



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0098812
(43) 공개일자 2017년08월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/5377 (2006.01) A61K 31/44 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/5377 (2013.01)
A61K 31/44 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-7015388
(22) 출원일자(국제) 2015년11월06일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2017년06월05일
(86) 국제출원번호 PCT/US2015/059512
(87) 국제공개번호 WO 2016/073877
국제공개일자 2016년05월12일
(30) 우선권주장
62/077,127 2014년11월07일 미국(US)

(71) 출원인
램 테라퓨틱스, 인코포레이티드
미국, 코네티컷 06437, 길퍼드, 530 올드 윗필드 스트리트
(72) 발명자
비해리, 닐
미국, 코네티컷 06437, 길퍼드, 530 올드 윗필드 스트리트
게일, 소피아
미국, 코네티컷 06437, 길퍼드, 530 올드 윗필드 스트리트
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
손민

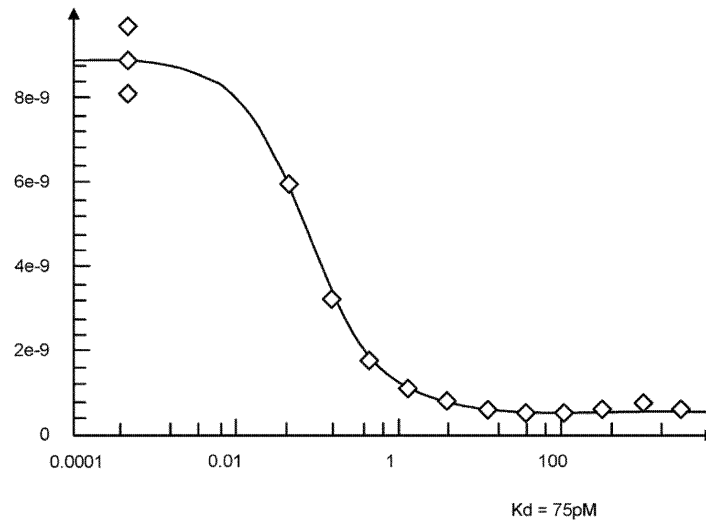
전체 청구항 수 : 총 22 항

(54) 발명의 명칭 신장암의 치료에 사용하기 위한 아필리모드

(57) 요약

본원은 아필리모드를 이용하여 신장암을 치료하기 위한 방법 및 관련된 조성물 및 방법에 관한 것이다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 31/506 (2013.01)

A61K 45/06 (2013.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

(72) 발명자

란드레데, 셴

미국, 코네티컷 06437, 길퍼드, 530 올드 윗필드 스트리트

베케트, 폴

미국, 코네티컷 06437, 길퍼드, 530 올드 윗필드 스트리트

콘래드, 크리스

미국, 코네티컷 06437, 길퍼드, 530 올드 윗필드 스트리트

수, 티안

미국, 코네티컷 06437, 길퍼드, 530 올드 윗필드 스트리트

로스버그, 조나단, 엠.

미국, 코네티컷 06437, 길퍼드, 530 올드 윗필드 스트리트

리히텐슈타인, 헨리

미국, 코네티컷 06437, 길퍼드, 530 올드 윗필드 스트리트

명세서

청구범위

청구항 1

치료학적 유효량의 아필리모드 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 신장암을 갖는 개체에서 신장암 치료하기 위한 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 아필리모드는 아필리모드 디메실레이트인, 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 적어도 하나의 추가의 활성제를 추가적으로 포함하는 것인, 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 적어도 하나의 추가의 활성제는 치료제 또는 비-치료제, 또는 치료제 및 비-치료제의 조합인, 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 적어도 하나의 추가의 활성제는 단백질 키나아제 억제제, PD-1/PDL-1 경로 억제제, 체크포인트 억제제, 백금계 항-종양제, 토포아이소머라제 억제제, 뉴클레오시드 대사 억제제, 알킬화제, 인터칼레이팅제, 튜블린 결합제, 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 치료제인, 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 치료제는 단백질 키나아제 억제제인, 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 단백질 키나아제 억제제는 파조파닙 또는 소라페닙, 또는 이의 조합인, 조성물.

청구항 8

제5항에 있어서, 상기 치료제는 PD-1/PDL-1 경로 억제제인, 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 치료제는 펌브롤리주맙(Keytruda), 아벨루맙, 아테졸리주맙(MPD3280A), 니볼루맙(BMS-936558), 피딜리주맙(MK-3475), MSB0010718C, 및 MEDI4736으로부터 선택되는 것인, 조성물.

청구항 10

제2항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 아필리모드의 하나 이상의 부작용을 개선하기 위해 선택된 비-치료제를 추가적으로 포함하는 것인, 조성물.

청구항 11

제4항에 있어서, 상기 적어도 하나의 추가의 활성제는 비-치료제인, 조성물.

청구항 12

제10항 또는 제11항에 있어서, 상기 비-치료제는 온단세트론, 그라니세트론, 돌세트론, 및 팔로노세트론으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 조성물.

청구항 13

제10항 또는 제11항에 있어서, 상기 비-치료제는 핀돌롤 및 리스페리돈으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 조성물.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 개체의 암세포에서 PIKfyve 키나아제 활성을 억제하기 위한 유효한 양의 아필리모드 디메실레이트를 포함하는 것인, 조성물.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 신장암은 표준 치료법에 대해 난치성 또는 전이성인, 조성물.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 신장암은 투명 세포 신장 암종, 이행 세포 암종, 윌름 종양(신아세포종), 신장 육종, 및 양성(암이 아닌) 신장 종양, 신장 선종, 호산성과립세포종, 및 혈관근지방종으로부터 선택되는 것인, 조성물.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 경구 또는 정맥 내 투여에 적합한 형태인, 조성물.

청구항 18

아필리모드 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 치료학적 유효량의 조성물을 신장암의 치료를 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 상기 개체에서 신장암을 치료하는 방법.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 아필리모드는 아필리모드 디메실레이트인, 방법.

청구항 20

제18항 또는 제19항에 있어서, 상기 치료적 유효량의 아필리모드는 상기 개체의 신장 암세포에서 PIKfyve 키나아제 활성을 억제하기 위한 유효한 양인, 방법.

청구항 21

신장 암세포를 상기 세포의 증식을 억제하는데 유효한 양의 아필리모드 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염과 접촉시키는 단계를 포함하는, 신장 암세포의 증식을 억제하는 방법.

청구항 22

신장 암세포를 상기 암세포에서 PIKfyve 키나아제 활성을 억제하는데 유효한 양의 아필리모드 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염과 접촉시키는 단계를 포함하는, 신장 암세포의 생존을 억제하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

관련 출원

[0002]

본 출원은 2014년 11월 7일에 출원한 U.S. 특허 출원 번호 62/077,127에 대한 우선권을 주장하고, 그 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0003]

기술분야

[0004]

본원은 아필리모드를 포함하는 조성물 및 신장암의 치료를 위해 이를 사용하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0005]

STA-5326이라고도 불리는, 아필리모드(apilimod)는, IL-12 및 IL-23의 강력한 전사 억제제로서 인정된다[Wada *et al.* *Blood* 109 (2007): 1156-1164]. IL-12 및 IL-23은 항원 자극에 반응하여, B-세포 및 대식세포와 같은, 면역 세포에 의해 일반적으로 생산되는 염증성 사이토카인이다. 자가면역 장애 및 만성 염증으로 특징지어지는 다른 장애는 부분적으로 이들 사이토카인의 부적절한 생산에 의해 특징지어진다. 면역 세포에서, 아필리모드에 의한 IL-12/IL-23 전사의 선택적 억제는 최근에 아필리모드의 포스파티딜이노시톨-3-포스페이트 5-키나아제 (PIKfyve: phosphatidylinositol-3-phosphate 5-kinase)에 대한 직접적 결합에 의해 매개되는 것으로 밝혀졌다 [참조: Cai *et al.* *Chemistry and Biol.* 20 (2013):912-921]. PIKfyve는 Toll-유사 수용체 신호전달에서 역할을 하고, 이는 선천성 면역에 중요하다.

[0006]

면역 조절제 및 IL-12/IL-23의 특이적 억제제로서의 활성화에 기초하여, 아필리모드는 자가면역 및 염증성 질병 및 장애를 치료하는데 유용하다고 제안되어 왔다[US 6,858,606 및 6,660,733(류마티스 관절염, 패혈증, 크론병, 다발성 경화증, 건선 또는 인슐린 의존성 당뇨병과 같은, IL-12 또는 IL-23 과잉 생산을 특징으로 하는 병증 및 장애 치료에 유용한 것으로 알려진, 아필리모드를 포함하는, 피리미딘 화합물 군을 기술하고 있다)]. 유사하게, 아필리모드는 c-Rel 또는 IL-12/23을 억제하는 활성화에 기초하여 특정 암을, 특히 이들 사이토카인이 비정상적인 세포 증식 역할을 촉진시키는 역할을 하는 것으로 여겨지는 암을 치료하기 위해 유용하다고 제안되었다[WO 2006/128129 및 Baird *et al.*, *Frontiers in Oncology* 3:1 (2013, 각각)].

[0007]

아필리모드의 세 가지 임상적 실험 각각은 자가면역 및 염증성 질병에서의 잠재적 효능에 초점을 맞추고 있다. 이 실험은 건선, 류마티스 관절염, 및 크론병을 가진 환자에게 실시되었다. 건선 환자의 공개 임상 연구는 아필리모드의 경구 투여가 TH1 및 TH17 매개된 염증성 질병의 치료를 위한 IL-12 / IL-23 합성 억제를 지원하는

면역조절 활성을 나타냈다고 결론지었다[Wada et al., PLoSOne 7:e35069 (4월, 2012)]. 그러나, 류마티스 관절염과 크론병에 대한 대조 실험 결과는 아필리모드에 의한 IL-12 / IL-23 저해가 이러한 징후의 임상적 개선으로 이어진다는 생각을 지지하지 못했다. 류마티스 관절염 환자에서 아필리모드의 무작위, 이중-맹검, 위약-대조 제2상 임상 실험에서 아필리모드는 활막 IL-12 및 IL-23 발현을 변경하지 못했다[Krausz et al., *Arthritis & Rheumatism* 64:1750-1755 (2012)]. 상기 저자는 "결과가 아필리모드에 의한 IL-12/IL-23 저해가 RA에서 강력한 임상적 개선을 유도할 수 있다는 생각을 지지하지 않는다"고 결론지었다. 유사하게, 활동성 크론병의 치료를 위한 아필리모드의 무작위, 이중 맹검, 위약-대조 실험에서도, 내약성이 우수하지만, 아필리모드는 위약을 넘는 효능을 입증하지 못한다고, 결론지었다[Sands et al *Inflamm Bowel Dis.* 2010 Jul;16(7):1209-18].

[0008] mTOR(mammalian target of rapamycin) 경로는 세포 성장, 세포 증식, 물질대사, 단백질 합성, 및 자가포식을 포함하는, 여러 생리학적 기능과 관련된 세포 신호전달에서 중요하다(La Plante et al *Cell* 2012, (149 (2), pp.274-293). mTOR는 아미노산, 스트레스, 산소, 에너지, 및 성장 인자의 수준을 알려주는 세포내 및 세포외 신호를 통합하고 이러한 환경 신호에 대한 세포 반응을 조절하는 키나아제이다. mTOR 조절완화(deregulation)는, 암, 비만, 당뇨, 및 신경 퇴화를 포함하는, 다양한 장애 및 질병에 관련되어 왔다. mTOR 경로의 특정 성분은 이러한 질병 중 일부를 치료하기 위한 약물 표적으로서 연구되었다. 그러나, 예를 들어, 일부 암의 치료에서 치료학적 효능이 제한되었고 일부 mTOR 억제제는 물질대사에서 부정적 효과를 갖는 것으로 나타났다. 결절성 경화증 복합 종양 억제 유전자인, TSC1 및 TSC2는, mTOR의 네가티브 조절자이다.

발명의 내용

[0009] 발명의 요약

[0010] 본원은 부분적으로 아필리모드가 TSC null 세포에서 높은 세포독성제라는 놀라운 발견에 근거한다. 이러한 세포에서, mTOR 경로는 구성적으로 활성화적이다. mTOR 경로는 여러 암에서 활성화되며 100개 이상의 암세포주의 추가적인 스크리닝에서 아필리모드는 신장 세포 암종을 포함하는, 다양한 암으로부터의 세포주에서 항-증식 활성을 나타냈다. 또한, 암 세포주에서 아필리모드의 세포독성 활성은, 아필리모드의 면역조절 활성을 기초하여 예측되었던 바와 같이, 아필리모드의 IL-12/23 생산 억제보다는 세포내 트래피킹의 억제 및 상응하는 세포자멸사(apoptosis) 및/또는 자가포식의 증가에 기인하였다. 또한, 450개가 넘는 키나아제의 스크리닝은 PIKfyve를 아필리모드에 대한 유일한 높은 친화력의 결합 표적(Kd=75pM)으로 밝혀냈다. 본원은 암 신장 세포암의 치료에 아필리모드의 치료학적 사용을 위한 새로운 방법을 제공한다.

[0011] 일 양태에서, 본원은 신장암을 가진 개체에서 신장암을 치료하기 위한 조성물을 제공하고, 상기 조성물은 치료학적 유효량의 아필리모드, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함한다. 구현예에서, 아필리모드는 아필리모드 디메실레이트이다. 구현예에서, 조성물은 경구 또는 정맥내 투여에 적합한 형태이다. 구현예에서, 조성물은 치료제 또는 비-치료제, 또는 치료제 및 비-치료제의 조합으로부터 선택되는, 적어도 하나의 추가적인 활성제를 추가적으로 포함한다. 구현예에서, 적어도 하나의 추가적인 활성제는 단백질 키나아제 억제제, 백금계 항-종양제, 토포아이소머라제 억제제, 뉴클레오시드 대사 억제제, 알킬화제, 인터칼레이팅제(intercalating agent), 튜블린 결합제, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 치료제이다. 구현예에서, 치료제는 단백질 키나아제 억제제이다. 구현예에서, 단백질 키나아제 억제제는 파조파닙(pazopanib) 또는 소라페닙(sorafenib), 또는 이들의 조합이다. 상기 조성물은 아필리모드의 하나 이상의 부작용을 개선하기 위해 선택된 비-치료제를 추가적으로 포함한다. 구현예에서, 비-치료제는 온단세트론(ondanesetron), 그라니세트론(granisetron), 돌세트론(dolsetron), 및 팔로노세트론(palonosetron)으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 구현예에서, 비-치료제는 핀돌롤(pindolol) 및 리스페리돈(risperidone)으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0012] 구현예에서, 개체의 암세포에서 PIKfyve 키나아제 활성을 억제하기 위한 유효한 양의 아필리모드 디메실레이트를 포함한다. 일부 구현예에서 신장암은 표준치료법에 대해 난치성 또는 전이성일 수 있다. 구현예에서, 신장암은 투명 세포 신장 암종, 이행 세포 암종, 윌름 종양(신아세포종), 신장 종양, 및 양성(암이 아닌) 신장 종양, 신장 선종, 호산성과립세포종, 및 혈관근지방종으로부터 선택된다.

[0013] 일 양태에서, 본원은 치료를 필요로 하는 개체에서 신장암을 치료하기 위한 방법을 제공하고, 상기 방법은 아필리모드의 치료학적 유효량, 또는 아필리모드를 포함하는 조성물을 개체에게 투여하는 것 포함하고, 상기 아필리모드는 아필리모드 그 자체(즉, 아필리모드 유리 염기), 또는 아필리모드의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화합물, 클라스테이트(clathrate), 수화물, 다형체, 전구 약물, 유사체 또는 유도체를 포함한다. 일 구현예에서, 아필리모드는 아필리모드 유리 염기 또는 아필리모드 디메실레이트이다.

- [0014] 구현예에서, 방법은 개체에게 적어도 하나의 추가적인 활성제를 투여하는 단계를 추가적으로 포함한다. 적어도 하나의 추가적인 활성제는 치료제 또는 비-치료제일 수 있다. 적어도 하나의 추가적인 활성제는 아필리모드와 함께 단일 용량 형태, 또는 아필리모드로부터 분리된 용량 형태로 투여될 수 있다. 구현예에서, 적어도 하나의 추가적인 활성제는 단백질 키나아제 억제제, 백금계 항-종양제, 토포아이스머라제 억제제, 뉴클레오시드 대사 억제제, 알킬화제, 인터칼레이팅제, 튜블린 결합제, PD-1/PDL-1 경로 억제제, 및 이들의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택된 치료제이다. 구현예에서, 치료제는 단백질 키나아제 억제제이다. 구현예에서, 단백질 키나아제 억제제는 파조파닙 또는 소라페닙, 또는 이들의 조합이다. 구현예에서, 적어도 하나의 추가적인 활성제는 소라페닙(Nexavar®), 수니티닙(Sutent®) 템시롤리무스(Torisel®), 에베로리무스(Afinitor®), 베바시주맵(Avastin®), 파조파닙(Votrient®), 엑시티닙(Inlyta®) 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 치료제이다. 구현예에서, 치료제는 PD-1/PDL-1 경로 억제제이다. 구현예에서, PD-1/PDL-1 경로 억제제는 캄브롤리주맵(Keytruda), 아벨루맵(avelumab), 아테졸리주맵(MPDL3280A), 니볼루맵(BMS-936558), 피딜리주맵(MK-3475), MSB0010718C, 및 MEDI4736으로부터 선택된다.
- [0015] 구현예에서, 적어도 하나의 활성제는 아필리모드의 하나 이상의 부작용을 개선하기 위해 선택된 비-치료제이다. 구현예에서, 비-치료제는 온단세트론, 그라니세트론, 돌세트론, 및 팔로노세트론으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일 구현예에서, 비-치료제는 핀돌롤 및 리스페리돈으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일 구현예에서 아필리모드 조성물의 용량 형태는 경구 용량 형태이다. 다른 구현예에서, 아필리모드 조성물의 용량 형태는 정맥내 투여를 위해 적합하고, 투여는 단일 주사 또는 드립 백에 의한다.
- [0016] 일 구현예에서, 개체는 인간 암 환자이다. 일 구현예에서, 아필리모드를 이용한 치료가 필요한 인간 암 환자는 표준 화학요법 처방에 난치성인 암을 가진 환자이다. 일 구현예에서, 아필리모드를 이용한 치료가 필요한 인간 암 환자는 표준 화학요법 처방으로 치료한 후 재발한 암을 가진 환자이다. 일 구현예에서, 암은 신장암이다. 일 구현예에서, 신장암은 이행 세포 암종, 윌름 종양(신아세포종), 신장 종양, 및 양성(암이 아닌) 신장 종양, 신장 선종, 호산성과립세포종, 및 혈관근지방종이다. 일 구현예에서, 신장 암은 투명 세포 신장 세포 암종이다.
- [0017] 일 구현예에서, 표준 화학요법 처방은 이부르티닙(ibrutinib), 리툭시맵(rituximab), 독소루비신(doxorubicin), 프레드니솔론(prednisolone), 빈크리스틴(vincristine), 벨케이드(velcade), 사이클로포스포아마이드(cyclophosphamide), 텍사메타손(dexamethasone) 및 에베로리무스로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 치료제를 포함한다.
- [0018] 일 구현예에서, 상기 방법은 신장 암 치료를 위한 아필리모드 및 화학요법 처방을 포함하는 병용 요법을 사용하여 신장 암을 치료하기 위한 방법이다. 구현예에서, 화학요법 처방은 PD-1/PDL-1 경로 억제제를 포함한다. 구현예에서, PD-1/PDL-1 경로 억제제는 캄브롤리주맵(Keytruda), 아벨루맵, 아테졸리주맵(MPDL3280A), 니볼루맵(BMS-936558), 피딜리주맵(MK-3475), MSB0010718C, 및 MEDI4736으로부터 선택된다.
- [0019] 다른 구현예에서, 상기 방법은 신장암 치료하기 위한 아필리모드 및 면역요법 처방을 포함하는 병용 요법을 사용하여 신장암을 치료하는 방법이다. 일 구현예에서 면역요법 레지메(regime)는 인터루킨-2(IL-2) 레지메 또는 알파-인터페론 레지메이다. 일 구현예에서, 면역요법 처방은 PD-1/PDL-1 경로 억제제를 포함한다. 구현예에서, PD-1/PDL-1 경로 억제제는 캄브롤리주맵(Keytruda), 아벨루맵, 아테졸리주맵(MPDL3280A), 니볼루맵(BMS-936558), 피딜리주맵(MK-3475), MSB0010718C, 및 MEDI4736으로부터 선택된다.
- [0020] 일부 구현예에서, 상기 방법은 신장 암을 치료하기 위해 아필리모드 및 단백질 키나아제 억제제 처방을 포함하는 병용 요법을 사용하여 신장 암을 치료하는 방법이다. 일 구현예에서, 단백질 키나아제 억제제 처방은 소라페닙, 수니티닙, 베바시주맵, 렌바티닙(lenvatinib), 에베로리무스이다.

도면의 간단한 설명

- [0021] 도 1: TSC2 결핍 세포는 아필리모드에 매우 민감하다($IC_{50} = 20 \text{ nM}$).
- 도 2A: IC_{50} 이 500nM보다 작은 세포주의 퍼센트.
- 도 2B: 정상 폐 섬유아세포는 10 마이크로몰라(micromolar) 같이 높은 아필리모드 농도에서 아필리모드-유도된 세포독성에 민감하지 않다.
- 도 3: 아필리모드는 용량-의존적 방식으로 자가포식을 유도한다.

도 4: 최적화된 캡처 조건에서 0.1 μ M 농도의 CT-689를 적용한 유의한 캡처된 히트의 볼케이노(volcano) 플랏.

도 5: 아필리모드는 PIKfyve와 높은 친화도로 결합한다($K_d = 75\text{pM}$).

도 6: 신장 투명 세포 암종 세포주 769-P에서의 LAM-002의 항증식 활성, Avg. $IC_{50} = 44\text{nM}$ ($n=2$).

도 7: 신장 투명 세포 암종 세포주 RCC-MF에서의 LAM-002의 항증식 활성, Avg. $IC_{50} = 8\text{nM}$ ($n=2$).

도 8: 신장 투명 세포 암종 세포주 RCC-ER에서의 LAM-002의 항증식 활성, Avg. $IC_{50} = 9\text{nM}$ ($n=2$).

도 9: 신장 투명 세포 암종 세포주 RCC-FG2에서의 LAM-002의 항증식 활성, Avg. $IC_{50} = 32\text{ nM}$ ($n=2$).

도 10: 신장 투명 세포 암종 세포주 RCC-JF에서의 LAM-002의 항증식 활성, Avg. $IC_{50} = 60\text{nM}$ ($n=2$).

도 11: 신장 투명 세포 암종 세포주 786-0에서의 LAM-002의 항증식 활성, Avg. $IC_{50} = 71\text{nM}$ ($n=2$).

도 12: 신장 투명 세포 암종 세포주 A704에서의 LAM-002의 항증식 활성, Avg. $IC_{50} = 11\text{nM}$ ($n=2$).

도 13: 신장 투명 세포 암종 세포주 RCC-JW에서의 LAM-002의 항증식 활성, Avg. $IC_{50} = 27\text{nM}$ ($n=2$).

도 14: RCC-ER 세포에서 LAM-002 + 소라페닙 조합 (5일 어세이). A, 세포 생존력을 보여주는 막대그래프(%); B, ED_{50} , ED_{75} 및 ED_{90} 에서 조합 인덱스(CI: combination index) 값의 결정.

도 15: RCC-FG2 세포에서 LAM-002 + 소라페닙 조합 (5일 어세이). A, 세포 생존력을 보여주는 막대그래프(%); B, ED_{50} , ED_{75} 및 ED_{90} 에서 조합 인덱스(CI: combination index) 값의 결정.

도 16: RCC-MF 세포에서 LAM-002 + 소라페닙 조합 (5일 어세이). A, 세포 생존력을 보여주는 막대그래프(%); B, ED_{50} , ED_{75} 및 ED_{90} 에서 조합 인덱스(CI: combination index) 값의 결정.

