

**(19) 대한민국특허청(KR)**
(12) 공개특허공보(A)**(11) 공개번호** 10-2020-0083532
(43) 공개일자 2020년07월08일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/496 (2006.01) A61K 31/472 (2006.01)
A61K 31/5377 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 31/496 (2013.01)
A61K 31/472 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7015324
- (22) 출원일자(국제) 2018년10월30일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2020년05월28일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2018/058277
- (87) 국제공개번호 WO 2019/089641
국제공개일자 2019년05월09일
- (30) 우선권주장
62/579,666 2017년10월31일 미국(US)
62/580,364 2017년11월01일 미국(US)
- (71) 출원인
에자이 알앤디 매니지먼트 가부시키키가이샤
일본국 도쿄도 분쿄구 코이시가와 4초메 6반 10고
- (72) 발명자
에어드, 다니엘
미국 01867 메사추세츠주 리딩 웨스크로프트 로드 18
코르손, 로라
미국 02446 메사추세츠주 브록클린 #3 워싱턴 스트리트 447
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
장수길, 이유리, 이석재

전체 청구항 수 : 총 126 항

(54) 발명의 명칭 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제, 및 BCL2 억제제, BCL2/BCLXL 억제제 및 BCLXL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제를 포함하는 조합물 및 사용 방법**(57) 요약**

본 개시내용은 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제, 및 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제를 포함하는 제약 조합을 제공한다. 치료적 유효량의 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제, 및 치료적 유효량의 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제를 투여하는 것을 포함하는 암의 치료 방법이 또한 제공된다.

(52) CPC특허분류

A61K 31/5377 (2013.01)

A61K 45/06 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

(72) 발명자

주, 평

미국 01719 메사추세츠주 박스보로 쿨릿지 팜 로드
44

바르무트, 마르쿠스

미국 02460 메사추세츠주 뉴턴 블레이크 스트리트
119

부오나미치, 실비아

미국 02118 메사추세츠주 보스톤 아파트먼트 4 트
리몬트 스트리트 680

스미스, 피터 제라드

미국 02474 메사추세츠주 알링턴 프랭클린 스트리
트 173에이

페케스, 피터

미국 02451 메사추세츠주 월섬 레오나드 스트리트
13

명세서

청구범위

청구항 1

(i) 치료적 유효량의 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제 및 (ii) 치료적 유효량의 BCL2 억제제, BCL2/BCLxL 억제제 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제를 포함하는 제약 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 플라디에놀리드 유도체로부터 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 E7107, H3B-8800 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 E7107 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 H3B-8800 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 입체이성질체적으로 순수한 것인 제약 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 약 80 중량% 초과 1종의 입체이성질체를 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 8

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 약 90 중량% 초과 1종의 입체이성질체를 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 9

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 약 95 중량% 초과 1종의 입체이성질체를 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 10

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 약 97 중량% 초과 1종의 입체이성질체를 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 HA14-1, BH3I-1, 안티마이신 A, 켈레리트린, 고시폴 (NSC19048), 아포고시폴 (NSC736630), TW-37, 4-(3-메톡시-페닐술포닐)-7-니트로-벤조푸란-3-옥시드 (MNB), TM12-06, 오바토클락스 (GX15-070), 베네토클락스 (ABT199), 나비토클락스 (ABT263), A-1331852, ABT737 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 베네토클락스 (ABT199), 나비토클락스 (ABT263), A-1331852, ABT737 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 베네토클락스 (ABT199) 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 14

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 나비토클락스 (ABT263) 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 15

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 ABT737 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 16

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 A-1331852 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 정맥내, 경구, 피하 또는 근육내 투여용으로 제제화되는 것인 제약 조성물.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 경구 투여용으로 제제화되는 것인 제약 조성물.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 정맥내, 경구, 피하 또는 근육내 투여용으로 제제화되는 것인 제약 조성물.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 경구 투여용으로 제제화되는 것인 제약 조성물.

청구항 21

암의 치료에서의 사용을 위한, (i) 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제 및 (ii) BCL2 억제제, BCL2/BCLxL 억제제 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제를 포함하며, 여기서 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제는 적어도 1종의 억제제와 동시에, 별도로 또는 순차적으로 투여되는 것인 조합물.

청구항 22

제21항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 플라디에놀리드 유도체로부터 선택되는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 23

제21항 또는 제22항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 E7107, H3B-8800 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 24

제21항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 E7107 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 25

제21항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 H3B-8800 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 26

제21항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 입체이성질체적으로 순수한 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 27

제21항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 약 80 중량% 초과 1종의 입체이성질체를 포함하는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 28

제21항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 약 90 중량% 초과 1종의 입체이성질체를 포함하는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 29

제21항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 약 95 중량% 초과 1종의 입체이성질체를 포함하는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 30

제21항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 약 97 중량% 초과 1종의 입체이성질체를 포함하는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 31

제21항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 HA14-1, BH3I-1, 안티마이신 A, 켈레리트린, 고시폴 (NSC19048), 아포고시폴 (NSC736630), TW-37, 4-(3-메톡시-페닐술폰닐)-7-니트로-벤조푸란-3-옥시드 (MNB), TM12-06, 오바토클락스 (GX15-070), 베네토클락스 (ABT199), 나비토클락스 (ABT263), A-1331852, ABT737 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 32

제21항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 베네토클락스 (ABT199), 나비토클락스 (ABT263), A-1331852, ABT737 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 33

제21항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 베네토클락스 (ABT199) 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 34

제21항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 나비토클락스 (ABT263) 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 35

제21항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 ABT737 및 그의 제약상 허용되는 염으로부

터 선택되는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 36

제21항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 A-1331852 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 37

제21항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 정맥내, 경구, 피하 또는 근육내 투여용으로 제제화되는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 38

제21항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 경구 투여용으로 제제화되는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 39

제21항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 정맥내, 경구, 피하 또는 근육내 투여용으로 제제화되는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 40

제21항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 경구 투여용으로 제제화되는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 41

제21항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 적어도 1종의 억제제와 동시에 투여되는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 42

제21항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 적어도 1종의 억제제와 순차적으로 투여되는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 43

제21항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 적어도 1종의 억제제와 별도로 투여되는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 44

제21항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 골수이형성 증후군, 다발성 골수종, 만성 림프구성 백혈병, 급성 림프모구성 백혈병, 만성 골수단핵구성 백혈병, 급성 골수양 백혈병, 결장암, 췌장암, 자궁내막암, 난소암, 유방암, 포도막 흑색종, 위암, 담관암종 및 폐암으로부터 선택되는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 45

제44항에 있어서, 상기 암이 폐암인 사용을 위한 조합물.

청구항 46

제45항에 있어서, 상기 폐암이 비소세포 폐 암종 및 소세포 폐 암종으로부터 선택되는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 47

제21항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 혈액암으로부터 선택되는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 48

제47항에 있어서, 상기 혈액암이 급성 림프모구성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 만성 골수단핵구성 백혈병, 급성 단핵구성 백혈병, 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 골수이형성 증후군 및 다발성 골수종으로부터 선택되는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 49

제21항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 고형 종양으로부터 선택되는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 50

제49항에 있어서, 상기 고형 종양이 유방암, 췌장암, 전립선암, 결장암 또는 결장직장암, 폐암, 위암, 자궁경부암, 자궁내막암, 난소암, 담관암종, 신경교종 및 흑색종으로부터 선택되는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 51

제21항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 MCL1-의존성 암으로부터 선택되는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 52

제51항에 있어서, 상기 MCL1-의존성 암이 급성 림프모구성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 만성 골수단핵구성 백혈병, 급성 단핵구성 백혈병, 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 골수이형성 증후군, 다발성 골수종, 폐암, 유방암, 췌장암, 전립선암, 결장암 또는 결장직장암, 위암, 자궁경부암, 자궁내막암, 난소암, 담관암종, 신경교종 및 흑색종으로부터 선택되는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 53

제21항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 스플라이세오솜 유전자 또는 단백질에서의 하나 이상의 돌연변이에 대하여 양성인 사용을 위한 조합물.

청구항 54

제53항에 있어서, 상기 스플라이세오솜 유전자 또는 단백질이 스플라이싱 인자 3B 서브유닛 1 (SF3B1), U2 소형 핵 RNA 보조 인자 1 (U2AF1), 세린/아르기닌-풍부 스플라이싱 인자 2 (SRSF2), 아연 핑거 (CCCH 유형) RNA-결합 모티프 및 세린/아르기닌 풍부 2 (ZRSR2), 프리-mRNA-프로세싱-스플라이싱 인자 8 (PRPF8), U2 소형 핵 RNA 보조 인자 2 (U2AF2), 스플라이싱 인자 1 (SF1), 스플라이싱 인자 3a 서브유닛 1 (SF3A1), PRP40 프리-mRNA 프로세싱 인자 40 상동체 B (PRPF40B), RNA 결합 모티프 단백질 10 (RBM10), 폴리(rC) 결합 단백질 1 (PCBP1), 크루키드 넥 프리-mRNA 스플라이싱 인자 1 (CRNKL1), DEAH (Asp-Glu-Ala-His) 박스 헬리카제 9 (DHX9), 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제-유사 2 (PPIL2), RNA 결합 모티프 단백질 22 (RBM22), 소형 핵 리보뉴클레오단백질 Sm D3 (SNRPD3), 추정 ATP-의존성 RNA 헬리카제 DDX5 (DDX5), 프리-mRNA-스플라이싱 인자 ATP-의존성 RNA 헬리카제 DHX15 (DHX15) 및 폴리아데닐레이트-결합 단백질 1 (PABPC1)로부터 선택되는 것인 사용을 위한 조합물.

청구항 55

제54항에 있어서, 상기 스플라이세오솜 유전자 또는 단백질이 스플라이싱 인자 3B 서브유닛 1 (SF3B1)인 사용을 위한 조합물.

청구항 56

암의 치료를 위한 의약의 제조에서의, (i) 적어도 1종의 스플라이세오솜 조절제 및 (ii) BCL2 억제제, BCL2/BCLxL 억제제 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제를 포함하는 조합물의 용도로서, 여기서 적어도 1종의 스플라이세오솜 조절제는 적어도 1종의 억제제와 동시에, 별도로 또는 순차적으로 투여되는 것인 용도.

청구항 57

제56항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 플라디에놀리드 유도체로부터 선택되는 것인 용도.

청구항 58

제56항 또는 제57항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 E7107, H3B-8800 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 용도.

청구항 59

제56항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 E7107 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 용도.

청구항 60

제56항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 H3B-8800 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 용도.

청구항 61

제56항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 입체이성질체적으로 순수한 것인 용도.

청구항 62

제56항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 약 80 중량% 초과 1종의 입체이성질체를 포함하는 것인 용도.

청구항 63

제56항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 약 90 중량% 초과 1종의 입체이성질체를 포함하는 것인 용도.

청구항 64

제56항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 약 95 중량% 초과 1종의 입체이성질체를 포함하는 것인 용도.

청구항 65

제56항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 약 97 중량% 초과 1종의 입체이성질체를 포함하는 것인 용도.

청구항 66

제56항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 HA14-1, BH3I-1, 안티마이신 A, 켈레리트린, 고시폴 (NSC19048), 아포고시폴 (NSC736630), TW-37, 4-(3-메톡시-페닐술포닐)-7-니트로-벤조푸란-3-옥시드 (MNB), TM12-06, 오바토클락스 (GX15-070), 베네토클락스 (ABT199), 나비토클락스 (ABT263), A-1331852, ABT737 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 용도.

청구항 67

제56항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 베네토클락스 (ABT199), 나비토클락스 (ABT263), A-1331852, ABT737 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 용도.

청구항 68

제56항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 베네토클락스 (ABT199) 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 용도.

청구항 69

제56항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 나비토클락스 (ABT263) 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 용도.

청구항 70

제56항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 ABT737 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 용도.

청구항 71

제56항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 A-1331852 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 용도.

청구항 72

제56항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 정맥내, 경구, 피하 또는 근육내 투여용으로 제제화되는 것인 용도.

청구항 73

제56항 내지 제72항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 경구 투여용으로 제제화되는 것인 용도.

청구항 74

제56항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 정맥내, 경구, 피하 또는 근육내 투여용으로 제제화되는 것인 용도.

청구항 75

제56항 내지 제74항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 경구 투여용으로 제제화되는 것인 용도.

청구항 76

제56항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 적어도 1종의 억제제와 동시에 투여되는 용도.

청구항 77

제56항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 적어도 1종의 억제제와 순차적으로 투여되는 용도.

청구항 78

제56항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 적어도 1종의 억제제와 별도로 투여되는 용도.

청구항 79

제56항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 골수이형성 증후군, 다발성 골수종, 만성 림프구성 백혈병, 급성 림프모구성 백혈병, 만성 골수단핵구성 백혈병, 급성 골수양 백혈병, 결장암, 췌장암, 자궁내막암, 난소암, 유방암, 포도막 흑색종, 위암, 담관암 및 폐암으로부터 선택되는 것인 용도.

청구항 80

제79항에 있어서, 상기 암이 폐암인 용도.

청구항 81

제80항에 있어서, 상기 폐암이 비소세포 폐 암종 및 소세포 폐 암종으로부터 선택되는 것인 용도.

청구항 82

제56항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 혈액암으로부터 선택되는 것인 용도.

청구항 83

제82항에 있어서, 상기 혈액암이 급성 림프모구성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 만성 골수단핵구성 백혈병, 급성 단핵구성 백혈병, 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 골수이형성 증후군 및 다발성 골수종으로부터 선택되는 것인 용도.

청구항 84

제56항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 고형 종양으로부터 선택되는 것인 용도.

청구항 85

제84항에 있어서, 상기 고형 종양이 유방암, 췌장암, 전립선암, 결장암 또는 결장직장암, 폐암, 위암, 자궁경부암, 자궁내막암, 난소암, 담관암종, 신경교종 및 흑색종으로부터 선택되는 것인 용도.

청구항 86

제56항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 MCL1-의존성 암으로부터 선택되는 것인 용도.

청구항 87

제86항에 있어서, 상기 MCL1-의존성 암이 급성 림프모구성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 만성 골수단핵구성 백혈병, 급성 단핵구성 백혈병, 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 골수이형성 증후군, 다발성 골수종, 폐암, 유방암, 췌장암, 전립선암, 결장암 또는 결장직장암, 위암, 자궁경부암, 자궁내막암, 난소암, 담관암종, 신경교종 및 흑색종으로부터 선택되는 것인 용도.

청구항 88

제56항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 스플라이세오솜 유전자 또는 단백질에서의 하나 이상의 돌연변이에 대하여 양성인 용도.

청구항 89

제88항에 있어서, 상기 스플라이세오솜 유전자 또는 단백질이 스플라이싱 인자 3B 서브유닛 1 (SF3B1), U2 소형 핵 RNA 보조 인자 1 (U2AF1), 세린/아르기닌-풍부 스플라이싱 인자 2 (SRSF2), 아연 핑거 (CCCH 유형) RNA-결합 모티프 및 세린/아르기닌 풍부 2 (ZRSR2), 프리-mRNA-프로세싱-스플라이싱 인자 8 (PRPF8), U2 소형 핵 RNA 보조 인자 2 (U2AF2), 스플라이싱 인자 1 (SF1), 스플라이싱 인자 3a 서브유닛 1 (SF3A1), PRP40 프리-mRNA 프로세싱 인자 40 상동체 B (PRPF40B), RNA 결합 모티프 단백질 10 (RBM10), 폴리(rC) 결합 단백질 1 (PCBP1), 크루키드 넥 프리-mRNA 스플라이싱 인자 1 (CRNKL1), DEAH (Asp-Glu-Ala-His) 박스 헬리카제 9 (DHX9), 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제-유사 2 (PPIL2), RNA 결합 모티프 단백질 22 (RBM22), 소형 핵 리보뉴클레오타이드 단백질 Sm D3 (SNRPD3), 추정 ATP-의존성 RNA 헬리카제 DDX5 (DDX5), 프리-mRNA-스플라이싱 인자 ATP-의존성 RNA 헬리카제 DHX15 (DHX15) 및 폴리아데닐레이트-결합 단백질 1 (PABPC1)로부터 선택되는 것인 용도.

