(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) Int. Cl.[7]
A61K 31/69

(11) 공개번호 특2001-0052302
(43) 공개일자 2001년06월25일

(21) 출원번호 10-2000-7012223
(22) 출원일자 2000년11월03일
번역문제출일자 2000년11월03일
(86) 국제출원번호 PCT/US1999/09652 (87) 국제공개번호 WO 1999/56753
(86) 국제출원출원일자 1999년05월03일 (87) 국제공개일자 1999년11월11일
(81) 지정국 AP ARIPO특허 : 케냐 레소토 말라위 수단 스와질랜드 우간다 시에라리온 가나 감비아 짐바브웨

EA 유라시아특허 : 아르메니아 아제르바이잔 벨라루스 키르기즈 카자흐스탄 몰도바 러시아 타지키스탄 투르크메니스탄

EP 유럽특허 : 오스트리아 벨기에 스위스 독일 덴마크 스페인 프랑스 영국 그리스 아일랜드 이탈리아 룩셈부르크 모나코 네덜란드 포르투칼 스웨덴 핀랜드 사이프러스

OA OAPI특허 : 부르키나파소 베넹 중앙아프리카 콩고 코트디브와르 카메룬 가봉 기네 말리 모리타니 니제르 세네갈 차드 토고 기네비쏘

국내특허 : 아랍에미리트 알바니아 아르메니아 오스트리아 오스트레일리아 아제르바이잔 보스니아-헤르체고비나 바베이도스 불가리아 브라질 벨라루스 캐나다 스위스 중국 쿠바 체코 독일 덴마크 에스토니아 스페인 핀랜드 영국 그루지야 헝가리 이스라엘 아이슬란드 일본 케냐 키르기즈 북한 대한민국 카자흐스탄 세인트루시아 스리랑카 라이베리아 레소토 리투아니아 룩셈부르크 라트비아 몰도바 마다가스카르 마케도니아 몽고 말라위 멕시코 노르웨이 뉴질랜드 슬로베니아 슬로바키아 타지키스탄 투르크메니스탄 터어키 트리니다드토바고 우크라이나 우간다 미국 우즈베키스탄 베트남 폴란드 포르투칼 루마니아 러시아 수단 스웨덴 싱가포르 남아프리카 그레나다 가나 감비아 크로아티아 인도네시아 인도 시에라리온 유고슬라비아 짐바브웨

(30) 우선권주장 60/084,128 1998년05월04일 미국(US)
(71) 출원인 포인트 써러퓨틱스, 인크. 바바라 피. 월너

미국 02111 매사추세츠주 보스톤 니랜드 스트리트 75

(72) 발명자 왈너,바바라,피.

미국02193매사추세츠주웨스톤애로우헤드로드64

존스,배리

미국02138매사추세츠주캠브리지웬델스트리트80

밀러,글렌,티.

미국01830매사추세츠주하버힐몬트클레어로드112

아담스,샬렌

미국02172매사추세츠주워터타운시사모어스트리트170

(74) 대리인 장수길, 김영

심사청구 : 없음

(54) 조혈 자극

요약

본 발명은 조혈을 자극하고, 낮은 수준의 조혈 세포를 예방하고, 증가된 수의 조혈 세포 및 성숙 혈액 세포를 생성하기 위한 방법 및 제품을 제공한다. 이 방법 및 제품은 생체내 및 시험관내 모두에서 사용될 수 있다.

색인어

조혈, 조혈 세포, 성숙 혈액 세포, PT-100, CD26, 호중구, 적혈구, 혈소판, 성장 인자, 과립구 콜로니 자극 인자

명세서

배경기술

본 발명은 미리 선택된 정상적인 수준의 조혈 세포 수로 회복되는 증가된 수의 조혈 세포를 생성하기 위한 방법 및 제품, 조혈 세포의 결핍을 치료하기 위한 요법 및 조혈 세포를 배양하기 위한 시험관내 방법론에 관한 것이다.

PT-100은 세포 표면 수용체 CD26과 상호작용하도록 고안된 발린-프롤린보론산(ValboroPro)으로 이루어진 디펩티드이다. II형 막투과 단백질인 CD26은 림프구[Marguet, D. et al., Advances in Neuroimmunol. 3:209-215(1993)], 조혈세포[Vivier, I. et al., J. Immunol. 147:447-454(1991); Bristol et al. J. Immunol. 149:367(1992)], 흉선 세포[Dang, N. H. et al., J. Immunol. 147:2825-2832(1991); Tanaka, T. et al., J. Immunol. 149-481-486(1992); Darmoul, D. et al., J. Biol. Chem., 267:4824-4833(1992)], 장내 솔변연 막(intestinal brush border membrane) 및 내피 세포를 포함한 다수의 세포 유형의 세포 표면에서 발현된다. 세포 표면 관련 CD26은 시알로글리코프로테인이며, 그 대부분의 주요 부분은 세포 밖에 있다.

CD26은 CD26이 T 세포 활성화의 강력한 공동자극 신호로서 작용하는 말초 T 세포에서 특징 조사가 가장 잘 되어있다. CD26의 표면 발현은 T 세포 활성화시 상승조절된다[Dong, R. P. et al., Cell, 9:153-162(1996); Torimoto, Y. et al., J. Immunol., 147:2514(1991); Mittrucker, H-W. et al., Eur. J. Immun. 25:295-297(1995); Hafler, D. A. et al., J. Immunol. 142:2590-2596(1989); Dang, N. H. et al., J. Immunol. 144:409(1990)]. 또한, CD26은 설치류에서도 조혈 및 림프양 발달에 중요한 조절성 표면 수용체로서 확인되었다[Vivier, I. et al., J. Immunol. 147:447-454(1991)]). CD26의 1차 구조는 종간에 매우 보존되어 있다[Ogata, S. et al., J. Biol. Chem. 264:3596-3601(1998)]. 인간에서 CD26은 흉선 세포 활성화, 분화 및 성숙의 조절에 관련되는 것으로 보인다[Dang, N. H. et al., J. Immunol. 147:2825-2832(1991); Kameoka, J. et al., Blood, 85:1132-1137(1995)]. 본 발명자들은 CD26이 인간 및 쥐의 조혈 시스템 내에서 발현된다는 증거를 갖고 있다.

CD26은 높은 기질 특이성을 갖는 세린형 엑소펩티다제인 디펩티딜 펩티다제 IV(DPP-IV)와 동일한 활성을 갖는 엑토효소이다. 이것은 페눌티메이트 아미노산이 프롤린이거나 일부 경우에 알라닌인 경우 단백질로부터 N-말단 디펩티드를 절단한다[Fleischer. B. et al., Immunol. Today, 15:180(1994)]. PT-100은 DPP-IV 활성의 강력한 저해제이다.

종래 기술인 PCT 공개 공보 WO 94/03055호에는 DPP-IV의 저해제를 투여하여 증가된 수의 조혈 세포를 생성하는 방법이 교시되어 있다. 그러나, 이 공개 공보의 교시 내용은 그러한 조혈 세포 증가를 얻기 위하여 1㎎/㎏(체중) 이상의 투여량이 필요하다는 것이다. 이 공개 공보에는 또한 저해제가 조혈 세포의 확인된 결핍을 갖는 포유동물에 투여됨이 교시되어 있다. 교시 내용은 또한 사이토카인이 저해제와 함께 투여되어 개체에서 조혈 세포의 생성을 증가시킨다는 것을 시사한다.

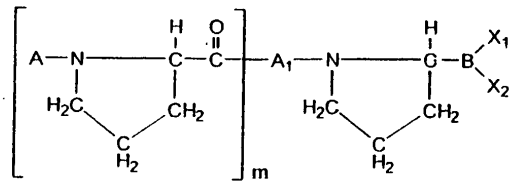
발명의 요약

본 발명은 놀랄만한 예상외의 여러 발견을 기초로 한다. 예상외로, 본 발명에 따른 유용한 제제가 간질 세포에 의한 성장 인자 생성을 자극한다는 것이 확인되었다. 또한, 예상외로 본 발명에 따른 유용한 제제가 원시 조혈 기원 세포의 증식을 자극하지만, 수임 기원 세포의 분화 또는 증식을 직접 자극하지는 않는다는 것이 확인되었다. 또한, 예상외로 본 발명에 따른 유용한 제제가 종래 기술의 교시 내용에 따라 예상되었던 것보다 훨씬 낮은 투여량으로 투여될 수 있다는 것을 확인하였다. 다른 예상외의 발견은 본 발명에 따른 제제가 조혈 세포 저해제에 의한 치료 후 조혈 세포 회복을 하는데 걸리는 시간을 가속화할 수 있다는 것이다. 다른 예상외의 발견은 본 발명에 따른 유용한 제제가 비교적 적은 투여량에서, 본 발명에 따른 유용한 제제는 경구적으로 사용될 수 있지만 시판중인 제품(10억불 이상의 시장을 대표함)은 주사된다는 점외에는 적어도 이 목적을 위해 전세계적으로 사용되는 가장 성공적인 시판 중인 제품 정도로 빠르게 정상적인 수준의 호중구를 회복시킬 수 있다는 것이다. 이러한 예상외의 결과는 중요한 치료적 및 실험 연구적 의미를 갖는다.

본 발명의 하나의 양상에 따르면, 개체의 조혈을 자극하도록 개체를 치료하는 방법이 제공된다. 본 발명은 상기 치료가 필요한 개체에게 개체의 조혈 세포 또는 성숙 혈액 세포의 수를 증가시키기에 유효한 1일당 1㎎/㎏(체중) 미만의 양으로 화학식 I의 화합물인 제제를 투여하는 것을 포함한다.

본 발명에 따른 유용한 제제는 하기 화학식 I의 화합물이다:

화학식 I



상기 식에서,

m은 정수 0 내지 10이고,

A 및 A_1은 L-아미노 잔기(글리신의 경우에는 구분이 없음)로서, 각각의 반복되는 괄호안 단위에서 A는 상이한 아미노산 잔기일 수 있고,

B에 결합된 C는 L-배위이고,

A와 N, A_1과 C 및 A_1과 N 사이의 결합은 펩티드 결합이고,

X_1 및 X_2는 각각 독립적으로 히드록실기이거나 또는 생리적 pH의 수용액에서 히드록실기로 가수분해될 수 있는 기이다.

"B에 결합된 C가 L-배위이다"라는 것은 C의 절대 배위가 L-아미노산과 같다는 것을 의미한다. 따라서,



기는 L-아미노산의 -COOH 기와 α-탄소의 관계와 같은, C에 대한 관계를 갖는다. 일부 실시 태양에서, A 및 A_1은 독립적으로 프롤린 또는 알라닌 잔기이고, m은 0이고, X_1 및 X_2는 히드록실기이고, 저해제는 L-Ala-L-boroPro이고, 저해제는 L-Pro-L-boroPro이다.

본 발명의 하나의 중요한 양상에서, 개체는 비정상적으로 낮은 수준의 조혈 세포 또는 성숙 혈액 세포를 가지며, 제제는 조혈 세포 유형 또는 성숙 혈액 세포 유형의 수준을 미리 선택된 정상적인 또는 보호적인 수준으로 회복시키기에 유효한 양으로 투여된다. 제제는 개체에게 바람직하게는 18시간 내에 2회 투여분 이상으로 투여된다. 본 발명은 정상적인 또는 보호적인 수준의 호중구, 적혈구 및 혈소판의 회복에 특히 중요한 용도를 갖는다. 가장 바람직한 제제는 ValBoroPro이다.

본 발명의 다른 양상에 따르면, 개체가 조혈 세포 저해제에 의한 치료로 인해 비정상적으로 낮은 수준의 조혈 또는 성숙 혈액 세포를 갖는 시간을 단축 또는 소거하기 위한 방법이 제공된다. 제제는 상기 치료가 필요한 개체에게 개체의 조혈 세포 또는 성숙 혈액 세포의 수를 증가시키기에 유효한 양으로 투여되며, 제제의 투여는 조혈 세포 저해제의 투여 전에 또는 그와 실질적으로 동시에 시작한다. 제제 및 바람직한 제제는 전술한 바와 같다. 하나의 중요한 실시 양태에서, 조혈 세포 저해제는 개체에게 비정상적으로 낮은 수준의 조혈 세포 또는 성숙 혈액 세포를 초래하며, 제제는 조혈 세포 유형의 수준을 미리 선택된 정상적인 또는 보호적인 수준으로 회복시키기에 유효한 양으로 투여된다. 바람직하게는, 제제는 개체에게 18시간 내에 2회 투여분 이상으로 투여된다. 중요한 실시 양태에서, 제제는 개체에서 정상적인 또는 보호적인 수준의 호중구, 적혈구 또는 혈소판을 회복시키는데 사용된다. 제제의 바람직한 유효량은 전술한 바와 같다.

본 발명의 다른 양상에 따르면, 조혈 세포 저해제에 의한 치료를 위해 개체를 준비시키는 방법이 제공된다. 이 방법은 개체에게 조혈 세포 저해제를 투여하기 전에 개체에서 성장 인자의 생성을 자극하기에 유효한 양의 제제를 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 하나의 실시 양태에서, 제제는 성장 인자의 간질 세포 생성을 자극한다. 제제 및 바람직한 제제는 전술한 바와 같다. 하나의 중요한 실시 양태에서, 성장 인자는 과립구 콜로니 자극 인자이다. 다른 실시 양태에서, 성장 인자는 IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, IL-11, IL-17, TPO, EPO, MCSF, GMCSF, FLT-3 리간드 및 간세포 인자로 이루어진 군에서 선택된다. 바람직하게는, 개체에게 투여되는 양은 1일 1㎎/㎏(체중) 미만이다. 또한, 제제가 18시간 내에 2회 투여분 이상의 제제로 투여되는 것이 바람직하다.

