



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0114532
(43) 공개일자 2022년08월17일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/231 (2006.01) A61K 31/675 (2006.01)
A61K 31/704 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 31/231 (2013.01)
A61K 31/675 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2022-7017330
- (22) 출원일자(국제) 2022년10월28일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2022년05월23일
- (86) 국제출원번호 PCT/IB2020/060104
- (87) 국제공개번호 WO 2021/084441
국제공개일자 2021년05월06일
- (30) 우선권주장
62/926,963 2019년10월28일 미국(US)

- (71) 출원인
주식회사 엔지켐생명과학
충청북도 제천시 바이오밸리로 59 (왕암동)
- (72) 발명자
손기영
서울특별시 영등포구 당산로 95, 104동 803호
김재화
대전광역시 유성구 과학로 125
윤선영
대전광역시 유성구 상대로 16, 503동 1701호
- (74) 대리인
특허법인 신우

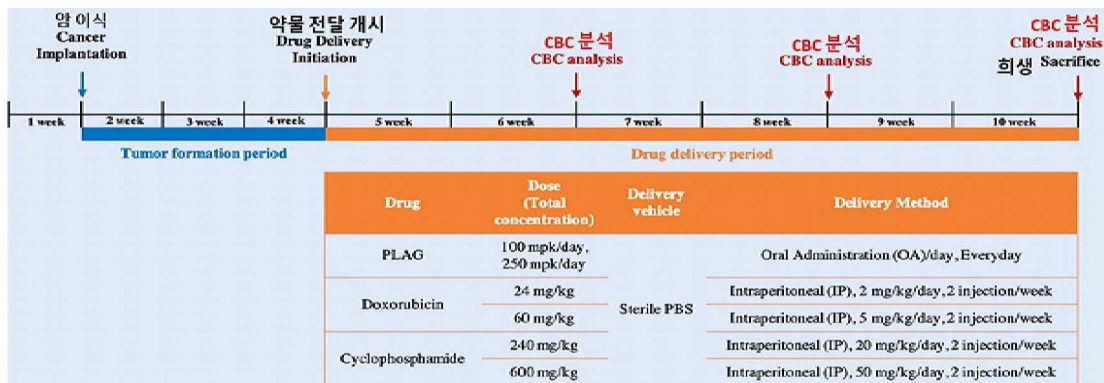
전체 청구항 수 : 총 29 항

(54) 발명의 명칭 암의 치료를 위한 방법 및 조성물

(57) 요약

한 측면에서, 고형 종양과 같은 신생물을 치료하기 위한 방법 및 조성물이 제공되며, 상기 방법 및 조성물은 a) 관목 억제제 또는 독소루비신 및/또는 시클로포사미드와 같은 하나 이상의 화학요법제; 및 b) 1-팔미토일-2-리놀레오일-3-아세틸글리세롤(PLAG)과 같은 모노아세틸 디아실글리세롤 화합물을 포함한다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 31/704 (2013.01)

A61K 45/06 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

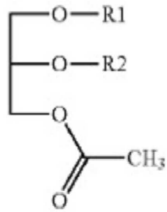
명세서

청구범위

청구항 1

암을 앓고 있는 대상체를 치료하는 방법으로서, 상기 대상체에게:

- a) 하나 이상의 화학요법제; 및
- b) 식 (I)의 모노아세틸 디아실글리세롤 화합물,



(I),

여기서 R1 및 R2는 독립적으로 14 내지 20개의 탄소 원자를 포함하는 지방산 기이고, 여기서 식 (I)의 화합물은

- a) 하나 이상의 화학요법제와 구별됨,
- 을 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 a) 하나 이상의 화학요법제가 면역 관문 억제제 물질을 포함하는 것인 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 하나 이상의 면역 체크포인트 억제제 물질은 펨브롤리주맙, 니볼루맙, 세미플리맙, 아테졸리주맙, 아벨루맙, 더발루맙 및/또는 s 이필루맙을 포함하는 것인 방법.

청구항 4

제2항 또는 제3항에 있어서, 상기 하나 이상의 면역 관문 억제제는 PD-L1 억제제를 포함하는 것인 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서 여기서 상기 a) 하나 이상의 화학요법제가 독소루비신을 포함하는 것인 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 a) 하나 이상의 화학요법제가 시클로포스파미드를 포함하는 것인 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 a) 하나 이상의 화학요법제가 AC-요법을 포함하는 것인 방법.

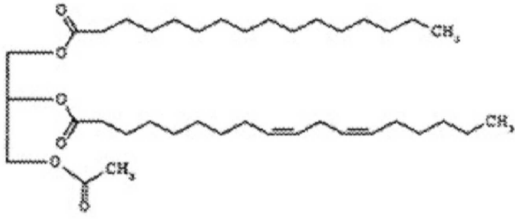
청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 a) 하나 이상의 화학요법제가 5-FU, 시스플라틴, 에토포시드, 이포스파미드, 메스나, 젬시타빈 및/또는 타목시펜인 것인 방법.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 모노아세틸 디아실글리세롤 화합물은 식 (II)의 화합물인 것인

방법:



(I)

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 a) 하나 이상의 화학요법제 및 b) 식 (I)의 화합물이 실질적으로 동시에 투여되는 것인 방법.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 a) 하나 이상의 화학요법제 및 b) 식 (I)의 화합물이 순차적으로 투여되는 것인 방법.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서 여기서 상기 대상체는 유방암을 앓고 있는 것인 방법.

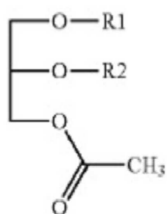
청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 고형 종양을 갖고 있는 것인 방법.

청구항 14

유방암을 앓고 있는 대상체를 치료하는 방법으로서, 상기 대상체에:

- a) 하나 이상의 화학요법제; 및
- b) 식 (I)의 모노아세틸 디아실글리세롤 화합물:



(I),

여기서 R1 및 R2는 독립적으로 14 내지 20개의 탄소 원자를 포함하는 지방산 기이고, 여기서 식 (I)의 화합물은

a) 하나 이상의 화학요법제와 구별됨,

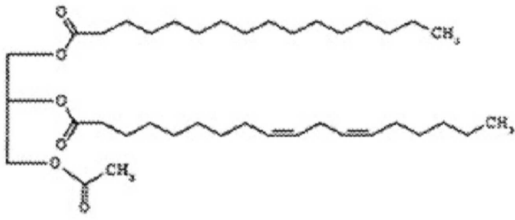
을 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 대상체는 AC-요법을 투여되는 것인 방법.

청구항 16

제14항 또는 제15항에 있어서, 상기 모노아세틸 디아실글리세롤 화합물은 식 (II)의 화합물인 것인 방법:



(II)

청구항 17

제14항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 a) 독소루비신 및/또는 시클로포사미드 및 b) 식 (I)의 화합물은 실질적으로 동시에 투여되는 방법.

청구항 18

제14항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 a) 독소루비신 및/또는 시클로포사미드 및 b) 식 (I)의 화합물은 순차적으로 투여되는 방법.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 투여가 종양 세포의 수를 감소시키는 것인 방법.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 사람인 것인 방법.

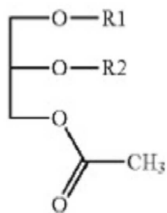
청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 또한 방사선, 추가 화학요법, 수술, 치료용 항체, 면역조절제, 프로테아좀 억제제, pan-DAC 억제제, H-DAC 억제제, 관목 억제제, CAR T와 NK 세포 요법을 포함하는 입양 세포 요법 및/또는 백신으로 치료되는 것인 방법.

청구항 22

암의 치료를 위한 키트로서:

- a) 하나 이상의 화학요법제; 및
- b) 식 (I)의 모노아세틸 디아실글리세롤 화합물,



(I),

여기서 R1 및 R2는 독립적으로 14 내지 20개의 탄소 원자를 포함하는 지방산 기이고, 여기서 식 (I)의 화합물은 a) 하나 이상의 화학요법제와 구별됨,

을 포함하는 키트.

청구항 23

제22항에 있어서, 상기 a) 하나 이상의 화학요법제는 면역 관문 억제제 물질을 포함하는 것인 키트.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 하나 이상의 면역 체크포인트 억제제 물질은 펌브로리주맵, 니볼루맵, 세미플리맵, 아테

줄리주맙, 아벨루맙, 더발루맙 및/또는 이필무맙을 포함하는 것인 키트.

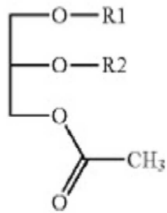
청구항 25

제23항 또는 제24항에 있어서, 상기 하나 이상의 면역 관목 억제제는 PD-L1 억제제를 포함하는 것인 키트.

청구항 26

암의 치료를 위한 키트로서:

- a) 독소루비신 및/또는 시클로포사미드; 및
- b) 식 (I)의 모노아세틸 디아실글리세롤 화합물,



(I),

여기서 R1 및 R2는 독립적으로 14 내지 20개의 탄소 원자를 포함하는 지방산 기이고, 여기서 식 (I)의 화합물은 a) 하나 이상의 화학요법제와 구별됨, 을 포함하는 키트.

청구항 27

제22항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 암의 치료를 위한 지침을 추가로 포함하는 것인 키트.

청구항 28

제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 지침은 서면 제품 삽입물 또는 제품 라벨링인 것인 키트.

청구항 29

제27항 또는 제28항에 있어서, 상기 지침은 유방암의 치료를 위한 것인 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 한 측면에서, 종양과 같은 신생물(neoplasia)을 치료하기 위한 방법 및 조성물이 제공되며, 상기 방법 및 조성물은 a) AC-요법(regimen)과 같은 하나 이상의 화학요법제(chemotherapeutic agents) 및 b) 1-팔미토일-2-리놀레오일-3-아세틸글리세롤(1-palmitoyl-2-linoleoyl-3-acetylglycerol)(PLAG)과 같은 모노아세틸 디아실글리세롤(monoacetyl diacylglycerol) 화합물을 포함한다.

배경 기술

[0002] 암은 비정상적이고 통제되지 않은 세포 성장이 특징이다. 암은 신체의 임의의 조직을 침범할 수 있으며 원래(origin)의 조직 외부로 퍼질 수 있다. 통제되지 않은 증식 및 기타 세포 이상은 악성 종양의 형성으로 이어질 수 있다. 종양은 그들이 발생한 상기 조직의 기능을 방해하고 파괴할 수 있으며, 암 세포가 전이되면, 2차 종양이 1차 성장의 부위 근처에서 또는 다르게 발달할 수 있다. 암의 원인들은 다양한 화학 물질, 바이러스, 박테리아 및 환경 노출과 관련이 있다.

[0003] 따라서 개선된 암 치료법을 갖는 것이 바람직할 것이다.

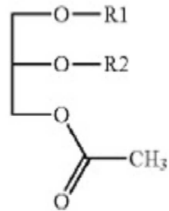
발명의 내용

해결하려는 과제

- [0004] 한 측면에서, 우리는 이제 암으로 고통받는 환자의 치료와 예방을 위한 새로운 치료법을 제공한다.
- [0005] 한 측면에서, 식 (I)의 모노아세틸 디아실글리세롤 화합물의 투여와 함께 하나 이상의 화학요법제의 투여를 포함하는, 환자에서 종양 성장을 감소 또는 억제하기 위한 방법 및 조성물이 제공되며, 이는 식 (I)의 상기 화합물은 하나 이상의 화학요법제와 구별된다.
- [0006] 우리는 놀랍게도 식 (I)의 모노아세틸 디아실글리세롤 화합물 및 하나 이상의 화학요법제의 공동 투여가 종양 크기/부담(burden) 감소에 있어서 상승적 효과를 생성할 수 있음을 발견하였다. 예를 들어, 다음의 실시예 1 및 3의 결과를 참조한다.

과제의 해결 수단

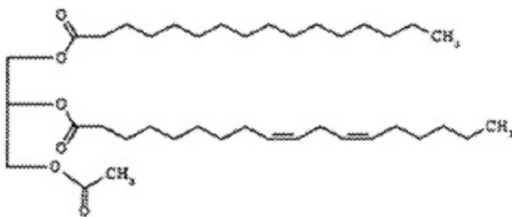
- [0007] 한 측면에서, 본 방법은 종양 또는 기타 신생물이 있는 인간과 같은 대상체에게 치료적으로 유효량을 투여하는 것을 포함한다:
- [0008] a) 하나 이상의 화학요법제; 및
- [0009] b) 식 (I)의 모노아세틸 디아실글리세롤 화합물:



(I),

- [0011] 여기서 R1 및 R2는 독립적으로 14 내지 20의 탄소 원자를 포함하는 지방산기이다. 식 (I)의 상기 b) 화합물은 상기 a) 하나 이상의 화학요법제와 구별된다. 상기 a) 하나 이상의 화학요법제 및 b) 식 (I)의 화합물은 조합 또는 다른 조정된(coordinated) 방식으로 환자에게 적합하게 투여된다.

- [0012] 바람직한 측면에서, 상기 b) 모노아세틸 디아실글리세롤은 식 II의 화합물이다:



(II)

- [0014] 식 (II)의 상기 화합물은 또한 PLAG(1-팔미토일-2-리놀레오일-3-아세틸글리세롤) 또는 EC-18로 지칭된다.
- [0015] 바람직한 측면에서, PLAG에 더하여 상기 하나 이상의 화학요법제는 하나 이상의 면역 관문 억제제(immune checkpoint inhibitor) 화합물 또는 물질(agent)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 면역 관문 억제제는 단클론 항체(monoclonal antibody) 또는 그것의 단편(fragment)을 포함하는, 항체 또는 그것의 단편이다.
- [0016] 본 발명의 조성물 및 방법에 사용하기 위한 바람직한 관문 억제제 물질(checkpoint inhibitor agent)은, 펌브롤리주맙(Pembrolizumab)(Keytruda), 니볼루맙(Nivolumab)(Opdivo); 및 세미플리맙(Cemiplimab)(Libtayo)과 같은 PD-1 억제제다. 본 발명의 조성물 및 방법에 사용하기 위한 추가적인 바람직한 관문 억제제 물질은 아테졸리주맙(Atezolizumab)(Tecentriq); 아벨루맙(Avelumab)(Bavencio); 및 더발루맙(Durvalumab)(Imfinzi)와 같은 PD-L1 억제제다. 본 발명의 조성물 및 방법에 사용하기 위한 추가적인 바람직한 관문 억제제 물질은 이필무맙(Ipilimumab)(Yervoy)와 같은 CTLA-4 억제제를 포함한다.
- [0017] 특정 바람직한 측면에서, 상기 관문 억제제는 PD-L1 억제제다.
- [0018] 우리는 놀랍게도 식(I)의 모노아세틸 디아실글리세롤 화합물 및 하나 이상의 관문 억제제 물질의 공동 투여가

종양 크기/부담 감소를 포함하는, 암 치료 효과에서 상승적 효과를 생성할 수 있음을 발견하였다. 실시예 3을 참조한다.

- [0019] 특정 바람직한 측면에서, 상기 하나 이상의 화학요법제는 독소루비신(doxorubicin)을 포함한다.
- [0020] 추가의 바람직한 측면에서, 상기 하나 이상의 화학요법제는 시클로포스파미드(cyclophosphamide)를 포함한다.
- [0021] 특정 측면에서, 상기 하나 이상의 화학요법제는 독소루비신 및 시클로포스파미드 둘 다 모두를 포함하고, 이들 물질(agent)은 적어도 실질적으로 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다.
- [0022] 추가의 바람직한 측면에서, 상기 하나 이상의 화학요법제는 5-FU(5-플루오로우라실(5-fluorouracil)) 및/또는 시스플라틴(cisplatin)을 포함한다.
- [0023] 특히 바람직한 측면에서, 상기 하나 이상의 화학요법제는 독소루비신 히드로클로라이드(doxorubicin hydrochloride)(Adriamycin) 및 시클로포스파미드와 같은 독소루비신을 포함하는 AC 요법을 포함한다.
- [0024] 특히 바람직한 측면에서, 상기 하나 이상의 화학요법제는 파클리탁셀(paclitaxel)(Taxol)로 치료가 이어지는, 독소루비신 히드로클로라이드(Adriamycin) 및 사이클로포스파미드와 같은 독소루비신을 포함하는 AC-T 또는 AC-탁솔(AC-Taxol) 요법을 포함한다.
- [0025] 본 방법에 따라 대상체에게 투여될 수 있는 다른 화학요법제는 예를 들어 시클로포스파미드 에토포시드(cyclophosphamide etoposide), 이포스파미드(ifosfamide), 메스나(mesna), 젬시타빈(gemcitabine) 및/또는 타목시펜(tamoxifen), 또는 하나 이상의 다른 화학요법제를 포함한다.
- [0026] 특정 실시양태에서, 본 발명의 상기 치료 접근법은 또한 다음 요법 중 임의의 것과 조합될 수도 있다: 방사선(radiation), 화학요법(chemotherapy), 수술(surgery), 치료용 항체(therapeutic antibodies), 면역조절제(immunomodulatory agents), 프로테아좀 억제제(proteasome inhibitors), pan-DAC 억제제, H-DAC 억제제, 관목 억제제, CAR T와 NK 세포 치료를 포함하는 입양 세포 치료(adoptive cell therapies) 및 백신이 포함된다.
- [0027] 본 발명의 특정 측면에서, 상기 a) 하나 이상의 화학요법제는 과립구-집락 자극 인자(granulocyte-colony stimulating factor)(G-CSF)를 포함하지 않는다. 특정 측면에서, 대상체는 여기에 개시된 상기 방법, 조성물 또는 키트와 함께 또는 일부로서 과립구-집락 자극 인자(G-CSF)를 투여받지 않는다. 특정 측면에서, 대상체는 상기 a) 하나 이상의 화학요법제 및 b) 여기에 개시된 바와 같은 식(I)의 화합물로 치료되기 전에, 적어도 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8주 이상 동안 과립구-집락 자극 인자(G-CSF)를 투여되지 않았고/않았거나 대상체는 상기 a) 하나 이상의 화학요법제 및 b) 여기에 개시된 바와 같은 식(I)의 화합물로 치료된 후, 적어도 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8주 이상 동안 과립구-집락 자극 인자(G-CSF)를 투여되지 않았다.
- [0028] 추가적인 측면에서, a) 독소루비신 및/또는 하나 이상의 관목 억제제 화합물과 같은 하나 이상의 화학요법제; 및 b) 상기 a) 하나 이상의 화학요법제와 구별되는 PLAG(1-팔미토일-2-리놀레오일-3-아세틸글리세롤)와 같은 모노아세틸 디아실글리세롤 화합물을 포함하는 약학적 조성물이 제공된다.
- [0029] 또 다른 측면에서, 키트는 고행 종양을 포함하는 신생물을 치료 또는 예방에 사용하기 위해 제공된다. 본 발명의 키트는 적합하게 a) 하나 이상의 화학요법제; 및 b) 상기 a) 하나 이상의 화학요법제와 구별되는 PLAG(1-팔미토일-2-리놀레오일-3-아세틸글리세롤)와 같은 모노아세틸 디아실글리세롤 화합물을 포함할 수 있다. 바람직하게, 키트는 a) 하나 이상의 화학요법제 및 b) PLAG와 같은 모노아세틸 디아실글리세롤 화합물의 각각의 치료적으로 효과적인 양을 포함할 것이다. 바람직한 키트는 또한 유방암을 포함하는, 고행 종양과 같은 신생물을 치료하기 위한 a) 하나 이상의 화학요법제 및 b) PLAG와 같은 모노아세틸 디아실글리세롤 화합물의 사용에 대한 설명서를 포함할 수 있다. 상기 지침은 적절하게 제품 라벨을 포함하는, 서면 형식일 수 있다.
- [0030] 본 발명의 방법, 조성물 및 키트는 다양한 유형의 신생물 및 암으로 고통받는 대상체를 치료하는데 사용될 수 있다. 특정 측면에서, 상기 방법, 조성물 및 키트는 유방암으로 고통받는 대상체를 치료하는데 사용될 수 있다.
- [0031] 특정 측면에서, 본 발명의 방법은 고행 종양 또는 유방암과 같은 신생물로 고통받는 대상체를 확인 및 선택하고, 이어서 상기 선택된 대상체에게 상기 a) 하나 이상의 화학요법제 및 b) PLAG와 같은 모노아세틸 디아실글리세롤 화합물을 투여하는 것을 포함한다.