청구항 90

제89항에 있어서, 상기 스플라이세오솜 유전자 또는 단백질이 스플라이싱 인자 3B 서브유닛 1 (SF3B1)인 용도.

청구항 91

암을 치료하는 방법으로서, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 (i) 치료적 유효량의 적어도 1종의 스플라이세오솜 조절제 및 (ii) 치료적 유효량의 BCL2 억제제, BCL2/BCLxL 억제제 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 적어도 1종의 스플라이세오솜 조절제는 적어도 1종의 억제제와 동시에, 별도로 또는 순차적으로 투여되는 것인 방법.

청구항 92

제91항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 플라디에놀리드 유도체로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 93

제45항 또는 제92항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 E7107, H3B-8800 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 94

제91항 내지 제93항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 E7107 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 95

제91항 내지 제93항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 H3B-8800 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 96

제91항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 입체이성질체적으로 순수한 것인 방법.

청구항 97

제91항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 약 80 중량% 초과 1종의 입체이성질체를 포함하는 것인 방법.

청구항 98

제91항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 약 90 중량% 초과 1종의 입체이성질체를 포함하는 것인 방법.

청구항 99

제91항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 약 95 중량% 초과 1종의 입체이성질체를 포함하는 것인 방법.

청구항 100

제91항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제가 약 97 중량% 초과 1종의 입체이성질체를 포함하는 것인 방법.

청구항 101

제91항 내지 제100항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 HA14-1, BH3I-1, 안티마이신 A, 켈레리트린, 고시폴 (NSC19048), 아포고시폴 (NSC736630), TW-37, 4-(3-메톡시-페닐술포닐)-7-니트로-벤조푸란-3-옥시드 (MNB), TM12-06, 오바토클락스 (GX15-070), 베네토클락스 (ABT199), 나비토클락스 (ABT263), A-1331852, ABT737 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 102

제91항 내지 제101항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 베네토클락스 (ABT199), 나비토클락스 (ABT263), A-1331852, ABT737 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 103

제91항 내지 제102항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 베네토클락스 (ABT199) 또는 그의 제약상 허용되는 염인 방법.

청구항 104

제91항 내지 제102항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 나비토클락스 (ABT263) 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 105

제91항 내지 제102항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 ABT737 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 106

제91항 내지 제102항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 A-1331852 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 107

제91항 내지 제106항 중 어느 한 항에 있어서, 스플라이세오솜 조정제가 정맥내, 경구, 피하 또는 근육내 투여용으로 제제화되는 것인 방법.

청구항 108

제91항 내지 제107항 중 어느 한 항에 있어서, 스플라이세오솜 조정제가 경구 투여용으로 제제화되는 것인 방법.

청구항 109

제91항 내지 제108항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 정맥내, 경구, 피하 또는 근육내 투여용으로 제제화되는 것인 방법.

청구항 110

제91항 내지 제109항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 억제제가 경구 투여용으로 제제화되는 것인 방법.

청구항 111

제91항 내지 제110항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제와 적어도 1종의 억제제가 순차적으로 투여되는 것인 방법.

청구항 112

제91항 내지 제110항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제와 적어도 1종의 억제제가 별도로 투여되는 것인 방법.

청구항 113

제91항 내지 제110항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 스플라이세오솜 조정제와 적어도 1종의 억제제가 동시에 투여되는 것인 방법.

청구항 114

제91항 내지 제113항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 골수이형성 증후군, 다발성 골수종, 만성 림프구성 백혈병, 급성 림프모구성 백혈병, 만성 골수단핵구성 백혈병, 급성 골수양 백혈병, 결장암, 췌장암, 자궁내막암, 난소암, 유방암, 포도막 흑색종, 위암, 담관암 및 폐암으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 115

제91항 내지 제114항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 폐암인 방법.

청구항 116

제91항 내지 제115항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 비소세포 폐암종 및 소세포 폐암종으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 117

제91항 내지 제113항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 혈액암인 방법.

청구항 118

제117항에 있어서, 상기 혈액암이 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 골수이형성 증후군, 다발성 골수종, 만성 림프구성 백혈병, 급성 림프모구성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 만성 골수단핵구성 백혈병 및 급성 골수양 백혈병으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 119

제91항 내지 제113항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 고형 종양인 방법.

청구항 120

제119항에 있어서, 상기 고형 종양이 결장암 또는 결장직장암, 췌장암, 자궁내막암, 난소암, 유방암, 흑색종, 위암, 담관암종, 전립선암, 자궁경부암, 신경교종 및 폐암으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 121

제120항에 있어서, 상기 흑색종이 포도막 흑색종인 방법.

청구항 122

제91항 내지 제113항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 MCL1-의존성 암인 방법.

청구항 123

제122항에 있어서, 상기 MCL1-의존성 암이 급성 림프모구성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 만성 골수단핵구성 백혈병, 급성 단핵구성 백혈병, 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 골수이형성 증후군, 다발성 골수종, 폐암, 유방암, 췌장암, 전립선암, 결장암 또는 결장직장암, 위암, 자궁경부암, 자궁내막암, 난소암, 담관암종, 신경교종 및 흑색종으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 124

제91항 내지 제113항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 스플라이세오솜 유전자 또는 단백질에서의 하나 이상의 돌연변이에 대하여 양성인 방법.

청구항 125

제124항에 있어서, 상기 스플라이세오솜 유전자 또는 단백질이 스플라이싱 인자 3B 서브유닛 1 (SF3B1), U2 소형 핵 RNA 보조 인자 1 (U2AF1), 세린/아르기닌-풍부 스플라이싱 인자 2 (SRSF2), 아연 핑거 (CCCH 유형) RNA-결합 모티프 및 세린/아르기닌 풍부 2 (ZRSR2), 프리-mRNA-프로세싱-스플라이싱 인자 8 (PRPF8), U2 소형 핵 RNA 보조 인자 2 (U2AF2), 스플라이싱 인자 1 (SF1), 스플라이싱 인자 3a 서브유닛 1 (SF3A1), PRP40 프리-mRNA 프로세싱 인자 40 상동체 B (PRPF40B), RNA 결합 모티프 단백질 10 (RBM10), 폴리(rC) 결합 단백질 1 (PCBP1), 크루키드 넥 프리-mRNA 스플라이싱 인자 1 (CRNKL1), DEAH (Asp-Glu-Ala-His) 박스 헬리카제 9 (DHX9), 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제-유사 2 (PPIL2), RNA 결합 모티프 단백질 22 (RBM22), 소형 핵 리보뉴클레오타이드 Sm D3 (SNRPD3), 추정 ATP-의존성 RNA 헬리카제 DDX5 (DDX5), 프리-mRNA-스플라이싱 인자 ATP-의존성 RNA 헬리카제 DHX15 (DHX15) 및 폴리아데닐레이트-결합 단백질 1 (PABPC1)로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 126

제125항에 있어서, 상기 스플라이세오솜 유전자 또는 단백질이 스플라이싱 인자 3B 서브유닛 1 (SF3B1)인 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 출원은 2017년 10월 31일에 출원된 미국 가출원 번호 62/579,666 및 2017년 11월 1일에 출원된 미국 가출원 번호 62/580,364의 우선권을 주장하며, 이들 각각은 그 전문이 참조로 기재된다.

배경 기술

[0002] BCL2 패밀리의 유전자는 아포토시스를 조정하는데 특히 중요한 역할을 하는 BH 도메인-함유 항-아포토시스성/생존촉진 단백질을 코딩한다. BCL2, BCL2L1, BCL2L2, BCL2A1 및 MCL1의 적어도 5종 BCL2 단백질이 존재하는데, 다양한 암 유형에서의 종양 세포 생존에 연관되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Delbridge ARD, et al., 2016, Nat. Rev. Cancer 16, 99-109]; [Czabotar PE, et al., 2014, Nat. Rev. Mol. Cell Bio. 15, 49-63] 참조). 예를 들면 ABT199 (베네토클락스), ABT263 (나비토클락스), A-1331852 및 ABT737을 포함하여, BCL2 패밀리를 억제하는 몇 가지 화합물이 개발되어 있다. BCL2 억제제가 세포독성 작용제로서의 가능성을 보여주기는 하였지만, 이들 화합물은 MCL1의 항-아포토시스성 효과는 억제할 수 없다. 특히, MCL1은 많은 암 유형에서 집중적으로 증폭된다 (문헌 [Zack TI, et al., 2013, Nature Genet. 45, 1134-1140]). 높은 BCL2L1 (BCLxL) 발현은 MCL1 억제에 대한 내성을 부여하며, MCL1 증폭/과다발현은 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제에 대한 내성을 부여하는 주요 메카니즘인 것으로 보고되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Wei G, et al., 2012, Cancer Cell 21(4): 547-562]; [Lin X, et al., 2007, Oncogene 26(27): 3972-3979]; [Teh TC, et al., 2017, Leukemia. doi: 10.1038/leu.2017.243] 참조). BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제에 대한 내성을 극복하는 효과적인 요법이 요구되고 있다.

[0003] 점점 더 많은 증거들이 조합 요법이 암 단일 작용제 치료의 불완전한 반응 및 치료 내성을 극복하는 것을 도울 수 있음을 표시하고 있다 (문헌 [Sellers WR., 2011, Cell 147(1): 26-31.]). 예를 들어, MAPK 경로 억제제인 베무라페닙 (RAF 억제제)과 코비메티닙 (MEK 억제제)의 조합물은 FDA에 의해 B-RAF 돌연변이를 보유하는 흑색종 환자를 치료하도록 승인되어 있다 (문헌 [Flaherty KT, et al., 2012, N Engl J Med 367:1694-1703]). 그러나, 부분적으로는 특히 증거-기반의 약물 조합에 대하여 임상 조합 활성을 예측해 주는 효율적인 전임상 접근법의 부족으로 인하여, 효능이 있는 조합 요법의 개발은 간단하지가 않았다. 메카니즘-기반의 약물 조합 전략은 기초 연구에서의 표적- 및 경로-관련 생물학적 발견에 의존하여 전임상 및 임상 환경에 적용되어 왔다. 작용 메카니즘의 복잡성으로 인하여, 세포독성 작용제용의 효과적인 조합물을 확인하는데 많은 장애가 있어 왔다.

발명의 내용

[0004] 본 개시내용은 특정 스플라이세오솜 조정제 (예를 들어, 플라디에놀리드 화합물)와 BCL2, BCL2/BCLxL 또는 BCLxL 억제제의 조합물이 향상된 (예를 들어, 상승작용성인) 항암 효과를 나타낸다는 관찰을 기반으로 한다. 스플라이세오솜 및 그의 돌연변이를 표적으로 하는 플라디에놀리드 화합물이 특히 유용하다. 이에 따라, 본원에서 제공되는 것은 치료적 유효량의 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제 (예를 들어, E7107 및/또는 H3B-8800), 및 치료적 유효량의 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제를 투여하는 것을 포함하는, 암을 치료하기 위한 조합 요법이다.

[0005] 치료적 유효량의 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제 (예를 들어, E7107 및/또는 H3B-8800)와 치료적 유효량의 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제의 조합물을 사용하여 암을 치료하기 위한 방법, 조합 요법, 제약 조성물 및 키트도 제공된다.

[0006] 본 개시내용의 기타 특징들은 하기하는 상세한 설명, 도면 및 청구범위에서 드러나게 될 것이다.

도면의 간단한 설명

[0007] 도 1 및 2는 MCL1 과다발현된 및 MCL1 의존성 비소세포 폐 암종 (NSCLC) 세포주의 식별을 제시한다. 도 1은 MCL1L (전체-길이 MCL1) 및 GAPDH (로딩 대조군)의 웨스턴 블롯 분석을 도시한다. 용해 희석물을 반-정량화 표준으로 사용하였다. 도 2는 shRNA에 의한 MCL1 녹다운 시의 세포주의 성장 억제를 도시한다. CNTRL: 대조 shRNA; Dox: 독시시클린.

도 3-5는 E7107이 NCIH1568 세포에서 MCL1의 스플라이싱 조절을 유도한다는 것을 제시한다. 도 3은 MCL 유전자 스플라이싱의 개략적 표시이다. 도 4는 하기 MCL1 mRNA의 정량적 RT-PCR 검출을 도시한다: MCL1L: 엑손 1, 2 및 3을 함유하는 긴 형태; MCL1S: 엑손 1 및 3을 함유하는 짧은 형태; MCL1 프리-mRNA: 인트론 1을 유지하는 mRNA. 도 5는 6시간 동안의 E7107을 사용한 처리 후의 MCL1L (전체-길이), 말단절단된 MCL1, 절단된 PARP 및

튜블린 (로딩 대조군)의 웨스턴 블롯 분석을 도시한다.

도 6-9는 E7107-유도 세포독성이 MCL1- 및 BCLxL-의존성이라는 것을 제시한다. 도 6은 NCIH1568 세포에서의 MCL1L의 유도성 cDNA 발현을 도시한다. 웨스턴 블롯 분석은 MCL1L 및 GAPDH (로딩 대조군)의 발현을 제시하였다. CNTRL: 대조 벡터. 도 7은 빈 벡터 (대조) 및 MCL1L cDNA 과다발현을 사용한 NCIH1568 세포주의 성장 억제제를 도시한다. 도 8은 A549 세포에서의 BCLxL (*BCL2L1*에 의해 코딩됨)의 유도성 shRNA 매개 녹다운을 도시한다. 웨스턴 블롯 분석은 BCLxL 및 GAPDH (로딩 대조군)의 발현을 제시하였다. 도 9는 BCLxL의 Dox-유도 녹다운 시의 A549 세포주의 성장 억제제를 도시한다. Dox: 독시시클린.

도 10은 4종 NSCLC 세포주에서의 E7107 및 ABT263을 사용한 처리의 상승작용성 효과를 제시한다. 이와 같은 연구는 벡터 대조군 또는 BCLxL shRNA에서 수행되었다.

도 11은 A549 세포주에서의 E7107 및 ABT199를 사용한 처리의 상승작용성 효과를 제시한다. 이와 같은 연구는 벡터 대조군 또는 BCLxL shRNA에서 수행되었다.

도 12는 하기 2종 다발성 골수종 세포주에서의 H3B-8800 및 ABT263을 사용한 처리의 상승작용성 효과를 제시한다: U266B1 및 RPMI8226.

도 13은 하기 2종 다발성 골수종 세포주에서의 H3B-8800 및 ABT199를 사용한 처리의 상승작용성 효과를 제시한다: JJN3 및 RPMI8226.