도 17: 769-P 세포에서 LAM-002 + 소라페닙 조합 (5일 어세이). A, 세포 생존력을 보여주는 막대그래프(%); B, ED_{50} , ED_{75} 및 ED_{90} 에서 조합 인덱스(CI: combination index) 값의 결정.

도 18: RCC-ER 세포에서 LAM-002 + 파조파닙 조합 (5일 어세이). A, 세포 생존력을 보여주는 막대그래프(%); B, ED_{50} , ED_{75} 및 ED_{90} 에서 조합 인덱스(CI: combination index) 값의 결정.

도 19: RCC-FG2 세포에서 LAM-002 + 파조파닙 조합 (5일 어세이). A, 세포 생존력을 보여주는 막대그래프(%); B, ED_{50} , ED_{75} 및 ED_{90} 에서 조합 인덱스(CI: combination index) 값의 결정.

도 20: RCC-MF 세포에서 LAM-002 + 파조파닙 조합 (5일 어세이). A, 세포 생존력을 보여주는 막대그래프(%); B, ED_{50} , ED_{75} 및 ED_{90} 에서 조합 인덱스(CI: combination index) 값의 결정.

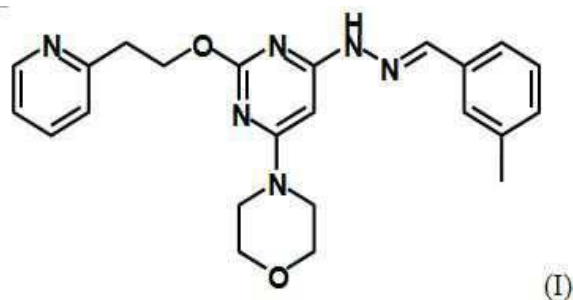
도 21: 769-P 세포에서 LAM-002 + 파조파닙 조합 (5일 어세이). A, 세포 생존력을 보여주는 막대그래프(%); B, ED_{50} , ED_{75} 및 ED_{90} 에서 조합 인덱스(CI: combination index) 값의 결정.

발명의 상세한 설명

본원은 상기 치료를 필요로 하는 개체, 바람직하게는 인간 개체에서 신장 암을 치료하기 위한 아필리모드의 사용에 관한 조성물 및 방법을 제공한다. 본원은 일반적으로 림프성 및 비-림프성 기원의 암세포 범위에 대하여, 아필리모드의 알려진 면역 조절적 활성 및 IL-12/23 억제적 활성과 명확하게 관련되지 않고 또는 예측가능성이 명백하지 않은 아필리모드의 세포독성 활성의 놀라운 발견에 기초한 새로운 아필리모드의 용도에 관한 것이다.

또한, 본원은 아필리모드 및 적어도 하나의 추가적인 치료학적 체제를 이용하는 병용 용법에 기초한 암 치료의 신규한 치료학적 접근을 제공한다. 본원에 기술된 병용 요법은 다른 항암제와 조합될 때 시너지 효과의 제공을 보여주는 아필리모드의 독특한 세포독성 활성을 이용한다.

본원에서 사용된, 용어 "아필리모드"는 아필리모드 그 자체(즉, 아필리모드 유리 염기), 또는 아래에서 설명되는, 아필리모드의 약학적으로 허용가능한 염, 용매 화합물, 클라스레이트, 수화물, 다형체, 대사물, 전구약물, 유사체 또는 유도체를 포함한다. 아필리모드의 구조는 화학식 I에서 보여준다:



아필리모드의 화학명은 2-[2-피리딘-2-일]-에톡시]-4-N'-(3-메틸-벤질리덴)-히드라지노]-6-(모르폴린-4-일)-피리미딘(IUPAC명: (E)-4-(6-(2-(3-메틸벤질리덴)히드라지닐)-2-(2-(피리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)모르폴린), 및 CAS 넘버는 541550-19-0이다.

예를 들어, 미국 특허 번호 7,923,557 및 7,863,270 및 W02006/128129에 기술된 방법에 따라 아필리모드를 제조할 수 있다.

본원에서 사용된 용어 "약학적으로 허용가능한 염"은, 예를 들어, 아필리모드의 산 및 염기 그룹으로부터 형성된 염이다. 예시가 되는 염은 설페이트, 시트레이트, 아세테이트, 옥살레이트, 클로라이드, 브로마이드, 요오다이드, 니트레이트, 바이설페이트, 포스페이트, 산성 포스페이트, 아이소니코티네이트, 락테이트, 살리실레이트, 산성 시트레이트, 타르트레이트, 올레이트, 탄네이트, 판토테네이트, 바이타르트레이트, 아스코르베이트, 숙시네이트, 말레이에이트, 베실레이트, 겐티시네이트, 푸마레이트, 글루코네이트, 글루카노네이트, 사카레이트, 포르메이트, 벤조에이트, 글루타메이트, 메탄설포네이트, 에탄설포네이트, 벤젠설포네이트, *p*-톨루엔설포네이트, 및 과모에이트(예, 1,1'-메틸렌-비스-(2-히드록시-3-나프톨레이트))염을 포함하지만, 이에 제한되는 것은 아니다.

용어 "약학적으로 허용가능한 염"은 또한 카르복실산 작용기와 같은 산성 작용기 및 약학적으로 허용가능한 무기 또는 유기 염기를 갖는 아필리모드 조성물로부터 제조된 염을 지칭한다.

용어 "약학적으로 허용가능한 염"은 또한 아미노 작용기와 같은 염기 작용기 및 약학적으로 허용가능한 무기 또는 유기 산을 갖는 아필리모드 조성물로부터 제조된 염을 지칭한다.

본원에서 기술된 화합물의 염은 문헌[Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, P. Hemrich Stalil (Editor), Camille G. Wermuth (Editor), ISBN: 3-90639-026-8, August 2002]에 기술된 방법과 같은 종래의 화학적 방법에 의해 모화합물로부터 합성될 수 있다. 일반적으로, 이러한 염은 물 또는 유기 용매, 또는 이 둘의 혼합물에서 모화합물(예, 2-[2-피리딘-2-일]-에톡시]-4-N'-(3-메틸-벤질리덴)-히드라지노]-6-(모르폴린-4-일)-피리미딘)과 적절한 산의 반응에 의해 제조될 수 있다.

본원에서 기술된 화합물의 한 염 형태는 당업자에게 공지된 방법에 의해 유리 염기 및 임의로 또 다른 염 형태로 전환될 수 있다. 예를 들어, 유리 염기는 아민 정지상을 함유하는 컬럼(예, Strata-NH₂ 컬럼)을 통해 염 용액을 통과시킴으로써 형성될 수 있다. 대안적으로, 물 중 염의 용액을 중탄산나트륨으로 처리하여 염을 분해하고 유리 염기로부터 침전시킬 수 있다. 유리 염기는 통상적인 방법을 사용하여 다른 산과 결합될 수 있다.

본원에서 사용된, 용어 "다형체"는 본원의 화합물(예, 2-[2-피리딘-2-일]-에톡시]-4-N'-(3-메틸-벤질리덴)-히드라지노]-6-(모르폴린-4-일)-피리미딘) 또는 이들이 복합체의 고체 결정 형태를 의미한다. 동일한 화합물의 다른 다형체는 상이한 물리적, 화학적 및/또는 분광학적 특성을 나타낼 수 있다. 상이한 물리적 특성은 안정성(예, 열 및 빛에 대해), 압축성 및 밀도(제형화 및 제품 제조에 중요), 및 용해 속도(생체이용률에 영향을 미칠 수 있음)를 포함하지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 안정성의 차이는 화학적 반응성(예, 차등 산화로서, 용량 형태가 다른 다형체로 구성된 때보다 하나의 다형체로 구성됐을 때 더 빠르게 변색된다) 또는 기계적 특성(예, 동력학적으로 선호되는 다형체를 열역학적으로 더 안정한 다형체로 바꿈으로서 저장시 정제가 바스러진다) 또는 둘 다(예, 하나의 다형체의 정제는 고습도에서 더 분해되기 쉽다)의 변화로부터의 결과일 수 있다. 다형체의 다른 물리적 특성은 그들의 가공에 영향을 줄 수 있다. 예를 들어, 하나의 다형체는, 예를 들어, 이것의 입자의 형상 또는 크기 분포로 인해, 또 다른 것보다 용매화합물을 형성할 가능성이 더 높을 수 있거나, 또는 불순물이 없게 여과 또는 세척하기 어려울 수 있다.

본원에서 사용된, 용어 "수화물"은 비공유 분자간 힘에 의해 결합된 물의 화학량론적 또는 비-화학량론적 양을

추가로 포함하는, 본원의 화합물(예, 2-[2-피리딘-2-일]-에톡시]-4-N'-(3-메틸-벤질리덴)-히드라지노]-6-(모르폴린-4-일)-피리미딘) 또는 이의 염을 의미한다.

본원에서 사용된, 용어 "클라스레이트"는, 게스트 분자(예, 용매 또는 물)가 안에 트랩핑되는 공간(예, 통로)을 포함하는 결정격자의 형태의 본원의 화합물(예, 2-[2-피리딘-2-일]-에톡시]-4-N'-(3-메틸-벤질리덴)-히드라지노]-6-(모르폴린-4-일)-피리미딘) 또는 이의 염을 의미한다.

본원에서 사용된, "전구 약물"은 본원의 화합물을 제공하기 위한 생물학적 상태(시험관내 또는 생체내)하에서 가수분해, 산화, 또는 다른 방식의 반응을 할 수 있는 본원에서 기술된 화합물(예, 2-[2-피리딘-2-일]-에톡시]-4-N'-(3-메틸-벤질리덴)-히드라지노]-6-(모르폴린-4-일)-피리미딘)의 유도체를 의미한다. 전구 약물은 생물학적 조건 하에서만 이러한 반응에 활성화 될 수 있거나, 반응하지 않은 형태로 활성을 가질 수 있다. 본원에서 고려된 전구 약물의 예는 생물가수분해성 아마이드, 생물가수분해성 에스테르, 생물가수분해성 카바메이트, 생물가수분해성 카보네이트, 생물가수분해성 우레아화물, 및 생물가수분해성 포스페이트 유사체와 같은 생물가수분해성 모이어티를 포함하는 본원에서 기술된 화합물(예, 2-[2-피리딘-2-일]-에톡시]-4-N'-(3-메틸-벤질리덴)-히드라지노]-6-(모르폴린-4-일)-피리미딘)의 유사체 또는 유도체를 포함하지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 전구 약물의 다른 예는 -NO, -NO₂, -ONO, 또는 -ONO₂ 모이어티를 포함하는 본원에서 개시된 임의의 화학식의 화합물의 유도체를 포함한다. 전구 약물은 통상적으로 잘 알려진 방법, 예컨대 문헌[Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery (1995) 172-178, 949-982 (Manfred E. Wolff ed., 5th ed)]에 기술된 방법을 사용하여 제조할 수 있다.

본원에서 사용된, 용어 "용매화합물" 또는 "약학적으로 허용가능한 용매화합물"은 하나 이상의 용매 분자와 본원에 개시된 화합물(예, 2-[2-피리딘-2-일]-에톡시]-4-N'-(3-메틸-벤질리덴)-히드라지노]-6-(모르폴린-4-일)-피리미딘) 중 하나와의 결합으로부터 형성된 용매화합물이다. 용매화합물이란 용어는 수화물(예를 들어 헤미-수화물, 일-수화물, 이수화물, 삼수화물, 사수화물 등)를 포함한다.

본원에서 사용된, 용어 "유사체"는 조성은 약간 다르지만 구조적으로 다른 것과 유사한 화학적 화합물을 말한다(다른 원소의 원자에 의한 한 원자의 교체 또는 특정한 작용기의 존재 또는 다른 작용기에 의한 한 작용기의 교체). 따라서, 유사체는 기능 및 외관이 유사하거나 비교 가능하지만, 기준 화합물에 대한 구조 또는 기원은 그렇지 않은 화합물이다. 본원에서 사용된, 용어 "유도체"는 공통의 중심 구조를 가지며, 본원에 기재된 다양한 기로 치환된 화합물을 의미한다.

치료 방법

본원은 이를 필요로 하는 개체에게 치료학적 유효량의 아필리모드, 또는 약학적으로 허용가능한염, 용매화합물, 클라스레이트, 수화물, 다형체, 전구 약물, 또는 이들의 유사체 또는 유도체의 투여에 의해 신장 암의 치료를 위한 방법을 제공한다.

일 구현예에서, 신장 암은 신장 세포 암종(RCC)이다. 일 구현예에서, 신장 세포 암종은 투명 세포 신장 세포 암종, 유두상 신장 세포 암종, 형색소세포 신장 세포 암종, 기타 드문 유형의 신장 세포 암종(예, 집합관 RCC, 다방성 낭포성 RCC, 수질 암종, 점액관 및 방추사 세포 암종, 신경모세포종-관련된 RCC, 분류되지 않은 신장 세포 암종), 및 전이성 RCC로 구성된 군으로부터 선택된다. 일 구현예에서, 신장 암은 이행 세포 암종, 빌름스 종양(신아세포종), 신장 육종, 및 양성(암이 아닌) 신장 종양, 신장 선종, 호산과립세포종, 및 혈관근지방종으로 구성된 군으로부터 선택된다.

본원은 또한 암을 치료하기 위한 병용 요법을 포함하는 방법을 제공한다. 본원에서 사용된, "병용 요법" 또는 "공동-요법"은 아필리모드 및 추가적인 활성제의 공동-작용으로부터 유익한 효과를 제공하기 위한 특정 치료 처방의 일부로서 아필리모드의 치료학적 유효량의 투여를 포함한다. 하나 이상의 추가적 제제는 치료제 또는 비-치료제일 수 있다. 조합의 유익한 효과는 치료학적 화합물의 조합으로 인한 약물동력학 또는 약물력학 공동 작용을 포함하지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 조합의 유익한 효과는 또한 조합에서 또 다른 제제와 관련된 독성, 부작용, 부정적 징후의 완화와 관련될 수 있다. "병용 요법"은 우연히 및 임의적으로 의도하지 않았거나 예상하지 못한 유익한 효과를 초래하는 별도의 단일요법 처방의 일부로서 2 이상의 이들 치료학적 화합물의 투여를 포함하지 않는다.

적어도 하나의 추가적인 활성제는, 예를 들어 항암제 또는 암 화학요법제, 또는 비-치료제, 및 이들의 조합인 치료제일 수 있다. 치료제와 관련하여, 조합의 유익한 효과는 치료학적으로 활성인 화합물의 조합으로 인한 약

물동력학 또는 약물력학 공동-작용을 포함하지만, 이제 제한되는 것은 아니다. 비치료제와 관련하여, 조합의 유익한 효과는 조합에서 치료학적 활성제와 관련된 독성, 부작용, 부정적 징후의 완화와 관련될 수 있다.

일 구현예에서, 적어도 하나의 추가적인 제제는 임의의 메스꺼움, 구토, 두통, 현기증, 약간 어지러움, 졸음과 스트레스로부터 선택되는 아필리모드 조성물의 하나 이상의 부작용을 완화시키는 비치료제이다. 이 구현예의 일 양태는, 비-치료제는, 5-히드록시트립타민 수용체 또는 5-HT 수용체로 알려진, 세토닌 수용체의 길항제이다. 일 양태에서, 비-치료제는 5-HT₃ 또는 5-HT_{1a} 수용체의 길항제이다. 일 양태에서, 비-치료제는 온단세트론, 그라니세트론, 돌라세트론 및 팔로노세트론으로 구성된 군으로부터 선택된다. 또 다른 양태에서, 비-치료제는 핀돌롤 및 리스페리돈으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

일 구현예에서, 적어도 하나의 추가적인 제제는 치료제이다. 일 구현예에서, 치료제는 '병용 요법'하에 보다 상세히 기술된 항암제이다.

병용 요법의 문맥에서, 아필리모드, 또는 약학적으로 허용가능한 염, 용매화합물, 클라스레이트, 수화물, 다형체, 대사물, 전구 약물, 이들의 유사체 또는 유도체의 투여는, 하나 이상의 추가적인 활성제의 투여와 동시에 또는 순차적일 수 있다. 또 다른 구현예에서, 병용 요법의 상이한 성분의 투여는 상이한 빈도일 수 있다. 하나 이상의 추가적인 제제는 본원의 화합물의 투여 이전에(예, 5분, 15분, 30분, 45분, 1시간, 2시간, 4시간, 6시간, 12시간, 24시간, 48시간, 72시간, 96시간, 1주, 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 8주, 또는 12주 전), 동시에 또는 이후에(예, 5분, 15분, 30분, 45분, 1시간, 2시간, 4시간, 6시간, 12시간, 24시간, 48시간, 72시간, 96시간, 1주, 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 8주, 또는 12주 후)에 투여될 수 있다.

하나 이상의 추가적인 활성제는 아필리모드와의 공동-투여를 위해 본원에서 보다 상세히 기술된 바와 같이, 단일 투여 형태로 제형화 될 수 있다. 하나 이상의 추가적인 활성제는 아필리모드를 포함하는 투여 형태로부터 별도로 투여될 수 있다. 추가적인 활성제가 아필리모드로부터 별도로 투여됐을 때, 아필리모드와 동일 또는 상이한 투여 경로에 의한 것일 수 있다.

바람직하게는, 하나 이상의 추가적인 활성제를 조합한 아필리모드를 포함하는 조성물의 투여는 치료받는 개체에게 시너지 반응을 제공한다. 이 문맥에서, 용어 "시너지(synergistic)"는 각 단독 요법 단독의 첨가제 효과보다 더 효과적인 조합의 효능을 의미한다. 본원에 따르는 병용 요법의 시너지 효과는 조합의 범위를 벗어난 용량 및/또는 빈도와 비교하여 적어도 하나의 제제의 저용량 및/또는 덜 빈번한 투여를 사용할 수 있게 한다. 조합의 추가적인 유익한 효과는 조합 단독(단일요법으로 언급됨)에서의 요법의 사용과 관련된 부정적 또는 원치 않는 부작용의 회피 또는 감소로 나타낼 수 있다.

"병용 요법"은 또한 비-치료제 요법(예, 수술 또는 방사선 치료)을 추가적으로 조합한 본원의 화합물의 투여를 포함한다. 병용 요법이 비-약물 치료를 추가로 포함하는 경우, 비-약물 치료는 치료학적 화합물 및 비-약물 치료의 조합의 공동-작용으로부터 달성되는 유익한 효과가 있는 한 임의의 적절한 시간에 수행 될 수 있다. 예를 들어, 적절한 경우에, 비-약물 치료가 치료학적 화합물의 투여로부터 일시적으로, 아마도 며칠 또는 심지어 수 주까지 제거 될 때, 유익한 효과가 여전히 달성된다.

비-약물 치료는 화학요법, 방사선 요법, 호르몬 요법, 항-에스트로겐 요법, 유전자 요법, 수술(예, 근치신장절제술, 신부분절제술, 복강경 및 로봇 수술), 고주파 절제술, 및 동결절제로부터 선택될 수 있다. 예를 들어, 비-약물 요법은 난소의 제거(예, 신체에서 에스트로겐 수준을 감소하기 위해), 흉강천자(예, 흉부에서 액체를 제거하기 위해), 천자술(예, 복부로부터 액체를 제거하기 위해), 혈관근지방종을 제거하거나 수축시키는 수술, 폐 이식(및 선택적으로 이식으로 인한 감염을 예방하기 위한 항생제), 또는 산소 요법(예, 두 개의 작은 플라스틱 튜브 또는 두 개의 콧구멍에 있는 갈래를 포함하는 코 삽입관을 통해, 코와 입에 맞는 얼굴 마스크를 통해, 또는 기간경유 산소 요법으로 불리는, 목 앞을 통해 바람관에 삽입된 작은 튜브를 통해).

일 구현예에서, 적어도 하나의 추가적인 제제는 메스꺼움, 구토, 두통, 현기증, 약간 어지러움, 졸음 및 스트레스 중 어느 하나로부터 선택된 아필리모드의 하나 이상의 부작용을 완화시키는 제제이다. 이 구현예의 일 양태에서, 추가적인 제제는 5-히드록시트립타민 수용체 또는 5-HT로 알려진 세토닌 수용체의 길항제이다. 일 양태에서, 추가적인 제제는 5-HT₃ 또는 5-HT_{1a} 수용체의 길항제이다. 일 양태에서, 제제는 온단세트론, 그라니세트론, 돌라세트론 및 팔로노세트론으로 구성된 군으로부터 선택된다. 또 다른 양태에서, 제제는 핀돌롤 및 리스페리돈으로 구성된 군으로부터 선택된다.

일 구현예에서, 적어도 하나의 추가적인 제제는 항암제이다. 일 구현예에서, 항암제는 탁솔(taxol), 빈크리스틴(vincristine), 독소루비신(doxorubicin), 템시롤리무스(temsirolimus), 카보플라틴(carboplatin), 오파투무맙

(ofatumumab), 리툽시맵(rituximab), 및 이들의 조합으로부터 선택된다.

일 구현예에서, 적어도 하나의 추가적인 제제는 클로람부실(chlorambucil), 아이포스파마이드(ifosphamide), 독소루비신, 메살라진(mesalazine), 탈리도마이드(thalidomide), 레날리도마이드(lenalidomide), 템시롤리무스(temsirolimus), 에베로리무스(everolimus), 플루다라빈(fludarabine), 포스타마티닙(fostamatinib), 파클리탁셀, 도세탁셀(docetaxel), 오파투무맵, 리툽시맵, 텍사메타손, 프리드니손(prednisone), CAL-101, 이브리투모맵(ibrutinomab), 토시투모맵(tositumomab), 보르테조미(bortezomib), 펜토스타틴(pentostatin), 엔도스타틴(endostatin), 또는 이들의 조합으로부터 선택된다.

일 구현예에서, 적어도 하나의 추가적인 제제는 아피니티(에베로리무스), 알데스루킨(Aldesleukin), 아바스틴(베바시주맵), 엑시티닙(Axitinib), 베바시주맵(Bevacizumab), 에베로리무스, IL-2(알데스루킨), 인라이타(엑시티닙), 인터루킨-2(알데스루킨), 넥사바(소라페닙 토실레이트), 파조파닙, 하이드로클로라이드, 프로루킨(알데스루킨), 소라페닙 토실레이트, 수니티닙 말레이트, 수텐트(수니티닙 말레이트), 템시롤리무스, 토리셀(템시롤리무스), 보트리엔트(파조파닙 하이드로클로라이드), 또는 이들의 조합으로부터 선택된다.

일 구현예에서, 적어도 하나의 추가적인 제제는 표적요법으로 지시되고, 상기 치료는 암의 특이적 유전자, 단백질, 또는 암의 성장 및 생존에 공헌하는 조직 환경을 표적으로 한다. 이러한 유형의 치료는 건강한 세포의 손상을 제한하면서 암 세포의 성장 및 확산을 막는다.

일 구현예에서, 적어도 하나의 추가적인 제제는 항-혈관형성 요법으로 지시되고, 상기 치료는 새로운 혈관 생성 과정의 혈관형성을 멈추는데 집중한다. 종양이 성장 및 확산하기 위해서 혈관에 의해 전달되는 영양소가 필요하기 때문에, 항-혈관형성 요법의 목표는 종양을 "굶기" 것이다. 한 항-혈관형성 약물인, 베바시주맵(아바스틴)은 전이성 신장 암증을 가진 사람들에서 종양 성장을 느리게 하는 것을 보여준다. 인터페론과 조합된 베바시주맵은 종양 성장 및 확산을 느리게 한다.

