



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0136078
(43) 공개일자 2015년12월04일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/454 (2006.01) *A61K 31/573* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 31/454 (2013.01)
A61K 31/573 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2015-7027212
- (22) 출원일자(국제) 2014년04월01일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2015년10월01일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2014/032483
- (87) 국제공개번호 WO 2014/165482
국제공개일자 2014년10월09일
- (30) 우선권주장
61/807,605 2013년04월02일 미국(US)
- (71) 출원인
셀진 코포레이션
미합중국 뉴저지주 07901 써미트 모리스 애비뉴
86
- (72) 발명자
툰, 한, 더블유.
미국 플로리다 32256 잭슨빌 워터마크 레인 사우스 7717
- (74) 대리인
특허법인 광장리앤고

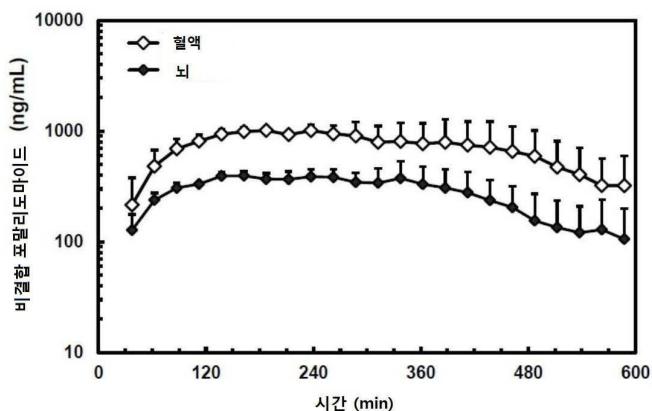
전체 청구항 수 : 총 27 항

(54) 발명의 명칭 중추신경계 암의 치료 및 관리를 위한 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온을 사용한 방법 및 조성물

(57) 요약

중추신경계 암을 치료, 예방 또는 관리하기 위한 방법 및 조성물이 기재되어 있다. 상기 방법은 포말리도마이드(Pomalidomide)라고도 공지된 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 투여를 포함한다. 또한, 이 화합물을 화학요법, 방사선 요법, 호르몬 요법, 생물학적 요법 또는 면역요법과 함께 사용하는 치료방법이 제공된다. 상기 방법에 사용하기에 적합한 약제학적 조성물 및 단일 단위 투여형도 기재되어 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 39/395 (2013.01)

A61K 45/06 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

치료학적 유효량의 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온을 이를 필요로 하는 사람에게 투여함을 포함하는, 사람의 중추신경계 암을 치료하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 암이 종래 요법으로는 재발되거나 난치성이거나 내성인, 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 암이 원발성 중추신경계 림프종(PCNSL), 원발성 유리체망막 림프종(PVRL), 안구내 림프종, 중추신경계 유아구성 외투막세포 림프종, 중추신경계 종양, 중추신경계 고형 종양, 신경모세포종, 중추신경계 암 상태, 외투막세포 림프종(MCL), 중간 분화 림프구 림프종, 중간 림프구 림프종(ILL), 광범위 저분화 림프구 림프종(PDL), 중심세포 림프종, 광범위 소분할 세포 림프종(DSCCL), 소포 림프종, 외투총 림프종 또는 임의 유형의 외투막세포 림프종인, 방법.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 암이 신경상피 종양, 뇌막 종양, 신경다발막 종양, 아교모세포종 또는 별아교세포종인, 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 암이 신경상피 종양이고, 상기 신경상피 종양이 뇌실막 종양인, 방법.

청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 암이 뇌막 종양, 신경상피 종양, 신경다발막 종양, 아교모세포종, 별아교세포종, 림프종, 혈관종 또는 신생물 종양인, 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 암이 뇌막 종양인, 방법.

청구항 8

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 암이 뇌막, 뇌하수체, 솔방울샘, 비강, 전두엽, 측두엽, 두정엽, 후두엽, 대뇌, 뇌실, 소뇌, 뇌간, 척수, 말총, 뇌신경, 뇌의 기타 부위 또는 신경계의 기타 부위에 존재하는, 방법.

청구항 9

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 암이 수막종, 아교모세포종, 뇌하수체 종양, 신경다발막 종양, 신경상피 종양, 머리인두종, 림프종, 생식세포종, 별아교세포종, 회소돌기아교세포종 또는 배아성종양인, 방법.

청구항 10

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 암이 신경아교종인, 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 신경아교종이 아교모세포종, 별아교세포종, 회돌기교별세포종, 회소돌기아교세포종, 뇌실막 종양 또는 신경아교종 악성 NOS인, 방법.

청구항 12

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 암이 중추신경계 림프종인, 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 중추신경계 림프종이 원발성 중추신경계 림프종(PCNSL)인, 방법

청구항 14

제1항 또는 제2항에 있어서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 투여량이 약 0.1
내지 약 50mg/일(day)인, 방법

청구항 15

제14항에 있어서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 투여량이 약 1, 2, 3 또는
4mg/일인, 방법

청구항 16

제15항에 있어서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 투여량이 약 4mg/일인, 방법

청구항 17

제14항에 있어서, 투여되는 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온이 이성질체적으로
(enantiomerically) 순수한, 방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 투여되는 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온이 S 이성질체인,
방법.

청구항 19

제17항에 있어서, 투여되는 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온이 R 이성질체인,
방법.

청구항 20

제14항에 있어서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온이 경구 투여되는, 방법

청구항 21

제20항에 있어서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온이 캡슐제 또는 정제 형태로 투
여되는, 방법.

청구항 22

제14항에 있어서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온이 28일을 주기로 21일 동안 투
여된 다음 7일 동안 휴약되는, 방법.

청구항 23

제22항에 있어서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온이 28일을 주기로 21일 동안 약
25mg/일의 양으로 투여된 다음 7일 동안 휴약되는, 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 리툭시맙(rituximab)을 $375\text{mg}/\text{m}^2$ 의 양으로 매주 정맥내 주입으로 투여함을 추가로 포함하는,
방법.

청구항 25

치료학적 유효량의 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온 및 치료학적 유효량의 제2 활

성체를 이를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함하는, 중추신경계 암의 치료 방법.

청구항 26

제25항에 있어서, 상기 제2 활성제가 항체, 조혈성장인자, 시토카인, 항암제, 항생제, cox-2 억제제, 면역조절제, 면역억제제, 코르티코스테로이드, 또는 이의 약리학적 활성 돌연변이체 또는 유도체인, 방법.

청구항 27

제25항에 있어서, 상기 제2 활성제가 리툭시맙인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본원은 2013년 4월 2일에 출원된 미국 가특허원 제61/807,605호를 우선권으로 주장하며, 상기 특허원 전체가 본원에 참조로 도입된다.

1. 분야

[0003] 본원은 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온을 단독으로 또는 다른 치료제와 조합하여 투여함으로써, 원발성 중추신경계 림프종(PCNSL), 원발성 유리체망막 림프종(PVRL), 안구내 림프종, 중추신경계 유아구성 외투막세포 림프종, 중추신경계 종양, 중추신경계 고형 종양, 중추신경계 암 상태를 포함하나 이에 제한되지는 않는, 특정 유형의 중추신경계 암 및 기타 질환의 치료, 예방 및/또는 관리 방법을 제공한다. 특히, 본원은 종래 요법으로는 재발되는 암을 포함한 상기 특정 암을 치료하기 위한 약물들과 기타 요법, 예를 들면, 조사(radiation)와의 특정 조합, 또는 "칵테일(cocktail)"의 사용을 제공한다.

[0004] 본원은 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온과 기타 요법, 예를 들면, 조사(radiation), 또는 항암제, 면역억제제 및 스테로이드와 같은 소염제를 포함하나 이에 제한되지는 않는 기타 화학요법제와의 특정 조합 또는 "칵테일"의 사용을 제공한다. 본원은 또한 치료제로서의 상기 화합물을 단독으로 사용한 약제학적 조성물 및 투여 요법에 관한 것이다.

배경 기술

2. 배경

[0006] 암은 주로 일정 정상 조직으로부터 유도된 비정상 세포 수의 증가, 이러한 비정상 세포의 주변 조직으로의 침입, 또는 악성 세포의 부위림프절 또는 떨어진 부위로의 림프성 또는 혈액매개성 확장(전이)에 의한 것이 특징이다. 임상적 데이터 및 분자생물학 연구는 암이, 종양으로 진행되는 특정 조건하에 있을 수 있는 미미한 종양전 변화로 개시되는 단단계 과정임을 가리킨다. 종양성 병변은 클론에 의하여 진행될 수 있고, 특히 종양 세포가 호스트의 면역 감시를 이탈하는 조건하에서 침입, 성장, 전이 및 이질성에 대한 증가된 능력을 전개할 수 있다[참조: Roitt, I., Brostoff, J. and Kale, D., Immunology, 17.1-17.12 (3rd ed., Mosby, St. Louis, Mo., 1993)].

[0007] 의학 서적에는 다양한 종류의 암이 상세히 기재되어 있다. 그 예에는 혈액암, 폐암, 결장암, 직장암, 전립선암, 유방암, 뇌암 및 장암이 포함된다. 림프종과 같은 다양한 형태의 암이 2002년 5월 17일에 출원된 미국 가특허원 제60/380,842호에 기재되어 있으며, 상기 특허원 전체가 본원에 참조로 도입된다(예를 들면, Section 2.2. Types of Cancers 참조).

[0008] 다양한 종류의 암이 혈관신생으로 공지된 과정인 혈관의 새로운 형성과 관련되어 있다. 종양 유도된 혈관신생에 포함된 몇몇 기전이 밝혀졌다. 이들 기전 중 가장 직접적인 것은 종양 세포에 의한 혈관형성 성질을 갖는 시토카인(cytokine)의 분비이다. 이러한 시토카인의 예에는 산성 및 염기성 섬유모세포 성장인자(a, b FGF), 안지오제닌, 혈관 내피 성장 인자(VEGF) 및 TNF- α 가 포함된다. 그렇지 않으면, 종양 세포는 프로테아제의 생산 및 후속적으로 몇몇 시토카인(예를 들면, bFGF)이 저장되는 세포의 매트릭스의 분해를 통해 혈관형성 웹티드를 분비 할 수 있다. 혈관신생은 또한 염증성 세포(특히 포식세포)의 동원 및 후속적인 혈관형성 시토카인(예를 들면, TNF- α , bFGF)의 분비를 통해 간접적으로 유도될 수 있다.

[0009] 따라서, 혈관신생을 조절하거나 TNF- α 를 포함한 특정 시토카인의 생산을 억제하는 화합물이 다양한 암 질환 및

상태를 치료 및 예방하는 데 유용할 수 있다.

[0010] 림프종은 망상내피계 및 림프계에 생긴 이질 그룹의 신생물이다(참조: The Merck Manual, 955 (17th ed. 1999)). 비호지킨 림프종(NHL)은 림프절, 골수, 비장, 간 및 위장(GI)관을 포함한 면역계에서의 림프계 세포의 악성 단클론 증식을 지칭한다(참조: The Merck Manual, 958).

[0011] 외투막세포 림프종(MCL)은 비호지킨 림프종 중에서 뚜렷한 실체이다(참조: Drach J.; et al., Expert Review of Anticancer Therapy, 2005, 5(3), pp. 477-485). ILCP(International Lymphoma Classification Project)에서, MCL은 전체 비호지킨 림프종의 8%로 확인됐다. MCL은 REAL(Revised European-American Lymphoma) 및 세계보건 기구(WHO) 분류로 뚜렷한 임상병리학적 실체로서 인식된다. MCL은 종전의 림프종 분류 제도에 의해서는 인식되지 않았고, 흔히 IWF(International Working Formulation)에 의해서는 광범위 소분할 세포 림프종으로, 키엘(Kiel) 분류로는 중심세포 림프종으로 카테고리화되었다(참조: The Merck Manual, 958-959).

[0012] MCL은 일차 난포에 또는 이차 난포의 외투막 부위에 국소적으로 위치한 순수한 종자전 중심 세포(naive pregerminal center cell)의 서브세트로부터 유도된 림프구증식 질환이다. MCL은 특정 염색체전이 t(11;14)(q13;q32)이 특징이다(참조: Drach J.; et al., Expert Review of Anticancer Therapy, 2005, 5(3), pp. 477-485). 이러한 전이는 크로모좀 14 상의 면역글로불린 중쇄(heavy-chain) 유전자 및 크로모좀 11 상의 BCL1 자리를 포함한다(참조: Drach J.; et al., p 477). 전이의 문자 결과는 (브레이크 포인트에 가까이 위치한 PRAD1 유전자에 의해 코드화된) 단백질 사이클린 D1의 과발현이다(상기 문헌). 사이클린 D1은 세포 주기 조절 및 사이클린 의존성 키나제의 활성화에 의한 G1 단계로부터의 S 단계로의 진행에서 중요한 역할을 한다(상기 문헌).

[0013] NHL은 바이러스 감염(Ebstein-Barr 바이러스, HIV, 사람 T-림프친화 바이러스 타입 1, 사람 헤르페스바이러스 6), 환경적 요인(살충제, 모발 염색제), 및 일차 및 이차 면역결핍과 관련이 있다. MCL에 대해 또는 다른 유형의 NHL을 앓고 있는 대부분의 환자에 대해 발생 원인이 확인되지 않았다. MCL은 임상적 산출량이 빈약하고 재발된 질환 또는 난치성 질환을 앓고 있는 환자에 대해 치료적 선택권이 제한된 불치 림프종이다(참조: Drach J.; et al., p. 477).

[0014] 원발성 중추신경계 림프종(PCNSL)은 중추신경계(CNS)로 제한된 가장 흔한 광범위 거대 B 세포 림프종(DLBCL)이며, 좋지 않은 예후를 수반한다(참조: Ferreri, A.J., Blood, 2011, 118, pp. 510-522). CNS 종양 미세환경은 CNS 림프종의 생명 작용에 중요한 역할을 한다. 표준 요법은 조사의 존재 또는 부재하에 고용량 메토트렉세이트와 고용량 ara-c로 이루어진다. 이러한 치료로 인해 생존율이 개선되었으나, CNS 림프종의 예후는 전신성 DLBCL에 비해 여전히 불량하다(상기 문헌). 현재의 치료제는 림프종 세포를 타겟으로 하고 종양 미세환경에 대해 유익한 영향을 미치지 못한다. 혈액뇌 장막은 CNS 림프종을 효과적으로 치료하는 데 큰 장애물이다. 따라서, 우수한 효능, 우수한 CNS 침투 및 림프종 세포뿐만 아니라 종양 미세환경에 영향을 미치는 새로운 방법, 치료제 및 조성물이 크게 요구된다.

발명의 내용

과제의 해결 수단

3. 요약

[0015] 본원은 종래 요법으로는 재발되고 난치성이며 내성인 암뿐만 아니라 림프종, 원발성 암 및 전이성 암을 포함한 특정 유형의 암을 치료, 예방 또는 관리하기 위한 방법 및 조성물을 제공한다. 특히, 본원의 방법은 재발되고 난치성이며 내성인 림프종뿐만 아니라 원발성 중추신경계 림프종(PCNSL), 원발성 유리체망막 림프종(PVRL), 안구내 림프종, 중추신경계 유아구성 외투막세포 림프종, 중추신경계 종양, 중추신경계 고형 종양, 중추신경계 암 상태, 외투막세포 림프종(MCL), 중간 분화 림프구 림프종, 중간 림프구 림프종(ILL), 광범위 저분화 림프구 림프종(PDL), 중심세포 림프종, 광범위 소분할 세포 림프종(DSCCL), 소포 림프종 및 외투총 림프종과 같은 다양한 유형의 암의 치료, 예방 또는 관리를 위한 것이다.

[0017] 본원의 방법은 이러한 치료, 예방 또는 관리가 필요한 환자에게 치료학적 또는 예방학적 유효량의 본원에 제공된 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 용매화 물(예를 들면, 하이드레이트), 입체이성체, 클라트레이트(clathrate) 또는 프로드럭(prodrug)을 투여함을 포함한다. 바람직한 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온을 단독으로, 다시 말해 다른 화학요법없이 사용한다.

[0018]

다른 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온을 암을 치료, 예방 또는 관리하는데 통상적으로 사용되는 요법을 사용하면서 투여한다. 이러한 통상적인 요법의 예에는 수술, 화학요법, 방사선요법, 호르몬 요법, 생물학적 요법, 면역요법 및 이들의 조합이 포함되나, 이에 제한되지 않는다.

[0019]

본원은 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 용매화물(예를 들면, 하이드레이트), 입체이성체, 클라트레이트 또는 프로드럭과 제2 또는 추가 활성제 또는 활성성분을 포함하는, 약제학적 조성물, 단일 단위 투여형 및 투여 요법을 제공한다. 제2 활성제 또는 활성 성분은 약물들, 요법, 또는 이들 둘의 특정 조합 또는 "칵테일"을 포함한다.

도면의 간단한 설명

4. 도면의 간단한 설명

도 1은 포말리도마이드(Pomalidomide)의 50mg/kg 단일 경구투여에 따른 숫컷 CDI-IGS 래트(n=3)에서의 포말리도마이드의 혈액 및 뇌중의 비결합(unbound) 농도-시간 프로파일을 나타낸 것이다.

도 2는 포말리도마이드(POM)가 2개의 생체내 CNS 림프종 모델에서 연장된 생존과 함께 유효한 전임상 치료 활성을 나타냄을 도시한 것이다. Raji 모델: A-1 A-2 및 A-3. OCI-LY 10 모델: B-1, B-2 및 B-3. A-1 및 B-1: 종양 이식 18일 후의 CNS 림프종의 생체발광 영상. A-2 및 B-2: 25,000개의 Raji 세포 또는 1×10^5 OCI-LY 10 세포의 뇌내 주사 후 림프종 성장의 발광 시그널. 데이터는 n=8에 대해 평균±SEM(평균 희도% 기준)으로 나타낸다. Pom-3mg/kg, Pom-10mg/kg 및 Pom-30mg/kg 그룹에서의 생체내 종양 성장은 대조군에 비해 현저히 느림. *는 대조군과 비교해서 P<0.05. A-3 및 B-3: 카플란-마이어(Kaplan-Meier) 분석은 Pom-3mg/kg, Pom-10mg/kg 및 Pom-30mg/kg 처리된 그룹에서 연장된 생존을 보인다(p<0.05, n=8).

도 3은 포말리도마이드(POM)가 Raji 모델의 CNS 림프종 미세환경에서 포식세포에 큰 영향을 미침을 나타낸다. 도 3a: POM이 뇌 포식세포를 현저히 증가시킴. A-1: 반대쪽 뇌 및 종양의 뇌 포식세포에 대한 Iba-1 염색. A-2: 반대쪽 뇌에서의 Iba-1 양성 세포의 정량. A-3: 종양에서의 Iba-1 양성 세포의 정량. 도 3b: 포말리도마이드는 두개내 림프종 이종이식편에서의 Ym1 발현 세포를 현저히 감소시키고 iNOS 발현 세포를 현저히 증가시킨다. B-1: 종양에서의 iNOS 및 Ym1 염색 포식세포. B-2: 종양에서의 iNOS 염색된 세포의 정량. B-2: 종양에서의 Ym1 염색된 세포의 정량(*는 대조군과 비교해서 P<0.05).

도 4는 포말리도마이드(POM)가 OCI-LY 10 모델의 CNS 림프종 미세환경에서 포식세포에 큰 영향을 미침을 나타낸다. 도 4a: 포말리도마이드가 뇌 포식세포를 현저히 증가시킨다. A-1: 반대쪽 뇌 및 종양의 뇌 포식세포에 대한 Iba-1 염색. A-2: 반대쪽 뇌에서의 Iba-1 양성 세포의 정량. A-3: 종양에서의 Iba-1 양성 세포의 정량. 도 4b: 포말리도마이드는 두개내 림프종 이종이식편에서의 Ym1 발현을 현저히 감소시키고 iNOS 활성을 현저히 증가시킨다. B-1: 종양에서의 iNOS 및 Ym1 염색 포식세포. B-2: 종양에서의 iNOS 염색된 세포의 정량. B-2: 종양에서의 Ym1 염색된 세포의 정량(*는 대조군과 비교해서 P<0.05).

도 5는 포말리도마이드(POM)는 Raji 및 OCI-LY 10 쥐과 동물(murine) CNS 림프종 모델에서의 CNS 림프종 미세환경에서 NK 세포를 현저히 증가시킴을 나타낸다. A-1 및 B-1: POM은 CNS 종양에서의 CD335 양성 NK 세포를 현저히 증가시킨다(본래 배율 ×200). A-2 및 B-2: 종양에서의 CD335 염색된 세포의 형광 강도. CD335는 NK 세포에 대한 마커로서 사용된다(*는 대조군과 비교해서 P<0.05).

도 6은 포말리도마이드가 IL-4 처리된 사람 단핵구 U937의 편광 상태를 M2에서 M1으로 전환시킴을 나타낸다. 포말리도마이드는 FXIII A 및 pSTAT6 발현에 의해 지시된 바와 같이 사람 단핵구의 IL-4 유도된 M2 편광을 iNOS 및 pSTAT1 발현으로 지시된 바와 같이 M1 편광으로 전환시킨다. CD11b는 사람 단핵구의 마커이다. 최종 본래 배율 ×400 오일.

도 7은 포말리도마이드가 림프종 (Raji) 연관된 포식세포의 편광 상태를 NK 세포 존재하에 M2에서 M1으로 전환시킴을 나타낸다. U937 세포는 FXIII A 및 pSTA T6 발현에 의해 지시된 바와 같이 Raji 림프종 세포와 함께 배양되는 경우 M2 편광된다. U937 세포의 M2 편광은 POM을 사용한 처리로 전환된다(도 7a). U937 세포는 Raji 림프종 세포 및 YTS NK 세포와 함께 배양되는 경우 M2 편광된다. 상기 삼종 배양물을 POM으로 처리하는 경우, iNOS 및 pSTAT1 발현에 의해 지시된 바와 같이 U937 세포의 M1 편광이 겹출된다(도 7b). CD11b는 사람 단핵구의 마커이다. 최종 본래 배율 ×400 오일.

도 8은 포말리도마이드가 림프종 (OCI-LY 10) 연관된 포식세포의 편광 상태를 NK 세포 존재하에 M2에서 M1으로

전환시킴을 나타낸다. U937 세포는 FXIII A 및 pSTAT6 발현에 의해 지시된 바와 같이 OCI-LY 10 림프종 세포와 함께 배양되는 경우 M2 편광된다. U937 세포의 M2 편광은 POM을 사용한 처리로 전환된다(도 8a). U937 세포는 OCI-LY 10 림프종 세포 및 YTS NK 세포와 함께 배양되는 경우 M2 편광된다. 상기 삼종 배양물을 POM으로 처리하는 경우, iNOS 및 pSTAT1 발현에 의해 지시된 바와 같이 U937 세포의 M1 편광이 검출된다(도 8b). CD11b는 사람 단핵구의 마커이다. 최종 본래 배율 ×400 오일.

도 9는 포말리도마이드가 원발성 쥐과 동물 미세아교세포(A) 및 사람 단핵구 U937 세포(B)의 식세포능을 현저히 증가시킴을 나타낸다(*는 대조군과 비교해서 $P<0.05$).

도 10은 엑사메타손(DEX)을 매주 포말리도마이드(POM)에 첨가하면 Raji CNS 림프종 모델의 생존율이 추가로 개선됨을 나타낸다. A, C 및 E: 25,000개의 Raji 세포를 뇌내 주사 후 4일, 8일, 11일, 15일 및 18일의 림프종 성장의 발광 시그널. 데이터는 $n=8$ 에 대해 평균±SEM(평균 휘도% 기준)으로 나타냄. *는 대조군과 비교해서 $P<0.05$; **는 대조군 및 DEX와 비교해서 $P<0.05$; ***는 대조군, DEX 단독 및 POM 단독 처리 그룹과 비교해서 $P<0.05$. B,D, F: 카플란-마이어 분석은 POM 단독 처리 그룹과 비교해 DEX+POM 10mg/kg 및 DEX+POM 30mg/kg 처리 그룹의 생존이 연장됨을 나타낸다($p<0.05$, $n=8$).

