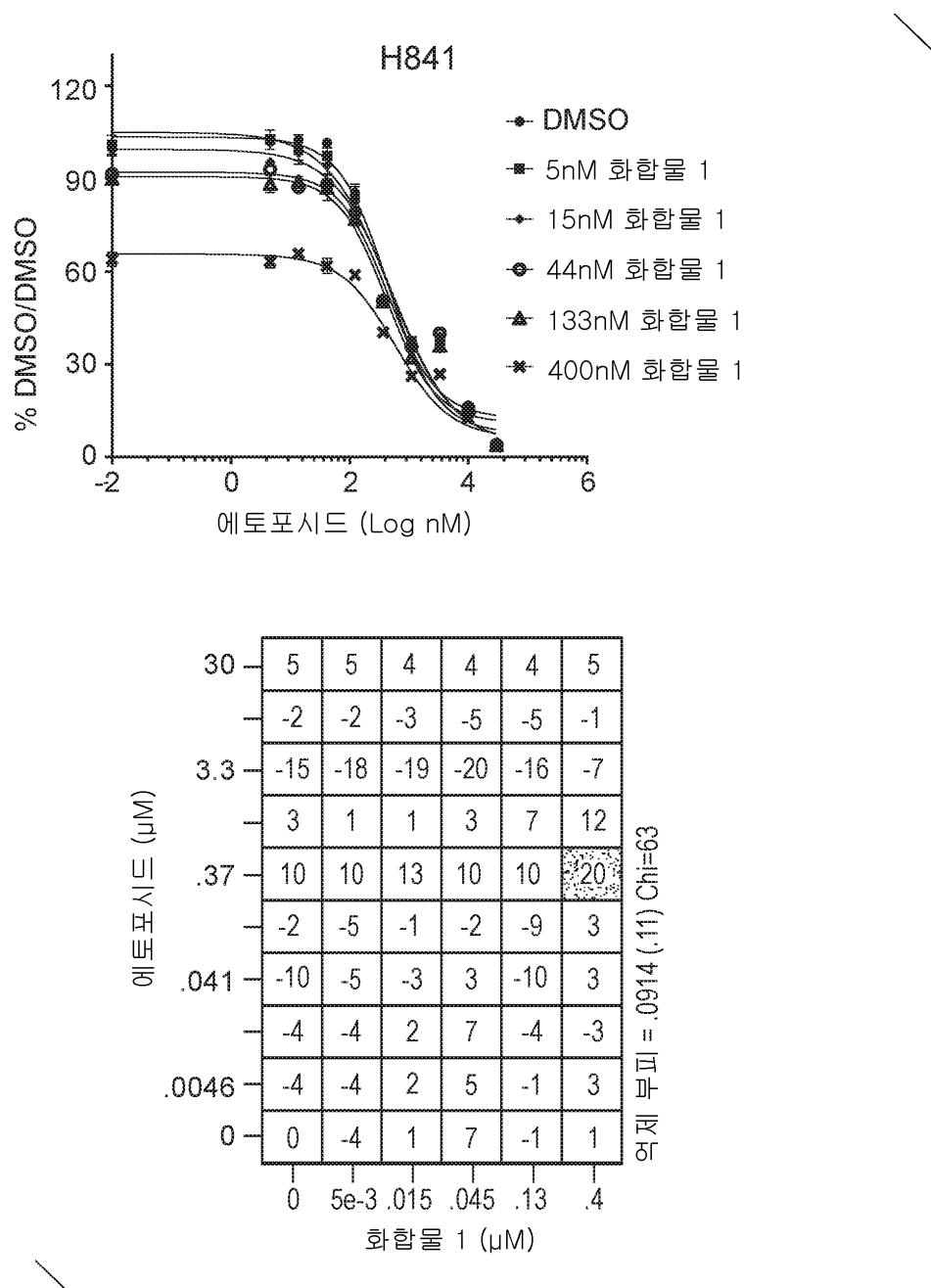
도면12



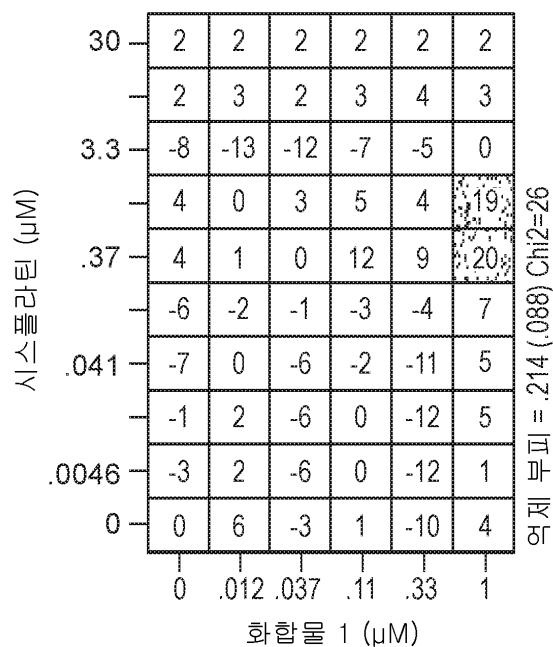