발명의 효과

- [0032] 논의된 바와 같이, 특정 측면에서, 여기에 개시된 조성물 및 키트는 과립구-집락 자극 인자(G-CSF)를 포함하지

않는다.

[0033] 본 발명의 다른 측면이 하기에 개시된다.

도면의 간단한 설명

[0034] 본 특허 또는 출원 파일은 컬러로 실행된 적어도 하나의 도면이 포함된다. 컬러 도면(들)이 포함된 본 특허 또는 특허 출원 간행물의 사본은 요청 및 필요한 수수료 지불 시 특허청에서 제공될 것이다.

도 1은 PLAG 및 AC-요법의 동시 치료를 사용하여 종양의 치료적인 효능에 대한 상승 효과를 조사하기 위한 예시적인 실험 설계를 나타낸다.

도 2A-2J는 PLAG 및 AC 요법을 공동-투여의 시너지 효과를 보여준다. 양성 대조군과 비교: *P<0.05, ***P<0.001 (각 실험 n=5). 요법 처리군과 비교: #P<0.05, ###P<0.01 (각 실험 n=5). N.S., 중요하지 않음)

도 2A는 AC-요법 치료(2/20) 및 PLAG 동시-치료 동안 이종이식(Xenograft) 마우스에서 주간 기록된 종양 질량의 변화를 나타낸다.

도 2B는 희생일에 측정된 도 2A에서 각 그룹의 종양 중량의 분석을 나타낸다.

도 2C는 도 2A에 도시된 AC-요법(2/20) 및 PLAG 공동-치료 동안 이종이식 마우스의 종양 질량을 나타낸다.

도 2D는 도 2A의 AC-요법 치료(2/20) 및 PLAG 공동-치료 후 상기 희생된 마우스에서 종양 조직의 염색 및 세포자멸사 관련 단백질 발현(apoptosis-related protein expression)을 나타낸다.

도 2E는 도 2A에 도시된 AC-요법(2/20) 및 PLAG 공동-치료 후 희생 시 종양 조직에서 세포자멸사 관련 단백질 발현 수준의 변화를 나타낸다.

도 2F는 도 2A에 도시된 AC-요법 치료(5/50) 및 PLAG 공동-치료 동안 이종이식 마우스의 주간 기록된 종양 질량의 변화를 나타낸다.

도 2G는 희생일에 측정된 도 2F에서 각 그룹의 종양 중량의 분석을 나타낸다.

도 2H는 도 2F에 도시된 AC-요법(5/50) 및 PLAG 공동-치료 동안 이종이식 마우스들의 종양 질량을 나타낸다.

도 2I는 도 2F의 AC-요법 치료(5/50) 및 PLAG 공동-치료 후 상기 희생된 마우스들의 종양 조직의 염색 및 세포자멸사 관련 단백질 발현을 나타낸다.

도 2J는 도 2F의 AC-요법(5/50) 및 PLAG 공동-치료 후 희생 시 종양 조직의 세포자멸사 관련 단백질 발현 수준의 변화를 나타낸다. ###P<0.01 (각 실험 n=5). N.S., 중요하지 않음.

도 3A-3D는 PLAG와 AC-요법을 함께 투여하는 동안 호중구 주화성(neutrophil chemotaxis)의 억제(suppression) 또는 억제(inhibition)를 나타낸다.

도 3A는 항체와 면역조직화학을 사용한 종양 침윤 호중구의 검증을 나타낸다. 항-Ly6C+/Ly6G+ 항체 및 항-Ly6G+ 단독 항체가 사용되었다.

도 3B는 종양 침윤 호중구의 평가를 나타낸다. 음성 대조군과 비교: *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001(각 실험 n=5). N.S., 중요하지 않다. AC-요법 그룹과 비교: #P<0.05, ##P<0.01, ###P<0.001(각 실험 n=5). N.S.', 중요하지 않다.

도 3C는 혈액 내 호중구 화학-주성(chemo-taxis)과 관련된 케모카인 분비의 평가를 나타낸다: *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001(각 실험 n=5). N.S., 중요하지 않다. AC-요법 대조군과 비교: #P<0.05, ##P<0.01, ###P<0.001(각 실험 n=5). N.S.', 중요하지 않다.

도 3D는 혈액 내 호중구의 평가를 나타낸다: *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001(각 실험 n=5). N.S., 중요하지 않다. AC-요법 대조군과 비교: #P<0.05, ##P<0.01, ###P<0.001(각 실험 n=5). N.S.', 중요하지 않다.

도 4A-4G는 PLAG 처리에 의한 암의 성장 억제를 나타낸다.

도 4A는 이종이식 마우스들에서 종양 중량에 대한 PLAG의 효과를 나타낸다.

도 4B는 희생일에 이종이식 마우스들에서 종양 중량의 확인을 나타낸다. 양성 대조군과 비교: *P<0.05,

***P<0.001(각 실험 n=5).

도 4C는 PLAG 처리된 이종이식 마우스들에서 매주 계산된 종양 질량의 변화를 나타낸다. 도 4D는 면역조직화학 물질을 이용한 종양 침윤 호중구의 검증을 나타낸다. 양성 대조군과 비교: *P<0.05, **P<0.01(각 실험 n=5).

도 4E는 혈액 내 호중구 화학-주성과 관련된 케모카인 분비의 평가를 나타낸다: 음성 대조군과 비교; *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001(각 실험 n=5). N.S., 중요하지 않다. 양성 대조군과 비교; #P<0.05, ##P<0.01, ###P<0.001(각 실험 n=5). N.S.', 중요하지 않다.

도 4F는 면역조직화학을 사용하여 종양에서 호중구 화학주성 관련 케모카인 발현의 검증을 나타낸다.

도 4G는 면역조직화학을 사용하여 종양에서 종양 세포 주기 유도 인자 발현의 검증을 나타낸다.

도 5A-5D는 PLAG 처리에 의한 암 성장 및 호중구 침윤의 억제를 나타낸다.

도 5A는 이종이식 마우스들에서 종양 질량에 대한 PLAG 효과를 나타낸다.

도 5B는 희생일에 이종이식 마우스들에서 종양 중량의 확인을 나타낸다. 양성 대조군과 비교: *P<0.05, **P<0.01(각 실험 n=5). N.S., 중요하지 않다.

도 5C는 PLAG 처리된 이종이식 마우스들에서 매주 계산된 종양 질량의 변화를 나타낸다.

도 5D는 면역조직화학을 사용한 종양 침윤 호중구의 검증을 나타낸다.

도 6A-6B는 증강된 PAR2 분해에 의한 암 증식의 억제를 나타낸다.

도 6A는 호중구-활성화된 MDA-MB-231 유방암 세포에서 용량-의존적 방식으로 PLAG 처리에 의한 세포 성장 억제를 나타낸다. 매주 음성 대조군과 비교: *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001(각 실험 n=5). N.S., 중요하지 않다. 매주 호중구 자극 단독군과 비교: #P<0.05, ##P<0.01, ###P<0.001(각 실험 n=5). N.S.', 중요하지 않다.

도 6B는 상기 호중구 활성화된 암 세포에서 세포 주기 활성화에 대한 PLAG의 억제 효과를 나타낸다.

도 6C는 상기 호중구 및 PLAG 처리된 세포에서 PCR 및 Western blotting을 통해 세포주기 관련 유전자 및 단백질 발현 정도를 나타낸다.

도 6D는 상기 PLAG 및 호중구 동시 처리된 활성화된 암 세포에서 웨스턴 블롯(western blot) 분석에 의해 PAR2 분해와 관련된 단백질 발현 및 인산화의 검증을 나타낸다.

도 6E는 면역침전 분석을 사용한 PAR2 결합 단백질의 확인을 나타낸다.

도 6F는 PAR2의 분해가 항-PAR2 항체를 사용한 유비퀴틴화(ubiquitination) 검정에 의해 상기 PLAG 및 호중구 공동 처리된 암세포에서 유비퀴틴 활성화로 검증되었음을 나타낸다.

도 7은 실시예 3의 상기 MB49 방광암 모델에서 PD-L1 면역-관문 약물 요법에 대한 PLAG의 상승 효과를 조사하기 위한 예시적인 실험 설계를 나타낸다.

도 8A는 3일 간격으로 추정되는 각 그룹에서 종양 크기 변화의 분석을 나타낸다.

도 8B는 희생일에 마우스들의 형태 및 종양 크기의 변화를 나타낸다. 도 8C는 상기 희생된 날에 평가된 PLAG 또는 aPD-L1 공동 처리 마우스들에서 종양 중량 분석을 나타낸다.

도 8A-8B: 양성 대조군과 비교: #P<0.05, ###P<0.001; 상기 aPD-L1 단독 치료군과 비교: \$P<0.05, \$\$\$P<0.001 (각 실험 n=6). N.S, 중요하지 않다. 평균±SD

도 9A는 완전 혈구 수(CBC, complete blood count) 분석을 통한 PLAG 조절 호중구 수를 나타낸다.

도 9B는 PLAG 및 aPD-L1 처리에 따른 혈액 Ly6G 및 CD11b 양성 세포 분류 결과의 분석을 나타낸다.

도 9C는 PLAG 및 aPD-L1 처리에 따른 조직 침윤된 Ly6G 및 CD11b 양성 세포 분류 결과의 분석을 나타낸다.

도 9D는 도 9B(혈액) 및 도 9C(종양)에 나타낸 상기 그래프를 나타낸다.

도 9E는 IHC 염색을 통해 종양 조직에서 PLAG 처리에 의한 호중구 침윤 효과의 분석을 나타낸다. (Ly6G: 호중구 집단; 호중구 엘라스타제(Neutrophil Elastase): 활성화 호중구).

도 9A-9E: 음성 대조군과 비교: ***P<0.001; 양성 대조군과 비교: #P<0.05, ##P<0.01, ###P<0.001; aPD-L1 단

독 치료군과 비교: \$\$\$P<0.01, \$\$\$\$P<0.001(각 실험 n=3). N.S, 중요하지 않다. 평균±SD. 도 10A는 완전 혈구 수(CBC) 분석을 통한 PLAG 조절 림프구 수를 나타낸다.

도 10B는 PLAG 처리에 따른 혈액 내 NLR 수치의 정량적 분석을 나타낸다.

도 10C-10D는 PLAG 및 aPD-L1 처리에 따른 혈액 CD4 및 CD8 양성 세포 분류 결과의 분석을 나타낸다.

도 10E 및 10F는 PLAG 및 aPD-L1 처리에 따른 종양 조직 침윤된 CD4 및 CD8 양성 세포 분류 결과의 분석을 나타낸다.

도 10G는 IHC 염색을 통해 종양 조직에서 PLAG 처리에 의한 림프구 침윤 효과의 분석을 나타낸다.

도 10A-10E: 음성 대조군과 비교: ***P<0.001; 양성 대조군과 비교: #P<0.05, ##P<0.01, ###P<0.001; aPD-L1 단독 치료군과 비교: \$\$\$P<0.01, \$\$\$\$P<0.001(각 실험 n=3). N.S, 중요하지 않다. 평균±SD.

도 11A-11B는 케모카인 및 성장 인자 분비 변화가 호중구 침윤 및 활성화에 관여함을 나타낸다.

도 11C-11D는 케모카인 및 사이토카인 분비 변화가 T-세포 극성에 관여함을 나타낸다.

도 11E는 사이토카인 분비 변화가 림프구 형성 및 활성화에 관여함을 나타낸다.

도 11A-11E: 음성 대조군과 비교: *P<0.05 P<0.01***P<0.001; 양성 대조군과 비교: #P<0.05, ##P<0.01, ###P<0.001; aPD-L1 단독 치료군과 비교: \$P<0.05, \$\$P<0.01, \$\$\$P<0.001(각 실험 n=6). N.S, 중요하지 않다. 평균±SD. #P<0.05, ##P<0.01, ###P<0.001; aPD-L1 단독 치료군과 비교: \$P<0.05, \$\$P<0.01, \$\$\$P<0.001(각 실험 n=6). N.S, 중요하지 않다. 평균±SD.

도 12는 실시예 4의 LLC-1 모델에서 PD-L1 면역-관문 억제제 치료에 대한 PLAG의 상승 효과를 조사하기 위한 예시적인 실험 설계를 나타낸다.

도 13A는 3일 간격으로 추정되는 각 그룹에서 종양 크기 변화의 분석을 나타낸다.

도 13B는 희생 당일 마우스들의 형태 및 종양 크기의 변화를 나타낸다.

도 13C는 희생된 날에 평가된 PLAG 또는 aPD-1 공동 처리 마우스들에서 종양 중량 분석을 나타낸다.

도 13A-13C: 양성 대조군과 비교: ###P< 0 001; aPD-1 단독 치료군과 비교: \$P< 0.05, \$\$P< 0.05, \$\$\$P< 0.001(각 실험 n=6). NS, 중요하지 않다. 평균±SD.

도 14A는 완전 혈구 수(CBC) 분석을 통한 PLAG 조절 면역-세포 수를 나타낸다.

도 14B는 PLAG 및 aPD-1 처리에 따른 혈액/종양 CD4 또는 CD8 양성 세포 분류 결과의 분석을 나타낸다.

도 14C는 PLAG 및 aPD-1 처리에 따른 혈액/조직 침윤된 Ly6G 양성 세포 선별 결과의 분석을 나타낸다.

도 14D는 IHC 염색을 통해 종양 조직에서 PLAG 처리에 의한 호중구 침윤 조절 효과의 분석을 나타낸다.

도 14A: 음성 대조군과 비교: ***P<0.001; 양성 대조군과 비교: #P<0.05, ##P<0.01, ###P<0.001; aPD-1 단독 치료군과 비교: \$\$\$P<0.01, \$\$\$\$P<0.001(각 실험 n=6). N.S, 중요하지 않음. 평균±SD.

도 15A-15B는 PLAG 및 aPD-1 처리에 따른 혈액/종양 Th17 세포 집단 분류 결과의 분석을 나타낸다.

도 15B에서, 음성 대조군과 비교: ***P<0.001; 양성 대조군과 비교: ###P<0.001; aPD-1 단독 치료군과 비교: \$P<0.01(각 실험 n=3). N.S, 중요하지 않음. 평균±SD.

도 16A는 매주 희생된 마우스들의 형태 및 종양 크기의 변화를 나타낸다.

도 16B는 완전한 혈구 수(CBC) 분석을 통해 면역-세포 수를 조절하는 화합물을 나타낸다.

도 16C는 화합물 처리에 따른 혈액/조직 침윤된 Ly6G 양성 세포 선별 결과의 분석을 나타낸다.

도 16D는 PLAG 및 aPD-1 처리에 따른 혈액/종양 Th 17 세포 집단 분류 결과의 분석을 나타낸다.

도 16A-16D: 각 실험 n=6. 나바릭신(Navarixin): CXCR 2 길항제; aLy6G: 항-Ly6G 항체 치료. 음성 대조군과 비교: ***P<0.001; 양성 대조군과 비교: #P<0.05, ##P<0.01, ###P<0.001; aPD-1 단독 치료군과 비교: \$\$\$P<0.01, \$\$\$\$P<0.001(각 실험 n=6). N.S, 중요하지 않다. 평균±SD.

도 17A는 PLAG 및 aPD-1 처리에 따른 희생일의 혈장 내 아테노신 농도의 분석을 나타낸다.

도 17B는 화합물 처리에 따라 매주 희생된 혈장 중 아테노신 농도의 분석을 나타낸다. 나바릭신: CXCR2 길항제; aLy6G: 항-Ly6G 항체 치료. 음성 대조군과 비교: ***P<0.001; 양성 대조군과 비교: #P<0.05, ##P<0.01, ###P<0.001; aPD-1 단독 치료군과 비교: \$\$P<0.01, \$\$\$P<0.001(각 실험 n=6). N.S. 중요하지 않다. 평균±SD.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0035] 용어 PLAG, EC-18 및 1-팔미토일-2-리놀레오일-3-아세틸글리세롤은 여기에 상호교환적으로 사용되며 여기서 동일한 화합물을 지칭한다.
- [0036] 정의
- [0037] 여기에 사용된 상기 약어들은 화학 및 생물 분야 내에서 그들의 통상적인 의미를 갖는다. 여기에 설명된 화학 구조 및 공식은 화학 분야에서 알려진 화학 원자가(chemical valency)의 표준 규칙에 따라 구성된다.
- [0038] 여기에 개시된 특정 화합물이 호변이성체(tautomeric), 본 발명의 범위 내에 있는 상기 화합물의 이러한 모든 호변이성체 형태로 존재할 수 있다는 것은 당업자에게 명백할 것이다.
- [0039] 여기에 사용된 용어 "a" 또는 "an"은 하나 이상을 의미한다. 예를 들어, 단수 형태 "a", "an" 및 "the"는 문맥이 명백하게 달리 나타내지 않는 한 복수 형태도 포함하도록 의도된다. 이 명세서에서 사용될 때 용어 "포함하다(comprise)", "포함하다(include)", "갖다(have)" 등은 언급된 특징, 영역, 정수(integer), 단계, 프로세스, 작업, 요소 및/또는 구성요소의 존재를 명시하나 하나 이상의 다른 특징, 영역, 정수, 단계, 프로세스, 작업, 요소, 구성 요소 및/또는 이들의 조합의 존재 또는 추가를 배제하지 않는 것이 추가로 이해될 것이다.
- [0040] 약학적으로 허용되는 부형제(Pharmaceutically acceptable excipient)" 및 "약제학적으로 허용되는 담체(pharmaceutically acceptable carrier)"는 대상체에 대한 활성제의 투여 및 대상체에 의한 흡수를 보조하는 물질로 지칭하고 환자에게 현저한 유해한 독성 효과를 야기하지 않고 본 발명의 조성물에 포함될 수 있다. 약학적으로 허용되는 부형제의 비-제한적인 예에는 물, NaCl, 생리 식염수(normal saline solution), 젯산 링거(lactated Ringer's), 일반 자당(normal sucrose), 일반 포도당(normal glucose), 결합제, 충전제, 붕해제(disintegrant), 윤활제, 코팅제, 감미료, 향미료, 염 용액(링거 용액과 같은), 알코올, 오일, 젤라틴, 락토스(lactose), 아밀로스(amylose) 또는 전분(starch)과 같은 탄수화물(carbohydrate), 지방산 에스테르(fatty acid ester), 히드록시메틸셀룰로스(hydroxymethylcellulose), 폴리비닐 피롤리딘(polyvinyl pyrrolidone) 및 착색제 등을 포함한다. 이러한 물질들은 멸균될 수 있고, 원한다면, 윤활제, 방부제, 안정제, 습윤제, 유화제, 삼투압에 영향을 미치는 염, 완충제, 착색제 및/또는 본 발명의 화합물과 함께 유해하게 반응하지 않는 방향족 물질 등과 같은 보조제와 혼합될 수 있다. 당업자는 다른 약제학적 부형제가 본 발명에 유용하다는 것을 인식할 것이다.
- [0041] 여기에 사용된 "치료(Treating)" 및 "치료(treatment)"는 예방적 치료를 포함한다. 치료 방법은 치료적 유효량의 활성제를 대상체에 투여하는 것을 포함한다. 투여 단계는 단일 투여로 구성되거나 일련의 투여를 포함할 수 있다. 상기 치료 기간의 길이는 상태의 중증도, 환자의 연령, 활성제의 농도, 치료에 사용된 조성물의 활성 또는 이들의 조합과 같은 다양한 요인에 달려있다. 또한, 치료 또는 예방에 사용되는 체제의 유효 투여량은 특정 치료 또는 예방 요법의 과정에 걸쳐 증가하거나 감소할 수 있음이 이해될 것이다. 투여량의 변화는 당업계에 공지된 표준 진단 검정에 의해 야기될 수 있고 명백해질 수 있다. 어떤 경우에, 만성 투여가 필요할 수 있다. 예를 들어, 조성물은 환자를 치료하기 위한 충분한 양과 기간 동안 대상체에 투여된다. 용어 "치료(treating)" 및 이의 활용은, 부상, 병리, 상태 또는 질병의 예방을 포함할 수 있다. 구현 예에서, 치료는 예방이다. 구현 예에서, 치료는 예방을 포함하지 않는다.
- [0042] 용어 "예방하다(prevent)"는 환자에서 질병 증상의 발생이 감소하는 것을 의미한다. 위에서 개시된 바와 같이, 예방은 치료 없이 발생할 가능성보다 적은 증상이 관찰되도록, 완전한(예를 들어, 감지 가능한 증상 없음) 또는 부분적일 수 있다.
- [0043] "환자(Patient)", "대상체(subject)", "이를 필요로 하는 환자(patient in need thereof)" 및 "이를 필요로 하는 대상체(subject in need thereof)"는 여기에 상호교환적으로 사용되며, 여기에 제공된 바와 같은 약학적 조성물의 투여에 의해 치료될 수 있는 질병 또는 상태로 고통받거나 걸리기 쉬운 살아있는 유기체를 의미한다. 비-제한적인 예는 인간, 기타 포유동물, 소(bovine), 쥐, 생쥐, 개, 원숭이, 염소, 양, 소(cow), 사슴 및 기타 비

-포유동물을 포함한다. 일부 실시양태에서, 환자 또는 대상체는 인간이다.