도 11은 포말리도마이드가 IL-4 처리된 원발성 쥐과 동물 미세아교세포의 편광 상태를 M2에서 M1으로 전환시킴을 나타낸다. 포말리도마이드는 FXIII A 및 pSTAT6 발현에 의해 지시된 바와 같은 미세아교세포의 IL-4 유도된 M2 편광을 iNOS 및 pSTAT1 발현에 의해 지시된 바와 같이 M1으로 전환시킨다. CD11b는 사람 단핵구의 마커이다. 최종 본래 배율 ×400 오일.

도 12는 포말리도마이드가 IL-4 처리된 원발성 쥐과 동물 복막 포식세포의 편광 상태를 M2에서 M1으로 전환시킴을 나타낸다. 포말리도마이드는 FXIII A 및 pSTAT6 발현에 의해 지시된 바와 같은 포식세포의 IL-4 유도된 M2 편광을 iNOS 및 pSTAT1 발현에 의해 지시된 바와 같이 M1 편광으로 전환시킨다. CD11b는 사람 단핵구의 마커이다. 최종 본래 배율 ×400 오일.

도 13은 포말리도마이드가 림프종 (Raji) 연관된 원발성 쥐과 동물 미세아교세포의 편광 상태를 원발성 쥐과 동물 NK 세포 존재하에 M2에서 M1으로 전환시킴을 나타낸다. 미세아교세포는 FXIII A 및 pSTAT6 발현에 의해 지시된 바와 같이 Raji 림프종 세포와 함께 배양되는 경우 M2 편광된다. 상기 세포의 M2 편광은 POM을 사용한 처리로 전환된다(도 13a). 미세아교세포는 Raji 림프종 세포 및 일차 NK 세포와 함께 배양되는 경우 M2 편광된다. 상기 삼종 배양물을 POM으로 처리하는 경우, iNOS 및 pSTAT1 발현에 의해 지시된 바와 같이 미세아교세포의 M1 편광이 검출된다(도 13b). F4/80은 쥐과 동물 미세아교세포의 마커이다. 최종 본래 배율 ×400 오일.

도 14는 포말리도마이드가 림프종 (OCI-LY 10) 연관된 원발성 쥐과 동물 미세아교세포의 편광 상태를 원발성 쥐과 동물 NK 세포 존재하에 M2에서 M1으로 전환시킴을 나타낸다. 미세아교세포는 FXIII A 및 pSTAT6 발현에 의해 지시된 바와 같이 OCI-LY 10 림프종 세포와 함께 배양되는 경우 M2 편광된다. 상기 세포의 M2 편광은 POM을 사용한 처리로 전환된다(도 14a). 미세아교세포는 OCI-LY 10 림프종 세포 및 일차 NK 세포와 함께 배양되는 경우 M2 편광된다. 상기 삼종 배양물을 POM으로 처리하는 경우, iNOS 및 pSTAT1 발현에 의해 지시된 바와 같이 미세아교세포의 M1 편광이 검출된다(도 14b). F4/80은 쥐과 동물 미세아교세포의 마커이다. 최종 본래 배율 ×400 오일.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

5. 상세한 설명

[0021] 제1 양태는 암의 치료, 예방 또는 관리가 필요한 환자에게 치료학적 또는 예방학적 유효량의 본원에 제공된 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 용매화물(예를 들면, 하이드레이트), 입체이성체, 클라트레이트 또는 프로드력을 투여함을 포함하는, 암의 치료, 예방 또는 관리 방법을 포함한다.

[0022] 특히, 원발성 중추신경계 림프종(PCNSL), 원발성 유리체망막 림프종(PVRL), 안구내 림프종, 중추신경계 유아구성 외투막세포 림프종, 중추신경계 종양, 중추신경계 고형 종양, 중추신경계 암 상태, 외투막세포 림프종(MCL), 중간 분화 림프구 림프종, 중간 림프구 림프종(IL), 광범위 저분화 림프구 림프종(PDL), 중심세포 림프종, 광범위 소분할 세포 림프종(DSCCL), 소포 림프종, 외투층 림프종, 및 현미경으로 볼 수 있는 임의 유형의 외투막세포 림프종(결절, 광범위, 분아형 및 외투층 림프종)을 포함하나 이에는 제한되지 않는 다양한 유형의 암의 치료, 예방 또는 관리 방법을 포함한다.

[0024] 별개의 구별되는 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온을 암의 치료, 예방 또는 관리를 위한 다른 약물(제2 활성제 또는 활성 성분) 또는 기타 요법과 함께 투여한다. 제2 활성제는 줄기 세포 또는 제대혈뿐만 아니라 그 예가 본원에 기재되어 있는 소분자 및 대분자(예를 들면, 단백질 및 항체)를 포함한다. 본원에 제공된 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 투여와 함께 사용될 수 있는 방법 또는 요법은 수술, 수혈, 면역요법, 생물학적 요법, 방사선 요법 및 암을 치료, 예방 또는 관리하는 데 현재 사용되는 기타 비-약물 기초한 요법이 포함되나, 이에 제한되지 않는다.

[0025] 다른 양태는 암 이외의 바람직하지 않은 혈관신생이 특징인 질환 및 장애의 치료, 예방 또는 관리 방법을 포함한다. 이러한 방법은 치료학적 또는 예방학적 유효량의 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 용매화물, 하이드레이트, 입체이성체, 클라트레이트 또는 프로드럭의 투여를 포함한다.

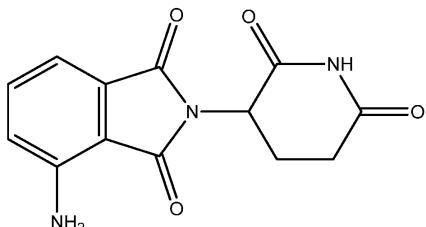
[0026] 본원은 본원에 기재된 방법에 사용할 수 있는 약제학적 조성물(예를 들면, 단일 단위 투여형)을 제공한다. 특정한 약제학적 조성물은 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 용매화물(예를 들면, 하이드레이트), 입체이성체, 클라트레이트 또는 프로드럭 및 제2 활성제 또는 활성 성분을 포함한다.

5.1 포말리도마이드

[0028] 포말리도마이드(Pomalyst[®]로도 공지됨)는 이전에는 CC-4047로 지칭된 것으로 화합물명은 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온이다. 포말리도마이드는, 예를 들면, LPS 유도된 단핵구 TNF α , IL-1 β , IL-12, IL-6, MIP-1, MCP-1, GM-CSF, G-CSF 및 COX-2 생성을 억제하고 다양한 질환을 치료하는 데 사용될 수 있는 화합물이다(참조: 미국 특허 제5,635,517호, 제6,316,471호, 제6,476,052호, 제7,393,863호, 제7,629,360호 및 제7,863,297호; 미국 공개특허공보 제2005/0143420호, 제2006/0166932호, 제2006/0188475호, 제2007/0048327호, 제2007/0066512호, 제2007/0155791호, 제2008/0051431호, 제2008/0317708호, 제2009/0087407호, 제2009/0088410호, 제2009/01317385호, 제2009/0148853호, 제2009/0232776호, 제2009/0232796호, 제2010/0098657호, 제2010/0099711호 및 제2011/0184025호; 이들 전체는 본원에 참조로 도입됨). 상기 화합물은 T 세포의 활성화를 공동 자극하는 것으로도 알려져 있다. 포말리도마이드는 직접적인 항골수종 종양파괴 활성, 면역조절 활성을 갖고 다발골수종 종양 세포 성장을 위한 간질세포 지원을 억제한다. 구체적으로, 포말리도마이드는 증식을 억제하고 조혈 종양 세포의 아폽토시스를 유도한다(상기 문현). 또한, 포말리도마이드는 레날리도마이드 저항성 다발골수종 세포주의 증식을 억제하고, 레날리도마이드 민감성 및 레날리도마이드 저항성 세포주 둘 다에서 텍사메타손과 협력하여 종양 세포 아폽토시스를 유도한다. 포말리도마이드는 T 세포- 및 자연살해(NK) 세포-매개된 면역을 개선시키고, 또한 단핵구에 의한 염증성 시토카인(예를 들면, TNF- α 및 IL-6)의 생성을 억제한다. 포말리도마이드는 또한 내피세포의 이동 및 유착을 차단함으로써 혈관신생을 억제한다. 포말리도마이드는 이러한 다양한 약리학적 특성으로 인해, 다양한 질환 또는 장애를 치료, 예방 및/또는 관리하는 데 유용하다.

[0029] 포말리도마이드 및 이 화합물의 합성 방법은, 예를 들면, 미국 특허 제5,635,517호, 제6,335,349호, 제6,316,471호, 제6,476,052호, 제7,041,680호, 제7,709,502호 및 제7,994,327호; 및 미국 공개특허공보 제2006/0178402호 및 제2011/0224440호에 기재되어 있으며, 이들 전체는 본원에 참조로 도입된다.

[0030] 가장 바람직한 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 다음 화학식을 갖는다:



[0031] 달리 지시된 것이 없는 한, 본원에 사용된 "포말리도마이드", "CC-4047", "4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-

일)-이소인돌린-1,3-디온" 또는 "POM"으로서 본원에 언급된 화합물은 유리 염기, 약제학적으로 허용되는 염, 용매화물, 하이드레이트, 다형체, 이소토포로그(isotopologue), 중수소화 유도체, 공결정, 프로드럭, 입체이성체, 라세미체, 이성질체 등을 지칭하는 데 사용될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0033] 달리 특정된 것이 없는 한, 용어 "고체형" 및 관련 용어들은, 본원에 포말리도마이드를 지칭하는 데 사용된 경우, 포말리도마이드를 포함한 대부분 액체 또는 기체 상태는 아닌 물리적 형태를 지칭한다. 본원에 사용된 용어 "고체형"은 반고체를 포함한다. 고체형은 결정질, 무정형, 부분 결정질, 부분 무정형 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 포말리도마이드를 포함하는 "단일 성분" 고체형은 필수적으로 포말리도마이드로 이루어진다. 포말리도마이드를 포함하는 "다중 성분" 고체형은 고체형 내에 상당량의 하나 이상의 추가 종, 예를 들면, 이온 및/또는 분자를 포함한다. 예를 들면, 특정 양태에서, 포말리도마이드를 포함하는 결정질 다중 성분 고체형은 결정 격자 내의 정위치에 비공유결합된 하나 이상의 종을 추가로 포함한다.

[0034] 달리 특정된 것이 없는 한, 본원에 사용된 용어 "결정질" 및 관련 용어는, 물질, 성분, 생성물 또는 형태를 기재하는 데 사용된 경우, 상기 물질, 성분, 생성물 또는 형태가, 예를 들면, X선 회절로 측정한 결과, 실질적으로 결정질임을 의미한다(참조: Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing, Easton PA, 173 (1990); The United States Pharmacopeia, 23rd ed., 1843-1844 (1995)).

[0035] 달리 특정된 것이 없는 한, 본원에 사용된 용어 "결정형" 및 관련 용어는, 단일 성분 결정형 및 다중 성분 결정형을 포함한 제공된 물질을 포함하는 결정질 변형을 지칭하는 데, 다형체, 용매화물, 하이드레이트, 공결정, 기타 분자 착체, 염, 염의 용매화물, 염의 하이드레이트, 염의 공결정, 및 염의 기타 분자 착체 및 이의 다형체를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 특정 양태에서, 어떤 물질의 결정형은 실질적으로 유리된 무정형 형태 및/또는 기타 결정형일 수 있다. 다른 양태에서, 어떤 물질의 결정형은 하나 이상의 무정형 형태 및/또는 기타 결정형을 중량 기준으로 약 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% 또는 50% 미만으로 함유할 수 있다. 어떤 물질의 결정형은 다수의 방법으로 수득할 수 있다. 이러한 방법에는 용융 재결정화, 용융 냉각, 용매 재결정화, 한정된 공간, 예를 들면, 나노공극 또는 모세관에서의 재결정화, 중합체와 같은 표면 또는 형판(template) 상에서의 재결정화, 공결정 카운터 분자와 같은 첨가제의 존재하에서의 재결정화, 탈용매화(desolvation), 탈수, 신속 증발, 신속 냉각, 자연 냉각, 증기 확산, 승화, 분쇄 및 용매 드롭 분쇄가 포함되나, 이에 제한되지 않는다.

[0036] 달리 특정된 것이 없는 한, 본원에 사용된 용어 "다형체", "다형태" 및 관련 용어는, 동일 분자 또는 이온으로 필수적으로 이루어진 두 개 이상의 결정형을 지칭한다. 상이한 다형체는 상이한 물리적 성질, 예를 들면, 용융온도, 용합 열, 용해도, 용해율 및/또는 결정 격자내 분자 또는 이온의 상이한 배열 또는 형태의 결과로서의 진동 스펙트럼을 가질 수 있다. 다형체에 의해 발현되는 물리적 성질의 차이는 저장안정성, 압축률 및 밀도(형성 및 생성물 제조에 중요) 및 용해율(생체유용성의 중요 인자)과 같은 약제학적 매개변수에 영향을 미칠 수 있다. 안정성의 차이는 화학적 반응성(예를 들면, 어떤 투여형이 어떤 다형체를 포함한 경우가 다른 다형체를 포함한 경우보다 신속히 변색되도록 하는 차등적 산화) 또는 역학적 변화(예를 들면, 운동학적으로 바람직한 다형체가 열역학적으로 보다 안정한 다형체로 전환되기 때문에 저장시 정제가 부스러진다) 또는 둘 다(예를 들면, 하나의 다형체의 정제는 고습도에서 더 잘 분해된다)에서의 변화에 기인할 수 있다. 극심한 경우, 용해도/용해 차이의 결과로 특정한 다형성 전환은 효능 결여, 또는 다른 극단의 경우 독성을 초래할 수 있다. 또한, 결정의 물리적 성질은 가공상 중요한데, 예를 들면, 어떤 다형체는 보다 쉽게 용매화물을 형성하거나, 불순물을 여과하고 이를 세척하여 제거하는 것이 어려울 수 있다(예를 들면, 입자 형태 및 크기 분포는 다형체들 간에 상이할 수 있다). 예시적 양태에서, 본원에는 2013년 2월 19일에 출원된 국제출원번호 제PCT/US2013/026662호 및 2013년 3월 26일에 출원된 미국 가특허원 제61/805,444호(이들 전체는 본원에 참조로 도입됨)에 기재된 포말리도마이드의 고체형이 제공된다.

[0037] 달리 특정된 것이 없는 한, 본원에 사용된 용어 "공결정"은 결정 격자내에 비공유 상호작용으로 함께 결합된 두 개 이상의 비휘발성 화합물을 포함하는 결정성 물질을 지칭한다.

[0038] 달리 특정된 것이 없는 한, 본원에 사용된 용어 활성 약제학적 성분(API)의 "약제학적 공결정" 또는 "공결정"은 API 및 하나 이상의 비휘발성 화합물(이형태체로서 지칭함)을 포함하는 결정질 물질을 지칭한다. API와 이형태체는 결정 격자내에서 비공유력을 통해 상호작용한다. 예시적 양태로, 2013년 3월 26일에 출원된 미국 가특허원 제61/805,444호(이의 전체는 본원에 참조로 도입됨)에 기재된 포말리도마이드의 공결정이 제공된다. 한 양태로, 포말리도마이드의 고체형(예를 들면, 공결정)이 제공된다.

[0039] 달리 특정된 것이 없는 한, 본원에 사용된 용어 "무정형", "무정형 형태" 및 관련 용어는, 언급된 물질, 성분,

생성물이 X선 회절로 측정한 결과, 실질적으로 결정질이 아님을 의미한다. 특정 양태에서, 어떤 물질의 무정형 형태는 실질적으로 결정형이 없을 수 있다. 다른 양태에서, 어떤 물질의 무정형 형태는 하나 이상의 결정형을 중량 기준으로 약 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% 또는 50% 미만으로 함유할 수 있다. 다른 양태에서, 어떤 물질의 무정형 형태는 추가의 구성요소 또는 성분(예를 들면, 무정형 형태를 추가로 안정화시킬 수 있는 첨가제, 중합체 또는 부형제)을 포함할 수 있다. 몇몇 양태에서, 무정형 형태는 고체 용액일 수 있다. 어떤 물질의 무정형 형태는 다수의 방법으로 수득할 수 있다. 이러한 방법에는 가열, 용융 냉각, 신속 용융 냉각, 용매 증발, 신속 용매 증발, 탈용매화, 승화, 분쇄, 볼 밀링, 냉동 분쇄(cryo-grinding), 분무 건조 및 냉동 건조가 포함되나, 이에 제한되지 않는다.

[0040] 본원 화합물은 또한 이 화합물을 구성하는 하나 이상의 원자에 원자 동위원소를 비정상적 비율로 함유할 수 있다. 예를 들면, 상기 화합물은, 예를 들면, 트리튬(³H), 요오드-125(¹²⁵I) 황-35(³⁵S) 또는 탄소-14(¹⁴C)와 같은 방사성 동위원소로 방사성표지될 수 있다. 방사성표지된 화합물은 치료제(예를 들면, 암치료제), 연구 시약(예를 들면, 결합 검정 시약) 및 진단제(예를 들면, 생체내 조영제)로서 유용하다. 본원 화합물의 모든 동위원소 변형물은 방사성이든 아니든 본원에 포함된다. 특정 양태에서, 본원 화합물은 수소(¹H), 중수소(²H), 트리튬(³H), 탄소-11(¹¹C), 탄소-12(¹²C), 탄소-13(¹³C), 탄소-14(¹⁴C), 질소-13(¹³N), 질소-14(¹⁴N), 질소-15(¹⁵N), 산소-14(¹⁴O), 산소-15(¹⁵O), 산소-16(¹⁶O), 산소-17(¹⁷O), 산소-18(¹⁸O), 불소-17(¹⁷F), 불소-18(¹⁸F), 인-31(³¹P), 인-32(³²P), 인-33(³³P), 황-32(³²S), 황-33(³³S), 황-34(³⁴S), 황-35(³⁵S), 황-36(³⁶S), 염소-35(³⁵Cl), 염소-36(³⁶Cl), 염소-37(³⁷Cl), 브롬-79(⁷⁹Br), 브롬-81(⁸¹Br), 요오드-123(¹²³I), 요오드-125(¹²⁵I), 요오드-127(¹²⁷I), 요오드-129(¹²⁹I) 및 요오드-131(¹³¹I)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는 하나 이상의 방사성 동위원소를 비정상적 비율로 함유한다. 특정 양태에서, 본원 화합물은 수소(¹H), 중수소(²H), 탄소-12(¹²C), 탄소-13(¹³C), 질소-14(¹⁴N), 질소-15(¹⁵N), 산소-16(¹⁶O), 산소-17(¹⁷O), 산소-18(¹⁸O), 불소-17(¹⁷F), 인-31(³¹P), 황-32(³²S), 황-33(³³S), 황-34(³⁴S), 황-36(³⁶S), 염소-35(³⁵Cl), 염소-37(³⁷Cl), 브롬-79(⁷⁹Br), 브롬-81(⁸¹Br) 및 요오드-127(¹²⁷I)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는, 안정한 형태, 즉 비방사성인 하나 이상의 동위원소를 비정상적 비율로 함유한다. 특정 양태에서, 본원 화합물은 트리튬(³H), 탄소-11(¹¹C), 탄소-14(¹⁴C), 질소-13(¹³N), 산소-14(¹⁴O), 산소-15(¹⁵O), 불소-18(¹⁸F), 인-32(³²P), 인-33(³³P), 황-35(³⁵S), 염소-36(³⁶Cl), 요오드-123(¹²³I), 요오드-125(¹²⁵I), 요오드-129(¹²⁹I) 및 요오드-131(¹³¹I)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는, 안정한 형태, 즉 비방사성인 하나 이상의 동위원소를 비정상적 비율로 함유한다. 특정 양태의 본원 화합물에서 임의의 수소는, 예를 들면, ²H일 수 있거나, 임의의 탄소는, 예를 들면, ¹³C일 수 있거나, 임의의 질소는, 예를 들면, ¹⁵N일 수 있거나, 임의의 산소는, 예를 들면, ¹⁸O일 수 있는데, 이는 숙련가의 판단에 따라 실현가능하다. 특정 양태에서, 본원 화합물은 중수소(D)를 비정상적 비율로 함유한다. 예시적 양태에서, 2011년 6월 22일에 출원된 미국 가특허원 제61/500,053호(이의 전체는 본원에 참조로 도입됨)에 기재된 포말리도마이드의 이소토포로그가 제공된다. 한 양태로, 포말리도마이드의 이소토포로그의 고체형(예를 들면, 결정형, 무정형 형태 또는 이의 혼합물)이 제공된다.

[0041] 달리 특정된 것이 없는 한, 본원에 사용된 용어 "약" 및 "대략"은, 조성물 또는 투여형의 성분의 용량, 양 또는 중량%에 사용될 경우, 특정한 용량, 양 또는 중량%로부터 수득되는 것과 동등한 약리학적 효과를 제공하는 것으로 당해 분야의 숙련가가 인식하는 용량, 양 또는 중량%를 의미한다. 특정 양태에서, 용어 "약" 및 "대략"은, 이와 같은 문맥으로 사용된 경우, 특정한 용량, 양 또는 중량%의 30% 이내, 20% 이내, 15% 이내, 10% 이내 또는 5% 이내의 용량, 양 또는 중량%로 간주된다.

[0042] 달리 특정된 것이 없는 한, 본원에 사용된 용어 "약제학적으로 허용되는 염"은 상기 용어가 언급되는 화합물의 비독성 산 및 염기 부가염을 포함한다. 허용가능한 비독성 산 부가염에는 당해 분야에 공지된 유기 및 무기 산 또는 염기로부터 유도된 염들이 포함되며, 이에는, 예를 들면, 염산, 브롬화수소산, 인산, 황산, 메탄설휠산, 아세트산, 타르타르산, 락트산, 석신산, 시트르산, 말산, 말레산, 소르브산, 아코니트산, 살리실산, 프탈산, 엠볼산, 에난트산 등이 포함된다.

[0043] 천연 산성인 화합물은 다양한 약제학적으로 허용되는 염기와 함께 염을 형성할 수 있다. 이러한 산성 화합물의

약제학적으로 허용되는 염기 부가염을 제조하는 데 사용할 수 있는 염기는 비독성 염기 부가염을 형성하는 염기, 즉 알칼리 금속염 또는 알칼리 토금속염, 특히 칼슘염, 마그네슘염, 나트륨염 또는 칼륨염과 같은, 그러나 이에 제한되지 않는 약제학적으로 허용되는 양이온을 함유하는 염이다. 적합한 유기 염기에는 N,N-디벤질에틸렌디아민, 클로로프로카인, 콜린, 디에탄올아민, 에틸렌디아민, 메글루민(N-메틸글루카민), 리신 및 프로카인 이 포함되나, 이에 제한되지 않는다.