일 구현예에서, 적어도 하나의 추가적인 제제는 또한 생물학적 요법으로 불리는, 암과 싸우기 위한 신체의 자연 방어를 향상시키도록 설계된 면역요법으로 지시된다. 면역계 기능을 개선, 표적화 또는 복원하기 위한 신체 또는 실험실에서 만들어진 재료를 사용한다. 예를 들어, 인터루킨-2(IL-2) 뿐만 아니라 AM0010, 및 인터루킨-15는 신장암을 치료하기 위해 사용되었던 약물이다. 그들은 백혈구에서 생산되는 사이토카인으로 불리는 세포호르몬이고 종양 세포의 파괴를 포함하는, 면역계의 기능에 중요하다. 알파-인터페론은 확산하는 신장암을 치료하기 위해 사용되는 또 다른 유형의 면역요법이다. 인터페론은 암세포의 표면의 단백질을 변화시키는 것으로 보이고 그들의 성장을 느리게 한다. 화학 요법과 병용된 진행된 신장 암 환자의 경우 IL-2와 알파 인터페론의 많은 병용 요법이 IL-2 또는 인터페론 단독 요법보다 효과적이다.

구현예에서, 적어도 하나의 추가적인 제제는 PD-1/PDL-1 경로 억제제이다. 구현예에서, PD-1/PDL-1 경로 억제제는 펄브롤리주맵(Keytruda), 아벨루맵, 아테졸리주맵(MPD3280A), 니볼루맵(BMS-936558), 피달리주맵(MK-3475), MSB0010718C, 및 MEDI4736로부터 선택된다.

또 다른 예는 체크포인트 억제제로 불리는 화합물이다. 이 화합물을 이용한 치료는 면역 반응에 대한 점검과 균형을 제공하는 분자를 표적으로 삼아 작동한다. 이 억제제 분자를 막거나 또는, 대안적으로, 자극적 분자를 활성화 시킴에 의해, 이들의 치료는 기존의 항-암 면역 반응을 개시 또는 높이기 위해 설계된다. 다양한 항체는 펄브롤리주맵(키트루다, MK-3475, PD-1 항체), MPDL3280A(PD-L1 항체), 발리루맵(CDX-1127, 항-CD27 항체), MGA217(B7-H3를 표적으로 하는 항체), 리릴루맵(KIR 항체), BMS-986016(LAG-3 항체), 우렐루맵(4-1BB/CD137 항체), TRX518(GITR 항체), 및 MK-4166 (GITR 항체)을 포함한다.

또 다른 예는 종양 특이적 또는 종양-관련 항원에 대한 면역 반응을 유도하도록 설계된 암 백신이며, 면역계가 이러한 항원을 보유한 암세포를 공격하도록 격려한다. 예시적인 제제는 AGS-003, DCVax, 및 NY-ESO-1이다.

또 다른 예는 환자로부터 제거된, 유전적으로 변경 또는 그들의 활성을 높이기 위한 화학 물질이 처리된 면역세포이고, 면역계의 항-암 반응을 개선하는 목표를 가진 환자에 다시-도입된다.

본원에서 기술된 방법의 문맥에서, 개체에 투여된 아필리모드의 양은 치료학적 유효량이다. 용어 "치료학적 유효량"은 치료, 증상의 완화, 중증도의 감소, 또는 질병 또는 장애가 치료되는 기간의 감소 또는 다른 용법의 치료학적 효과를 향상 또는 개선하기 위해 충분한 양 또는 개체에게 발견 할 수 있는 치료학적 효과를 보여주기에 충분한 양을 의미한다. 일 구현예에서, 아필리모드 조성물의 치료학적 유효량은 PIKfyve 키나아제 활성을 억제하기 위해 유효한 양이다.

아필리모드의 유효량은 약 0.001 mg/kg 내지 약 1000 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 100 mg/kg, 약 10 mg/kg 내지 약 250 mg/kg, 약 0.1 mg/kg 내지 약 15 mg/kg의 범위일 수 있고; 또는 범위의 하한이 0.001 mg/kg 및 900 mg/kg 사이의 임의의 양이고 범위의 상한이 0.1 mg/kg 및 1000 mg/kg(예, 0.005 mg/kg 및 200 mg/kg, 0.5 mg/kg 및 20 mg/kg) 사이의 임의의 양인 임의의 범위이다. 유효 용량은 또한 치료되는 질병, 투여 경로, 부형제 사용 및 다른 제제의 사용과 같은 다른 치료학적 치료와 공동-용법의 가능성에 따라, 당업자에 의해 인식되는 바와 같이 다양할 것이다(미국 특허 번호 7,863,270, 본원에 참조로 포함됨).

더 구체적인 양태에서, 아필리모드는 30-1000 mg/일(예, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 또는 300mg/일)의 용량 처방으로 적어도 1주일(예., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 36, 48, 또는 그 이상의 주) 동안 투여된다. 바람직하게는, 아필리모드는 4 또는 16주 동안 100-1000 mg/일의 용량 처방으로 투여된다. 그 대신에 또는 그 뒤에, 아필리모드는 하루에 두 번 100-300mg의 용량 처방으로 8주 동안, 또는 선택적으로, 52주 동안 투여된다. 그 대신에 또는 그 뒤에, 아필리모드 조성물은 하루에 두 번 50mg-1000mg의 용량 처방으로 8주 동안, 또는 선택적으로, 52주 동안 투여된다.

아필리모드 조성물의 유효량은 하루에 1회, 하루에 2회 내지 5회, 하루에 최대 2회 또는 최대 3회, 또는 하루에 최대 8회 투여된다. 일 구현예에서, 아필리모드 조성물은 하루에 3회, 하루에 2회, 하루에 1회, 3주 주기에서 14일 투여(하루에 4회, 하루에 3회 또는 하루에 2회, 또는 하루에 1회) 및 7일 휴약, 3주 주기에서 최대 5일 또는 7일(하루에 4회, 하루에 3회 또는 하루에 2회, 또는 하루에 1회) 투여 및 14-16일 휴약, 또는 2일에 1회, 1주에 1회, 또는 2주에 1회, 또는 3주에 1회 투여된다.

본원에서 기술된 방법에 따라서, "그것을 필요로 하는 개체"는 신장 암을 갖는 개체, 또는 그 집단은 전체 인구에 비례하여 신장 암 발병의 증가된 위험을 갖는 개체이다. 그것을 필요로 하는 개체는 암에 대한 현재 이용가능한 요법에 대해 "비-반응" 또는 "불응(refractory)"인 대상일 수 있다. 이 문맥에서, 용어 "비-반응" 및 "불응"은 질병이나 장애와 관련된 하나 이상의 증상을 완화시키기에 임상적으로 적절하지 않은 요법에 대한 개체의 반응을 의미한다. 본원에서 기술된 방법의 일 양태에서, 그것을 필요로 하는 개체는 표준 치료 후에 난치성이거나 재발하는 암을 가진 개체이다.

"개체"는 포유류를 포함한다. 포유류는 예를 들어, 임의의 포유류, 예를 들어, 인간, 영장류, 척추동물, 새, 마우스, 랫, 가금, 개, 고양이, 소, 말, 염소, 낙타, 양 또는 돼지일 수 있다. 바람직하게는, 포유류는 인간이다. 용어 "환자"는 인간 개체를 의미한다.

본원은 또한 본원에서 기술된 신장 암의 치료를 위한 단일요법을 제공한다. 본원에서 사용된, "단일요법"은 그것을 필요로 하는 개체에게 단일 활성 또는 치료학적 화합물의 투여를 의미한다.

본원에서 사용된, "치료", "치료하는" 또는 "치료하다"는 질병, 병증(condition) 또는 장애와 싸우기 위한 환자의 관리 및 돌봄을 기술하고 질병, 병증 또는 장애의 증상 또는 합병증을 완화하기 위한, 또는 질병, 병증 또는 장애를 제거하기 위한 아필리모드의 투여를 포함한다.

본원에서 사용된, "예방", "예방하는" 또는 "예방하다"는 질병, 병증 또는 장애의 증상 또는 합병증의 시작을 감소 또는 제거하는 것을 기술하고, 질병, 병증 또는 장애의 증상의 시작, 발달 또는 재발을 감소시키기 위한 아필리모드의 투여를 포함한다.

일 구현예에서, 아필리모드의 투여는 치료되는 암의 증상 또는 합병증의 제거를 이끌지만, 암의 제거가 필수적인 것은 아니다. 일 구현예에서, 증상의 중증도는 감소된다. 암과 관련하여, 그러한 증상은 종양이 분비하는 성장 인자, 세포외 기질의 분해, 혈관화, 병치된 조직의 접착력 상실, 또는 전이 뿐만 아니라 전이 수의 정도를 포함하는 중증도 또는 진행의 임상적 표지를 포함할 수 있다.

본원에서 기술된 방법에 따라 암을 치료하면 종양의 크기가 감소될 수 있다. 종양의 크기의 감소는 또한 "암 퇴행"으로 언급된다. 바람직하게는, 치료 후에, 종양 크기는 치료 전 크기와 비교해서 5% 이상 감소되고; 더 바람직하게는, 종양 크기는 10% 이상 감소되고; 더 바람직하게는, 20% 이상 감소되고; 더 바람직하게는, 30% 이상 감소되고; 더 바람직하게는, 40% 이상 감소되고; 더욱 더 바람직하게는, 50% 이상 감소되고; 및 가장 바람직하게는, 75% 이상 감소된다. 종양 크기는 재현 가능한 모든 측정방법으로 측정할 수 있다. 종양 크기는 종양의 직경으로 측정할 수 있다.

본원에서 기술된 방법에 따라 암을 치료하면 종양 부피가 감소 될 수 있다. 바람직하게는, 치료 후에, 종양 부

피는 치료 전 부피와 비교해서 5% 이상 감소되고; 더 바람직하게는, 종양 부피는 10% 이상 감소되고; 더 바람직하게는, 20% 이상 감소되고; 더 바람직하게는, 30% 이상 감소되고; 더 바람직하게는, 40% 이상 감소되고; 더욱 더 바람직하게는, 50% 이상 감소되고; 및 가장 바람직하게는, 75% 이상 감소된다. 종양 부피는 재현 가능한 모든 측정방법으로 측정할 수 있다.

본원에서 기술된 방법에 따라 암을 치료하면 종양 수가 감소될 수 있다. 바람직하게는, 치료 후에, 종양 수는 치료 전 수와 비교해서 5% 이상 감소되고; 더 바람직하게는, 종양 수는 10% 이상 감소되고; 더 바람직하게는, 20% 이상 감소되고; 더 바람직하게는, 30% 이상 감소되고; 더 바람직하게는, 40% 이상 감소되고; 더욱 더 바람직하게는, 50% 이상 감소되고; 및 가장 바람직하게는, 75% 이상 감소된다. 종양 수는 재현 가능한 모든 측정방법으로 측정할 수 있다. 종양 수는 육안 또는 특정 배율에서 보이는 종양 계수에 의해 측정될 수 있다. 바람직하게는, 특정 배율은 2x, 3x, 4x, 5x, 10x, 또는 50x이다.

본원에서 기술된 방법에 따라 암을 치료하면 원발성 종양 부위로부터 떨어진 다른 조직 또는 장기에서 전이성 병변의 수가 감소될 수 있다. 바람직하게는, 치료 후에, 전이성 병변 수는 치료 전 수와 비교해서 5% 이상 감소되고; 더 바람직하게는, 전이성 병변 수는 10% 이상 감소되고; 더 바람직하게는, 20% 이상 감소되고; 더 바람직하게는, 30% 이상 감소되고; 더 바람직하게는, 40% 이상 감소되고; 더욱 더 바람직하게는, 50% 이상 감소되고; 및 가장 바람직하게는, 75% 이상 감소된다. 전이성 병변 수는 재현 가능한 모든 측정방법으로 측정할 수 있다. 전이성 병변 수는 육안 또는 특정 배율에서 보이는 전이성 병변 계수에 의해 측정될 수 있다. 바람직하게는, 특정 배율은 2x, 3x, 4x, 5x, 10x, 또는 50x이다.

본원에서 기술된 방법에 따라 암을 치료하면 담체 만을 투여받는 집단과 비교하여 치료된 개체의 집단의 평균 생존 시간이 증가 될 수 있다. 바람직하게는, 평균 생존 시간이 30일 초과; 더 바람직하게는, 60일 초과; 더 바람직하게는, 90일 초과; 및 가장 바람직하게는, 120일 초과로 증가된다. 평균 생존 기간의 증가는 재현 가능한 모든 측정방법으로 측정할 수 있다. 한 집단의 평균 생존 기간의 증가는, 예를 들어, 활성 화합물의 치료 개시 후 생존의 평균 길이를 집단에 대해 계산함으로써 측정될 수 있다. 한 집단의 평균 생존 기간의 증가는 또한, 예를 들어, 활성 화합물의 치료의 첫 라운드 완료 후 생존의 평균 길이를 집단에 대해 계산함으로써 측정될 수 있다.

본원에서 기술된 방법에 따라 암을 치료하면 치료되지 않은 개체의 집단과 비교하여 치료된 개체의 집단의 평균 생존 시간이 증가될 수 있다. 바람직하게는, 평균 생존 시간이 30일 초과; 더 바람직하게는, 60일 초과; 더 바람직하게는, 90일 초과; 및 가장 바람직하게는, 120일 초과로 증가된다. 평균 생존 기간의 증가는 재현 가능한 모든 측정방법으로 측정할 수 있다. 한 집단의 평균 생존 기간의 증가는, 예를 들어, 활성 화합물의 치료 개시 후 생존의 평균 길이를 집단에 대해 계산함으로써 측정될 수 있다. 한 집단의 평균 생존 기간의 증가는 또한, 예를 들어, 활성 화합물의 치료의 첫 라운드 완료 후 생존의 평균 길이를 집단에 대해 계산함으로써 측정될 수 있다.

본원에서 기술된 방법에 따라 암을 치료하면 아필리모드가 아닌 약물의 단일요법을 받은 집단과 비교하여 치료된 개체의 집단의 평균 생존 시간이 증가될 수 있다. 바람직하게는, 평균 생존 시간이 30일 초과; 더 바람직하게는, 60일 초과; 더 바람직하게는, 90일 초과; 및 가장 바람직하게는, 120일 초과로 증가된다. 평균 생존 기간의 증가는 재현 가능한 모든 측정방법으로 측정할 수 있다. 한 집단의 평균 생존 기간의 증가는, 예를 들어, 활성 화합물의 치료 개시 후 생존의 평균 길이를 집단에 대해 계산함으로써 측정될 수 있다. 한 집단의 평균 생존 기간의 증가는 또한, 예를 들어, 활성 화합물의 치료의 첫 라운드 완료 후 생존의 평균 길이를 집단에 대해 계산함으로써 측정될 수 있다.

본원에서 기술된 방법에 따라 암을 치료하면 담체만을 투여받는 집단과 비교하여 치료된 개체의 집단의 사망률이 감소 될 수 있다. 본원에서 기술된 방법에 따라 장애, 질병 또는 병증을 치료하면 치료되지 않은 집단과 비교하여 치료된 개체의 집단의 사망률이 감소 될 수 있다. 본원에서 기술된 방법에 따라 장애, 질병 또는 병증을 치료하면 아필리모드가 아닌 약물의 단일요법을 받은 집단과 비교하여 치료된 개체의 집단의 사망률이 감소 될 수 있다. 바람직하게는, 사망률은 2% 초과; 더 바람직하게는, 5% 초과; 더 바람직하게는, 10% 초과; 및 가장 바람직하게는 25% 초과로 감소된다. 사망률의 감소는 재현 가능한 모든 측정방법으로 측정할 수 있다. 한 집단의 사망률의 감소는, 예를 들어, 활성 화합물의 치료 개시 후 단위 시간 당 질병-관련된 사망의 평균 수를 집단에 대해 계산함으로써 측정될 수 있다. 한 집단의 사망률의 감소는, 예를 들어, 활성 화합물의 치료의 첫 라운드 완료 후 단위 시간 당 질병-관련된 사망의 평균 수를 집단에 대해 계산함으로써 측정될 수 있다.

본원에서 기술된 방법에 따라 암을 치료하면 종양 성장률이 감소 될 수 있다. 바람직하게는, 치료 후에, 종양

성장물은 치료 전 수와 비교해서 적어도 5% 감소되고; 더 바람직하게는, 종양 성장물은 적어도 10% 감소되고; 더 바람직하게는, 적어도 20% 감소되고; 더 바람직하게는, 적어도 30% 감소되고; 더 바람직하게는, 적어도 40% 감소되고; 더 바람직하게는, 적어도 50% 감소되고; 더욱 더 바람직하게는, 적어도 50% 감소되고; 및 가장 바람직하게는, 적어도 75% 감소된다. 종양 성장물은 재현 가능한 모든 측정방법으로 측정할 수 있다. 종양 성장물은 단위 시간 당 종양 직경의 변화에 따라 측정될 수 있다. 일 구현예에서, 치료 후에 종양 성장물은 약 0 일 수 있고, 예를 들어, 종양의 성장이 멈췄다면, 동일한 크기를 유지되도록 결정될 수 있다.

본원에서 기술된 방법에 따라 암을 치료하면 종양 재생이 감소될 수 있다. 바람직하게는, 치료 후에, 종양 재생이 5% 미만이고; 더 바람직하게는, 종양 재생이 10% 미만; 더 바람직하게는, 20% 미만; 더 바람직하게는, 30% 미만, 더 바람직하게는, 40% 미만; 더 바람직하게는, 50% 미만; 더욱 더 바람직하게는, 50% 미만; 및 가장 바람직하게는 75% 미만이다. 종양 재생은 재현 가능한 모든 측정방법으로 측정할 수 있다. 종양 재생은, 예를 들어, 치료 후의 종양 수축 후 종양의 직경의 증가를 측정함으로써 측정된다. 종양 재생의 감소는 치료가 중단된 후에 종양이 재발하지 않음 으로서 나타난다.

본원에서 기술된 방법에 따라 세포 증식 장애를 치료 또는 예방하면 세포 증식률의 감소 될 수 있다. 바람직하게는, 치료 후에, 세포 증식률은 적어도 5%; 더 바람직하게는, 적어도 10%; 더 바람직하게는, 적어도 20%; 더 바람직하게는, 적어도 30%; 더 바람직하게는, 적어도 40%; 더 바람직하게는, 적어도 50%; 더욱 더 바람직하게는, 적어도 50%; 및 가장 바람직하게는, 적어도 75% 감소된다. 세포 증식률은 재현 가능한 모든 측정방법으로 측정할 수 있다. 세포 증식률은, 예를 들어, 단위 시간 당 조직 샘플에서 분열하는 세포의 수를 측정함으로써 측정된다.

본원에서 기술된 방법에 따라 세포 증식 장애를 치료 또는 예방하면 증식하는 세포의 비율이 감소 될 수 있다. 바람직하게는, 치료 후에, 증식하는 세포의 비율은 적어도 5%; 더 바람직하게는, 적어도 10%; 더 바람직하게는, 적어도 20%; 더 바람직하게는, 적어도 30%; 더 바람직하게는, 적어도 40%; 더 바람직하게는, 적어도 50%; 더욱 더 바람직하게는, 적어도 50%; 및 가장 바람직하게는, 적어도 75% 감소된다. 증식하는 세포의 비율은 재현 가능한 모든 측정방법으로 측정할 수 있다. 바람직하게는, 증식하는 세포의 비율은, 예를 들어, 조직 샘플에서 미분열 세포의 수에 비교하여 분열하는 세포의 수를 정량화하는 것에 의해 측정된다. 증식하는 세포의 비율은 유사 분열 지수와 같을 수 있다.

본원에서 기술된 방법에 따라 세포 증식 장애를 치료 또는 예방하면 세포 증식의 영역 또는 지역의 크기가 감소 될 수 있다. 바람직하게는, 치료 후에, 세포 증식의 영역 또는 지역의 크기는 치료 전의 크기와 비교하여 적어도 5% 감소되고; 더 바람직하게는, 적어도 10% 감소되고; 더 바람직하게는, 적어도 20% 감소되고; 더 바람직하게는, 적어도 30% 감소되고; 더 바람직하게는, 적어도 40% 감소되고; 더 바람직하게는, 적어도 50% 감소되고; 더욱 더 바람직하게는, 적어도 50% 감소되고; 및 가장 바람직하게는, 적어도 75% 감소된다. 세포 증식의 영역 또는 지역의 크기는 재현 가능한 모든 측정방법으로 측정할 수 있다. 세포 증식의 영역 또는 지역의 크기는 세포 증식의 영역 또는 지역의 직경 또는 너비에 의해 측정될 수 있다.

본원에서 기술된 방법에 따라 세포 증식 장애를 치료 또는 예방하면 비정상적인 외관 또는 형태를 갖는 세포의 수 또는 비율이 감소될 수 있다. 바람직하게는, 치료 후에 비정상적인 형태를 갖는 세포의 수는 치료 전의 크기와 비교하여 적어도 5% 감소되고; 더 바람직하게는, 적어도 10% 감소되고; 더 바람직하게는, 적어도 20% 감소되고; 더 바람직하게는, 적어도 30% 감소되고; 더 바람직하게는, 적어도 40% 감소되고; 더 바람직하게는, 적어도 50% 감소되고; 더욱 더 바람직하게는, 적어도 50% 감소되고; 및 가장 바람직하게는, 적어도 75% 감소된다. 비정상적인 세포의 외관 또는 형태는 재현 가능한 모든 측정방법으로 측정할 수 있다. 비정상적인 세포의 형태는 현미경에 의해, 예를 들어, 거꾸로 된 조직 배양 현미경을 사용하여, 측정될 수 있다. 비정상적인 세포의 형태는 핵 다형성의 형태를 가질 수 있다.

본원에서 사용된, 용어 "선택적으로"는 또 다른 집단보다 한 집단에서 더 높은 빈도로 발생하는 경향을 의미한다. 비교된 집단은 세포 집단일 수 있다. 바람직하게는, 아필리모드는 정상 세포와 비교하여, 선택적으로 과-증식하는 세포 또는 비정상적으로 증식하는 세포에 작용한다. 본원에서 사용된, "정상 세포"는 "세포 증식 장애"의 일부로 분류될 수 없는 세포이다. 정상 세포는 원하지 않는 병증 또는 질병의 발달을 이끌 수 있는, 비조절된 또는 비정상적 성장 또는 둘 다가 부족하다. 바람직하게는, 정상 세포는 정상적으로 기능하는 세포 주기 체크포인트 조절 메커니즘을 갖는다. 바람직하게는, 아필리모드는, 선택적으로 하나의 분자 표적(예, 표적 키나아제)을 조절하지만 다른 분자 표적(예, 비-표적 키나아제)은 유의적으로 조절하지 않는다. 본원은 또한 키나아제와 같은, 효소의 활성을 선택적으로 억제하는 방법을 제공한다. 바람직하게는, 집단 B와 비교하여 집

단 A에서 2배보다 더 빈번히 발생하면, 집단 B에 비해 집단 A에서 선택적으로 사건이 발생한다. 집단 A에서 5배보다 더 빈번히 발생하면 사건은 선택적으로 발생한다. 집단 B와 비교하여 집단 A에서 10배보다 더 빈번히 발생하면; 집단 A에서 더 바람직하게는, 50배보다 더; 더욱 더 바람직하게는, 100배도 더; 및 가장 바람직하게는, 1000배보다 더 빈번히 발생하면 사건은 선택적으로 발생한다. 예를 들어, 정상 세포와 비교하여 질병이 있거나 과-증식하는 세포에서 2배 이상 빈번히 발생하면 세포 사멸은 질병이 있거나 과-증식하는 세포에서 선택적으로 발생한다고 한다.

약학적 조성물 및 제형

본원은 적어도 하나의 약학적으로 허용가능한 부형제 및 담체와 함께, 아필리모드의 양, 또는 아필리모드의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화합물, 클라스레이트, 수화물, 다형체, 대사물, 전구 약물, 유사체 또는 유도체를 포함하는 약학적 조성물을 제공하고, 상기 양은 신장암의 치료에 효과적 및/또는 암을 가진 개체의 암 세포에서 PIKfyve 억제에 효과적이다.

일 구현예에서, 아필리모드는 아필리모드 유리 염기이다. 일 구현예에서, 아필리모드는 아필리모드 디메실레이트이다.