본 발명의 다른 양상에 따르면, 개체의 조혈 세포 또는 성숙 혈액 세포의 수를 증가시키도록 개체를 치료하는 방법이 제공된다. 제제는 그러한 치료가 필요한 개체에게 개체의 조혈 세포 또는 성숙 혈액 세포를 증가시키기에 유효한 양으로 투여되며, 이때 제제는 18시간 내에 2회 투여분 또는 3회 투여분으로 이루어진 제1 요법으로 투여된다. 제제 및 바람직한 제제는 전술한 바와 같다. 하나의 중요한 실시 양태에서, 제제는 18시간 내에 2회 투여분 또는 3회 투여분으로 이루어진 제2 요법으로 투여되며, 이때 제2 요법은 제1 요법과 시간상 별개이다. 다른 실시 양태에서, 제제는 18시간 내에 2회 투여분 또는 3회 투여분으로 이루어진 제3 요법으로 투여되며, 이때 제3 요법은 제1 및 제2 요법과 시간상 별개이다. 다른 실시 양태에서, 제제는 임의로 제4 요법, 제5 요법, 제6 요법 또는 제7 요법으로 투여되며, 이때 각 요법은 18시간 내 2회 투여분 또는 3회 투여분으로 이루어지고, 이들 요법은 서로 또한 선행 요법들과 시간상 별개이다. 하나의 중요한 실시 양태에서, 개체는 비정상적으로 낮은 호중구 수를 가지며, 양은 개체에서 미리 선택된 수준의 호중구를 회복시키기에 유효하다. 다른 중요한 실시 양태에서, 개체는 비정상적으로 낮은 수준의 적혈구 및 혈소판을 갖는다. 바람직한 투여량, 제제 등은 전술한 바와 같다. 중요한 실시 양태에서, 투여는 6회 이하 요법, 5회 이하 요법, 4회 이하 요법, 3회 이하 요법 및 2회 이하 요법이다.

본 발명의 다른 양상에 따르면, 개체에게 재도입하기 위한 개체 세포를 준비하는 방법이 제공된다. 이 방법은 개체에서 조혈 세포를 자극하기에 유효한 양의 제제로 개체를 치료한 다음, 개체로부터 조혈 세포를 수집하는 것을 포함한다. 수집된 세포는 나중에 개체에게 재도입된다. 수집된 세포는 임의로 생체외 배양될 수 있다. 제제 및 바람직한 제제는 전술한 바와 같다. 하나의 실시 양태에서, 생체외 배양은 수집된 세포의 증식을 자극하기에 유효한 양의 제제의 존재 하에 수행된다. 다른 실시 양태에서, 수집된 세포 주위의 배지 내에 제제의 농도는 10^{-8}몰/ℓ 미만, 10^{-9}몰/ℓ 미만 및 10^{-10}몰/ℓ 미만이다.

본 발명의 다른 양상에 따르면, 간질 세포에 의해 성장 인자 생성을 자극하는 방법이 제공된다. 이 방법은 간질 세포에 의한 성장 인자 생성을 자극하기에 유효한 양의 제제와 간질 세포를 접촉시키는 것을 포함한다. 제제 및 바람직한 제제는 전술한 바와 같다. 하나의 실시 양태에서, 간질 세포는 초기 기원 세포 성장을 지지하고 이들 간질 세포의 존재 하에 간세포를 배양하는 것을 포함하기 위해 시험관 내 간질 세포층에 있다. 다른 실시 양태에서, 간질 세포는 개체의 생체내에 있다. 다른 실시 양태에서, 성장 인자는 과립구 콜로니 자극 인자이다. 다른 실시 양태에서, 성장 인자는 IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, IL-11, IL-17, TPO, EPO, MCSF, GMCSF, FLT-3 리간드 및 간세포 인자로 이루어진 군에서 선택된다. 생체내 실시 양태에서, 제제는 개체에게 1일 1㎎/㎏(체중) 미만의 양으로 투여된다. 또 다른 실시 양태에서, 간세포는 외부에서 첨가되는 과립구 콜로니 자극 인자가 없는 환경에서 배양된다. 중요한 실시

양태에서, 간질 세포는 골수 또는 흉선 간질 세포이다.

본 발명의 다른 양상에 따르면, 조혈 세포 저해제를 사용한 치료로 인해 비정상적으로 낮은 수준의 조혈 세포를 갖는 개체를 치료하거나 또는 조혈 및(또는) 성숙 혈액 세포의 감소 또는 손실을 예방하기 위해 조혈 세포 저해제로 치료할 개체를 예방적으로 치료하기 위한 키트가 제공된다. 이 키트는 제1 투여량 및 조혈 세포 저해제를 사용한 치료와 실질적으로 동시에 또는 그 전에 개체를 치료하기 위한 지시서를 포함하는 패키지이다. 이 패키지는 또한 제2 투여량 및 조혈 세포 저해제를 사용한 치료 후에만 개체를 치료하기 위한 지시서를 포함한다. 투여량은 유효량이며, 제제 및 바람직한 제제는 전술한 바와 같다. 하나의 실시 양태에서, 제2 투여량은 2회 내지 5회 요법이고, 각 요법은 1일 2회 투여분 또는 3회 투여분의 제제로 이루어진다. 하나의 실시 양태에서, 투여량의 조합은 1일 1㎎/㎏(체중) 미만이다. 하나의 바람직한 키트는 호중구 감소증의 치료를 위한 것이다. 다른 바람직한 키트는 비정상적으로 낮은 수준의 적혈구 또는 혈소판의 치료를 위한 것이다.

본 발명의 또 다른 양상에 따르면, 비정상적으로 낮은 수준의 조혈 세포를 갖는 개체를 치료하기 위한 키트가 제공된다. 키트는 조혈 세포 유형의 정상적인 수준을 회복시키기 위한 완전 투여량을 포함하는 패키지이다. 이 패키지는 본질적으로 (1) 제1일 동안 개체에게 투여하기 위한 유효한 양의 제1 투여량, (2) 제2일 동안 개체에게 투여하기 위한 유효한 양의 제2 투여량, (3) 임의로 제3일 동안 개체에게 투여하기 위한 유효한 양의 제3 투여량, (4) 임의로 제4일 동안 개체에게 투여하기 위한 유효한 양의 제4 투여량, (5) 임의로 제5일 동안 개체에게 투여하기 위한 유효한 양의 제5 투여량, (6) 임의로 제6일 동안 개체에게 투여하기 위한 유효한 양의 제6 투여량, (7) 임의로 제7일 동안 개체에게 투여하기 위한 유효한 양의 제7 투여량으로 이루어진다. 제제 및 바람직한 제제는 전술한 바와 같다. 하나의 중요한 실시 양태에서, 각 투여량은 매일 투여의 경우 2회 투여분 또는 3회 투여분의 제제로 이루어진다. 바람직한 투여 횟수 및 투여량은 전술한 바와 같다. 중요한 실시 양태에서, 키트는 본질적으로 5회분 투여분 미만, 4회분 투여분 미만, 3회 투여분 미만 및 2회 투여분 미만으로 이루어진다.

본 발명의 이들 및 다른 양상을 이하에서 더 상세하게 기술하겠다.

도면의 간단한 설명

도 1은 암 화학요법으로 인한 골수억제 또는 빈혈을 치료하기 위한 치료의 5일 의약 과정을 투여하기 위한 의약 패키지이다.

도 2는 시클로포스파미드 처리된 마우스의 호중구 재생을 도시하는 그래프이다. 지시된 투여량의 PT-100 또는 식염수는 섭식(gavage)에 의해 투여된다. 시클로포스파미드로 처리되지 않은 마우스의 절대 호중구 수는 단속 수평선에 의해 나타낸 바와 같이 평균 190×10^4세포/㎖이다.

도 3은 PT-100의 피하 투여에 대하여 시클로포스파미드 처리된 마우스의 호중구의 재생을 도시하는 그래프이다. 식염수 또는 PT-100은 연속 5일동안 1일 2회(b.i.d.) 투여되었다. 시클로포스파미드로 처리되지 않은 마우스의 평균 절대 호중구 수는 단속 수평선에 의해 나타낸 바와 같이 평균 185×10^4세포/㎖이었다.

도 4는 PT-100 및 과립구 콜로니 자극 인자에 대한 시클로포스파미드 처리된 마우스의 호중구 재생을 도시하는 그래프이다. 5일동안 식염수 내 PT-100이 섭식에 의해 투여되고, GCSF는 피하 주사되었다. 시클로포스파미드로 처리되지 않은 마우스의 절대 호중구 수는 단속 수평선에 의해 나타낸 바와 같이 평균 190×10^4세포/㎖이다.

도 5는 시클로포스파미드 처리된 마우스의 호중구 재생에 대한 PT-100 투여 횟수의 효과를 도시하는 그래프이다. 지시된 농도의 PT-100은 5일동안 1일 1회 또는 2회 피하 투여되었다. 시클로포스파미드로 처리되지 않은 평균 절대 호중구 수는 단속 수평선에 의해 나타낸 바와 같이 200×10^4세포/㎖이었다.

도 6은 시클로포스파미드 처리된 마우스의 절대 호중구 수 및 호중구 회복 속도에 대한 PT-100 투여 기간의 효과를 도시하는 그래프이다. PT-100 (5㎍/b.i.d.)은 지시된 시간 동안 시클로포스파미드 처리된 마우스에게 섭식에 의해 투여되었다. 단속 수평선은 시클로포스파미드로 처리되지 않은 마우스의 평균 절대 호중구 수를 나타낸다.

도 7은 시클로포스파미드 처리된 마우스의 호중구의 재생에 대한 PT-100 처리 기간의 효과를 나타내는 그래프이다. PT-100(2㎍/b.i.d.) 또는 식염수는 지시된 기간 동안 섭식에 의해 투여되었다. 시클로포스파미드로 처리되지 않은 마우스의 평균 절대 호중구 수는 점선에 의해 나타낸 바와 같이 194×10^4세포/㎖이었다.

도 8은 장기간 배양(LTC) 분석에서 PT-100에 대한 세포의 콜로니 형성능을 도시하는 그래프이다. 인간 골수 세포를 지시된 양의 PT-100의 존재 또는 비존재 하에 LTC에서 4주 동안 배양한 다음, 반고상 배지에서 2주 배양하였다.

도 9는 PT-100이 정상적인 마우스의 비장에서 조혈작용을 자극한다는 것을 보여주는 그래프이다.

도 10은 PT-100이 인간 간질 세포에 의한 G-CSF의 생성을 자극한다는 것을 보여주는 그래프이다.

발명의 상세한 설명

본 발명은 조혈 세포의 증식, 분화 및 동원의 자극을 포함한다. 본 발명은 조혈 세포의 증식 또는 분화를 자극하거나 또는 조혈 세포를 동원하는 것이 바람직한 경우라면 언제나 유용하다. 조혈 세포의 동원은 골수 내의 초기 기원 세포의 풍부 및 이들 세포가 동원제(예컨대, G-CSF, GM-CSF 등)에 반응하여 주변으로 점증을 특징으로 한다. 본 발명에 따른 유용한 제제는 조혈 세포 결핍을 저해하거나 또는 이러한 결핍을 갖고 있는 개체의 조혈 및 성숙 혈액 세포 수를 회복시키기 위하여 사용될 수 있다. 이러한 제제

는 또한 개체의 면역 시스템을 보충 또는 생성하기 위해 사용되는 경우, 골수 또는 말초 혈액 이식편과 같은 조혈 세포 이식편과 관련되어 사용될 수도 있다. 또한, 이 제제는 면역 보조제로서 사용될 수 있다. 이 제제는 또한 치료 및 연구 용도를 위한 세포의 배양과 관련되어 시험관내에서 유용하다.

본원에 사용된 바와 같이, 개체는 인간, 인간 외의 영장류, 개, 고양이, 양, 염소, 말, 소, 돼지 및 설치류를 뜻한다.

본 발명의 하나의 중요한 양상은 개체의 조혈 세포 수의 결핍을 회복 또는 예방하는 것을 포함한다. 이러한 결핍은, 예를 들어 유전적 이상, 질환, 스트레스, 화학요법(예, 세포독성 약물 치료, 스테로이드 약물 치료, 면역억제 약물 치료 등) 및 방사선 치료에 의해 일어날 수 있다.

본 발명은 일반적으로 조혈 세포 저해제에 의해 생긴 결핍을 회복시키기에 유용하다. 조혈 세포 저해제는 개체의 조혈 세포 및(또는) 성숙 혈액 세포의 감소를 유발하는 외부에서 적용된 제제(예, 약물 또는 방사선 치료)이다.