- [0044] "유효량(effective amount)" 또는 "치료 유효량(therapeutically effective amount)"은 화합물의 부제와 관련하여 명시된 목적을 달성하기 위한 화합물에 대해 충분한 양이다(예를 들어, 투여되는 효과 달성, 질병 치료, 효소 활성 감소, 효소 활성 증가, 분해 효소 활성 감소, 또는 질병 또는 상태의 하나 이상의 증상 감소). "유효량"의 예는 "치료 유효량"으로도 지칭될 수 있는, 질병의 증상 또는 증상의 치료, 예방 또는 감소에 기여하기에 충분한 양이다. 증상 또는 증상들의 "감소(reduction)"(및 이 구의 문법적 등가물)는 증상(들)의 심각성 또는 빈도의 감소 또는 증상(들)의 제거를 의미한다. 약물의 "예방적 유효량(prophylactically effective amount)"은 대상체에게 투여될 때, 예를 들어 부상, 질병, 병리 또는 상태의 발병(또는 재발)을 예방하거나 지연시키거나 부상, 질병, 병리, 또는 상태, 또는 그들의 증상의 발병(또는 재발)의 가능성 감소시키는 의도된 예방 효과를 가질 약물의 양이다. 완전한 예방 효과는 1회의 투여로 반드시 나타나는 것은 아니며, 일련의 투여 후에만 나타날 수 있다. 따라서, 예방적 유효량은 1회 이상의 투여로 투여될 수 있다. 여기에 사용된 "활성 감소량(activity decreasing amount)"은 길항제의 부제에 비해 효소의 활성을 감소시키는 데 필요한 길항제의 양을 지칭한다. 여기에 사용된 바와 같이, "기능 방해량(function disrupting amount)"은 길항제의 부제에 비해 효소 또는 단백질의 기능을 방해하는 데 필요한 길항제의 양을 지칭한다. 정확한 양은 치료의 목적에 따라 다르며 공지된 기술을 사용하여 당업자가 확인할 수 있다(예를 들어, Lieberman, *Pharmaceutical Dosage Forms*(vols. 1-3, 1992); Lloyd, *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding*(1999), Pickar, *Dosage Calculations*(1999) 및 Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 20th Edition, 2003, Gennaro, Ed., Lippincott, Williams & Wilkins 참조한다).
- [0045] 여기에 사용된 바와 같이, 대상체에 대한 요법의 투여의 맥락에서 용어 "조합으로(in combination)"는 치료 이익을 위한 하나 이상의 요법의 사용을 지칭한다. 투여의 맥락에서 용어 "조합으로"는 또한 적어도 하나의 추가 요법과 함께 사용될 때 대상체에 대한 요법의 예방적 사용을 지칭할 수 있다. 용어 "조합으로"의 사용은 요법(예를 들어, 제1 및 제2 요법)이 대상체에게 투여되는 순서를 제한하지 않는다.
- [0046] 제1 요법(예를 들어, i) 하나 이상의 화학요법제 또는 ii) PLAG와 같은 식(I)의 모노아세틸 디아실글리세롤 화합물의 투여)은 고형 종양으로 진단된 대상체를 포함하여, 암을 가졌거나, 앓았거나, 암에 걸리기 쉬운 대상체에게 제2 요법(예를 들어, i) PLAG와 같은 식(I)의 모노아세틸 디아실글리세롤 화합물 또는 ii)) 하나 이상의 화학요법제의 투여)의 투여 전에(예를 들어, 1분, 5분, 15분, 30분, 45분, 1시간, 2시간, 4시간, 6시간, 12시간, 24시간, 48시간, 72시간, 96시간 또는 최대 약 1 일주일 전), 그와 동시에, 또는 그 후에(예를 들어, 1분, 5분, 15분, 30분, 45분, 1시간, 2시간, 4시간, 6시간, 12시간, 24시간, 48시간, 72시간, 96시간 또는 최대 약 1 일주일 후) 투여될 수 있다. 요법은 상기 요법이 함께 작용할 수 있도록 순서대로 그리고 시간 간격 내에서 대상체에게 투여된다. 특정 실시양태에서, 상기 요법은 그들이 다른 방식으로 투여되는 경우보다 그들이 증가된 이점을 제공하도록 순서대로 그리고 시간 간격 내에서 대상체에게 투여된다. 임의의 추가 요법은 다른 추가 요법과 함께 임의의 순서로 투여될 수 있다.
- [0047] 용어 "증식성 장애(proliferative disorder)" 및 "증식성 질환(proliferative disease)"은 암과 같은 비정상적인 세포 증식과 관련된 장애를 지칭한다.
- [0048] 여기에 사용된 "종양(Tumor)" 및 "신생물(neoplasm)" 또는 유사한 용어는 전-암성 병변(pre-cancerous lesion)을 포함하는 양성 또는 악성의 과도한 세포 성장 또는 증식으로 인한 조직의 임의의 덩어리를 지칭한다.
- [0049] "신생물(neoplasia)"은 과도한 증식 또는 감소된 세포자멸사를 특징으로 하는 질병 또는 장애를 의미된다. 본 발명이 사용될 수 있는, 예시적인 신생물은 고형 종양을 비롯한 암을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 본 발명이 사용될 수 있는 추가의 예시적인 신생물은 방광암(bladder cancer), 백혈병(leukemias)(예를 들어, 급성 백혈병(acute leukemia), 급성 림프구성 백혈병(acute lymphocytic leukemia), 급성 골수성 백혈병(acute myelocytic leukemia), 급성 골수아구성 백혈병(acute myeloblastic leukemia), 급성 전골수구성 백혈병(acute promyelocytic leukemia), 급성 골수단핵구 백혈병(acute myelomonocytic leukemia), 급성 단구성 백혈병(acute monocytic leukemia), 급성 적백혈병(acute erythroleukemia), 만성 백혈병(chronic leukemia), 만성 골수성 백혈병(chronic myelocytic leukemia), 만성 림프성 백혈병(chronic lymphocytic leukemia)), 진성다혈구증(polycythemia vera), 림프종(lymphoma)(호지킨병(Hodgkin's disease), 비-호지킨병(non-Hodgkin's disease)), 발덴스트롬 거대글로불린혈증(Waldenstrom's macroglobulinemia), 중쇄병(heavy chain disease) 및 예를 들어 육종(sarcoma) 및 암종(carcinoma)(예를 들어, 섬유육종(fibrosarcoma), 점액육종(myxosarcoma), 지방종(liposarcoma), 연골육종(chondrosarcoma), 골육종(osteogenic sarcoma), 척삭종(chordoma), 혈관육종

(angiosarcoma), 내피육종(endotheliosarcoma), 림프관육종(lymphangiosarcoma), 림프관내피육종(lymphangoendotheliosarcoma), 활막종(synovioma), 중피종(mesothelioma), 유잉종양(Ewing's tumor), 평활근육종(leiomyosarcoma), 횡문근육종(rhabdomyosarcoma), 결장암(colon carcinoma), 췌장암(pancreatic cancer), 유방암(breast cancer), 난소암(ovarian cancer), 전립선암(prostate cancer), 위 및 식도암(gastric and esophageal cancer), 두경부암(head and neck cancer), 직장암(rectal cancer), 편평상피암(squamous cell carcinoma), 기저세포암(basal cell carcinoma), 선암(adenocarcinoma), 한선암종(sweat gland carcinoma), 피지선암종(sebaceous gland carcinoma), 유두암(papillary carcinoma), 유두선암(papillary adenocarcinomas), 낭종암(cystadenocarcinoma), 수질암(medullary carcinoma), 기관지암(bronchogenic carcinoma), 신장암(renal cell carcinoma), 간암(hepatoma), 담도암(nile duct carcinoma), 융모암(choriocarcinoma), 정상피종(seminoma), 배아암종(embryonal carcinoma), 빌름스종양(Wilm's tumor), 자궁경부암(cervical cancer), 자궁암(uterine cancer), 고환암(testicular cancer), 폐암(lung carcinoma), 소세포폐암(small cell lung carcinoma), 방광암(bladder carcinoma) 상피암종(epithelial carcinoma), 신경교종(glioma), 다형성 교모세포종(glioblastoma multiforme), 성상세포종(astrocytoma), 수모세포종(medulloblastoma), 두개인두종(craniopharyngioma), 뇌실막종(ependymoma), 송과체종(pinealoma), 혈관아종(hemangioblastoma), 속귀신경집종(acoustic neuroma), 핍지교종(oligodendroglioma), 신경초종(schwannoma), 수막종(meningioma), 악성 흑색종(melanoma), 신경모세포종(neuroblastoma) 및 망막모세포종(retinoblastoma)와 같은 고형 종양 을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 특정 실시양태에서, 상기 신생물은 다발성 골수종(multiple myeloma), 베타 세포 림프종(beta-cell lymphoma), 요로상피/방광 암종(urothelial/bladder carcinoma) 또는 흑색종(melanoma)이다.

[0050]

"화학요법제(chemotherapeutic agent)"는 암의 치료에 유용한 화합물이다. 화학요법제의 예는 엘로티닙(Erlotinib)(TARCEVA™, Genentech/OSI Pharm.), 보르테조미브(Bortezomib)(VELCADE™, Millennium Pharm.), 플베르스란트(Fulvestrant)(FASLODEX™, Astrazeneca), 수니티닙(Sutent)(SU11248, Pfizer), 레트로졸(Letrozole)(FEMARA™, Novartis), 이매티닙 메실레이트(Imatinib mesylate)(GLEEVEC™, Novartis), PTK787/ZK 222584(Novartis), 옥살리플라틴(Oxaliplatin)(Eloxatin™, Sanofi), 5-FU(5-플루오로우라실(5-fluorouracil)), 류코보린(Leucovorin), 라파마이신(Rapamycin)(Sirolimus, RAPAMUNE™, Wyeth), 라파티닙(Lapatinib)(GSK572016, GlaxoSmithKline), 로나파닙(Lonafarnib)(SCH 66336), 소라페닙(Sorafenib)(BAY43-9006, Bayer Labs.), 및 지피티닙(Gefitinib)(IRESSA™, Astrazeneca), AG1478, AG1571(SU 5271; Sugen), 티오테파(Thiotepa) 및 CYTOXAN™ 시클로포스파미드(cyclophosphamide)와 같은 알킬화제(alkylating agent); 부숴판(busulfan), 임프로숴판(improsulfan) 및 피포숴판(piposulfan)과 같은 알킬 숴포네이트(alkyl sulfonate); 벤조도파(benzodopa), 카르보쿠온(carboquone), 메투레도파(meturedopa), 유레도파(uredopa) 등의 아지리딘(aziridine); 알트레타민(altretamine), 트리에틸렌멜라민(triethylenemelamine), 트리에틸렌포스포라미드(triethylenephosphoramidate), 트리에틸렌티오포스포라미드(triethylenethiophosphoramidate) 및 트리메틸올멜라민(trimethylolmelamine)을 포함하는 에틸렌이민(ethylenimine) 및 메틸아멜라민(methylamelamine); 아세토제닌(acetogenin)(특히 불라타신(bullatacin) 및 불라타시논(bullatacinone)); 캄프토테신(camptothecin)(합성 유사체 토포테칸(topotecan)을 포함하는); 브리오스타틴(bryostatatin); 칼리스타틴(callystatin); CC-1065(이의 아도즈치신(adozicsin), 카르즈치신(carzicsin) 및 비즈치신(bizcicsin) 합성 유사체 포함); 크립토포신(cryptophycin)(특히 크립토포신 1 및 크립토포신 8); 둘라스타틴(dolastatin); 듀오카르마이신(duocarmycin)(합성 유사체, KW-2189 및 CB1-TM1을 포함하는); 엘뤼테로빈(eleutherobin); 판크라티스타틴(pancratistatin); 사르코딕틴(sarcodictyin); 스폰지스타틴(spongistatin); 클로람부실(chlorambucil), 클로르나파진(chlornaphazine), 클로로포스파미드(cholophosphamide), 에스트라무스틴(estramustine), 이포스파미드(ifosfamide), 메클로레타민(mechlorethamine), 메클로레타민 옥사이드 히드로클로라이드(mechlorethamine oxide hydrochloride), 멜팔란(melphalan), 노벰비킨(novembichin), 페네스테린(phenesterine), 프레드니무스틴(prednimustine), 트로포스파미드(trofosfamide), 우라실 머스터드(uracil mustard)와 같은 질소 머스터드(nitrogen mustard); 카르무스틴(carmustine), 클로로조토신(chlorozotocin), 포테무스틴(fotemustine), 로무스틴(lomustine), 니무스틴(nimustine) 및 라님누스틴(ranimustine)과 같은 니트로소우레아(nitrosurea); 엔디인 항생제(enediynes antibiotics)(예를 들어 칼리케이미신(calicheamicin), 특히 칼리케이미신 γ 1 및 칼리케이미신 오메가 1 (Angew Chem. Intl. Ed. Engl. (1994) 33:183-186); 다이네미신 A(dynemicin A)를 포함하는, 다이네미신; 클로드로네이트(clodronate)와 같은 비스포스포네이트(bisphosphonate); 에스페라미신(esperamicin); 뿐만 아니라 네오카르지노스타틴 발색단(neocarzinostatin chromophore) 및 관련 색소단백질

엔디인 항생제 발색단(chromoprotein enediyne antibiotic chromophore)과 같은 항생제, 아클라시노미신(aclacinomycin), 악티노마이신(actinomycin), 안트라마이신(anthramycin), 아자세린(azaserine), 블레오마이신(bleomycin), 캅티노마이신(cactinomycin), 카라비신(carabacin), 카미노마이신(caminomycin), 카르치노필린(carzinophilin), 크로모마이신(chromomycinis), 닥티노마이신(dactinomycin), 다우노루비신(daunorubicin), 데토루비신(detorubicin), 6-디아조-5-옥소-L-노르류신(6-diazo-5-oxo-L-norleucine), ADRIAMYCINTM 독소루비신(doxorubicin)(모르폴리노-독소루비신(morpholino-doxorubicin), 시아노모르폴리노-독소루비신(cyanomorpholino-doxorubicin), 2-피롤리노-독소루비신(2-pyrrolino-doxorubicin) 및 데옥시독소루비신(deoxydoxorubicin)을 포함하는), 에피루비신(epirubicin), 에소루비신(esorubicin), 이다루비신(idarubicin), 마르셀로마이신(marcellomycin), 미토마이신 C(mitomycin C)와 같은 미토마이신, 미코페놀산(mycophenolic acid), 노갈라마이신(nogalamycin), 올리보마이신(olivomycin), 페플로마이신(peplomycin), 포트피로마이신(potfiromycin), 퓨로마이신(puromycin), 켈라마이신(quelamycin), 로도루비신(rodorubicin), 스트렙토니그린(streptonigrin), 스트렙토조신(streptozocin), 튜베르시딘(tubercidin), 우베니멕스(ubenimex), 지노스타틴(zinostatin), 조루비신(zorubicin); 메토티렉세이트(methotrexate) 및 5-플루오로우라실(5-FU)과 같은 항-대사물질(anti-metabolites); 데놉테린(denopterin), 메토티렉세이트(methotrexate), 프테로테린(pteropterin), 트리메트렉세이트(trimetrexate)와 같은 엽산 유사체(folic acid analogue); 플루다라빈(fludarabine), 6-메르캅토피린(6-mercaptapurine), 티아미프린(thiamiprine), 티오구아닌(thioguanine)과 같은 퓨린 유사체(purine analog); 안시타빈(ancitabine), 아자시티딘(azacytidine), 6-아자우리딘(6-azauridine), 카르모푸르(carmofur), 시타라빈(cytarabine), 디데옥시우리딘(dideoxyuridine), 독시플루리딘(doxifluridine), 에노시타빈(enocitabine), 플록스우리딘(floxuridine)과 같은 피리미딘 유사체(pyrimidine analog); 칼루스테론(calusterone), 드로모스타놀론 프로피오네이트(dromostanolone propionate), 에피티오스타놀(epitiostanol), 메피티오스탄(mepitiothane), 테스토락톤(testolactone)과 같은 안드로젠(androgen); 아미노글루테티미드(aminoglutethimide), 미토탄(mitotane), 트리로스탄(trilostane)과 같은 항-부신(anti-adrenal); 폴리닌산(frolic acid)과 같은 엽산 보충제(folic acid replenisher); 아세글라톤(aceglatone); 알도포스파미드 배당체(aldophosphamide glycoside); 아미노레블린산(aminolevulinic acid); 에닐우라실(eniluracil); 암사크린(amsacrine); 베스트라부실(bestrabucil); 비산트렌(bisantrene); 에다트렉세이트(edatraxate); 데포파민(defofamine); 디메콜린(demecolcine); 디아지쿠온(diaziquone); 엘포르니틴(elfornithine); 엘립티늄 아세테이트(elliptinium acetate); 에포틸론(epothilone); 에토글루시드(etoglucid); 질산갈륨(gallium nitrate); 히드록시우레아(hydroxyurea); 렌티난(lentinan); 로니다이닌(lonidainine); 메이탄신(maytansine) 및 안사미토신(ansamitocin)과 같은 메이탄시노이드(maytansinoid); 미토구아존(mitoguazone); 미톡산트론(mitoxantrone); 모피단몰(mopidanmol); 니트라에린(nitraerine); 펜토스타틴(pentostatatin); 페나멧(phenamet); 피라루비신(pirarubicin); 로소산트론(losoxantrone); 포도필린산(podophyllinic acid); 2-에틸히드라지드(2-ethylhydrazide); 프로카바진(procarbazine); PSKTM 다당류 복합체(JHS Natural Products); 라족산(razoxane); 리족신(rhizoxin); 시조푸란(sizofuran); 스피로게르마늄(spirogermanium); 테누아존산(tenuazonic acid); 트리아지쿠온(triaziquone); 2,2',2''-트리클로로트리에틸아민(2,2',2''-trichlorotriethylamine); 트리코테센(trichothecene)(특히 T-2 독소(T-2 toxin), 베라쿠린 A(verracurin A), 로리딘 A(roridin A) 및 안귀딘(anguidine)); 우레탄(urethane); 빈데신(vindesine); 다카르바진(dacarbazine); 만노무스틴(mannomustine); 미토브로니톨(mitobronitol); 미톨락톨(mitolactol); 피포브로만(pipobroman); 가시토신크(gacytosinc); 아라비노사이드(arabinoside)("Ara-C"); 시클로포스파미드(cyclophosphamide); 티오테파(thiotcpa); 탁소이드(taxoid), 예를 들어 TAXOLTM 파클리탁셀(paclitaxel), ABRAXANETM Cremophor-free, 파클리탁셀의 알부민 가공 나노입자 제형(albumin-engineered nanoparticle formulation), 및 TAXOTERETM 독세탁셀(doxetaxel); 클로란부실(chloranbucil); GEMZARTM 겐시타빈(gemcitabine); 6-티오구아닌(6-thioguanine); 머캅토피린(mercaptapurine); 메토티렉세이트(methotrexate); 시스플라틴(cisplatin) 및 카르보플라틴(carboplatin)과 같은 백금 유사체(platinum analogs); 빈블라스틴(vinblastine); 백금(platinum); 에토포사이드(etoposide)(VP-16); 이포스파미드(ifosfamide); 미톡산트론(mitoxantrone); 빈크리스틴(vincristine); NAVELBINETM 비노렐빈(vinorelbine); 노반트론(novantrone); 테니포사이드(teniposide); 에다트렉세이트(edatrexate); 다우노마이신(daunomycin); 아미노프테린(aminopterin); 젤로다(xeloda); 이반드로네이트(ibandronate); CPT-11; 토포이소머라제(topoisomerase) 억제제 RFS2000; 디플루오로메틸오르니틴(difluoromethylornithine)(DMFO); 레티노산(retinoic acid)과 같은 레티노이드(retinoid); 카페시타빈(capecitabine); 및 상기 중 임의의 제약상 허용되

는 염 또는 산을 포함한다.