도 14는 하기 2종 다발성 골수종 세포주에서의 H3B-8800 및 A-1331852를 사용한 처리의 상승작용성 효과를 제시한다: RPMI8226 및 MM1S.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0008] 본원에서 사용될 때에는, 달리 표시되지 않는 한 하기의 정의가 적용되어야 한다.
- [0009] "이성질체"는 동일한 원자 수 및 종류, 그리고 그에 따른 동일한 분자량을 가지나 원자의 정렬 또는 배열구조와 관련하여 상이한 화합물을 지칭한다. "입체이성질체"는 동일한 원자 연결성을 가지나 공간에서의 그의 원자의 상이한 정렬을 가지는 화합물을 지칭한다. "부분입체이성질체" 또는 "부분입체이성체"는 거울상이성질체가 아닌 입체이성질체를 지칭한다. "거울상이성질체"는 서로의 겹침이 가능하지 않은 거울상인 입체이성질체를 지칭한다. "기하 이성질체"는 이중 결합 또는 고리 또는 중심 원자와 관련하여 상이한 기의 위치를 가지는 시스-트랜스 이성질체를 지칭한다.
- [0010] 본원에서 교시되는 거울상이성질체에는 특정 비대칭 중심 또는 중심들에서 실질적으로 단일인 거울상이성질체, 예를 들면 90%, 92%, 95%, 98% 또는 99% 이상이거나 또는 100%에 상당하는 단일 거울상이성질체를 포함하는, "거울상이성질체적으로 순수한" 이성질체가 포함될 수 있다. "비대칭 중심" 또는 "키랄 중심"은 4개의 서로 다른 치환체를 포함하는 사면체 탄소 원자를 지칭한다.
- [0011] 본원에서 사용될 때의 "입체이성질체적으로 순수한"은 1종의 화합물 입체이성질체를 포함하며 그 화합물의 다른 입체이성질체는 실질적으로 없는 화합물 또는 그의 조성물을 의미한다. 예를 들어, 하나의 키랄 중심을 가지는 화합물의 입체이성질체적으로 순수한 조성물에는 화합물의 반대되는 거울상이성질체가 실질적으로 없게 된다. 2개의 키랄 중심을 가지는 화합물의 입체이성질체적으로 순수한 조성물에는 그 화합물의 부분입체이성체가 실질적으로 없으며 반대되는 거울상이성질체가 실질적으로 없게 된다. 통상적인 입체이성질체적으로 순수한 화합물은 약 80 중량% 초과 1종의 화합물 입체이성질체 및 약 20 중량% 미만의 다른 화합물 입체이성질체, 더욱 바람직하게는 약 90 중량% 초과 1종의 화합물 입체이성질체 및 약 10 중량% 미만의 다른 화합물 입체이성질체, 더욱 더 바람직하게는 약 95 중량% 초과 1종의 화합물 입체이성질체 및 약 5 중량% 미만의 다른 화합물 입체이성질체, 가장 바람직하게는 약 97 중량% 초과 1종의 화합물 입체이성질체 및 약 3 중량% 미만의 다른 화합물 입체이성질체를 포함한다. 예를 들어, 미국 특허 번호 7,189,715를 참조한다.
- [0012] 이성질체를 기재하는 용어로서의 "R" 및 "S"는 비대칭으로 치환된 탄소 원자에서의 입체화학적 배열구조의 서술어이다. 비대칭으로 치환된 탄소 원자의 "R" 또는 "S"로의 지정은 관련 기술분야 통상의 기술자에게 잘 알려져 있는 바와 같으며 문헌 [International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) Rules for the Nomenclature of Organic Chemistry. Section E, Stereochemistry]에 기재되어 있는 바와 같은 칸-인골드-프렐로그(Cahn-Ingold-Prelog) 우선순위 규칙의 적용에 의해 수행된다.
- [0013] "치료", "치료하다", 또는 암을 "치료하는 것"은 본원에서 기재되는 바와 같이 암을 반전시키고/거나 (예를 들

어, 세포 분화 차단을 극복하는 것), 경감하고/거나 (예를 들어, 빈혈, 낮은 혈구 계수 등에 기인하는 피로와 같은 1종 이상의 증상을 경감하는 것), 그의 진행을 지연하는 것 (예를 들어, AML로의 전환과 같은 이상의 진행을 지연하는 것)을 지칭한다.

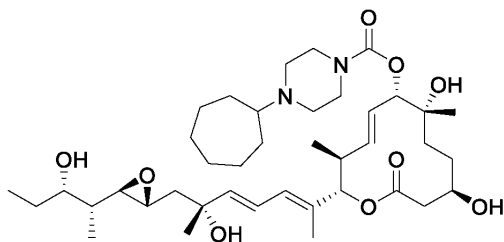
[0014] 본원에서 사용될 때, "대상체"는 동물 대상체, 바람직하게는 포유동물 대상체, 특히 인간을 의미한다.

[0015] 본원에서 사용될 때의 "제약상 허용되는 담체"는 그것이 함께 제제화되는 화합물의 약학적 활성을 붕괴시키지 않는 비독성의 담체, 아주반트 또는 비히클을 지칭한다. 본 발명의 조성물에서 사용될 수 있는 제약상 허용되는 담체, 아주반트 또는 비히클에는 이온 교환제, 알루미늄, 알루미늄 스테아레이트, 레시틴, 혈청 단백질, 예컨대 인간 혈청 알부민, 완충제 물질 예컨대 포스페이트, 글리신, 소르브산, 칼륨 소르베이트, 포화 식물성 지방산의 부분적 글리세리드 혼합물, 물, 염 또는 전해질, 예컨대 프로타민 술페이트, 디나트륨 수소 포스페이트, 칼륨 수소 포스페이트, 나트륨 클로라이드, 아연염, 콜로이드성 실리카, 마그네슘 트리실리케이트, 폴리비닐 피롤리돈, 셀룰로스-기재 물질, 폴리에틸렌 글리콜, 시클로덱스트린, 나트륨 카르복시메틸셀룰로스, 폴리아크릴레이트, 왁스, 폴리에틸렌-폴리옥시프로필렌-블록 중합체, 폴리에틸렌 글리콜 및 양모 지방이 포함되나, 이에 제한되지는 않는다.

[0016] "제약상 허용되는 염"은 모체 화합물의 원하는 생물학적 활성을 유지하며 원치 않는 독성학적 효과는 주지 않는 염이다. 그와 같은 염의 예는 하기이다: (a) 무기 산, 예를 들면 염산, 브롬화수소산, 황산, 인산, 질산 등을 사용하여 형성되는 산 부가염; 및 유기 산, 예를 들면 아세트산, 옥살산, 타르타르산, 숙신산, 말레산, 푸마르산, 글루콘산, 시트르산, 말산, 아스코르브산, 벤조산, 탄닌산, 팔미트산, 알긴산, 폴리글루탐산, 나프탈렌술폰산, 메탄술폰산, p-톨루엔술폰산, 나프탈렌디술폰산, 폴리갈락투론산 등을 사용하여 형성되는 염; 그리고 (b) 원소 음이온 예컨대 염소, 브로민 및 아이오딘으로부터 형성되는 염. 예를 들어, 본원에 참조로 개재되는 문헌 [Haynes et al., "Commentary: Occurrence of Pharmaceutically Acceptable Anions and Cations in the Cambridge Structural Database," J. Pharmaceutical Sciences, vol. 94, no. 10 (2005)] 및 [Berge et al., "Pharmaceutical Salts", J. Pharmaceutical Sciences, vol. 66, no. 1 (1977)]을 참조한다.

[0017] 달리 언급되지 않는 한, 본원에서 기재되는 화합물은 본원에서 기재되는 화합물과 구조의 거울상이성질, 부분입체이성질 및/또는 기하 (또는 입체형태) 형태 중 어느 것의 혼합물; 예를 들면 각 비대칭 중심의 R 및 S 배열구조, (Z) 및 (E) 이중 결합 이성질체, 그리고 (Z) 및 (E) 입체형태 이성질체를 포함할 수 있다. 달리 언급되지 않는 한, 호변이성질체 형태와 공존하는 본원에서 기재되는 화합물은 본 발명의 영역에 속한다. 또한, 달리 언급되지 않는 한, 본원에서 기재되는 구조는 1종 이상의 동위원소 강화 원자의 존재에 있어서만 상이한 화합물을 포함하여 의미하기도 한다. 예를 들어, 중수소 또는 삼중수소에 의한 수소의 대체, 또는 ¹³C- 또는 ¹⁴C-강화 탄소에 의한 탄소의 대체 이외에는 본 발명의 구조를 가지는 화합물은 본 발명의 영역에 속한다. 그와 같은 화합물은 예를 들면 생물학적 검정에서 분석 도구 또는 프로브로서 유용할 수 있다.

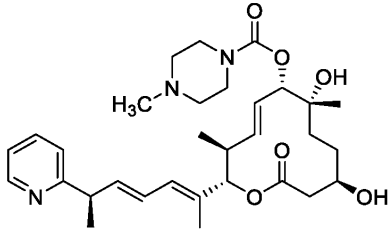
[0018] 하기 특허 출원에 개시되어 있는 것들을 포함하여, 다양한 플라디에놀리드 화합물이 암의 치료를 위한 스플라이싱 조절체로서 개발되어 있다: 각각 본원에 참조로 개재되는 WO 2002/060890; WO 2004/011459; WO 2004/011661; WO 2004/050890; WO 2005/052152; WO 2006/009276; WO 2008/126918; 및 WO 2015/175594. 예를 들면, E7107로도 알려져 있는 플라디에놀리드 화합물 (8E,12E,14E)-7-((4-시클로헥틸피페라진-1-일)카르보닐)옥시-3,6,16,21-테트라히드록시-6,10,12,16,20-펜타메틸-18,19-에폭시트리코사-8,12,14-트리엔-11-올리드는 자연 생성물인 플라디에놀리드 D의 반합성 유도체로서, 그의 단계 I 연구 결과가 보고되어 있다:



[0019]

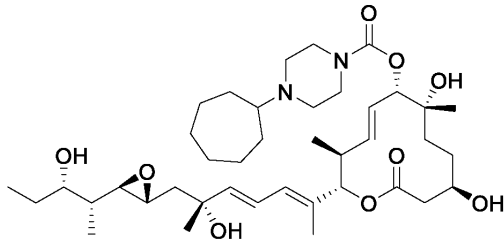
[0020] 또 다른 예로서, H3B-8800으로도 알려져 있는 플라디에놀리드 피리딘 화합물 (2S,3S,6S,7R,10R,E)-7,10-디히드록시-3,7-디메틸-12-옥소-2-((R,2E,4E)-6-(피리딘-2-일)헵타-2,4-디엔-2-일)옥사시클로도테스-4-엔-6-일 4-메틸피페라진-1-카르복실레이트 ("(2S,3S,4E,6S,7R,10R)-7,10-디히드록시-3,7-디메틸-12-옥소-2-((2E,4E,6R)-6-(피리딘-2-일)헵타-2,4-디엔-2-일)옥사시클로도테스-4-엔-6-일 4-메틸피페라진-1-카르복실레이트"로도

지칭됨)는 특정 혈액암의 치료용으로 희귀 약물 지정을 받았으며, 하기의 구조를 가지고 있다:



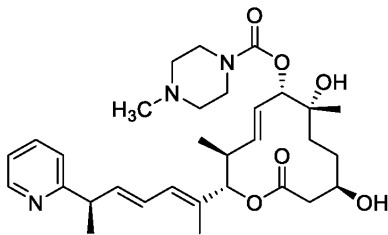
[0021]

[0022] 일부 실시양태에서, 조합 요법에서 사용하기 위한 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조성제는 하기 화학식 1의 화합물 ("E7107") 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택된다:



[0023]

[0024] 일부 실시양태에서, 조합 요법에서 사용하기 위한 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조성제는 하기 화학식 2의 화합물 ("H3B-8800") 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택된다:



[0025]

[0026] 본원에서 사용될 때, BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제에는 HA14-1, BH3I-1, 안티마이신 A, 켈레리트린, 고시폴 (NSC19048), 아포고시폴 (NSC736630), TW-37, 4-(3-메톡시-페닐술포닐)-7-니트로-벤조푸란-3-옥시드 (MNB), TM12-06, 오마토클락스 (GX15-070), 베네토클락스 (ABT199), 나비토클락스 (ABT263), A-1331852 및 ABT737이 포함되나, 이에 제한되지는 않는다.

[0027] 일부 실시양태에서, BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제는 베네토클락스 (ABT199), 나비토클락스 (ABT263), A-1331852, ABT737 및 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택된다.

[0028] 본원에서 개시되는 방법은 혈액암 및 고형 종양을 포함한 다양한 유형의 암을 치료하는데 사용될 수 있다.

[0029] 혈액암에는 혈액의 암 (예를 들어, 백혈병) 또는 림프절의 암 (예를 들어, 림프종) 또는 기타 관련 암이 포함될 수 있다. 백혈병에는 급성 림프모구성 백혈병 (ALL), 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 만성 골수성 백혈병 (CML), 만성 골수단핵구성 백혈병 (CMML), 급성 단핵구성 백혈병 (AMoL) 등이 포함될 수 있다. 림프종에는 호지킨 림프종 및 비-호지킨 림프종이 포함될 수 있다. 기타 혈액암에는 골수이형성 증후군 (MDS) 및 다발성 골수종 (MM)이 포함될 수 있다.

[0030] 고형 종양에는 암종 예컨대 선암종, 예를 들면 유방암, 췌장암, 전립선암, 결장암 또는 결장직장암, 폐암 (비소세포 폐 암종 (NSCLC) 및 소세포 폐 암종 (SCLC) 포함), 위암, 자궁경부암, 자궁내막암, 난소암, 담관암종, 신경교종, 흑색종 등이 포함될 수 있다.

[0031] 본원에서 개시되는 방법은 스플라이세오솜 유전자 또는 단백질, 예를 들어, SF3B1을 표적으로 하는 작용제에 반응성일 수 있는 암을 치료하는데 사용될 수도 있다. 그와 같은 암의 예에는 골수이형성 증후군, 다발성 골수종, 만성 림프구성 백혈병, 급성 림프모구성 백혈병, 만성 골수단핵구성 백혈병, 급성 골수양 백혈병, 결장암, 췌장암, 자궁내막암, 난소암, 유방암, 포도막 흑색종, 위암, 담관암종 또는 폐암 (비소세포 폐 암종 (NSCLC) 및 소세포 폐 암종 (SCLC) 포함)이 포함되나, 이에 제한되지는 않는다. 대표적인 스플라이세오솜 유전

자 또는 단백질에는 스플라이싱 인자 3B 서브유닛 1 (SF3B1), U2 소형 핵 RNA 보조 인자 1 (U2AF1), 세린/아르기닌-풍부 스플라이싱 인자 2 (SRSF2), 아연 핑거 (CCCH 유형) RNA-결합 모티프 및 세린/아르기닌 풍부 2 (ZRSR2), 프리-mRNA-프로세싱-스플라이싱 인자 8 (PRPF8), U2 소형 핵 RNA 보조 인자 2 (U2AF2), 스플라이싱 인자 1 (SF1), 스플라이싱 인자 3a 서브유닛 1 (SF3A1), PRP40 프리-mRNA 프로세싱 인자 40 상동체 B (PRPF40B), RNA 결합 모티프 단백질 10 (RBM10), 폴리(rC) 결합 단백질 1 (PCBP1), 크루키드 넥(crooked neck) 프리-mRNA 스플라이싱 인자 1 (CRNKL1), DEAH (Asp-Glu-Ala-His) 박스 헬리카제 9 (DHX9), 켈티딜-프롤릴 시스템-트랜스 이소머라제-유사 2 (PPIL2), RNA 결합 모티프 단백질 22 (RBM22), 소형 핵 리보뉴클레오타이드 단백질 Sm D3 (SNRPD3), 추정 ATP-의존성 RNA 헬리카제 DDX5 (DDX5), 프리-mRNA-스플라이싱 인자 ATP-의존성 RNA 헬리카제 DDX15 (DHX15) 및 폴리아데닐레이트-결합 단백질 1 (PABPC1)이 포함되나, 이에 제한되지는 않는다.