본원에 사용된 조혈 세포란 과립구(예, 전골수세포, 호중구, 호산구 및 호염기구), 적혈구, 망상 적혈구, 혈소판(예, 거대핵모세포, 혈소판 생성 거대핵세포 및 혈소판), 림프구, 단핵구, 수지상 세포 및 대식 세포를 나타낸다. 성숙 혈액 세포는 성숙 림프구, 혈소판, 적혈구, 망상 적혈구, 과립구 및 대식 세포로 이루어진다. 본 발명의 특정 중요한 양상에서, 본 발명에 따른 유용한 제제는 호중구, 적혈구 및 혈소판의 수를 증가시킨다. 호중구와 관련하여, 제제는 특히 약물 또는 방사선 유도된 호중구 감소증, 만성 특발성 호중구 감소증 및 주기성 호중구 감소증을 치료하는데 사용될 수 있다.

본 발명의 하나의 중요한 양상은 개체에서 "정상적인" 또는 "보호적인" 조혈 세포 수준을 회복시키는 것이다. 본원에 사용된 "정상적인" 수준은, 바람직하게는 치료된 개체와 유사한 특징(예: 나이)을 갖는 개체를 포함하는 대조 집단에서의 수준일 수 있다. "정상적인" 수준은 또한, 예를 들어 개체가 포함되는 특정 군의 기준선 범위를 얻기 위해 집단이 사용되는 경우, 범위일 수도 있다. 또한, 집단은 예를 들어 군으로 4분될 수 있는데, 최저 4분의 1은 최저 수준의 조혈 세포를 갖는 개체이고, 최고 4분의 1은 최고 수준의 조혈 세포를 갖는 개체이다. 따라서, "정상적인" 값은 선택된 특정 집단에 따라 좌우될 수 있다. 바람직하게는, 정상적인 수준은 조혈 세포 장애의 병력이 없는 외관상 건강한 개체의 수준이다. 이러한 "정상적인" 수준은 개체가 포함되는 부류를 고려하여, 미리 선택된 값으로서 확정될 수 있다. 당업자에 의한 일상적인 실험으로 적당한 범위 및 부류가 선택될 수 있다. 범위 내의 평균 또는 미리 선택된 다른 수가 미리 선택된 정상적인 값으로서 확정될 수 있다. 마찬가지로, 조혈 세포 저해제를 이용한 의한 치료 전의 개체의 수준을 예정된 값으로서 사용할 수 있다.

일반적으로, 호중구의 정상적인 범위는 약 1800 내지 7250개/㎕(평균 3650개)이고, 호염기구는 경우 0 내지 150개/㎕(평균 30개)이고, 호산구의 경우 0 내지 700개/㎕(평균 150개)이고, 대식 세포 및 단핵구의 경우 200 내지 950개/㎕(평균 430개)이고, 림프구의 경우 1500 내지 4000개/㎕(평균 2500개)이고, 적혈구의 경우 4.2×10^{6} 내지 6.1×10^{6}개/㎕이고, 혈소판의 경우 133×10^{3} 내지 333×10^{3}개/㎕이다. 전술한 범위는 95% 신뢰도를 갖는다.

특정 상태와 관련하여, 의학계는 미리 선택된 특정값을 확정하였다. 예를 들어, 경증의 호산구 감소증의 경우 1000 내지 2000개/㎕, 중등도 호산구 감소증의 경우 500 내지 1000개/㎕, 중증의 호산구 감소증의 경우 500개/㎕ 미만의 수를 가지는 것을 특징으로 한다. 마찬가지로, 성인의 경우 1500개 미만의 림프구 수는 의학적으로 바람직하지 않은 상태로 여겨진다. 어린이의 경우 그 값은 3000개 미만이다. 미리 선택된 다른 값은 당업자에게 공지되어 있다. 본 발명에 따라 유용한 제제를 사용하여 정상적인 수준을 포함하여 미리 선택된 상기 값을 확정하거나 재확정할 수 있다.

조혈 세포의 보호적인 수준은 환자에게 임상적인 이점을 주는데 필요한 세포의 수이다. 필요한 수준은 "정상적인 수준"과 같거나 그 미만일 수 있다. 이러한 수준은 당업자에게 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 호중구의 보호적인 수준은 1000개 초과, 바람직하게는 1500개 이상이다.

본 발명의 다른 양상에 따르면, 본원에서 유용한 제제는 종래 기술에서 기재된 것보다 낮은 투여량으로 적용될 수 있다. 특히, 예상외로 본 발명의 제제는 1일 1㎎/㎏(체중) 미만의 투여량으로 투여될 수 있다는 것이 확인되었다. 특히, 본 발명의 제제는 1일 0.1㎎/㎏(체중)의 양으로 성공적으로 사용되었으며, 이는 종래 기술의 교시 내용에 비해 10배 정도 낮다. 당업자라면 쉽게 인지하겠지만, 이는 치료에 필요한 물질이 적고, 이로 인해 부작용의 위험이 줄어든다는 점에서 이점이 있다. 마찬가지로, 이는 본 발명의 약물 제품의 제조 비용과 관련하여 이점이 있다.

본 발명의 다른 양상에 따르면, 제제를 1일 다수회 투여분으로 적용할 때 더 우수한 치료 결과가 얻어질 수 있다. 이 발견은 예상외의 것이며, 또한 본 발명에 따른 유용한 제제가 장기간 투여될 때 의학적으로 유용한 효과가 추가되지 않음이 발견되었다. 따라서, 예상외로 확실한 치료 목적을 달성하기 위해서 오직 매우 단기간의 치료가 필요한 것으로 발견되었다.

이하의 실시예에서 기술되는 바와 같이, 본 발명에 따른 유용한 제제로 1일 2회 치료된 개체는 1일 1회만 치료된 개체보다 거의 33% 빨리 조혈 세포의 회복을 이루었다. 놀랍게도, 이 결과는 개체에게 주어진 약물의 절대량에 의존하지 않았으며, 대신에 개체에게 약물을 투여한 횟수와 관계있었다. 달리 말하자면, 이하 나타내는 바와 같이, 2회 투여분의 약물을 1일 오직 1회 제공하면 조혈 세포 수의 회복이 촉진되지 않았다. 따라서, 본 발명의 양상은 본 발명에 따른 유용한 제제를 18시간 내에 2 또는 3회 제공함을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, 18시간이란 개체가 24시간 깨어 있는 동안의 시간을 일반적으로 가리키며, 이는 1일 2회 투여, 1일 3회 투여 등을 나타내려는 것이다.

본 발명의 또 다른 양상에 따르면, 예상외로 본 발명에 따른 유용한 제제는 종래 기술에 따라 예상된 것보다 적은 일수 동안 투여되여야 함이 발견되었다. 특히, 사용된 마우스 모델에서, 3일, 4일, 5일 치료하였을 때 조혈 세포의 회복 속도 및 조혈 세포의 정상적인 수준을 재확립하는 능력에서 거의 차이가 없었다. 그러므로, 인간에게 적용되는 경우 완전한 약물 치료는 7일 이하, 더 바람직하게는 6일 이하, 더 바람직하게는 5일 이하, 더 바람직하게는 4일 이하, 더욱 더 바람직하게는 3일 이하를 포함할 것으로 생각

된다. 그러므로, 그 결과로서 본 발명은 조혈 세포 수를 회복하기 위한 완전 치료 패키지를 함유하는 키트를 제공하며, 키트는 이하에서 더 상세하게 기술된다.

본 발명의 다른 양상에 따르면, 조혈 세포 저해제를 이용한 치료로 인해 개체가 비정상적인 수준의 조혈 세포를 갖는 시간이 단축된다. 예상외로, 본 발명에 따라 사용된 제제는 간질 세포에 의한 성장 인자 생성을 자극한다는 것이 확인되었다. 예를 들어, 간질 세포에 의한 과립구 콜로니 자극 인자(GCSF) 생성이 자극된다. GCSF는 특히 호중구 계통 분화를 유도하는 작용을 한다. GCSF는 적혈구, 호염기구, 비만 세포 및 대식 세포와 같은 다른 과립구를 포함한 다른 수임 조혈 세포의 분화 또는 증식에 영향을 주지 않는다. (그러나, 시험관내에서 다른 사이토카인과 상승작용적으로 작용하여 다능성 간세포의 증식에 영향을 주는 것으로 알려져 있지만, 이 발견의 생체내 중요성은 알려져 있지 않다.) 간질 세포는 빠르게 나뉘어지는 세포가 아니고 일반적으로 조혈 세포 저해제에 의해 불리하게 영향받지 않기 때문에, 본 발명에 따른 유용한 제제는 개체에게 조혈 세포 저해제에 의한 치료와 실질적으로 동시에 또는 심지어 그 전에 적용되어, 간질 세포가 조혈 세포 저해제에 의한 치료 후 조혈 세포를 재생하는데 쉽게 풍부하고 도움이 될 성장 인자를 생성하도록 자극할 수 있다. 종래 기술에서, 이러한 치료는 실질적으로 조혈 세포 저해제에 의한 치료 후까지 연기되었다. 본원에 사용된 바와 같이, 실질적으로 동시에란, 조혈 세포 저해제에 의한 치료 24시간 이내를 뜻한다. 바람직하게는, 본 발명에 따른 유용한 제제는 조혈 세포 저해제에 의한 치료 후 투여되는 경우, 조혈 세포 저해제에 의한 치료 2시간 이내에 투여된다. 만약 조혈 세포 저해제에 의한 치료 전에 투여되면, 조혈 세포 저해제에 의한 치료 직후 며칠 이내에 성장 인자의 간질 세포 생성이 증진되도록 저해제에 의한 치료에 대해 시간상으로 충분히 가깝게 투여된다.

본 발명에 따른 다른 양상은 개체를 다른 제제로 후속 치료하기 위해 준비하도록 치료함을 포함한다. 예상외로, 본 발명에 따른 유용한 제제는 원시 비수임 조혈 기원 세포의 증식을 자극하지만, 수임 기원 세포의 분화는 직접 자극하지 않음이 발견되었다. 이러한 세포는 $CD34^+$ 세포를 포함하거나 포함하지 않을 수 있음이 당업계에 공지되어 있다. $CD34^+$ 세포는 혈액 생성물에 존재하는 미성숙 세포이고, CD34 세포 표면 마커를 발현하며, 자가 재생하고 모든 성숙 혈액 세포 유형으로 분화하는 능력을 갖는 세포의 아집단을 포함하는 것으로 생각된다. 본 발명에 따른 유용한 제제는 이러한 자가 재생 세포의 증식을 자극하기 때문에, 본 발명은 비수임 기원 세포를 수임 기원 세포로 분화시키는 다른 외인성 성장 인자 및 사이토카인에 의한 치료를 위해 개체를 준비시키는데 유용하다. 마찬가지로, 본 발명에 따른 유용한 제제는 이식 또는 재융합을 위해 개체로부터 세포를 추출하기 전에 개체에서 조혈 세포를 늘리고 동원하도록 개체에게 투여될 수 있다. 이러한 세포는 연수 목적으로 사용될 수 있거나 또는 시험관내 확장되거나 확장되지 않고 생체외 치료되거나 개체에게 재도입될 수 있다.

본 발명에 따른 유용한 제제는 특정 결과를 얻도록 특별히 선택된 외인성 성장 인자 및 사이토카인과 함께 투여될 수 있다. 예를 들어, 특정 조혈 세포 유형을 자극하는 것이 바람직하다면, 이러한 세포 유형의 증식 및 분화를 자극하는 성장 인자 및 사이토카인이 사용된다. 따라서, 인터류킨-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13 및 17이 림프구 분화에 관련됨이 알려져 있다. 인터류킨 3 및 4는 비만 세포 분화에 관련된다. 과립구 대식 세포 콜로니 자극 인자(GMCSF), 인터류킨-3 및 인터류킨-5는 호산구 분화에 관련된다. GMCSF, 대식 세포 콜로니 자극 인자(MCSF) 및 IL-3은 대식 세포 분화에 관련된다. GMCSF, GCSF 및 IL-3은 호중구 분화에 관련된다. GMSCF, IL-3, IL-6, IL-11 및 TPO는 혈소판 분화에 관련된다. Flt3 리간드는 수지상 세포 성장에 관련된다. GMCSF, IL-3 및 에리트로포에틴은 적혈구 분화에 관련된다. 마지막으로, 조혈을 유지할 수 있는 원시 다능성 기원 세포의 자가 재생은 SCF, Flt3 리간드, G-CSF, IL-3, IL-6 및 IL-11을 필요로 한다. 바람직한 결과를 얻기 위한 다양한 조합은 당업자에게 분명할 것이다. 본 발명에 따른 유용한 제제는 원시 비수임 조혈 기원 세포를 자극하기 때문에, 이들은 임의의 전술한 부류의 제제와 함께 사용되어 특히 특정 조혈 세포 유형의 증식을 자극할 수 있다. 전술한 인자들은 당업자에게 널리 공지되어 있으며, 대부분은 시중에서 입수가능하다.

본 발명은 또한 다양한 시험관내 사용에 도움이 된다. 조혈 기원 세포는 보존 또는 확장되거나, 또는 이들의 콜로니 형성 단위 포텐셜은 시험관내에서 증가한다. 본 발명에 따라 얻을 수 있는 하나의 이점은 본 발명에 따른 유용한 제제에 의한 조혈 기원 세포의 자극이다. 얻을 수 있는 다른 이점은 제제가 조혈 기원 세포의 시험관내 배양에 사용된 간질 세포에 줄 수 있는 효과이다. 조혈 세포의 시험관내 배양은 종종 간질 세포의 존재 하에 수행된다. 조혈 기원 세포는 전형적으로 적당한 성장 인자의 지지 없이는, 시험관내에서 매우 장기간 동안 생존하거나, 증식하거나 분화하지 않을 것이다.