[0051] 또한 "화학요법제"의 이 정의에서: (i) 예를 들어 타목시펜(tamoxifen)(NOLVADEX을 포함하는), 랄록시펜(raloxifene), 드롤록시펜(droloxifene), 4-히드록시타목시펜(4-hydroxytamoxifen), 트리옥시펜(trioxifene), 케옥시펜(keoxifene), LY117018, 오나프리스톤(onapristone), 및 FARESTON™(토레미펜(toremifene))을 포함하는, 항에스트로겐(antiestrogen) 및 선택적 에스트로겐 수용체 조절제(SERMs)와 같은 종양에 대한 호르몬 작용을 조절하거나 억제하는 작용을 하는 항호르몬제(antihormonal agent); (ii) 부신에서 에스트로겐 생성을 조절하는, 효소 아로마타제(enzyme aromatase)를 억제하는, 예를 들어 4(5)-이미다졸(4(5)-imidazole), 아미노글루테티미드(aminoglutethimide), MEGASE™(메게스트롤 아세테이트 megestrol acetate), AROMASIN™(엑세메스탄(exemestane)), 포르메스타니(formestane), 파드로졸(fadrozole), RIVISOR™(보로졸(vorozole)), FEMARA™(레트로졸(letrozole)) 및 ARIMIDEX™(아나스트로졸(anastrozole))과 같은, 아로마타제 억제제(aromatase inhibitors); (iii) 플루타마이드(flutamide), 닐루타마이드(nilutamide), 비칼루타마이드(bicalutamide), 류프로라이드(leuprolide) 및 고세렐린(goserelin)과 같은 항-안드로젠(anti-androgen); 뿐만 아니라 트록사시타빈(troxacitabine)(1,3-디옥솔레인 뉴클레오시드 시토신 유사체(1,3-dioxolane nucleoside cytosine analog)); (iv) 아로마타제 억제제; (v) 단백질 키나제 억제제(protein kinase inhibitor); (vi) 지질 키나제 억제제(lipid kinase inhibitor); (vii) 특히 예를 들어, PKC-알파, Ralf 및 H-Ras와 같은, 비정상적인 세포 증식과 관련된 신호전달 경로에서 유전자의 발현을 억제하는 RNA 치료제(antisense oligonucleotide); (viii) VEGF 발현 억제제(예를 들어, ANGIOZYME™(리보자임(ribozyme))) 및 HER2 발현 억제제와 같은 리보자임; (ix) 유전자 요법 백신(gene therapy vaccine), 예를 들어 ALLOVECTIN™ 백신, LEUVECTIN™ 백신, 및 VAXID™ 백신과 같은 백신; PROLEUKIN™ rIL-2; LURTOTECAN™ 토포이소머라제(topoisomerase) 1 억제제; ABAELIX™ rmRH; (x) 베바시주맙(bevacizumab)(AVASTIN™)과 같은 항-혈관신생제(anti-angiogenic agent); 및 (xi) 상기 중 임의의 제약상 허용되는 염 또는 산이 포함된다.

[0052] 논의된 바와 같이, 특정 측면에서, 바람직한 화학요법제는 면역 관문 억제제 물질을 포함한다. 예를 들어, 현재의 방법 및 조성물에서 사용하기 위해 적합하고 바람직한 관문 억제제는 Programmed Death-Ligand 1(PD-L1, 또한 B7-H1, CD274로 알려진), Programmed Death 1(PD-1), CTLA-4, PD-L2 (B7-DC, CD273), LAG3, TIM3, 2B4, A2aR, B7H1, B7H3, B7H4, BTLA, CD2, CD27, CD28, CD30, CD40, CD70, CD80, CD86, CD137, CD160, CD226, CD276, DR3, GAL9, GITR, HAVCR2, HVEM, IDO1, IDO2, ICOS(유도성 T 세포 자극기(inducible T cell stimulator)), KIR, LAIR1, LIGHT, MARCO(콜라겐 구조의 대식세포 수용체(macrophage receptor)), PS(phosphatidylserine, 포스파티딜세린), OX-40, SLAM, TIGHT, VISTA, VTCN1, 또는 이들의 조합의 억제제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 면역 관문 억제제는 IDO1, CTLA4, PD-1, LAG3, PD-L1, TIM3, 또는 이들의 조합의 억제제이다.

[0053] 특정 바람직한 조성물 및 방법에서, 상기 면역관문억제제는 PD-L1의 억제제이다. 특정 바람직한 조성물 및 방법 일부 실시양태에서, 상기 면역관문억제제는 PD-1의 억제제이다. 특정 바람직한 조성물 및 방법에서, 상기 면역관문억제제는 CTLA-4의 억제제이다. 특정 바람직한 조성물 및 방법에서, 상기 면역관문억제제는 LAG3의 억제제이다. 특정 바람직한 조성물 및 방법에서, 상기 면역관문억제제는 TIM3의 억제제이다. 특정 바람직한 조성물 및 방법에서, 상기 면역관문억제제는 IDO1의 억제제이다.

[0054] 현재의 방법 및 조성물은 환자, 예를 들어 a) 하나 이상의 화학요법제 및 b) PLAG와 같은 식(I)의 모노아세틸 디아실글리세롤 화합물의 요법을 받는 암 환자에서 종양 성장을 효과적으로 감소 또는 억제할 수 있다. PLAG 및 하나 이상의 별개의 화학요법제와의 공동-치료는 종양 부피의 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 또는 50% 이상 감소를 초래할 수 있다.

[0055] 매우 다양한 유형의 암은 현재의 방법 및 조성물에 따라 치료될 수 있다. 예를 들어, 치료될 암은 고형 종양일 수 있다. 본 발명이 사용될 수 있는 예시적인 암은, 유방암, 백혈병(예를 들어, 혈소판, 급성 림프구성 백혈병, 급성 골수구성 백혈병, 급성 골수아구성 백혈병, 급성 전골수구성 백혈병, 급성 골수단핵구성 백혈병, 급성 단핵구 백혈병, 급성 단핵구 백혈병), 적혈구 백혈병, 만성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병), 진성 적혈구 증가증, 림프종(호지킨병, 비호지킨병), 발덴스트롬 거대글로불린혈증, 중쇄 질환 및 고형 종양, 예를 들어 육종, 근육종, 암종(예를 들어, 지방육종, 연골육종, 골육종, 척색종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피육종, 활막종, 중피종, 유잉종양, 평활근육종, 횡문근육종, 전립선암, 두경부암, 전립선암, 난소

암, 췌장암 직장암, 편평세포암, 기저세포암 인종, 선암종, 땀샘암종, 피지선암종, 유두암종, 유두선암종, 낭선암종, 수질암종, 기관지암종, 신세포암종, 간종, 담도암종, 용모막암종, 정액종, 배아암종, 빌름스종양, 자궁경부암, 고환암, 폐암, 소세포폐암, 방광암, 상피암, 신경교종, 다형성 교모세포종, 성상세포종, 수모세포종, 두개인두종, 뇌실막종, 송과체종, 혈관모세포종, 청각신경종, 희소신경교종, 신경초종, 수막종, 흑색종, 망막모세포종)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

- [0056] 식 (I)의 모노아세틸디아실글리세롤 화합물의 제조를 위한 화학적 합성 방법은, 예를 들어, 한국 등록특허 제 10-0789323호 및 제10-1278874호에 개시되어 있으며, 그 내용은 여기에 참고로 포함된다. 예를 들어, PLAG는 글리세롤의 히드록시기를 아세틸, 팔미토일 및 리놀레오일 작용기로 아실화하여 합성될 수 있다.
- [0057] PLAG 및 하나 이상의 별개의 화학요법제와 같은 식 (I)의 모노아세틸 디아실글리세롤 화합물의 치료 유효량은 초기에 세포 배양 검정으로부터 결정될 수 있다. 표적 농도(Target concentration)는 여기에 기재된 또는 당업계에 공지된 상기 방법을 사용하여 측정할 때, 여기에 기재된 상기 방법을 달성할 수 있는 활성 화합물(들)의 농도일 것이다. PLAG와 같은 식 (I)의 모노아세틸 디아실글리세롤 화합물 및 하나 이상의 별개의 화학요법제의 치료량은 또한 이전에 보고된 바 있다.
- [0058] 당업계에 잘 알려진 바와 같이, 인간에 사용하기 위한 치료 유효량은 또한 동물 모델로부터 결정될 수 있다. 예를 들어, 인간에 대한 투여량은 동물에서 효과적인 것으로 밝혀진 농도를 달성하기 위해 공식화될 수 있다. 인간의 투여량은 위에서 설명된 바와 같이, 화합물 효과를 모니터링하고 투여량을 위 또는 아래로 조정하여 조정될 수 있다. 위에서 설명된 방법 및 기타 방법을 기반으로 인간에서 최대 효능을 달성하기 위한 투여량을 조정하는 것은 숙련된 기술자의 능력 범위 내에 있다.
- [0059] 복용량은 환자의 요구 사항과 사용되는 화합물에 따라 달라질 수 있다. 본 발명의 맥락에서, 환자에게 투여되는 투여량은 시간이 지남에 따라 환자에게 유익한 치료 반응을 나타내기 위해 충분해야 한다. 복용량의 크기는 또한 임의의 부작용의 존재, 성격 및 정도에 따라 결정될 것이다. 특정 상황에 대한 적절한 투여량의 결정은 의사의 기술 범위 내에 있다. 일반적으로, 치료는 화합물의 최적 투여량보다 적은 용량으로 시작된다. 그 후, 상기 투여량은 상황(circumstance)에서 최적의 효과에 도달할 때까지 조금씩 증가된다. 투여량 및 간격은 치료되는 특정 임상 징후에 대해 효과적인 상기 투여된 화합물의 정도를 제공하기 위해 개별적으로 조정될 수 있다. 이것은 개인의 질병 상태의 중증도에 상응하는 치료 요법을 제공할 것이다.
- [0060] 여기에 제공된 교시를 이용하여, 효과적인 예방 또는 치료 요법은 실질적인 독성을 일으키지 않지만 특정 환자에 의해 입증된 임상 증상을 치료하는데 효과적인 계획을 할 수 있다. 이 계획은 화합물 효능, 상대적인 생체이용률, 환자 체중, 부작용의 존재 및 심각도, 선호하는 투여의 방식 및 선택된 제제의 독성 프로파일과 같은 요인을 고려함으로써 활성 화합물의 신중한 선택이 포함되어야 한다.
- [0061] 포유동물에 투여되는 투여량 및 빈도(단일 또는 다중 투여량)는 다양한 인자, 예를 들어 포유동물이 다른 질병을 앓고 있는지 여부 및 그의 투여의 경로; 대상자(recipient)의 크기, 연령, 성별, 건강, 체중, 체질량 지수 및 식단; 치료 중인 질병의 증상의 성격 및 정도, 동시 치료의 종류, 치료 중인 질병의 합병증 또는 기타 건강-관련된 문제에 따라 달라질 수 있다. 다른 치료 요법 또는 제제가 출원인의 발명의 상기 방법 및 화합물과 함께 사용될 수 있다. 확립된 투여량(예를 들어, 빈도 및 기간)의 조정 및 조작은 당업자의 능력 범위 내에 있다.
- [0062] 본 발명의 조성물의 투여의 빈도는 특별히 제한되지 않으나, 1일 1회 또는 1일 수회 나누어 투여할 수 있다.
- [0063] 식 (I) 또는 식 (II)(즉, EC-18)의 화합물의 치료를 필요로 하는 인간과 같은 환자에 대한 예시적인 1일 투여량은 0.0001 mg/kg과 4 mg/kg 사이의 체중, 또는 0.01 mg/kg과 4 mg/kg 사이의 체중, 예를 들어 이를 필요로 하는 인간 환자와 같은 대상체의 약 0.001, 0.003, 0.005, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 또는 4 체중을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 식 (I) 또는 식 (II)의 화합물의 효과적인 주간 투여량은 이를 필요로 하는 인간 환자와 같이 0.1 μg/kg 체중과 400μg/kg 체중 사이일 수 있다. 바람직한 측면에서, 250-1000 mg, 예를 들어, 식 (I) 또는 식 (II)의 화합물의, 500 mg을 포함하는 정제(tablet) 또는 캡슐(예를 들어, 연질 젤라틴 캡슐)과 같은 경구 제제가 사용된다. 최적의 투여량은 또한 특정 환자 또는 환자의 확인된 그룹에 대해 경험적으로 결정할 수 있다.
- [0064] 별개의 화학요법제(들)의 예시적인 효과적인 1일 투여량은 또한 변할 수 있고 특정 환자 또는 환자의 확인된 그룹에 대해 경험적으로 결정될 수 있다. 상기 제제가 항-암 요법을 위해 임상적으로 사용된 경우, 한 측면에서, 상기 제제는 EC-18 없이 이전에 사용된 제제와 동일하거나 유사한 투여량으로 사용할 수 있다. 특정 측면에서, 별개의 화학요법제(들)의 예시적인 1일 투여량은 예를 들어, 0.1μg/kg과 100μg/kg 사이의 체중, 예를 들어,

0.1, 0.3, 0.5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 또는 99 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 체중일 수 있다.

[0065] PLAG와 같은 식 (I)의 모노아세틸 디아실글리세롤 화합물과 하나 이상의 화학요법제는 대상체에, 국소 접촉(topical contact), 경구(oral), 정맥내(intravenous), 복강내(intraperitoneal), 근육내(intramuscular), 병변내(intralesional), 척추강내(intrathecal), 비강내(intranasal) 또는 피하 투여(subcutaneous administration), 또는 서방성 장치(slow-release device)의 피하 주입(implantation), 예를 들어 미니-삼투 펌프(mini-osmotic pump)와 같은 다수의 경로 중 임의의 것에 의해 대상체에게 투여될 수 있다. 비경구(Parenteral) 투여는 예를 들어 정맥내, 근육내, 세동맥내(intra-arteriole), 피내(intradermal), 피하(subcutaneous), 복강내(intraperitoneal), 뇌실내(intraventricular) 및 두개내(intracranial)를 포함한다.

[0066] 약제학적 조성물은 여기서 PLAG와 같은 식 (I)의 모노아세틸 디아실글리세롤 화합물 및 하나 이상의 화학요법제 중 하나 또는 둘 모두가 치료 유효량, 즉 그의 의도된 목적을 달성하기 위한 효과적인 양으로 포함된 조성물을 포함할 수 있다. 특정 적용에 효과적인 실제 양은, 그 중에서도, 치료되는 상태에 따라 달라질 것이다. 질병을 치료하기 위한 방법으로 투여되는 경우, 이러한 조성물은 원하는 결과를 달성하기 위한, 예를 들어 표적 분자의 활성 조절 및/또는 질병 증상의 감소, 제거 또는 진행을 늦추는 데 효과적인 활성 성분의 양을 포함할 것이다.

[0067] 약제학적 조성물은 각 제형에 대해 약제학적으로 허용되는 담체를 추가로 제조될 수 있다. 여기에 사용된 바와 같이, 용어 "약제학적으로 허용되는 담체"는 유기체를 자극하지 않고 주사된 화합물의 생물학적 활성 및 특성을 저해하지 않는 담체 또는 희석제로 지칭할 수 있다. 본 발명에서 사용할 수 있는 담체의 종류는 특별히 제한되지 않으며, 산업의 영역에서 통상적으로 사용되고 약학적으로 허용되는 임의의 담체를 사용할 수 있다.

[0068] 식염수(saline), 멸균수(sterilized water), IV 유체(IV fluids), 완충 식염수(buffer saline), 알부민 주사 용액(albumin injection solution), 덱스트로스 용액(dextrose solution), 말토덱스트린 용액(maltodextrin solution), 글리세롤(glycerol), 에탄올(ethanol)은 사용 가능한 담체의 비-제한적인 예다. 이들 담체는 단독으로 또는 둘 이상의 조합으로 사용할 수 있다. 상기 담체는 비-자연적으로 발생하는 담체를 포함할 수 있다. 필요에 따라, 항산화제(antioxidant), 완충제 및/또는 세균발육억제제(bacteriostatic agent)와 같은 통상적으로 사용되는 다른 첨가제를 첨가하여 사용할 수 있다. 희석제(diluent), 분산제(dispersant), 계면활성제(surfactant), 결합제(bonding agent), 수용액(aqueous solution), 현탁제(suspension), 에멀션(emulsion), 및 알약(pill)과 같이 주사 용액을 만들 수 있는 윤활제(lubricant), 캡슐제(capsule), 과립제(granule) 또는 정제(tablet), 등으로 제제화할 수 있다.

[0069] 비경구 적용이 필요하거나 원하는 경우, 특히 약제학적 조성물에 포함된 화합물에 적합한 혼합(admixture)은 주사용, 멸균 용액, 유성 또는 수용액, 뿐만 아니라 좌약(suppositories)을 포함하는, 현탁액, 에멀전 또는 임플란트(implant)일 수 있다. 특히, 비경구 투여용 담체는 덱스트로스, 식염수, 순수, 에탄올, 글리세롤, 프로필렌 글리콜(propylene glycol), 땅콩유(peanut oil), 참기름(sesame oil), 폴리옥시에틸렌 블록 중합체(polyoxyethylene-block polymer) 등의 수용액을 포함한다. 앰플은 편리한 단위 복용량이다. 여기에 제시된 약제학적 조성물에 사용하기에 적합한 약제학적 혼합은, 예를 들어, Pharmaceutical Sciences(17th Ed., Mack Pub. Co., Easton, PA) 및 WO 96/05309, 참고로 여기에 포함되는, 둘 모두의 교시에 기술된 것들을 포함할 수 있다.

[0070] 논의된 바와 같이 키트도 제공된다. 예를 들어, 이 측면에서, PLAG와 같은 식 (I)의 모노아세틸 디아실글리세롤 화합물 및 하나 이상의 화학요법제는 각각 적합하게 특정 치료에 대해 라벨링된 적합한 용기에 포장될 수 있다. 용기는 의도된 용도에 적합할 경우, PLAG 화합물 또는 조성물, 하나 이상의 화학요법제 및 적합한 안정화제, 담체 분자를 포함할 수 있다. 다른 실시양태에서, 키트는 하나 이상의 추가 화학요법제와 같이, 의도된 치료를 위한 하나 이상의 치료용 시약을 추가로 포함한다. 제품은 PLAG 화합물 또는 조성물 및/또는 하나 이상의 화학요법제를 포함하는 용기(예를 들어, 바이알(vial), 병(jar), 병(bottle), 백(bag) 등)을 포함할 수 있다. 또한, 제품 또는 키트의 물품은 예를 들어, 예방(prophylaxis) 또는 치료가 필요한 상태를 치료하거나 모니터링하기 위한, 포장 재료, 사용을 위한 설명서, 주사기, 전달 장치를 추가로 포함할 수 있다.

[0071] 제품은 범례(legend)(예를 들어, 제품의 사용을 설명하는 인쇄된 라벨, 삽입물(insert) 또는 기타 매체(예를 들어, 오디오 또는 비디오 테이프))도 포함될 수 있다. 상기 범례는 용기(예를 들어, 용기에 부착된)와 연관될 수 있고 그 안의 조성물이 투여되어야 하는 방식(예를 들어, 투여의 빈도 및 경로), 그에 대한 표시 및 기타 용도를 설명할 수 있다. 조성물은 투여를 위해 준비될 수 있고(예를 들어, 용량-적절한 단위로 존재), 하나 이상의 추가의 약학적으로 허용가능한 보조제, 담체 또는 기타 희석제 및/또는 추가의 치료제를 포함할 수 있다. 대안

적으로, 상기 조성물은 예를 들어 희석제 및 희석을 위한 지침서와 함께 농축된 형태로 제공될 수 있다.