[0044] 달리 제시된 것이 없는 한, 본원에 사용된 용어 "프로드럭"은 어떤 화합물의 유도체로서, 가수분해되거나, 산화되거나, 또는 생물학적 조건(시험관내 및 생체내) 하에서 반응하여 상기 화합물을 제공하는 것이다. 프로드럭의 예에는 생가수분해성 잔기(예를 들면, 생가수분해성 아미드, 생가수분해성 에스테르, 생가수분해성 카바메이트, 생가수분해성 카보네이트, 생가수분해성 우레이드 및 생가수분해성 포스페이트 동족체)를 포함하는 4-아미노-2-(2,6-디옥소-페페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 유도체가 포함되나, 이에 제한되지 않는다. 프로드럭의 다른 예에는 -NO, -NO₂, -ONO 또는 -ONO₂ 잔기를 포함하는 4-아미노-2-(2,6-디옥소-페페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 유도체가 포함되나, 이에 제한되지 않는다. 프로드럭은 통상 널리 공지된 방법, 예를 들면, 문헌[참조: Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery, 172-178, 949-982(Manfred E. Wolff ed., 5th ed. 1995); Design of Prodrugs(H. Bundgaard ed., Elsevier, New York 1985)]에 기재된 방법을 사용하여 제조할 수 있다.

[0045] 달리 제시된 것이 없는 한, 본원에 사용된 용어 "생가수분해성 아미드", "생가수분해성 에스테르", "생가수분해성 카바메이트", "생가수분해성 카보네이트", "생가수분해성 우레이드" 및 "생가수분해성 포스페이트"는, 1) 해당 화합물의 생물학적 활성은 방해하지 않고 해당 화합물에, 예를 들면, 흡수, 작용 기간 또는 작용 개시와 같은 유리한 생체내 특성을 부여하거나, 2) 생물학적으로 불활성이나 생체내에서 생물학적으로 활성인 화합물로 전환되는 화합물의 아미드, 에스테르, 카바메이트, 카보네이트, 우레이드 또는 포스페이트를 각각 의미한다. 생가수분해성 에스테르의 예에는 저급 알킬 에스테르, 저급 아실옥시알킬 에스테르(예: 아세톡시메틸, 아세톡시에틸, 아미노카보닐옥시메틸, 피발로일옥시메틸 및 피발로일옥시에틸에스테르), 락토닐 에스테르(예: 프탈리딜 및 티오프탈리딜 에스테르), 저급 알콕시아실옥시알킬 에스테르(예: 메톡시카보닐옥시메틸, 에톡시카보닐옥시에틸 및 이소프로록시카보닐옥시에틸 에스테르), 알콕시알킬 에스테르, 콜린 에스테르 및 아실아미노 알킬 에스테르(예: 아세트아미도메틸 에스테르)가 포함되나, 이에 제한되지 않는다. 생가수분해성 아미드의 예에는 저급 알킬 아미드, α-아미노산 아미드, 알콕시아실 아미드 및 알킬아미노알킬카보닐 아미드가 포함되나, 이에 제한되지 않는다. 생가수분해성 카바메이트의 예에는 저급 알킬아민, 치환된 에틸렌디아민, 아미노산, 하이드록시알킬아민, 헤테로사이클릭 및 헤테로방향족 아민, 및 폴리에테르 아민이 포함되나, 이에 제한되지 않는다.

[0046] 4-아미노-2-(2,6-디옥소-페페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 키랄 중심을 함유하여, R 이성질체와 S 이성질체의 라세믹 혼합물로서 존재할 수 있다. 본원은 상기 화합물의 입체이성체적으로 순수한 형태의 용도 및 이러한 형태의 혼합물의 용도도 제공한다. 예를 들면, 동등하거나 동등하지 않은 양의 이성질체를 포함하는 혼합물을 본원의 방법 및 조성물에 사용할 수 있다. 이러한 이성체는 비대칭적으로 합성할 수 있거나, 키랄 컬럼 또는 키랄 분할제와 같은 표준 기술을 사용하여 분할할 수 있다(참조: Jacques, J., et al, Enantiomers, Racemates and Resolutions (Wiley-Interscience, New York, 1981); Wilen, S. H., et al, Tetrahedron 33:2725 (1977); Eliel, E. L., Stereochemistry of Carbon Compounds (McGraw-Hill, NY, 1962); Wilen, S. H., Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions p. 268 (E. L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN, 1972)).

[0047] 달리 제시된 것이 없는 한, 본원에 사용된 용어 "입체이성체적으로 순수한"은 어떤 화합물의 한 입체이성체를 포함하고 상기 화합물의 다른 입체이성체는 실질적으로 포함하지 않는 화합물을 의미한다. 예를 들면, 하나의 키랄 중심을 갖는 화합물의 입체이성체적으로 순수한 화합물은 상기 화합물의 다른 쪽 이성질체를 실질적으로 포함하지 않을 것이다. 두 개의 키랄 중심을 갖는 화합물의 입체이성체적으로 순수한 화합물은 상기 화합물의 디아스테로머를 실질적으로 포함하지 않을 것이다. 통상의 입체이성체적으로 순수한 화합물은 해당 화합물의 하나의 입체이성체 약 80중량% 초과 및 해당 화합물의 다른 입체이성체 약 20중량% 미만, 보다 바람직하게는 해당 화합물의 하나의 입체이성체 약 90중량% 초과 및 해당 화합물의 다른 입체이성체 약 10중량% 미만, 더욱 더 바람직하게는 해당 화합물의 하나의 입체이성체 약 95중량% 초과 및 해당 화합물의 다른 입체이성체 약 5중량% 미만, 가장 바람직하게는 해당 화합물의 하나의 입체이성체 약 97중량% 초과 및 해당 화합물의 다른 입체이성체 약 3중량% 미만을 포함한다. 달리 제시된 것이 없는 한, 본원에 사용된 용어 "입체이성체적으로 풍부한"은 어떤 화합물의 하나의 입체이성체를 약 60중량% 초과, 바람직하게는 약 70중량% 초과, 보다 바람직하게는 약 80중량% 초과로 포함하는 조성물을 의미한다. 달리 제시된 것이 없는 한, 본원에 사용된 용어 "이성질체적으로

(enantiomerically) 순수한"은 하나의 키랄 중심을 갖는 화합물의 입체이성체적으로 순수한 조성물을 의미한다. 유사하게, 용어 "입체이성체적으로 풍부한"은 하나의 키랄 중심을 갖는 화합물의 입체이성체적으로 풍부한 조성을 의미한다. 다시 말하면, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 R 또는 S 이성질체의 본원 방법에서의 용도가 포함된다.

[0048] 본원에 묘사된 구조와 그 구조에 제공된 명칭이 일치하지 않는 경우, 묘사된 구조가 비중이 더 크다는 것을 주목해야 한다. 또한, 어떤 구조 또는 어떤 구조의 부분의 입체화학이 굵은 선이나 파선으로 표시되지 않는다면, 상기 구조 또는 상기 구조의 부분은 모든 입체이성체를 포함하는 것으로 해석되어야 한다.

[0049] 이 섹션에 언급된 어떠한 참조문헌도 본원에 대한 선행 기술이라는 입장으로 해석되지 않는다.

5.2 제2 활성제

[0050] 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 본원의 방법 및 조성물에서 다른 약리학적 활성화합물(제2 활성제 또는 활성 성분)과 함께 또는 조합되어 사용될 수 있다. 특정 조합이 특정 유형의 암의 치료에서 상승작용을 하는 것으로 여겨진다. 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 또한 특정 제2 활성제와 연관된 부작용을 경감시킬 수 있고, 몇몇 제2 활성제는 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온과 연관된 부작용을 경감시키는 데 사용될 수 있다. 하나 이상의 제2 활성제 또는 활성 성분은 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온과 함께 본원의 방법 및 조성물에 사용될 수 있다. 제2 활성제는 대분자(예를 들면, 단백질) 또는 소분자(예를 들면, 합성 무기, 유기금속 또는 유기 분자)일 수 있다.

[0052] 대분자 활성제의 예에는 조혈 성장인자, 시토카인, 및 단클론 및 다클론 항체가 포함되나, 이에 제한되지 않는다. 통상의 대분자 활성제는 자연 발생 단백질 또는 인공적으로 합성된 단백질과 같은 생물학적 분자이다. 특히 유용한 단백질에는 조혈 전구체 세포 및 면역학적으로 활성인 생성(poietic) 세포의 생체내 또는 시험관내 생존 및/또는 증식을 자극하는 단백질이 포함된다. 다른 단백질은 세포내의 열성적 적혈구 선조(progenitor)의 생체내 또는 시험관내 분할 및 분화를 자극한다. 특정 단백질에는 인터루킨, 예를 들면, IL-2(재조합 IL-II(rIL2) 및 카나리폭스(canarypox) IL-2 포함), IL-10, IL-12 및 IL-18; 인터페론, 예를 들면, 인터페론 알파-2a, 인터페론 알파-2b, 인터페론 알파-n1, 인터페론 알파-n3, 인터페론 베타-Ia 및 인터페론 감마-Ib; GM-CF 및 GM-CSF; 및 EPO가 포함되나, 이에 제한되지 않는다.

[0053] 본원 발명에 사용될 수 있는 특정 단백질에는 필그라스팀(filgrastim)(상표명 Neupogen®으로 미국내 시판중(Amgen, Thousand Oaks, CA)), 사르그라모스팀(sargramostim)(상표명 Leukine®으로 미국내 시판중(Immunex, Seattle, WA)) 및 재조합 EPO(상표명 Epogen®으로 미국내 시판중(Amgen, Thousand Oaks, CA))가 포함되나, 이에 제한되지 않는다.

[0054] GM-CSF의 재조합 및 돌연변이형은 미국 특허 제5,391,485호, 제5,393,870호 및 제5,229,496호(이들 전체는 본원에 참조로 도입됨)에 기재된 바와 같이 제조할 수 있다. G-CSF의 재조합 및 돌연변이형은 미국 특허 제4,810,643호, 제4,999,291호, 제5,528,823호 및 제5,580,755호(이들 전체는 본원에 참조로 도입됨)에 기재된 바와 같이 제조할 수 있다.

[0055] 본원은 천연, 자연 발생 및 재조합 단백질의 용도를 제공한다. 본원은 기본이 되는 단백질의 적어도 일부의 약리학적 활성을 생체 내에서 나타내는 자연 발생 단백질의 돌연변이체 및 유도체(예를 들면, 개질 형태)를 제공한다. 돌연변이체의 예에는 자연 발생 형태에서의 상응하는 잔기와는 상이한 하나 이상의 아미노산 잔기를 갖는 단백질이 포함되나, 이에 제한되지 않는다. 또한, 용어 "돌연변이체"는 자연 발생 형태(예를 들면, 비글리코실화 형태)에 통상 존재하는 탄수화물 잔기가 결핍된 단백질이다. 상기 유도체의 예에는 페길화(pegylated) 유도체 및 융합 단백질, 예를 들면, IgG1 또는 IgG3을 관심 대상인 단백질 또는 그 단백질의 활성 부분에 융합시켜 생성된 단백질이 포함되나, 이에 제한되지 않는다(참조: Penichet, M.L. and Morrison, S.L., J. Immunol. Methods 248:91-101 (2001)).

[0056] 본원 화합물과 조합하여 사용할 수 있는 항체에는 단클론 및 다클론 항체가 포함된다. 항체의 예에는 트라스투주맙(Herceptin®), 리툭시맙(Rituxan®), 베바시주맙(Avastin™), 퍼투주맙(Omnitarg™), 토시투모맙(Bexxar®), 에드레콜로맙(Panorex®) 및 G250이 포함되나, 이에 제한되지 않는다. 본원 화합물은 또한 항-TNF-α 항체와 배합될 수 있거나 조합되어 사용될 수 있다.

[0057] 대부분 활성제는 항암 백신 형태로 투여될 수 있다. 예를 들면, IL-2, G-CSF 및 GM-CSF와 같은 시토카인을 분비하거나 이의 분비를 야기하는 백신이 본원 방법, 약제학적 조성물 및 키트에 사용될 수 있다(참조: Emens, L.A., et al., Curr. Opinion Mol. Ther. 3(1):77-84 (2001)).

[0058] 본원의 한 양태에서, 대부분 활성제는 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 투여와 연관된 부작용을 경감, 제거 또는 예방한다. 치료될 질환 또는 장애에 따라, 부작용에는 졸음 및 기면, 어지럼 및 기립저혈압, 호중구감소증, 호중구감소증으로 인한 감염, 증가된 HIV 바이러스양, 서맥, 스티븐-존슨 증후군 (Steven-Johnson Syndrome) 및 독성 상피 괴사용해, 및 발작(예를 들면, 대발작)이 포함되나, 이에 제한되지 않는다. 특정 부작용은 호중구감소증이다.

[0059] 소분자 제2 활성제가 또한 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 투여와 연관된 부작용을 경감시키는 데 사용될 수 있다. 그러나, 몇몇 대부분과 마찬가지로, 다수의 소분자를 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온과 함께 투여(예를 들면, 투여 전, 투여 후 또는 동시 투여)한 경우, 상승작용 효과를 제공할 수 있을 것으로 여겨진다. 소분자 제2 활성제의 예에는 항암제, 항체, 면역억제제 및 스테로이드가 포함되나, 이에 제한되지 않는다.

[0060] 항암제의 예에는 다음이 포함되나, 이에 제한되지 않는다: 아시비신, 아클라루비신, 아코다졸 하이드로클로라이드, 아크로닌, 아도젤레신, 알데스루킨, 알트레타민, 암보마이신, 아메탄트론 아세테이트, 암사크린, 아나스트로졸, 안트라마이신, 아스파라기나제, 아스퍼린, 아자시티딘, 아제테파, 아조토마이신, 바티마스타트, 벤조테파, 비카루타마이드, 비산트렌 하이드로클로라이드, 비스나피드 디메실레이트, 비제레신, 블레오마이신 설레이트, 보테조닙(Velcade®), 브레퀴나르 나트륨, 브로피리민, 부설판, 칙티노마이신, 칼루스테론, 카라세마이드, 카르베티머, 카보플라틴, 카무스틴, 카루비신 하이드로클로라이드, 카제레신, 세데핀글, 세레콕시브(COX-2 억제제), 클로람부실, 시로레마이신, 시스플라틴, 클라드리빈, 크리스나톨 메실레이트, 사이클로포스파미드, 시타라빈, 다카바진, 닉티노마이신, 다우노루비신 하이드로클로라이드, 데시타빈, 텍소맙라틴, 데자구아닌, 데자구아닌 메실레이트, 디아지쿠온, 도세탁셀, 독소루비신 하이드로클로라이드, 드로록시펜, 드로록시펜 시트레이트, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 두아조마이신, 에다트렉세이트, 에플로니틴 하이드로클로라이드, 엘사미트루신, 엔로플라틴, 엔프로메이트, 에피프로피딘, 에피루비신 하이드로클로라이드, 에르불로졸, 에소루비신 하이드로클로라이드, 에스트라무스틴, 에스트라무스틴 포스페이트 나트륨, 에타니다졸, 에토포시드, 에토포시드 포스페이트, 에토프린, 파드로졸 하이드로클로라이드, 파자라빈, 펜레티니드, 플록스우리딘, 플루다라빈 포스페이트, 플루오로우라실, 플루로시타빈, 포스퀴돈, 포스트리신 나트륨, 켐시타빈, 켐시타빈 하이드로클로라이드, 하이드록시우레아, 이다루비신 하이드로클로라이드, 이포스파미드, 일모포신, 이프로플라틴, 이리노테칸, 이리노테칸 하이드로클로라이드, 란레오티드 아세테이트, 레트로졸, 루프로라이드 아세테이트, 리아로졸 하이드로클로라이드, 로메트렉솔 나트륨, 로무스틴, 로속산트론 하이드로클로라이드, 마소프로콜, 마이탄신, 메클로레타민 하이드로클로라이드, 메게스트롤 아세테이트, 멜렌게스트롤 아세테이트, 멜팔란, 메노가릴, 머캅토퓨린, 메토트렉세이트, 메토트렉세이트 나트륨, 메토프린, 메투레데파, 미틴도마이드, 미토카신, 미토크로민, 미토길린, 미토말신, 미토마이신, 미토스파, 미토탄, 미톡산트론 하이드로클로라이드, 마이코페놀산, 노코다졸, 노갈라마이신, 오마플라틴, 옥시수란, 파클리탁셀, 폐가스파가세, 펠리오마이신, 펜타무스틴, 폐플로마이신 설레이트, 폐포스파미드, 폐포브로만, 폐포설판, 폐록산트론 하이드로클로라이드, 폴리카마이신, 폴로메스탄, 폰피며 나트륨, 폰피로마이신, 프레드니무스틴, 프로카바진 하이드로클로라이드, 푸로마이신, 푸로마이신 하이드로클로라이드, 페라조푸린, 리보프린, 사핀글, 사핀글 하이드로클로라이드, 세무스틴, 심트라젠, 스파포세이트 나트륨, 스파조마이신, 스파로게르마늄 하이드로클로라이드, 스파로무스틴, 스파로플라틴, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 술로페누르, 탈리조마이신, 테코갈란 나트륨, 탁소테레, 테가푸르, 텔록산트론 하이드로클로라이드, 테모포르핀, 테니포시드, 테록시론, 테스토락톤, 티아미프린, 티오구아닌, 티오텐파, 티아조푸린, 티라파자민, 토레미펜 시트레이트, 트레스톨론 아세테이트, 트리시리빈 포스페이트, 트리메트렉세이트, 트리메트렉세이트 글루쿠로네이트, 트립토렐린, 투블로졸 하이드로클로라이드, 우라실 머스타드, 우레데파, 바프레오티드, 베르테포르핀, 빈블라스틴 설레이트, 빈크리스틴 설레이트, 빈데신, 빈데신 설레이트, 비네피딘 설레이트, 빙글리시네이트 설레이트, 빙루로신 설레이트, 비노렐빈 타르트레이트, 빙로시딘 설레이트, 빙줄리딘 설레이트, 보로졸, 제니플라틴, 지노스타틴 및 조루비신 하이드로클로라이드.

[0061] 다른 항암제에는 다음이 포함되나, 이에 제한되지 않는다: 20-epi-1,25 디하이드록시비타민 D3, 5-에티닐우라실, 아비라테론, 아클라루비신, 아실풀벤, 아데시페놀, 아도젤레신, 알데스루킨, ALL-TK 길항제, 알트레타민, 암바무스틴, 아미독스, 아미포스틴, 아미노레불린산, 암루비신, 암사크린, 아나그렐리드, 아나스트로졸, 안드로그라풀라이드, 혈관신생 억제제, 길항제 D, 길항제 G, 안타렐릭스, 항-등쪽결정 형태형성 단백질-

1; 안티안드로겐, 전립선암; 안티에스트로겐, 안티네오플라스톤, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 아피디콜린 글리시네이트, 아폽토시스 유전자 조절제, 아폽토시스 조절제, 아푸린산, ara-CDP-DL-PTBA, 아르기닌 데아미나제, 아수라크린, 아타메스탄, 아트리무스틴, 악시나스타틴 1, 악시나스타틴 2, 악시나스타틴 3, 아자세트론, 아자톡신, 아자티로신, 박카틴 III 유도체, 밸라놀, 바티마스타트, BCR/ABL 길항제, 벤조클로린, 벤조일스타우로스포린, 베타 락탐 유도체, 베타 알레틴, 베타클라마이신 B, 베톨린산, bFGF 억제제, 비카루타마이드, 비산트렌, 비스아지리디닐스페민, 비스나피드, 비스트라텐 A, 비젤레신, 브래플레이트, 브로파리민, 부도티탄, 부티오닌 설록시민, 칼시포트리올, 칼포스틴 C, 캄프토테신 유도체, 카페시타빈, 카복사미드-아미노-트리아졸, 카복시아미도트리아졸, CaRest M3, CARN 700, 연골 유도된 억제제, 카제레신, 카제인 키나제 억제제(ICOS), 카스타노스페민, 세크로핀 B, 세트로렐릭스, 클로론, 클로로퀴녹살린 설폰아미드, 시카프로스트, 시스-포르파린, 클라드리빈, 클로미펜 동족체, 클로트리마졸, 콜리스마이신 A, 콜리스마이신 B, 콤브레타스타틴 A4, 콤브레타스타틴 동족체, 코나제닌, 크람베시딘 816, 크리스나톨, 크립토피신 8, 크립토피신 A 유도체, 쿠라신 A, 사이클로펜트안트라퀴논, 사이클로플라탐, 시페마이신, 시타라빈 옥포스페이트, 세포용해 인자, 시토스타틴, 다클릭시맙, 데시타빈, 데하이드로디펩닌 B, 데스로레린, 텍사메타손, 텍시포스파미드, 텍스라족산, 텍스베라파밀, 디아지쿠온, 디펩닌 B, 디독스, 디에틸노르스페민, 디하이드로-5-아자시티딘; 디하이드로탁솔, 9-; 디옥사마이신, 디페닐 스퍼로무스틴, 도세탁셀, 도코사놀, 돌라스테론, 독시플루리딘, 독소루비신, 드롤록시펜, 드로나비놀, 두오카마이신 SA, 엡셀렌, 에코무스틴, 에델포신, 에드레콜로맙, 에플로르니틴, 엘레멘, 에미테푸르, 에피루비신, 에프리스테라이드, 에스트라무스틴 동족체, 에스트로겐 효능제, 에스트로겐 길항제, 에타니다졸, 에토포시드 포스페이트, 엑세메스탄, 파드로졸, 파자라빈, 펜레티니드, 필그라스팀, 피나스테라이드, 플라보피리돌, 프레제라스틴, 플루아스테론, 플루다라빈, 플루오로다우노루니신 하이드로클로라이드, 포페니멕스, 포메스탄, 포스트리에신, 포테무스틴, 가돌리늄 텍사피린, 갈륨 니트레이트, 갈록시타빈, 가니렐릭스, 젤라티나제 억제제, 겹시타빈, 글루타티온 억제제, 헵실팜, 혜레굴린, 혼카메틸렌 비스아세트아미드, 하이페리신, 이반드론산, 이다루비신, 이독시펜, 이드라만톤, 일모포신, 일로마스타트, 이마티닙(예를 들면, Gleevec®), 이미퀴모드, 면역자극제 펩타이드, 인슐린 유사 성장인자-1 수용체 억제제, 인터페론 효능제, 인터페론, 인터루킨, 이오벤구안, 이오도독소루비신; 이포메아놀, 4-; 이로플락트, 이르소글라딘, 이소벤가졸, 이소호모할리콘드린 B, 이타세트론, 자스플라키놀라이드, 카할라리드 F, 라멜라린-N 트리아세테이트, 란레오타이드, 레이나마이신, 레노그라스팀, 렌티난 설페이트, 렙틀스타틴, 레트로졸, 백혈병 억제 인자, 백혈구 알파 인터페론, 루프롤라이드+에스트로겐+프로게스테론, 루프로렐린, 레바미솔, 리아로졸, 선행 폴리아민 동족체, 친지성 디사카라이드 펩타이드, 친지성 백금 화합물, 리소클리나미드 7, 로바플라틴, 롬브리신, 로메트렉솔, 로니다민, 로속산트론, 록소리빈, 루르토테칸, 루테튬 텍사피린, 리소필린, 용해 펩타이드, 마이탄신, 만노스타틴 A, 마리마스타트, 마소프로콜, 마스핀, 마트릴신 억제제, 매트릭스 메탈로프로테이나제 억제제, 메노가릴, 머바론, 메테렐린, 메티오니나제, 메토클로프라미드, MIF 억제제, 미페프리스톤, 밀테포신, 미리모스팀, 미토구아존, 미토락톨, 미토마이신 동족체, 미토나피드, 미토톡신 섬유아세포 성장인자-사포린, 미톡산트론, 모파로텐, 몰그라모스팀, 어비툭스, 사람 용모성 고나도트로핀, 모노포스포릴 리피드 A+마이오박테리아 세포벽 sk, 모피다몰, 머스타드 항암제, 마이카페록사이드 B, 마이코박테리아 세포벽 추출물, 미리아포론, N-아세틸디날린, N-치환된 벤즈아미드, 나파렐린, 나그레스틴, 날록손+펜타조신, 나파빈, 나프터핀, 나토그라스팀, 네다플라틴, 네모루비신, 네리드론산, 널루타미드, 니사마이신, 산화질소 조절제, 니트록사이드 항산화제, 니트룰린, 오블리머센(Genasense®), 0⁶-벤질구아닌, 옥트레오티드, 오키세논, 올리고뉴클레오티드, 오나프리스톤, 온단세트론, 오라신, 경구 시토카인 유도제, 오마플라틴, 오사테론, 옥살리플라틴, 옥사우노마이신, 파클리탁셀, 파클리탁셀 동족체, 파클리탁셀 유도체, 팔라우아민, 팔미토일리족신, 팔미드론산, 파나시트리올, 파노미펜, 파라박틴, 파겔립틴, 페가스파가제, 펠데신, 펜토산 폴리설페이트 나트륨, 펜토스타틴, 펜트로졸, 페플루브론, 페포스파미드, 페릴릴 알콜, 페아지노마이신, 페닐아세테이트, 포스파타제 억제제, 페시바닐, 필로카핀 하이드로클로라이드, 페라루비신, 페리트렉심, 플라세틴 A, 플라세틴 B, 플라스미노겐 활성자 억제제, 백금 착체, 백금 화합물, 백금-트리아민 착체, 포피며 나트륨, 포피브로마이신, 프레드니손, 프로필 비스-아크리돈, 프로스타글란дин J2, 프로테아좀 억제제, 단백질 A 기초 면역조절제, 단백질 키나제 C 억제제, 마이크로알갈, 단백질 티로신 포스파타제 억제제, 퓨린 뉴클레오시드 포스포릴라제 억제제, 퍼퓨린, 페라졸로아크리딘, 페리독실화 헤모글로빈 폴리옥시에틸렌 컨쥬게이트, raf 길항제, 랄티트렉세드, 라모세트론, ras 파르네실 단백질 트랜스퍼라제 억제제, ras 억제제, ras-GAP 억제제, 데메틸화 레텔리프틴, 레늄 Re 186 에티드로네이트, 리족신, 리보자임, RII 레티나미드, 로히투킨, 로머티드, 로퀴니멕스, 루비기논 B1, 루복실, 사핀글, 사인토핀, SarCNU, 사코피톨 A, 사그라모스팀, Sdi 1 미매틱, 세무스틴, 노화 유도된 억제제 1, 센스 올리고뉴클레오티드, 시그널 변환 억제제, 시조피란, 소부족산, 나트륨 보로캅테이트, 나트륨 페닐아세테이트, 솔베롤, 소마토메딘 결합 단백질, 소녀