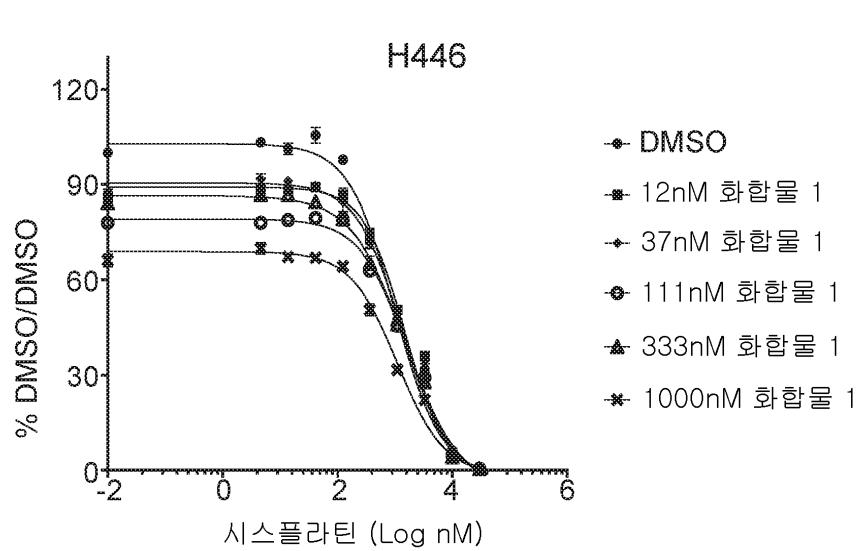
도면13



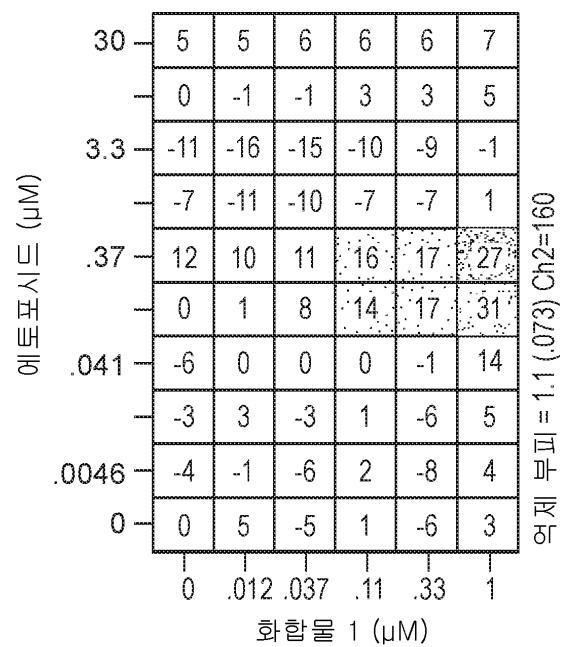