일 구현예에서, 아필리모드는 단일 용량 형태에서 적어도 하나의 추가적인 활성제가 조합된다. 일 구현예에서, 조성물은 항산화제를 추가적으로 포함한다.

구현예에서, 적어도 하나의 추가적인 활성제는 알킬화제, 인터칼레이팅제, 튜블린 결합제, 코르티코스테로이드, 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택된다. 일 구현예에서, 적어도 하나의 추가적인 활성제는 이부르티닙, 리톡시맵, 독소루비신, 프레드니솔론, 빈크리스틴, 벨케이드, 및 에베로리무스, 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택되는 치료제이다. 일 구현예에서, 적어도 하나의 추가적인 활성제는 사이클로포스파미드, 히드록시도노루비신(또한 독소루비신 또는 Adriamycin™로도 불림), 빈크리스틴(또한 Oncovin™로도 불림), 프리드니손, 프레드니솔론, 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택되는 치료제이다.

일 구현예에서, 적어도 하나의 추가적인 활성제는 아필리모드 조성물의 하나 이상의 부작용을 개선하기 위해 선택되는 비-치료제이다. 일 구현예에서, 비-치료제는 온단세트론, 그라니세트론, 돌라세트론 및 팔로노세트론으로 구성된 군으로부터 선택된다. 일 구현예에서, 비-치료제는 핀돌롤 및 리스페리돈으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

구현예에서, 적어도 하나의 추가적인 제제는 PD-1/PDL-1 경로 억제제이다. 구현예에서, PD-1/PDL-1 경로 억제제는 펄브롤리주맵(키트루다), 아벨루맵, 아테졸리주맵(MPD3280A), 니볼루맵(BMS-936558), 피달리주맵(MK-3475), MSB0010718C, 및 MEDI4736으로 이루어진 군에서 선택된다.

일 구현예에서, 적어도 하나의 추가적인 활성제는 mTOR 경로의 억제제, TKI 억제제, PI3K 억제제, 이중 PI3K/mTOR 억제제, SRC 억제제, VEGF 억제제, 야누스(Janus) 키나아제(JAK) 억제제, Raf 억제제, Erk 억제제, 파르네실트랜스퍼라제 억제제, 히스톤 디아세틸라제 억제제, 항-유사분열제, 다중-약물 내성 유출 억제제, 항생제, 및 사이토카인으로부터 선택된다. 일 구현예에서, 두 번째 치료제는 치료학적 사이토카인이다. 일 구현예에서, 두 번째 치료제는 인터루킨-2이다. 또 다른 구현예에서, 두 번째 치료제는 타이로신 키나아제 억제제(예, 에베로리무스, 베바시주맵)로부터 선택된다.

일 구현예에서, mTOR 억제제는 라파마이신(또한 시롤리무스로도 불림), 에베로리무스, 템시롤리무스, 리다포롤리무스(ridaforolimus), 우미로리무스(umirolimus), 조타로리무스(zotarolimus), AZD8055, INK128, WYE-132, Torin-1, 피라졸로피리미딘 유사체 PP242, PP30, PP487, PP121, KU0063794, KU-BMCL-200908069-1, Wyeth-BMCL-200910075-9b, INK-128, XL388, AZD8055, P2281, 및 P529로 이루어진 군으로부터 선택된다[Liu et al. Drug Disc. Today Ther. Strateg., 6(2): 47-55 (2009)].

일 구현예에서, mTOR 억제제는 트랜스-4-[4-아미노-5-(7-메톡스-1H-인돌-2-일)이미다조[5,1-f][1,2,4]트리아진-7-일]사이클로헥산 카르복실산(또한 OSI-027로도 알려짐), 및 이들의 임의의 염, 용매화합물, 수화물, 및 기타 물리적 형태, 결정질 또는 비결정질이다(WO 2013152342 A1). OSI-027은 본원에서 참조로 포함된, US 2007/0112005에 따라서 제조될 수 있다. 일 구현예에서, mTOR 억제제는 OXA-01이다(WO 2013152342 A1).

구현예에서, PI3K 억제제는 GS-1101(이텔라리십), GDC0941(피크틸리십), LY294002, BKM120(부파리십), PI-103, TGX-221, IC-87114, XL 147, ZSTK474, BYL719, AS-605240, PIK-75, 3-메틸아데닌, A66, PIK-93, PIK-90, AZD6482, IPI-145(두벨리십), TG100-115, AS-252424, PIK294, AS-604850, GSK2636771, BAY 80-6946(코판리

십), CH5132799, CAY10505, PIK-293, TG100713, CZC24832 및 HS-173로 이루어진 군으로부터 선택된다.

구현예에서, 이중 PI3K/mTOR 억제제는 GDC-094, WAY-001, WYE-354, WAY-600, WYE-687, Wyeth-BMCL-200910075-16b, Wyeth-BMCL-200910096-27, KU0063794 및 KUBMCL-200908069-5, NVP-BEZ235, XL-765, PF-04691502, GDC-0980(아피토리십), GSK1059615, PF-05212384, BGT226, PKI-402, VS-558 및 GSK2126458로 이루어진 군으로부터 선택된다[Liu et al. Drug Disc. Today Ther. Strateg., 6(2): 47-55 (2009), 본원에 참조로 포함됨].

구현예에서, mTOR 경로 억제제는 mTOR 경로에서 발현 수준 또는 활성 또는 단백질 (또는 단백질을 암호화하는 핵산)과 결합하고 억제하는 폴리펩티드(예, 항체 또는 이들의 단편) 또는 핵산 (예, 이중-가닥의 작은 간섭 RNA, 짧은 헤어핀 RNA, micro-RNA, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 잠긴(locked) 핵산, 또는 앵타머)이다. 예를 들어, 폴리펩티드 또는 핵산은 mTORC1(mTOR Complex 1), Raptor(regulatory-associated protein of mTOR), MLST8(mammalian lethal with SEC13 protein 8), PRAS40(proline-rich Akt substrate of 40 kDa), DEPTOR(DEP domain-containing mTOR-interacting protein), mTORC2(mTOR Complex 2), RICTOR(rapamycin-insensitive companion of mTOR), GβL(G protein beta subunit-like), mSIN1(mammalian stress-activated protein kinase interacting protein 1), paxillin, RhoA, Rac1(Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1), Cdc42(Cell division control protein 42 homolog), PKCα(protein kinase C α), 세린/트레오닌 단백질 키나아제 Akt, PI3K(phosphoinositide 3-kinase), p70S6K, Ras, 및/또는 eIF4E(eukaryotic translation initiation factor 4E)- 4EBPs(binding proteins), 또는 이 단백질들 중 하나를 암호화하는 핵산을 억제한다.

구현예에서, SRC 억제제는 보스티닙(bosutinib), 사라카티닙(saracatinib), 다사티닙(dasatinib), 포나티닙(ponatinib), KX2-391, XL-228, TG100435/TG100855, 및 DCC2036로 이루어진 군으로부터 선택된다[Plus et al. Oncologist. 2011 May; 16(5): 566-578]. 일 구현예에서, SRC 억제제는 SRC 단백질 또는 SRC 단백질을 암호화하는 핵산과 결합하고 발현 수준 또는 활성을 억제하는 폴리펩티드(예, 항체 또는 이들의 단편) 또는 핵산(예, 이중-가닥의 작은 간섭 RNA, 짧은 헤어핀 RNA, micro-RNA, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 잠긴 핵산, 또는 앵타머)이다.

구현예에서, VEGF 억제제는 배바시주맙, 수니티닙, 파조파닙, 엑시티닙, 소라페닙, 레고라페닙(regorafenib), 렌바티닙(lenvatinib), 및 모테사닙(motesanib)으로부터 선택된다. 일 구현예에서, VEGF 억제제는 VEGF 단백질, VEGF 수용체 단백질, 또는 이 단백질들 중 하나를 암호화하는 핵산과 결합하고 발현수준 또는 활성을 억제하는 폴리펩티드(예, 항체 또는 이들의 단편) 또는 핵산(예, 이중-가닥의 작은 간섭 RNA, 짧은 헤어핀 RNA, micro-RNA, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 모르폴리노, 잠긴 핵산, 또는 앵타머)이다. 예를 들어, VEGF 억제제는 가용성 VEGF 수용체(예, 가용성 VEGF-C/D 수용체(sVEGFR-3))이다.

구현예에서, JAK 억제제는 파시티닙, 룩소리티닙(ruxolitinib), 바리시티닙(baricitinib), CYT387 (CAS 넘버 1056634-68-4), 레스타우르티닙(lestauritinib), 파크리티닙(pacritinib), 및 TG101348(CAS 넘버 936091-26-8)으로부터 선택된다. 일 구현예에서, JAK 억제제는 JAK(예, JAK1, JAK2, JAK3, 또는 TYK2) 또는 JAK 단백질을 암호화하는 핵산과 결합하고 발현 수준 또는 활성을 억제하는 폴리펩티드(예, 항체 또는 이들의 단편) 또는 핵산(예, 이중-가닥의 작은 간섭 RNA, 짧은 헤어핀 RNA, micro-RNA, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 모르폴리노, 잠긴 핵산, 또는 앵타머)이다.

구현예에서, Raf 억제제는 PLX4032(베무라페닙), 소라페닙, PLX-4720, GSK2118436(다브라페닙), GDC-0879, RAF265, AZ 628, NVP-BHG712, SB90885, ZM 336372, GW5074, TAK-632, CEP-32496 및 LGX818(엔코라페닙)으로부터 선택된다. 일 구현예에서, Raf 억제제는 Raf(예, A-Raf, B-Raf, C-Raf) 또는 Raf 단백질을 암호화하는 핵산과 결합하고 발현 수준 또는 활성을 억제하는 폴리펩티드(예, 항체 또는 이들의 단편) 또는 핵산(예, 이중-가닥의 작은 간섭 RNA, 짧은 헤어핀 RNA, micro-RNA, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 모르폴리노, 잠긴 핵산, 또는 앵타머)이다. 일 구현예에서, MEK 억제제는 AZD6244(셀루메티닙), PD0325901, GSK1120212(트라메티닙), U0126-EtOH, PD184352, RDEA119(라파메티닙), PD98059, BIX 02189, MEK162(비니메티닙), AS-703026(피마서티닙), SL-327, BIX02188, AZD8330, TAK-733 및 PD318088로부터 선택된다. 일 구현예에서, MEK 억제제는 MEK(예, MEK-1, MEK-2) 또는 MEK 단백질을 암호화하는 핵산과 결합하고 발현 수준 또는 활성을 억제하는 폴리펩티드(예, 항체 또는 이들의 단편) 또는 핵산(예, 이중-가닥의 작은 간섭 RNA, 짧은 헤어핀 RNA, micro-RNA, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 모르폴리노, 잠긴 핵산, 또는 앵타머)이다.

구현예에서, Akt 억제제는 MK-2206, KRX-0401(페리포신), GSK690693, GDC-0068(이파타세리티닙), AZD5363, CCT128930, A-674563, PHT-427로부터 선택된다. 일 구현예에서, Akt 억제제는 Akt(예, Akt-1, Akt-2, Akt-3) 또는 Akt 단백질을 암호화하는 핵산과 결합하고 발현 수준 또는 활성을 억제하는 폴리펩티드(예, 항체 또는 이

들의 단편) 또는 핵산(예, 이중-가닥의 작은 간섭 RNA, 짧은 헤어핀 RNA, micro-RNA, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 모르폴리노, 잠긴 핵산, 또는 앵타머)이다.

구현예에서, 파르네실트랜스퍼라제 억제제는 LB42708 또는 티피파닙(tipifarnib)으로부터 선택된다. 일 구현예에서, 파르네실트랜스퍼라제 억제제는 파르네실트랜스퍼라제 또는 파르네실트랜스퍼라제 단백질을 암호화하는 핵산과 결합하고 발현 수준 또는 활성을 억제하는 폴리펩티드(예, 항체 또는 이들의 단편) 또는 핵산(예, 이중-가닥의 작은 간섭 RNA, 짧은 헤어핀 RNA, micro-RNA, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 모르폴리노, 잠긴 핵산, 또는 앵타머)이다. 일 구현예에서, 히스톤 조절 억제제는 아나카디산, C646, MG149(히스톤 아세틸트랜스퍼라제), GSK J4 Hcl(히스톤 디메틸라제), GSK343(EZH2에 대하여 활성), BIX 01294(히스톤 메틸트랜스퍼라제), MK0683(보리노스타트), MS275(엔티노스테트), LBH589(페노비노스타트), 트리코스타틴 A(Trichostatin A), MGCD0103(모세티노스타트), 타스퀴니모드(Tasquinimod), TMP269, 넥스투라스타트 A(Nexturastat A), RG2833, PDX101(벨리노스테트)로부터 선택된다.

구현예에서, 항-유사분열제는 그리세오폴빈(Griseofulvin), 비노렐빈 타르트레이트(vinorelbine tartrate), 파클리탁셀, 도세탁셀, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 에포틸론 A(Epothilone A), 에포틸론 B(Epothilone B), ABT-751, CYT997(렉시볼린), 빈플루닌 타르트레이트(vinflunine tartrate), 포스브레타불린(Fosbretabulin), GSK461364, ON-01910(리코세르티프), Ro3280, BI2536, NMS-P937, BI 6727(볼라셀티프), HMN-214 및 MLN0905로부터 선택된다.

구현예에서, 타이로신 키나아제 억제제는 보트리엔트, 엑시티닙, 보르테조미프(Bortezomib), 보스티닙(Bosutinib), 카필조미프(Carfilzomib), 크리조티닙(Crizotinib), 다브라티닙(Dabrafenib), 다사티닙(Dasatinib), 엘로티닙(Erlotinib), 제피티닙(Gefitinib), 이부르티닙(Ibrutinib), 이마티닙(Imatinib), 라파티닙(Lapatinib), 닐로티닙(Nilotinib), 페가티닙(Pegatinib), 포나티닙(Potatinib), 레고라페닙, 룩소로티닙(Ruxolitinib), 소라페닙, 수니티닙, 트라메티닙(Trametinib), 반데타닙(Vandetanib), 베무라페닙(Vemurofenib), 및 비스모데기프(Vismodegib)으로부터 선택된다.

일 구현예에서, 폴리에테르 항생제는 나트륨 모넨신, 니제리신(nigericin), 발리노마이신, 살리노마이신로부터 선택된다.

"약학적 조성물"은 개체에게 투여하기 적합한 약학적으로 허용가능한 형태로 본원에서 기술된 화합물을 함유하는 제형이다. 본원에서 사용된, 문구 "약학적으로 허용가능한"은 적절한 의학적 판단의 범위 내에서, 합리적인 이익/위험 비율에 상응하는, 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응 또는 기타 문제 또는 합병증 없이, 인간 및 동물의 조직과 접촉하여 사용하기에 적합한 화합물, 물질, 조성물, 담체 및/또는 투여 형태를 의미한다.

"약학적으로 허용가능한 부형제"는 일반적으로 안전하고, 비-독성 및 생물학적으로도 바람직하지 않지도 바람직하지 않은 약학적 조성물을 제조하는데 유용한 부형제를 의미하고, 수의학적 사용뿐만 아니라 인간의 약학적 사용이 허용가능한 부형제를 포함한다. 약학적으로 허용가능한 부형제는, 제한 없이, 멸균 액체, 물, 완충 식염수, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 액체 폴리에틸렌 글리콜등), 오일, 세제, 현탁제, 탄수화물(예, 글루코스, 락토스, 수크로스 또는 텍스트란), 향산화제(예, 아스코르브산 또는 글루타티온), 킬레이트제, 저분자량 단백질, 또는 이들의 적합한 혼합물을 포함한다.

약학적 조성물은 벌크 또는 투여 단위 형태로 제공될 수 있다. 약학적 조성물을 용량의 투여 및 균일성을 위해 용량 단위 형태로 제형화하는 것은 특히 이점이 있다. 본원에서 사용된, 용어 "용량 단위 형태"는 치료될 개체를 위한 단일 용량으로 적합한 물리적으로 분리된 단위를 의미하고; 각 단위는 요구되는 약학적 담체와 관련하여 원하는 치료학적 효과를 생성하도록 계산된 활성 화합물의 미리 결정된 양을 함유한다. 본원의 용량 단위 형태를 위한 설명서는 활성 화합물의 독특한 특성 및 달성될 특정 치료학적 효과에 의해 설명되고 직접 의존한다. 용량 단위 형태는 앰플, 바이알, 좌약, 당제, 정제, 캡슐, IV 백, 또는 에어로졸 흡입기 상의 단일 펌프일 수 있다.

치료학적 적용에서, 용량은 제제, 나이, 체중, 및 수령 환자의 임상적 상태, 및 선택된 용량에 영향을 미치는 다른 요인 중에서 요법을 투여하는 임상의 또는 의사의 경험 및 판단에 따라 달라진다. 일반적으로 용량은 치료학적 유효량이어야 한다. 용량은 측정의 mg/kg/day 단위로 제공될 수 있다(용량은 환자의 체중은 kg, 신체 표면적은 m^2 , 및 연령은 나이로 조정될 수 있다). 약학적 조성물의 유효량은 임상의 또는 다른 자격 있는 관찰자에 의해 지적된 바와 같이 객관적으로 식별 가능한 개선을 제공하는 것이다. 예를 들어, 장애, 질병 또는 병증의 증상의 경감. 본원에서 사용된, 용어 "용량 유효 방식"은 개체 또는 세포에서 원하는 생물학적 효과를 생성

하기 위한 약학적 조성물의 양을 의미한다.

예를 들어, 용량 단위 형태는 1 나노그램 내지 2 밀리그램, 또는 0.1 밀리그램 내지 2 그램; 또는, 10 밀리그램 내지 1 그램으로부터, 또는 50 밀리그램 내지 500 밀리그램 또는 1 마이크로그램 내지 20 밀리그램; 또는 1 마이크로그램 내지 10 밀리그램; 또는 0.1 밀리그램 내지 2 밀리그램을 포함할 수 있다.

약학적 조성물은 임의의 원하는 경로(예, 폐, 흡입, 비강내, 경구, 볼, 혀밑, 비경구, 피하, 정맥내, 근육내, 복강내, 흉강내, 척수강내, 경피, 점막경유, 직장, 등)에 의한 투여를 위해 임의의 적합한 형태(예, 액체, 에어로졸, 용액, 흡입제, 미스트, 스프레이; 또는 고체, 분말, 연고, 페이스트, 크림, 로션, 젤, 패치등)를 가질 수 있다. 예를 들어, 본원의 약학적 조성물은 흡입 또는 취입에 의한 에어로졸 투여용 수용액 또는 분말의 형태(입 이거나 코를 통해서), 경구 투여를 위한 정제 또는 캡슐의 형태; 직접 주사에 의한 투여 또는 정맥내 주입용 멸균 주입액의 첨가에 의한 투여에 적합한 멸균 수용액 또는 분산액의 형태; 또는 로션, 크림, 거품, 패치, 현탁액, 용액, 또는 경피투여 또는 점막 투여용 좌약 일 수 있다.

약학적 조성물은 이에 제한되는 것은 아니나, 캡슐, 정제, 볼 형태, 트로키제, 마름모꼴을 포함하는 경구로 허용 가능한 용량 형태의 형태, 및 에멀전, 수용성 현탁액, 분산액 또는 용액 형태인 경구 액체일 수 있다. 캡슐은 본원의 화합물과 약학적으로 허용가능한 전분과 같은 불활성 충전제 및/또는 희석제(예, 옥수수, 감자 또는 타피오카 전분), 당, 인공감미료, 결정 및 미결정 셀룰로오스와 같은, 분말 셀룰로오스, 밀가루, 젤라틴, 검, 등과의 혼합물을 함유할 수 있다. 경구용 정제의 경우에, 보통 사용되는 담체는 락토오스 및 옥수수 전분을 포함한다. 마그네슘 스테아레이트와 같은, 윤활제는, 또한 더해질 수 있다. 캡슐 형태의 경구 투여를 위해, 유용한 희석제는 락토오스 및 건조된 옥수수 전분을 포함한다. 수용성 현탁액 및/또는 에멀전이 경구로 투여될 때, 유 성상에 현탁되거나 용해될 수 있는 본원의 화합물은 유화제 및/또는 현탁제와 조합된다. 원한다면, 특정 감미료 및/또는 향료 및/또는 착색제가 더해질 수 있다.

약학적 조성물은 정제 형태일 수 있다. 정제는, 예를 들어 락토오스, 수크로오스, 소르비톨 또는 만니톨인 당 또는 당 알콜과 같은 불활성 희석제 또는 담체와 함께 본원의 화합물의 단위용량을 포함할 수 있다. 정제는 탄산나트륨, 인산칼슘, 탄산칼슘과 같은 비-당에서 유래된 희석제, 또는 메틸 셀룰로오스, 에틸 셀룰로오스, 히드록시프로필 메틸 셀룰로오스와 같은 셀룰로오스 또는 이들의 유도체, 및 옥수수 전분과 같은 전분을 추가적으로 포함할 수 있다. 정제는 폴리비닐피롤리돈과 같은 결합제 및 과립화제, 붕해제(예, 가교결합된 카복시메틸셀룰로오스와 같은 팽윤성 가교결합된 중합체), 윤활제(예, 스테아레이트), 방부제(예, 파라벤), 향산화제(예, BHT), 완충제(예를 들어 포스페이트 또는 시트레이트 완충제), 및 시트레이트/바이카보네이트 혼합물과 같은 발포제를 추가적으로 포함할 수 있다.

정제는 코팅된 정제일 수 있다. 코팅은 보호 필름 코팅(예, 왁스 또는 광택제) 또는, 예를 들어 지연된 분비(섭취 후 미리 결정된 지연 시간 후에 활성의 분비) 또는 위장관의 특정한 위치에서의 활성의 분비인, 분비를 조절하기 위해 설계된 코팅일 수 있다. 후자는, 예를 들어, 상품명 Eudragit®으로 판매되는 것과 같은 장용 필름 코팅을 사용하여 달성 될 수 있다.

정제 제형은 통상적인 압축, 습식 과립화 또는 건식 과립화 방법 및 약학적으로 허용가능한 희석제, 결합제, 윤활제, 붕해제, 표면 개질제(계면활성제 포함), 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산, 활석, 라우릴 황산나트륨, 미결정 셀룰로오스, 카복시메틸셀룰로오스 칼슘, 폴리비닐피롤리돈, 젤라틴, 알긴산, 아카시아 검, 잔탄 검, 시트레이트 나트륨, 복합 실리케이트, 탄산칼슘, 글라이신, 텍스트린, 수크로오스, 소르비톨, 인산이 칼슘, 황산칼슘, 락토오스, 도토, 만니톨, 염화나트륨, 활석, 건조 전분 및 당 분말을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 현탁제 또는 안정화제를 이용하여 만들어 질 수 있다. 바람직한 표면 개질제는 비이온성 및 음이온성 표면 개질제를 포함한다. 표면 개질제의 대표적인 예는 폴록사머 188, 염화 벤잘코늄, 칼슘 스테아레이트 세토트레이틸 알코올, 세토마크로콜 유화 왁스, 소르비탄 에스테르, 콜로이드성 이산화 규소, 포스페이트, 도데실 황산나트륨, 규산 알루미늄 마그네슘, 및 트리에탄올아민을 포함하지만, 이제 제한되는 것은 아니다.

약학적 조성물은 단단한 또는 부드러운 젤라틴 캡슐의 형태일 수 있다. 이 제형에 따르면, 본원의 화합물은 고체, 반-고체, 또는 액체 형태일 수 있다.

약학적 조성물은 비경구 투여하기 위해 적합한 멸균 수용성 용액 또는 분산액의 형태일 수 있다. 본원에서 사용된 용어 비경구는 피하, 피내, 정맥내, 근육내, 관절내, 동맥내, 활막내, 흉골내, 척수강내, 병소내 및 두개내 주사 또는 주입 기술을 포함한다.