[0032] 본원에서 개시되는 방법은 MCL1-의존성 암을 치료하는데 사용될 수도 있다. MCL1-의존성 암의 예에는 다발성 골수종, 백혈병, 림프종 및 고형 종양이 포함될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. MCL1-의존성 백혈병에는 급성 림프모구성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 만성 골수단핵구성 백혈병 및 급성 단핵구성 백혈병이 포함될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. MCL1-의존성 림프종에는 호지킨 림프종 및 비-호지킨 림프종이 포함될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. MCL1-의존성 고형 종양에는 폐암 (예를 들어, 비소세포 폐 암종 및 소세포 폐 암종), 유방암, 췌장암, 전립선암, 결장암 또는 결장직장암, 위암, 자궁경부암, 자궁내막암, 난소암, 담관암종, 신경교종 및 흑색종이 포함될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0033] MCL1의 고도 발현을 동반하는 암은 직접적인 표적 억제 또는 유전자 수준 교란, 예를 들어, 전사 또는 스플라이싱 억제 중 어느 하나에 의한 MCL1 억제에 민감성인 것으로 제시된 바 있다 (문헌 [Gao Y, Koide K., 2013, ACS Chem Biol. 8(5): 895-900]; [Wei G, et al., 2012, Cancer Cell 21(4): 547-562]). 또한, 높은 BCL-xL 발현은 MCL1 억제에 대한 내성을 부여하며, MCL1 증폭/과다발현은 BCL2/xL 억제제에 대한 내성을 부여하는 주요 메카니즘인 것으로 표시되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Wei G, et al., 2012, Cancer Cell 21(4): 547-562]; [Lin X, et al., 2007, Oncogene 26(27): 3972-3979]; [Teh TC, et al., 2017, Leukemia. doi: 10.1038/leu.2017.243] 참조). 어떠한 특정 이론에 의해서도 얽매이고자 하는 것은 아니나, 본원에서 개시되는 바와 같이, 플라디에놀리드 유도체 E7107 및 H3B-8800은 기능성인 전체-길이 단백질의 발현 감소로 이어지는 MCL1 유전자의 강력한 스플라이싱 조절을 유도할 수 있다. 감소된 MCL1 단백질은 암 세포주에서 강력한 세포 사멸을 야기할 수 있다. 적어도 1종의 플라디에놀리드 유도체 (예를 들어, E7107 및/또는 H3B-8800)와 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제의 조합물은 암 세포의 상승작용성인 성장 억제를 유도할 수 있다. 이에 따라, 적어도 1종의 소형 분자 스플라이싱 조절제와 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제의 조합물은 항-아포토시스성 유전자에 의존하는 것들과 같은 암을 치료하는데 사용될 수 있다.

[0034] 또한 본원에서 개시되는 것은 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조절제, 및 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제를 포함하는 제약 조성물이다. 일부 실시양태에서, 상기 제약 조성물은 또한 적어도 1종의 제약상 허용되는 담체를 포함한다. 상기 적어도 1종의 제약상 허용되는 담체는 예 정된 투여 경로에 따라 선택될 수 있다.

[0035] 본원에서 개시되는 제약 조성물은 비경구, 경구, 흡입 분무, 국소, 직장, 비내, 협측, 질 또는 이식된 저장용기 투여용 등으로 제제화될 수 있다. 본원에서 사용될 때의 "비경구"라는 용어에는 피하, 정맥내, 근육내, 관절내, 윤활막내, 흉골내, 수막강내, 간내, 병변내 및 두개내 주사 또는 주입 기술이 포함된다. 구체적인 실시양태에서, 조합 요법의 화합물은 정맥내로, 경구로, 피하로, 또는 근육내 투여를 통하여 투여된다. 본 개시내용의 조성물의 멸균 주사가능 형태는 수성 또는 유질 현탁액일 수 있다. 이러한 현탁액은 관련 기술분야에 알려져 있는 기술에 따라 적합한 분산제 또는 습윤제 및 현탁제를 사용하여 제제화될 수 있다. 멸균 주사가능 제제는 예를 들면 1,3-부탄디올 중 용액과 같은 비독성의 비경구용으로 허용되는 희석제 또는 용매 중 멸균 주사가능 용액 또는 현탁액일 수도 있다. 사용될 수 있는 허용가능한 비히클 및 용매로는 물, 링거 용액 및 등장성 나트륨 클로라이드 용액이 있다. 또한, 멸균된 고정 오일이 용매 또는 현탁 매체로서 통상적으로 사용된다.

[0036] 이와 같은 목적으로는, 합성 모노- 또는 디-글리세리드를 포함한 임의의 블랜드 고정 오일이 사용될 수 있다. 지방산, 예컨대 올레산 및 그의 글리세리드 유도체가 주사가능제의 제조에 유용하며, 자연상의 제약상 허용되는 오일, 예컨대 특히 그의 폴리옥시에틸화된 버전인 올리브 오일 또는 피마자 오일도 그러하다. 이러한 오일 용액 또는 현탁액은 장쇄 알콜 희석제 또는 분산제, 예컨대 에멀전 및 현탁액을 포함한 제약상 허용되는 투약 형태의 제제화에 통상적으로 사용되는 카르복시메틸 셀룰로스 또는 유사 분산제를 함유할 수도 있다. 다른 통상

적으로 사용되는 계면활성제, 예컨대 트윈, 스펠 및 기타 에멀전화제, 또는 제약상 허용되는 고체, 액체 또는 다른 투약 형태의 제조에 통상적으로 사용되는 생물가용성 강화제가 제제화 목적으로 사용될 수도 있다.

- [0037] 경구 투여의 경우, 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제, 및/또는 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제는 비제한적으로 캡슐, 정제, 수성 현탁액 또는 용액을 포함한 허용되는 경구 투약 형태로 제공될 수 있다. 경구 용도 정제의 경우, 담체는 예를 들면 락토스 및 옥수수 전분으로부터 선택될 수 있다. 율활제, 예컨대 마그네슘 스테아레이트가 첨가될 수도 있다. 캡슐 형태 경구 투여의 경우, 유용한 희석제에는 락토스 및 건조된 옥수수 전분이 포함된다. 경구 용도로 수성 현탁액이 요구되는 경우, 활성 성분은 에멀전화제 및/또는 현탁제와 조합된다. 원할 경우, 소정의 감미제, 향미제 또는 착색제가 첨가될 수도 있다.
- [0038] 일부 실시양태에서, 본원에서 개시되는 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제, 및 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제는 단일 투약 형태로, 또는 각 활성 작용제의 별도이거나 순차적인 투여에 의해 대상체에게 투여된다.
- [0039] 일부 실시양태에서, 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제, 및 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제는 정제, 환약, 캡슐 또는 용액으로 제제화된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제, 및/또는 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제는 비경구 투여용 용액으로 제제화된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제, 및 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제는 하나의 캡슐 내에 수용된 격리된 영역 또는 별개 캐플릿으로 제제화된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제, 및 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제는 정제 내의 분리된 층으로 제제화된다.
- [0040] 일부 실시양태에서, 제약 조성물은 하기를 포함한다: 치료적 유효량의 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제, 치료적 유효량의 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제, 및 적어도 1종의 제약상 허용되는 담체.
- [0041] 일부 실시양태에서, 제약 조성물은 하기를 포함한다: 치료적 유효량의 E7107, 치료적 유효량의 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제, 및 적어도 1종의 제약상 허용되는 담체.
- [0042] 일부 실시양태에서, 제약 조성물은 하기를 포함한다: 치료적 유효량의 H3B-8800, 치료적 유효량의 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제, 및 적어도 1종의 제약상 허용되는 담체.
- [0043] 일부 실시양태에서, 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제, 및 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제는 별도의 조성물로, 그리고 임의적으로는 서로 다른 형태로, 예를 들면 별도의 정제 또는 용액으로 투여될 수 있다. 또한 비-제한적인 예로서, 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제, 및 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제 양자는 경구 정제로서 별도로 투여될 수 있다.
- [0044] 일부 실시양태에서, 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제, 및 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제는 하기의 별도 조성물로서 투여될 수 있다:
- [0045] 치료적 유효량의 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제, 및 적어도 1종의 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물; 및
- [0046] 치료적 유효량의 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제, 및 적어도 1종의 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물.
- [0047] 일부 실시양태에서, 본원에서 제공되는 것은 치료적 유효량의 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제를 포함하는 제1 제약 조성물, 치료적 유효량의 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제를 포함하는 제2 제약 조성물, 및 암의 치료에서의 키트의 사용을 위한 지침을 포함하는 키트이다.
- [0048] 일부 실시양태에서, 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제, 및 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제는 동시에 투여된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제, 및 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제는 순차적으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제, 및 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제는 단독적으로 투여된다. 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이

이세오솜 조정제와 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제 투여 사이 시간의 길이는 원하는 치료 효과를 달성하도록 조정될 수 있다. 일부 실시양태에서, 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제, 및 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제는 단지 수분 간격으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제, 및 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제는 수시간 (예를 들어, 약 2, 4, 6, 10, 12, 24 또는 36시간) 간격으로 투여된다. 일부 실시양태에서는, 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제, 및 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제 중 1종의 하나를 초과하는 투약분을 나머지 치료제의 투여들 사이에 투여하는 것이 유리할 수 있다. 예를 들면, 일 치료제가 다른 치료제의 투여 후 1시간에 투여된 다음, 11시간에 다시 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서는, 조합 요법의 전체적인 치료 효과가 부분적으로 조합 요법의 조합되거나 상승작용성인 효과에 기인할 수 있도록, 각 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제, 및 BCL2, BCL2/BCLxL 또는 BCLxL 억제제의 치료 효과가 적어도 일부 기간 동안 중복되어야 한다.

[0049] 본원에서 개시되는 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제, 및 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제는 치료 유효량 또는 치료적으로 효과적인 양으로 대상체에게 투여될 수 있다. 적어도 1종의 제약상 허용되는 담체와 조합되어 단일 투약 형태를 생성시킬 수 있는 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제, 및 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제 각각의 양은 치료되는 대상체 및 예정된 투여 경로에 따라 달라지게 된다.

[0050] 일부 실시양태에서, 제약 조성물은 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제, 및 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제 각각의 투약량 0.01 내지 100 mg/kg 체중/일이 대상체에게 투여되도록 제제화된다. 일부 실시양태에서는, 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제, 및 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제 각각의 투약량 범위 1 내지 100 mg/kg 체중/일이 대상체에게 투여된다. 일부 실시양태에서는, 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제, 및 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제 각각의 투약량 범위 0.01 mg 내지 50 mg 이 대상체에게 투여된다. 일부 실시양태에서는, 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제, 및 BCL2, BCL2/BCLxL 및 BCLxL 억제제로부터 선택된 적어도 1종의 억제제 각각의 투약량 범위 1 mg 내지 50 mg, 0.1 mg 내지 25 mg, 또는 5 mg 내지 40 mg이 제공된다.

[0051] 일부 실시양태에서, 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조정제는 1 mg/kg 내지 10 mg/kg의 투약량 범위로 투여된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜은 1 mg/kg, 1.25 mg/kg, 2 mg/kg, 2.5 mg/kg, 3 mg/kg, 4 mg/kg, 5 mg/kg, 6 mg/kg, 7 mg/kg, 8 mg/kg, 9 mg/kg 또는 10 mg/kg의 투약량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜은 5 mg/kg의 투약량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1종의 플라디에놀리드 스플라이세오솜은 8 mg/kg의 투약량으로 투여된다.

[0052] 일부 실시양태에서는, 5 연속일 동안 5 mg/kg의 투약량으로 E7107이 정맥내 투여된다. 일부 실시양태에서는, 5 연속일 동안 8 mg/kg의 투약량으로 H3B-8800이 경구 투여된 후, 9-일 휴지가 이어진다.

[0053] 통상의 기술자라면, 임의의 특정 환자를 위한 구체적인 투약량 및 치료 처방계획이 사용되는 구체적인 화합물의 활성, 연령, 체중, 일반적인 건강, 성, 식생활, 투여 시간, 배설률, 약물 조합, 치료 의사의 판단 및 치료되는 구체적인 질환의 중증도를 포함한 다양한 인자에 따라 달라지게 된다는 것을 이해하고 있을 것이다. 조합 요법의 각 활성 작용제의 양은 조성물 중 특정한 화합물/염에 따라서도 달라지게 된다.

[0054] 본원에서 기재되는 실시양태 및 그의 용도가 더 완전히 이해될 수 있도록, 하기 실시예가 제시된다. 이들 실시예는 단지 예시 목적을 위한 것으로, 어떠한 방식으로든 제한하는 것으로 해석되어서는 안되는 것으로 이해되어야 한다.

[0055] **실시예**

[0056] **A. 재료 및 방법**

[0057] **1. 세포주 및 세포 배양 프로토콜**

[0058] 비소세포 폐암 (NSCLC) 세포주 A549, NCI-H23, NCI-H1568, NCI-H1650, NCI-H1975 및 NCI-H2110을 아메리칸 타입 컬처 콜렉션(American Type Culture Collection) (ATCC)로부터 입수하여, 제조자의 지침에 따라 배양하였다. 렌티바이러스 형질도입에 의해 생성된 유도성 shRNA 및 cDNA 라인을 표준 혈청이 아닌 Tet 시스템 승인 FBS (클론테크(Clonotech))를 이용하여 제조자의 지침에 따라 배양하였다. 렌티엑스(LentiX)-293T (클론테

크)를 주사용 shRNA 및 cDNA 과다발현 바이러스의 생성에 사용하였으며, 제조자의 지침에 따라 배양하였다. 미코플라스마 오염에 대하여 세포주를 시험하고, 세포 정체성을 입증하여 확인하였다. shRNA 발현 세포의 선택에는 푸로마이신 (0.25-1.25 µg/ml, 써모 피셔 사이언티픽(Thermo Fisher Scientific))을 사용하였으며; 유도성 cDNA 발현 세포의 선택에는 G418 (0.5-2 mg/mL, 써모 피셔 사이언티픽)을 사용하였다. shRNA 및 cDNA의 유도에는 독시시클린 하이클레이트 (시그마(Sigma)) (Dox)를 사용하였다.

[0059] NKM1 및 K052 세포는 일본 연구 생물자원 세포 수집 은행(Japanese Collection of Research Bioresources Cell Bank)으로부터 입수하였다. HNT34, MONOMAC6 및 MUTZ3 세포는 도이체 잠룡 폰 마이크로오르가니즘 언트 켈쿨투렌 게엠베하(Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen)로부터 입수하였다. HNT34 및 NKM1 세포는 10% 소 태아 혈청을 포함하는 RPMI (ATCC)에서 유지하였다. K052 세포는 10% 소 태아 혈청을 포함하는 알파-MEM (ATCC)에서 유지하였다. MONOMAC6 세포는 20% 소 태아 혈청을 포함하는 RPMI (ATCC)에서 유지하였다. MUTZ3 세포는 20% 소 태아 혈청 및 20% 컨디셔닝 5637 배지를 포함하는 알파-MEM (ATCC)에서 유지하였다. 세포주는 가슴 인큐베이터에서 37°C에서 5% CO₂로 인큐베이션하였다.