- [0072] 논의된 바와 같이, PLAG와 같은 모노아세틸 디아실글리세롤 화합물 및 하나 이상의 별개의 화학요법제는 적절하게 조정된 방식으로, 예를 들어 동시에 또는 순차적으로 투여된다. 예를 들어, PLAG와 같은 모노아세틸 디아실글리세롤 화합물 및 하나 이상의 별개의 화학요법제는 실질적으로 동시에 대상체에게 투여될 수 있거나, 대신 상기 제제는 비록 별도의 투여 사이의 더 긴 기간이 또한 적합할 수 있지만 적합하게 몇 시간 내에, 상이한 시간에 대상체에게 투여될 수 있다.
- [0073] 실시예
- [0074] 이전 섹션이 이해의 명료함을 위해 예시 및 실시예를 통해 일부 상세하게 설명되었지만, 특정 사소한 변경 및 수정이 상기 교시에 비추어 실시될 것이라는 것은 당업자에게 명백하다. 따라서, 상기 설명 및 실시예는 여기에 기재된 임의의 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다.
- [0075] 특허 출원 및 간행물을 포함하여, 여기에 인용된 모든 참고 문헌은 그 전체가 참고로 여기에 포함된다.
- [0076] 실시예 1: 이종이식 마우스 모델에서 AC-요법과 결합된 PLAG의 항-암 효과
- [0077] MDA-MB-231 유방암 이종이식 모델을 사용하였다. AC-요법 단독 및 PLAG 공동 처리 동물에서 종양 성장을 평가하였다. AC-요법은 2/20 및 5/50 mph(독소루비신/시클로포스파미드)의 용량으로 일주일에 두 번 IP 주사를 통해 전달되었고, PLAG는 100 및 250mpk로 매일 투여되었다. 종양 성장은 3일 간격으로 계산되었다. 호중구 주화성 관련 케모카인, CXCL1/2/8 및 순환 호중구는 또한 2주 내로 평가되었다. 종양 병변(lesion)에서 세포자멸사 분자 마커, Bax/Bak 및 종양-침윤 호중구(TIN, tumor-infiltrating neutrophil)의 발현을 면역조직화학(IHC)으로 분석되었다.
- [0078] PLAG는 PLAG 및 AC-요법 동시-요법 동시-처리된 이종이식 마우스에서 종양 부담을 감소시키는 상승 효과가 있다. 2/20 또는 5/50 mpk 처리 그룹의 AC-요법에서, 종양 성장의 지연은 종양 크기를 계산하여 관찰되었고 처리된 세포자멸사는 AC-요법으로 퇴행된 종양 부담에서 TUNEL 및 세포자멸-관련 단백질 발현에 의해 입증되었다. 종양 부담 및 후속 호중구 모집으로부터 조절된 케모카인 발현은 또한 종양 질량에 따라 검출되었다. 상기 PLAG 공동-처리 그룹에서, AC-요법 단독보다 더 작은 종양 부담이 희생될 때까지 일관되게 관찰되었다. 또한 5/50 AC-요법으로 PLAG를 동시 처리한 그룹의 종양 부담이 그룹에 따른 AC-요법과 비교하여 농도-의존적 방식으로 유의하게 감소되었음을 확인하였다(p<0.05). 특히, 250 mpk PLAG 동시 처리군에서, 희생일에 실험 마우스들에서 종양 조직이 발견되지 않았다. PLAG 첨가 군에서 현저히 감소된 케모카인 발현 및 TIN은 IHC 및 케모카인 분석을 통해 입증하였다. 추가적으로, 종양 성장의 중단, 및 감소된 케모카인 발현과 TIN이 상기 PLAG 단독 처리군에서 관찰되었다. 요약하면, PLAG는 AC-요법과 함께 공동 치료된 대상체에서 종양 부담의 퇴행에 상승 효과가 있다. IHC로 종양 조직의 분석은 TIN이 상기 PLAG를 동시 처리한 그룹에서 극적으로 감소한 것으로 나타났다. 결과는 또한 도 1, 2(도 2A-2J를 포함한다) 및 3(도 3A-3D를 포함한다)에 제시되어 있다.
- [0079] 실시예 2: PLAG의 항-암 효과
- [0080] 도 4(도 4A-4G를 포함한다), 5(도 5A-5D를 포함한다) 및 6(도 6A-6B를 포함한다)은 PLAG를 이용한 암의 치료를 보여준다. 이러한 결과는 PLAG를 이용한 치료가 호중구의 과도한 침윤을 제어하기 위해 암 조직에서 호중구 화학주성(chemotactic) 케모카인의 발현을 효과적으로 조절할 수 있음을 보여준다. 이러한 결과는 PLAG 단독 투여(추가 화학요법제 없이)가 암 조직의 세포 주기를 억제하여 과도한 성장을 조절할 수 있음을 보여준다. 이러한 결과는 또한 PLAG의 투여가 암 조직에서 PAR2 분해를 유도함으로써 세포 주기 및 케모카인 발현을 억제할 수 있음을 보여준다.
- [0081] 실시예 3: MB49 방광암 동계 모델(syngeneic model)에서 PD-L1 면역-관문 약물 요법에 대한 PLAG의 효과
- [0082] 4-세대 항암제인, 면역-관문 약물의 개발은 항암 연구의 획기적인 돌파구다. 면역-관문 약물을 사용한 암 치료는 여전히 확대되고 있다. 면역관문 약물의 효능을 향상시키기 위해, 종양 미세환경의 조절이 필수적이다. 이 실험에서, 우리는 PD-L1 면역관문억제제 치료제와 함께, 상기 종양에서 종양 침윤 호중구(TINs)를 약화시키는 것으로 입증된, 1-팔미토일-2-리놀레오일-3-아세틸-rac-글리세롤(PLAG)의 상승된 항-암 효능을 조사하였다.
- [0083] 방법
- [0084] 동계 모델은 PLAG의 첨가를 이용한 PD-L1 항체의 향상된 항-종양 효과를 조사하기 위해 사용하였다(n=6). MB49 무린 방광암 세포는 C57BL/6 마우스에 피하 이식되고 5주 동안 사육하였다. 종양 이식으로부터 1주일 후, 다른

투여량(50/100 mpk)에서 PLAG는 5 mpk PD-L1 항체(10F.9G2)와 함께 또는 없이 또 다른 4주 동안 매일 경구 투여되었다. PD-L1 항체는 일주일에 한 번 IP 주사를 통해 전달되었다. (도 7, 표 1)

표 1

화합물 농도(Compound concentration)	화합물 이송(Compound delivery)
● PLAG : 50, 100 mpk ● PD-L1 면역-관문 억제제(immune-checkpoint inhibition) 항체(antibody) (aPD-L1) : 5 mpk (BioXcell, 10F.9G2 clone) ● IgG2 isotype antibody: 5 mpk (BioXcell)	O.A : PLAG (Daily) I.P : aPD-L1 (5 mpk, 1 injection/week) I.P : Isotype (5 mpk, 1 injection/week)

[0086] 결과

[0087] PLAG 처리군은 종양 부담이 농도-의존적으로 감소하는 것을 입증하였다. PLAG 처리된 마우스들의 50 및 100 mpk에서, 상기 종양 부담은 양성 대조군과 비교하여 유의한 값으로 감소되었다(p < 0.05). PD-L1 항체 단독 처리군에서, 약 2주까지 상기 종양의 성장 속도가 감소하였다. PLAG와 PD-L1 항체를 동시에 처리한 그룹에서, 상기 종양의 성장은 PD-L1 항체 단독으로 처리한 그룹에 비해 유의하게 감소되었다. PLAG 처리에 의한 종양 진행에 대한 PD-L1의 증가된 억제 효과는 도 8A-8C에 도시되었다.

[0088] PLAG 처리에 의한 호중구 집단 및 종양 침윤의 제어는 도 9A-9E에서 입증되고 PLAG 처리에 의한 림프구 집단 및 종양 침윤의 제어는 도 10A-10G에서 입증된다. 2주 마다 호중구 및 림프구를 계산한 결과로, PLAG 및 PD-L1 처리군에서 상기 호중구 대 림프구 비율(NLR) 값이 PD-L1 항체 단독 처리군에 비해 유의하게 감소되었다. 게다가, TIN의 수는 PLAG 단독 처리에 의해 효과적으로 감소되었다.

[0089] PLAG 처리에 의한 면역 세포 집단에 관여하는 사이토카인 및 케모카인 분비의 검증은 도 11A-11E에 입증되었다. 종양 성장 및 감소된 케모카인 분비의 중단은 또한 상기 PLAG 처리군에서 관찰되었다. 요약하면, 우리의 데이터는 PLAG가 TIN의 수를 줄임으로써 상기 동계 마우스들 모델에서 종양 부담의 퇴행에 대한 향상된 PD-L1 항체 효과를 제공함을 제안한다.

[0090] 결론

[0091] PLAG는 파괴적인 종양 미세 환경에서 종양 부담을 줄이는 PD-L1 항체의 효능을 개선하는 데 활용될 수 있다. PLAG는 PD-L1의 항-종양 효과를 보다 효과적으로 증가시킬 뿐만 아니라 자체적으로 종양 진행을 억제할 수 있다. 특히, 종양 진행을 증가시키는, 종양 침윤 호중구(TIN)는 PLAG에 의해 효과적으로 감소된다. PLAG에 의한 TIN의 수를 효과적으로 감소시킴으로써, 세포독성 T-림프구(CTL, cytotoxic T-lymphocytes)에 의한 항-종양 효과가 더욱 증가된다.

[0092] 실시예 4: LLC-1 동계 모델에서 PD-1 면역-관문 억제제 치료에 대한 PLAG의 상승적 항암 효과

[0093] 배경

[0094] 다양한 적응증에 대한 면역관문억제제(ICI) 요법의 사용이 증가하고 있지만, 다양한 유형의 암의 일부 환자는 ICI에 반응하지 않는 것으로 나타났다. ICI 반응을 개선하기 위해, 종양 미세 환경을 조절함으로써 종양 면역 회피를 방지하기 위한 추가 메커니즘을 표적으로 하는 병용 요법이 필요할 수 있다.

[0095] 방법

[0096] 항-PD-1 항체(1-팔미토일-2-리놀레오일-3-아세틸-rac-글리세롤(PLAG)의 첨가를 이용한 aPD-1의 향상된 항 종양 효과를 조사하기 위해, 상기 동계 모델이 사용되었고(n= 6/그룹), LLC-1 폐 암종을 C57BL/6 마우스들에 피하 이식하였다. PLAG는 aPD-1와 함께 또는 없이 4주 동안 매일 투여되었다(RMP 1-14. aPD-1는 주 1회 IP 주사를 통해 전달되었다. 희생된 날에 상기 종양 및 혈액 내 림프구 집단 및 호중구 침윤 정도가 분석되었다 (도 12, 표 2)).

표 2

[0097]	화합물 농도(Compound concentration)	화합물 이송(Compound delivery)
	<ul style="list-style-type: none"> ● PLAG : 50, 100 mpk ● PD-L1 면역-관목억제제(immune-checkpoint inhibition) 항체(antibody) (aPD-L1) : 5 mpk (BioXcell, RMP1-14 clone) ● IgG2 isotype antibody: 5 mpk (BioXcell) 	<ul style="list-style-type: none"> O.A : PLAG (Daily) I.P : aPD-L1 (5 mpk, 1 injection/week) I.P : Isotype (5 mpk, 1 injection/week)

[0098] 결과

[0099] PLAG 처리된 50 및 100 mpk 마우스들 그룹에서, 상기 종양 부담은 양성 대조군 p 0 05에 비해 유의하게 감소되었다 aPD-1 단독으로 처리한 그룹에서, 상기 종양 성장은 양성 대조군에 비해 약 65만큼 감소하였다. 그러나, PLAG를 함께 공동 처리한 마우스들에서, 상기 종양은 aPD-1 단독에 비해 18 유의하게 감소되었다. 항 PD 1 항체 (aPD-1)를 이용한 PLAG의 상승적인 항 종양 효과는 도 13A-13D에서 입증된다.

[0100] PLAG를 이용한 공동 처리 군에서 호중구 대 림프구 비율 수치는 aPD-1 단독에 비해 현저히 감소되었다. 특히, PLAG 처리 시 상기 종양 내 호중구 침윤의 정도가 효과적으로 감소되었다. PLAG 및 aPD-1 치료에 의한 면역 세포 집단 및 종양 침윤에 대한 효과는 도 14A-14D에서 입증되고 Th17 집단의 조절 및 PLAG 및 aPD-1 치료에 의한 종양 침윤에 대한 효과는 도 15A-15B에서 입증된다. 도 16A-16D에 나타난 바와 같이, PLAG는 호중구 침윤 및 이동의 억제제가 아니라, 조절제로서 작용할 수 있다. 또한 도 17A-17B에 나타난 바와 같이, PLAG는 DAMP의 신속한 제거를 통해 종양 진행에 의한 DAMP의 증가를 방지할 수 있다.

[0101] 상기 종양에서 세포독성 T-림프구(CTL)의 활성 및 침윤은 aPD-1 단독에 비해 PLAG를 이용한 공동 처리한 그룹에서 효과적으로 증가되었다. 이러한 개선은 양성 대조군과 비교하여, 상기 종양에서 대량의 호중구 침윤을 유도하는 Th 17 개체군의 유의한 감소에 의해 야기되었다.

[0102] 결론

[0103] PLAG는 CTL을 증가시키면서 종양 침윤 호중구 및 Th 17 개체군을 감소시킴으로써 종양 부담의 퇴행에 대해 상승적으로 aPD-1의 항암 효과를 향상시켰다 따라서, 안전성 프로파일이 우수한, PLAG와 aPD-1을 결합하는 것은 ICI의 투여량을 줄임으로써 면역 관련된 독성을 낮추면서 aPD-1의 항종양 반응을 높이는 데 기여할 수 있다.

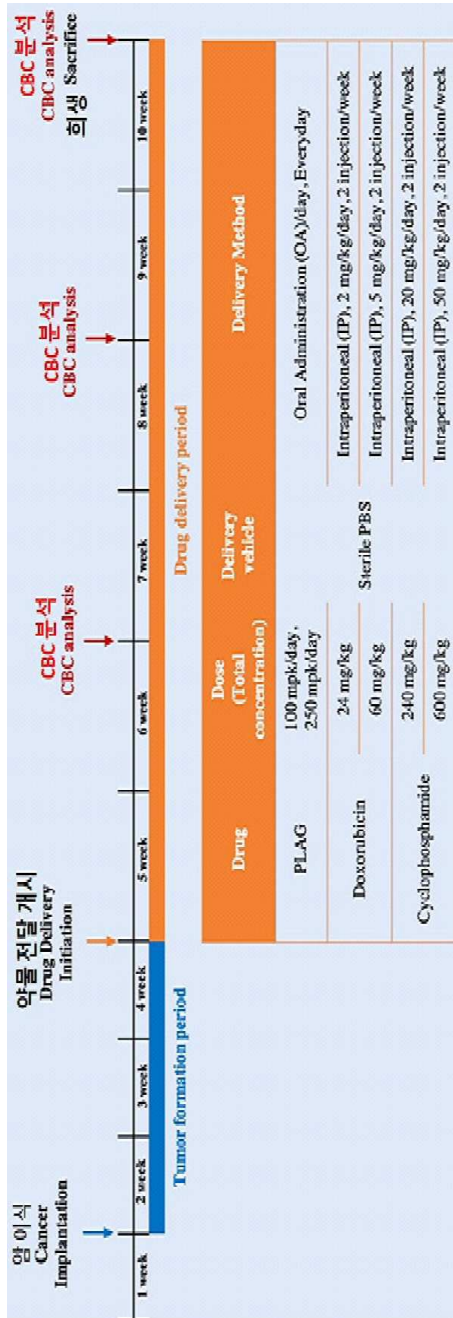
[0104] PLAG는 PD-1과 함께 종양 진행에 시너지 항 종양 효과가 있을 뿐만 아니라 자체적으로 종양 진행을 억제한다. PLAG는 종양에서 유래한 DAMP(아데노신(adenosine))의 신속한 제거를 통해 종양 침윤 호중구(TIN)를 감소시켰다. PLAG에 의한 초기 DAMP(아데노신) 제거에 의해, 상기 종양 부위에 호중구의 대량 침윤이 일어나지 않는다. PLAG는 종양 부위로 과도한 호중구 침윤에 관여하는 Th 17 개체군 및 종양 침윤 Th 17 세포를 감소시켰다.

[0105] 따라서, aPD-1과 PLAG의 조합은 억제 종양 미세환경(TME, tumor microenvironment)을 치료함으로써 항 종양 면역 반응을 향상시키기 위해 기여하는 aPD-1 단독에 비해 aPD-1의 치료 결과를 개선할 수 있다. 아마도, PLAG 치료는 TME로의 호중구 동원 억제 및 T 세포의 항종양 면역 강화를 통해 면역억제성 TME를 면역 강화된 TME로 변형시킬 수 있다.

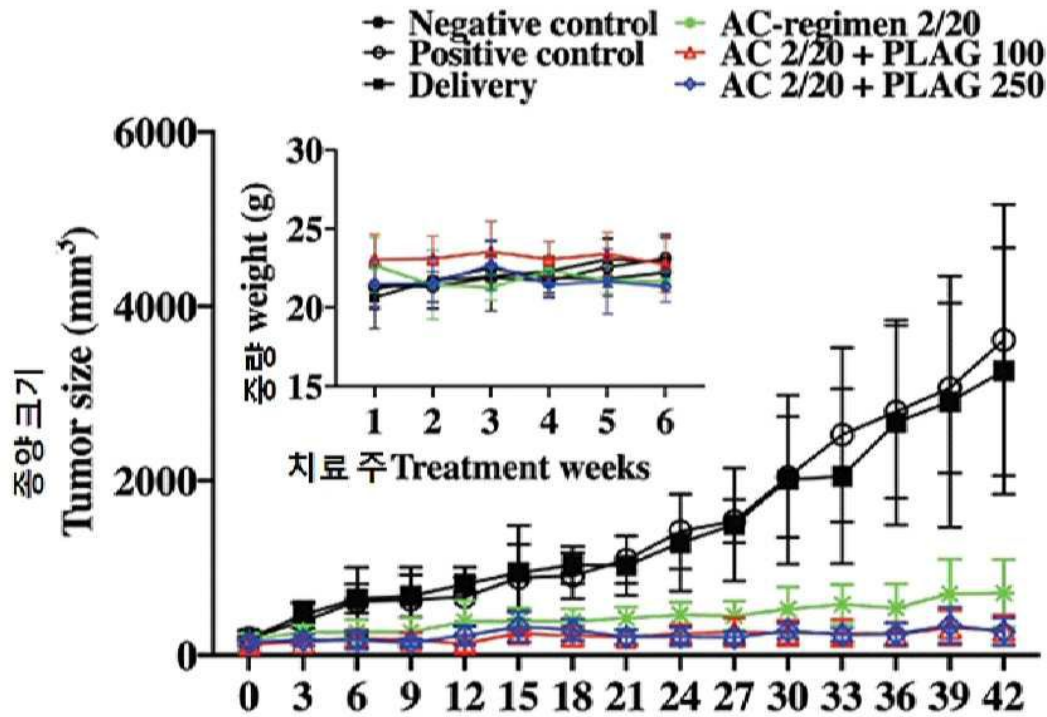
[0106] 여기에 기술된 실시예(example) 및 실시예(embodiment)는 단지 예시적인 목적을 위한 것이며, 이에 비추어 다양한 수정 또는 변경은 당업자에게 제안될 것이고 첨부된 청구항의 이 출원 및 범위의 사상 및 범위 내에 포함되는 것으로 이해된다. 여기에 인용된 모든 간행물, 특허, 및 특허 출원은 모든 목적을 위해 그 전체가 참고로 여기에 포함된다.