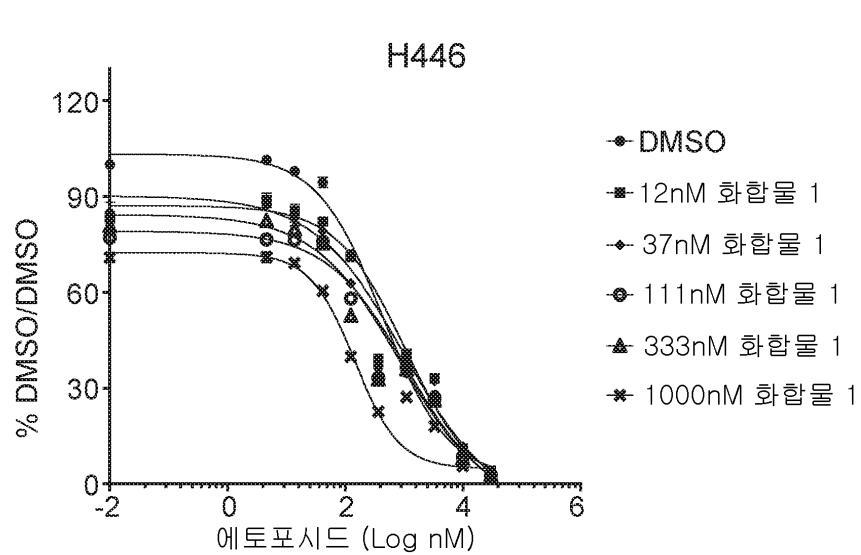
도면14



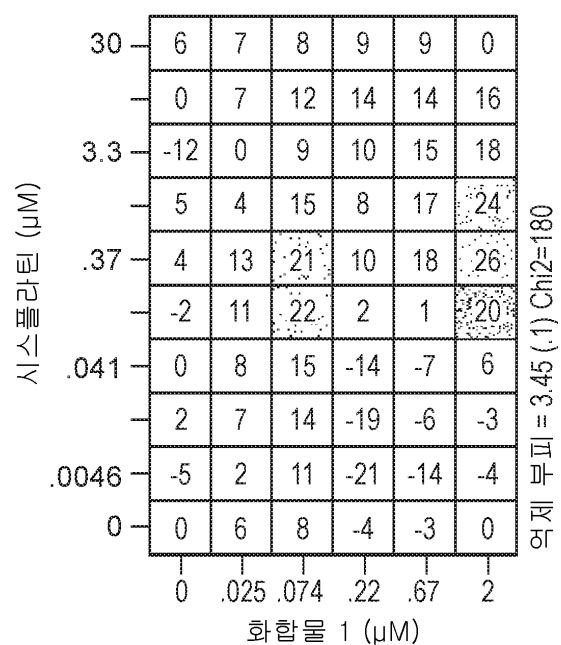