[0060] **2. MCL1 및 BCLxL 프로토콜의 웨스턴 블롯 분석**

[0061] RIPA 완충제 (보스턴 바이오프로덕츠(Boston BioProducts)) 플러스 프로테아제-억제제 콕테일 (미니-컴플리트(Mini-complete), EDTA-무함유, 로슈(Roche)) 및 포스파타제 억제제인 포스스탑(PhosSTOP) (로슈) 중에서 세포주를 용해시켰다. 용해물을 4X LDS 샘플 완충제 (누페이지(Nupage), 써모 피셔 사이언티픽) 및 10X 환원제 (누페이지, 써모 피셔 사이언티픽)를 포함하는 RIPA 완충제 중에 희석하고, 5분 동안 끓였다. 4-12% 비스-트리스(Bis-Tris) SDS 페이지 젤 (노벡스(Novex), 써모 피셔 사이언티픽) 중 웰 당 25 마이크로그램의 단백질을 적재하였다. 아이블롯(iBlot) 시스템 (써모 피셔 사이언티픽)을 사용하여 젤을 니트로셀룰로스 멤브레인으로 옮겼다. 차단 완충제 (1× 트리스-완충 식염수 + 0.1% 트윈-20 (보스턴 바이오프로덕츠) + 5% 무지방 건조 우유 (바이오-라드(Bio-Rad)) 중에서 1시간 동안 멤브레인을 차단한 다음, 절단하였다. 차단 완충제 중에서 하기 단백질 각각에 대한 항체를 사용하여 각 절편을 별도로 프로빙하였다: 100 ng/mL의, 1:500 희석된 MCL1 (셀 시그널링 테크놀로지스 5453) (D35A5) 토끼 모노클로날, 1:500 희석된 BCL-xL (셀 시그널링 테크놀로지스 2764) (54H6) 토끼 모노클로날, 1:500 희석된 절단 Parp (셀 시그널링 테크놀로지스 5625) (D64P10) 토끼 모노클로날, 및 GAPDH (시그마 G8795) 마우스 모노클로날. 4°C에서 밤새 진탕하면서, 일차 항체 희석물과 함께 블롯을 인큐베이션하였다. 다음에, 오디세이 리코르(Odyssey Licor) 또는 HRP 이차 항체 중 어느 하나를 사용하여 웨스턴 블롯을 블롯팅하였다. 다음에, 세척 완충제 (1× 트리스-완충 식염수 + 0.1% 트윈-20)를 사용하여 4회 블롯을 세척하였다. 차단 완충제 중에 1:10,000 희석된 리코르 IR-표지 이차 항체 IRDye® 800CW 염소 항-토끼 IgG (오디세이 925-32211) 및 IRDye® 680LT 염소 항-마우스 IgG (오디세이 925-68020)를 사용하여 실온에서 1시간 동안 진탕하면서, 리코르를 사용하여 영상화된 블롯을 프로빙하였다. 다음에, 세척 완충제를 사용하여 블롯을 3회 세척하였다. IR-dye 검출은 리코르 영상화 시스템 (오디세이)을 사용하여 제조자의 지침에 따라 수행하였다. HRP를 사용하여 영상화된 블롯은 실온에서 1시간 동안 진탕하면서 차단 완충제 중에 1:5000 희석된 항-마우스 IgG, HRP-연결 항체 (셀 시그널링 테크놀로지스 7076) 및 항-토끼 IgG, HRP-연결 항체 (셀 시그널링 테크놀로지스 7074)를 사용하여 프로빙하였다. 다음에, 세척 완충제를 사용하여 블롯을 3회 세척하였다. HRP 검출은 슈퍼시그널 웨스트 펨토(SuperSignal West Femto) 최대 민감도 기질 (써모 피셔 사이언티픽)을 사용하여 수행하였으며, 이미징퀀트(ImageQuant)TM LAS 4000 생물분자 영상화기 (GE 헬스케어 라이프 사이언시스(Healthcare Life Sciences))를 사용하여 제조자의 지침에 따라 영상화하였다.

[0062] **3. MCL1 프로토콜의 정량적 실시간 PCR**

[0063] 96 웰 플레이트에서 화학물로 처리된 세포로부터 RNA 용해물을 단리한 후, 타크만(TaqMan) 유전자 발현 세포-대-CT 키트 (써모 피셔 사이언티픽)를 사용하여 제조자의 지침에 따라 역전사하였다. 18S rRNA VIC-PL (써모 피셔 사이언티픽) 검정 ID Hs9999901_s1)과 듀플렉스화된 MCL1 전사체 프로브 (통합 DNA 기술 FAM-ZEN/IBFQ)를 사용한 타크만 유전자 발현 마스터 믹스 (써모 피셔 사이언티픽)를 사용하여 정량적 PCR을 수행하고, ΔΔCt 방법을 사용하여 정량화하였다:

[0064] MCL1L 프로브 세트

[0065] 프라이머 ATATGCCAAACCAGCTCCTAC

[0066] 프라이머 AAGGACAAAACGGGACTGG

[0067] 프로브 AGAACTCCACAAACCCATCCCAGC

[0068] MCL1S 프로브 세트

[0069] 프라이머 AAAGCCAATGGGCAGGT

[0070] 프라이머 CCACCTTCTAGGTCCTCTACAT

[0071] 프로브 TCCACAAACCCATCTTGAAGGCC

[0072] MCL1 프리-mRNA 인트론1-엑손2 프로브 세트

[0073] 프라이머 GACAAAGGAGGCCGTGAGGA

[0074] 프라이머 GTTTGTTACGCCGTCGCTGAAA

[0075] 프로브 TCAGGCATGCTTCGGAAACTGGA

[0076] **4. 유도성 shRNA 및 cDNA 프로토콜**

[0077] BCL-xL shRNA 1 (GCTCACTCTCAGTCGGAAAT) (문헌 [Wei G, et al., 2012, Cancer Cell 21(4): 547-562])을 Tet 유도성 렌티바이러스 pLKO-iKD-H1 퓨로 벡터 (문헌 [Wiederschain D, et al., 2009, Cell Cycle 8(3): 498-504])의 AgeI 및 EcoRI에 클로닝하였다. MCL1 shRNA 48 (GCATCGAACCATTAGCAGAAA) (문헌 [Wei G, et al., 2012, Cancer Cell 21(4): 547-56])은 Tet 유도성 렌티바이러스 pLKO-iKD-U6 퓨로 벡터의 AgeI 및 EcoRI에 클로닝하였다. MCL1-L pENTR-D-TOPO는 pINDUCER20 (문헌 [Meerbrey KL, et al., 2011, Proc Natl Acad Sci U S A. 108(9):3665-3670])에 게이트웨이 클로닝하였다 (LR 클로나제, 써모 피셔 사이언티픽). 렌티바이러스는 렌티엑스-293T 세포에서 제조하였다. 10 cm 바이오코트 콜라겐 II 디쉬 (코닝(Corning)) 중 2.5 M 세포를 트랜스아이티(TransIT) 시약 (마이어스(Mirus))을 사용하여 2.4 µg의 표적 pLKO-shRNA 또는 pINDUCER20 플라스미드 플러스 2.4 µg의 pΔ8.91 (패키지화) 및 0.6 µg VSVG (표피)로 형질감염시켰다. pINDUCER20 + MCL1-L, pINDUCER20 벡터, pLKO-iKD-U6 퓨로 + MCL1 shRNA 48 및 pLKO-iKD-U6 퓨로 벡터 바이러스를 사용하여 A549, NCI-H23, NCI-H1568, NCI-H1650, NCI-H1975 및 NCI-H2110을 감염시켰다. pLKO-iKD-H1 퓨로 + BCL-xL shRNA 1 및 pLKO-iKD-H1 퓨로 바이러스를 사용하여 A549, NCI-H23, NCI-H1568 및 NCI-H2110을 감염시켰다. 폴리브렌 (Polybrene) (밀리포어(Millipore))을 사용한 회전 감염이 있거나 없이 세포를 감염시켰다. 감염 1 내지 3일 후, 제네티신(Geneticin) (pINDUCER20) 또는 퓨로마이신(Puromycin) (pLKO shRNA) 중에서 세포를 배양하였다. 선택된 세포를 Dox (300 ng/ml)의 존재 또는 부재 하에 배양하였다. 유도 3 내지 5일 후, 단백질 및 RNA용으로 세포를 수확하였다. MCL1 실시간 PCR 부문에서와 같이 RNA를 단리하였다. 상기 MCL1 및 BCL-xL 웨스턴 블롯 절차 부문에서와 같이 단백질 추출물을 제조하였다.

[0078] **5. 세포 생존력 및 MCL1 구출 프로토콜**

[0079] 유도성 shRNA 실험을 위하여, 300 ng/mL의 Dox가 있거나 없이 72시간 동안 96 웰에서 세포를 배양한 다음, 셀타이터-글로(CellTiter-Glo) 발광 세포 생존력 검정 (프로메가(Promega))을 사용하여 제조자의 지침에 따라 용해시키고, 퍼킨-엘머 엔비전(Perkin-Elmer Envision)을 사용하여 분석하였다. 각 세포주에서 Dox 처리된 웰을 무처리에 대하여 표준화하였다.

[0080] 화합물 투여량 반응 실험을 위하여, 세포를 웰 당 50 µl 중 1,000개 세포로 96 또는 384 웰 플레이트에 플레이팅하였다. 90% DMSO 중 11-포인트(point) 연속 희석 시리즈에서부터 음향 전달에 의해 배지 중 세포에 화합물을 첨가하였다. 최종 DMSO 농도는 0.1%이었다. 플레이트에 뚜껑을 덮고, 37°C 및 5% CO₂에서 세포를 성장시켰다. t=0에서, 셀타이터-글로를 사용하여 미처리 세포를 용해시키고, 엔비전 플레이트 해독기에서 측정하였다. t=72 (화합물 첨가 72시간 후)에, 화합물로 처리된 세포를 셀타이터-글로를 사용하여 용해시키고, 엔비전에서 분석하였다. 각 처리 샘플로부터의 발광 값을 각 DMSO 대조의 평균 값에 대하여 표준화하였다.

[0081] MCL1 구출 실험을 위하여, 300 ng/mL의 dox와 함께 72시간 동안 세포주를 배양한 다음, 하위-배양하여 300 ng/mL의 dox를 포함하는 96 또는 384 웰 플레이트에 시딩하였다.

[0082] **6. 조합 연구**

[0083] 스플라이싱 조절제 (예를 들어, E7107 또는 H3B-8800), 및 BCL2, BCL2/BCLxL 또는 BCLxL 억제제 (예를 들어, ABT263, ABT199 또는 A-1331852)에 대하여 화합물 연속 희석을 수행하고, 세포 생존력 및 MCL1 구출 프로토콜에서 논의된 바와 같이 세포를 처리하였다. BCL-xL 녹다운을 위하여, 384 웰을 시딩하기 전에, 세포 생존력 및

MCL1 구출 프로토콜에 따라 300 ng/mL의 dox를 사용하여 세포를 처리하였다. 최종 DMSO 농도는 0.2%이었다. 세포 생존력 및 MCL1 구출 프로토콜에 따라 셀타이더-글로를 수행하였다. 데이터는 챌리스(Chalice) 생물정보 공학 소프트웨어 (호라이즌 디스커버리(Horizon Discovery), 영국 캠브리지 소재)를 사용하여 분석하였다. 스플라이싱 조절제 (예를 들어, E7107 또는 H3B-8800), 및 BCL2, BCL2/BCLxL 또는 BCLxL 억제제 (예를 들어, ABT263, ABT199 또는 A-1331852)에 있어서의 화합물 상승작용을 평가하기 위하여, 호라이즌 디스커버리의 로에베 상가성 모델을 사용하고, 투여량 반응 행렬로부터 로에베 모델 (화합물 자가-교차를 기준으로 하는 순수 상가성)을 차감하는 것에 의해 로에베 초과를 계산하였다.

[0084] **7. 동물 연구**

[0085] 효능 연구의 조합 부문에 사용하기 위한 허용 투여량을 확인하기 위해서는, 마우스에 허용성이 큰 투여량 수준 (예를 들어, E7107의 경우 1.25, 2.5 및 5 mg/kg)의 5 연속일 동안 하루에 1회인 (QD×5) 정맥내 스플라이세오솜 조절제 (예를 들어, E7107 또는 H3B-8800), 또는 허용 투여량 (100, 50 및 25 mg/kg)의 하루 1회인 (QD) 경구 BCL2, BCL2/BCLxL 또는 BCLxL 억제제를 단독 또는 조합물로 투여한다. 투여 후에는, 건강 문제가 발생할 때까지 (예를 들어, 마비 또는 과도한 체중 손실) 동물을 모니터링한다. 중앙-보유 동물에서, 각 화합물의 최대 허용 조합 투여량 및 각 단일 투여량을 효능 연구에 사용한다.

[0086] E7107과 BCL2, BCL2/BCLxL 또는 BCLxL 억제제의 조합물의 항종양 활성은 A549 및 NCIH1568의 피하 모델에서 생체 내로 평가한다. 세포 (H1568 5×10^6 개 및 A549 10×10^6 개 세포)를 누드 마우스의 옆구리에 피하 이식한다. 이전의 연구에서 확인된 투여량을 기준으로, 스플라이세오솜 조절제, 및 BCL2, BCL2/BCLxL 또는 BCLxL 억제제를 동물에 투여한다.

[0087] **B. 결과**

[0088] **1. MCL1-과다발현된 및 MCL1-의존성 NSCLC 세포주의 식별**

[0089] 세포주 모델을 식별하여 플라디에놀리드 스플라이세오솜 조절제와 BCL2, BCL2/BCLxL 또는 BCLxL 억제제의 조합 활성을 평가하기 위하여, 이전의 보고 (문헌 [Wei G, et al., 2012, Cancer Cell 21(4): 547-562])를 기준으로 MCL1 증폭이 있거나 없는 6종의 비소세포 폐 암종 (NSCLC) 세포주를 선택하였다. 이들 세포주에서 MCL1 단백질 발현에 대하여 웨스턴 블롯 분석을 수행하였다. 도 1에 제시된 바와 같이, MCL1 유전자가 증폭된 NCIH1568, NCIH23 및 NCIH2110은 비-증폭 세포주인 NCIH1650, NCIH1975 및 A549에 비해 더 높은 MCL1 단백질 발현 수준을 나타내었다. 다음에, MCL1을 특이적으로 하향조절하는 유도성 shRNA를 사용하여 이들 세포주에서 MCL1에 대한 의존성을 시험함으로써, MCL1-증폭된 세포주에서는 선택적 MCL1-의존성이나 비-증폭 세포주에서는 그렇지 않다는 것을 입증하였다 (도 2). MCL1-과다발현된 및 MCL1-의존성 NSCLC 세포주 모델을 다른 기능성 연구에서의 사용에 대하여 확인하였다.