도면

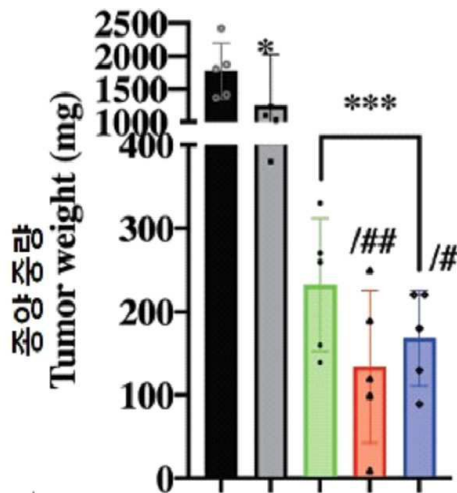
도면1



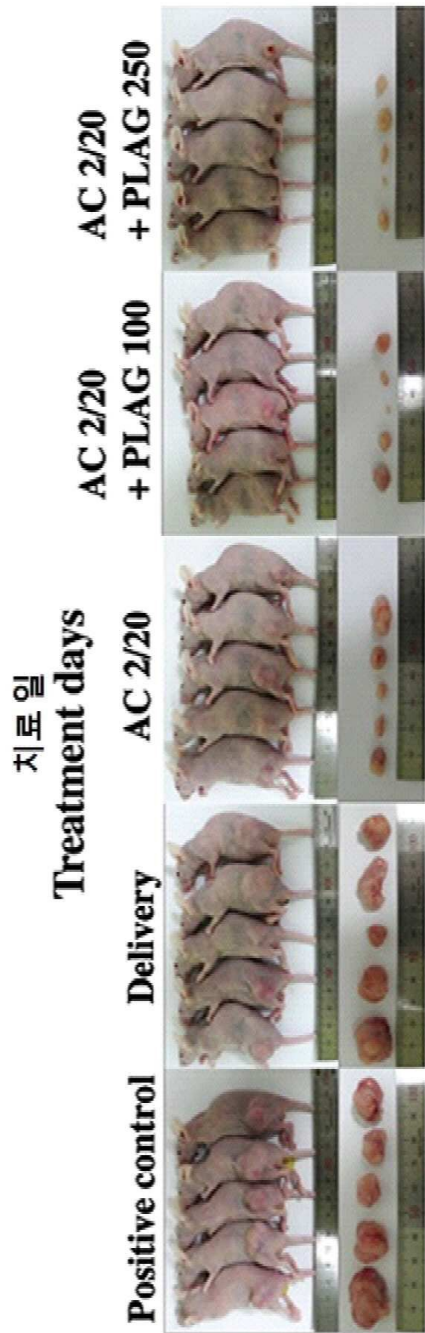
도면2a



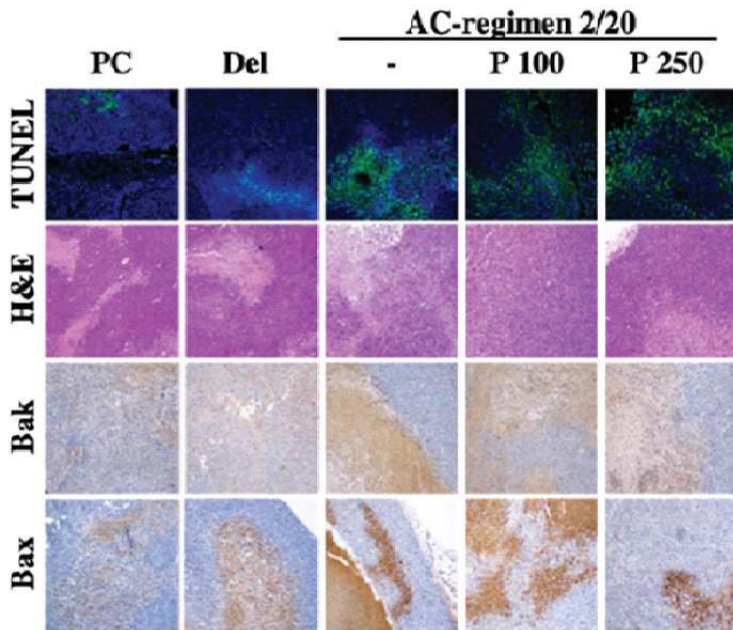
도면2b



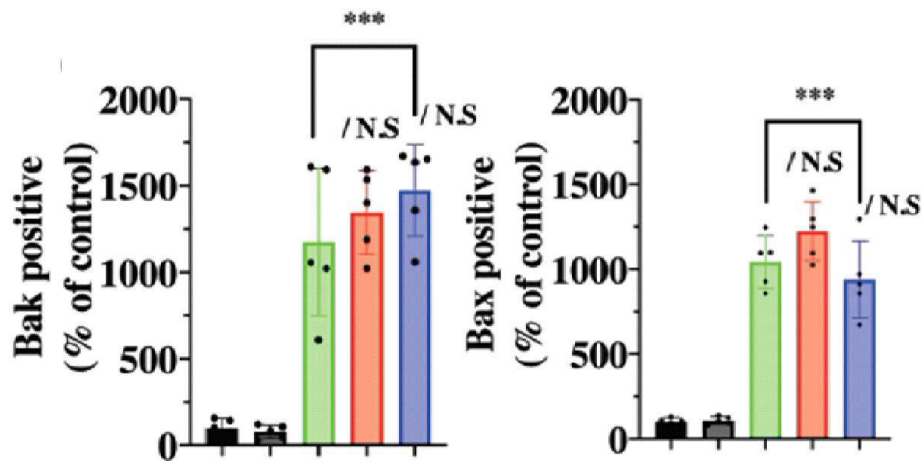
도면2c



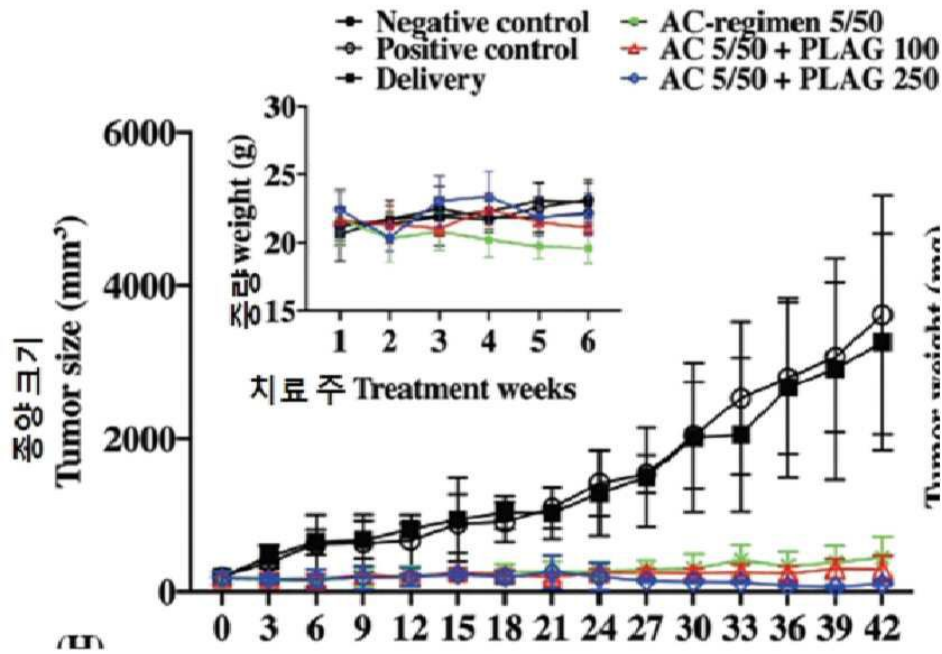
도면2d



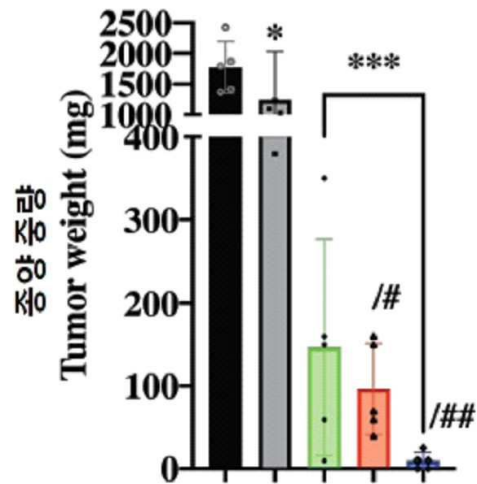
도면2e



도면2f



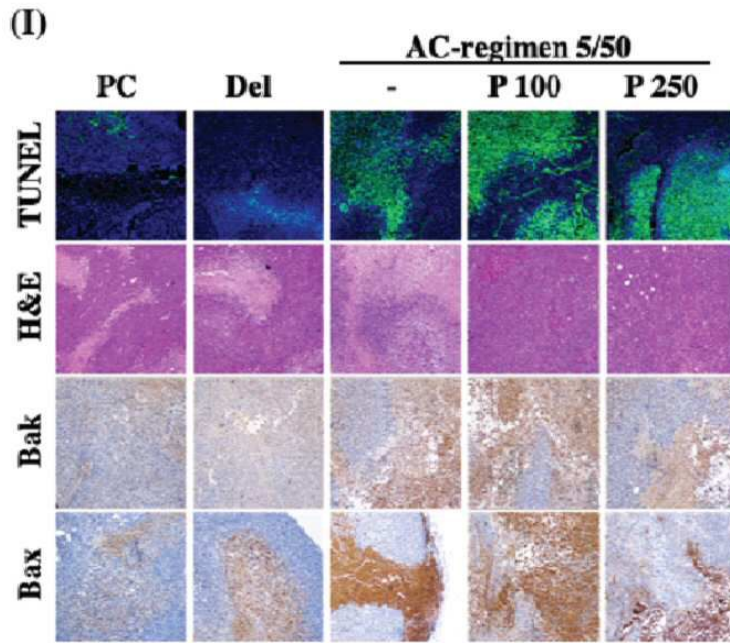
도면2g



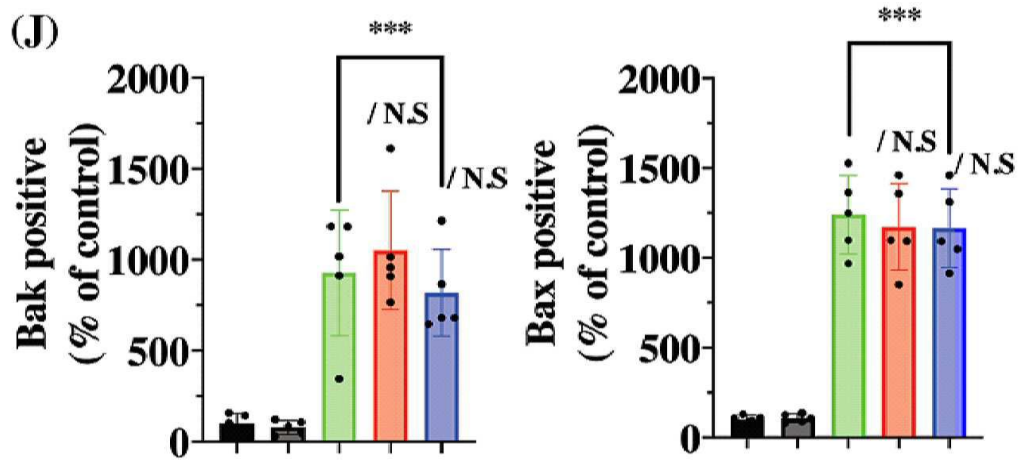
도면2h



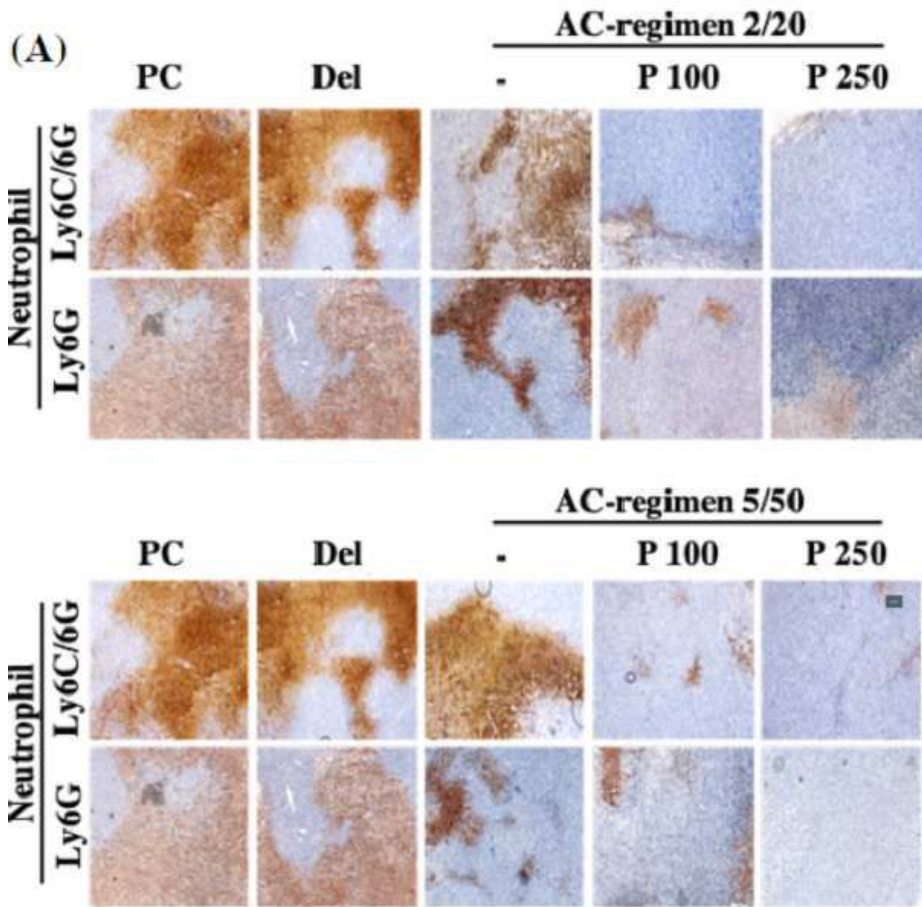
도면2i



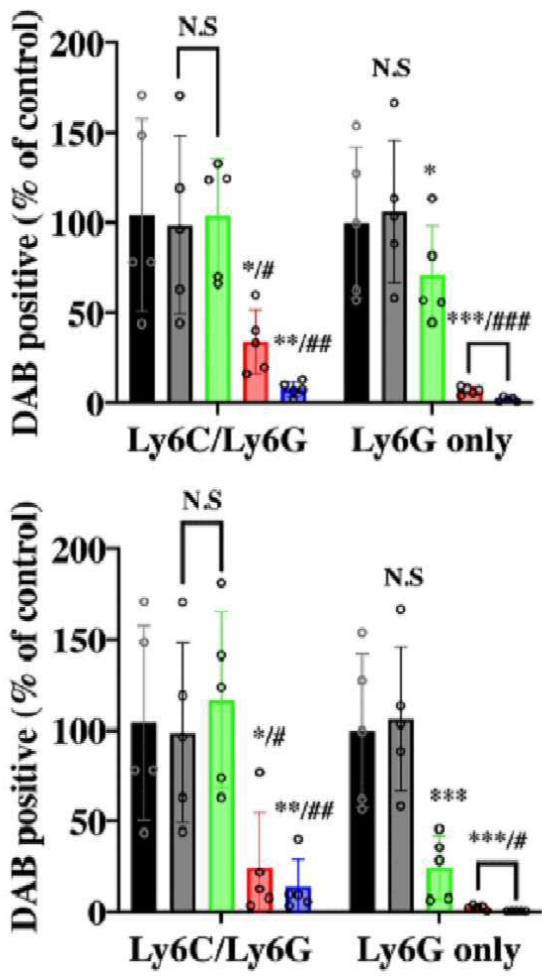
도면2j



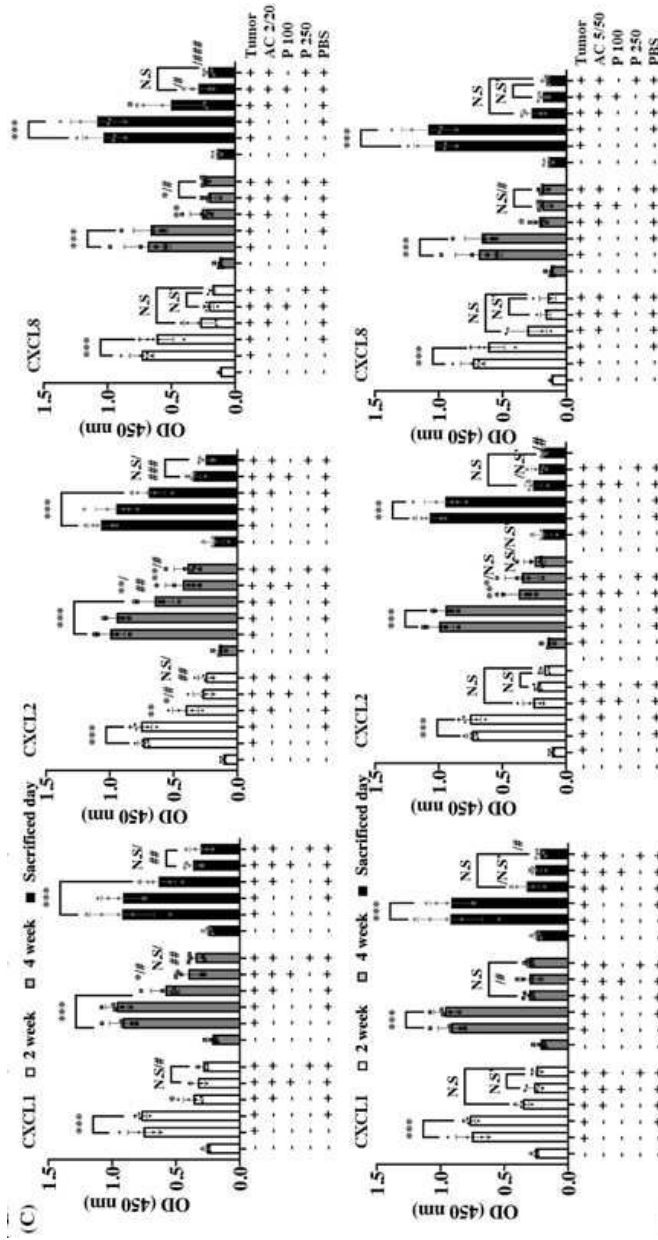
도면3a



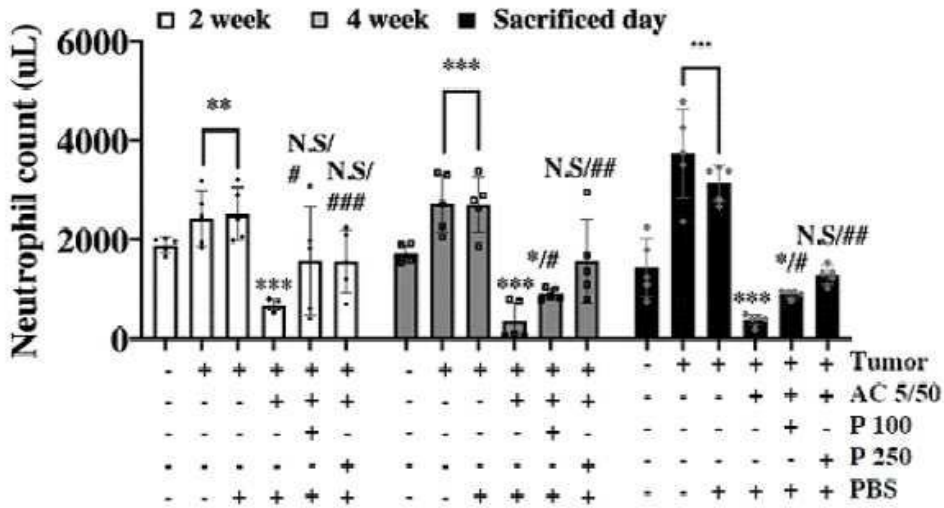
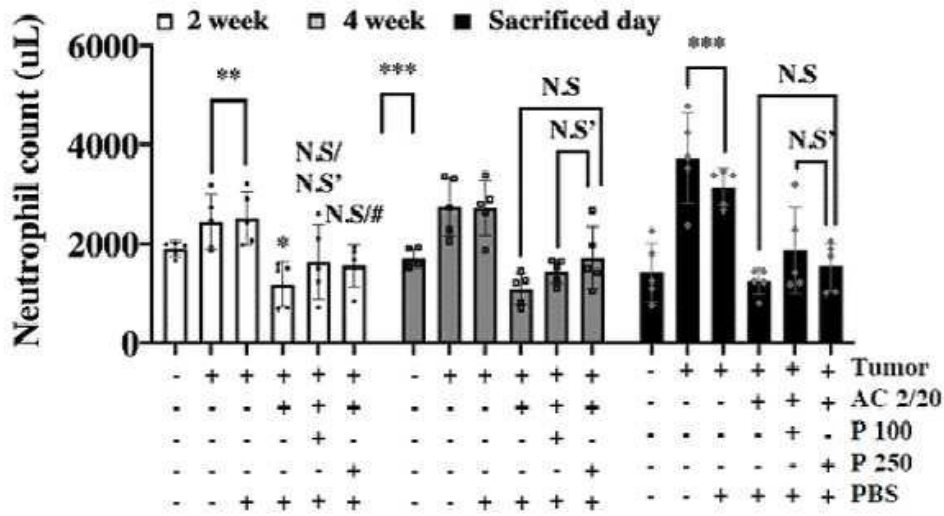
도면3b