약학적 조성물은 직접적 주사에 의한 투여 이거나 정맥 내 주입 위한 멸균 주입 액체의 첨가에 의한 투여를 위

해 적합한 멸균 수용성 용액 또는 분산액의 형태일 수 있고, 물, 에탄올, 폴리올(예, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜), 이들의 적합한 혼합물, 또는 하나 이상의 식물성 오일을 함유하는 용제 및 분산매를 포함한다. 유리 염기 또는 약학적으로 허용가능한 염으로서 본원의 화합물의 용액 또는 현탁액은 계면활성제와 적절하게 혼합된 물에서 제조될 수 있다. 적합한 계면활성제의 예를 하기에 제시한다. 분산액은 또한, 예를 들어, 글리세롤, 액체 폴리에틸렌 글리콜 및 오일 내에서의 이들의 혼합물에서 제조될 수 있다.

본원의 방법에서의 사용을 위한 약학적 조성물은 제형 내에서 존재하는 임의의 담체 또는 희석제(락토오스 또는 만니톨과 같은) 이외에 하나 이상의 첨가제를 추가적으로 포함할 수 있다. 하나 이상의 첨가제는 하나 이상의 계면활성제를 포함하거나 구성할 수 있다. 계면활성제는 전형적으로 약물 침투 및 흡수를 향상시키기 위해 세포의 지질 구조에 직접 삽입 할 수 있는 지방산과 같은 하나 이상의 긴 지방족 사슬을 가진다. 계면활성제의 상대적 친수성 및 소수성을 특성화하는데 일반적으로 사용되는 경험적 매개 변수는 친수성-친유성 균형("HLB 값")이다. 더 낮은 HLB 값을 가진 계면활성제는 더 소수성이고, 오일내에서 더 큰 용해도를 갖고, 더 높은 HLB 값을 갖는 계면활성제는 더 친수성이며, 수용액에서 더 큰 용해도를 갖는다. 따라서, 친수성 계면활성제는 일반적으로 약 10보다 더 큰 HLB 값을 갖는 화합물로 간주되고, 소수성 계면활성제는 일반적으로 약 10 보다 작은 HLB 값을 갖는 것들이다. 그러나, 많은 계면활성제의 경우, HLB 값을 결정하기 위해 선택한 경험적 방법에 따라, HLB 값이 약 8 HLB 단위만큼 다를 수 있기 때문에 이러한 HLB 값은 단지 지침 일뿐이다.

본원의 조성물에 사용하기 위한 계면활성제는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)-지방산 및 PEG-지방산 모노 및 디에스테르, PEG 글리세롤 에스테르, 알코올-오일 에스테르교환반응 생성물, 폴리글리세릴지방산, 프로필렌 글리콜 지방산 에스테르, 스테롤 및 스테롤 유도체, 폴리에틸렌 글리콜 소르비탄 지방산 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 알킬 에테르, 당 및 이의 유도체, 폴리에틸렌 글리콜 알킬 페트, 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌(POE-POP) 블록 공중합체, 소르비탄 지방산 에스테르, 이온성 계면활성제, 지용성 비타민 및 그들의 염, 수용성 비타민 및 그들의 양친매성 유도체, 아미노산 및 그들의 염, 및 유기산 및 그들의 에스테르 및 무수물이다.

본원은 또한 본원의 방법에서 사용하기 위한 약학적조성물을 포함하는 포장 및 키트를 제공한다. 키트는 병, 바이알, 앰플, 블리스터 팩, 및 주사기로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 용기를 포함한다. 키트는 질병, 병증 또는 장애를 치료 및/또는 예방에 사용하기 위한 하나 이상의 지침서, 하나 이상의 주사기, 하나 이상의 어플리케이션, 또는 본원의 약학적 조성물을 재구성하기에 적합한 멸균 수용액을 추가적으로 포함한다.

본원에서 사용된 모든 퍼센트 및 비율은, 달리 명시되지 않는 한, 중량 기준이다. 본원의 다른 특징 및 이점은 다른 예로부터 명백하다. 제공된 예는 본원을 실시하는데 유용한 다른 구성 요소 및 방법론을 설명한다. 상기 예들은 청구된 본원을 제한하지 않는다. 본원에 기초하여 당업자는 본원을 실시하는데 유용한 구성요소 및 방법론을 확인 및 사용할 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0022] 실시예 1: 아펠리모드는 TSC2 null 세포 증식의 매우 선택적인 억제제이다.
- [0023] 아펠리모드를 TSC2 ^{-/-} 마우스 배아 섬유아세포(MEF-EV) 세포를 사용하여 고처리량 세포 생존력 스크리닝에서 확인하였다. TSC2 null 세포는 구성적으로 활성인 mTOR를 가진다. 간략하게, TSC2 ^{-/-} 녀아웃 마우스 배아로부터 유래된 MEF 세포(Onda *et al.*, *J. Clin. Invest.* 104(6):687-95, 1999)를 하이그로마이신 항생제 내성 유전자(MEF-EV)를 암호화하는 레트로바이러스 벡터 또는 TSC2(MEF-TSC2)를 암호화하는 동일한 레트로바이러스 벡터로 감염시켰다. 상기 MEF-EV 또는 MEF-TSC2 세포주를 하이그로마이신 선발에 의해 확립했다.
- [0024] 세포를 10% FBS(Omega Scientific) 및 2mM L-글루타민을 함유하는 DMEM에서 늘렸다. 세포의 냉동 스톱을 HTS 어세이에 직접 사용하기 위해 준비했다. 세포를 수거하고, 펠렛화하고 1X10⁷ 개/ml 농도의 세포로 95% FBS & 5% DMSO에서 재현탁했다. 1ml 소분을 1분당 1도의 속도로 -80으로 동결시켰다. 이 스톱을 장기 보관을 위해 기상 액체 질소로 옮겼다.
- [0025] 스크리닝을 위해, 바이알을 단지 해동될 때까지 연속 교반하면서 37℃에서 해동시키고 상온 어세이 배지에 재현탁하고 5분 동안 1,000rpm에서 원심분리시켰다. 상기 생성된 펠렛을 적절한 부피에서 재현탁하고 자동 세포 계수기를 사용하여 계수하고 최종 계수 40,000개 세포/ml로 희석하였다.
- [0026] 테스트 화합물(5μl 스톱 용액, 6x 원하는 최종 웰 농도)을 Biomek FX 액체 핸들러를 사용하여 384-웰 어세이 플레이트(Corning 3712)에 분배하였다. 표준 보어 카세트 헤드를 갖는 비-접촉 디스펜싱 시스템, Thermo Wellmate를 사용하여 MEF-EV 세포(25μL 배지에서 1 웰 당 1000개의 세포)를 이러한 사전 포맷된 플레이트에 첨

가하였다. 플레이트를 가슴된 인큐베이터에서 5% CO₂의 대기 하에 37℃에서 72시간 동안 인큐베이션했다.

[0027] 세포 생존력을 제조자의 지시에 따라 CellTiter-Glo® 발광 어세이(Promega)로 측정하였다. 생존력은 처리되지 않은 대조군 세포의 퍼센트로 표시되었다. 예를 들어, 아펠리모드의 경우, MEF-EV 세포 생존률(Mean +/- StDev, n=3)은 0.5 μM에서 2.16 ± 0.36% 및 5 μM에서 1.94 ± 0.07%였다.

[0028] TSC2 결실 세포에 대한 아펠리모드의 활성은 상기 기술된 MEF-EV 및 MEF-TSC2 세포주에서 뿐만 아니라 3쌍의 추가적인 동질전자계통에서 10점 용량 반응을 수행함으로써 더 입증되었다: (1) 표준 방법에 따라 (TSC2 -/-, p53 -/-) 또는 (TSC2 +/-, p53 -/-) 배아에서 (TSC2 -/-, p53 -/-) 및 (TSC2 +/-, p53 -/-) MEF 세포주를 확립했다[Zhang *et al. J. Clin. Invest.* 112, 1223-33, 2003]. (2) ELT3 랫 종양 세포주에서 ELT3-EV 및 ELT3-TSC2 세포주를 확립했다. ELT3 세포주는 LAM/TSC의 랫 종양 모델에서 확립되었다[Howe *et al., Am. J. Path.* 146, 1568-79, 1995]. 이 세포는 mTOR 경로의 구성적 활성화를 유도하는 TSC2에서 불활성화 돌연변이를 가지고 있다. 동질성 세포 쌍을 개발하기 위해 ELT3 세포를 하이그로마이신 항생제 내성 유전자(ELT3-EV)를 암호화하는 레트로바이러스 벡터 또는 TSC2(ELT-TSC2)를 암호화하는 동일한 레트로바이러스 벡터로 감염시켰다. 상기 ELT3-EV 및 ELT-TSC2 세포주를 하이그로마이신 선발에 의해 확립했다. (3) TRI-AML102 및 AML103 세포주를 Elizabeth Henske 박사(Fox Chase Cancer Center, Philadelphia, PA)가 제공한 TSC2 null 1차 인간 AML 샘플로부터 확립했다. HPV16 E6 및 E7 오픈 리딩 프레임 및 네오마이신 내성 카세트를 암호화하는 암포트로픽 레트로바이러스 LXSNI6E6E7로 상기 세포를 감염시켰다. 세포를 늘리고 네오마이신-선별하였다. 개별 클론을 분리하고 동결시켰다. 하이그로마이신 내성 카세트(pLXSN hTERT-hyg 플라스미드)를 갖는 인간 텔로머라아제 유전자(hTERT)의 암호화 서열이 Eugene6 형질전환 시약(Roche Applied Science, Indianapolis, IN)을 사용하여 TSC2^{-/-} 확인 E6E7 AML 클론에서 안정하게 발현되었다. TRI-AML102는 대조군 제오마이신 선별 플라스미드(pcDNA3.1-zeo)의 안정한 혼입에 의해 생성되는 반면, TRI-AML103은 인간 TSC2 cDNA pcDNA3.1-zeo 플라스미드를 발현한다. 이러한 조작 과정의 결과, TRI102 및 TRI103은 모두 네오마이신, 하이그로마이신 및 제오마이신 내성 세포주이다.

[0029] 10-점 용량 반응을 위해, 96 웰 플레이트에 웰 당 성장 배지(DMEM(CellGro 10-017-CV) FBS 10% (Sigma Aldrich F2442-500ML, Lot 12D370) 페니실린/스트렙토마이신(100X)(CellGro Ref 30-002)) 100 μL에 2000개의 ELT3 세포, 또는 2000개의 AML 세포를 플레이팅 했다. 세포를 플레이팅 한 지 24시간 후, 배지를 제거하고 100 μL의 성장 배지에서 아펠리모드 희석액(1-500nM, 2배 희석)을 첨가하였다(0.1% 최종 DMSO 농도). 화합물 첨가 72시간 후, 상대 세포 생존력을 CellTiter-Glo® 발광 어세이(Promega)로 측정하고 비히클(DMSO) 처리된 대조군 세포에 대한 퍼센트로서 나타냈다. 그 후 IC₅₀ 값을 XLFI (IDBS)를 사용하여 용량 반응 곡선으로부터 계산하였다.

[0030] TSC2 결핍 세포는 아펠리모드에 매우 민감했다(IC₅₀ = 20nM, 도 1). TSC2 -/- p53 -/- MEF는 TSC2 +/- p53 -/- MEF에 비해 아펠리모드에 대한 민감도가 1 보다 큰 선택도 비율로 나타났다(2.45).

표 1

[0031]

| 다양한 세포 유형에서 아펠리모드의 IC ₅₀ (생존력) | | | | |
|---|-----------------|----------------------------|----------------------------|-------|
| 세포 유형 | MEF TSC2 -/- | MEF TSC2 -/- p53 -/- | AML TSC2 +/- p53 -/- | ELT3 |
| IC ₅₀ TSC2-/- | 19.70 | 28.80 | 117.00 | 13.70 |
| IC ₅₀ TSC2 구조 | 20.10 | 70.70 | 132.00 | 16.05 |
| 선택도 비율 | 1.02 | 2.45 | 1.13 | 1.17 |

[0032] TSC2 -/- 결핍 및 구조(rescue) 세포주에서 10점 용량 반응으로부터 계산된 IC₅₀(nM). IC₅₀은 두 실험의 평균으로 계산한다. 선택도 비율은 TSC2 구조 세포주의 IC₅₀을 TSC2 -/- 세포주로 나눔으로써 계산된다.

[0033] 또한, 더 높은 아펠리모드의 농도는 TSC2 구조 MEF-TSC2 세포와 비교하여 TSC2 -/- MEF-EV 세포에서 더 높은 효능을 나타냈다. 아펠리모드가 말초 혈액 단핵 세포(Wada *et al., Blood* 109, 1156-64, 2007), 또는 U937, HELA, Jurkat 및 THP를 포함하는 다양한 암세포(PCT 공개 No. WO 2006/128129)에서 세포 독성이 없다는 사실과 관련이 있는 이 데이터는 아펠리모드로 TSC2 -/- 암세포를 치료하기 위한 높은 치료 지표가 있음을 시사한다(도

2A - 2B).

[0034] **실시예 2: 아필리모드는 암세포에서 매우 선택적인 세포독성제이다.**

[0035] 아필리모드의 세포 독성 활성은 CellTiterGlo™와 같은 표준 세포 생존능 어세이를 사용하여 제조업체의 지침에 따라 평가했다. 122개의 인간 암세포 세포주를 아필리모드에 대한 민감도로 평가했다. IC₅₀이 500nM 미만인 세포주는 아필리모드에 민감한 것으로 불렸다. 35 세포주는 아필리모드로 유도된 세포 독성에 민감한 것으로 확인했다. 아필리모드는 정상 세포와 비교하여 암세포에 대해서도 매우 선택적이었으며 IC₅₀은 암세포보다 20 내지 200배 범위에서 높았다(도 2A - 2B).

[0036] 아필리모드의 세포 독성 활성의 메커니즘을 H4 신경아교종 세포주에서 72시간 동안 처리한 후(IC₅₀ 250-300 nM) 자가포식 공포를 어세이하여 추가로 조사했다. 자가포식을 Cyto-ID 자가포식 검출 키트(Enzo)를 사용하여 제조업체의 지침에 따라 정량했다. 도 3은 아필리모드가 용량 의존적으로 자가포식을 유도한다는 것을 보여준다.

[0037] **실시예 3: 아필리모드는 PIKfyve 키나아제의 매우 선택적인 결합제이다.**

[0038] 암세포에서 아필리모드의 세포 표적을 확인하기 위해 인간 신경아교종 세포에서 준비된 전체 세포 용해물을 화학적 포획 질량 분광계(CCMS)를 사용하여 그 결합 파트너를 확인하는 데 사용했다. 이 작업은 Caprotec Bioanalytics GmbH, Berlin Germany에서 수행했다[Michaelis *et al.*, *J. Med. Chem.*, 55 3934-44 (2012) 및 이의 인용된 참고문헌].

[0039] 간단히 말해서 단일 방향으로 부착된 선택성 기능으로서 아필리모드를 사용하는 두 가지 포획 화합물 변이체를 합성하고 동일성 및 순도를 보장하기 위해 LC-MS 및 1H-NMR로 분석하였다. 예를 들어, 포획 화합물과 단백질의 비-특이적 상호작용의 최소화, 단백질과 포획 화합물의 최대 결합을 얻기 위한 시약 및 단백질의 농도 등의 포획 조건은 H4(인간 신경아교종) 암세포로부터의 전체 세포 용해물에서 최적화되었다. 하나의 포획 화합물은 경쟁적 리간드로서 아필리모드를 사용하는 CCMS 실험에서 특이적 단백질 결합제를 확인하기 위해 선택되었다. 포획 어세이에서 LC-S에 의해 검출되고 경쟁 조절 실험에서 유의하게 감소하는 단백질은 특이적 결합제로 간주된다. 이들의 특이적 결합제는 편향된 데이터 평가 이후에 특이성을 결정하기 위해 엄격한 데이터 분석 기준에 추가로 종속되었다. 특이적 단백질 결합제는 결합 실험에서 그들의 배수 변화(FC) 값에 따라 순위가 매겨졌다. 오직 두개의 단백질만이 아필리모드의 높은 가능성 후보 표적 단백질로서 확인되었다: PIKfyve 및 Vac14. 도 4에서 볼케이노 플롯을 보여준다. 4가지 다른 포획 화합물 농도 실험에서 이들 단백질의 FC 및 p-값을 표 2에서 보여준다.

표 2

[0040]

| | | 캡처 화합물 농도 | | | |
|---------|--------------------------|-----------|--------|--------|--------|
| | | 0.1 μM | 0.5 μM | 1.0 μM | 2.0 μM |
| PIKfyve | log ₂ (FC) | 6.3 | 6.2 | 4.1 | 4.3 |
| | -log ₁₀ (p-값) | 3.7 | 2.8 | 5.1 | 3.9 |
| Vac14 | log ₂ (FC) | 6.2 | 5.6 | Inf. | 3.9 |
| | -log ₁₀ (p-값) | 3.9 | 3.8 | 1.9 | 3.6 |

[0041] 별도의 연구에서, 아필리모드의 단백질 키나아제 프로파일링은 키나아제 표적 (DiscoverX, Fremont, CA)을 확인하기 위해 수행되었다. 해리 상수(K_d) 연구는 아필리모드의 알려진 표적인, PIKfyve에 대해 증가하는 농도 (0.05 내지 3000nM)의 아필리모드를 사용하여 수행되었다. 실험은 이중으로 수행되었고 K_d는 0.075nM (범위 0.069 - 0.081nM)로 결정되었다(도 5).

[0042] 다음으로, 아필리모드는 포괄적인 키나아제(PIKfyve는 포함되지 않음) 패널에 대해 스크리닝되었다. 질병-관련 키나아제를 포함하는, 전체로서, 456 키나아제를 아필리모드와 결합하는 능력에 대해 어세이하였다. 아필리모드의 스크리닝 농도는 1 μM 이었고, 이 농도는 PIKfyve에 대한 아필리모드의 K_d보다 10000배 이상 큰 농도였다. 스크리닝으로부터의 결과는 아필리모드는 테스트된 456개의 키나아제 중 어느 것에도 결합하지 않음을 보여줬다.

[0043] 아울러, 이 결과들은 아필리모드가 암세포에서 단일 세포 키나아제인, PIKfyve에 높은 선택성으로 결합함을 보

여준다. PIKfyve는 PI(3)P에 결합하고 지질 2차 전달자 PI(3,5)P₂ 및 PI(5)P의 형성을 촉매하는 효소이고 다른 것들은 또한 아필리모드가 정상 세포에서 이 키나아제 PIKfyve의 특이적 강력하고 특이적인 억제제임을 보여줬다[Cai X et al., Chem Biol. 2013 Jul 25;20(7):912-21]. 아래에서 보다 상세히 설명하겠지만, 암세포에 대한 아필리모드의 선택적 세포 독성의 메커니즘을 이해하기 위해, 암세포에서의 생물학적 활성을 규명하기 위한 일련의 실험을 수행했다.

[0044] **실시예 4: 아필리모드의 항-암 활성의 메커니즘**

[0045] 아필리모드는 염증성 사이토카인 IL-12 및 IL-23의 강력한 억제제로 알려져 있다. 아필리모드가 질병 또는 장애를 치료하는 것을 나타내는 범위까지, 이 활동에서의 전제로 한다. 건선, 류마티스 관절염 및 크론병과 같은 자가면역 및 염증성 질병에서의 잠재적 효능에 초점을 둔 아필리모드의 임상 테스트에도 불구하고, 아필리모드는 암에 대해, 특히 c-rel 또는 IL-12/23이 전-증식 인자로 작용하는 암에 대해 유용할 수 있다는 몇 가지 출판된 제안이 있다[예를 들어, WO 2006/128129 및 Baird et al., Frontiers in Oncology 3:1 (2013), 각각]. 놀랍게도, 그리고 아필리모드의 IL-12/23 억제성 활성이 예측되는 이러한 기대에 반하는, 테스트된 세포주에서 c-Rel 발현(c-Rel은 IL-12/23 유전자에 대한 전사 인자이다), IL-12, 또는 IL-23 발현 및 아필리모드에 대한 민감성 사이에 상관 관계가 없음을 발견했다.

[0046] IL-12A, IL-12RB1, IL-12RB2, IL-12B, IL-23A 및 IL-23R의 발현을 75개의 암세포주의 다양한 군에서 분석하였다(표 3 참조).

표 3

| 다양한 암세포주 | | | |
|----------|----------------------|-----------|-----------------------|
| 번호 | 암 모델 | 세포주 | IC ₅₀ (nM) |
| 1 | 인간 버키트림프종 | ST486 | 25 |
| 2 | 인간 외투세포림프종 | JeKo-1 | 70 |
| 3 | 인간 광범위큰 B 세포 림프종-GCB | SUDHL-4 | 25 |
| 4 | 인간 광범위큰 B 세포 림프종-GCB | SUDHL-6 | 80 |
| 5 | 인간 버키트림프종 | Daudi | 200 |
| 6 | 인간 조직구 림프종 | U937 | 106 |
| 7 | 인간 폐 암종 | A549 | 110 |
| 8 | 인간 결장직장암 | HCT116 | 125 |
| 9 | 인간 B-세포 림프종 | DB | 150 |
| 10 | 인간 광범위큰 B 세포 림프종-GCB | WSU-DLCL2 | 160 |
| 11 | 인간 결장직장 | HCT-15 | 200 |
| 12 | 인간 결장직장 | SW480 | 90 |
| 13 | 인간 결장직장 | COLO-205 | 380 |
| 14 | 인간 결장직장 | SW620 | 90 |
| 15 | 인간 T-세포 백혈병 | Jurkat | 200 |
| 16 | 인간 신경아세포종 | H4 | 250 |
| 17 | 인간 광범위큰 B 세포 림프종-GCB | Toledo | 270 |
| 18 | 인간 B 세포 비-호치킨 림프종 | Rec-1 | 300 |
| 19 | 인간 호치킨 림프종 | KMH-2 | 181 |
| 20 | 인간 버키트림프종 | EB1 | 174 |
| 21 | 인간 광범위큰 B 세포 림프종-GCB | SUDHL-10 | 20 |
| 22 | 인간 버키트림프종 | GA-10 | 382 |
| 23 | 인간 광범위큰 B 세포 림프종-GCB | OCI-Ly19 | 380 |
| 24 | 인간 광범위큰 B 세포 림프종-GCB | HT | 642 |
| 25 | 인간 광범위큰 B 세포 림프종-GCB | Pfeiffer | 2,620 |
| 26 | 인간 버키트림프종 | Namalva | 600 |
| 27 | 인간 여포성 B 세포 림프종-GCB | DOHH-2 | 700 |
| 28 | 인간 방광 암종 (GATOR +/-) | SW780 | 1000 |
| 29 | 인간 결장직장암 | MDST8 | 1000 |
| 30 | 인간 버키트림프종 | Raji | 10,000 |
| 31 | 인간 호치킨 림프종 | HD-MyZ | >1000 |
| 32 | 인간 호치킨 림프종 | L540 | >1000 |
| 33 | 인간 호치킨 림프종 | HDLM-2 | >1000 |
| 34 | 인간 버키트림프종 | CA46 | >10,000 |
| 35 | 인간 역형성큰세포림프종 | SUDHL-1 | 590 |

[0047]

| | | | |
|----|----------------------|------------|---------|
| 36 | 인간 폐 암종 | H1734 | 1500 |
| 37 | 인간 결장직장암 | SW1116 | 1500 |
| 38 | 인간 결장직장 | COLO-320DM | 2,060 |
| 39 | 인간 신경아세포종 | A172 | 2000 |
| 40 | 인간 폐 암종 | H1693 | 2000 |
| 41 | 인간 폐 암종 | H460 | > 2000 |
| 42 | 인간 폐 암종 | H358 | >2000 |
| 43 | 인간 췌장암 | CAPAN2 | >2000 |
| 44 | 인간 췌장암 | PANC1 | >2000 |
| 45 | 인간 췌장암 | MiaPaCa-2 | >2000 |
| 46 | 인간 췌장암 | AsPC1 | >2000 |
| 47 | 인간 전립선암 | DU145 | >2000 |
| 48 | 인간 급성 골수성 백혈병 | KG-1 | >2500 |
| 49 | 인간 전립선암 | LnCap | 3000 |
| 50 | 인간 T-세포 림프종 | HH | 3,300 |
| 51 | 인간 T-세포 백혈병 | MOLT-4 | 3,300 |
| 52 | 인간 전립선암 | 22RV1 | >5000 |
| 53 | 인간 결장직장암 | DLD-1 | >5000 |
| 54 | 인간 급성성 백혈병 | K562 | >5000 |
| 55 | 인간 결장직장암 | RKO | >5000 |
| 56 | 인간 난소 | TCV-216 | 7000 |
| 57 | 인간 전립선암 | PC-3 | 10,000 |
| 58 | 인간 표치킨 림프종 | L428 | 10,000 |
| 59 | 인간 형질세포종 | RPML-8226 | >10,000 |
| 60 | 인간 폐 암종 | NCI-1975 | >10,000 |
| 61 | 인간 유방암 | CAMA1 | >10,000 |
| 62 | 인간 신경아세포종 | SW1088 | >10,000 |
| 63 | 인간 신경아세포종 | MO591K | >10,000 |
| 64 | 인간 신경아세포종 | U-118 MG | >10,000 |
| 65 | 인간 신경아세포종 | U-87 MG | >10,000 |
| 66 | 인간 급성 단구성 백혈병 | THP1 | >10,000 |
| 67 | 인간 광범위분 B 세포 림프종-GCB | KARPA5-422 | >10,000 |
| 68 | 인간 B세포성 B 세포 백혈병 | RL | >10,000 |
| 69 | 인간 외투세포림프종 | GRANTA-519 | >10,000 |
| 70 | 인간 세기관지 | NCI-H1650 | >20,000 |
| 71 | 인간 세기관지 | SW1573 | >20,000 |
| 72 | 인간 세기관지 | NCI-H1781 | >20,000 |
| 73 | 인간 세기관지 | NCI-H1666 | 20,000 |
| 74 | 인간 결장직장 | LOVO | >10,000 |
| 75 | 인간 결장직장 | HT-29 | >10,000 |

[0048]

[0049]

간략하게, CCLE로부터의 유전자 발현 데이터는 아필리모드에 대한 용량 반응 곡선이 얻어진 75개의 암세포주에 대해 분석되었다. 각 인터루킨 유전자의 발현은 비대응표본 t-테스트에 의해 민감한(IC50이 500nM 미만) 및 민감하지 않은(IC50이 500nM 초과) 주에서 비교되었다. IL-23A를 제외하고 통계적으로 유의한 관계는 발견되지 않았다($p = 0.022$). IL-23A는 이전에 아필리모드에 민감한 비 소 세포 폐암 세포주에서 증가하는 것으로 나타났다으며, 제조함 IL-23A는 비 소 세포 폐암 세포주의 증식을 증가시키는 것으로 나타났다(앞의 Baird et al 참조). 중요하게, 민감한 암세포에서의 IL-23A 발현의 통계적 유의성은 단지 두 개의 대장 암 세포주에 의해 전적으로 유도된 것으로 보인다. 또한 IL-23A 발현은 비호지킨 B세포 림프종에서 민감도의 통계적으로 유의한 예측 인자는 아니다.