민, 스파포스산, 스피카마이신 D, 스피로무스틴, 스플레노웬틴, 스폰기스타틴 1, 스쿠알라민, 스티피아미드, 스트로멜리신 억제제, 설피노신, 과활성의 혈관에 작용하는 장 웨타이드 길항제, 수라디스타, 수라민, 스와인소닌, 탈리무스틴, 타목시펜 메티오다이드, 타우로무스틴, 타자로텐, 테코갈란 나트륨, 테가푸르, 텔루라피릴륨, 텔로메라제 억제제, 테모포핀, 테니포시드, 데트라클로로데카옥사이드, 테트라조민, 탈리블라스틴, 티오코랄린, 트롬보포이에틴, 트롬보포이에틴 미메틱, 티말파신, 티모포이에틴 수용체 효능제, 티모트리난, 티로이드 자극 호르몬, 주석 에틸 에티오퍼푸린, 티라파자민, 티타노센 비클로라이드, 톱센틴, 토레미펜, 변형 억제제, 트레티노인, 트리아세틸우리딘, 트리시리빈, 트리메트렉세이트, 트립토렐린, 트로피세트론, 투로스테라이드, 티로신 키나제 억제제, 티르포스틴, UBC 억제제, 우베니멕스, 요생식동 유도된 성장 억제인자, 우로키나제 수용체 길항제, 바프레오타이드, 바리올린 B, 벨라레졸, 베라민, 베딘스, 베테포핀, 비노렐빈, 빙살틴, 비탁신, 보로졸, 자노테론, 제니플라틴, 질라스롭 및 지노스타틴 스티말라마.

[0062] 특정한 제2 활성제에는 다음이 포함되나, 이에 제한되지 않는다: 리툭시맙, 보테조맙, 오블리머센((Genasense®)), 레미카드, 도세탁센, 셀레콕시브, 멜팔란, 텍사메타손(Decadron®), 스테로이드, 겹시타빈, 시스플라티늄, 테모졸로마이드, 에토포시드, 사이클로포스파미드, 테모다르, 카보플라틴, 프로카바진, 글리아델, 타목시펜, 토포테칸, 메토트렉세이트, Arisa®, 탁솔, 탁소테레, 플루오로우라실, 루코보린, 아리노테칸, 젤로다, CPT-11, 인터페론 알파, 페길화 인터페론 알파(예를 들면, PEG INTRON-A), 카페시타빈, 시스플라틴, 티오테파, 플루다라빈, 카보플라틴, 리포좀의 다우노루비신, 시타라빈, 독세탁솔, 파실리탁센, 빙블라스틴, IL-2, GM-CSF, 다카바진, 비노렐빈, 콜레드론산, 팔미트로네이트, 비악신, 부설판, 프레드니손, 비스포스포네이트, 삼산화비소, 빙크리스틴, 독소루비신((Doxil®)), 파클리탁센, 간시클로비르, 아드리아마이신, 에스트라무스틴 나트륨 포스페이트(Emcyt ®), 설린닥 및 에토포시드.

5.3 치료 및 예방 방법

[0063] [0064] 본원 방법은 다양한 유형의 암을 치료, 예방 또는 관리하는 방법을 포함한다. 바람직한 양태에서, 본원 방법은 원발성 중추신경계 림프종(PCNSL), 원발성 유리체망막 림프종(PVRL), 안구내 림프종, 중추신경계 유아구성 외투막세포 림프종, 중추신경계 종양, 중추신경계 고형 종양, 중추신경계 암 상태, 신경모세포종, 외투막세포 림프종(MCL), 중간 분화 림프구 림프종, 중간 림프구 림프종(ILL), 광범위 저분화 림프구 림프종(PDL), 중심세포 림프종, 광범위 소분할 세포 림프종(DSCCL), 소포 림프종, 외투층 림프종 및 현미경으로 볼 수 있는 임의 유형의 외투막세포 림프종(결절, 광범위, 분아형 및 외투층 림프종)을 포함하나, 이에 제한되지 않는 다양한 유형의 암을 치료, 예방 또는 관리하는 방법을 포함한다.

[0065] 특정 양태에서, 상기 암은 신경상피 종양(예를 들면, 뇌실막 종양), 뇌막 종양, 신경다발막 종양, 아교모세포종 및 별아교세포종(예를 들면, 텔모양별아교세포종)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 뇌실막 종양 및 기타 신경상피 종양은 아동(0 내지 19세)에서 흔하다.

[0066] 특정 양태에서, 상기 암은 뇌막 종양, 신경상피 종양(예를 들면, 뇌실막 종양), 신경다발막 종양, 아교모세포종, 별아교세포종(예를 들면, 텔모양별아교세포종), 림프종, 혈관종 및 신생물 종양으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 뇌막 종양은 성인(20세 이상)에서 흔하다.

[0067] 특정 양태에서, 상기 암은 뇌막, 뇌하수체, 솔방울샘, 비강, 전두엽, 측두엽, 두정엽, 후두엽, 대뇌, 뇌실, 소뇌, 뇌간, 척수, 말총, 뇌신경, 뇌의 기타 부위 또는 신경계의 기타 부위에 존재한다.

[0068] 특정 양태에서, 상기 암은 수막종, 아교모세포종, 뇌하수체 종양, 신경다발막 종양(예를 들면, 청신경종), 신경상피 종양(예를 들면, 뇌실막 종양), 머리인두종, 림프종, 생식세포종, 별아교세포종, 희소돌기아교세포종 및 배아성종양으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0069] 특정 양태에서, 상기 암은 신경아교종이다. 몇몇 양태에서, 신경아교종은 전두엽, 측두엽, 두정엽, 후두엽, 대뇌, 뇌실, 소뇌, 뇌간, 척수, 말총, 뇌신경, 뇌의 기타 부위 및 신경계의 기타 부위에 존재한다. 몇몇 양태에서, 신경아교종은 아교모세포종, 별아교세포종(예를 들면, 역형성별아교세포종, 광범위 별아교세포종, 텔모양별아교세포종), 희돌기교별세포종, 희소돌기아교세포종, 뇌실막 종양 및 신경아교종 악성 NOS로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0070] 한 양태에서, 상기 암은 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온 이외의 화학요법에 난치성이거나 재발되거나 내성이다.

[0071] 달리 특정되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "치료"는 특정 암의 증상 개시후 화합물 또는 기타 추가의 활성제를 투여하는 것을 지칭한다. 달리 특정되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "예방"은 증상 개시 전에 특히 암의 위험성이 있는 환자에게 투여하는 것을 지칭한다. 용어 "예방"은 특정 암의 증상의 억제를 포함한다. 특히 암 가족력이 있는 환자가 예방 요법의 후보로서 바람직하다. 달리 제시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "관리"는 특정 암으로 고통받았던 환자에 있어서 특정 암의 재발을 방지하고, 특정 암으로 고통받았던 환자의 병의 차도가 있는 상태의 시간을 연장하고/거나 상기 환자의 사망률을 감소시키는 것을 포함한다.

[0072] 본원에 사용된 용어 "암"은 고형 종양 및 혈액 매개 종양을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 용어 "암"은 방광, 뼈 또는 혈액, 뇌, 중추신경계, 유방, 자궁 경관, 흉부, 결장, 자궁 내막, 식도, 눈, 두부, 신장, 간, 림프절, 폐, 입, 경부, 난소, 췌장, 전립선, 직장, 위, 고환, 인후 및 자궁의 암을 포함하나, 이에 제한되지 않는 피부 조직, 기관, 혈액 및 혈관의 질환을 지칭한다. 특정 암에는 진행 암, 아밀로이드증, 신경모세포종, 수막종, 혈관주위세포종, 다발 뇌전이, 아교모세포종 다형태, 아교모세포종, 뇌간신경아교종, 불량 예후 악성 뇌종양, 악성 신경아교종, 재발 신경아교종, 역형성별아교세포종, 역형성회소돌기아교세포종, 신경내분비종, 직장 샘암종, Dukes C & D 결장직장암, 절제불가능한 결장직장암종, 전이성 간세포암종, 카포시 육종, 핵형 급성 골수모세포성 백혈병, 호지킨 림프종, 비호지킨 림프종, 피부 T 세포 림프종, 피부 B 세포 림프종, 광범위 큰 B 세포 림프종, 저등급 소포 림프종, 외투막세포 림프종(MCL), 중간 분화 림프구 림프종, 중간 림프구 림프종(ILL), 광범위 저분화 림프구 림프종(PDL), 중심세포 림프종, 광범위 소분할 세포 림프종(DSCL), 소포 림프종, 현미경으로 볼 수 있는 임의 유형의 외투막세포 림프종(결절, 광범위, 분아형 및 외투층 림프종), 악성 흑색종, 악성 중피종, 악성 흉막삼출 중피종 중후군, 복막 암종, 유두장액암종, 부인과 육종, 연조직 육종, 피부경화증, 피부혈관염, 랑게르한스세포조직구증, 평활근육종, 진행성 골화성 섬유성 골이형성증, 호르몬 난치성 전립선암, 절제된 고위험 연조직 육종, 절제불가능한 간세포암종, 월렌스트룀 마크로글로불린혈증, 무증상 골수종, 무통성 골수종, 난관암, 안드로겐 비의존성 전립선암, 안드로겐 의존성 단계 IV 비전이성 전립선암, 호르몬 무감각 전립선암, 화학요법 무감각 전립선암, 유두갑상샘암종, 소포갑상샘암종, 속질갑상샘암종 및 평활근종을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 특정 양태에서, 상기 암은 전이성이다. 다른 양태에서, 상기 암은 화학요법 또는 방사선에 난치성이거나 내성이다.

[0073] 용어 "림프종"은 망상내괴계 및 림프계에 생긴 이질 그룹의 신생물을 지칭한다. 비호지킨 림프종(NHL)은 림프절, 골수, 비장, 간 및 위장관을 포함한 면역계 영역에서의 림프계 세포의 악성 단클론 증식을 지칭한다. NHL은 외투막세포 림프종(MCL), 중간 분화 림프구 림프종, 중간 림프구 림프종(ILL), 광범위 저분화 림프구 림프종(PDL), 중심세포 림프종, 광범위 소분할 세포 림프종(DSCL), 소포 림프종, 및 현미경으로 볼 수 있는 임의 유형의 외투막세포 림프종(결절, 광범위, 분아형 및 외투층 림프종)을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 용어 림프종은 또한 중추신경계와 연관된 유형을 포함한다.

[0074] 용어 "재발"은 치료 후 암에 차도가 있는 환자가 암 상태로 되돌아가는 상황을 지칭한다. 용어 "난치성 또는 내성"은 집중 치료 후에도 환자가 여전히 암 상태에 있는 상황을 지칭한다.

[0075] 본원은 사전에 암이 치료되었으나 표준 요법에는 비반응성인 환자 및 사전에 암이 치료되지 않은 환자를 치료하는 방법을 제공한다. 또한, 본원은 몇몇 암은 특정 연령 그룹에서 더 흔하기 하지만 환자의 연령과 관계없이 환자를 치료하는 방법을 제공한다. 또한, 본원은 쟁점이 된 암을 치료하기 위한 시도로 수술을 받은 환자 및 그렇지 않은 환자를 치료하는 방법을 제공한다. 암 환자는 이종의 임상적 징후를 갖고 변하는 임상적 결과를 갖기 때문에, 환자의 치료는 그/그녀의 예후에 따라 변할 수 있다. 숙련된 임상의는 과도한 실험 없이 각각의 암환자를 치료하는 데 효과적으로 사용할 수 있는 특정 2차 제제, 수술 유형 및 비-약물 기초한 표준 요법 유형을 쉽게 결정할 것이다.

[0076] 본원은 4-아미노-2-(2,6-디옥소-페페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 용매화물(예를 들면, 하이드레이트), 입체이성체, 클라트레이트 또는 프로드력을 암으로 고통받거나 고통받을 가능성이 있는 환자(예를 들면, 사람)에게 투여함을 포함하는 방법을 제공한다.

[0077] 한 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-페페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 약 0.10 내지 약 150mg/일의 양의 단일 용량으로 또는 일일 용량을 나누어 경구투여할 수 있다. 바람직한 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-페페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 약 0.10 내지 약 150mg/일, 약 0.5 내지 약 50mg/일 또는 약 1 내지 약 10mg/일의 양으로 투여할 수 있다. 일일당 특정 용량은 0.1, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 또는 50mg/일을 포함한다.

[0078]

바람직한 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 약 0.1 내지 50mg/일 또는 약 0.5 내지 약 25mg/일의 양으로, 원발성 중추신경계 림프종(PCNSL), 원발성 유리체망막 림프종(PVRL), 안구내 림프종, 중추신경계 유아구성 외투막세포 림프종, 중추신경계 종양, 중추신경계 고형 종양, 중추신경계 암 상태, 외투막세포 림프종(MCL), 중간 분화 림프구 림프종, 중간 림프구 림프종(ILL), 광범위 저분화 림프구 림프종(PDL), 중심세포 림프종, 광범위 소분할 세포 림프종(DSCCL), 소포 림프종, 외투층 림프종 및 혼미경으로 볼 수 있는 임의 유형의 외투막세포 림프종(결절, 광범위, 분아형 및 외투층 림프종)을 포함하나 이에 제한되지 않는 다양한 유형의 암 환자에게 투여할 수 있다.

[0079]

특히, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 약 0.1 내지 50mg/일 또는 약 0.5 내지 약 25mg/일의 양으로 외투막세포 림프종 환자에게 투여할 수 있다. 특정 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 약 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25 또는 50mg/일의 양으로 암 환자에게 투여할 수 있다. 특정 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 약 4mg/일의 양으로 암 환자에게 투여할 수 있다.

[0080]

한 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 추천 개시 용량은 0.5mg/일이다. 상기 용량은 매주 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5 및 10mg/일로 증가될 수 있다. 초기에 4mg이 투여되고 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온 요법이 개시된 후 처음 4주 내 또는 4주 후에 혈소판감소증 또는 중성구감소증이 진행된 환자의 경우 혈소판 수 또는 ANC(절대 호중구 개수; absolute neutrophil count)에 따라 용량을 조정할 수 있다.

[0081]

5.3.1 제2 활성제와의 조합 요법

[0082]

특정 방법은 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 용매화물(예를 들면, 하이드레이트), 입체이성체, 클라트레이트 또는 프로드럭을 하나 이상의 제2 활성제와 조합하여하거나 방사선 요법, 수혈 또는 수술과 조합하여 투여함을 포함한다. 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 예는 본원(예를 들면, 섹션 5.1 참조)에 기재되어 있다. 제2 활성제의 예도 또한 본원(예를 들면, 섹션 5.2 참조)에 기재되어 있다.

[0083]

4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온과 제2 활성제는 동일하거나 상이한 투여 경로를 통해 동시에 또는 순차적으로 환자에게 투여할 수 있다. 특정 활성제에 사용되는 특정 투여 경로의 적합성은 활성제 자체(예를 들면, 활성제가 혈류로 들어가기 전에 분해되지 않고 경구 투여될 수 있는지의 여부) 및 치료할 질환에 좌우될 것이다. 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 바람직한 투여 경로는 경구이다. 본원의 제2 활성제 또는 활성 성분의 바람직한 투여 경로는 당해 분야의 숙련가에게 공지되어 있다(참조: Physicians' Desk Reference, (2006)).

[0084]

한 양태에서, 제2 활성제는 약 1 내지 약 1,000mg, 약 5 내지 약 500mg, 약 10 내지 약 375mg 또는 약 50 내지 약 200mg의 양을 한 번에 또는 일일 2회로 정맥내 또는 피하로 투여한다. 제2 활성제의 구체적인 양은 사용된 특정 제제, 치료되거나 관리된 질환 유형, 질환의 중증도 및 단계, 및 환자에게 동시 투여될 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온과 임의 선택적인 추가 활성제의 양에 좌우될 것이다. 특정 양태에서, 제2 활성제는 리툭시맙, 보테조맙, 오블리머센(Genasense®), GM-CSF, G-CSF, EPO, 탁소테레, 이리노테칸, 다카바진, 트란스레티노산, 토포테칸, 웜톡시필린, 시프로플록사신, 텍사메타손, 빈크리스틴, 독소루비신, COX-2 억제제, IL2, IL8, IL18, IFN, Ara-C, 비노렐빈 또는 이의 배합물이다.

[0085]

특정 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온을 리툭시맙과 조합하여 암 환자에게 투여한다. 특정 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 약 0.1 내지 약 25mg/일의 양으로 375mg/m²의 리툭시맙과 조합하여 정맥내 투입으로 매주 암 환자에게 투여한다.

[0086]

바람직한 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온을 단독으로 또는 리툭시맙과 조합하여 원발성 중추신경계 림프종(PCNSL), 원발성 유리체망막 림프종(PVRL), 안구내 림프종, 중추신경계 유아구성 외투막세포 림프종, 중추신경계 종양, 중추신경계 고형 종양, 중추신경계 암 상태, 외투막세포 림프종(MCL), 중간 분화 림프구 림프종, 중간 림프구 림프종(ILL), 광범위 저분화 림프구 림프종(PDL), 중심세포 림프종, 광범위 소분할 세포 림프종(DSCCL), 소포 림프종, 외투층 림프종 및 혼미경으로 볼 수 있는 임의 유형의 외투막세포 림프종(결절, 광범위, 분아형 및 외투층 림프종)을 포함하나 이에 제한되지 않는 다양한 유형의 암 환자에게 투여한다.

[0087]

다른 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온을 단독으로 또는 제2 활성 성분(예를 들면, 빈블라스틴 또는 플루다라빈)과 조합하여 원발성 중추신경계 림프종(PCNSL), 원발성 유리체망막 림프종(PVRL), 안구내 림프종, 중추신경계 유아구성 외투막세포 림프종, 중추신경계 종양, 중추신경계 고형 종양, 중추신경계 암 상태, 외투막세포 림프종(MCL), 중간 분화 림프구 림프종, 중간 림프구 림프종(IL), 광범위 저분화 림프구 림프종(PDL), 중심세포 림프종, 광범위 소분할 세포 림프종(DSCCL), 소포 림프종, 외투층 림프종 및 혼미경으로 볼 수 있는 임의 유형의 외투막세포 림프종(결절, 광범위, 분아형 및 외투층 림프종)을 포함하나 이에 제한되지 않는 다양한 유형의 암 환자에게 투여한다.

[0088]

다른 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온을 제2 활성 성분과 조합하여 다음과 같이 투여한다: 재발되거나 진행성인 뇌종양 또는 재발 신경모세포종 소아 환자에게는 테모졸로마이드; 재발되거나 진행성인 CNS 암에는 셀레콕시브, 에토포시드 및 사이클로포스파미드; 재발되거나 진행성인 수막종, 악성 수막종, 혈관주위세포종, 다발성 뇌 전이, 재발된 뇌종양 또는 새로 진단된 아교모세포종 다형태 환자에게는 테모다르; 재발된 아교모세포종 환자에게는 이리노테칸; 뇌간신경아교종 소아 환자에게는 카보플라틴; 진행성 악성 신경아교종 소아 환자에게는 프로카바진; 불량 예후 악성 뇌종양, 새로 진단되거나 재발된 아교모세포종 다형태 환자에게는 사이클로포스파미드; 고등급 재발 악성 신경아교종에는 Gliadel®; 역형성별아교세포종에는 테모졸로마이드 및 타목시펜; 또는 신경아교종, 아교모세포종, 역형성별아교세포종 또는 역형성희소돌기아교세포종에는 토포테칸.

[0089]

다른 양태에서, GM-CSF, G-CSF 또는 EPO는 약 1 내지 약 $750\text{mg}/\text{m}^2/\text{일}$, 바람직하게는 약 25 내지 약 $500\text{mg}/\text{m}^2/\text{일}$, 보다 바람직하게는 약 50 내지 약 $250\text{mg}/\text{m}^2/\text{일}$, 가장 바람직하게는 약 50 내지 약 $200\text{mg}/\text{m}^2/\text{일}$ 의 양으로 4주 또는 6주 주기로 약 5일 동안 피하 투여한다. 특정 양태에서, GM-CSF는 2시간에 걸쳐 약 60 내지 약 $500\text{mcg}/\text{m}^2$ 의 양으로 정맥내 투여하거나, 약 5 내지 약 $12\text{mcg}/\text{m}^2/\text{일}$ 의 양으로 피하 투여할 수 있다. 특정 양태에서, G-CSF는 처음에 약 $1\text{mcg}/\text{kg}/\text{일}$ 의 양으로 피하 투여할 수 있고, 과립형 백혈구 총 수의 증가에 따라 조정할 수 있다. G-CSF의 유지 용량을 약 300(작은 환자의 경우) 또는 480mcg의 양으로 피하 투여할 수 있다. 특정 양태에서, EPO는 10,000유니트의 양으로 주당 3회 피하 투여할 수 있다.