조혈 기원 세포를 간질 세포와 함께 시험관내 배양하거나 또는 조혈 기원 세포에 간질 세포-조절된 배지를 공급함으로써, 배양된 조혈 세포에 상기 성장 인자를 공급하는데 간질 세포 층을 사용한다. 본 발명에 따른 유용한 제제를 사용하여 이러한 간질 세포가 성장 인자를 제조하여 방출하도록 간질 세포를 처리할 수 있다. 간질 세포를 본 발명에 따른 유용한 제제와 함께 배지에서 배양하는 것은 간질 세포가 인자를 배지로 분비하기에 충분한 시간 동안 이루어진다. 그 다음, 배지를 사용하여 조혈 기원 세포 및 다른 조혈 세포의 배양을 보충할 수 있다.

조혈 세포의 배양은 세포를 배양하는데 통상적인 배지와 함께 한다. 그 예로는 RPMI, DM, ISCOVES 등이다. 이러한 배양 조건은 또한 당업자에게 공지되어 있다. 조건은 전형적으로 파라메터들(예컨대, 온도, CO_2, O_2 함량, 영양 배지 등)의 조합을 가리킨다. 세포의 수를 증가시키기에 충분한 시간은 당업자가 쉽게 결정할 수 있는 시간이며, 접종된 세포의 원래 수 및 성장 인자의 첨가량 및 본 발명에 따른 유용한 제제에 따라 좌우될 수 있다.

조혈 비수임 기원 세포의 콜로니 형성 포텐셜은 조혈 세포의 시험관내 배양에 의해 증가될 수 있다. 세포는 임의의 혈액 생성물 또는 조혈 기원의 세포를 함유하는 기관으로부터 얻을 수 있다. 조질의 또는 비분별화된 혈액 생성물은 본 발명에 따른 유용한 제제와 함께 배양하기 전 또는 후에 조혈 기원 세포 특징을 갖는 세포에 당업자에게 널리 공지된 방식으로 풍부하게 할 수 있다.

본 발명의 특히 중요한 양상은 호중구 감소증의 치료를 위한 제제의 용도이다. 예상외의 결과를 조합하면 본 발명은 호중구 감소증의 치료에 특히 유용하다. 첫번째로, 본 발명에 따른 제제는 비수임 기원 세포의 증식을 자극할 수 있다. 두번째로, 본 발명에 따른 제제는 또한 호중구 스스로의 분화 및 생성에서

중요한 성장 인자인 GCSF를 만들도록 간질 세포를 자극한다. 따라서, 개체는 본 발명에 따른 유용한 제제를 사용하여 기원 세포의 자극 및 이들 세포의 호중구로의 분화라는 이중 이점을 갖는다. 유사한 효과가 적혈구 및 혈소판에 대해서 나타난다. 따라서, 호중구, 적혈구 및 혈소판을 회복시키는 치료는 전술한 예상외의 발견을 기초로 하여 본 발명의 독립적이고 구별되는 양상을 이룬다.

본 발명은 또한 호중구 감소증과 같은 조혈 세포 결핍의 치료의 전 의료 과정을 수용하기 위한 키트를 포함한다. 상기 논의된 바와 같이, 놀랍게도 1일 투여 수 및 전체 투여 수는 조혈 세포 저해제에 의한 치료 후 조혈 세포의 회복에 유리한 영향을 끼치는 것으로 확인되었다. 이러한 예상외의 발견은 본 발명에 따른 유용한 제제를 사용하는 치료의 전 의료 과정을 수용하는 의약 디스펜서(dispenser)의 개발에 도움이 된다. 따라서 개체 순응도가 증진될 것이고, 전체 처방이 하나의 패키지에 함유될 수 있다. 일반적으로, 약제사는 의사의 처방을 받으면 개별적으로 디스펜서 장치를 약제로 충전한다. 본 발명의 디스펜서는 치료의 전 의료 과정을 포함하고 항상 특정 수의 고상 경구 제형을 포함할 수 있기 때문에, 패키지는 특정 의료 목적을 위한 적당한 수의 치료 약제 단위로 미리 충전될 수 있다.

의약 디스펜서는 복수의 의약 보관 구획을 한정하는 패키지이며, 각 구획은 개별 단위의 약제를 수용한다. 치료의 전 의료 과정은 복수의 의약 보관 구획에 수용된다.

복수의 의약 보관 구획을 한정하는 패키지는 개개의 구획에 약제를 수용하는 임의의 유형의 1회용 약학 패키지 또는 카드일 수 있다. 바람직하게 패키지는 뻣뻣한 종이 재료, 블리스터(blister) 시이트 및 백킹(backing) 시이트로 만들어질 수 있는 카드로부터 구성된 블리스터 패키지이다. 이러한 카드는 당업자에게 널리 공지되어 있다.

도 1은 호중구 감소증을 치료하기 위한 바람직한 전 의료 과정을 수용하는 의약 디스펜서(1)를 나타낸다. 일수 표시(2)는 어느 날 약제의 개별 단위를 먹어야 되는지를 나타낸다. 이들은 의약 패키지의 제1 면을 따라 표시된다. 투여 표시(3)는 의약 패키지의 제1 면에 수직인 의약 패키지의 제2 면을 따라 표시되며, 약제의 개별 단위를 먹어야 되는 시간을 나타낸다. 단위 투여량(4)은 블리스터 팩인 디스펜서에 함유된다. 이러한 특정 패키지는 1일 2회 투여 치료의 5일 과정을 나타낸다.

전술한 바와 같이, 약학 제제는 유효량으로 투여된다. 유효량은 투여 방식, 치료할 특정 상태 및 원하는 결과에 따라 좌우될 것이다. 또한, 전술한 바와 같이상태의 단계, 개체의 나이 및 신체 조건, 함께 쓰는 요법(있다면)의 성질 및 의사에게 널리 공지된 유사 인자에 따라 좌우될 것이다. 치료 적용을 위하여, 유효량은 의학적으로 바람직한 결과를 얻기에 충분한 양이다. 일부 경우에서, 그 결과는 조혈 세포 수 또는 성숙한 혈액 세포 수의 임의의 증가이다. 다른 경우에서, 그 결과는 미리 선택된 수준으로의 증가일 것이다.

본 발명은 한 양상에서 조혈 세포 저해제에 의한 치료의 효과를 개선하는데 유용하다. 제제가 예방적으로 사용되는 경우, 이들은 개체가 제제가 아니라 저해제로 치료된 경우에 손실한 양에 대비하여, 개체에게서 손실될 수 있는 조혈 세포의 양을 감소시킬 수 있다. 예방적으로 또는 급성으로 사용되는 경우, 개체가 제제가 아니라 저해제로 치료된 경우 보호적인 또는 정상적인 수준이 얻어지기 전에 경과할 수 있는 시간에 대비하여, 제제는 조혈 세포 유형이 적어도 보호적인 수준으로, 바람직하게는 정상적인 수준으로 회복되는 시간을 단축시킬 수 있다.

일반적으로, 본 발명의 활성 화합물의 투여량은 1일 약 0.01㎎/㎏ 내지 1㎎/㎏ 미만일 것이다. 다양한 투여 경로가 이용가능하다. 일반적으로 말하자면, 본 발명의 방법은 임상적으로 허용불가능한 부작용을 일으킴이 없이 유효한 수준의 활성 화합물을 생성하는 임의의 방식을 뜻하는, 의학적으로 허용가능한 임의의 투여 방식을 사용하여 실시될 수 있다. 이러한 투여 방식으로는 경구, 직장, 국소, 비강, 피내 또는 비경구 경로가 있다. 용어 "비경구"는 피하, 정맥내, 근육내 또는 주입을 포함한다. 정맥내 또는 근육내 경로는 장기간의 요법 및 예방법에는 특히 적합하지 않다. 그러나, 이들은 응급 상황에서는 바람직할 수 있다. 경구 투여가 개체의 편리 및 투여 일정을 위하여 바람직하다. 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th edition, 1990, pp. 1694-1712](본원에 참조로 인용됨)을 참조한다. 당업자라면 과도한 실험에 의존하지 않고 다양한 파라메터 및 투여량을 산출하는 조건을 쉽게 결정할 수 있다.

경구 투여에 적합한 조성물은 예정된 양의 활성 제제를 함유하는 캡슐, 정제, 로젠지(lozenge)와 같은 별개 단위로서 제시될 수 있다. 다른 조성물로는 시럽, 엘리서 또는 유화액과 같은 수성 액체 또는 비수성 액체내 현탁액이 있다.

비경구 투여를 위한 제제로는 멸균 수성 또는 비수성 용액, 현탁액 및 유화액이 있다. 비수성 용매의 예는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 식물성 오일(예: 올리브유) 및 주사가능한 유기 에스테르(예: 에틸 올리에이트)이다. 수성 담체로는 식염수 및 완충 매질을 포함하여 물, 알콜/수용액, 유화액 또는 현탁액이 있다. 비경구 부형제로는 염화나트륨 용액, 링거(Ringer) 덱스트로즈, 덱스트로즈 및 염화 나트륨, 락테이트화 링거 또는 고정 오일이 있다. 정맥내 부형제로는 유체 및 영양 보충액, 전해질 보충액(예: 링거 덱스트로즈를 기본으로 하는 것) 등이 있다. 방부제 및 다른 첨가제, 예를 들어 항균제, 산화방지제, 킬레이트제 및 불활성 기체 등도 또한 존재할 수도 있다. 더 적은 투여량은 정맥내 투여와 같은 다른 투여 형태에 의해 이루어질 것이다. 개체의 반응이 적용된 초기 투여량에서 불충분한 경우에는, 개체의 내성이 허용하는 정도까지 더 많은 투여량(또는 상이한, 더 국한된 전달 경로에 의해 효과적으로 더 많은 투여량)이 사용될 수 있다. 1일 다수회 투여가 고려된다.

제제는 임의로 약학적으로 허용가능한 담체와 함께 혼합될 수 있다. 본원에 사용된 용어 "약학적으로 허용가능한 담체"는 인간에게 투여하기에 적합한 1종 이상의 상용성 고체 또는 액체 충전제, 희석제 또는 캡슐화 물질을 뜻한다. 용어 "담체"는 천연 또는 합성의 유기 또는 무기 성분을 가리키며, 활성 성분과 혼합되어 적용을 용이하게 한다. 또한, 약학 조성물의 성분은 원하는 약학 효능을 실질적으로 약화시킬 수 있는 상호작용이 일어나지 않는 방식으로 본 발명의 분자와 또한 서로 혼합될 수 있다.

본 발명의 약학 제제는 투여될 때 약학적으로 허용가능한 양으로, 약학적으로 허용가능한 조성물로 적용된다. 이러한 제제는 일상적으로 염, 완충제, 방부제, 상용성 담체 및 임의로 다른 치료제를 함유할 수

있다. 염은 약에 사용될 때 약학적으로 허용가능해야 하지만, 약학적으로 허용불가능한 염은 그의 약학적으로 허용가능한 염을 제조하는데 편리하게 사용될 수 있고, 본 발명의 범주에서 제외되지 않는다. 이러한 약리학적으로 및 약학적으로 허용가능한 염으로는 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 인산, 말레산, 아세트산, 살리실산, 시트르산, 포름산, 말론산, 숙신산 등으로부터 제조된 것이 있으나, 이들에 한정되지 않는다. 또한, 약학적으로 허용가능한 염은 나트륨, 칼륨 또는 칼슘 염과 같은 알칼리 금속 또는 알칼리 토 염으로서 제조될 수 있다.

다른 전달 시스템은 지속방출성, 지연방출성 또는 서방성 전달 시스템을 포함할 수 있다. 이러한 시스템은 제제의 반복 투여를 피하게 할 수 있어서 개체 및 의사의 편리함을 증가시킨다. 방출 전달 시스템의 많은 유형이 이용가능하며, 이들은 당업자에게 공지되어 있다. 이들은 폴리(락티드-글리콜라이드), 코폴리옥살레이트, 폴리카프로락톤, 폴리에스테르아미드, 폴리오르토에스테르, 폴리히드록시부티르산 및 폴리안히드라이드와 같은 중합체계 시스템을 포함한다. 약물을 함유하는 선행 중합체의 미소캡슐은, 예를 들어 미국 특허 제5,075,109호에 기술되어 있다. 또한, 전달 시스템은 스테롤(예: 콜레스테롤, 콜레스테롤 에스테르) 및 지방산 또는 중성 지방(예: 모노-, 디- 및 트리-글리세라이드)을 포함하는 지질; 히드로겔 방출 시스템; 실라스틱(sylastic) 시스템; 펩티드계 시스템; 왁스 코팅제; 통상의 결합제 및 부형제를 사용하는 압축 정제; 부분 융합된 이식편 등인 비중합체 시스템을 포함한다. 구체적인 예로는 (a) 미국 특허 제4,452,775호, 제4,667,014호, 제4,748,034호 및 제5,239,660호에 기술된 것과 같은 매트릭스내 형태에 제제가 함유되는 침범 시스템 및 (b) 미국 특허 제3,832,253호 및 제3,854,480호에 기술된 것과 같은 중합체로부터 활성 성분이 제어 속도로 침투하는 확산 시스템이 있으나, 이들에 한정되지 않는다. 또한, 펌프를 기본으로 하는 하드웨어 전달 시스템이 사용될 수 있으며, 이중 일부는 이식용으로 적합하다.