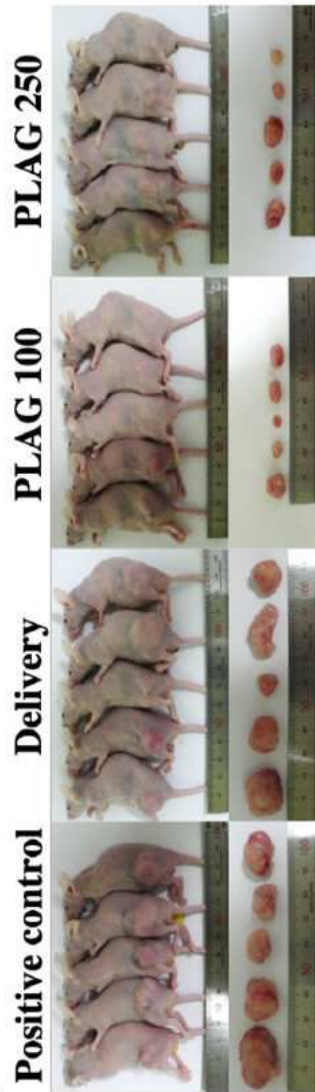
도면3c



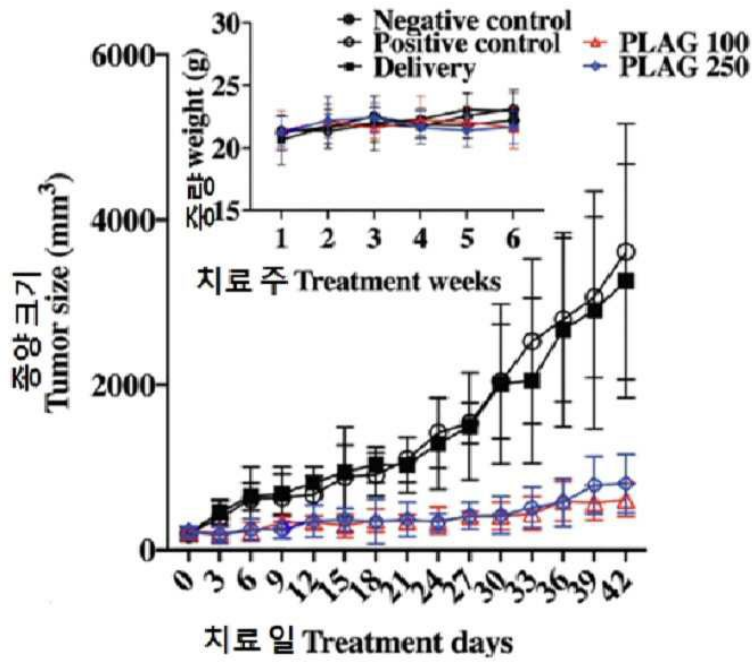
도면3d



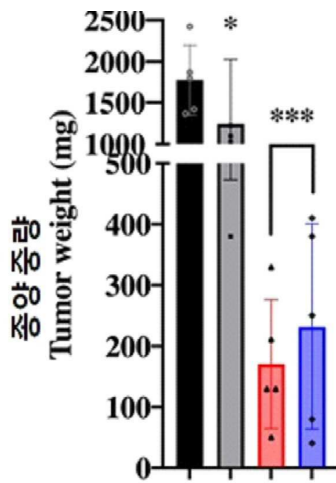
도면4a



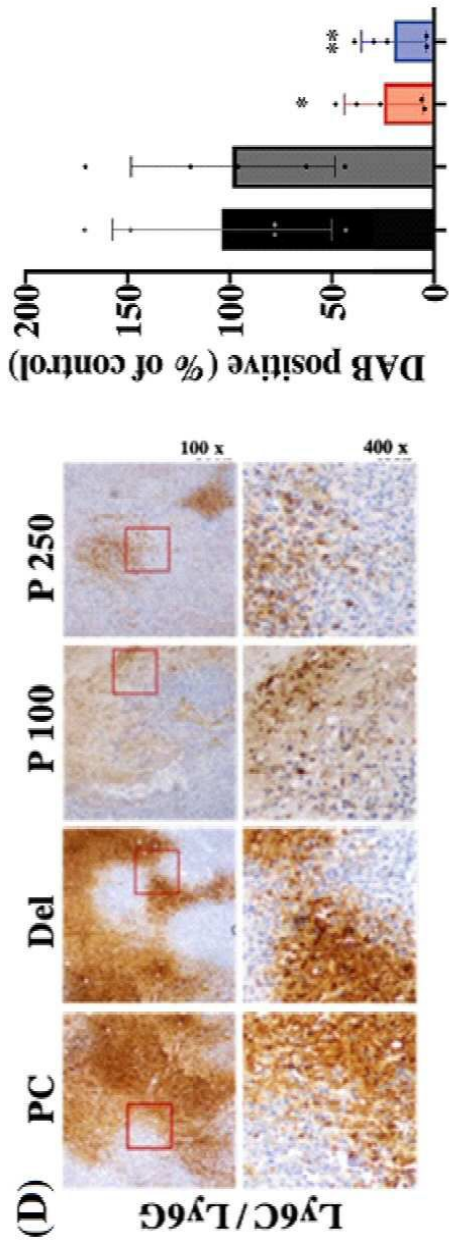
도면4b



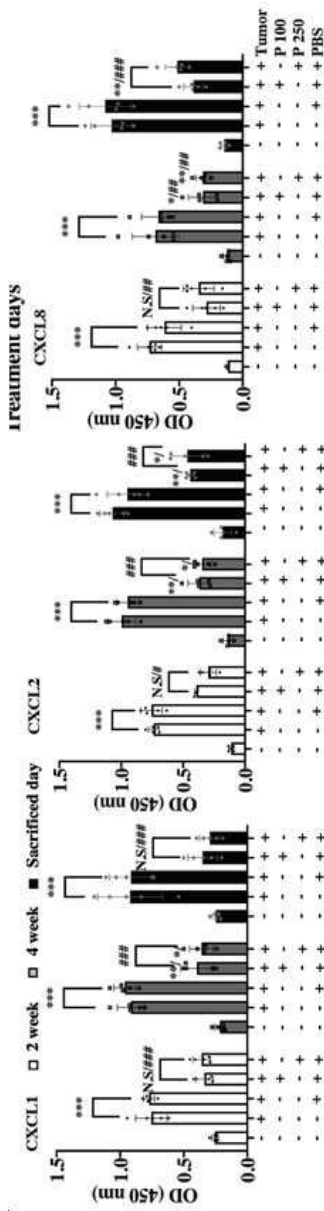
도면4c



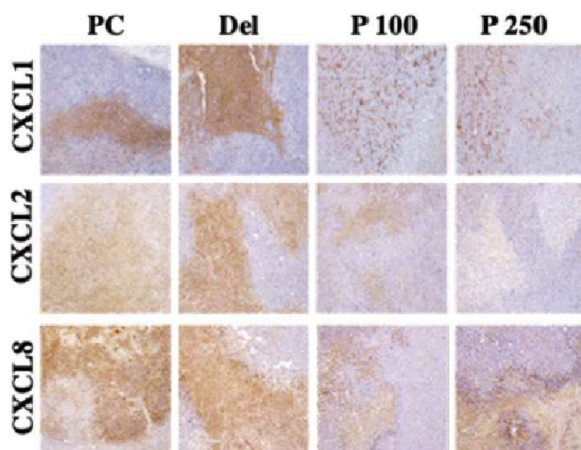
도면4d



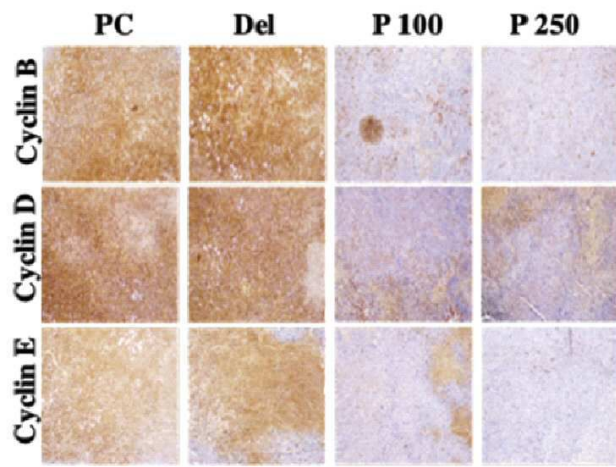
도면4e



도면4f



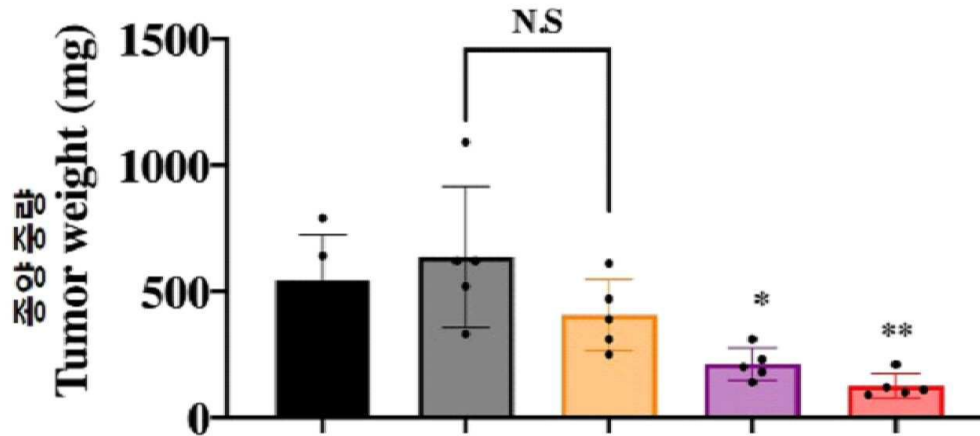
도면4g



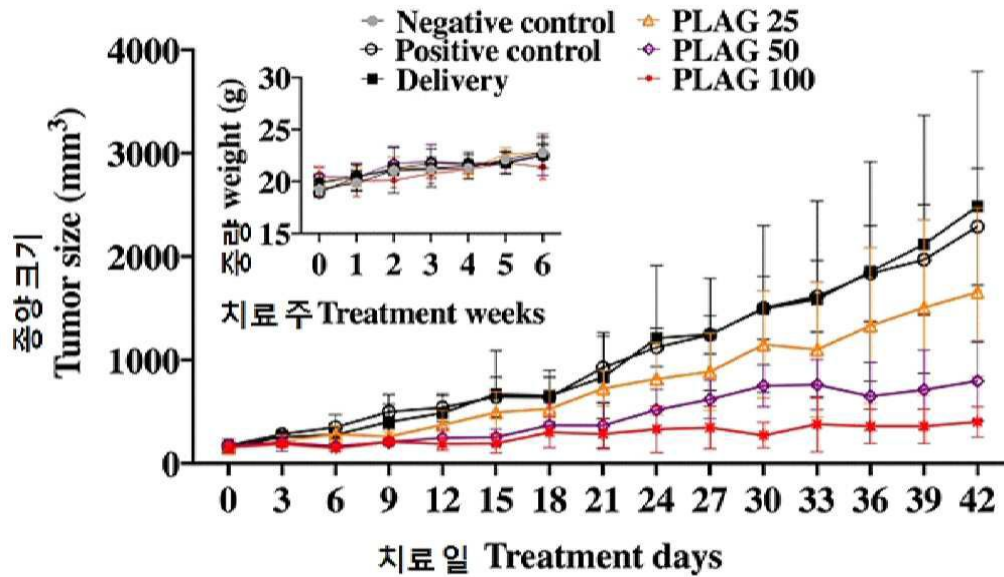
도면5a



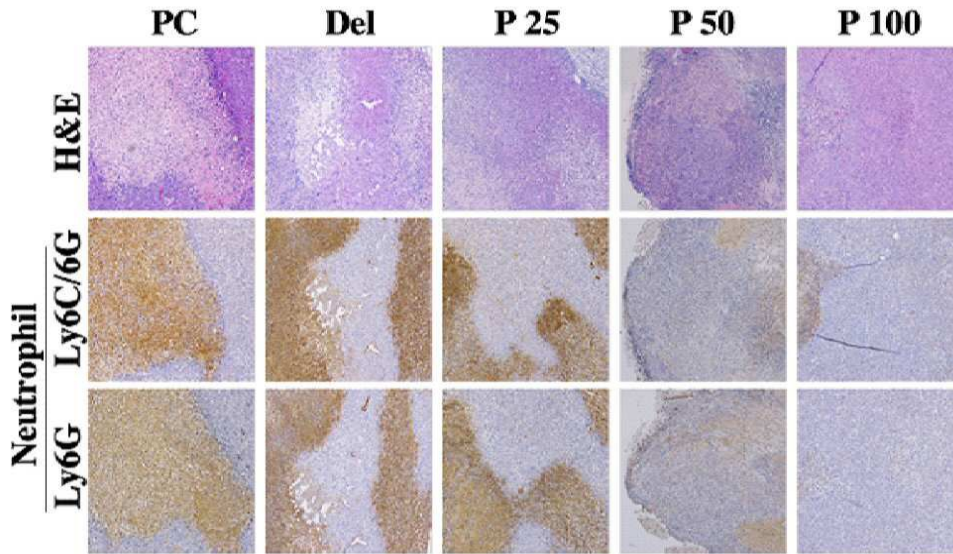
도면5b



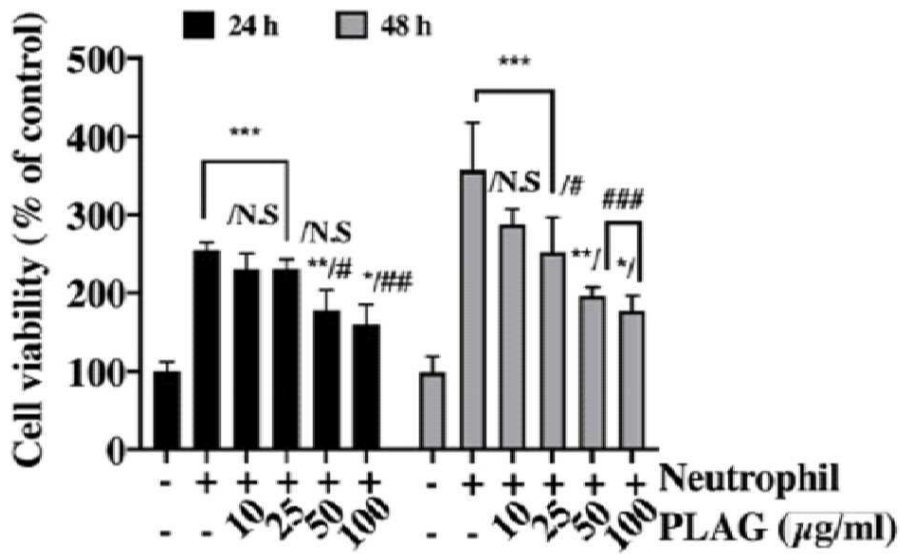
도면5c



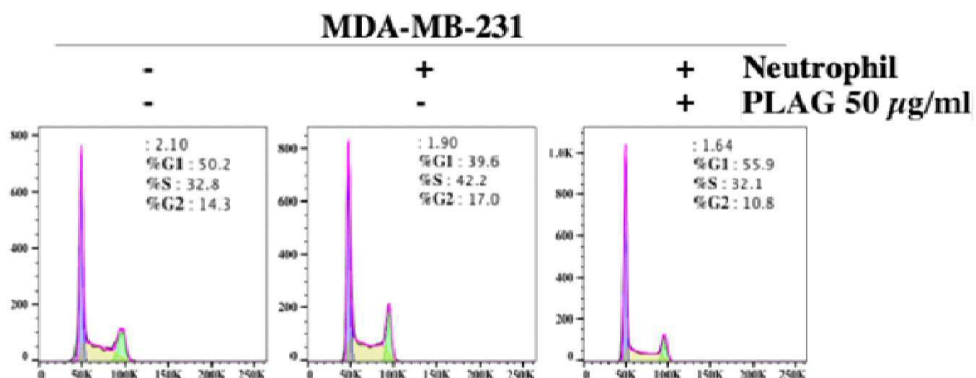
도면5d



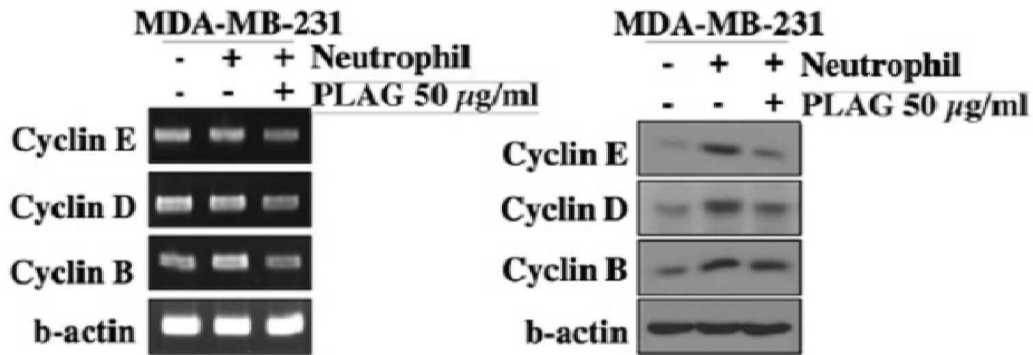
도면6a



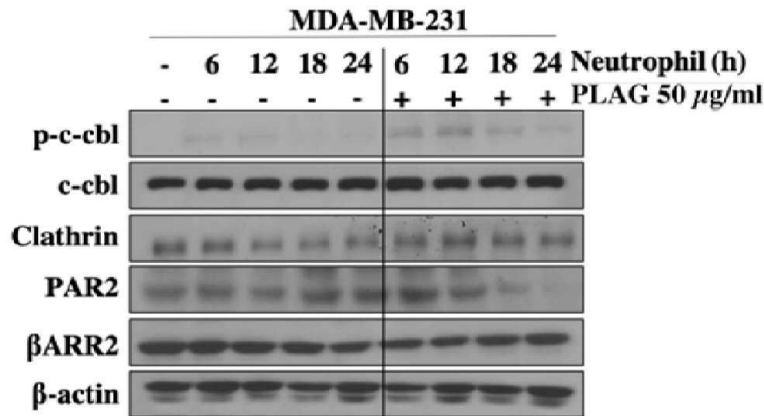