[0090] **2. E7107은 MCL1의 스플라이싱 조절을 유도함**

[0091] 플라디에놀리드 유도제 E7107에 의한 MCL1 유전자의 스플라이싱 조절을 연구하였다. MCL1 유전자는 하기 2종의 주요 전사체로 대안적으로 스플라이싱될 수 있는 3개의 엑손 및 2개의 인트론을 함유한다: 기능성인 전체-길이 단백질을 코딩하는 MCL1L 및 추정 기능-상실 단백질을 코딩하는 MCL1S (도 3). 연구의 일부로서, E7107이 스플라이싱 기구를 교란한 이후의 MCL1의 인트론-유지를 측정하였다. E7107을 사용한 NCIH1568 세포의 6-시간 처리는 MCL1L mRNA의 강력한 감소, MCL1S mRNA의 일시적 발현, 및 인트론-유지 MCL1 프리-mRNA의 연속적인 유도를 유도하였다 (도 4).

[0092] NCIH1568 세포에서 추가적으로 MCL1의 단백질 발현을 시험하였다. mRNA 데이터에 부합하여, E7107은 전체 길이 MCL1 단백질의 투여량-의존성 하향조절을 촉발한 반면, 말단절단된 짧은 형태의 단백질 생성물이 투여량-의존성인 방식으로 증가하였다. MCL 단백질 수준의 변화는 아포토시스의 지표인 절단된 PARP 단백질의 유도와 연관됨으로써, E7107에 의한 MCL1의 스플라이싱 조절이 NCIH1568 세포에서 세포 사멸을 야기할 수 있음을 암시하였다 (도 5).

[0093] **3. E7107-유도 세포 사멸은 MCL1 및 BCLxL 의존성임**

[0094] MCL1의 E7107-유도 하향조절이 세포 사멸의 원인이라는 것을 확인하기 위하여, 웨스턴 블롯 분석에 의해 제시된 바와 같이, NCIH1568 세포에서 MCL1L cDNA를 과다발현시켰다 (도 6). MCL1L의 cDNA 과다발현은 MCL1-의존성 세포주에서 E7107에 의해 유도된 세포 사멸을 구출하였다 (도 7). 또한, E7107-처리된 MCL1-비의존성 A549 세포에서의 BCLxL (BCL2L1에 의해 코딩됨)의 역할을 조사하였다. E7107은 예상대로 세포증식억제제 억제만을 유

도한 반면, BCLxL의 유도성 녹다운 (도 8)은 E7107-처리 시의 분명한 세포 사멸로 이어졌다 (도 9). 요약하면, 이러한 데이터는 MCL1 및 BCLxL 양자의 억제에 MCL1-의존성 및 비의존성 암 세포 모두에서 세포독성으로 이어지는 상승작용성 활성을 초래한다는 것을 뒷받침하고 있다.

[0095] **4. E7107의 BCL2, BCL2/BCLxL 또는 BCLxL 억제제와의 조합물은 상승작용성 효과를 나타냄**

[0096] E7107이 MCL1을 조정할 수 있으며 다른 BCL2 단백질은 MCL1 억제에 의해 유도되는 세포독성에 직면할 수 있으므로, E7107의 BCL2, BCL2/BCLxL 또는 BCLxL 억제제와의 조합물은 모든 항-아폽토시스성 BCL2 단백질의 광범위한 표적화를 통하여 강화된 세포 사멸을 제공할 수 있다.

[0097] BCL2/BCLxL/BCLw 범 억제제인 ABT263 (나비토클락스)을 8×8 투여량 행렬 모드로 E7107과의 조합물로 시험하였다 (도 10). 실제로, 상기 2종 억제제의 조합물은 MCL1-의존성 NCIH23 (상승작용 점수=50.8), NCIH2110 (상승작용 점수=50.2), NCIH1568 (상승작용 점수=35.2) 및 MCL1-비의존성 A549 세포 (상승작용 점수=85.4)를 포함한 4종의 서로 다른 빈 백터 발현 세포주 모델에서 로에베 상가성 모델에 비해 커다란 과량으로 강한 상승작용성 효과를 나타내었다 (도 10, 좌측 패널). 또한, BCLxL의 shRNA 고갈은 E7107과 ABT263 사이의 이와 같은 상승작용을 크게 감소시킴으로써 (도 10, 우측 패널), 유전적 shRNA 조작 및 약학적 억제제 (ABT263)가 동일한 노드의 BCLxL을 침윤하여 상승작용성 효과를 달성한다는 것을 확인해 주었다. 특히, 상승작용 점수는 NCIH23 (7.42), NCIH2110 (7.03), NCIH1568 (12.7) 및 A549 (28.3)에서 크게 감소하였다.

[0098] ABT199 (베네토클락스)도 E7107과의 조합물로 시험하였다. ABT199는 BCLxL에 대하여 활성인 더 BCL2-선택적인 억제제이다. MCL1-비의존성 A549 세포에서의 E7107과 ABT199의 조합물은 상승작용성 활성 (점수=32.6)을 나타낸 반면, BCLxL의 녹다운은 상승작용성을 크게 감소시켰다 (점수=16.4) (도 11).

[0099] **5. H3B-8800과 BCL2, BCL2/BCLxL 또는 BCLxL 억제제와의 조합물은 상승작용성 효과를 나타냄**

[0100] 또 다른 SF3b를 표적으로 하는 스플라이싱 조정제인 H3B-8800도 모든 항-아폽토시스성 BCL2 단백질의 광범위한 표적화를 통하여 강화된 세포 사멸을 제공할 수 있는 BCL2/BCLxL 억제제와의 잠재적인 상승작용성 활성에 대하여 평가하였다.

[0101] BCL2/BCLxL/BCLw 범 억제제인 ABT263 (나비토클락스)를 12×12 투여량 행렬 모드로 H3B-8800과의 조합물로 시험하였다. 상기 2종 억제제의 조합물은 U266B1 (상승작용 점수=41.3) 및 RPMI8226 (상승작용 점수=40.1)을 포함한 2종의 서로 다른 다발성 골수종 세포주 모델에서 로에베 상가성 모델에 비해 커다란 과량으로 강한 상승작용성 효과를 나타내었다 (도 12).

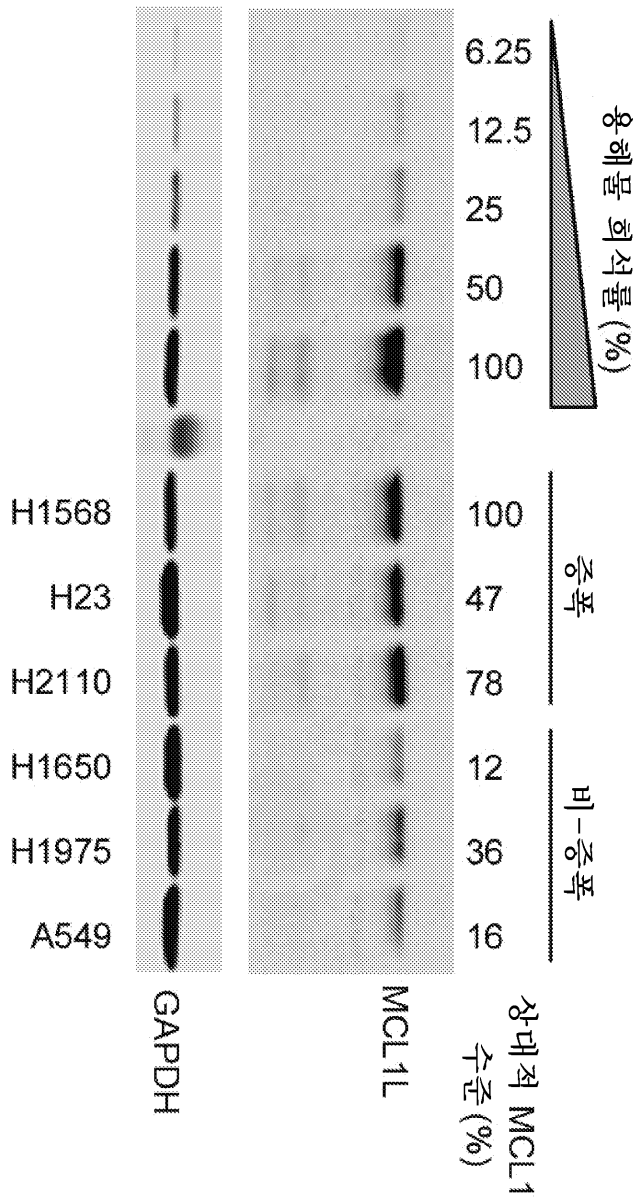
[0102] ABT199 (베네토클락스)도 H3B-8800과의 조합물로 시험하였다. ABT199는 BCLxL에 대하여 활성인 더 BCL2-선택적인 억제제이다. H3B-8800과 ABT199의 조합물도 역시 2종의 시험된 다발성 골수종 세포주 모델 JLN3 (상승작용 점수=26.1) 및 RPMI8226 (상승작용 점수=19)에서 상승작용성 활성을 나타내었다 (도 13).

[0103] 또한, A-1331852도 H3B-8800과의 조합물로 시험하였다. A-1331852는 더 BCLxL-선택적인 억제제이다. H3B-8800과 A-1331852의 조합물은 2종의 시험된 다발성 골수종 세포주 모델 RPMI8226 (상승작용 점수=68.3) 및 MM1S (상승작용 점수=56.8)에서 실질적인 상승작용성 활성을 나타내었다 (도 14).

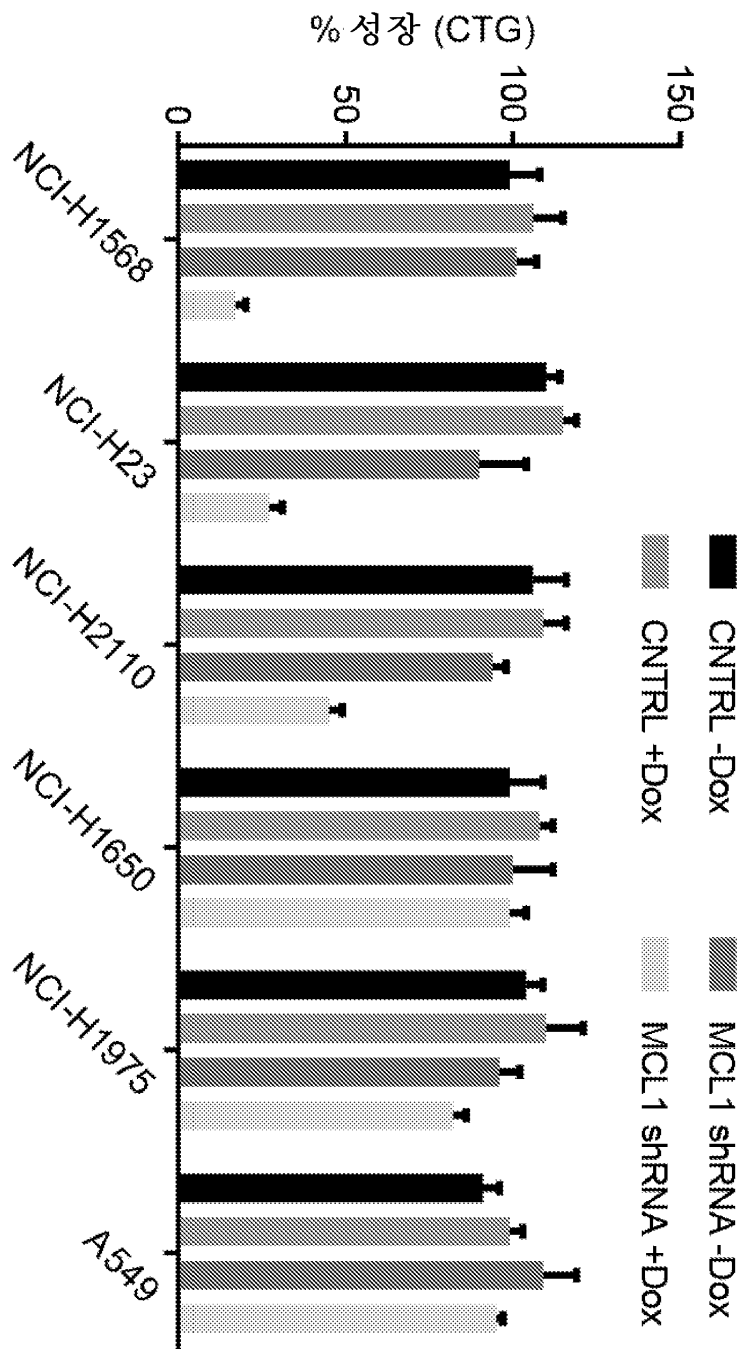
[0104] 합쳐 보면, 이들 데이터는 플라디에놀리드-유래 스플라이싱 조정제 (예를 들어, E7107 또는 H3B-8800)의 BCL2, BCL2/BCLxL 또는 BCLxL 억제제 (예를 들어, ABT263, ABT199 또는 A-1331852)와의 조합물이 다양한 암 세포에서 상승작용성인 세포독성을 유도한다는 것을 표시한다. 따라서, 이와 같은 데이터는 암의 치료에서 플라디에놀리드 스플라이싱 조정제와 BCL2, BCL2/BCLxL 또는 BCLxL 억제제의 조합물을 사용하는 것을 뒷받침하고 있다.