[0090]

본원은 또한 환자에게 안전하고 효과적으로 투여될 수 있는 항암제 또는 항암 약물의 용량을 증가시키는 방법을 제공하며, 이 방법은 환자(예를 들면, 사람)에게 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 유도체, 염, 용매화물(예를 들면, 하이드레이트) 또는 프로드럭을 투여함을 포함한다. 이 방법이 효과적일 수 있는 환자는 혈액, 피부, 피하 조직, 중추신경계, 림프절, 뇌, 폐, 간, 뼈, 장, 결장, 심장, 체장, 부신, 신장, 전립선, 유방, 결장직장 또는 이의 조합의 특정 암을 치료하기 위한 항암제와 연관된 부작용으로 고통받을 가능성이 있는 환자이다. 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 투여는 항암제의 양이 제한될 수 있는 심각성이 있는 부작용을 경감시키거나 감소시킨다.

[0091]

한 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 매일 약 0.10 내지 약 150mg, 바람직하게는 약 0.5 내지 약 50mg, 보다 바람직하게는 약 1 내지 약 25mg의 양으로 항암제의 환자 투여와 연관된 부작용의 발생 전, 발생 동안 또는 발생 후에 경구 투여할 수 있다. 특정 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 항암제와 연관된 부작용, 예를 들면, 호중성백혈구감소증 또는 혈소판감소증(이에 제한되지 않음)을 피하기 위해 헤파린, 아스피린, 쿠마딘 또는 G-CSF와 같은 특정 약물과 조합하여 투여한다.

[0092]

다른 양태에서, 본원은 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 용매화물(예를 들면, 하이드레이트), 입체이성체, 클라트레이트 또는 프로드럭을, 수술, 면역요법, 생물학적 요법, 방사선 요법, 또는 암의 치료, 예방 또는 관리에 현재 사용되는 기타 비약물 기초한 요법을 포함하나 이에 제한되지 않는 통상의 치료와 함께 투여(예를 들면, 치료 전, 치료 동안 또는 치료 후)함을 포함하는, 암의 치료, 예방 또는 관리 방법을 제공한다. 본원의 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온과 통상의 치료의 조합 사용은 특정 환자에게 예상치 않게 효과적인 독특한 요법을 제공한다. 이론에 의해 제한되지 않지만, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온이 통상의 치료와 함께 투여되는 경우 추가 효과 또는 상승작용 효과를 제공할 수 있는 것으로 여겨진다.

[0093]

다른 데서 논의된 바와 같이, 본원은 수술, 화학 요법, 방사선 요법, 호르몬 요법, 생물학적 요법 및 면역요법을 포함하나 이에 제한되지 않는 통상의 치료와 연관된 부작용 또는 바람직하지 않은 효과를 감소, 치료 및/또는 예방하는 방법을 제공한다. 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온 및 기타 활성 성분

은 통상의 치료와 연관된 부작용의 발생 전, 발생 동안 또는 발생 후에 환자에게 투여할 수 있다.

[0094] 한 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 통상의 치료 사용 전, 사용 동안 또는 사용 후에 매일 단독으로 약 0.10 내지 약 150mg, 바람직하게는 약 0.5 내지 약 50mg, 보다 바람직하게는 약 1 내지 약 25mg의 양으로 또는 본원에 기재된 제2 활성제(예를 들면, 섹션 5.2 참조)와 조합하여 경구 투여 할 수 있다.

5.3.2 이식 요법의 사용

[0095] 본원 화합물은 이식편대숙주병(GVHD)의 위험성을 감소시키는 데 사용할 수 있다. 그러므로, 본원은 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 용매화물(예를 들면, 하이드레이트), 입체이성체, 클라트레이트 또는 프로드력을 이식 요법과 함께 투여함을 포함하는, 암의 치료, 예방 및/또는 관리 방법을 제공한다.

[0097] 당해 분야의 숙련가가 알고 있는 바와 같이, 암의 치료는 종종 질환의 단계 및 메카니즘을 기초로 한다. 예를 들면, 암의 특정 단계에서 불가피한 백혈병 전환이 전개되기 때문에, 말초 혈액줄기세포, 조혈 줄기세포 제제 또는 골수의 이식이 필요할 수 있다. 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온과 이식 요법의 조합 사용은 독특하고 예상치 않은 상승작용을 제공한다. 특히, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 암 환자에게 이식 요법과 동시에 제공되는 경우에 추가 효과 또는 상승작용 효과를 제공할 수 있는 면역조절 활성을 나타낸다.

[0098] 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 이식 요법과의 조합 작용으로 이식의 외과 과정과 연관된 합병증 및 GVHD의 위험을 감소시킬 수 있다. 본원은 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 용매화물(예를 들면, 하이드레이트), 입체이성체, 클라트레이트 또는 프로드력을 환자(예를 들면, 사람)에게 제대혈, 태반 혈액, 말초 혈액줄기세포, 조혈 줄기세포 제제 또는 골수의 이식 전, 이식 동안 또는 이식 후에 투여함을 포함하는, 암의 치료, 예방 및/또는 관리 방법을 제공한다. 본 방법에 사용하기에 적합한 줄기 세포의 예는 미국 특허 제2002/0123141호, 제2003/0235909호 및 제2003/0032179호(R. Hariri et al.)에 기재되어 있으며, 이를 전체는 본원에 참조로 도입된다.

[0099] 한 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 림프종 환자에게 자가 말초 혈액 전구세포의 이식 전, 이식 동안 또는 이식 후에 투여한다.

[0100] 다른 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 재발된 림프종 환자에게 줄기세포 이식 후에 투여한다.

5.3.3 주기 요법

[0102] 특정 양태에서, 본원의 예방제 또는 치료제는 환자에게 주기적으로 투여한다. 주기 요법은 일정 기간 동안 활성제를 투여한 후, 일정 기간 동안 휴약하고, 이러한 연속 투여를 반복함을 포함한다. 주기 요법은 하나 이상의 요법에 대한 저항의 전개를 감소시키고 요법 중의 하나의 부작용을 방지하거나 감소시키고/거나 치료 효능을 개선시킬 수 있다.

[0103] 따라서, 하나의 특정 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 휴약기를 약 1주 또는 2주로 하여 4 내지 6주 주기로 매일 단일 용량 또는 분할 용량으로 투여한다. 본 양태에서는 투여 주기의 빈도, 회수 및 기간을 증가시킬 수 있다. 따라서, 본원의 다른 특정 양태는 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온이 단독으로 투여되는 통상의 경우보다 더 많은 주기로 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온을 투여함을 포함한다. 또 다른 특정 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 제2 활성 성분이 투여되지 않는 환자에 있어서 전형적으로 용량 제한 독성을 일으킬 수 있는 다수의 주기로 투여한다.

[0104] 한 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 약 0.10 내지 약 150mg/일의 용량으로 3 또는 4주 동안 매일 연속으로 투여한 후, 1 또는 2주 동안 휴약한다. 특정 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 4 또는 6주 주기로 3 내지 4주 동안 약 1 내지 약 50mg/일, 바람직하게는 약 4mg/일의 양으로 투여한 후, 1 또는 2주 동안 휴약한다.

[0105] 바람직한 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-페페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 28일 주기로 21일 동안 약 0.5mg/일, 1mg/일, 2mg/일, 3mg/일 또는 4mg/일의 양으로 다양한 유형의 암을 앓고 있는 환자에게 투여한 후, 7일 동안 휴약한다. 가장 바람직한 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-페페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 28일 주기로 21일 동안 약 4mg/일의 양으로 난치성 또는 재발된 암을 앓고 있는 환자에게 투여한 후, 7일 동안 휴약한다.

[0106] 한 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-페페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온 및 제2 활성제 또는 활성 성분을 경구 투여하는데, 4 내지 6주의 주기 동안 제2 활성 성분의 투여 전 30 내지 60분에 4-아미노-2-(2,6-디옥소-페페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온을 투여한다. 다른 양태에서, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-페페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온을 경구 투여하고 제2 활성 성분을 정맥내 투입으로 투여한다.

[0107] 특정 양태에서, 1회의 주기는 3 내지 4주 동안 매일 약 0.1 내지 약 25mg/일의 4-아미노-2-(2,6-디옥소-페페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온과 약 50 내지 약 750mg/m³/일의 제2 활성 성분을 투여함을 포함한다.

[0108] 한 양태에서, 추가 활성제로서의 리툭시맙을 375mg/m³의 양으로 다양한 유형의 암을 앓고 있는 환자에게 투여할 수 있다. 바람직한 양태에서, 추가 활성제로서의 리툭시맙을 375mg/m³의 양으로 난치성 또는 재발된 암을 앓고 있는 환자에게 투여할 수 있다. 바람직한 양태에서, 1회의 주기는 21일 동안 4-아미노-2-(2,6-디옥소-페페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온을 매일 경구 투여한 후 7일 동안 휴약하고 4주 동안 매주 375mg/m³의 리툭시맙을 정맥내 투입으로 투여함을 포함한다.

[0109] 일반적으로, 조합 치료가 환자에게 제공되는 동안의 주기 회수는 약 1 내지 약 24주기, 보다 전형적으로 약 2 내지 약 16주기, 보다 더 전형적으로 약 4 내지 약 3주기이다.

5.4 약제학적 조성물 및 투여형

[0111] 약제학적 조성물을 각각의 단일 단위 투여형을 제조하는 데 사용할 수 있다. 본원의 약제학적 조성물 및 투여형은 4-아미노-2-(2,6-디옥소-페페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 용매화물(예를 들면, 하이드레이트), 입체이성체, 클라트레이트 또는 프로드릭을 포함한다. 본원의 약제학적 조성물 및 투여형은 또한 하나 이상의 부형제를 포함할 수 있다.

[0112] 본원의 약제학적 조성물 및 투여형은 또한 하나 이상의 추가 활성 성분을 포함할 수 있다. 따라서, 본원의 약제학적 조성물 및 투여형은 본원에 기재된 활성 성분(예를 들면, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-페페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온 및 제2 활성제)을 포함한다. 임의 선택적인 제2 또는 추가 활성 성분의 예는 본원에 기재되어 있다(예를 들면, 섹션 5.2 참조).

[0113] 본원의 단일 단위 투여형은 환자에게 경구, 점막(예를 들면, 비내, 설하, 질, 볼 또는 직장), 비경구(예를 들면, 피하, 정맥내, 일시주사, 근육내 또는 동맥내), 국소(예를 들면, 점안약 또는 기타 눈 제제), 경피 또는 피부통과 투여하는 데 적합하다. 투여형의 예에는 환자에게 비경구 투여하기에 적합한 액체 투여형을 제공하도록 재구성될 수 있는 정제, 캡슐(예를 들면, 연질 탄성 젤라틴 캡슐제), 카세제, 트로키, 로젠지, 분산액, 좌제, 산제, 에어로졸(예를 들면, 비내 분무제 또는 흡입제), 젤; 혼탁액(예를 들면 수성 또는 비수성 액체 혼탁액, 수중유 유액 또는 유중수 유액), 용액 및 엘리실을 포함한 환자에게 경구 또는 점막 투여하기에 적합한 액체 투여형; 환자에게 비경구 투여하기에 적합한 액체 투여형; 점안약 또는 국소 투여에 적합한 기타 눈 제제, 및 살균 고체(예를 들면, 결정질 또는 무정형 고체)를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0114] 본원의 투여형의 조성물, 형태 및 종류는 일반적으로 그 용도에 따라 변할 것이다. 예를 들면, 질환의 급성 치료에 사용된 투여형은 하나 이상의 활성 성분을 동일한 질환의 만성 치료에 사용된 투여형보다 많은 양으로 함유할 수 있다. 유사하게, 비경구 투여형은 하나 이상의 활성 성분을 동일한 질환을 치료하는 데 사용되는 경구 투여형보다 적은 양으로 함유할 수 있다. 포함된 구체적인 투여형이 서로 다를 것인 이러한 방식 및 기타 방식은 당해 분야의 숙련가에게는 쉽게 분명할 것이다(예를 들면, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing, Easton PA (1990) 참조).

[0115] 일반적인 약제학적 조성물 및 투여형은 하나 이상의 부형제를 포함한다. 적합한 부형제는 약학 분야의 숙련가에게 널리 공지되어 있고, 적합한 부형제의 비제한적 예를 본원에 기재한다. 특별한 부형제를 약제학적 조성물 또는 투여형에 도입하는 것이 적합한지 아닌지는 투여형이 환자에게 투여되는 방식을 포함한(그러나 이에 제한되지 않음) 당해 분야에 널리 공지된 다양한 요인에 좌우된다. 예를 들면, 정제와 같은 경구 투여형은 비경구 투

여형에 사용하기에 적합하지 않은 부형제를 함유할 수 있다. 특정한 부형제의 적합성은 또한 투여형 내의 특정 활성 성분에 좌우될 수 있다. 예를 들면, 몇몇 활성 성분의 분해는 락토즈와 같은 몇몇 부형제에 의해 또는 물에 노출된 경우 가속화될 수 있다. 1급 또는 2급 아민을 포함하는 활성 성분이 이러한 가속화된 분해에 특히 민감하다. 따라서, 본원은 락토즈 기타 단당류 또는 이당류를 함유한다고 해도 소량으로 함유하는 약제학적 조성물 및 투여형을 제공한다. 본원에 사용된 용어 "락토즈 비함유"는 락토즈가 존재한다고 해도 그 양이 활성 성분의 분해속도를 실질적으로 증가시키기에는 부족한 것을 의미한다.

[0116] 본원의 락토즈 비함유 조성물은 당해 분야에 널리 공지되고, 예를 들면, 미국 약전(U.S. Pharmacopeia (USP) 25-NF20 (2002))에 나열되어 있는 부형제를 포함할 수 있다. 일반적으로, 락토즈 비함유 조성물은 활성 성분, 결합제/충전제 및 윤활제를 약제학적으로 상용성이고 약제학적으로 허용되는 양으로 포함한다. 바람직한 락토즈 비함유 투여형은 활성 성분, 미세결정질 셀룰로즈, 예비겔라틴화 전분 및 마그네슘 스테아레이트를 포함한다.

[0117] 추가로 본원은 활성 성분을 포함하는 무수 약제학적 조성물 및 투여형을 제공하는데, 이는 물이 몇몇 화합물의 분해를 가능하게 하기 때문이다. 예를 들면, 물(예를 들면, 5%)의 첨가는 시간에 따른 저장수명 또는 제형 안정성과 같은 특성을 결정하기 위한 장기간 저장을 시뮬레이팅하는 수단으로서 약학 분야에서 널리 허용된다(예를 들면, Jens T. Carstensen, Drug Stability: Principles & Practice, 2d. Ed., Marcel Dekker, NY, NY, 1995, pp. 379-80 참조). 사실상 물 및 열은 몇몇 화합물의 분해를 가속화한다. 따라서, 수분 및/또는 습기는 주로 생산, 관리, 포장, 저장, 선적 및 제형의 사용 동안 직면하기 때문에, 제형에 대한 물의 효과는 매우 클 수 있다.

[0118] 본원의 무수 약제학적 조성물 및 투여형은 무수 또는 저수분 함유 성분 및 저수분 또는 저습도 조건을 사용하여 제조할 수 있다. 락토즈, 및 1급 또는 2급 아민을 포함하는 하나 이상의 활성 성분을 포함하는 약제학적 조성물 및 투여형은, 생산, 포장 및/또는 저장 동안 수분 및/또는 습기와 실질적으로 접촉될 것이 예상되는 경우, 무수인 것이 바람직하다.

[0119] 무수 약제학적 조성물은 이의 무수성이 유지되도록 제조되고 저장되어야 한다. 따라서, 무수 조성물은 이것이 적합한 제형 키트에 포함될 수 있도록 물에 노출되는 것을 방지하는 것으로 알려진 재료를 사용하여 포장하는 것이 바람직하다. 적합한 포장재의 예에는 용봉 호일, 플라스틱, 단위 용량 용기(예를 들면, 바이알), 블리스터 팩 및 스트립 팩이 포함되나 이에 제한되지 않는다.

[0120] 본원은 활성 성분의 분해 속도를 감소시키는 하나 이상의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물 및 투여형을 제공한다. 본원에서 "안정화제"로 지칭되는 이러한 화합물에는 아스코르브산과 같은 항산화제, pH 완충제 또는 염완충제가 포함되나, 이에 제한되지 않는다.

[0121] 부형제의 양 및 유형과 마찬가지로, 투여형 내의 활성 성분의 양 및 특정 유형은 환자에게 투여되는 경로와 같은, 그러나 이에 제한되지 않는 요인에 따라 다를 수 있다. 그러나, 본원의 일반적인 투여형은 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 용매화물(예를 들면, 하이드레이트), 입체이성체, 클라트레이트 또는 프로드려을 약 0.10 내지 약 150mg의 양으로 포함한다. 일반적인 투여형은 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 용매화물(예를 들면, 하이드레이트), 입체이성체, 클라트레이트 또는 프로드려을 약 0.1, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 17.5, 20, 25, 50, 100, 150 또는 200mg의 양으로 포함한다. 특정 양태에서, 바람직한 투여형은 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온을 약 0.1, 0.5, 1, 2.5, 3, 4, 5, 7.5, 10, 15, 20, 25 또는 50mg의 양으로 포함한다. 일반적인 투여형은 제2 활성 성분을 1 내지 약 1000mg, 약 5 내지 약 500mg, 약 10 내지 약 350mg 또는 약 50 내지 약 200mg의 양으로 포함한다. 물론 항암제의 구체적인 양은 사용된 특정 약물, 치료되거나 관리될 암의 유형 및 환자에게 동시 투여될 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온과 임의 선택적인 추가 활성제의 양에 좌우될 것이다.

5.4.1 경구 투여형

[0122] 경구 투여에 적합한 본원의 약제학적 조성물을 정제(예를 들면, 저작성 정제), 캡슐제 및 액제(예를 들면, 향료 첨가된 시럽)와 같은 별개의 투여형(이에 제한되지 않음)으로 제공할 수 있다. 이러한 투여형은 예정된 양의 활성 성분을 함유하고 당해 분야의 숙련가에게 널리 공지된 약학 방법으로 제조할 수 있다(일반적으로 Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing, Easton PA (1990) 참조).

[0123] 한 양태에서, 바람직한 투여형은 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온을 약 0.5, 1, 2,

3, 4, 5, 10, 15, 20, 25 또는 50mg의 양으로 포함하는 캡슐제 또는 정제이다. 특정 양태에서, 바람직한 캡슐제 또는 정제 투여형은 4-아미노-2-(2,6-디옥소-페페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온을 약 1, 2, 3, 또는 4mg의 양으로 포함한다.

[0125] 본원의 일반적인 경우 투여형은 통상의 약제학적 조제 기술에 따라 혼화물로서의 활성 성분을 하나 이상의 부형제와 배합하여 제조한다. 부형제는 투여에 바람직한 제제의 형태에 따라 매우 다양한 형태일 수 있다. 예를 들면, 액체 또는 에어로졸 경구 투여형에 사용하기에 적합한 부형제에는 물, 글리콜, 오일, 알콜, 방향제, 방부제 및 착색제가 포함되나, 이에 제한되지 않는다. 고체 경구 투여형(예를 들면, 산제, 정제, 캡슐제 및 캐플렛)에 사용하기에 적합한 부형제에는 전분, 당, 미세결정질 셀룰로즈, 희석제, 과립화제, 윤활제, 결합제 및 봉해제가 포함되나, 이에 제한되지 않는다.

[0126] 정제 및 캡슐제는 투여 용이성으로 인해 경구 투여형으로 가장 유리하며, 이 경우 고체 부형제가 사용된다. 경우에 따라, 정제를 표준 수성 또는 비수성 기술로 코팅할 수 있다. 이러한 투여형은 임의의 약학 방법으로 제조할 수 있다. 일반적으로, 약제학적 조성을 및 투여형은 활성 성분을 액체 캐리어, 미분된 고체 캐리어 또는 둘 다와 균질하게 촘촘히 혼합한 후, 생성물을, 필요한 경우, 목적한 외관으로 성형하여 제조한다.

[0127] 예를 들면, 정제는 압축 또는 몰딩으로 제조할 수 있다. 압축 정제는 활성 성분을, 임의로 부형제와 혼합하여, 적합한 기계로 분말 또는 과립과 같이 자유 유동 형태로 압축하여 제조할 수 있다. 몰딩된 정제는 분말 화합물의 혼합물을 불활성 액체 희석제로 습윤시켜 적합한 기계로 몰딩하여 만들 수 있다.

[0128] 본원의 투여형에 사용될 수 있는 부형제의 예에는 결합제, 충전제, 봉해제 및 윤활제가 포함되나, 이에 제한되지 않는다. 약제학적 조성을 및 투여형에 사용하기에 적합한 결합제에는 옥수수 전분, 감자 전분, 기타 전분, 젤라틴, 천연 및 합성 검(예: 아카시아), 나트륨 알기네이트, 알긴산, 기타 알기네이트, 분말 트라가칸트, 구아검, 셀룰로즈 및 이의 유도체(예: 에틸 셀룰로즈, 셀룰로즈 아세테이트, 카복시메틸 셀룰로즈, 나트륨 카복시메틸 셀룰로즈), 폴리비닐 피롤리돈, 메틸 셀룰로즈, 예비겔라틴화 전분, 하이드록시프로필 메틸 셀룰로즈(예: Nos. 2208, 2906, 2910), 미세결정질 셀룰로즈 및 이의 혼합물이 포함되나, 이에 제한되지 않는다.

[0129] 적합한 형태의 미세결정질 셀룰로즈에는 AVICEL-PH-101, AVICEL-PH-103, AVICEL RC-581, AVICEL-PH-105(FMC Corporation, American Viscose Division, Avicel Sales, Marcus Hook, PA)로 시판중인 물질 및 이의 혼합물이 포함되나, 이에 제한되지 않는다. 특정 결합제는 미세결정질 셀룰로즈와 AVICEL RC-581로 시판중인 나트륨 카복시메틸 셀룰로즈의 혼합물이다. 적합한 무수 또는 저수분 부형제 또는 첨가제에는 AVICEL-PH-103TM 및 Starch 1500 LM이 포함된다.

[0130] 본원에 기재된 약제학적 조성을 및 투여형에 사용하기에 적합한 충전제의 예에는 활석, 탄산칼슘(예를 들면, 과립 또는 분말), 미세결정질 셀룰로즈, 분말 셀룰로즈, 엑스트레이트, 카올린, 만니톨, 규산, 소르비톨, 전분, 예비겔라틴화 전분 및 이의 혼합물이 포함되나, 이에 제한되지 않는다. 본원의 약제학적 조성을에서의 결합제 또는 충전제는 일반적으로 약제학적 조성을 또는 투여형의 약 50 내지 약 99중량%로 존재한다.

[0131] 봉해제는 본원의 조성을 수성 환경에 노출되는 경우 정제를 봉해하기 위해 본원의 조성을 사용된다. 봉해제를 너무 많이 함유하는 정제는 저장 중 봉해될 수 있는 반면, 봉해제를 너무 적게 함유하는 정제는 목적한 속도로 또는 목적한 조건하에서 봉해되지 않을 수 있다. 따라서, 활성 성분의 방출을 불리하게 바꾸는 너무 많거나 너무 적은 양이 아닌 충분한 양의 봉해제가 본원의 고체 경구 투여형을 형성하는 데 사용되어야 한다. 사용된 봉해제의 양은 제형 유형을 기준으로 하여 변하고, 당해 분야의 숙련자가 쉽게 인식하는 양이다. 일반적인 약제학적 조성을은 봉해제를 약 0.5 내지 약 15중량%, 바람직하게는 약 1 내지 약 5중량% 포함한다.

[0132] 본원의 약제학적 조성을 및 투여형에 사용될 수 있는 봉해제에는 한천, 알긴산, 탄산칼슘, 미세결정질 셀룰로즈, 크로스카멜로즈 나트륨, 크로스포비돈, 폴리크릴린 칼륨, 나트륨 전분 글리콜레이트, 감자 또는 타피오카 전분, 기타 전분, 예비겔라틴화 전분, 기타 전분, 클레이(clay), 기타 알긴, 기타 셀룰로즈, 검 및 이의 혼합물이 포함되나, 이에 제한되지 않는다.