장기간 서방성 이식편의 용도는 만성 질환의 치료에 특히 적합할 수 있다. 본원에 사용된 장기간 방출은 이식편이 활성 성분의 치료적 수준으로 30일 이상, 바람직하게는 60일 이상 동안 전달하도록 구성되고 조정되는 것을 의미한다. 장기간 서방성 이식편은 당업자에게 널리 공지되어 있으며, 전술한 방출 시스템 중 일부를 포함한다.

실시예

본 발명자들은 일련의 생체내 연구에서 제제 ValboroPro(PT-100)가 마우스에서 화학요법에 의해 유발된 골수억제를 단축할 수 있다는 것을 입증하였다. 이들 연구에서, 마우스에게 준치사량의 시클로포스프아미드 220㎎/㎏(제1일)을 복강내 주사하였다. 이 치료는 제4일까지는 혈액 세포 수에 최저치를 재현성있게 유도하였다. 72시간 후(제3일) 마우스를 세 군으로 나누었다. 한 군에는 섭식 또는 피하 투여(s.c.)에 의해 지시된 농도의 PT-100을 주고, 한 군에는 s.c. 주사에 의해 G-CSF를 주고, 세번째 군에는 경구 섭식 또는 s.c. 주사에 의해 콘트롤로서 식염수를 주었다. G-CSF는 마우스에서 G-CSF 효과를 연구하는 공개된 보고물에서 흔히 사용되는 투여량이고 또한 암 개체에게 사용되는 등가의 투여량인 0.04㎍/투여 (4㎍/㎏/일)로 사용되었다. 모든 투여는 5일 연속 1일 2회(b.i.d.) 수행되거나 지시에 따라 수행되었다. 제4 내지 제8일에 각 마우스로부터 혈액 샘플을 채취하고, 일부 실험은 제13일 또는 제17일에 실시하였다. 매 시점에서 4 또는 5마리의 시험 동물을 샘플링하였다. 김사(Gimsa) 염색된 혈액 도말의 총 백혈구 수 또는 백혈구 수 격차를 계수하였다.

호중구의 재생에 대한 PT-100 투여 반응

도 2에 제시된 데이터에서, 시클로포스파미드 처리된 마우스에게 제3일의 후시클로포스파미드 처리에서 시작하여 제7일까지 계속되는 연속 5일 동안 매일 2회 경구 섭식으로 0.1㎍, 2㎍ 또는 5㎍/b.i.d.의 PT-100 또는 식염수를 주었다. 2 또는 5㎍/b.i.d.의 PT-100을 받은 마우스에서 호중구의 회복은 제1일 또는 제2일까지 식염수 처리된 마우스의 회복을 재현성있게 앞섰지만, 0.1㎍/b.i.d.의 PT-100은 식염수에 비하여 호중구 회복을 거의 증진시키지 않았다. 절대 호중구 수(ANC)의 정상적인 수준은 2㎍ 또는 5㎍/b.i.d.의 PT-100을 받은 마우스의 경우 제5일에 도달하였지만, 식염수 처리된 마우스는 제7일까지 정상적인 수준에 도달하지 않았다. 제5일까지 마우스는 PT-100을 총 4회 투여 받았다(제3일 및 제4일). 제5, 6 및 7일에 PT-100의 추가 투여는 ANC에 증가를 추가로 일으켰다.

s.c. 경로를 통해 투여될 때 PT-100의 호중구 회복에 대한 효과는 경구 투여시와 매우 유사하였다. 도 3에 나타낸 데이터에서, 마우스에게 5일 동안 PT-100 1 내지 20㎍/b.i.d.의 투여량을 s.c. 주사하고, 제4 내지 제8일 및 제17일에 혈액 세포 수를 측정하였다. PT-100 5㎍, 10㎍ 또는 20㎍/b.i.d.를 받은 마우스의 경우, 호중구 증가는 식염수 처리된 마우스에서 관찰된 결과에 비하여 촉진되었다. PT-100 1㎍/b.i.d.의 투여량은 큰 효과를 나타내지 않았다. 결론적으로, PT-100 처리가 끝난 후 PT-100은 시클로포스파미드 치료된 마우스의 호중구 재생을 촉진하였다.

호중구 재생에 대한 PT-100 및 G-CSF 효과의 비교

G-CSF는 화학요법을 받고 있는 암 개체에서 호중구 회복을 촉진하는데 널리 사용된다. 마우스에서의 G-CSF의 효과는 확립되어 있으며, PT-100이 마우스에서 조혈 작용을 자극하는 기작을 밝히기 위한 기준으로서 사용될 수 있다. 도 4는 호중구 재생에 대한 PT-100 및 G-CSF의 효과를 비교하는 실험으로부터 얻은 데이터를 나타낸다. 시클로포스파이드 처리된 마우스에게 제3일에 시작하여 연속 5일 동안 섭식으로 2㎍/b.i.d.의 PT-100 또는 피하 주사로 0.04㎍/b.i.d.의 G-CSF(개체에게 사용되고, 쥐 연구의 공개된 보고서에 가장 일반적으로 사용된 것과 동일한 투여량)를 투여하였다. 혈액 세포를 제4 내지 제8일 및 제13일에 계수하였다.

PT-100 및 G-CSF 처리된 마우스는 처리 기간동안 호중구 재생을 유사한 수준으로 자극하였다. 처리가 중지된 후, ANC는 제13일까지 정상적인 수로 감소되었다. PT-100은 호중구 재구성에 대해 G-SCF와 매우 유사한 효과를 나타내지만, 작용 기작은 G-SCF와 상이하다. PT-100은 상이한 세포 수용체(CD 26)를 표적으로 할 뿐만 아니라, G-CSF에 의해 영향받지 않는 인간 초기 조혈 기원 세포의 성장을 자극하는 것으로 나타났다.

PT-100 투여의 투여 횟수 결정

호중구의 최적의 회복을 위한 투여 횟수를 결정하기 위하여, 지시된 투여량의 PT-100을 시클로포스파미드 처리된 마우스에게 제3일에 후시클로포스파미드 처리를 시작하여 5일 기간에 걸쳐 매일 1 또는 2회 s.c. 투여하였다. 도 5에 나타낸 바와 같이, 두 투여량에 있어서, 1일 2회 투여가 1일 1회 투여보다 더 높은 호중구 수준으로 더 빠른 속도로 호중구를 회복시켰다.

PT-100 투여의 처리 기간

전술한 실험에서 마우스를 연속 5일 동안 PT-100으로 치료하였다. 호중구의회복에 더 짧은 PT-100 처리 기간이 호중구의 회복에 충분한 지를 확인하기 위하여, 5㎍, 2㎍ 또는 1㎍/b.i.d.(6시간 간격)의 PT-100을 시클로포스파미드 처리된 마우스에게 제3일에 후시클로포스파미드 처리를 시작하여 1, 2, 3일 또는 5일 동안 섭식에 의해 투여하였다. 혈액 수는 제4일 내지 제8일에 측정하였다.

PT-100의 하루는 식염수 처리된 동물에 비하여 호중구의 촉진된 재구성을 일으키기에 충분하였다. 그러나, 2일 또는 3일 동안 PT-100을 추가 투여하면 회복 속도가 훨씬 더 증가하였다. 5㎍ 투여의 데이터가 도 6에 나타나 있다.

총 4일 또는 5일 동안 PT-100을 계속 투여하는 것은 3일 투여의 경우 얻어진 결과에 비하여 호중구 회복 속도 또는 ANC를 유의하게 증가시키지 않았다 (2㎍/b.i.d.의 데이터는 도 7에 나타나 있음).

도 6 및 도 7에 나타낸 결과는 호중구 재생에 대한 PT-100 효과가 처리 기간 초기에 일어나서 1000 내지 1400의 ANC가 얻어질 때까지 계속됨을 나타낸다. 반복 투여는 처리 기간 초기에 호중구 회복의 역학에 영향을 주지만, 3일 투여 후 도달된 ANC를 유의하게 변하게 하지 않는다.

결론적으로, PT-100은 1일 치료 후에도 식염수의 경우 보인 결과에 비하여 호중구 재구성을 촉진한다. 촉진된 호중구 재구성은 3일까지 치료의 매 추가 날에 따라 얻어진다. 4일 또는 5일 치료는 ANC 또는 재구성 역학을 유의하게 증가시키지 않았다.

시험관내 인간 조혈 세포 반응

조혈은 조혈 기원 세포(HPC)로 자가 재생하고 분화할 수 있는 조혈 간세포(HSC)의 풀(pool)에 의해 유지된다. HPC는 전형적으로 2주에 걸쳐 시험관내 반고상 배지에서 배양될 때 콜로니 형태를 기본으로 동정될 수 있는 특정 계통에 해당된다. 반고상 콜로니 분석에서 배양된 콜로니는 콜로니 형성 또는 버스트(burst) 형성 단위로서 기능적으로 정의되고, BFU-E 및 CFU-E(적혈구 계통 해당 세포), CFU-GM(과립구/단핵 세포 계통), BFU-MK 및 CFU-MK(거대핵 세포 계통 해당 세포) 및 CFU-GEMM(다능성 기원 세포)을 포함한다. 반고상 콜로니 분석은 후기 분화에 영향을 주는 G-CSF와 같은 인자를 확인하는 중요한 수단이지만, 원시 조혈 기원 세포(PHPC)의 증식 가능성 또는 자가 재생 특성을 분석할 수 없다[Dexter, T. A. et al. Acta Hemat. 62:299-305(1979); Chen, B. P. et al. Immunological Reviews, 157:41-51(1997)].

화합물 또는 성장 인자의 PHPC에 대한 효과를 측정하기 위한 분석법은 문헌[Dexter, T. A. et al., J. Cell. Physiol. 91:335-344(1977)]에 처음 기술되었으며, 장기간 배양(LTC)과 반고상 콜로니 분석을 조합한다. LTC는 필수 조혈 성장 인자를 제공하는 미리 형성된 간질 세포 층 위에서 개시된다. 이것은 쥐 및 인간 조혈의 시험관내 검사 및 LTC-IC를 재생하는 시험 화합물의 능력 평가에 광범위하게 사용된다.

인간 조혈 세포의 성장에 대한 PT-100의 효과는 인간 골수, 분리 반출된 말초 혈액 또는 제대 혈액 세포를 사용하여 2주 CFU 및 4 및 5주 LTC 분석법으로 검사하였다. PT-100은 2주 반고상 분석에서 CFU의 생성을 자극하지 않았는데, 이는 PT-100이 수임 기원 세포가 성숙한 혈액 세포로 분화하는 데에 영향을 주지 않는다는 것을 시사한다. 또한, 생체내 호중구 재생을 자극하기 위한 PT-100의 기작 및 세포 표적은 이 분석에서 CFU 형성을 자극하는 것으로 나타난 G-CSF의 것과는 상이하드는 것을 나타낸다. 초기 기원 세포에 대한 효과를 시험하는 LTC 분석에서, PT-100은 세가지 모든 세포원으로부터 매우 초기의 기원 세포의 성장을 크게 증가시켰다. 또한, 데이터는 LTC-IC의 증가가 배양 4주(도 8), 5주 및 6주(데이터 미제시)에 관찰되었으므로 PT-100의 효과는 PHPC에 대한 것임을 나타낸다. 이때, 덜 원시적인 조혈 기원 세포는 후기 분화를 겪고, 반고상 배양에서 콜로니를 형성하는 능력을 상실하였다.

LTC 분석을 위하여, MAC 분리 시스템을 사용하여 인간 골수 세포, 분리 반출된 말초 혈액 또는 제대 혈액으로부터 양성 선택법으로 $CD34^+$ 세포를 단리하였다. 간질 공급 층을 확립하기 위하여, 인간 골수 세포를 미엘로컬트(Myelocult) 장기간 배양 배지에서 2주간 배양하였다. 사용 하루 전에, 부착성 간질 세포를 LTC 배지에서 지시된 농도의 PT-100과 함께 밤새 배양하고 조사하였다. 단리된 $CD34^+$ 세포를 간질 세포층 위에 놓고, 지시된 양의 PT-100의 존재 또는 비존재 하에서 30일 동안 배양하였다. 그후 배지 및 PT-100은 3일 간격으로 교환하였다. 배양 기간이 끝날 때, 배양물을 성장 인자(간세포 인자, GM-CSF, IL-3 및 에리트로포에틴)가 보충된 반고상 배지(메틸셀룰로즈)에 도말하여 기원 세포에 대하여 분석하였다.

메틸셀룰로즈 배양에서 14일 후 골수 세포, 적혈구, 블라스트 형성 및 다계 클로원성 기원 세포(각각 콜로니 CFU-GM, CFU-E, BFU-E 및 CFU-GEMM)의 총수를 결정하였다.