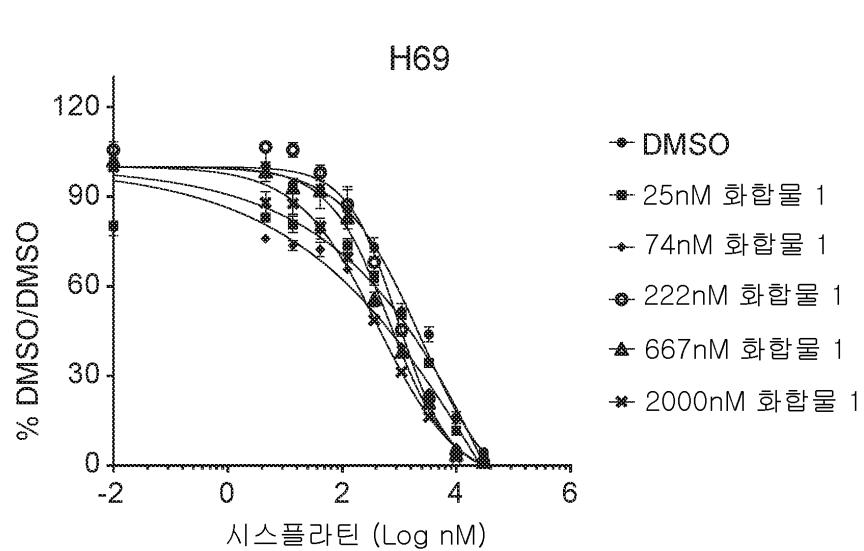
도면15



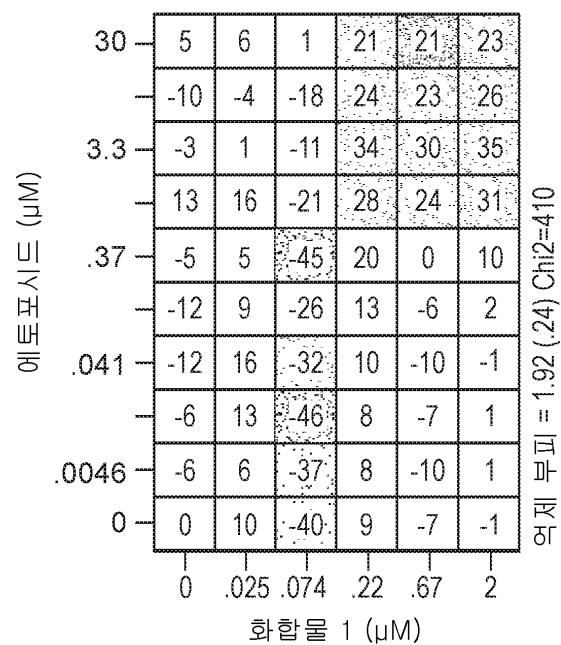
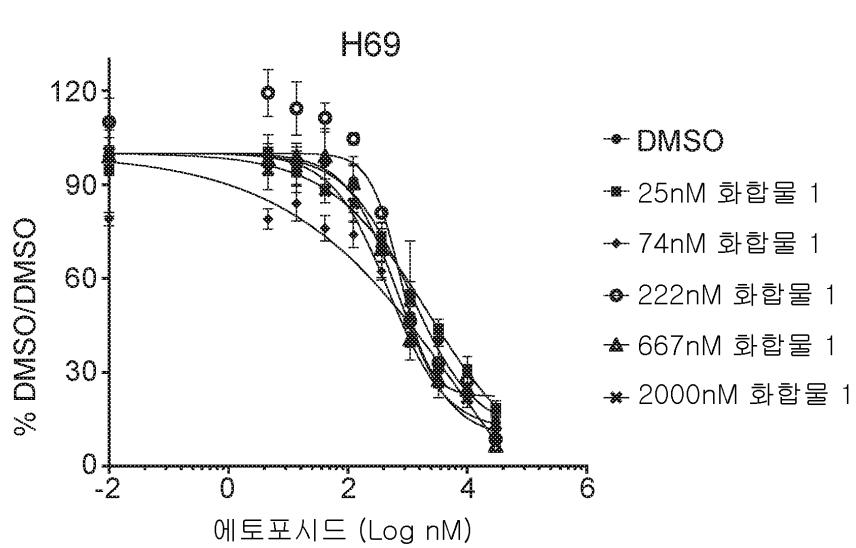