[0133] 본원의 약제학적 조성을 및 투여형에 사용될 수 있는 윤활제에는 칼슘 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 광유, 경질(light) 광유, 글리세린, 소르비톨, 만니톨, 폴리에틸렌 글리콜, 기타 글리콜, 스테아르산, 나트륨 라우릴 세레이트, 활석, 수소화 식물성유(예를 들면, 땅콩유, 면실유, 해바라기유, 참기름, 올리브유, 옥수수기름 및 대두유), 아연 스테아레이트, 에틸 올리에이트, 에틸 라우레이트, 한천 및 이의 혼합물이 포함되나, 이에 제한되지 않는다. 추가의 윤활제에는, 예를 들면, 실로이드 실리카겔(AEROSIL200, W.R. Grace Co.(Baltimore, MD) 생산), 합성 실리카의 응고된 에어로졸(Degussa Co.(Plano, TX) 시판중), CAB-O-SIL(Cabot Co.(Boston,

MA)가 시판중인 발열 이산화규소 제품) 및 이의 혼합물이 포함된다. 만약 윤활제가 사용된다면, 일반적으로 윤활제가 도입되는 약제학적 조성물 또는 투여형의 약 1중량% 미만의 양으로 사용된다.

[0134] 본원의 바람직한 고체 경구 투여형은 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온, 무수 락토즈, 미세결정질 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 스테아르산, 콜로이드성 무수 실리카 및 젤라틴을 포함한다.

5.4.2 지역 방출 투여형

[0135] 본원의 활성 성분은 당해 분야의 숙련가에게 널리 공지된 조절 방출 수단 또는 전달 장치를 통해 투여될 수 있다. 그 예에는 미국 특허 제3,845,770호, 제3,916,899호, 제3,536,809호, 제3,598,123호, 제4,008,719호, 제5,674,533호, 제5,059,595호, 제5,591,767호, 제5,120,548호, 제5,073,543호, 제5,639,476호, 제5,354,556호 및 제5,733,566호(이들 각각은 본원에 참조로 도입됨)에 기재되어 있는 것들이 포함되나, 이에 제한되지 않는다. 이러한 투여형은 가변적 비율로 목적한 방출 프로파일을 제공하기 위해, 예를 들면, 하이드로프로필메틸 셀룰로즈, 기타 중합체 매트릭스, 겔, 투과막, 삼투압 시스템, 다층 코팅, 미세입자, 리포좀, 미세구 또는 이의 조합을 사용하여 하나 이상의 활성 성분의 서방출 또는 조절 방출을 제공하는 데 사용할 수 있다. 본원에 기재된 것을 포함하여 당해 분야의 숙련가에게 공지된 적합한 조절 방출 제형은 본원의 활성 성분과 사용하기 위해 쉽게 선택할 수 있다. 따라서, 본원은 조절 방출에 적합한 경제, 캡슐제, 젤라틴 캡슐제 및 캐플렛(이에 제한되지 않음)과 같은 경구 투여에 적합한 단일 단위 투여형을 제공한다.

[0137] 모든 조절 방출 약제학적 제품은 비조절 카운터파트에 의해 성취되는 것에 비해 약물 요법을 개선시키고자 하는 공통의 목표를 갖는다. 이상적으로, 의학적 치료에서의 최적으로 디자인된 조절 방출 제제의 사용은 최단 시간에 상태를 치유하거나 조절하기 위해 사용되는 최소의 약물을 특징지워진다. 조절 방출 제형의 이점에는 약물의 연장된 활성, 감소된 투여 빈도 및 증가된 환자 순응도가 포함된다. 또한, 조절 방출 제형은 작용 또는 기타 특성, 예를 들면, 약물 혈액 수준의 개시 시간에 영향을 미치기 위해 사용될 수 있고, 따라서 부작용(예를 들면, 불리한 효과)의 발생에 영향을 미칠 수 있다.

[0138] 대부분의 조절 방출 제형은 연장된 기간 동안 초기에는 목적한 치료 효과를 즉시 낼 수 있는 약물(활성 성분)의 양을 방출하고, 치료 또는 예방 효과의 수준을 유지하는 약물의 다른 양을 서서히 계속해서 방출하도록 디자인된다. 신체 내에서 약물의 이러한 일정 수준을 유지하기 위해, 약물은 신체로부터 대사되고 분비되는 약물의 양을 대체하는 속도로 투여형으로부터 방출되어야 한다. 활성 성분의 조절 방출은 pH, 온도, 효소, 물 또는 기타 생리학적 조건 또는 화합물을 포함하나 이에 제한되지 않는 다양한 조건에 의해 자극될 수 있다.

5.4.3 비경구 투여형

[0140] 비경구 투여형은 피하, 정맥내(일시주사 포함), 근육내 및 동맥내를 포함하나 이에 제한되지 않는 다양한 경로로 환자에게 투여될 수 있다. 이러한 투여는 일반적으로 오염물질에 대한 환자의 자연 방어를 우회하기 때문에, 비경구 투여형은 바람직하게는 살균된 것이거나 환자에게 투여하기 전에 살균될 수 있는 것이다. 비경구 투여형의 예에는 즉시 주사가능한 용액제, 약제학적으로 허용되는 주사용 비히클에 즉시 용해가능하거나 혼탁가능한 건조 제품, 즉시 주사가능한 혼탁제 및 유액이 포함되나, 이에 제한되지 않는다.

[0141] 본원의 비경구 투여형을 제공하는 데 사용될 수 있는 적합한 비히클은 당해 분야의 숙련가에게 널리 공지되어 있다. 이의 예에는 USP 주사용수; 수성 비히클(예를 들면, 염화나트륨 주사, 링거 주사, 텍스트로즈 주사, 텍스트로즈와 염화나트륨 주사 및 락테이트화 링거 주사; 이에 제한되지 않음), 수흔화성 비히클(예를 들면, 에틸알콜, 폴리에틸렌 글리콜 및 폴리프로필렌 글리콜; 이에 제한되지 않음) 및 비수성 비히클(예를 들면, 옥수수기름, 면실유, 땅콩유, 에틸 올리에이트, 이소프로필 미리스테이트 및 벤질 벤조에이트; 이에 제한되지 않음)이 포함되나, 이에 제한되지 않는다.

[0142] 본원에 기재된 하나 이상의 활성 성분의 용해도를 증가시키는 화합물을 또한 본원의 비경구 투여형에 도입할 수 있다. 예를 들면, 사이클로덱스트린 및 이의 유도체를 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온 및 이의 유도체의 용해도를 증가시키는 데 사용할 수 있다(참조: 미국 특허 제5,134,127호; 본원에 참조로 도입됨).

[0143] 6. 실시예

[0144] 본원의 특정 양태를 다음의 비제한적 실시예로 설명한다.

[0145] 6.1 중추신경계 림프종의 치료

[0146] 6.1.1 도입

[0147] 원발성 중추신경계 림프종(PCNSL)은 중추신경계(CNS)로 제한된 가장 흔한 광범위 거대 B 세포 림프종(DLBCL)이고, 불량 예후를 보인다(참조: Ferreri A.J., Blood, 2011, 118, pp. 510-522). CNS 종양 미세환경은 CNS 림프 종의 생명 작용에 중요한 역할을 한다. 표준 요법은 조사의 존재 또는 부재하에 고용량 메토트렉세이트와 고용량 ara-c로 이루어진다. 이러한 치료로 인해 생존율이 개선되었으나, CNS 림프종의 예후는 전신성 DLBCL에 비해 불량하다(상기 문헌). 현재의 치료제는 림프종 세포를 타겟으로 하고 종양 미세환경에 대해 유효한 영향을 미치지 못한다. 혈액뇌 장막은 CNS 림프종을 효과적으로 치료하는 데 큰 장애물이다. 따라서, 우수한 효능, 우수한 CNS 침투, 및 림프종 세포뿐만 아니라 종양 미세환경에 대한 영향이 있는 치료제의 개발이 요구된다.

[0148] 탈리도마이드 동족체이며 신규 면역조절제인 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온(포말리도마이드)은 림프종 세포에 대해 시험관내 활성을 보였고 쥐과 동물 모델의 전신성 림프종에 대해 전임상 활성을 보였다(참조: Hernandez-Ilizaliturri, F.J.; et al, Cancer, 2011, 117, pp. 5058-5066). 면역조절 활성이 있는 또 다른 탈리도마이드 동족체인 레날리도마이드는 PCNSL의 95%를 초과하여 나타나는 DLBCL의 서브타입인, 전신성 광범위 거대 B 세포 림프종의 활성화된 B 세포 서브타입에 대해 치료 활성을 보였다(참조: Hernandez-Ilizaliturri, 2011; Camilleri-Broet, S.; et al, Blood, 2006, 107, pp. 190-196). 난치성 앙구 내 림프종 및 CNS에 영향을 미치는 블라스토이드 외투세포 림프종에서의 레날리도마이드의 활성을 제시하는 사례 보고가 있었다(참조: Rubenstein, J.L.; et al, J. Clin. Oncol, 2011, 29, pp. e595-597; Cox, M.C.; et al, Am. J. Hematol, 2011, 86, p. 957).

[0149] 중추신경계 림프종에 대한 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 치료 용도를 결정하기 위한 종합적인 전임상 연구를 수행하였다. 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 CNS 침투를 평가하기 위해 중추신경계(CNS) 약동학적 분석을 래트에서 수행하였다. 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 전임상 평가를 이의 CNS 림프종에 대한 치료 활성을 평가하기 위해 두 개의 쥐과 동물 모델에서 수행하였다. 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 CNS 림프종 면역 미세환경에 대한 영향을 면역조직 화학적으로 및 면역형광법으로 평가하였다. 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 포식세포의 생명 작용에 대한 영향을 추가로 조사하기 위해 시험관내 세포 배양 실험을 수행하였다.

[0150] 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 대략 39%의 CNS 침투율로 혈액뇌 장막을 통과하였다. 전임상 평가로 다음을 알았다: (1) 종양 성장률의 현저한 감소 및 생존 연장으로 CNS 림프종에 대해 현저한 치료학적 활성을 갖는다; (2) 포식세포 및 자연 살해세포의 증가로 종양 미세환경에 대해 중대 영향을 갖는다; (3) 포식세포가 편광 상태를 기초로 평가된 경우, M2 편광된 종양 연관 포식세포를 감소시키고 M1 편광된 포식세포는 증가시킨다. 다양한 포식세포 모델을 사용한 시험관내 연구로 다음을 알았다: (1) 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 IL-4 자극된 포식세포의 편광 상태를 M2에서 M1으로 전환시킨다; (2) B 림프종 세포와 공생 배양된 포식세포의 편광 상태를 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온에 의해 M2에서 M1으로 전환시키는 것은 NL 세포의 존재에 좌우된다; (3) 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 STAT6 시그널링 비활성화 및 STAT1 시그널링 활성화에 의해 포식세포 편광 상태의 M2에서 M1으로의 전환을 유도한다; (4) 기능적으로 포식세포의 죽세포등을 증가시킨다.

[0151] 연구 결과는 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온이 우수한 CNS 침투, 현저한 전임상 치료 활성, 종양 미세환경에 대한 중대 영향을 갖고, CNS 림프종에 대해 유망한 치료제임을 보여준다. 또한, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 종양 연관된 포식세포의 현저한 생물학적 변화를 유도할 수 있고, 이는 CNS 림프종에 대한 치료 활성에 중요 역할을 할 것이다.

[0152] 6.1.2 재료 및 방법

[0153] 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 CNS 약동학적 분석을 셀진(Celgene) 실험실에서 수행하였다. 마요 클리닉 플로리다(Mayo Clinic Florida)의 툰(Tun) 실험실에서 기타 모든 실험을 수행하였다.

- [0154] 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 CNS 약동학적 분석: 셀진에서 입수한 화합물 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온(포말리도마이드, 분자량 273.25, $C_{13}H_{11}N_3O_4$) 및 CC-6032(분자량 287.27, $C_{14}H_{13}N_3O_4$)를 약동학적 분석에 사용하였다. CC-6032는 미세투석 실험에서 프로브 칼리브레이터(probe calibrator)로서 사용하였다.
- [0155] 미세투석: 총 세 마리의 숫컷 CD-IGS 래트를 사용하였다. 찰스 리버 라보라토리즈(Charles River Laboratories)가 공급한 위에 캐뉼리를 삽입한 CD-IGS 래트(숫컷, 체중: 250~300g)를 이 연구에 사용하였다. 수술 후 모든 동물을 표준 침구 재료가 있는 BASi Rreturn[®] 봉쇄 시스템에 수용하였다. 래트 사료와 물은 무제한으로 공급하고 모든 동물을 주위온도 방에서 오전 6시에서 오후 6시까지 12시간 조명 스케줄을 유지하였다.
- [0156] 동물 수술은 IACUC 프로토콜에 따라 CMA/20 14/10PC 혈관 미세투석 프로브(Part # 8309571, CMA Microdialysis, North Chelmsford, MA)를 경정맥에 이식하는 것으로 이루어진다. 이어서, 각각의 동물을 정위(stereotactic) 환추에 따라 선조체 최상부(A/P: 0.7, L/M: -3.0, D/V: -3.0; 경수리점으로부터) 쪽으로 유도된 뇌내 가이드로 정위 이식하였다(참조: Paxinos G.F.K., The mouse brain in stereotaxic coordinates (Academic Press, San Diego, CA) (2001)). ABASi BR-4, 뇌 미세투석 프로브(Part # MD-2204, BASi, West Lafayette, IN)를 회복 전에 삽입하고, 살균 락테이트화 링거(뇌) 또는 둘베코 인산염-완충 염(D-PBS; 혈액)을 사용하여 프로브를 천천히 끼얹쳤다($0.5 \mu\text{L}/\text{min}$). 동물들을 투여전 24시간 이상 동안 회복하도록 두었다. 투여 당일, 블랭크 관류액을 프로브 칼리브레이터 함유 관류액으로 대체하고, 유속을 $1.25 \mu\text{L}/\text{min}$ 로 설정하였다. 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온을 0.5% 카복시메틸셀룰로즈/0.25% Tween[®] 80 혼탁액 제형으로 50mg/kg(5mL/kg)으로 위 캐뉼라를 통해 단일 경구 투여(p.o. administration)로 투여하였다.
- [0157] 미세투석물을 투여 후 10시간 동안 25분 간격으로 4°C로 설정된 냉각 수집기(Eicom # EFC-82, EFR-82, Eicom, San Diego, CA)에 수집하였다. AUC(area-under-the-curve)를 계산하기 위해, 수집된 각 샘플의 농도를 샘플이 수집된 간격(이 경우 25분)과 곱하고 시간당 60분으로 나누었다. 이들 값의 합계는 특정 시간 범위에 걸친 총 AUC 값을 나타낸다. 그래프를 만들기 위해, 각 시점에서의 농도를 각 수집 간격의 중간점에서 플로팅하였다. 미세투석물을 특정 시점에서 수집하고 12시간 내에 액체 크로마토그래피-탠덤 질량 분광광도법(LC-MS/MS) 분석을 사용하여 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온 농도를 분석하였다. 중간 저장은 4°C였다.
- [0158] 질량 스펙트럼 분석: 미세투석물 샘플을 처리하지 않고 직접 LC-MS/MS 시스템에 주입하였다. 피노메넥스 시너지(Phenomenex Synergi) C_{18} 컬럼 ($50 \times 4.6\text{mm}$, $4 \mu\text{m}$)을 사용하여 물 중 0.1% 포름산 및 아세토니트릴 중 0.1% 포름산의 구배로 크로마토그래피 분리를 하였다. 검출 및 정량화는 워터즈 마이크로매스 얼티마 텐덤 질량 분광계(Waters Micromass Ultima tandem mass spectrometer)로 디중 반응-모니터링(MRM)방식의 양성 전기분무를 사용하여 수행하였다. 모니터링된 전이 이온은 분해물질에 대해서는 m/z 274.1 내지 m/z 84.3이었고 프로브 칼리브레이터 CC-6032에 대해서는 m/z 288.0 내지 m/z 98.0이었다. 피크 면적의 가중($1/x^2$) 이차 회귀를 사용하여 보정(calibration)하였다. PBS 및 락테이트화 링거 용액에서의 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온에 대한 두 개의 보정 커브를 1.28, 2.56, 5.12, 10.2, 25.6, 64.0, 160, 400, 1000 및 2000ng/mL 농도에서 표준을 사용하여 구성하였다. $1/x^2$ 의 가중치를 갖는 이차 회귀 모델을 보정 커브의 회귀에 사용하였다. 정량화 한계 밀(BLOQ)의 농도는 보정에 대해 0으로 처리하였다.
- [0159] 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 전임상 평가: 화합물 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온(포말리도마이드, 분자량 273.25, $C_{13}H_{11}N_3O_4$)을 셀진 코포레이션으로부터 입수하였다.
- [0160] 동물 및 시설: 암컷 무흉선 마우스(8-10주령, 연구 시작 시점의 체중 20-25g)를 할란 라보라토리즈(Harlan laboratories)에서 구입하였다. 동물을 온도 조절된 살균 방($23 \pm 2^\circ\text{C}$)에 12시간 명암 사이클하에 수용하고 연구내내 사료와 물을 무제한으로 공급하였다. 동물 사용은 마요 재단 IAUCC(Mayo Foundation Institute Animal Use and Care Committee)가 승인하였고 실험실 동물의 관리 및 사용에 대한 NIH 가이드에 따랐다.
- [0161] 정위(orthotopic) 쥐과 동물 CNS 림프종 모델: 정위 플랫폼을 사용하여 마취된 무흉선 마우스에 2.5×10^4 루시퍼라제 감염된 Raji 또는 1×10^5 루시퍼라제 감염된 OCI-LY 10 B 림프종 세포를 뇌내 주입하여 두 개의 쥐과 동

물 CNS 림프종 모델을 만들었다. 8주령 무흉선 마우스를 수술 전 최소 7일간 순화/검역하였다. 수술을 살균 조건하에 층류 후드에서 수행하였다. 무통증이 수술 전 24시간 내지 수술 후 48시간 연속되도록 타이레놀 300mg/kg PO를 투여하였다. 1-2% 이소플루란 흡입에 의해 마취시켰다. 마우스가 잘 마취된 후, Kopf 정위(stereotactic) 기구에 놓았다. 수술 중 감염 및 각막 손상을 피하기 위해 소량의 BNP 항생제 크림(바시트라신, 네오마이신 및 폴리미신의 혼합물)을 마우스 눈에 문질렀다. 수술중 과도한 열손실을 막기 위해 부드러운 직물 스트립을 마우스 몸체 및 꼬리에 놓았다. 두피 부위를 베타딘 2% 용액으로 세정하고 면봉끌으로 건조시켰다. 두피를 정중선 시상절개하였다. 프랭클린(Franklin)과 팍시노스(Paxinos)에 의한(Paxinos, 2001) 마우스 뇌 환추를 참고하여 측정된 바와 같이 좌표(AP: 0.5mm, LM: 2.5mm)에 따라 수술용 드릴(Kopf) 또는 드레멜(Dremel) 드릴을 사용하여 좌측 두개골에 작은 천두공을 뚫었다. 경질막을 외과적으로 노출시키고, 26S 게이지 경사 바늘이 있는 $10\mu\text{l}$ 해밀تون 주사기를 좌측 뇌반구의 3mm의 깊이까지 내리고, $5\mu\text{l}$ 의 종양 세포를 주입하였다($0.5\mu\text{l}/\text{min}$). 역류를 막기 위해 바늘을 5분 동안 유지시키고 서서히 제거하였다. 피부를 상처 클립으로 닫았다. 마우스를 가온 환경에 두어 마취 및 수술에서 회복시키고 운동 활동이 돌아오기까지는 케이지에 넣지 않았다. 회복 동안 체온 손실을 최소화하기 위해 케이지를 난방 패드 위에 놓았다. 마우스를 수술 후 5일 동안 또는 회복이 완료될 때까지 하루에 적어도 2회 모니터링하였다.

[0162] 마우스의 생체발광 영상화: 림프종 세포의 뇌내 주입 후, 실시간 생체내 종양 성장을 모니터링하기 위해 뇌내 주입 후 4일에 개시하여 1주에 2회씩 모든 마우스에 대해 생체발광 영상화(BLI)를 수행하였다. BLI는 크세노겐 루미나(Xenogen Lumina) 광학 영상화 시스템(Caliper Life Sciences, Hopkinton, MA)을 사용하여 수행하였다. 마우스를 이소플루오란으로 마취시킨 후 루시페린을 150mg/kg의 용량(이는 루시페라제 효소에 대한 포화 기질 농도를 제공함)으로 복막내 주입하였다. 루시페린 주입 후 10분에 피크 발광 신호를 기록하였다. 신호의 두개내 영역을 포함하는 관심 부위를 리빙 이미지 소프트웨어(Living Image software)(Xenogen)를 사용하여 한정하고, 총 양성자/s/스테라디안(steradian)/ cm^2 을 기록하였다.

[0163] 좌과 동물 CNS 림프종 모델에서의 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 생체내 전임상 평가: 마우스를 뇌내 주입 후 4일 동안 영상화하고 동등한 평균 BLI 신호를 갖는 상이한 처리 그룹들에 분배하였다. 실시간 종양 성장을 BLI로 모니터링하였다. 종양 성장 및 생존 데이터를 그룹들간의 통계적 차이에 대해 분석하였다. Raji 모델에서 마우스를 4개의 실험 그룹과 1개의 비히클 대조군에 할당하였다. 실험 그룹의 마우스에 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온을 28일 동안 매일 경구 위관 영양으로 0.3mg/kg, 3mg/kg, 10mg/kg 또는 30mg/kg 제공하였다. 대조군에는 유사한 용적의 비히클을 28일 동안 매일 경구 투여하였다. OCI-LY 10 모델에서는, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온 0.3mg/kg은 포함시키지 않았다.

[0164] 포식세포에 대한 면역조직화학(IHC): 과라핀 섹션($10\mu\text{m}$ 두께)을 고정시키고 봉쇄하고 포식세포에 적합한 항체 Iba-1(BD Biosciences)으로 면역염색하였다. M2편광에 대한 마커로서의 Yml(Stemcell Technologies), M1 편광에 대한 마커로서의 iNOS(Calbiochem), Aperio ScanScope XT 슬라이드 스캐너 및 영상 분석 시스템(Aperio Spectrum, Vista, CA)을 포식세포의 정량 분석에 사용하였다. 포식세포 밀집 영역의 3개의 균등 사이즈(0.4mm^2) 필드를 계수를 위해 반대쪽 뇌 및 종양에서 선택하였다. 데이터를 3개의 필드의 평균으로 나타내었다.

[0165] 자연 살해세포의 면역형광법: 냉동 섹션($10\mu\text{m}$ 두께)을 PBS-0.2% 트리톤(Triton) X-100으로 5분 동안 침투시켰다. 37°C에서 45분 동안 PBS-5% 염소 혈청-0.02% 트리톤 X-100으로 봉쇄한 후, 섹션을 래트 단클론 CD335 항체(NK 세포의 마커, 1:200, Biolegend)와 함께 4°C에서 밤새 인큐베이팅하였다. 세척 후, 섹션을 Alexa Fluor 594 Goat anti-Rat IgG 2차 항체(1:1000, Life Technologies)와 함께 37°C에서 1.5시간 동안 인큐베이팅하였다. 최종적으로, DAPI(Vector Laboratories)를 갖는 Vectashield H-1200 봉입제를 사용하여 핵을 염색하였다. Zeiss LSM 510 META 공초점 현미경으로 영상을 수득하였다. NK 밀집 영역의 6개의 균등 사이즈(0.2mm^2) 필드를 사진을 찍기 위해 종양에서 선택하였다. 형광 강도 데이터를 Zeiss LSM 510으로 생성하였고 6개의 필드의 평균으로서 나타냈다.