인간 골수 배양의 경우 도 8에 나타나 있는 데이터는 4주 동안의 LTC 분석에서 PT-100이 투여 의존성 방식으로 반고상 배지에서 콜로니를 형성할 수 있는 클론원성 기원 세포의 수를 증가시켰음을 나타낸다. 이는 PT-100이 원시 조혈 기원 세포의 성장을 자극한다는 것을 시사한다.

유사한 방식으로, 분리 방출된 말초 혈액 또는 제대 혈액으로부터 정제된 $CD34^+$ 세포를 조사된 원시 간질 세포에서 30일 동안 배양하였다. 골수 세포에서 관찰된 바와 같이, PT-100은 말초 및 제대 혈액으로부터 4주 및 5주의 LTC-IC 수를 매우 유사한 수준으로 증가시켰는데, 이는 PT-100이 또한 이들 세포원으로부터 원시 조혈 기원 세포 성장을 자극할 수 있다는 것을 나타낸다(데이터 미제시).

PT-100은 수임 기원 세포의 분화를 자극하지 않는다

인간 골수 세포에 $CD34^+$ 세포를 풍부하게 하고, 웰당 200개의 $CD34^+$ 세포를 무혈청 x-vivo 15 배지(바이오

휘태커(Biowhittaker))에서 지시된 농도의 PT-100의 존재 또는 비존재하 37℃에서 4시간동안 배양하였다. 미리 배양된 $CD34^+$ 세포를 최적 농도 아래의 재조합 인간 성장 인자(간세포 인자 5ng/㎖, GM-CSF 1ng/㎖, IL-3 1ng/㎖, 에리트로포에틴[스템 셀 테크날러지스 뱅쿠버 BC(Stem Cell Technologies Vancouger, BC)) 0.3유니트/㎖]를 함유하는 이소코브(Iscove) MDM내 0.9% 메틸셀룰로즈에 첨가하였다. PT-100을 사전 배양에 사용된 농도와 같은 농도로 배지에 첨가하였다. 메틸셀룰로즈 혼합물을 2개의 35㎜ 플레이트에 도말하고, 37℃에서 14일 동안 배양하였다. 도립 현미경으로 기원 세포 콜로니(CFU-E, CFU-GM, CFU-GEMM 및 BFU-E)를 계수하였다. PT-100은 이들 수임 기원 세포의 분화를 자극하지 않았다.

정상적인 마우스의 비장에서의 조혈의 자극

6 내지 8주령의 암컷 BALB/c 마우스에게 식염수 또는 PT-100을 피하 주사 또는 경구 섭식에 의해 지시된 투여량으로 매일 2회 5일동안 투여하였다. 제6일에, 동물을 죽이고, 멸균 과정을 사용하여 이들의 비장을 절개하였다. 비장을 파괴하여 단일 세포 현탁액을 얻었고, 이어서 이를 트리스 암모늄 클로라이드(pH 7.2) 용액으로 처리하여 적혈구를 용해시켰다. 생성된 비장 세포 집단을 혈구계에 넣고, 2% 열 불활성화된 소 태아 혈청이 보충된 이스코브 변형 이글스 배지(IMDM)내에 5×10^6 세포/㎖로 재현탁하였다. 각 0.3㎖의 비장 세포 용액을 쥐 기원 세포의 콜로니 분석에 사용된 재조합 사이토카인을 함유하는 메틸셀룰로즈 배지인 메토컬트(Methocult™)GF M3434(캐나다 BC 뱅쿠버 소재의 스템 셀 테크날러지스) 3㎖에 첨가하였다. 배지를 세게 혼합한 다음, 혼합물의 1.1㎖를 멸균된 35㎜ 직경의 2개의 배양 플레이트 위에 도말하여 5×10^5 비장세포/플레이트가 되게 하였다. 도말된 세포를 공기 95%/CO_2 5%에서 7일 동안 가습 조건하에 37℃에서 배양하였다. 2일 후에 제조자 설명서에 따라 CFU-E를 세고, BFU-E, CFU-GM 및 CFU-GEMM은 7일 후에 세었다. 각각의 마우스에 대하여, 혈구계에서 결정된 총 비장 세포 수를 이용하여 절대 CFU/비장을 계산하였다. 도 9에 나타낸 데이터는 각 투여 군의 3마리의 마우스로부터 얻은 평균±SD CFU/비장을 나타낸다. PT-100은 시험한 모든 기원 콜로니 유형에서 조혈작용을 자극하였다.

PT-100은 인간 골수 간질 세포로부터 G-CSF의 생성을 유도한다

골수로부터 단핵 세포를 정제하여 2주 동안 장기간 배양 배지(캐나다 BC 뱅쿠버 소재의 스템 셀 테크놀러지스 인코포레이티드)에서 배양하는데, 1주 후에 새 배지를 한 번 공급하였다. 확립된 간질 세포를 트립신-EDTA 분해에 의해 제거하여 35㎜ 직경의 조직 배양 플레이트에 10^{-5}M PT-100을 함유하는 배지 또는 콘트롤로서 배지만 1㎖ 에 웰당 10^6개 세포로 접종하였다. 배양 배지를 제1일에 수집하였다. 상층액은 콴티킨 고감도 면역 분석 키트(미국 미네소타주 미네아폴리스 소재의 R+D 시스템즈)를 사용하여 인간 G-CSF에 대하여 분석하였다. 도 10은 배양된 인간 간질 세포에 의한 G-CSF의 생성에 대한 PT-100의 효과를 나타낸다. PT-100은 이러한 세포에 의한 G-CSF의 생성을 자극한다.

L-VAL-R-boroPro의 제조는 다수의 공개 방법에 기술되어 있다(Kelly, T. A. et al., J. Am. Chem. Soc., 1993, 115:12537-12638; Coutts, S. J. et al., J. Med. Chem., 1996, 39:2087-2094; Beak, P. et al., Tetrahedron Letters, 1989, 30:1197; Bean, F. R. et al., J. Amer. Chem. Soc., 1932, 54:4415). 순수한 이성질체가 바람직하다. 또한 본원에 그 개시내용이 참조로 인용된 미국 특허 제4,935,493호를 및 제5,462,928호를 참조한다.

지금까지 본 발명을 특정 실시 양태에 대하여 기술하였지만, 당업자라면 본 발명의 요지로부터 벗어나지 않고서도 많은 변경 및 변화를 행할 수 있음을 이해하여야 한다. 이러한 변경물, 변화물 및 등가물은 하기 청구의 범위의 범주에 포함될 것이다.

(57) 청구의 범위

청구항 1

조혈을 자극하는 치료가 필요한 개체에게 화학식 I의 화합물인 제제를 개체의 조혈 세포 또는 성숙 혈액 세포의 수를 증가시키기에 유효한 1일 1㎎/㎏(체중) 미만의 양으로 투여함을 포함하는, 개체의 조혈을 자극하도록 개체를 치료하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 개체가 비정상적으로 낮은 수준의 조혈 세포를 갖고, 제제가 조혈 세포 유형의 수준을 미리 선택된 정상적인 또는 보호적인 수준으로 회복시키기에 유효한 양으로 투여되는 것인 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 개체에게 18시간 내에 제제를 2회 투여분 이상 투여하는 방법.

청구항 4

제2항에 있어서, 개체가 호중구 감소증이 있고, 유효량이 호중구를 미리 선택된 정상적인 또는 보호적인 수준으로 회복시키기에 유효한 것인 방법.

청구항 5

제2항에 있어서, 개체가 비정상적으로 낮은 수준의 적혈구를 갖고, 유효량이 적혈구를 미리 선택된 정상적인 또는 보호적인 수준으로 회복시키기에 유효한 것인 방법.

청구항 6

제2항에 있어서, 개체가 비정상적으로 낮은 수준의 혈소판을 갖고, 유효량이 혈소판을 미리 선택된 정상적인 또는 보호적인 수준으로 회복시키기에 유효한 것인 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 제제가 ValBoroPro인 방법.

청구항 8

조혈 세포 저해제를 사용한 치료로 인해 비정상적으로 낮은 수준의 조혈 또는 성숙 혈액 세포를 갖는 시간을 단축시키는 치료가 필요한 개체에게 화학식 I의 화합물인 제제를 개체의 조혈 세포 또는 성숙 혈액 세포 수를 증가시키기에 유효한 양으로 조혈 세포 저해제의 투여 전에 또는 그와 실질적으로 동시에 투여함을 포함하는, 개체가 조혈 세포 저해제에 의한 치료로 인한 비정상적으로 낮은 수준의 조혈 또는 성숙 혈액 세포를 갖는 시간을 단축시키는 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 조혈 세포 저해제의 투여가 개체에서 비정상적으로 낮은 수준의 조혈 세포를 초래하고, 제제가 조혈 세포 유형의 수준을 미리 선택된 정상적인 또는 보호적인 수준으로 회복시키기에 유효한 양으로 투여되는 것인 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 개체에게 18시간 내에 제제를 2회 투여분 이상 투여하는 방법.

청구항 11

제9항에 있어서, 조혈 세포 저해제가 개체에서 호중구를 감소시키고, 유효량이 개체에서 호중구를 미리 선택된 정상적인 또는 보호적인 수준으로 회복시키기에 유효한 것인 방법.

청구항 12

제9항에 있어서, 조혈 세포 저해제가 개체에서 적혈구를 감소시키고, 유효량이 개체에서 적혈구를 미리 선택된 정상적인 또는 보호적인 수준으로 회복시키기에 유효한 것인 방법.

청구항 13

제9항에 있어서, 조혈 세포 저해제가 개체에서 혈소판을 감소시키고, 유효량이 개체에서 혈소판을 미리 선택된 정상적인 또는 보호적인 수준으로 회복시키기에 유효한 것인 방법.

청구항 14

제8항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 유효량이 1일 1㎎/㎏체중 미만인 방법.

청구항 15

제8항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 제제가 ValBoroPro인 방법.

청구항 16

개체에게 조혈 세포 저해제를 투여하기 전에 화학식 I의 화합물인 제제를 개체에서 성장 인자의 생성을 자극하기에 유효한 양으로 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 조혈 세포 저해제에 의한 치료를 위해 개체를 준비시키는 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, 성장 인자가 과립구 콜로니 자극 인자인 방법.

청구항 18

제16항에 있어서, 유효량이 1일 1㎎/㎏(체중) 미만인 방법.

청구항 19

제16항에 있어서, 18시간 내에 제제를 2회 투여분 이상 투여함으로써 제제를 개체에게 투여하는 것인 방법.

청구항 20

제16항에 있어서, 제제가 성장 인자의 간질 세포 생성을 자극하는 것인 방법.

청구항 21

제16항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 제제가 ValBoroPro인 방법.

청구항 22

개체의 조혈 세포의 수를 증가시키는 치료가 필요한 개체에게 화학식 I의 화합물인 제제를 개체의 조혈 세포를 증가시키기에 유효한 양으로 18시간 내에 2회 투여분 또는 3회 투여분으로 이루어진 제1 요법으로 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 조혈 세포의 수를 증가시키도록 개체를 치료하는 방법.

청구항 23

제22항에 있어서, 제제가 18시간 내에 2회 투여분 또는 3회 투여분으로 이루어진 제2 요법으로 투여되고,

제2 요법이 제1 요법과 시간상 별개인 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 제제가 18시간 내에 2회 투여분 또는 3회 투여분으로 이루어진 제3 요법으로 투여되고, 제3 요법이 제1 및 제2 요법과 시간상 별개인 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 제제가 18시간 내에 2회 투여분 또는 3회 투여분으로 이루어진 제4 요법으로 투여되고, 제4 요법이 제1, 제2 및 제3 요법과 시간상 별개인 방법.

청구항 26

제25항에 있어서, 제제가 18시간 내에 2회 투여분 또는 3회 투여분으로 이루어진 제5 요법으로 투여되고, 제5 요법이 제1, 제2, 제3 및 제4 요법과 시간상 별개인 방법.

청구항 27

제22항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 개체가 비정상적으로 낮은 수준의 호중구를 갖고, 유효량이 호중구를 미리 선택된 정상적인 또는 보호적인 수준으로 회복시키기에 유효한 것인 방법.

청구항 28

제22항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 각 요법이 1일 1㎎/㎏(체중) 미만인 방법.

청구항 29

제22항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 제제가 ValboroPro인 방법.

청구항 30

개체에게 조혈 세포를 자극하기에 유효한 양으로 화학식 I의 화합물인 제제를 투여하는 단계, 이어서 개체로부터 조혈 세포를 수집하는 단계, 수집된 세포를 개체에게 재도입하는 단계를 포함하는, 개체에게 재도입하기 위한 개체의 세포를 준비하는 방법.

청구항 31

제30항에 있어서, 수집된 세포의 증식을 자극하기에 유효한 양의 제제의 존재 하에 수집된 세포를 생체외 배양하는 단계를 더 포함하는 방법.

청구항 32

제30항에 있어서, 수집된 세포 주위의 배지 내에 제제의 농도가 리터당 10^{-8}몰 미만인 방법.

청구항 33

제30항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 제제가 ValboroPro인 방법.

청구항 34

간질 세포에 의한 성장 인자 생성을 자극하기에 유효한 양으로 화학식 I의 화합물인 제제와 간질 세포를 접촉시킴을 포함하는, 간질 세포에 의해 성장 인자 생성을 자극하는 방법.