도면16



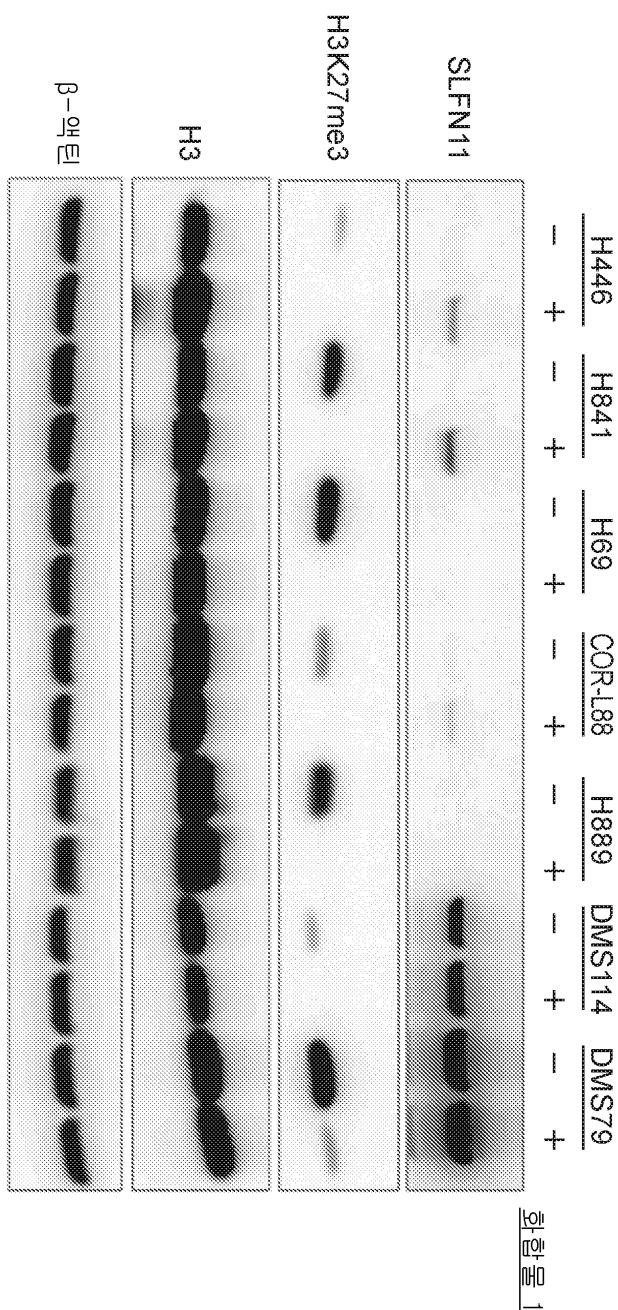
도면17



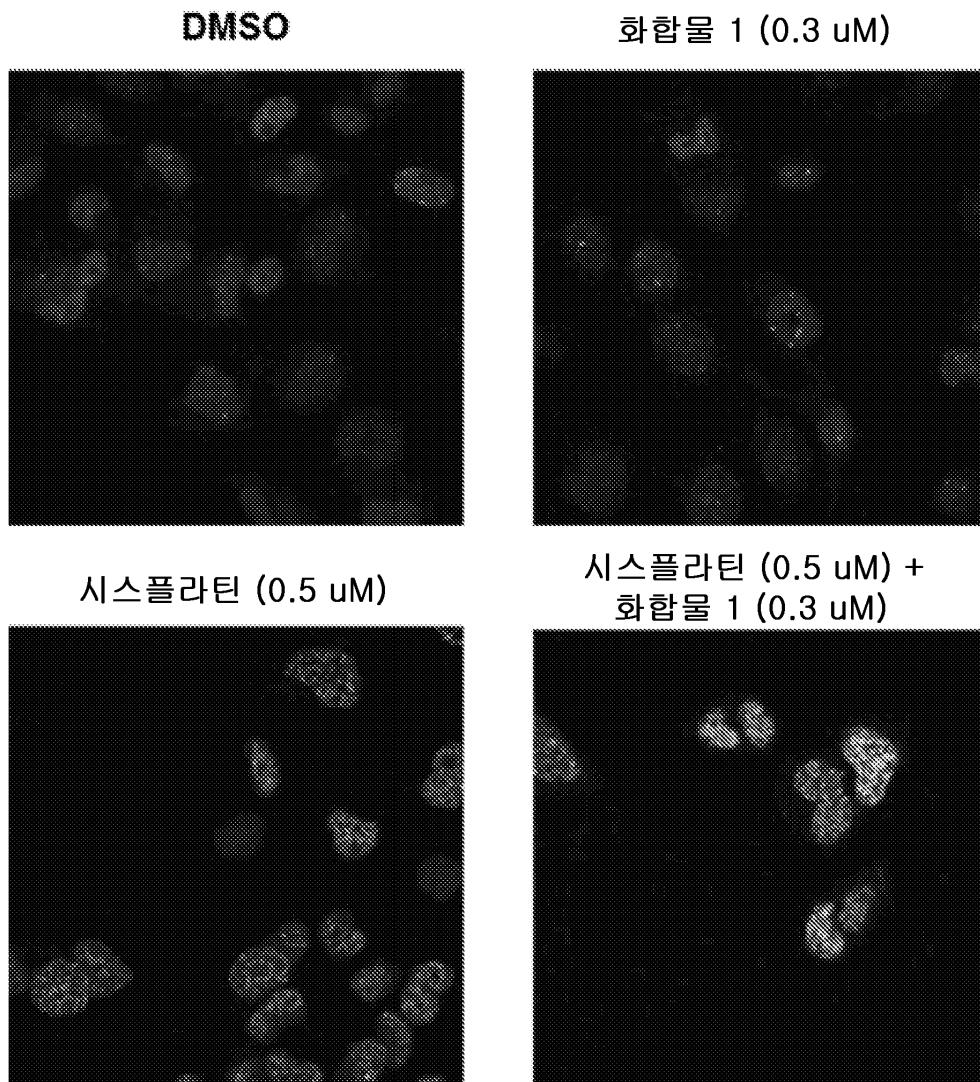