도면

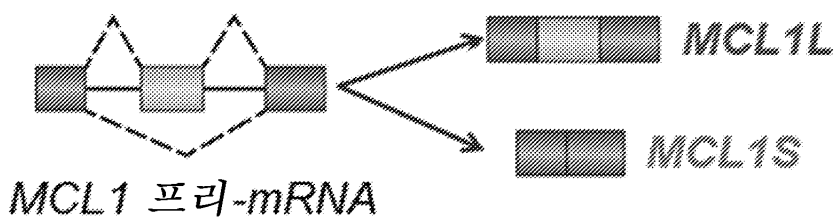
도면1



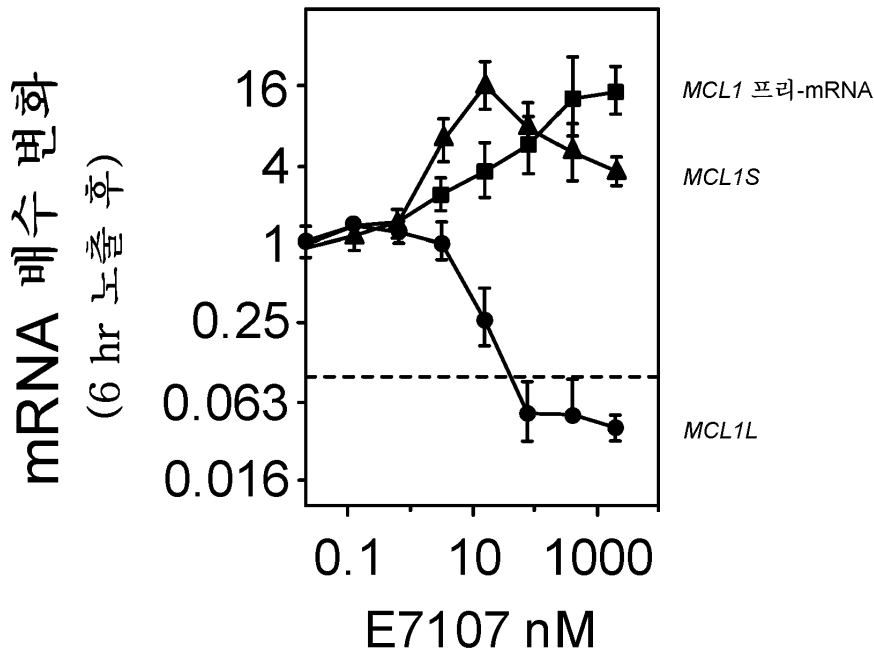
도면2



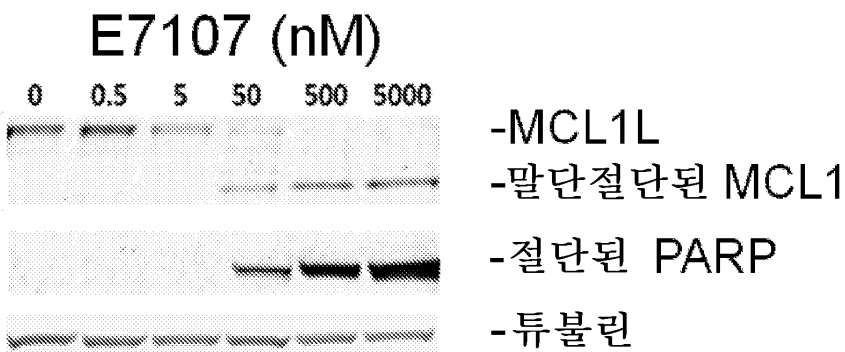
도면3



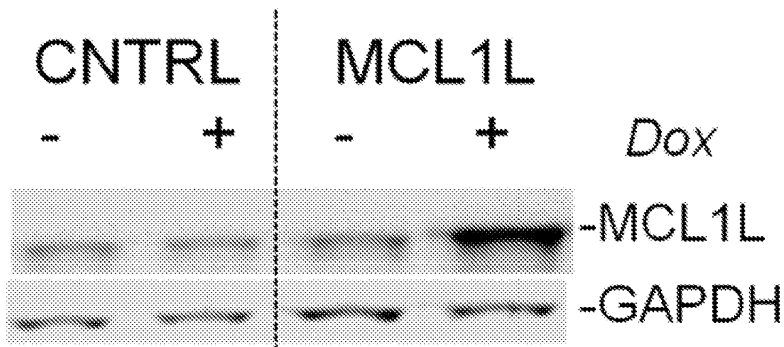
도면4



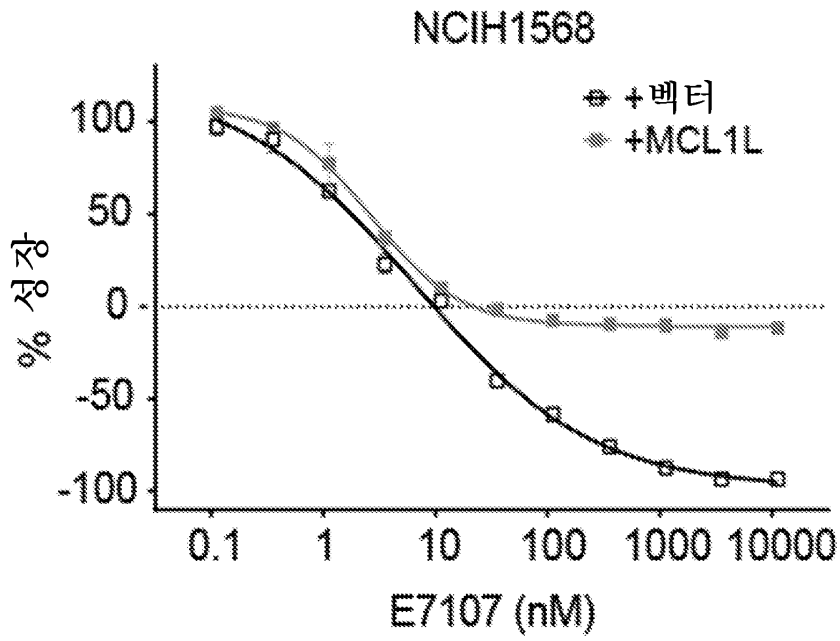
도면5



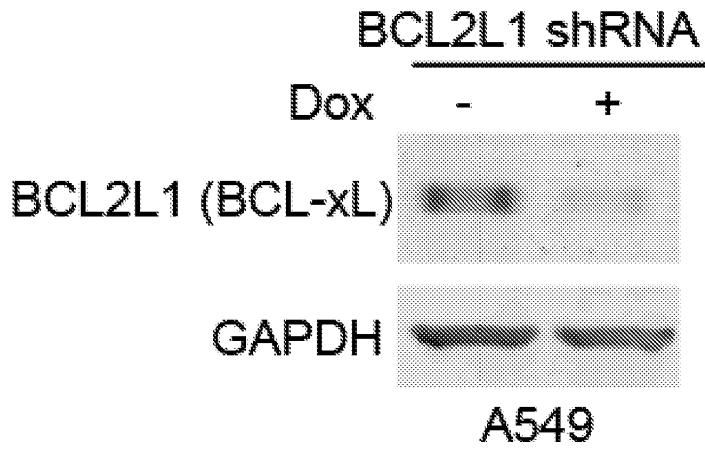
도면6



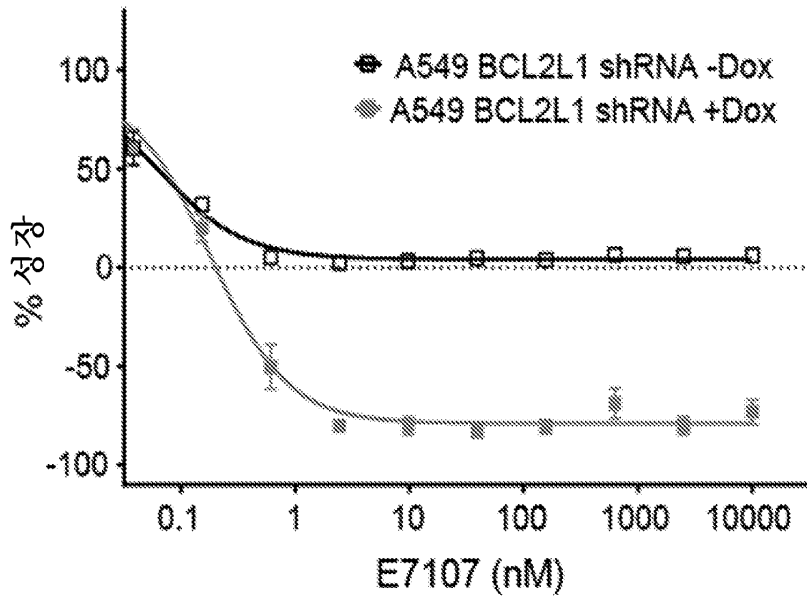
도면7



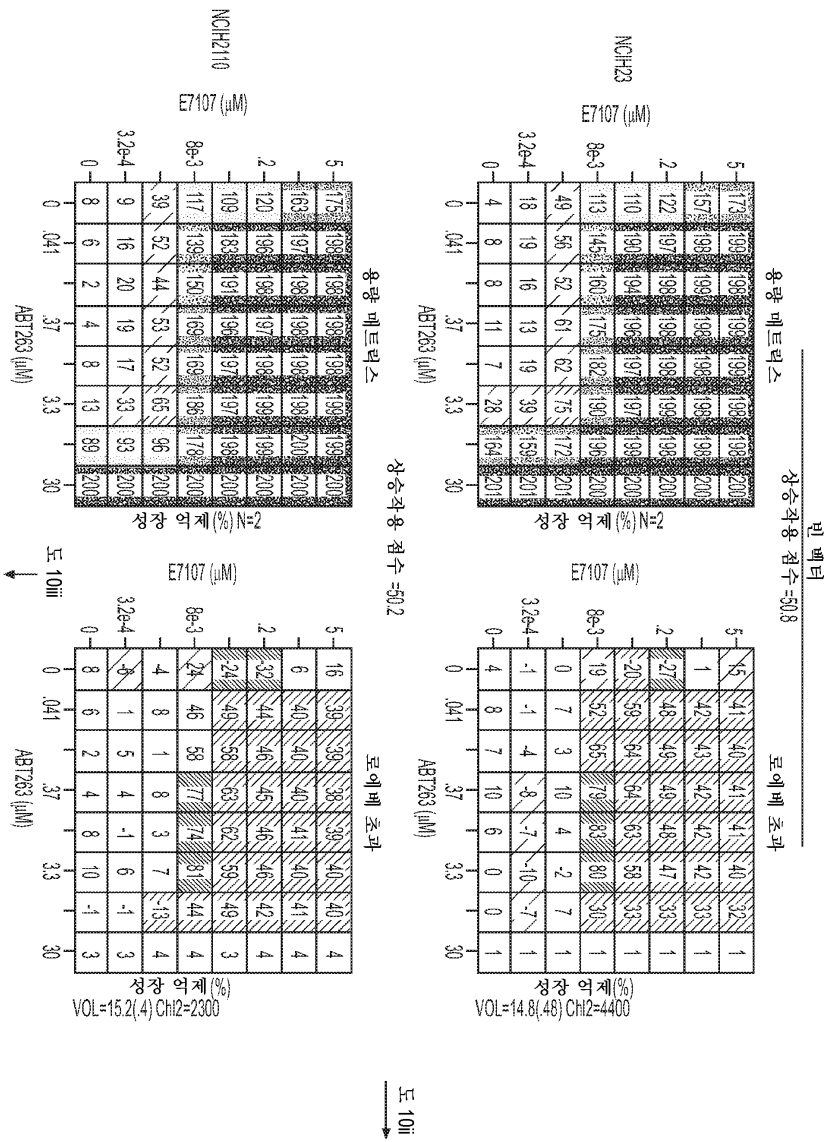
도면8



도면9

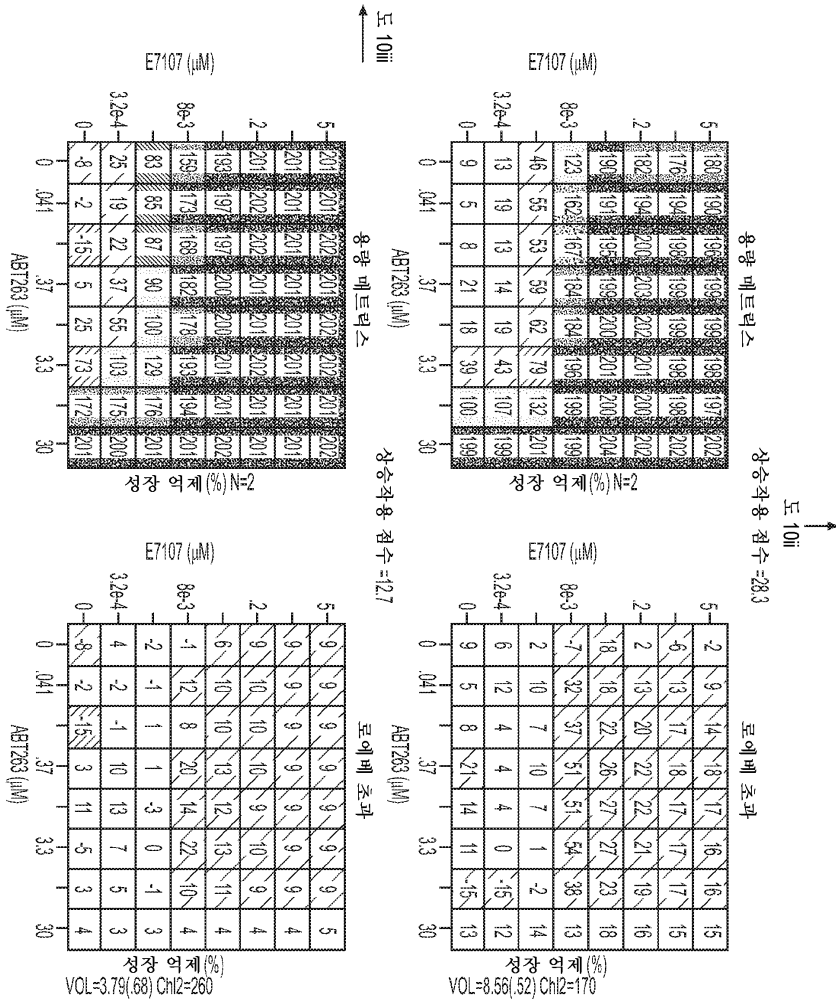


도면10i



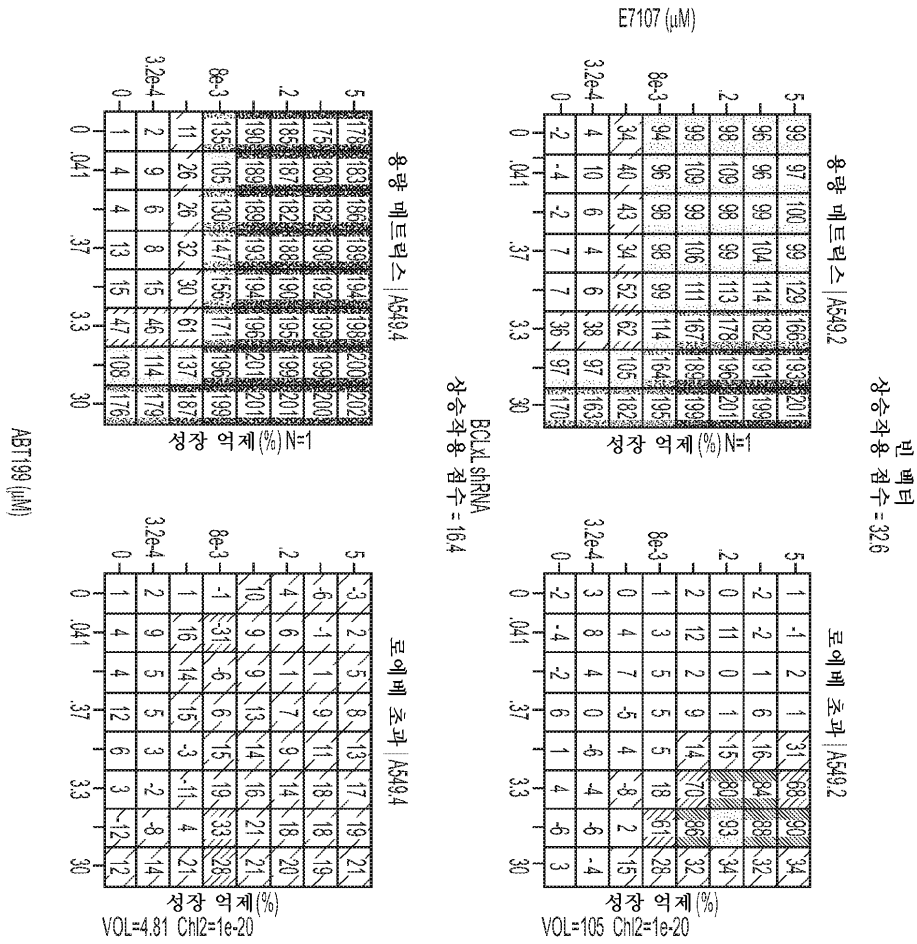
도 10i	도 10ii
도 10iii	도 10iv

도면10iv

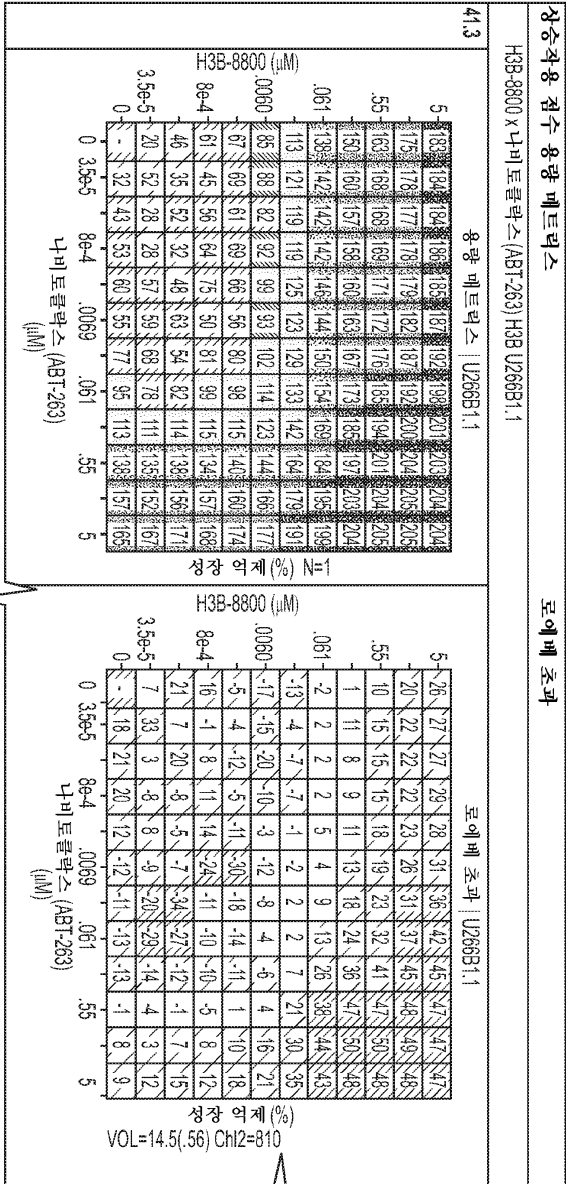


도 10i	도 10ii
도 10iii	도 10iv

도면11

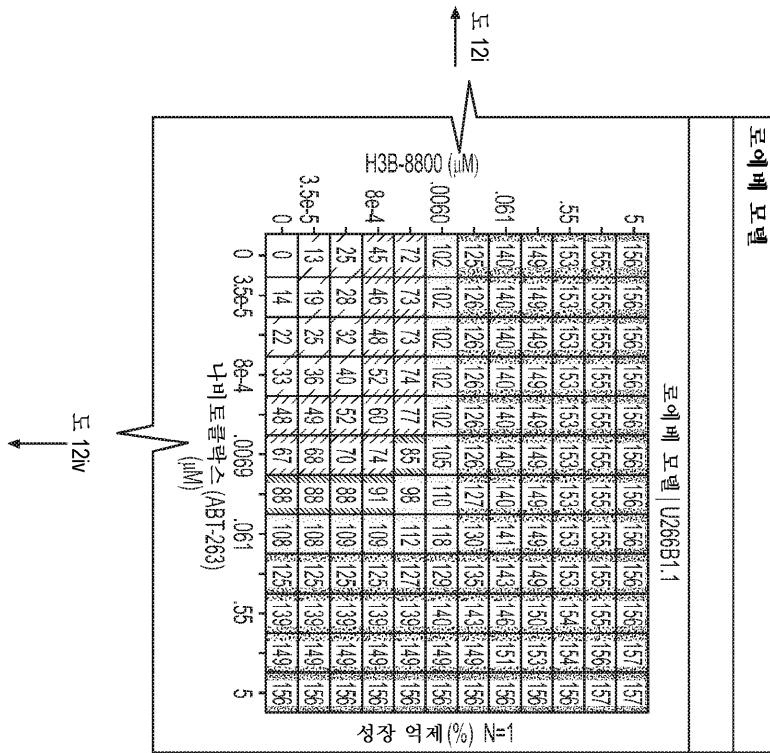


도면12i



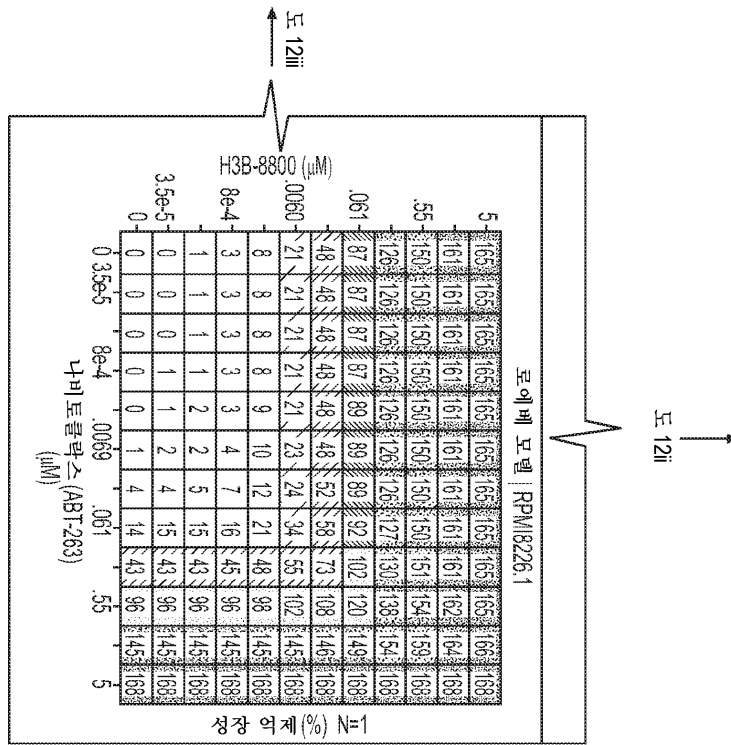
도 12i	도 12ii
도 12iii	도 12iv

도면12ii



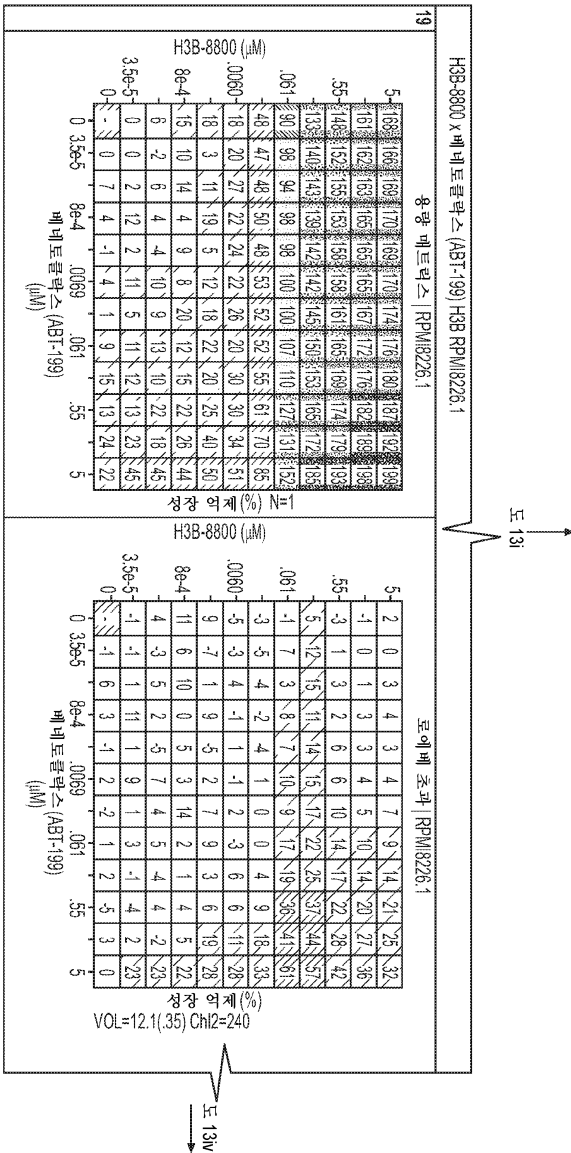
도 12i	도 12ii
도 12iii	도 12iv

도면12iv



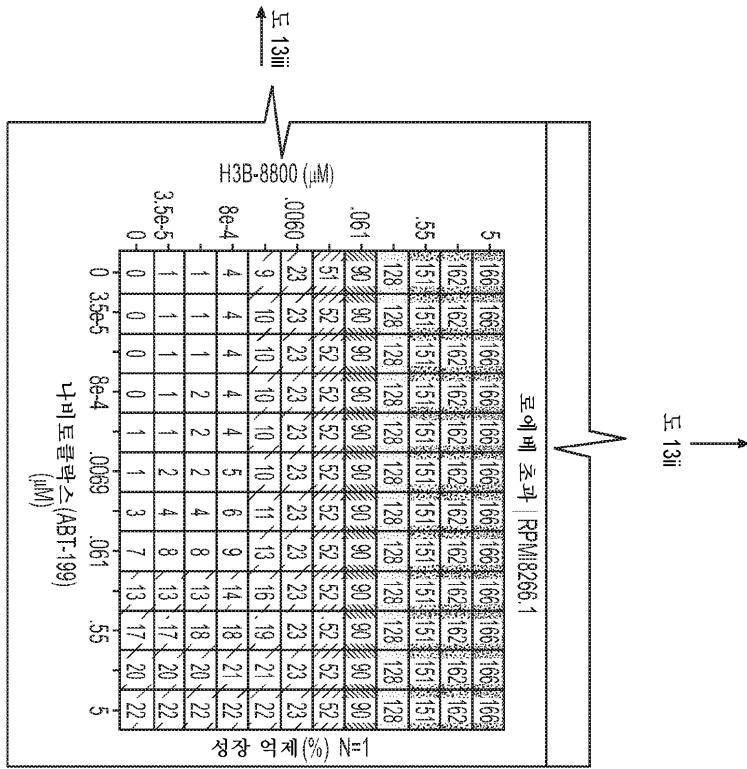
도 12i	도 12ii
도 12iii	도 12iv

도면13iii



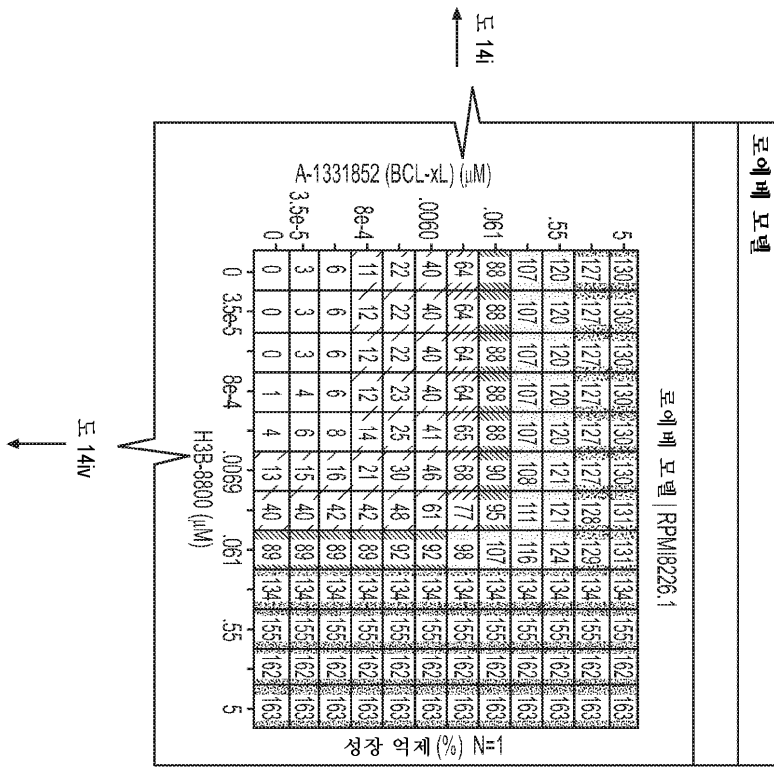
도 13i	도 13ii
도 13iii	도 13iv

도면13iv



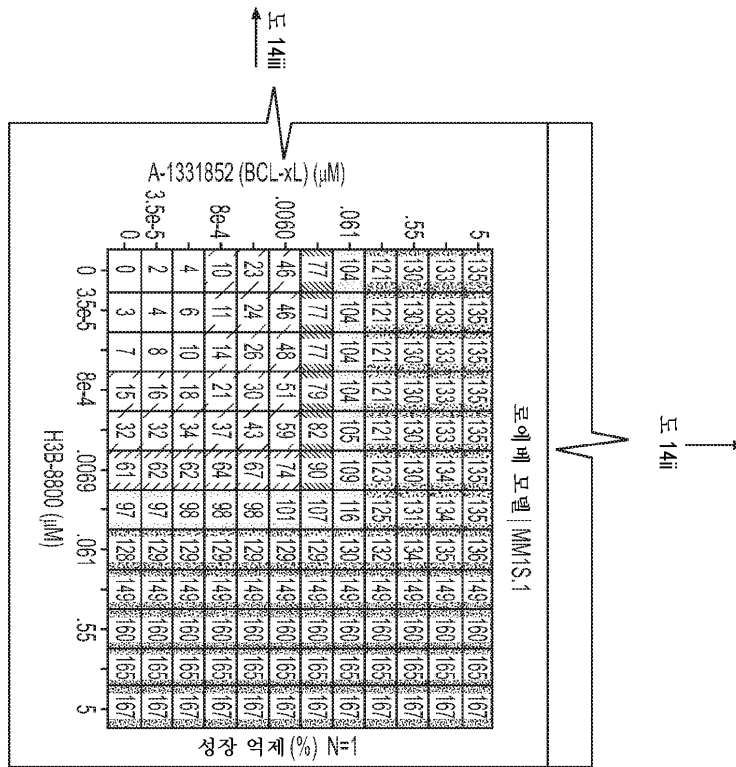
도 13i	도 13ii
도 13iii	도 13iv

도면14ii



도 14i	도 14ii
도 14iii	도 14iv

도면14iv



도 14i	도 14ii
도 14iii	도 14iv

서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> EISAI R&D MANAGEMENT CO., LTD.

<120> COMBINATION COMPRISING AT LEAST ONE SPLICEOSOME MODULATOR AND AT LEAST ONE INHIBITOR CHOSEN FROM BCL2 INHIBITORS, BCL2/BCLXL INHIBITORS, AND BCLXL INHIBITORS AND METHODS OF USE

<130> 08061.0033-00304

<140> PCT/US2018/058277

<141> 2018-10-30