청구항 35

제34항에 있어서, 간질 세포가 세포 성장을 지지하기 위한 간질 세포의 시험관내 층이고, 간질 세포의 존재 하에 간세포를 배양하는 단계를 더 포함하는 방법.

청구항 36

제34항에 있어서, 간질 세포가 개체의 생체내에 있는 방법.

청구항 37

제34항에 있어서, 성장 인자가 과립구 콜로니 자극 인자인 방법.

청구항 38

제36항에 있어서, 제제가 1일 1㎎/㎏ 미만의 양으로 개체에게 투여되는 방법.

청구항 39

제34항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 제제가 ValboroPro인 방법.

청구항 40

제35항에 있어서, 간세포가 외부에서 첨가되는 성장 인자가 없는 환경에서 배양되는 방법.

청구항 41

제35항에 있어서, 간세포가 외부에서 첨가되는 과립구 콜로니 자극 인자가 없는 환경에서 배양되는 방법.

청구항 42

제1 투여량의 제제 및 조혈 세포 저해제에 의한 치료와 실질적으로 동시에 또는 그 전에 개체를 제제로 치료하라는 지시서, 및 제2 투여량의 제제 및 조혈 세포 저해제에 의한 치료 후에만 개체를 제제로 치료하라는 지시서를 포함하는, 상기 투여량이 유효량이고, 제제가 화학식 I의 화합물인 패키지를 포함하는, 조혈 세포 저해제를 사용한 치료로 인한 효과를 개선하기 위한 개체 치료용 키트.

청구항 43

제42항에 있어서, 제2 투여량이 2 내지 7회 요법이고, 각 요법은 18시간 내에 투여하기 위한 제제의 2회 투여분 또는 3회 투여분의 제제로 이루어진 키트.

청구항 44

제42항에 있어서, 제2 투여량이 1일 1㎎/㎏(체중) 미만인 키트.

청구항 45

제42항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 제제가 VaIBoroPro인 키트.

청구항 46

제42항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 호중구 감소증을 치료 또는 저해하기 위한 키트.

청구항 47

제45항에 있어서, 호중구 감소증을 치료 또는 저해하기 위한 키트.

청구항 48

제42항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 혈소판 결핍을 치료 또는 저해하기 위한 키트.

청구항 49

제45항에 있어서, 혈소판 결핍을 치료 또는 저해하기 위한 키트.

청구항 50

제42항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 적혈구 결핍을 치료 또는 저해하기 위한 키트.

청구항 51

제45항에 있어서, 적혈구 결핍을 치료 또는 저해하기 위한 키트.

청구항 52

제1일의 첫번째 18시간 동안 개체에게 투여하기 위한 유효한 양의 제1 투여량의 제제,

제2일의 두번째 18시간 동안 개체에게 투여하기 위한 유효한 양의 제2 투여량의 제제,

임의로 제3일의 세번째 18시간 동안 개체에게 투여하기 위한 유효한 양의 제3 투여량의 제제,

임의로 제4일의 네번째 18시간 동안 개체에게 투여하기 위한 유효한 양의 제4 투여량의 제제,

임의로 제5일의 다섯번째 18시간 동안 개체에게 투여하기 위한 유효한 양의 제5 투여량의 제제,

임의로 제6일의 여섯번째 18시간 동안 개체에게 투여하기 위한 유효한 양의 제6 투여량의 제제,

임의로 제7일의 일곱번째 18시간 동안 개체에게 투여하기 위한 유효한 양의 제7 투여량의 제제로 필수적으로 이루어지고, 상기 제제가 화학식 I의 화합물이고, 제제가 조혈 또는 성숙 혈액 세포 유형의 미리 선택된 정상적인 또는 보호적인 수준을 회복시키기에 유효한 양으로 존재하는, 조혈 세포 또는 성숙 혈액 세포 유형을 보호적인 수준 이상으로 회복시키기 위한 완전 투여량을 함유하는 패키지를 포함하는, 비정상적으로 낮은 수준의 조혈 세포 또는 성숙 혈액 세포를 갖는 개체를 치료하기 위한 키트.

청구항 53

제52항에 있어서, 필수적으로 제1, 제2, 제3, 제4 및 제5 투여량으로만 이루어지는 것인 키트.

청구항 54

제52항에 있어서, 필수적으로 제1, 제2, 제3 및 제4 투여량으로만 이루어지는 것인 키트.

청구항 55

제52항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 각 투여량이 각각의 18시간 동안 2회 투여분 또는 3회 투여분의 제제로 이루어지는 것인 키트.

청구항 56

제52항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 각 투여량의 양이 1일 1㎎/㎏(체중) 미만인 키트.

청구항 57

제52항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 제제가 ValBoroPro인 키트.

청구항 58

제1일 동안 개체에게 투여하기 위한 제1 투여량의 제제,

제2일 동안 개체에게 투여하기 위한 제2 투여량의 제제,

임의로 제3일의 세번째 18시간 동안 개체에게 투여하기 위한 유효한 양의 제3 투여량의 제제,

임의로 제4일의 네번째 18시간 동안 개체에게 투여하기 위한 유효한 양의 제4 투여량의 제제,

임의로 제5일의 다섯번째 18시간 동안 개체에게 투여하기 위한 유효한 양의 제5 투여량의 제제,

임의로 제6일의 여섯번째 18시간 동안 개체에게 투여하기 위한 유효한 양의 제6 투여량의 제제,

임의로 제7일의 일곱번째 18시간 동안 개체에게 투여하기 위한 유효한 양의 제7 투여량의 제제를 함유하고, 투여량의 합이 개체에서 조혈 세포 저해제의 효과를 개선하기에 유효한 양이고, 각 투여량이 1일 1㎎/㎏(체중) 미만인 패키지를 포함하는,

개체포 저해제의 효과를 개선시키기 위한 키트.

청구항 59

제58항에 있어서, 필수적으로 제1, 제2, 제3, 제4 및 제5 투여량으로만 이루어지는 키트.

청구항 60

제58항에 있어서, 본질적으로 제1, 제2, 제3 및 제4 투여량으로만 이루어지는 키트.

청구항 61

제58항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 각 투여량이 각각의 개별적인 1일 동안 2회 투여분 또는 3회 투여분의 제제로 이루어지는 것인 키트.

청구항 62

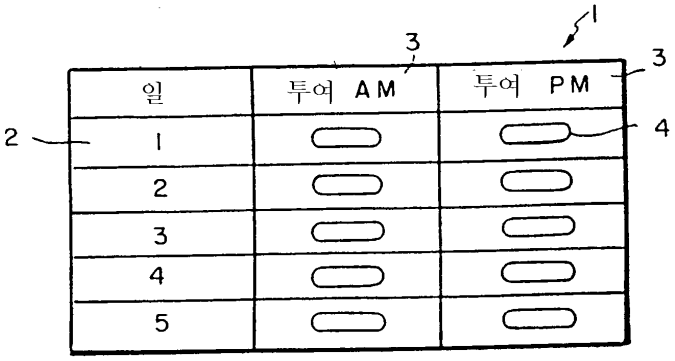
제58항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 제제가 ValboroPro인 키트.

청구항 63

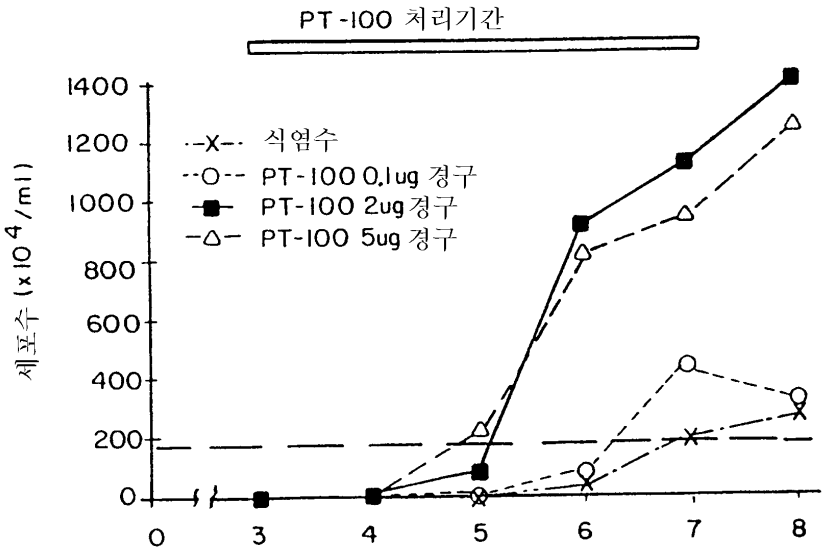
제61항에 있어서, 제제가 ValboroPro인 키트.

도면

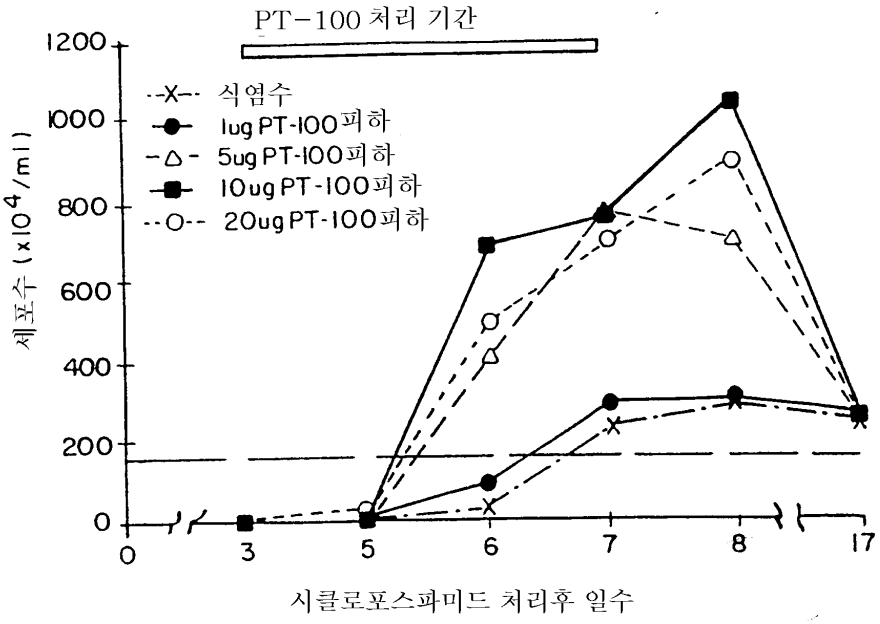
도면1



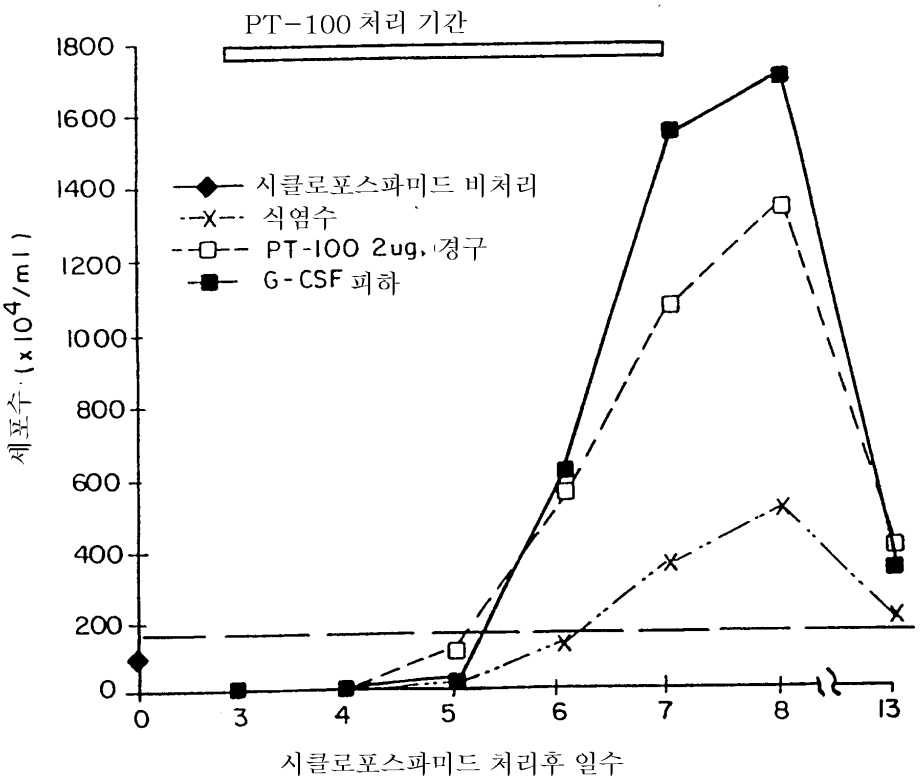
도면2


PT-100 처리기간
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
세포수 (x10⁴/ml)
--X-- 식염수
--O-- PT-100 0.1ug 경구
PT-100 2ug 경구
PT-100 5ug 경구
0
3
4
5
6
7
8
시클로포스파미드 처리후 일수