[0050]

실시예 5: 아필리모드는 신장암 세포의 증식을 억제한다.

[0051]

신장암 세포주 RCC-MF, RCC-ER, RCC-JF, 및 RCC-JW는 McCoy's 5A 배지(Corning)에서 자라면서, 786-0, 769-P 및 RCC-FG2은 RPMI-1640(Corning)에서 자랐고, A-704는 10% FBS(Sigma Aldrich F2442-500ML, Lot 12D370) 및 페니실린/스트렙토마이신(100X) (CellGro Ref 30-002)이 보충된 MEM(Corning)에서 자라고, 각각, 50 μ L의 최종 부피의 96웰 플레이트에, 웰 당 1000, 1200, 1000, 4000, 200, 2000, 1200 및 5000개의 세포 밀도로 시드하였다.

[0052] 단일 치료 연구를 위해, 시딩 24시간 후에, 세포를 최종 농도 0.5 - 10000nM(3-배 희석 및 총 10 희석)의 아필리모드 메실레이트(이 실험예에서 단순히 '아필리모드' 또는 LAM-002로 언급됨), 소라페닙, 파조파닙 또는 수니티닙으로 처리했다. 모든 약물 희석액은 2x 스톱으로 만들어지고 적절한 웰에 50 μ L을 첨가했다. CellTiterGlo® (Promega)를 사용하여 생존력을 평가하기 전에 세포를 120시간 동안 처리하였으며 처리되지 않은 세포의 상대 발광은 100% 생존력으로 설정되었고 각 약물 농도는 처리되지 않은 세포의 퍼센트로 표시되었다. GraphPad Prism(GraphPad Software, Inc)을 사용하여 EC₅₀ 값을 결정하였다. 간략하게, 기초 데이터를 로그 변환하고 데이터가 제한된 비선형 회귀(곡선 맞춤)를 사용하여 분석하였다(하단 = 0, 상단 = 100).

[0053] 이러한 단일 치료 연구의 결과는 도 6-13에서 보여주고 다음 표에 요약되었다.

표 4

[0054]

| 신장암 세포주에서의 단일 치료 연구의 결과 | |
|-------------------------|----------|
| 세포주 | IC50(nM) |
| 769-P | 44 |
| RCC-MF | 8 |
| RCC-ER | 9 |
| RCC-FG2 | 32 |
| RCC-JF | 60 |
| 786-0 | 71 |
| A-704 | 11 |
| RCC-JW | 27 |

[0055] 아필리모드와 파조파닙, 또는 소라페닙 사이의 시너지 효과를 계산하기 위해, RCC-ER, RCC-FG2, RCC-MF 및 769-P 세포를 위에서 약술한 바와 같이 시드하였다. 24시간 후, 세포를 아필리모드 단독(최종 농도 2 - 250nM; 2-배 희석 및 총 8 희석), 파조파닙 단독(최종 농도 78.1 - 10000nM; 2-배 희석 및 총 8 희석), 또는 소라페닙(최종 농도 78.1 - 10000nM; 2-배 희석 및 총 8 희석), 또는 아필리모드의 각 농도와 파조파닙 또는 소라페닙의 각 농도의 조합(8 x 8 매트릭스)으로 처리하였다. CellTiterGlo® (Promega)를 사용하여 생존력을 평가하기 전에 세포를 120시간 동안 처리하였으며 처리되지 않은 세포의 상대 발광은 100% 생존력으로 설정되었고 각 약물 농도는 처리되지 않은 세포의 퍼센트로 표시되었다.

[0056] 도 14 - 21은 시너지 효과 연구의 결과를 보여준다. 각 도(A)의 막대 그래프는 아필리모드의 단일 농도, 파조파닙의 단일 농도 및 아필리모드 및 파조파닙 조합(단일 제제 농도에서)이 세포 생존력에 미치는 영향을 보여준다. 두 약물의 조합 효과가 첨가제인 경우, '기대값'은 아필리모드의 생존력 부분을 파조파닙의 생존력 부분과 곱하여 계산했으며, 이는 검정색 막대로 보여준다. 각 도에서 CI 대 부분 효과 그래프(B)는 시너지효과를 측정기에 사용되고 CalcuSyn (version 2.11, Biosoft)를 사용하여 계산된 문헌[Chou et al. (Chou TC, Talalay P. Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. *Adv Enzyme Regul.* 1984;22:27-55)]에서 정의된 조합 지수를 보여준다. 이 분석은 임상적으로 성취가능한 농도 안에 있고 부분 효과(Fa)과 0.75 초과인(즉, 약물의 조합에서 세포 생존률이 75% 초과 감소) CI 값을 평가하기 위해 제한되었다. CI 대 부분 효과 그래프에서 데이터포인트는 'x'로 표시되고 선은 95% 신뢰 구간을 보여주고, CI 값 > 1을 생성하는 약물 조합은 길항적이고, CI = 1은 첨가제, CI < 1은 시너지적이다. 또한, ED₅₀, ED₇₅ 및 ED₉₀은 아필리모드와 파조파닙 또는 소라페닙의 조합에 대해 보여준다. 동일한 방법론이 아필리모드와 소라페닙의 조합에 적용되었다. 아래의 표 6은 시너지 효과 연구의 결과를 요약한다.

[0057] 여기에 제시된 데이터는 테스트된 신장 세포주의 패널에서 아필리모드는 파조파닙 또는 소라페닙과 시너지적으로 작용할 수 있다는 것을 입증했다.

표 5

[0058]

| 다양한 세포주에서 아필리모드 및 파조파닙의 조합에 대한 ED ₅₀ , ED ₇₅ 및 ED ₉₀ 의 CI 값 | | | | |
|--|--------|----------------------|----------------------|----------------------|
| 세포주 | 아필리모드+ | CI, ED ₅₀ | CI, ED ₇₅ | CI, ED ₉₀ |
| RCC-ER | 소라페닙 | 0.77 | 0.45 | 0.31 |

| | | | | |
|---------|------|------|------|------|
| RCC-FG2 | 소라페닙 | 0.79 | 0.64 | 0.51 |
| RCC-MF | 소라페닙 | 0.73 | 0.59 | 0.48 |
| 769-P | 소라페닙 | 1.22 | 0.87 | 0.62 |
| RCC-ER | 파조파닙 | 0.56 | 0.35 | 0.22 |
| RCC-FG2 | 파조파닙 | 0.32 | 0.38 | 0.46 |
| RCC-MF | 파조파닙 | 0.58 | 0.50 | 0.43 |
| 769-P | 파조파닙 | 0.57 | 0.87 | 1.31 |

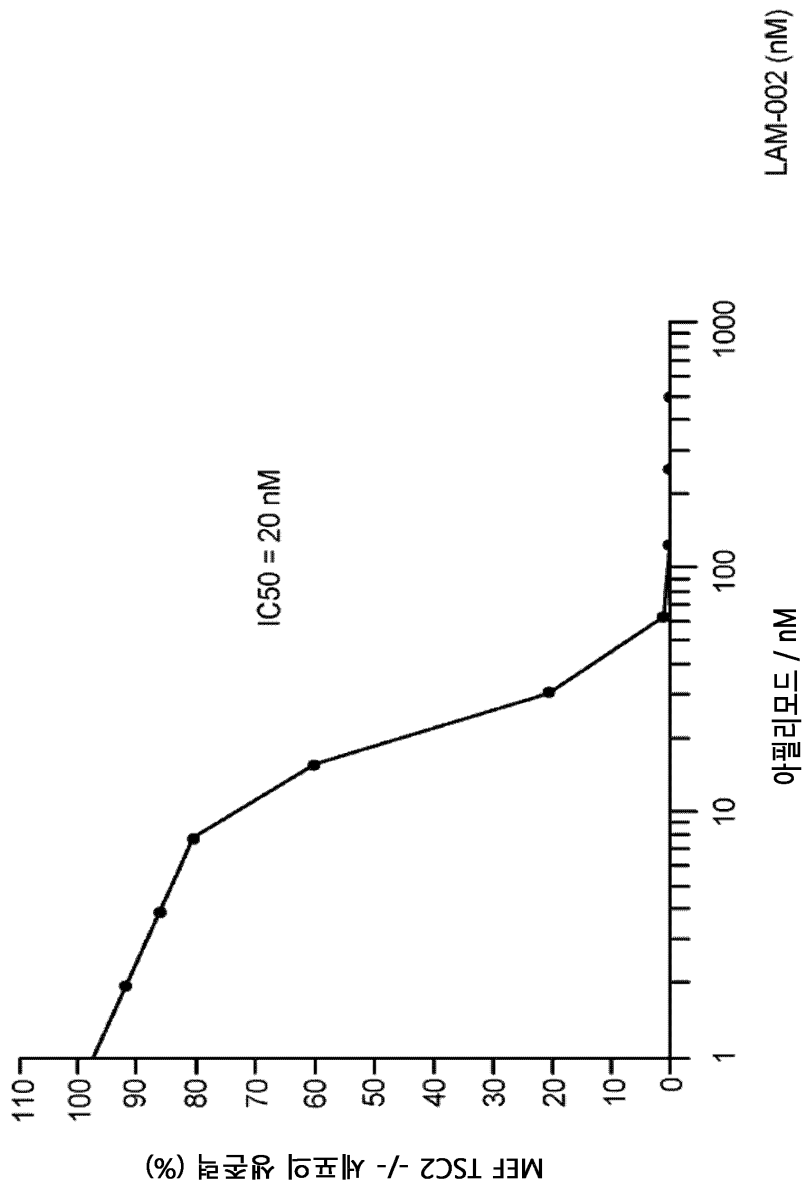
표 6

| 시너지 효과 연구의 요약 | | | | |
|------------------|--------|---------|--------|-------|
| | RCC-ER | RCC-FG2 | RCC-MF | 769-P |
| 파조파닙 +LAM-002 | 시너지 | 시너지 | 시너지 | 시너지 |
| 소라페닙 +LAM-002 | 시너지 | 시너지 | 시너지 | 시너지 |

[0059]

도면

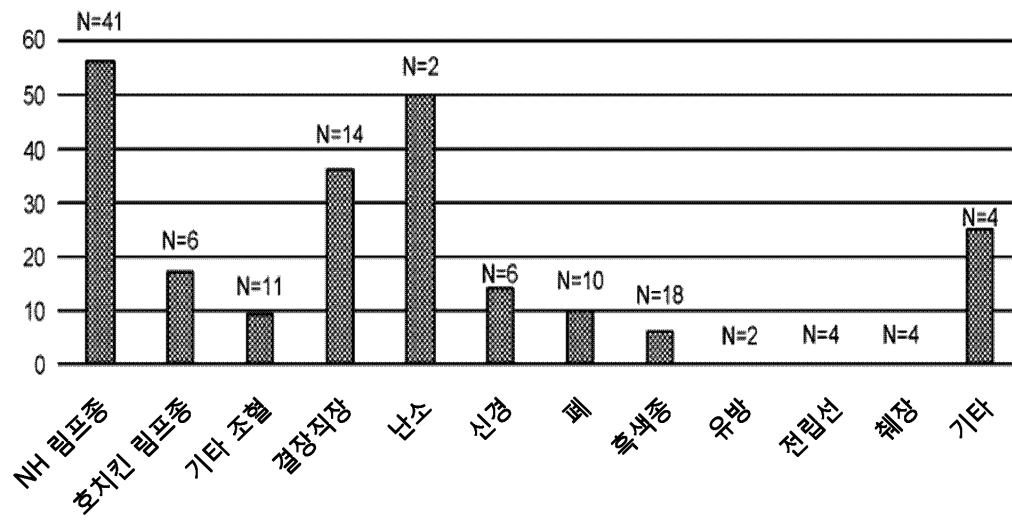
도면1



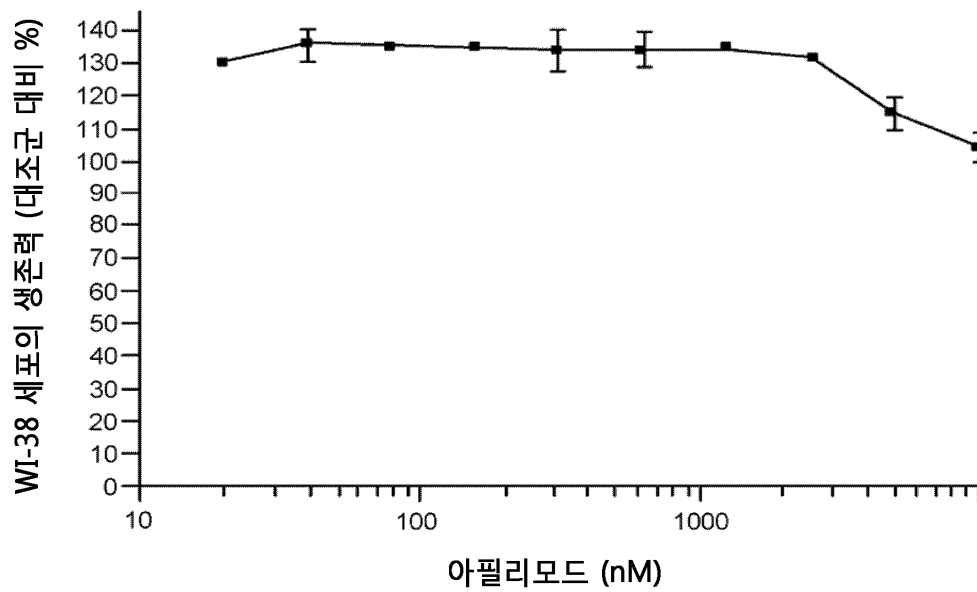
도면2

A

IC50이 500nM 미만인 세포주 퍼센트 (N=122)