<150> 62/580,364

<151> 2017-11-01

<150> 62/579,666

<151> 2017-10-31

<160> 12

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 4

<212> PRT

<213> Unknown

<220><221> source

<223> /note="Description of Unknown:

DEAH box helicase 9 (DHX9) peptide"

<400> 1

Asp Glu Ala His

1

<210> 2

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

primer"

<400> 2

atatgcaaaa ccagctccta c

21

<210> 3

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

primer"

<400> 3

aaggacaaaa cgggactgg

19

<210> 4
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 probe"
 <400> 4
 agaactccac aaacctatcc cagc 24
 <210> 5
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 primer"
 <400> 5
 aaagccaatg ggcaggt 17
 <210> 6
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 primer"
 <400> 6
 ccaccttcta ggtcctctac at 22
 <210> 7
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 probe"

<400> 7
tccacaaacc catcttgga ggcc 24

<210> 8
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer"

<400> 8
gacaaaggag gccgtgagga 20

<210> 9
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer"

<400> 9
gtttgttacg ccgtcgetga aa 22

<210> 10
<211> 23
<
212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
probe"

<400> 10
tcaggcatgc ttcgaaact gga 23

<210> 11
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 11

gctcactctt cagtcggaaa t

21

<210> 12

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 12

gcatcgaacc attagcagaa a

21