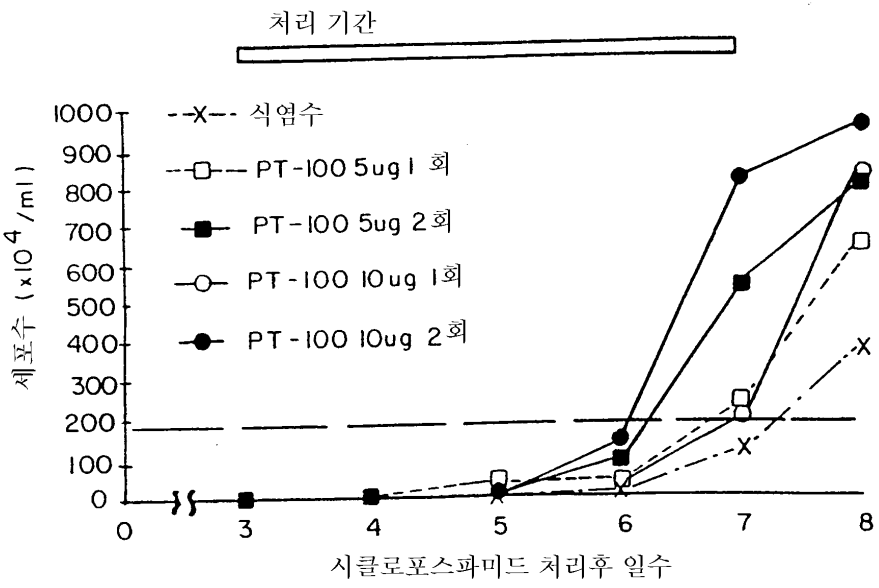
도면3


PT-100 처리 기간
1200
1000
800
600
400
200
0
세포수 (x10⁴/ml)
--X-- 식염수
1ug PT-100피하
5ug PT-100피하
10ug PT-100피하
--O-- 20ug PT-100피하
0
3
5
6
7
8
17
시클로포스파미드 처리후 일수

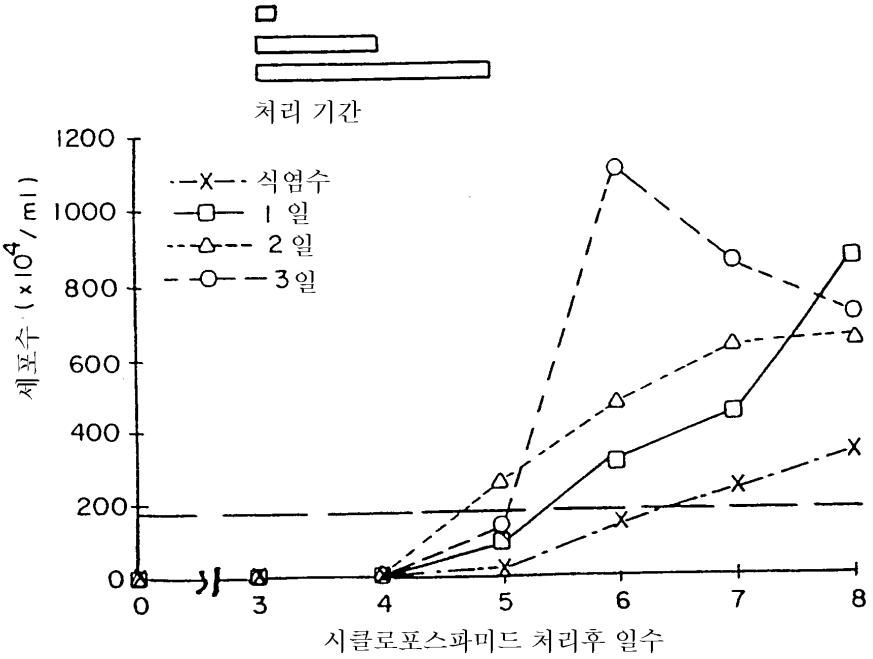
도면4


PT-100 처리 기간
시클로포스파미드 비처리
식염수
PT-100 2ug, 경구
G-CSF 피하
세포수 (x10⁴/ml)
시클로포스파미드 처리후 일수

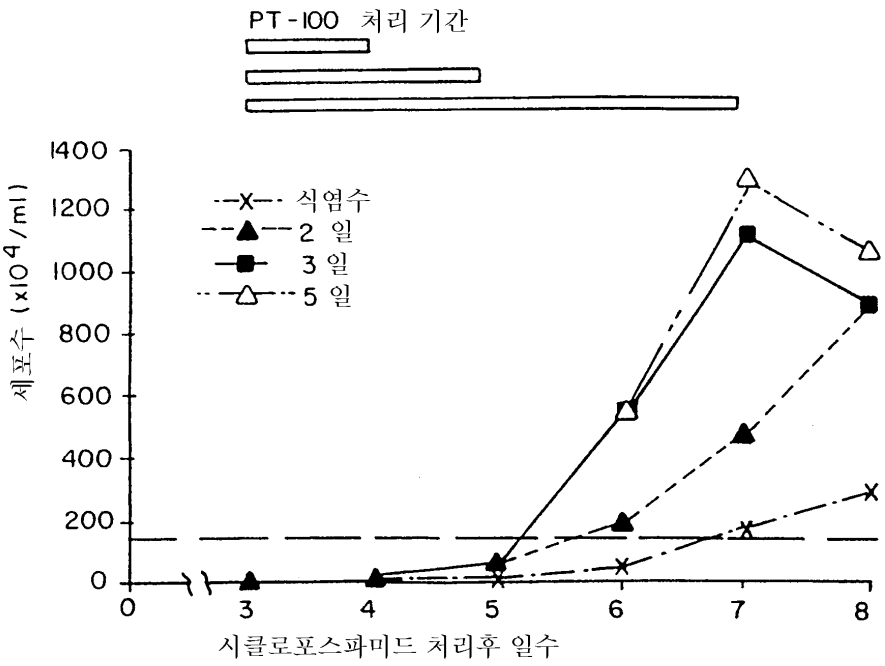
도면5


처리 기간
식염수
PT-100 5ug 1 회
PT-100 5ug 2회
PT-100 10ug 1회
PT-100 10ug 2회
세포수 (x10⁴/ml)
시클로포스파미드 처리후 일수

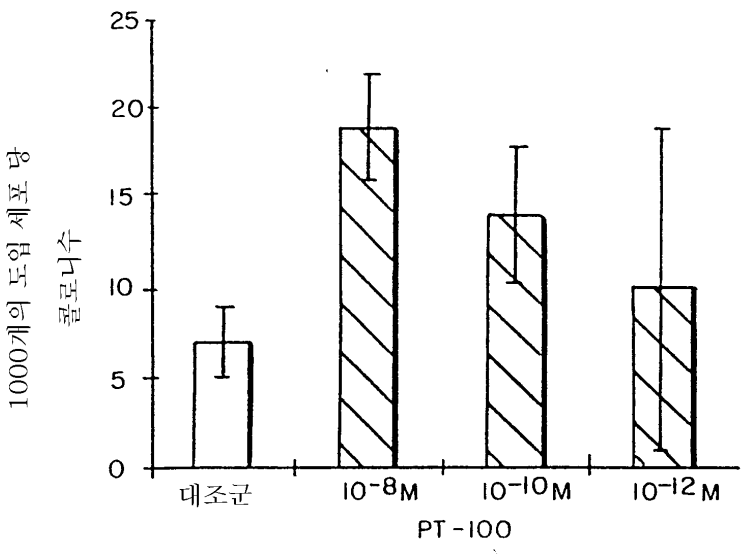
도면6


처리 기간
1200
1000
800
600
400
200
0
세포수 (x10⁴/ml)
식염수
1 일
2 일
3일
0
3
4
5
6
7
8
시클로포스파미드 처리후 일수

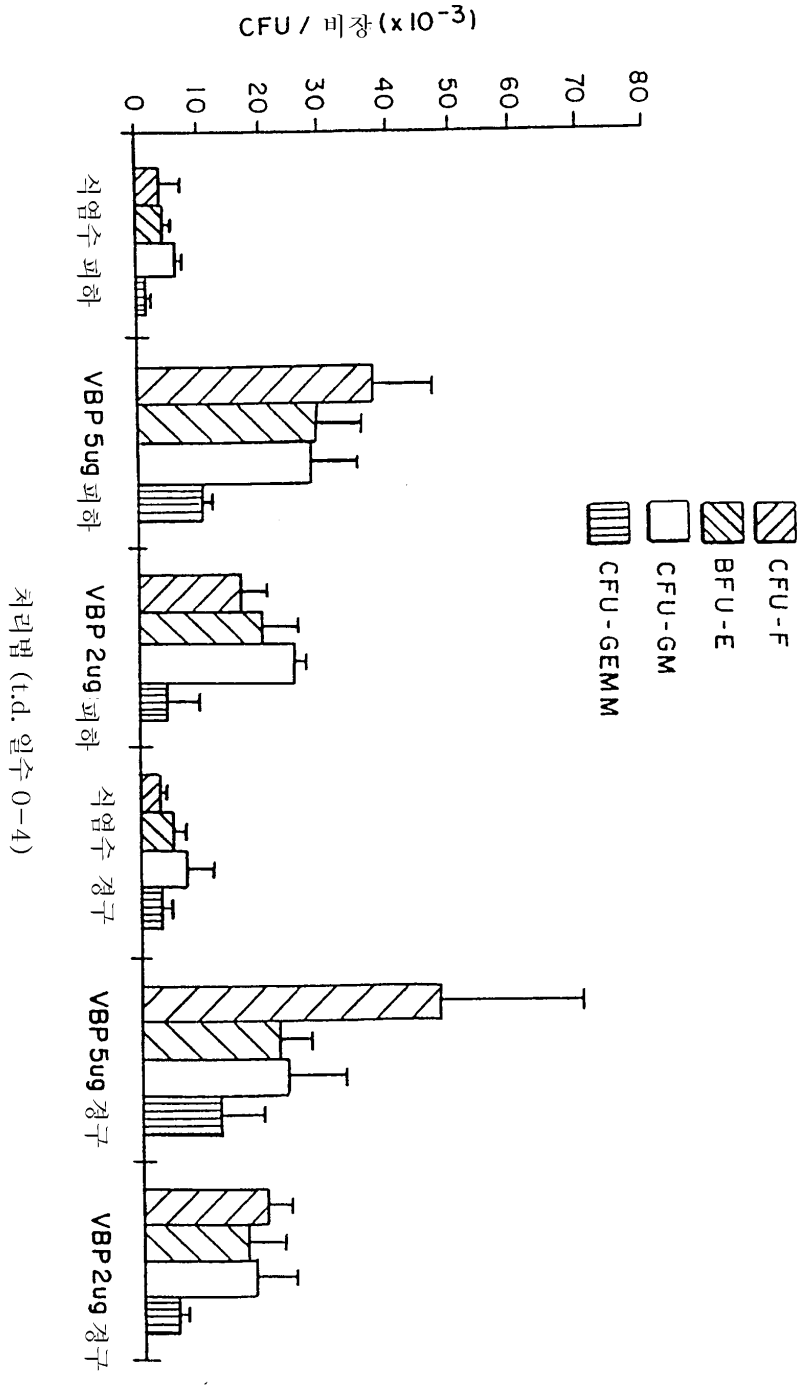
도면7


PT-100 처리 기간
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
세포수 (x10⁴/ml)
식염수
2 일
3 일
5 일
0
3
4
5
6
7
8
시클로포스파미드 처리후 일수

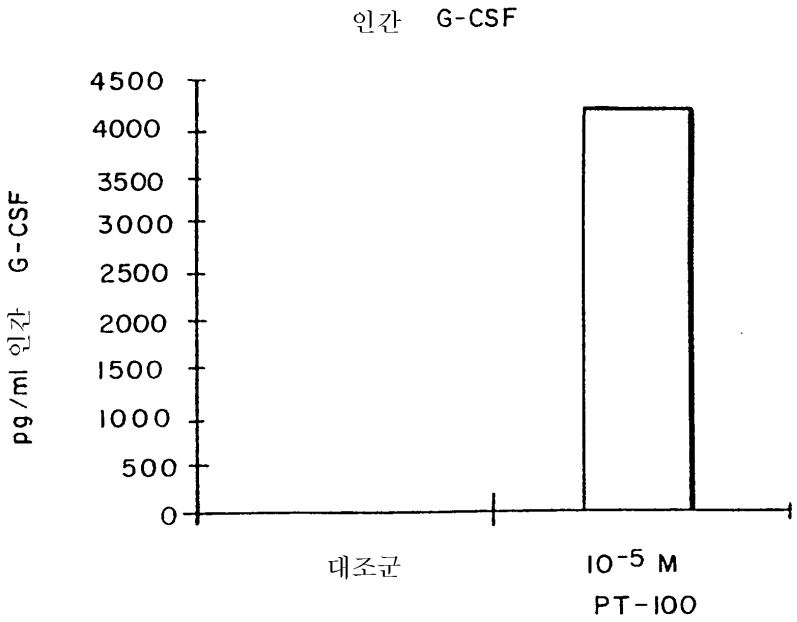
도면8



도면9


CFU / 비장 (x 10⁻³)
0
10
20
30
40
50
60
70
80
CFU-F
BFU-E
CFU-GM
CFU-GEMM
식염수 피하
VBP 5ug 피하
VBP 2ug 피하
식염수 경구
VBP 5ug 경구
VBP 2ug 경구
처리법 (t.d. 일수 0-4)

도면10


인간 G-CSF
4500
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
pg/ml 인간 G-CSF
대조군
10-5 M
PT-100