[0166] 통계적 분석: 각 시점에서의 그룹간의 차이를 비교하기 위해 일방 아노바(one-way ANOVA)를 사용하였다. 시간과 처리간의 상호작용을 분석하기 위해 양방향 반복 측정 아노바를 사용하였다. 생존 분석은 카플란-마이어 방법을 사용하여 수행하였다. Prism4 소프트웨어를 사용하여 카플란 마이어 생존 곡선을 생성하고 커브들 간의 통계적 차이를 로그 랭크 테스트(log-rank test)로 유도하였다. $P<0.05$ 가 유의한 것으로 간주된다.

[0167] 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 포식세포 생명 작용에 대한 영향을 조사하기 위한 시험관내 세포 배양 실험: 세포 배양 및 처리: Raji 림프종 세포(ATCC), U937 사람 단핵구 세포(ATCC) 및

YTS NK 세포(Dr. Pamela A. Becker 기증)를 20% FCS와 1% 페니실린-스트렙토마이신, 및 1% 비필수 아미노산이 보충된 RPMI-1640 중 5% CO₂ 및 95% 공기하에 가습 인큐베이터내 37°C에서 배양하였다.

[0168] OCI-LY10 립프종(Arthur L. Shaffer III 기증)을 20% FCS와 1% 페니실린-스트렙토마이신이 보충된 IMDM 중 5% CO₂ 및 95% 공기하에 가습 인큐베이터내 37°C에서 배양하였다. 립프종 세포 및 U937 단핵구의 공생배양: Raji 및 U937 단핵구를 20% FCS와 1% 페니실린-스트렙토마이신, 및 1% 비필수 아미노산이 보충된 RPMI-1640 중 5% CO₂ 및 95% 공기하에 가습 인큐베이터내 37°C에서 배양하였다. OCI-LY10 및 U937 단핵구를 20% FCS와 1% 페니실린-스트렙토마이신이 보충된 IMDM 중 5% CO₂ 및 95% 공기하에 가습 인큐베이터내 37°C에서 배양하였다. 립프종 세포, U937 단핵구 및 YTS 세포의 삼종 배양: U937 및 YTS 세포를 20% FCS와 1% 페니실린-스트렙토마이신, 및 1% 비필수 아미노산이 보충된 RPMI-1640 중 5% CO₂ 및 95% 공기하에 가습 인큐베이터내 37°C에서 배양하였다. OCI-LY10, U937 및 YTS를 20% FCS와 1% 페니실린-스트렙토마이신이 보충된 IMDM 중 5% CO₂ 및 95% 공기하에 가습 인큐베이터내 37°C에서 배양하였다.

[0169] 처리: IL-4가 포식세포의 M2 편광을 유도하는 데 사용되는 실험에서, 세포를 48시간 동안 IL-4(20ng/ml)로 처리한 다음, 48시간 동안 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온(10μg/ml) 또는 DMSO 대조군으로 처리하였다. 립프종 세포, 포식세포 및 NK 세포를 사용한 삼종 세포 배양 실험에서, 48시간 동안 DMSO 또는 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온(10μg/ml)으로 처리하였다.

[0170] 세포 배양 실험에서 포식세포 편광 분석을 위한 면역형광법: 생세포를 실온에서 30분 동안 10% 포르말린으로 고정시킨 다음, PBS-0.2% 트리톤 X-100으로 2분 동안 침투시켰다. 37°C에서 30분 동안 PBS-5% 염소 혈청-0.02% 트리톤 X-100으로 봉쇄한 후, 세포를 래트 단클론 F4/80 항체(원발성 미세아교세포에 대해, 1:200, Abcam), 래트 단클론 CD11b(U937에 대해, 1:200, Biolegend), 래빗 다클론 Ym1 항체(원발성 미세아교세포 및 원발성 복막 포식세포에 대해, 1:200, Stemcell Technologies, Vancouver, Canada), 래빗 다클론 FXIII A 항체(U937에 대해, 1:200, Abcam), 마우스 단클론 p-STAT1 항체(1:200, Abcam), 래빗 다클론 p-STAT6항체(1:200, Abcam) 또는 래빗 iNOS 항체(1:200, Calbiochem)와 함께 4°C에서 밤새 인큐베이팅하였다. 세척 후, 세포를 Alexa Fluor 594 Goat anti-Rat IgG 2차 항체(1:1000, Life Technologies) 및 FITC Donkey anti-rabbit IgG 2차 항체(1:1000, Life technologies) 또는 FITC Goat anti-mouse IgG 2차 항체(1:1000, Sigma)와 함께 37°C에서 45분 동안 인큐베이팅하였다. 최종적으로, DAPI(Vector Laboratories)를 갖는 Vectashield H-1200 봉입제를 사용하여 핵을 염색하였다. Zeiss LSM 510 META, 공초점 현미경으로 영상을 수득하였다.

[0171] 포식작용 검정: 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 포식세포의 죽세포능에 대한 영향을 원발성 미세아교세포 및 사람 단핵구 세포(U937)로 검정하였다. 세포를 완전배지에서 4일 동안 배양하였다. 이어서 세포를 거두고, 106 세포/ml의 Opti-MEM 배지에 재현탁시키고, 100,000 생세포/웰로 96 웰 플레이트에 시딩하였다. 실험 웰을 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온 3 또는 10μg/ml로 처리하였다. 처리한 지 48시간 후, 배양 배지를 신속히 100μl의 pHrodo Bioparticles 혼탁액(Life technologies)으로 대체하고, 세포를 상기 혼탁액 중 37°C에서 2 내지 3시간 동안 인큐베이팅하였다. 인큐베이션 후, 플레이트를 형광 플레이트 판독기를 사용하여 550nm/600nm(여기/방출)에서 스캐닝하였다. 형광 활성은 포식세포의 죽세포능을 반영한다. 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온 처리(효과%)의 영향을 양성 대조 웰에서의 죽세포능의 부분으로서 계산하였다(참조: Wan, CP.; et al., J. Immunol. Methods, 1993, 162, pp. 1-7).

6.1.3 결과

[0173] 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 우수한 CNS 침투를 나타낸다: 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 상기한 연구에 의해 래트에서 바람직한 약동학적 특성을 갖는 것으로 나타났다(참조: Zhu, D.; et al., Cancer Immunol. Immunother., 2008, 1849-1859). 상기 화합물은 상대적으로 느린 클리어런스(12.3mL/min/kg), 합당한 분포 용적(1.75L/kg) 및 허용되는 생체이용률(47.4%)을 갖는다. 표 1 및 도 1은 뇌 미세투석 데이터를 요약한 것이다. 포말리도마이드 50mg/kg을 래트에 경구 투여한 후, 혈중 비결합(unbound) 농도는 4.6±2.4시간에 1100±82ng/ml의 C_{MAX} 값 및 6800±2000ng · hr/mL의 AUC(_{0 10}) 값에 달했다. 그러나, 뇌 중의 비결합 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 4.1±1.5 시간에 430±63ng/ml의 C_{MAX} 값 및 2700±740ng · hr/mL의 AUC(_{0 10}) 값을 가져, 비결합 AUC_{혈액}에 대한 비결합 AUC_뇌

의 비율이 0.39 ± 0.03 이다. 이들 값은 우수한 혈액-뇌-장막 침투와 일치한다. 이 연구에서 수득된 결과는 마우스에 경구 투여된 후의 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 전뇌 함량을 살피는 동시에 연구에서 나타난 값과 일치했다.

[0174] 표 1: 포말리도마이드를 각각 5mg/kg 및 50mg/kg 단일 IV 및 PO 투여한 후의 단식시킨 숫컷 CD-IGS 래트에서의 포말리도마이드의 약동학적 매개변수. 포말리도마이드 50mg/kg을 단일 PO 투여한 후의 숫컷 CD-IGS 래트에서의 포말리도마이드에 대한 평균 비결합 혈액 및 뇌 미세투석 매개변수

IV PK 매개변수	평균 \pm SD		PO PK 매개변수	평균 \pm SD	
	CC-4047, n=5, 5 mg/kg ^a	CC-4047, n=4, 50 mg/kg ^b		C _{max} (ng/mL)	3372 \pm 758
CL (mL/min/kg)	12.3 \pm 2.6		T _{max} (hr)	2.0 \pm 0.0	
V _{ss} (L/kg)	1.75 \pm 0.2		AUC ₍₀₋₂₄₎ (ng·hr/mL)	33155 \pm 8561	
T _{1/2} (hr)	2.44 \pm 0.8		F (%)	47.4 \pm 15.2	
AUC _(0-inf) (ng·hr/mL)	7016 \pm 1551				

미세투석			평균 \pm SD	
PO PK 매개변수 (50 mg/kg C, n=3)	뇌	혈액		
C _{max} (ng/mL)	430.0 \pm 63	1100 \pm 82		
T _{max} (hr)	4.10 \pm 1.5	4.6 \pm 2.4		
AUC ₍₀₋₁₉₎ (ng·hr/mL)	2700 \pm 740	6800 \pm 2000		
AUC 비율 (뇌:혈액)		0.39 \pm 0.03		

[0175]

[0176]

^a 디메틸아세트아미드/PEG400/염수(10/50/40) 용액

[0177]

^b 수중 0.5% CMC/0.25% Tween 80 혼탁액

[0178]

^c 수중 0.5% CMC/0.25% Tween 80 혼탁액

[0179]

단일 제제 경구 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 쥐과 동물 모델에서의 CNS 림프종에 대해 현저한 전임상 치료 활성을 갖는다: 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 Raji 및 OCI-LY 10 쥐과 정위 모델(orthotopic model) 둘 다에서의 CNS 림프종에 대해 현저한 전임상 치료 활성을 나타냈다. 결과는 3mg, 10mg 및 30mg/kg 용량 수준의 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온이 종양 성장 감소 및 생존 연장 면에서 통계적으로 유의한 치료 활성을 나타낸 바 CNS 림프종에 대해 용량 의존성 치료 활성이 있음을 나타냈다(도 2 참조). 종양 성장 제어와 생존 연장 상이에 양호한 연관성이 있다. Raji 모델에서의 중간값 생존은 비히를 대조군의 21일에 비해 31일(30mg/kg), 27일(10mg/kg), 28일(3mg/kg) 및 24일(0.3mg/kg)이었다(도 2a 참조). OCI-LY 10 모델에서의 중간값 생존(median survival)은 비히를 대조군의 26일에 비해 40일(30mg/kg), 37일(10mg/kg) 및 32일(3mg/kg)이었다(도 2b 참조). 체중 차트는 3mg, 10mg 및 30mg/kg 처리 그룹에서의 마우스가 대조군에 비해 체중을 더 잘 유지했음을 나타냈다.

[0180]

Raji 모델로 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온과 주 1회 텍사메타손과의 조합에 대해서도 실험하였고, 텍사메타손의 침가가 생존을 추가로 개선시키는 것으로 나타났다. 경구 텍사메타손 20mg/kg 을 주 1회로 4주 동안 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온에 침가하면 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 10mg 및 30mg/kg 용량 수준에서의 결과가 개선된다. 텍사메타손을 주 1회로 10mg 및 30mg/kg 용량 수준의 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온에 침가함으로써, 중간값 생존이 각각 3일 및 5일 연장되었다(도 10 참조).

[0181]

4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 CNS 림프종의 종양 미세환경에 중대 영향을 미친다: CNS 미세환경은 CNS 림프종에 중요한 역할을 한다(참조: Jiang, L.; et al., Int. J. Clin. Exp. Pathol., 2010, 3, pp. 763-767; Tun, H.W.; et al., Blood, 2008, 111, pp. 3200-3210). 수확된 쥐과 동물 뇌에 대한 전임상 평가로부터의 면역조직화학 연구는 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온 처리가 Iba-1 염색에 의한 포식세포의 수를 현저히 증가시켰음을 나타냈다(도 3a 및 4a 참조). M2 편

광의 마커로서의 Ym1 및 M1 편광의 마커로서의 iNOS를 사용하여 포식세포를 추가로 연구하였더니, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온 처리가 M2 편광된 종양 관련 포식세포의 현저한 감소 및 M1 편광된 포식세포 수의 현저한 증가와 연관되어 있는 것으로 밝혀졌다(도 3b, 4b 및 11 참조). 이러한 결과는 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온 처리가 포식세포의 편광 상태에 중대한 영향을 미치는 것을 암시한다. 추가로, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온 처리는 또한 CD335 염색에 의한 NK 세포 수를 현저히 증가시킨다(도 5 참조). 포식세포 및 NK 세포 수의 증가는 이식 부위의 반대쪽에 있는 뇌반구에 비해 종양에서 더 뚜렷하였다.

[0182] 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 포식세포의 생명 작용에 중대 영향을 미친다: 생체내 전임상 평가로 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온 처리가 CNS 림프종 미세환경에서의 포식세포에 중대한 면역조절 영향을 미치는 것으로 나타났기 때문에, 본 출원인은 포식세포의 편광 상태에 주안점을 두고 포식세포의 생명 작용에 대한 상기 화합물의 영향을 추가로 설명하기 위해 시험관내 실험을 진행하였다.

[0183] 포식세포의 편광 상태에 대한 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 영향은 원발성 쥐과 동물 미세아교세포, 원발성 쥐과 동물 복막 포식세포 및 사람 단핵구 세포주(U937)를 포함한 다양한 세포 모델로 연구되었다. CNS 림프종 미세환경에는 IL-4가 풍부하고 IL-4는 포식세포의 M2 편광을 유도하는 것으로 공지되어 있기 때문에, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온 처리의 존재하 또는 부재하의 IL-4 처리를 U937(도 6 참조), 원발성 미세아교세포(도 11 참조) 및 원발성 복막 포식세포(도 12 참조)에 대해 실험하였다(참조: Kadoch, C; et al., Clin. Cancer Res., 2009, 15, pp. 1989-1997; Rubenstein, J.L.; et al., Blood, 2006, 107, pp. 3716-3723; Mantovani, A.; et al., Trends Immunol., 2002, 23, pp. 549-555). 이들 세포는 IL-4 및 후속적으로 DMSO를 사용한 처리로 pSTAT6 및 YM1/FXIIIA를 발현했는데, 이는 IL-4/STAT6 신호 경로를 통한 M2 편광을 가리킨다(참조: Kadoch, 2009). 상기 세포를 IL-4 및 후속적으로 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온을 사용하여 처리한 경우, 상기 세포는 pSTAT1 및 iNOS를 발현했고 pSTAT6 및 YM1/FXIIIA는 발현하지 않았는데, 이는 STAT1 신호의 활성화 및 STAT6 신호의 불활성화를 통해 포식세포의 편광이 M2에서 M1으로 전환되었음을 가리킨다. 이렇게 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온은 IL-4 유도된 포식세포의 M2 편광을 반전시키고 포식세포를 M1 편광 상태로 전환시킬 수 있다.

[0184] 림프종 연관 포식세포에 대한 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 영향을 설명하기 위해, 세 개의 사람 세포주를 사용하여 세포 배양 실험을 수행하였다: 림프종 세포주(Raji 또는 OCI-LY 10) 및 사람 단핵구 세포주(U937)를 사람 NK 세포주(YTS)의 존재하 또는 부재하에 배양하였다. U937 세포가 림프종 세포와 공생배양되는 경우(도 7a 및 8a 참조), pSTAT6 및 YM1/FXIIIA를 발현하며 M2 편광 상태가 되었다. 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온 처리는 포식세포의 M2 편광을 방지하나, M1 편광으로는 유도하지 않았다. YTS 세포, 림프종 세포 및 U937 세포의 삼종 세포 배양 실험(도 7b 및 8b 참조)에서, U937 세포는 M2 편광 상태로 되었고, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온으로 처리하였더니 상기 세포는 pSTAT1 및 iNOS의 발현과 함께 M1 편광 상태가 되었다. 이러한 결과를 기초로 할 때, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온 처리는 종양 연관된 포식세포의 편광 상태에 중대 영향을 미쳐 상기 세포의 M2 편광을 억제하고, NK 세포의 존재하에서는 상기 세포의 편광 상태를 M2에서 M1으로 전환시킨다.

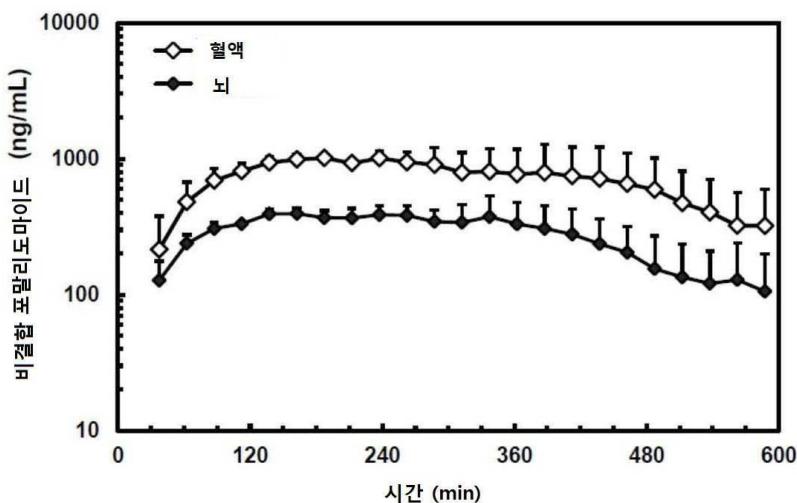
[0185] 상기 결과를 추가로 확인하고 전임상 생체내 연구에서 일어난 것을 시뮬레이팅하기 위해, 원발성 쥐과 동물 미세아교세포 및 림프종 세포를 원발성 쥐과 동물 NK 세포의 존재하 또는 부재하에 공생배양하는 세포 배양 실험을 수행하였다. 원발성 미세아교세포를 림프종 세포(Raji 또는 OCI-LY 10)와 공생배양하는 경우(도 13a 및 14a 참조), 상기 세포는 Ym1 및 pSTAT6의 발현과 함께 M2 편광 상태가 되었다. 상기 공생배양물을 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온으로 처리하였더니 미세아교세포에서 M2 편광이 관찰되지 않았고, M1 편광도 확인되지 않았다. 원발성 NK 세포, 림프종 세포 및 원발성 미세아교세포를 사용한 삼종 세포 배양 실험(도 13b 및 14b 참조)에서, 미세아교세포는 M2 편광 상태가 되었다. 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온으로 처리하였더니 미세아교세포는 pSTAT1 및 iNOS의 발현과 함께 M1 편광 상태가 되었다. 이렇게, 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온 처리는 미세아교세포를 림프종 세포와 공생배양하는 경우 미세아교세포의 M2 편광을 방지하고, NK 세포의 존재하에서는 상기 세포의 편광 상태를 M2에서 M1으로 전환시켰다.

[0186] 4-아미노-2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온의 포식세포에 대한 기능적 영향을 평가하기 위해 포식작용 검정을 수행하였다. 이 실험은 원발성 미세아교세포 및 사람 단핵구(U937)를 4-아미노-2-(2,6-디옥소-

피페리딘-3-일)-이소인돌린-1,3-디온으로 처리한 결과 상기 세포의 포식작용 활성이 현저히 증가되었음을 나타낸다(도 9 참조).

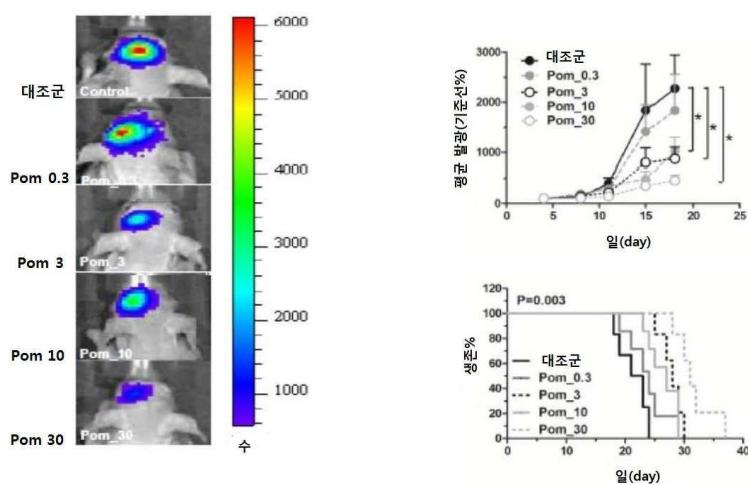
도면

도면1



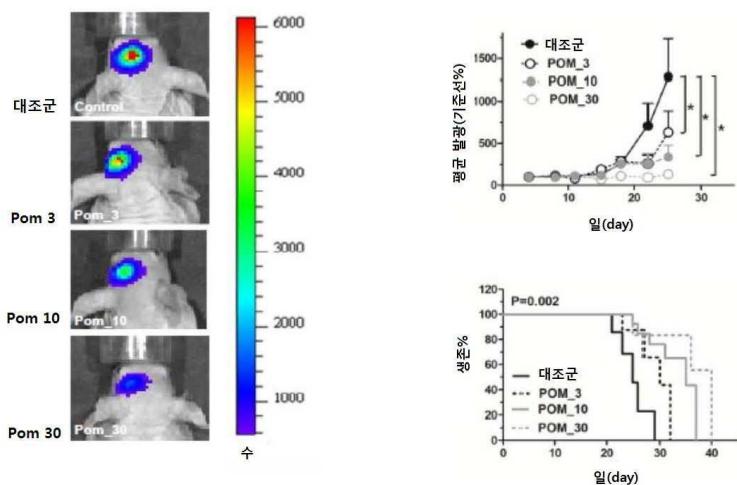
도면2a

A. Raji CNS 림프종 모델



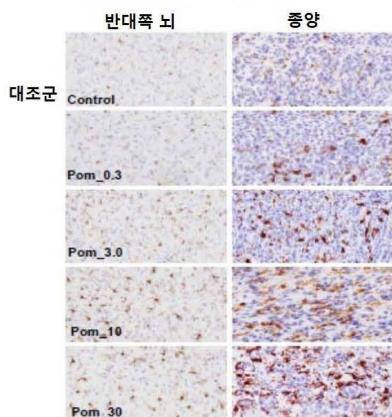
도면2b

B. OCI-LY10 CNS 림프종 모델

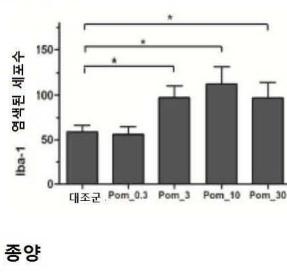


도면3a

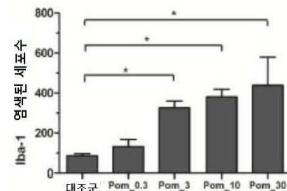
A-1. Iba-1 염색된 포식세포



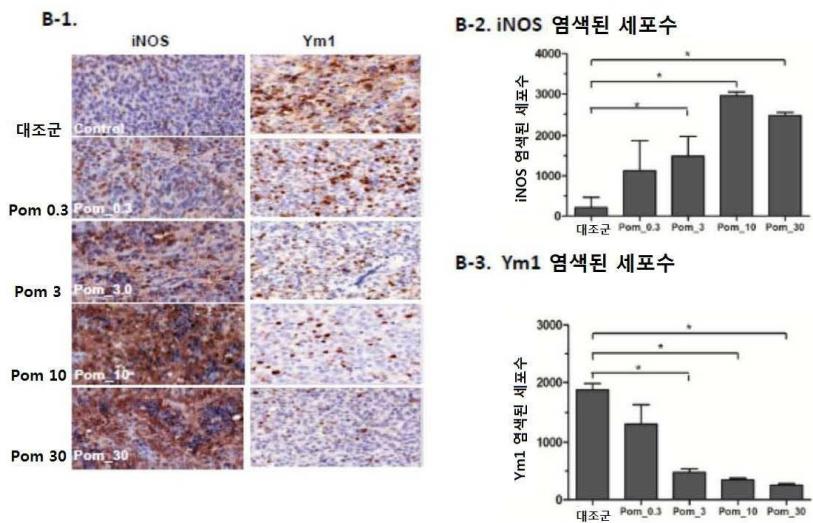
A-2. 반대쪽 뇌



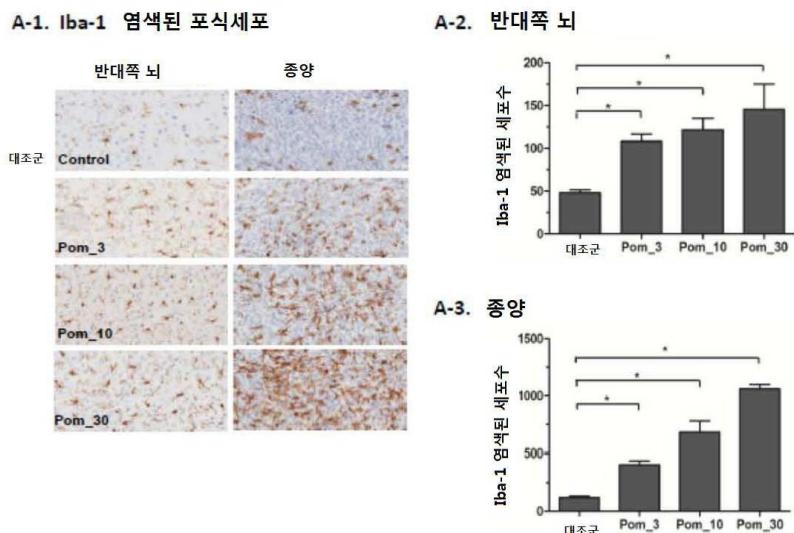
A-3. 종양



도면3b

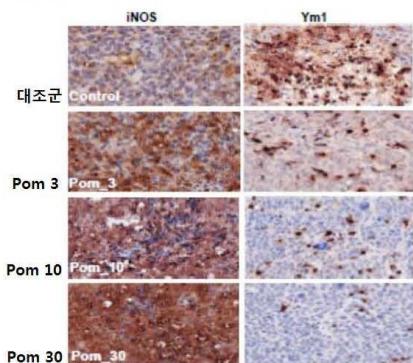


도면4a

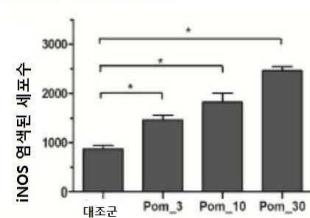


도면4b

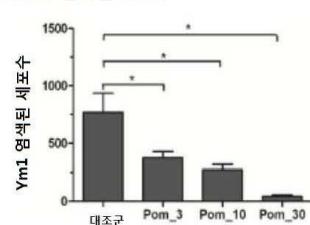
B-1.