도면18



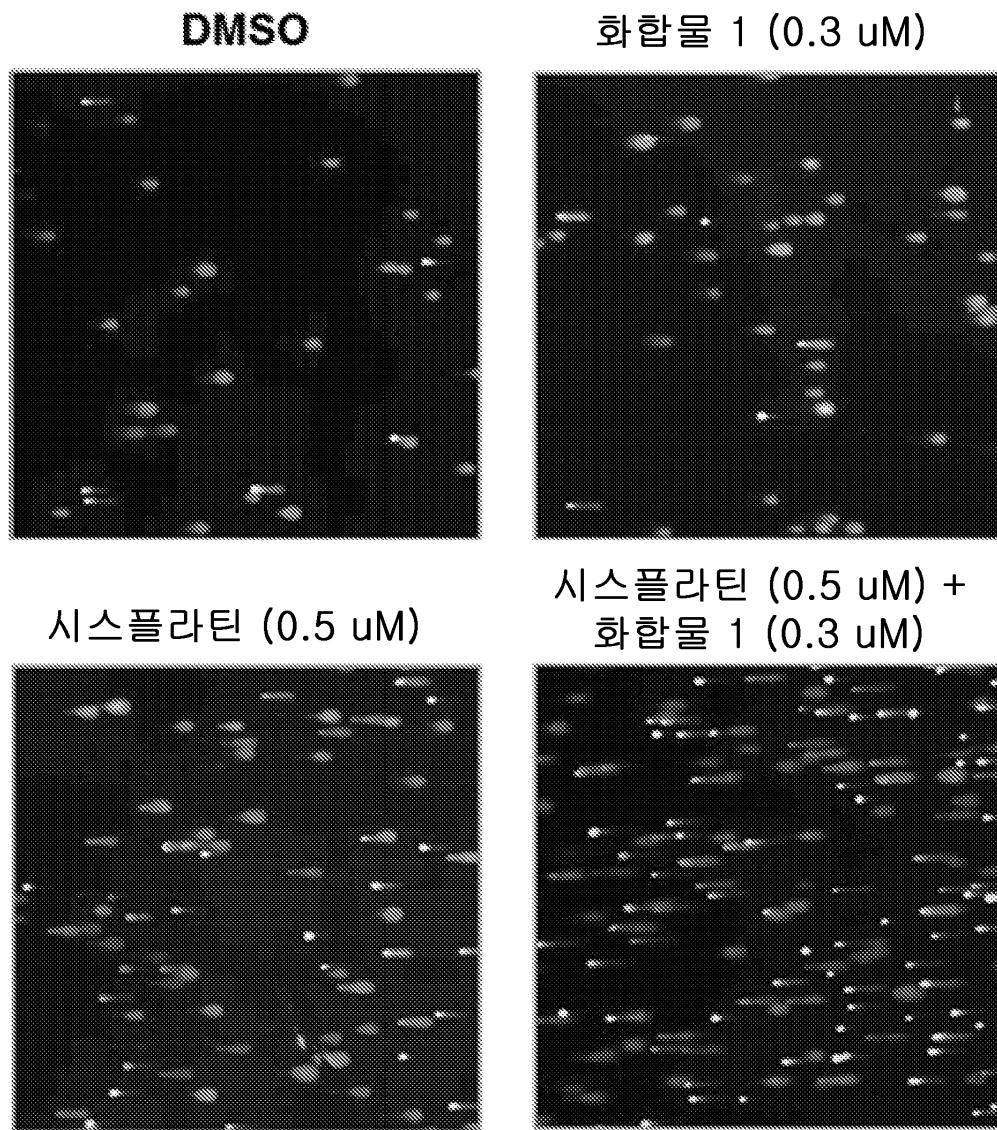
도면19



도면20



도면21



도면22