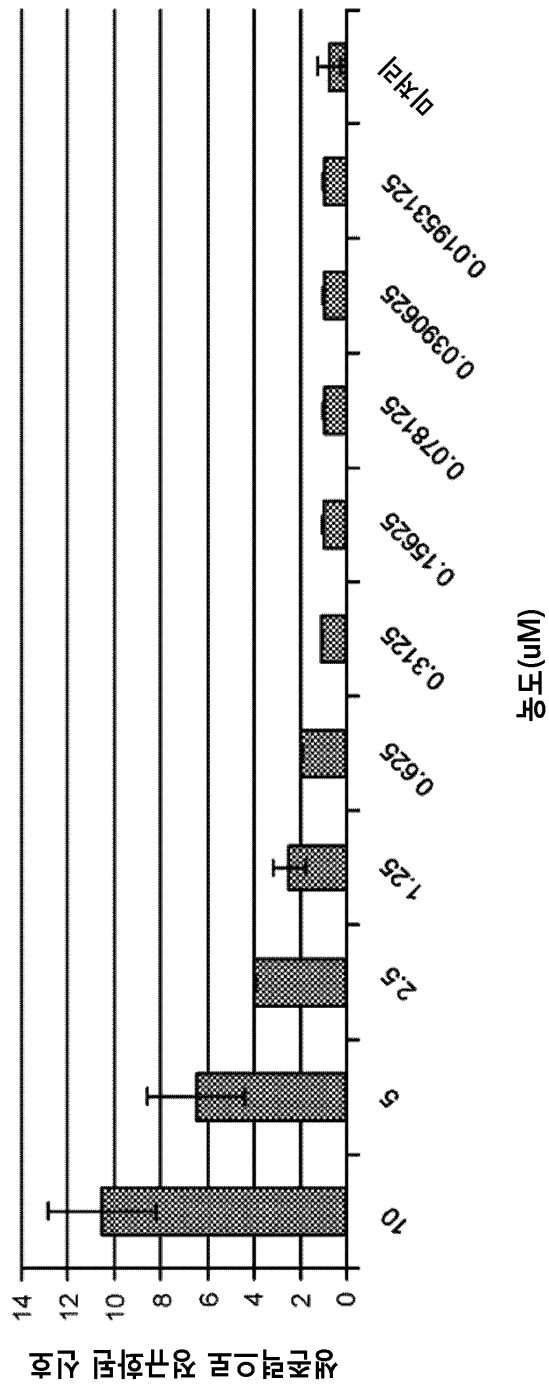


B

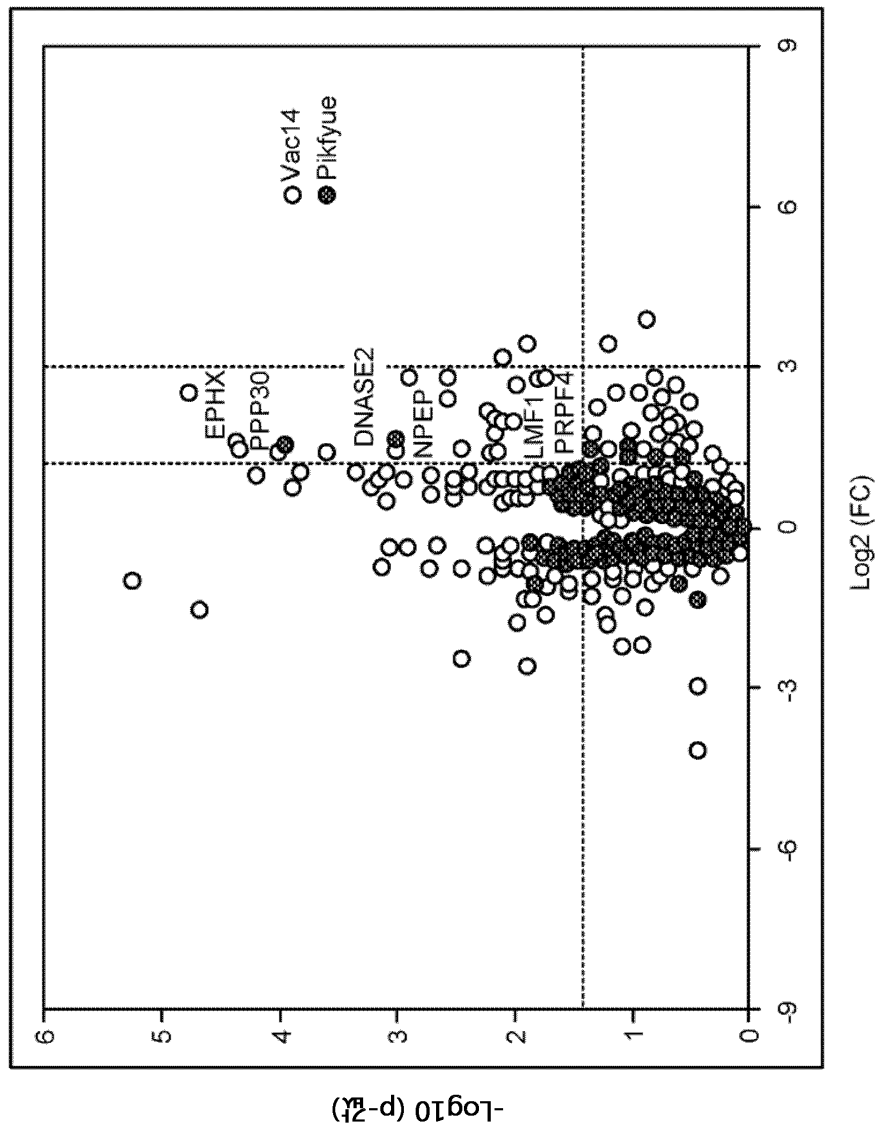


도면3

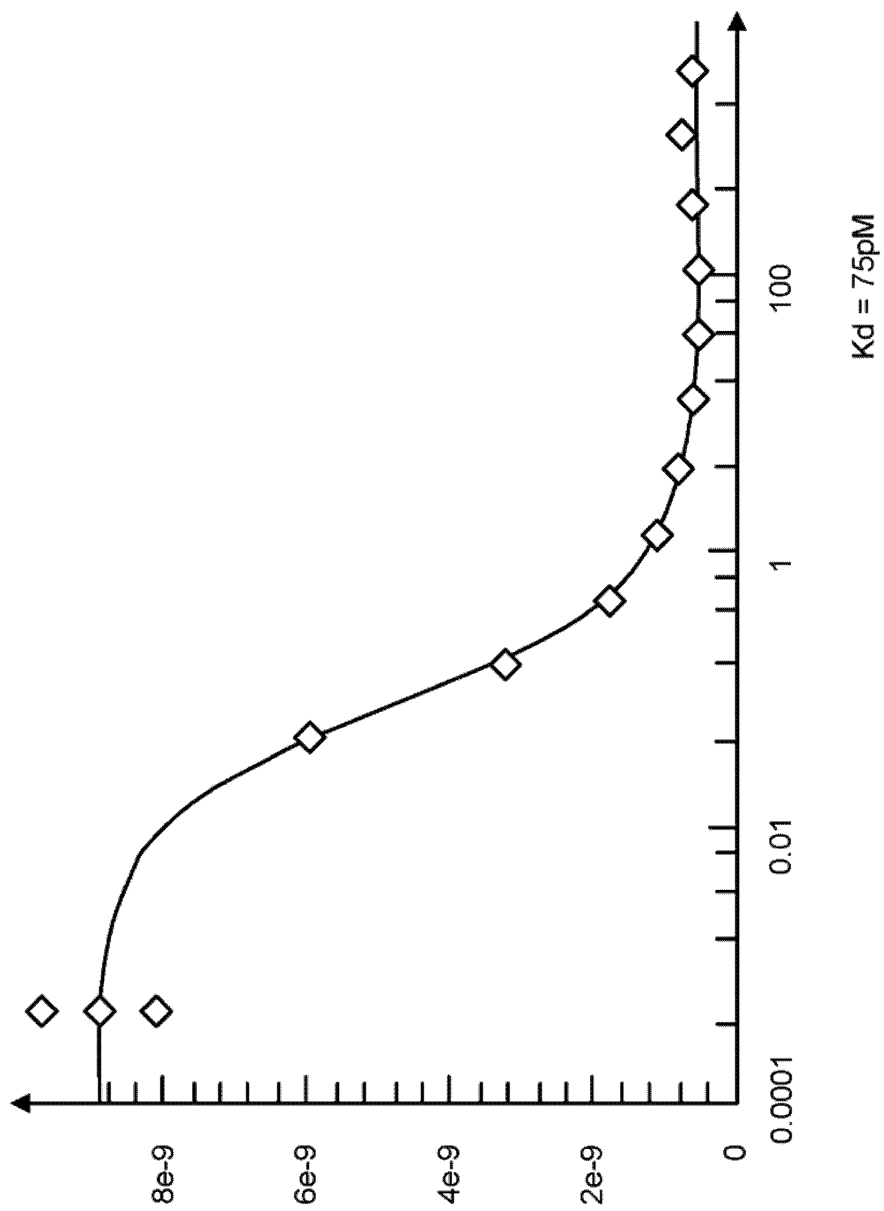
아펠리모드 처리된 H4 신경아교종에서의 자가포식 공포



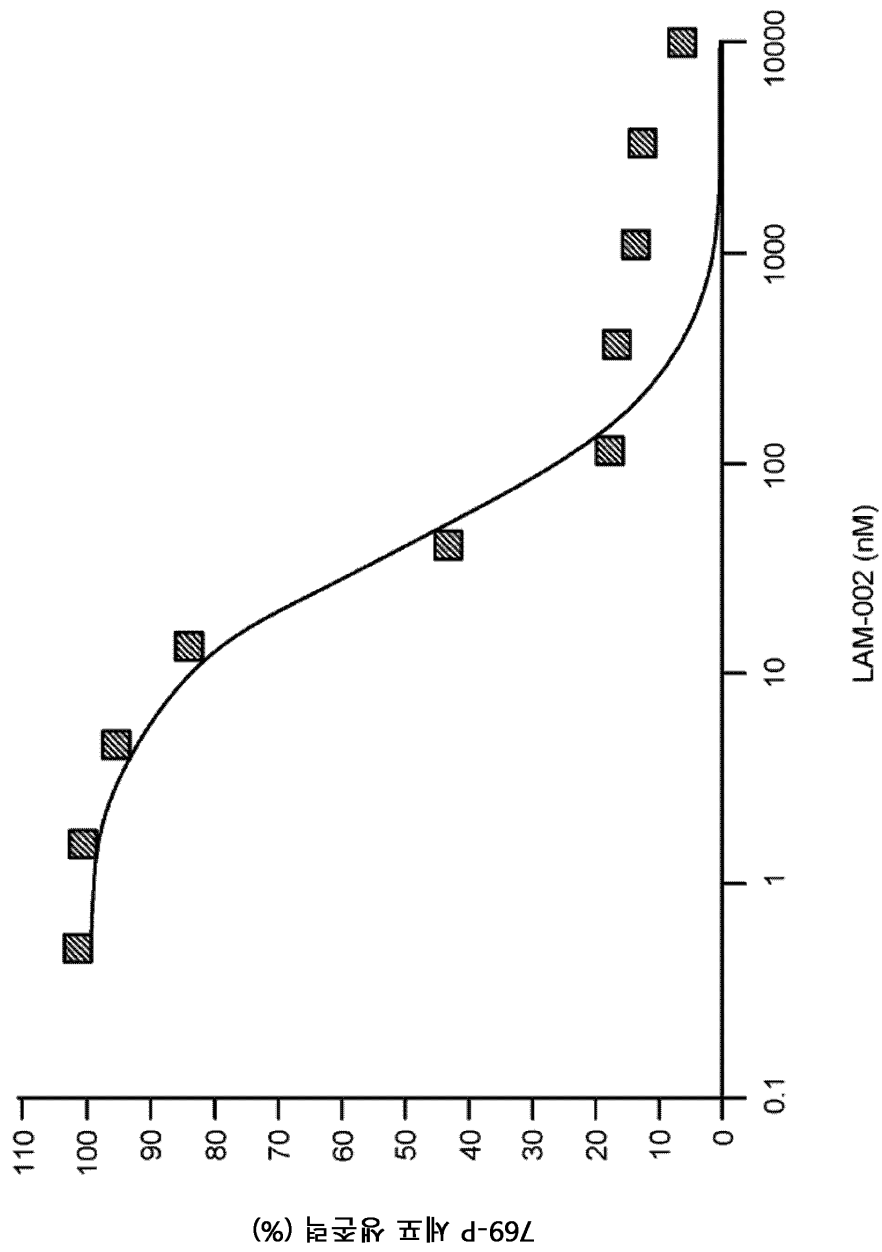
도면4



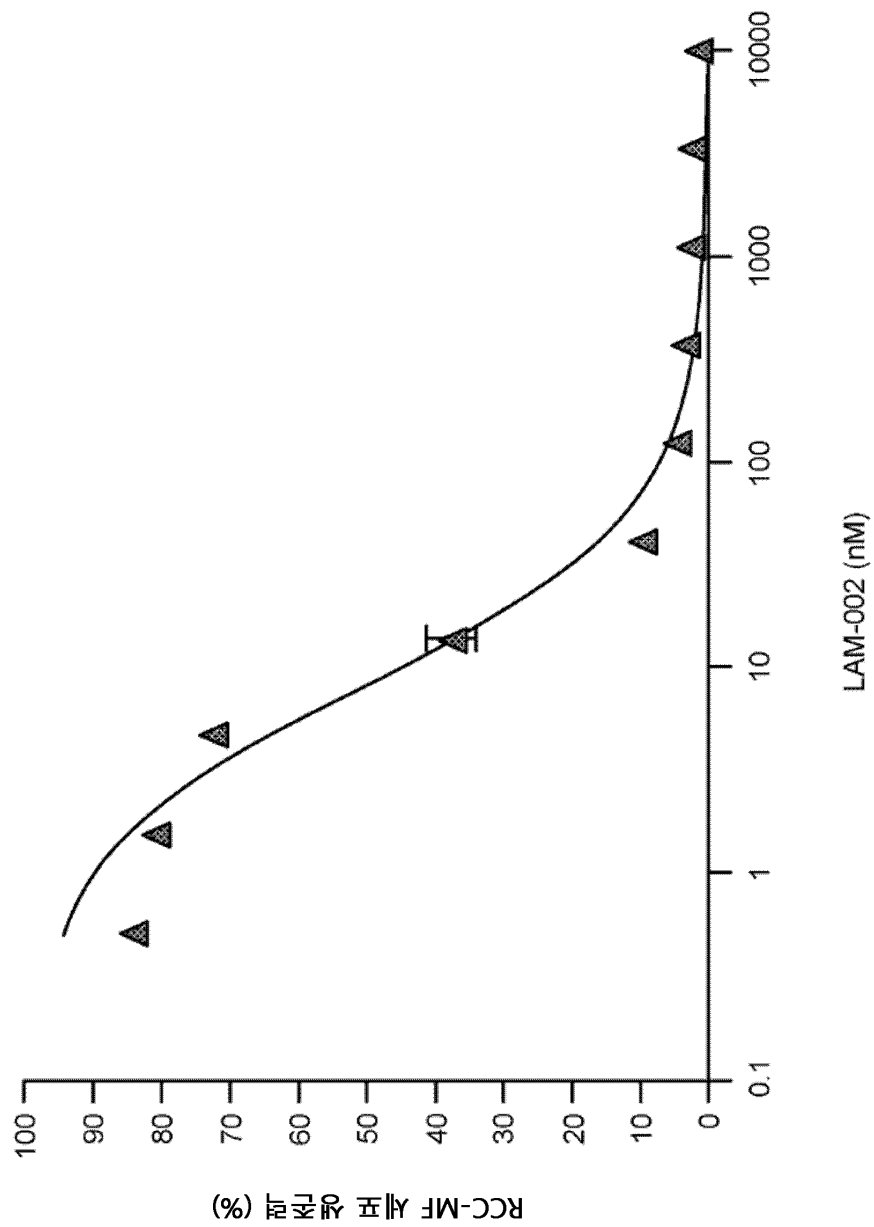
도면5



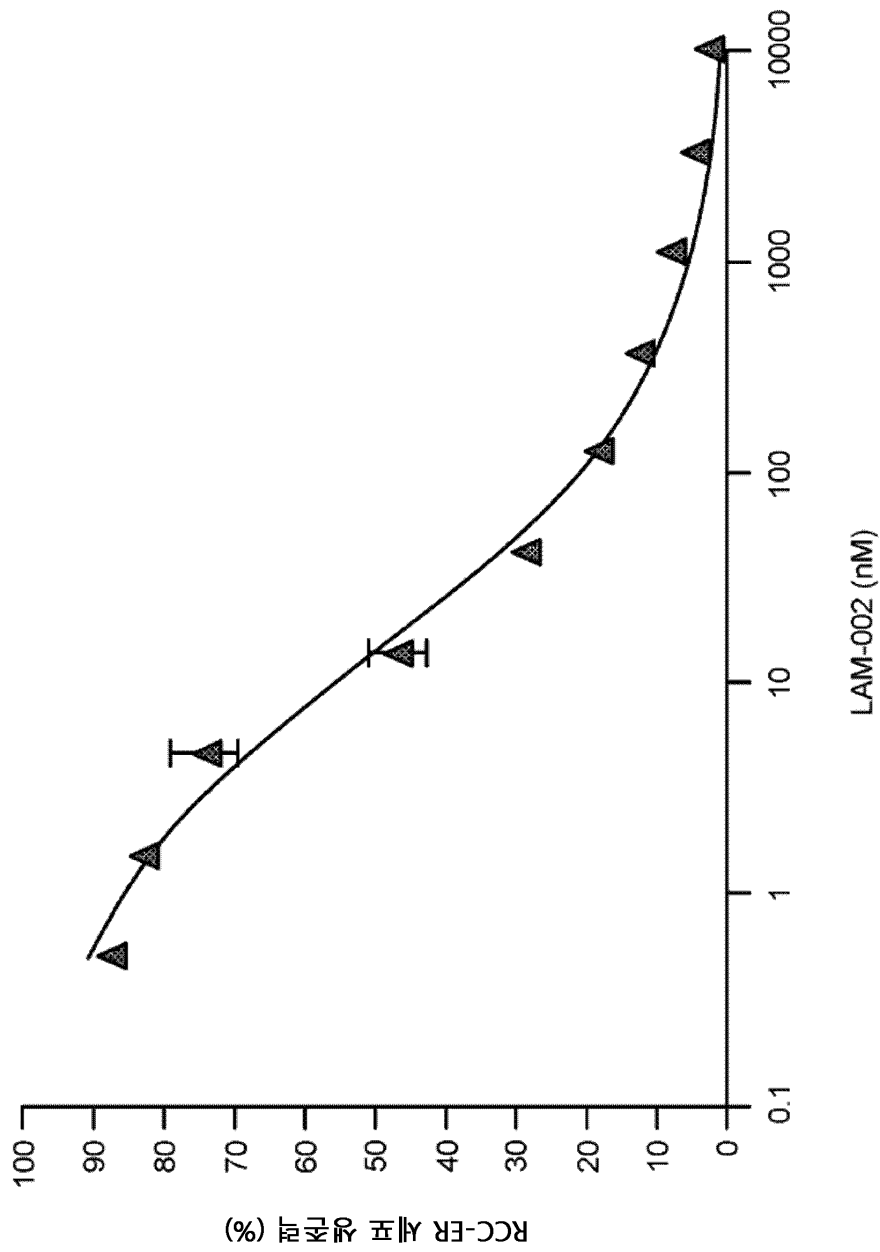
도면6



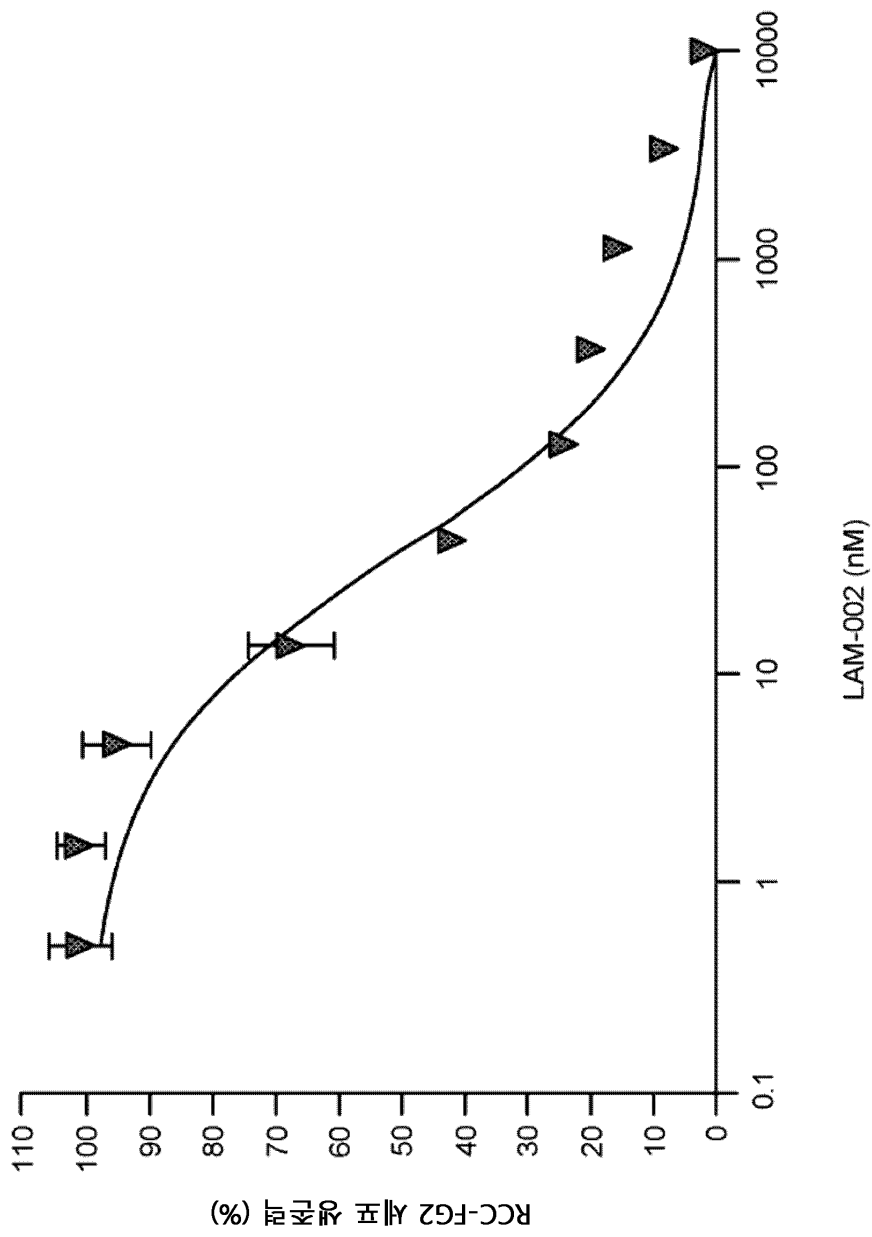
도면7



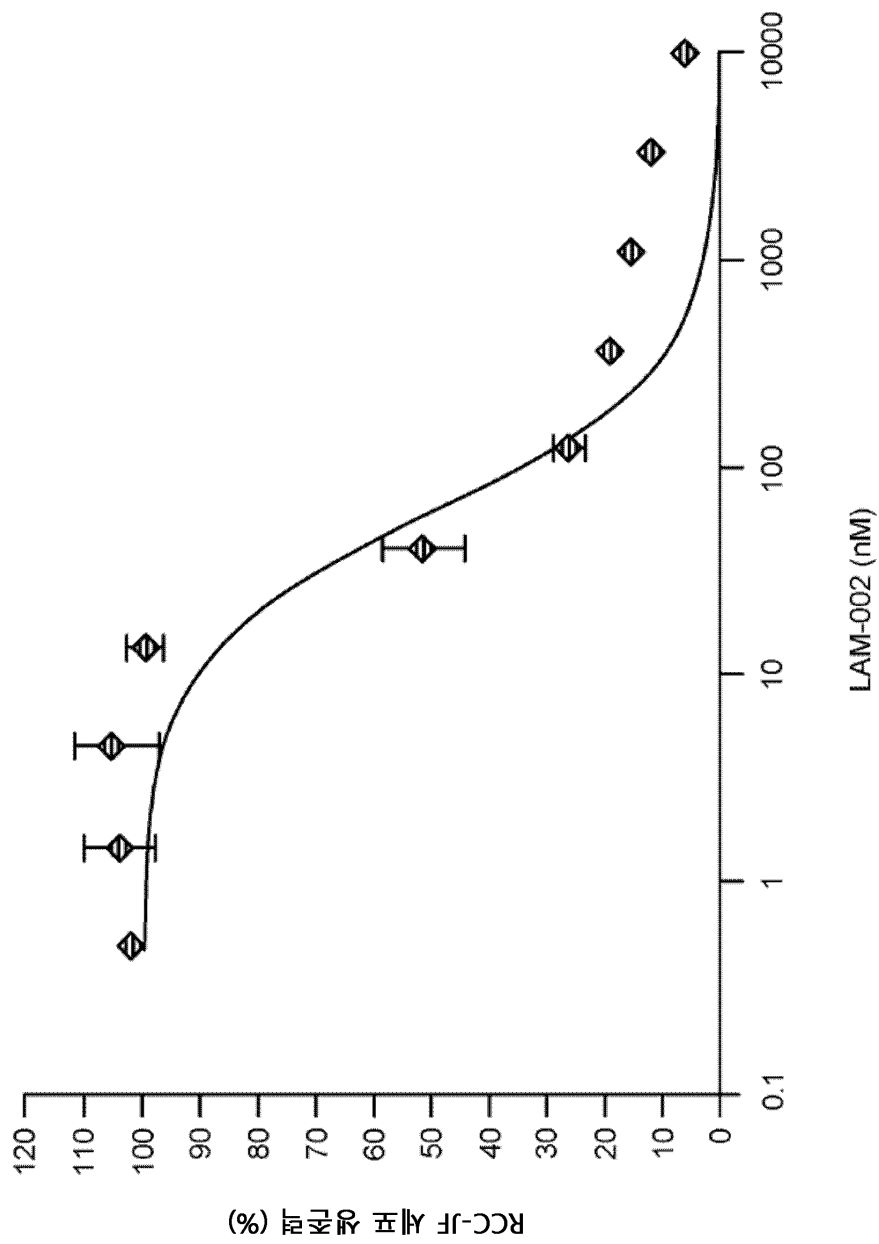
도면8



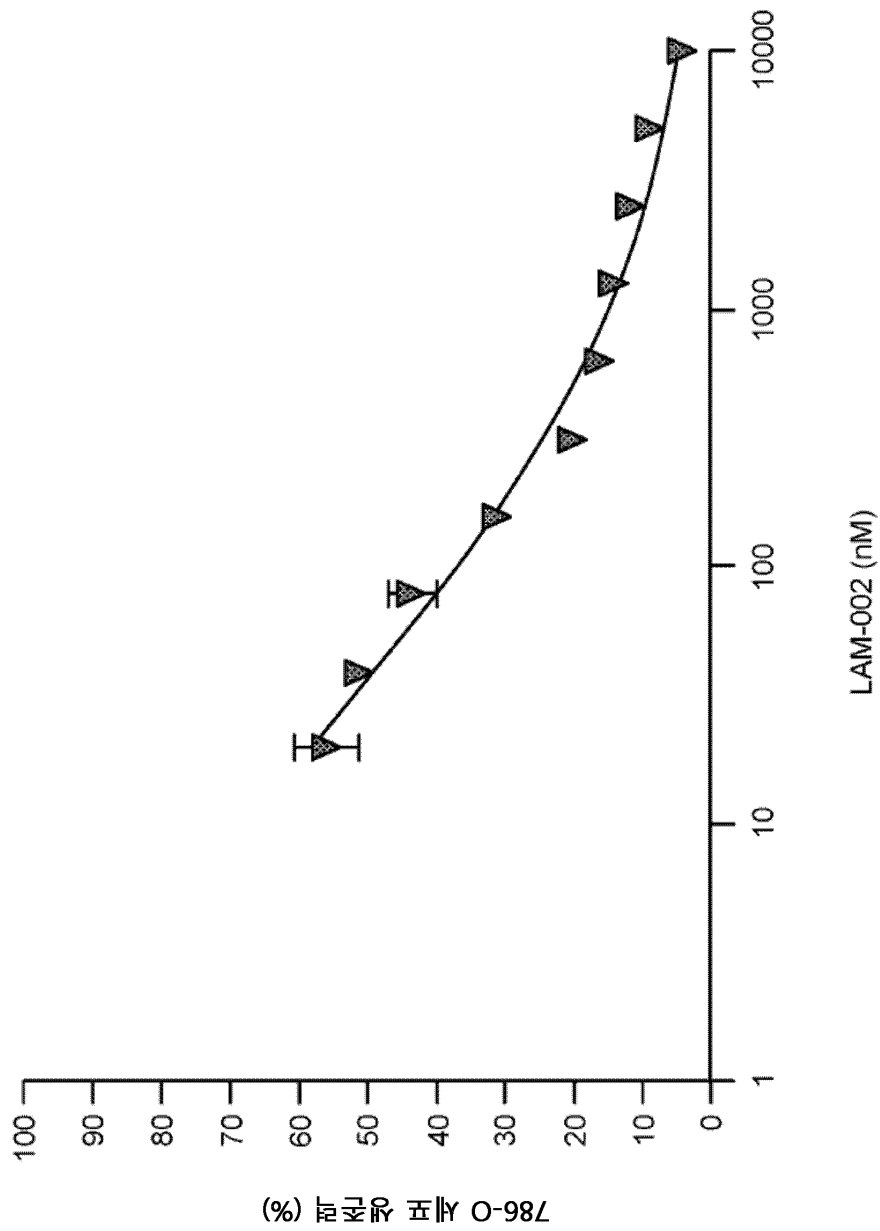