B-2. iNOS 염색된 세포수

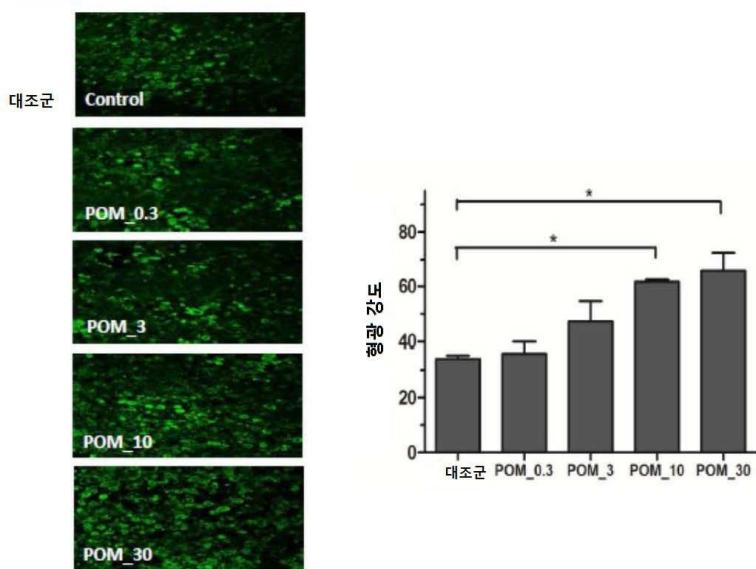


B-3. Ym1 염색된 세포수

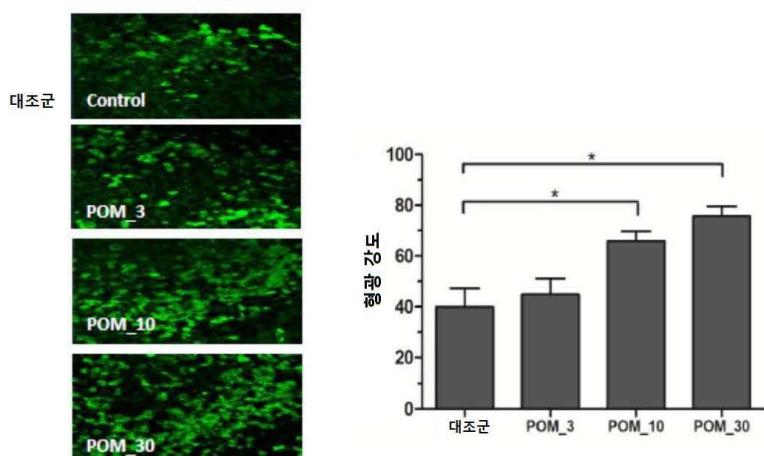


도면5

A. Raji CNS 림프종 모델

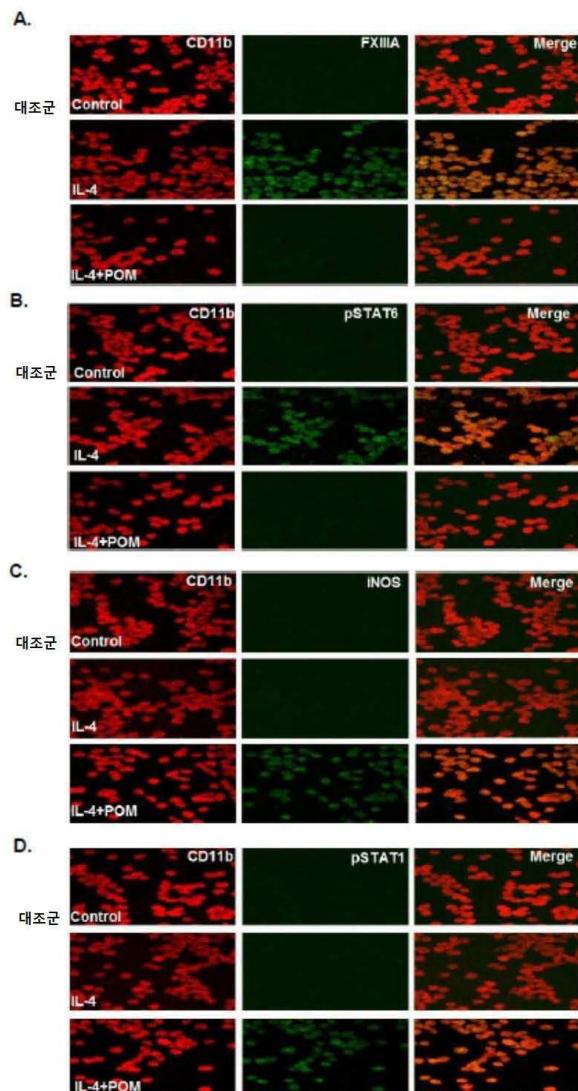


B. OCI-LY10 CNS 림프종 모델



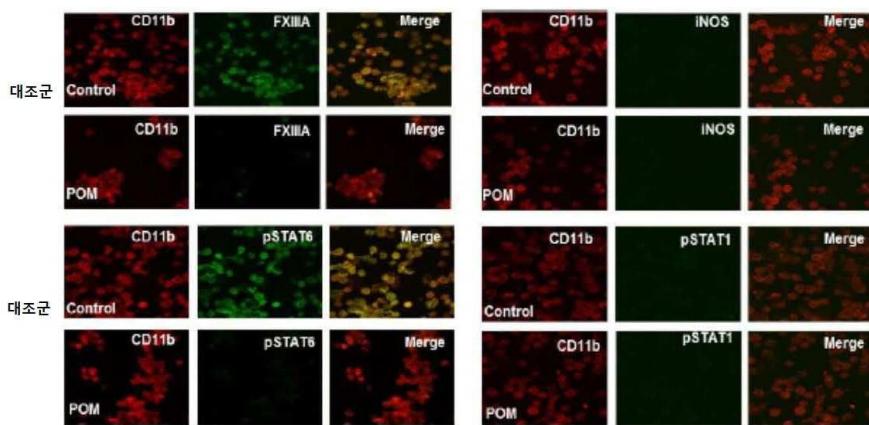
도면6

사람 단핵구 - U937



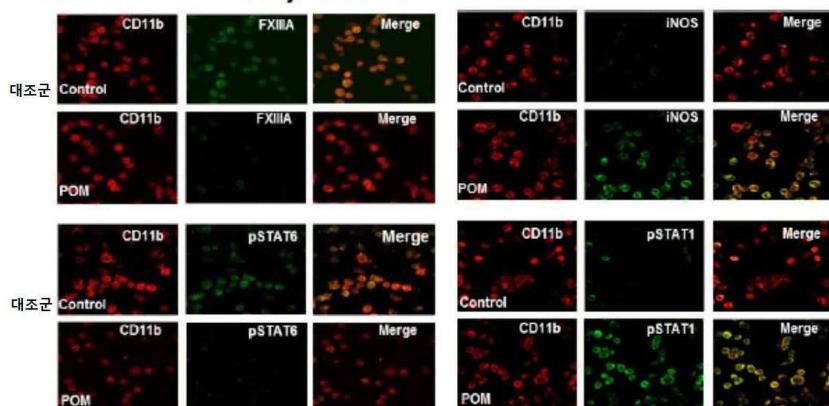
도면7a

A. 공생 배양 : Raji + U937



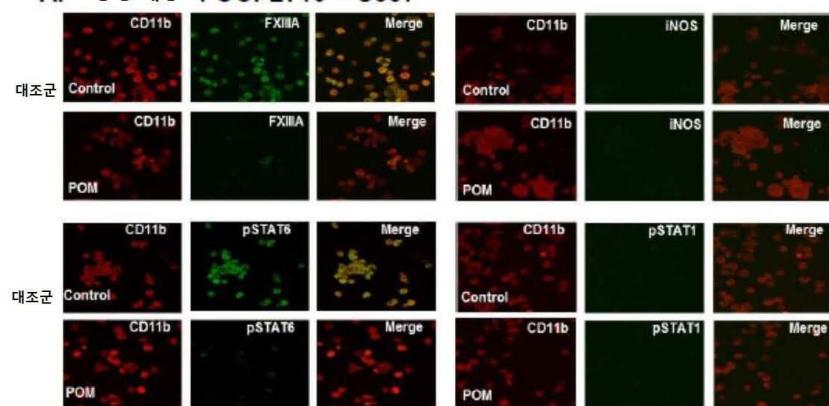
도면7b

B. 삼중 배양 : Raji+U937+YTS



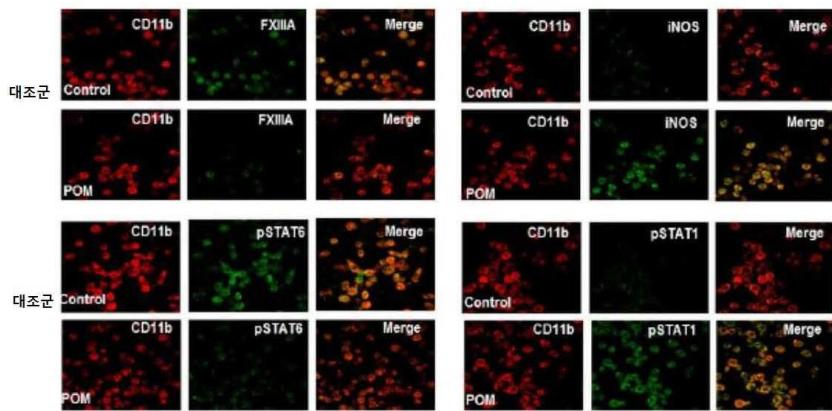
도면8a

A. 공생 배양 : OCI-LY10 + U937



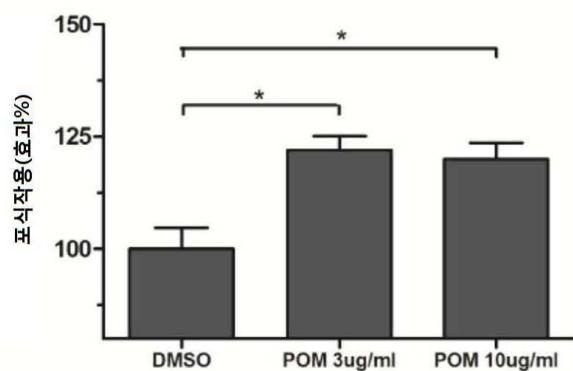
도면8b

B. 삼중 배양 : OCI-LY10+U937+YTS

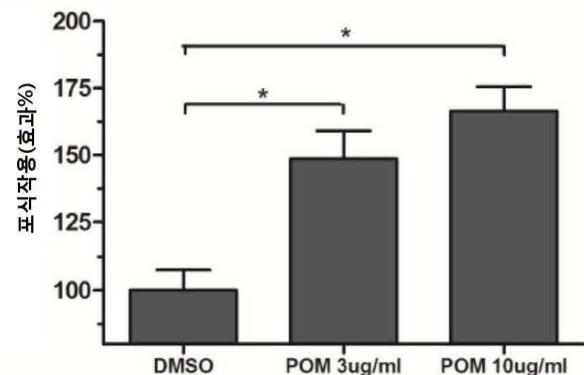


도면9

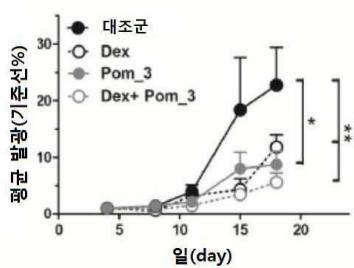
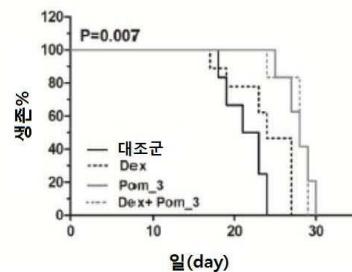
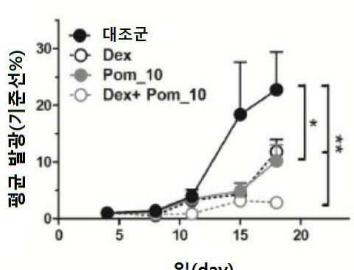
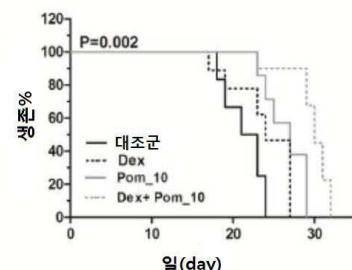
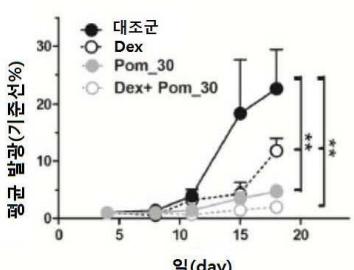
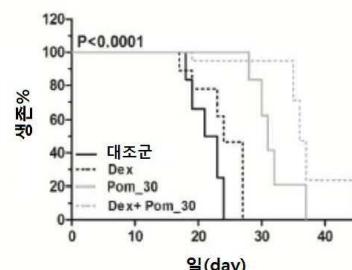
A. 원발성 미세아교세포



B. 사람 단핵구 U937

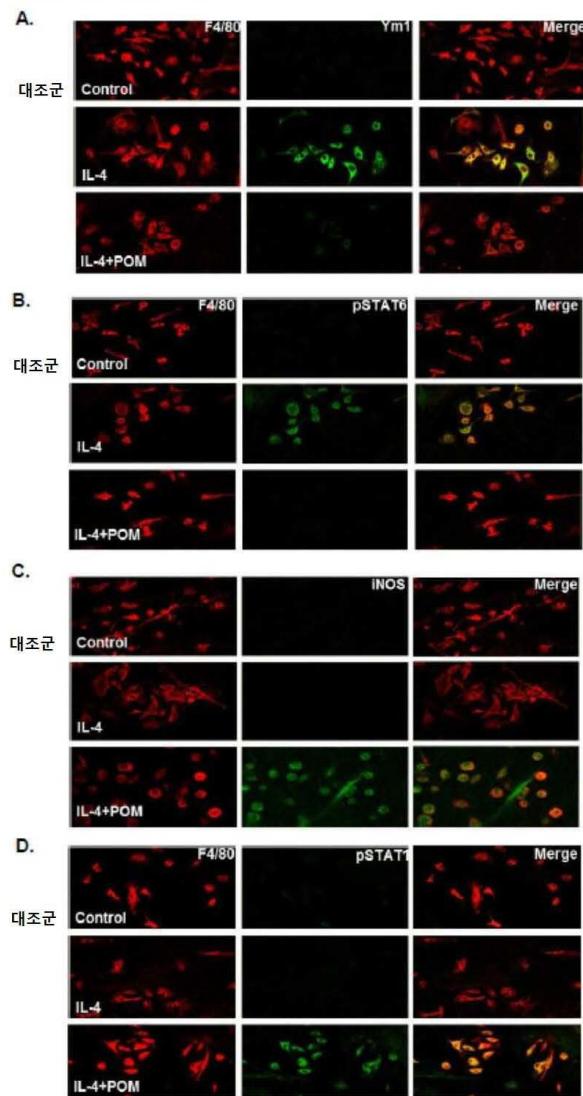


도면10

A.**B.****C.****D.****E.****F.**

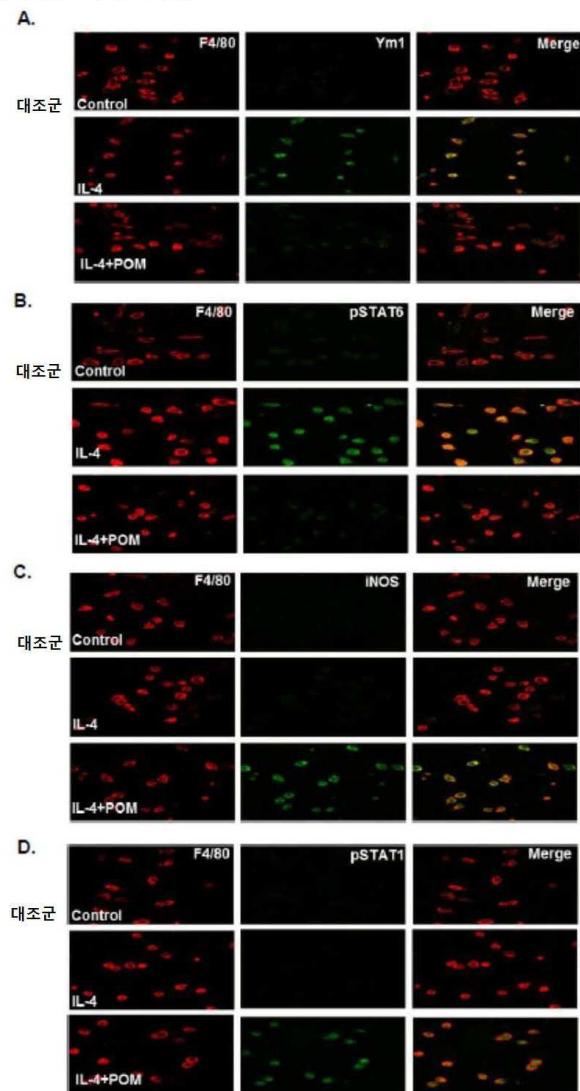
도면11

원발성 쥐과 동물 미세아교세포



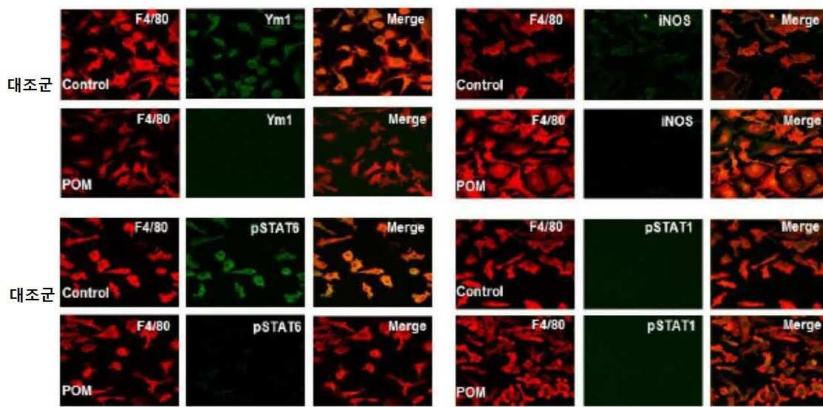
도면12

원발성 쥐과 동물 복막 포식세포



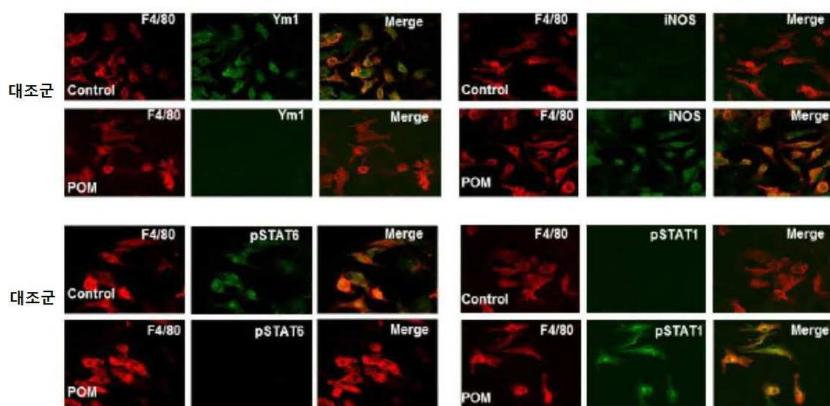
도면13a

A. 공생 배양 : Raji+ 미세아교세포



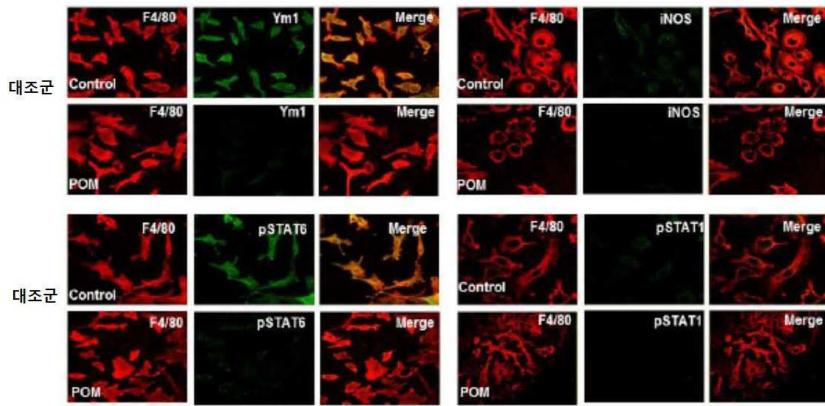
도면13b

B. 삼종 배양: Raji + 미세아교세포 + NK



도면14a

A. 공생 배양: OCI-LY 10 + 미세아교세포



도면14b

B. 삼중 배양: OCI-LY 10 + 미세아교세포 + NK