도면9



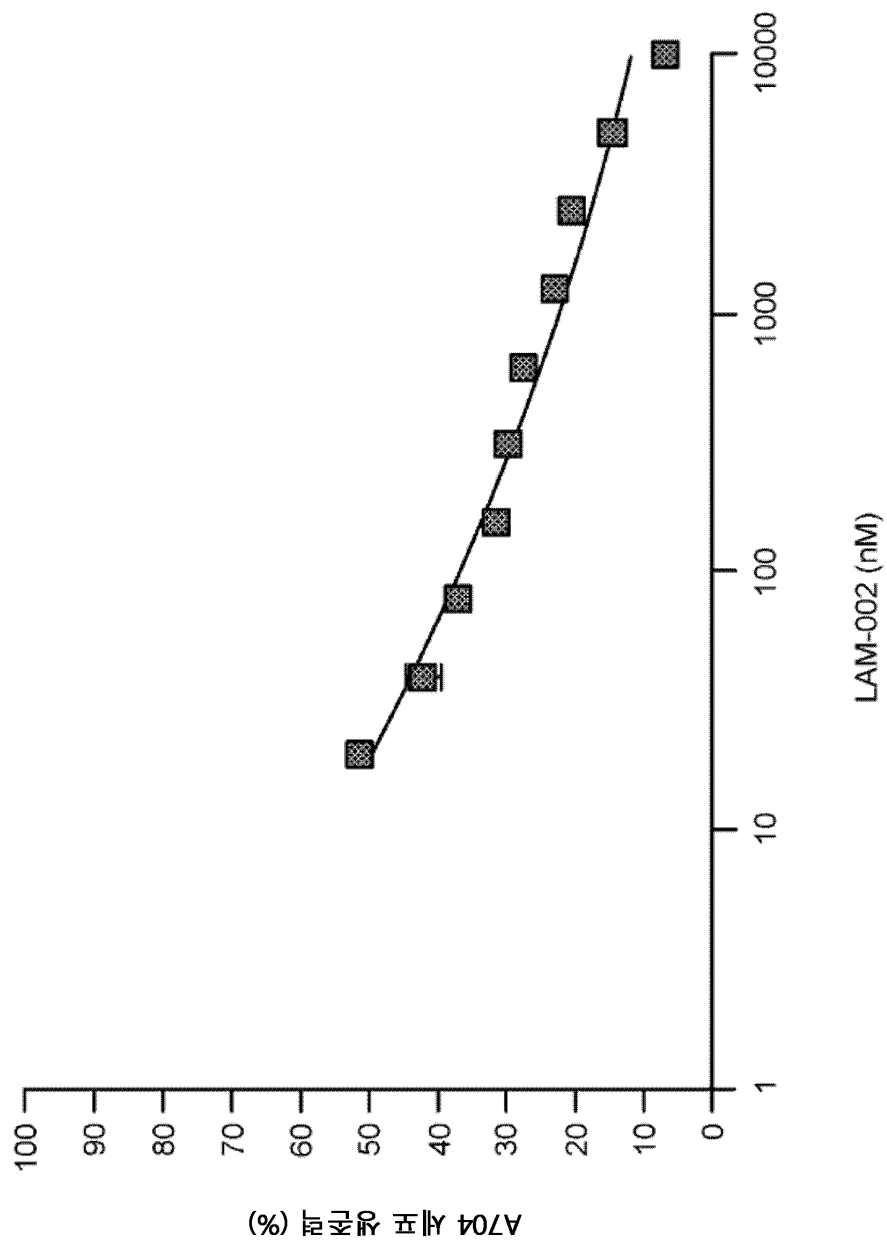
도면10



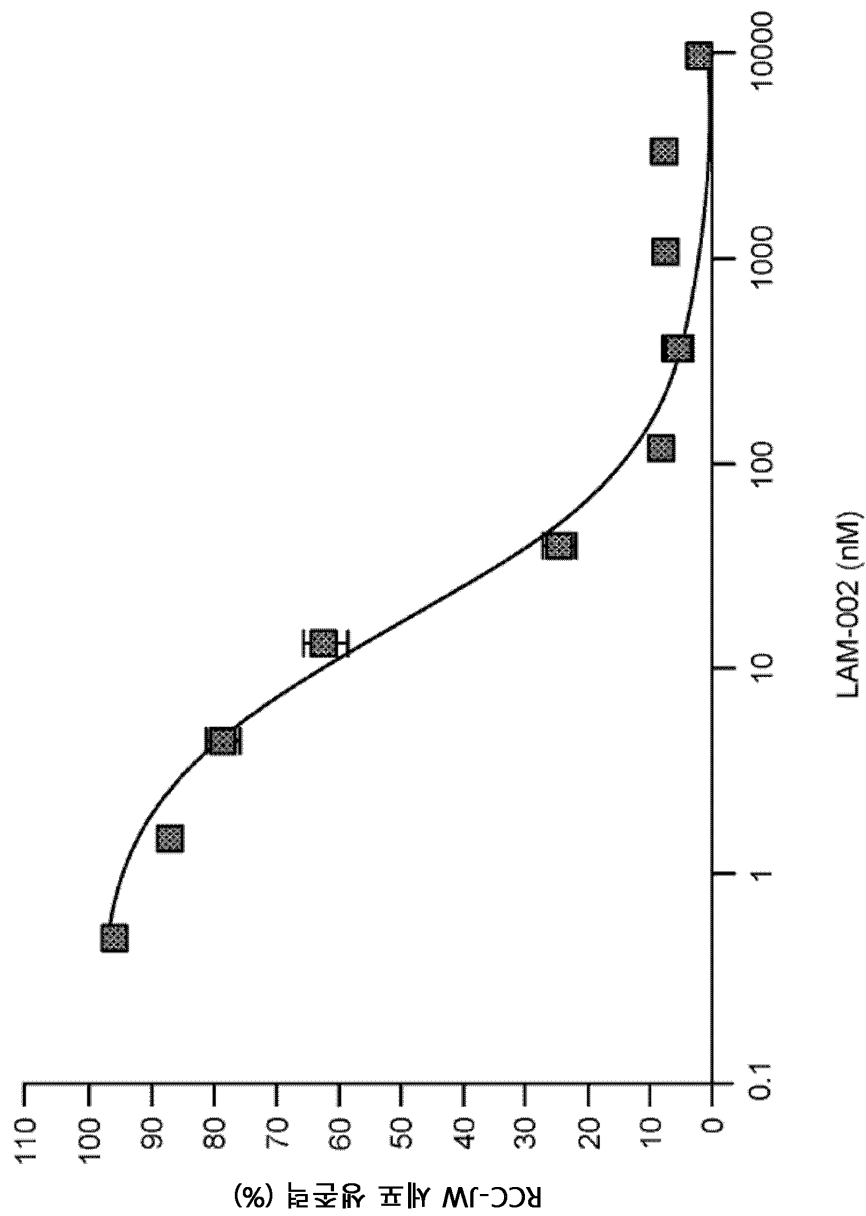
도면11



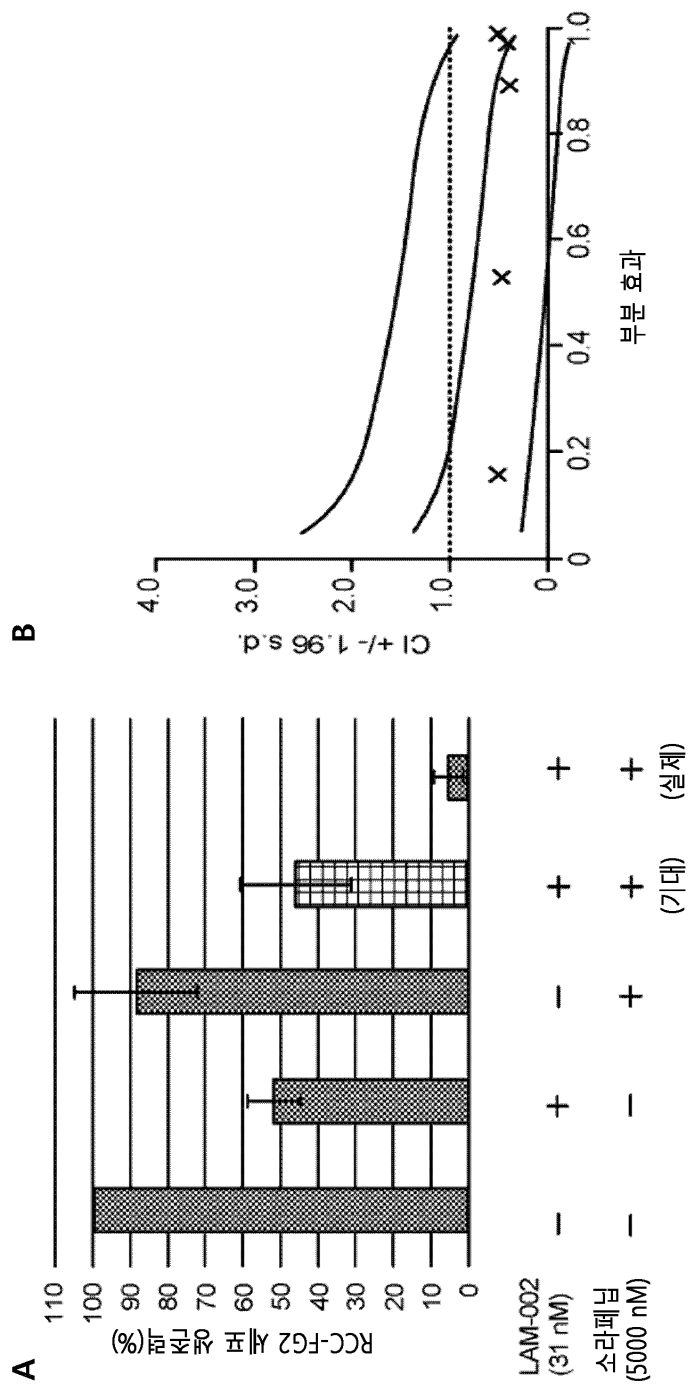
도면12



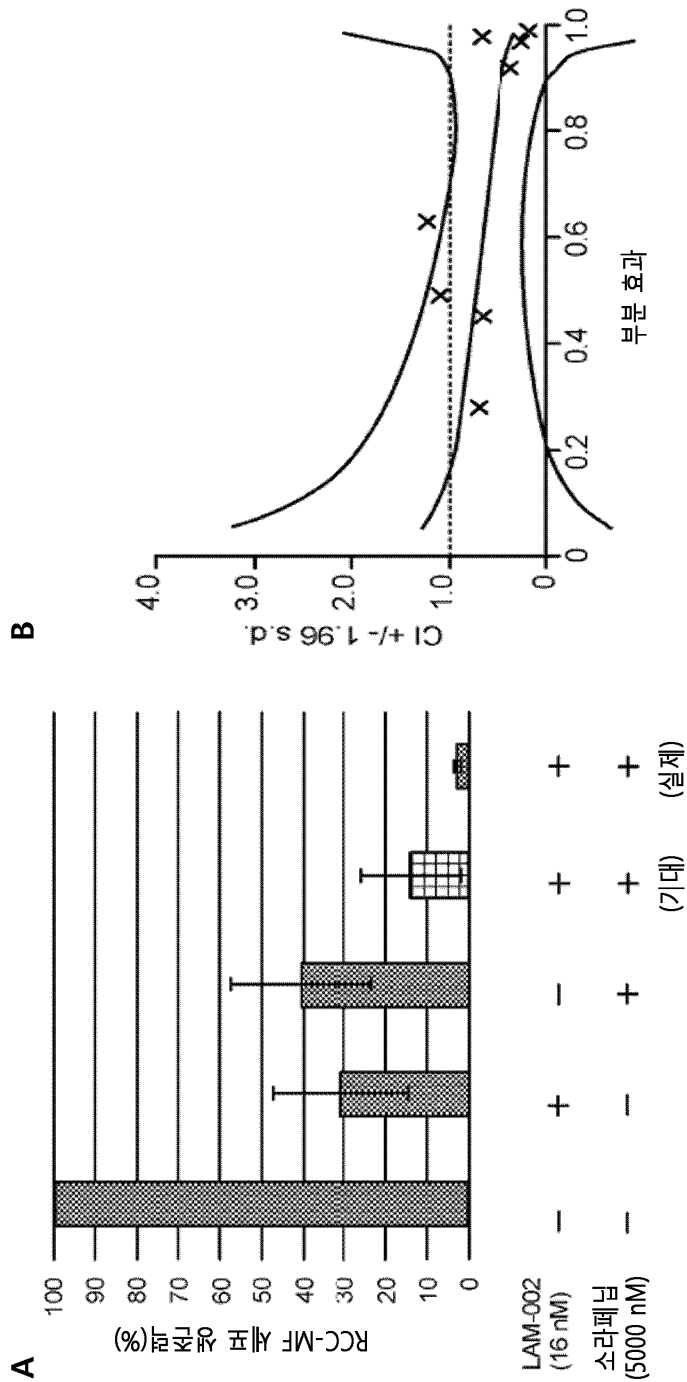
도면13



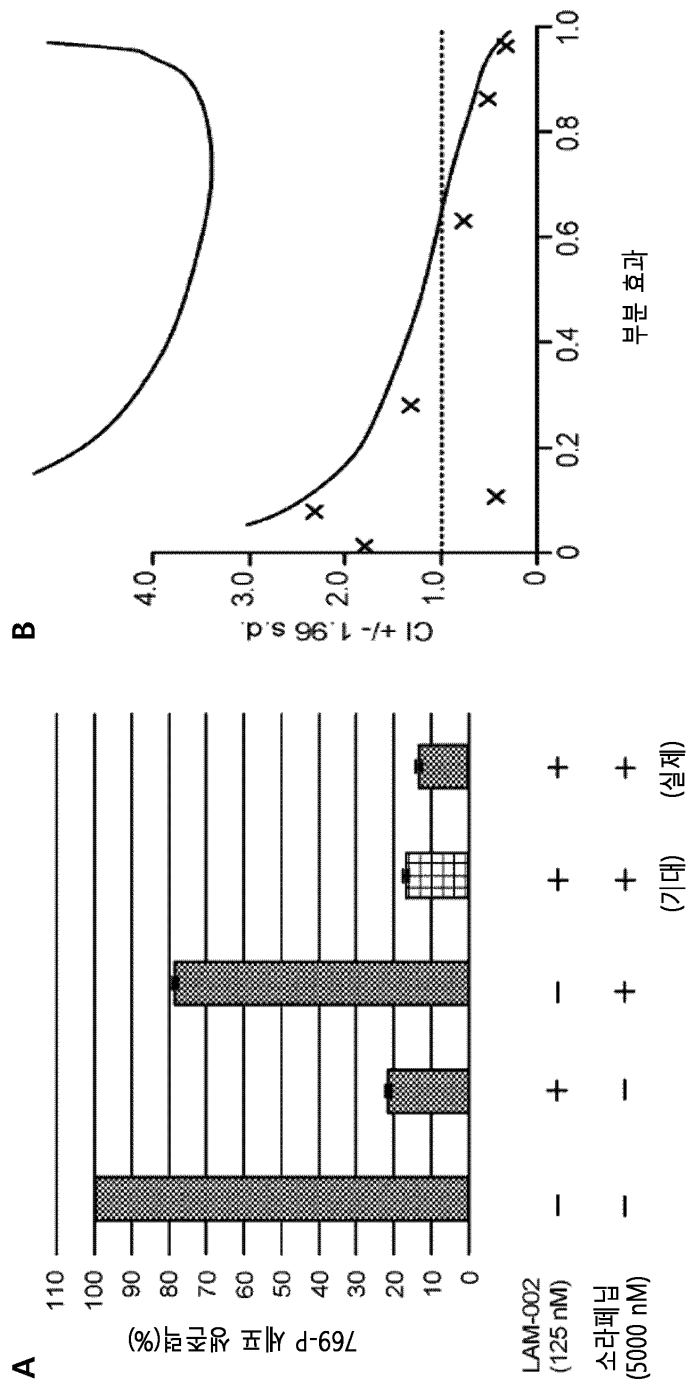
도면15



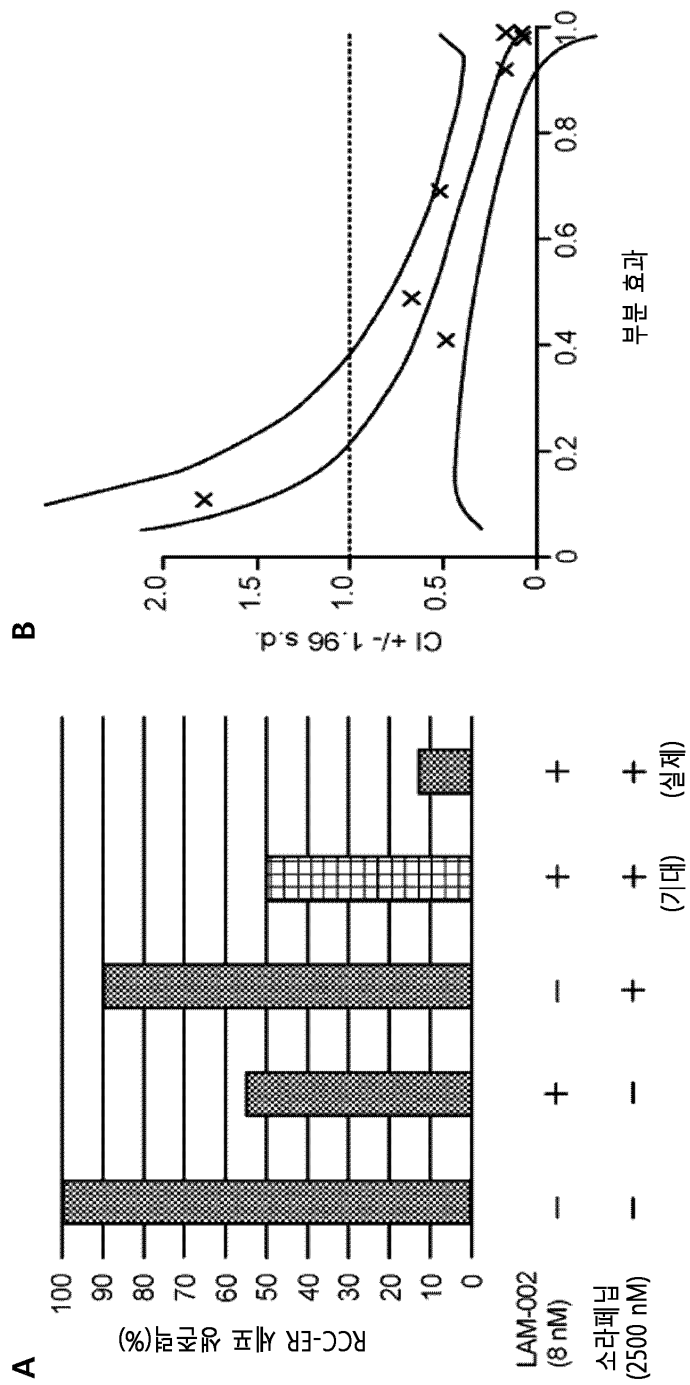
도면16



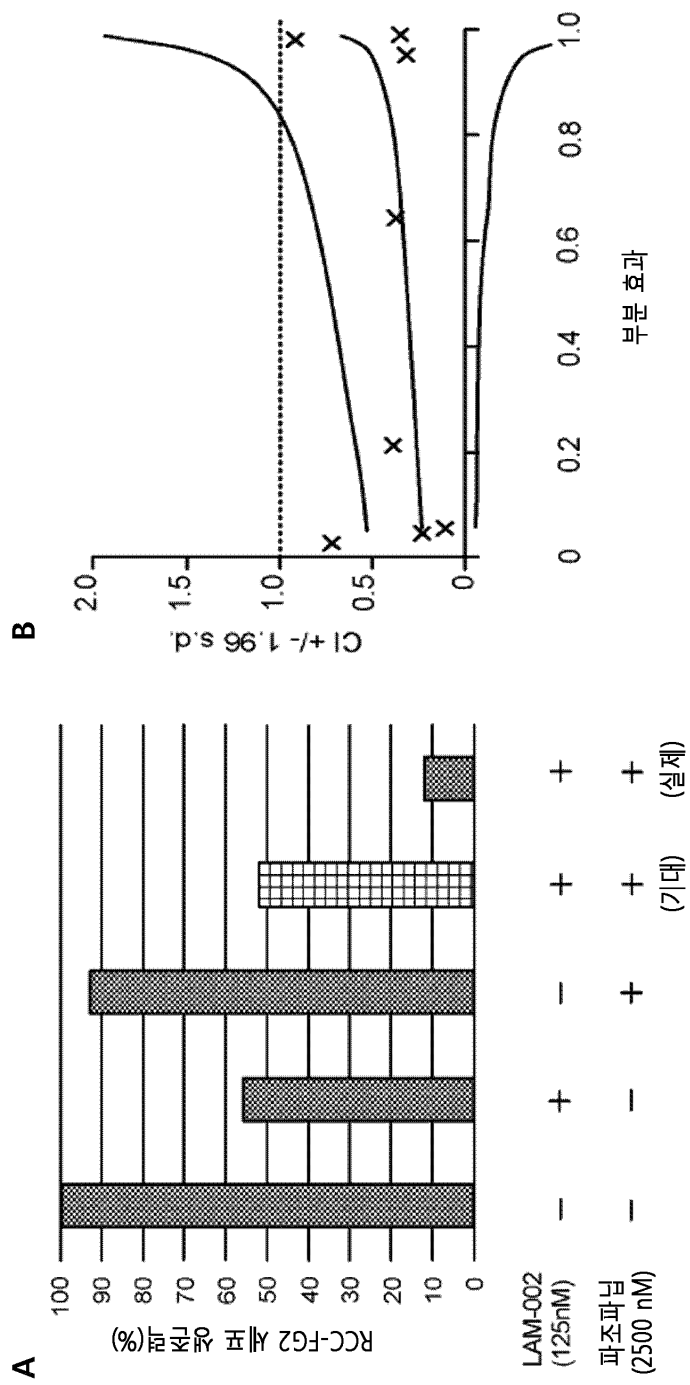
도면17



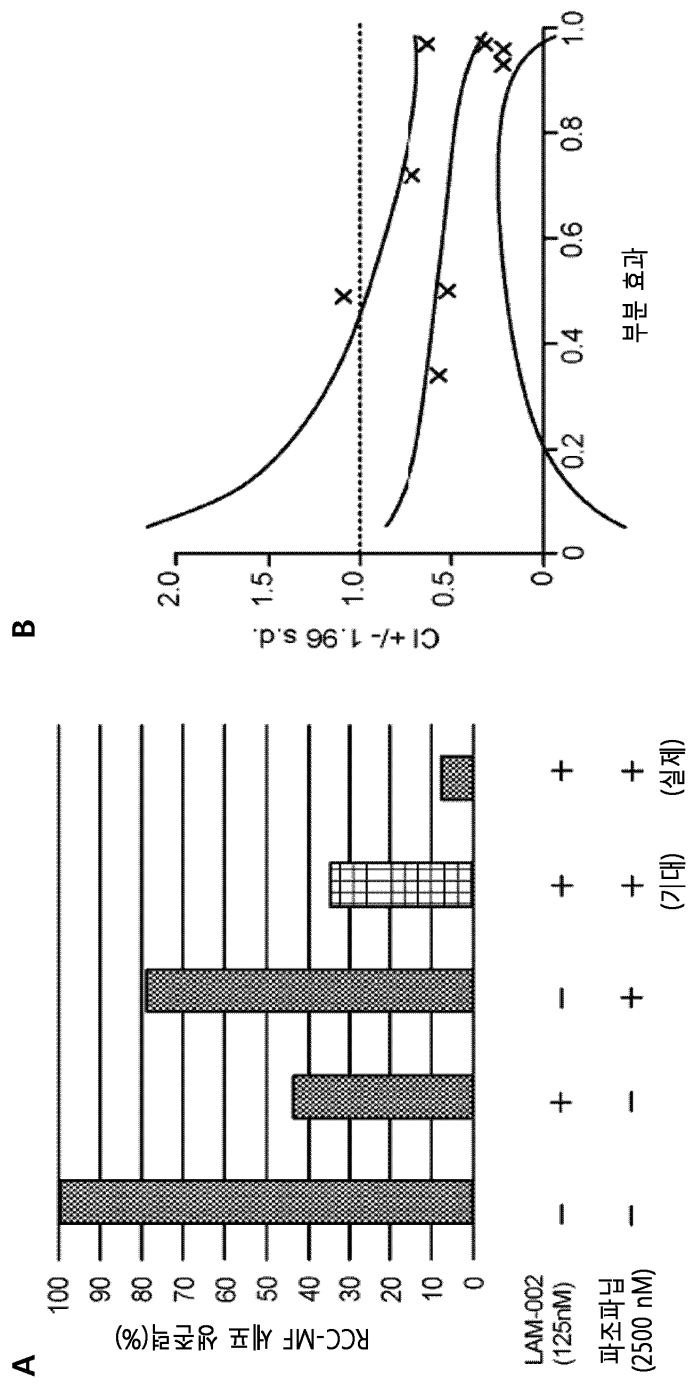
도면18



도면19



도면20



도면21