도면6b



도면6c



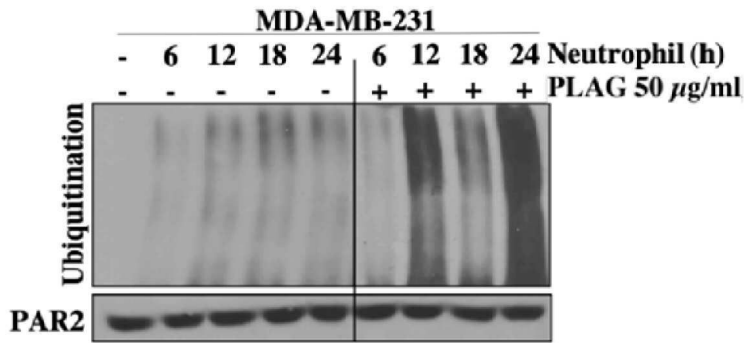
도면6d



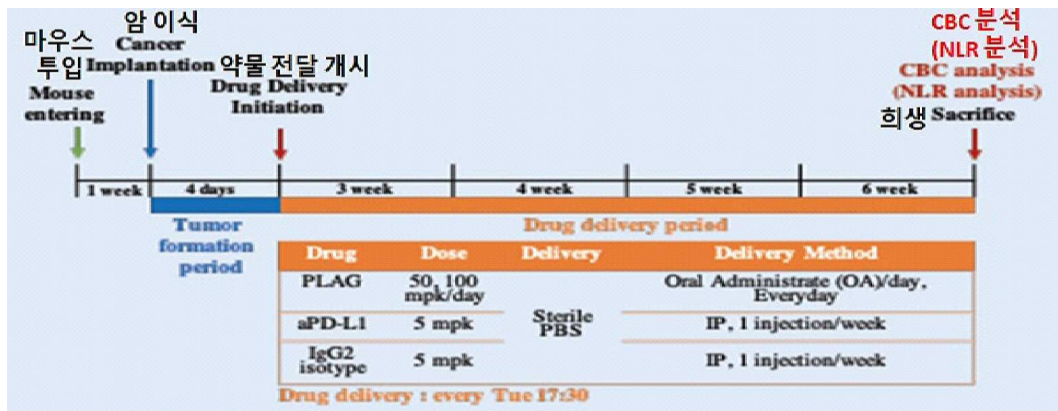
도면6e



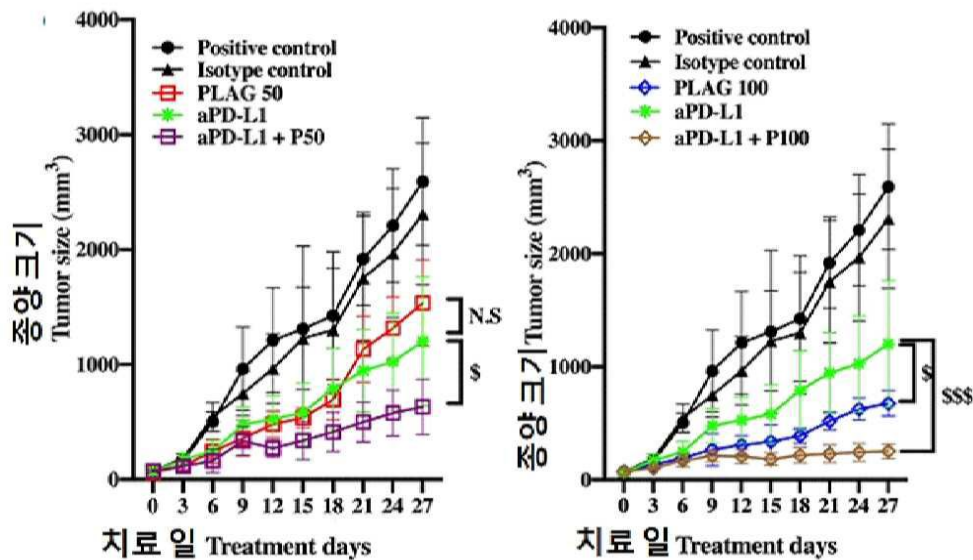
도면6f



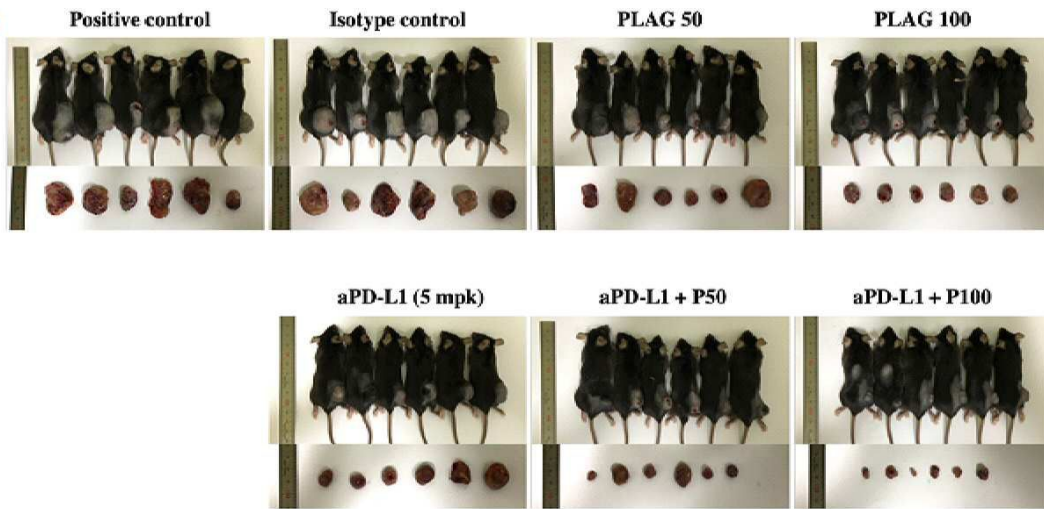
도면7



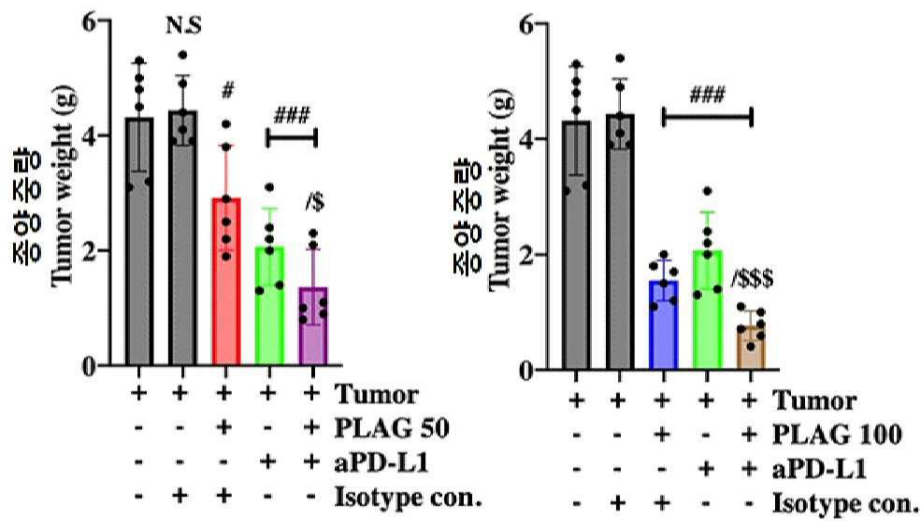
도면8a



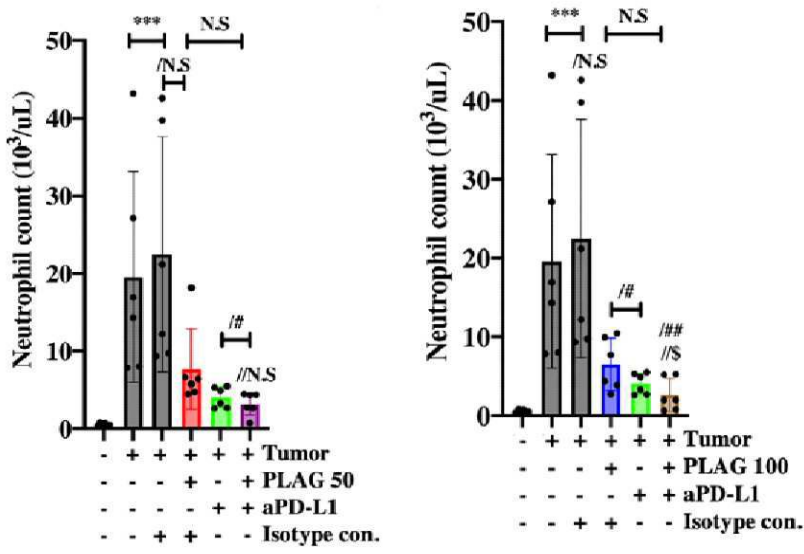
도면8b



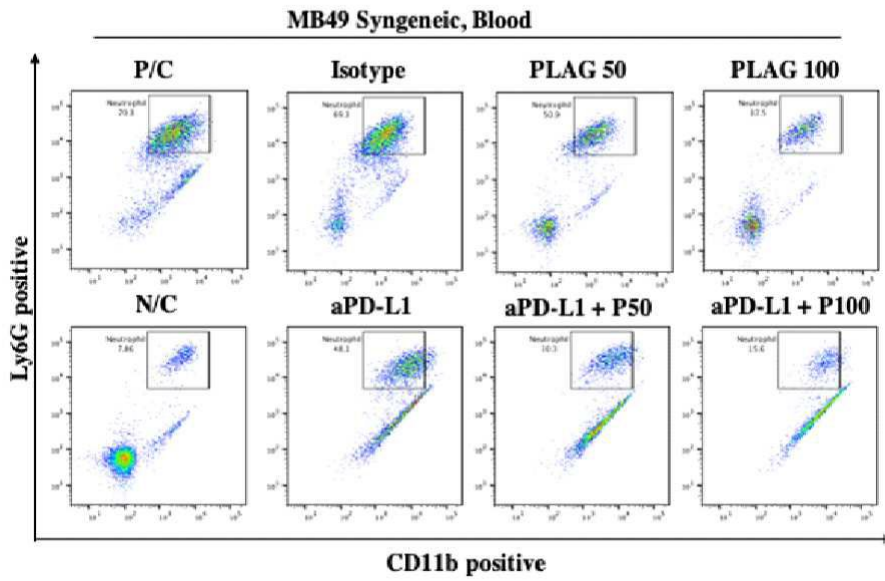
도면8c



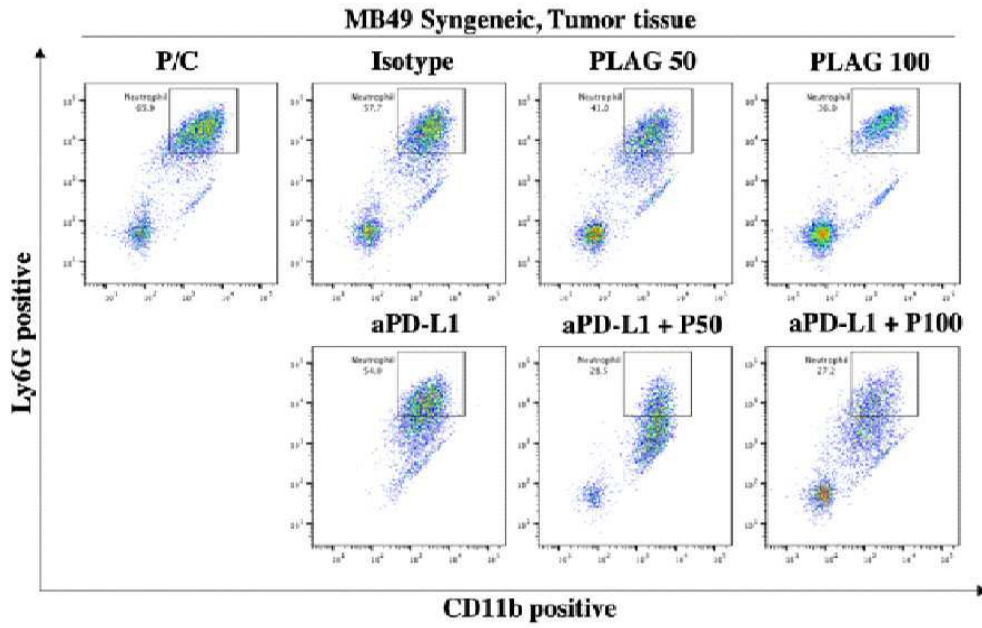
도면9a



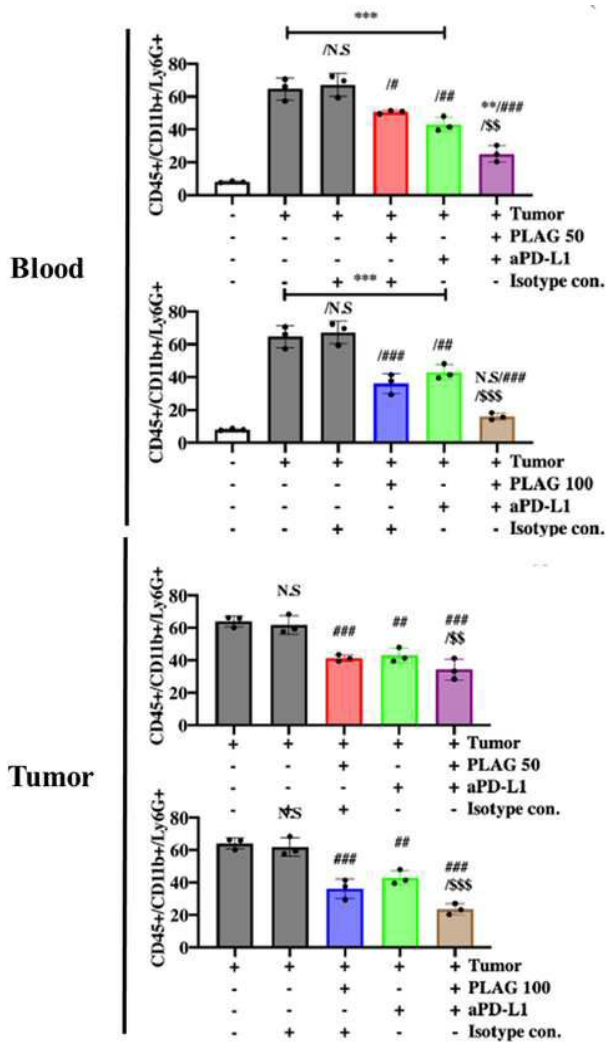
도면9b



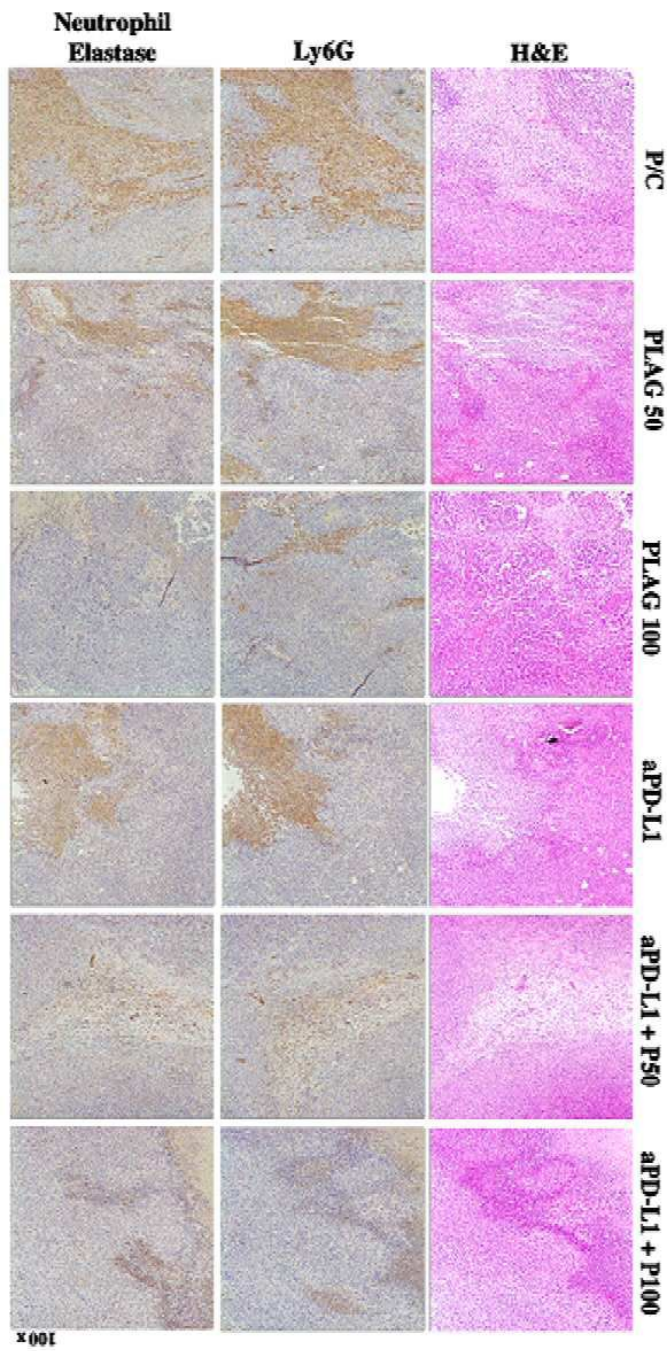
도면9c



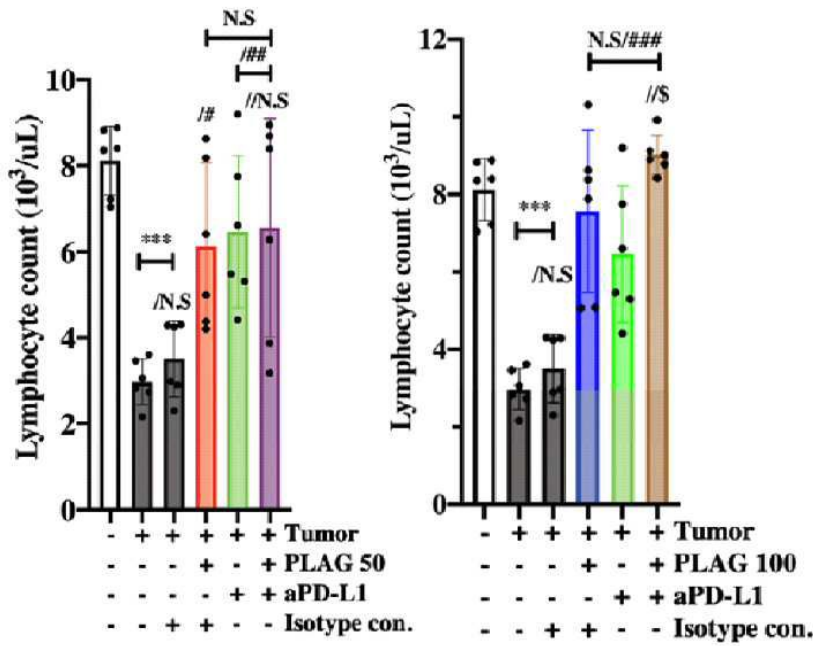
도면9d



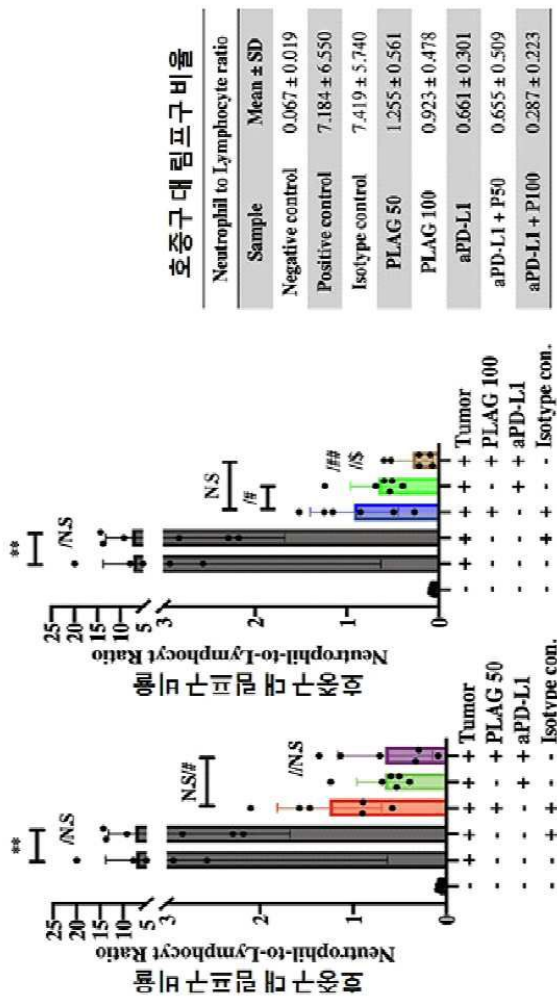
도면9e



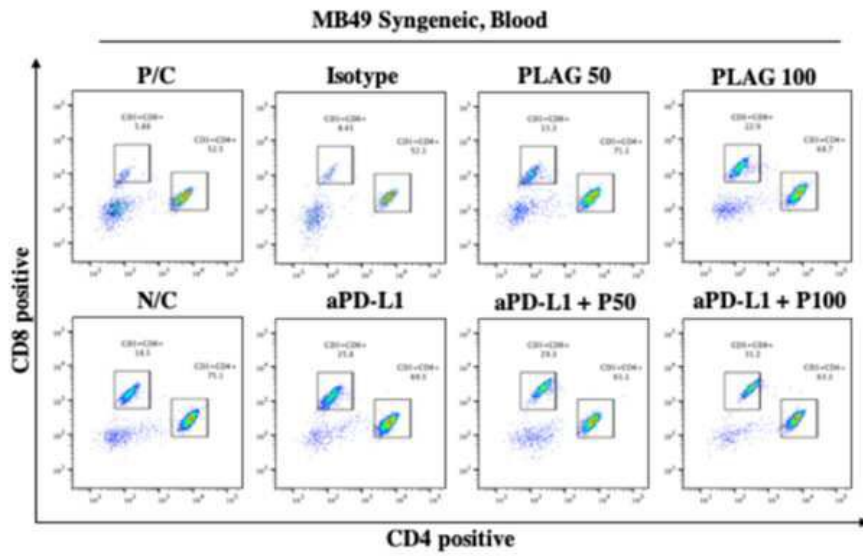
도면10a



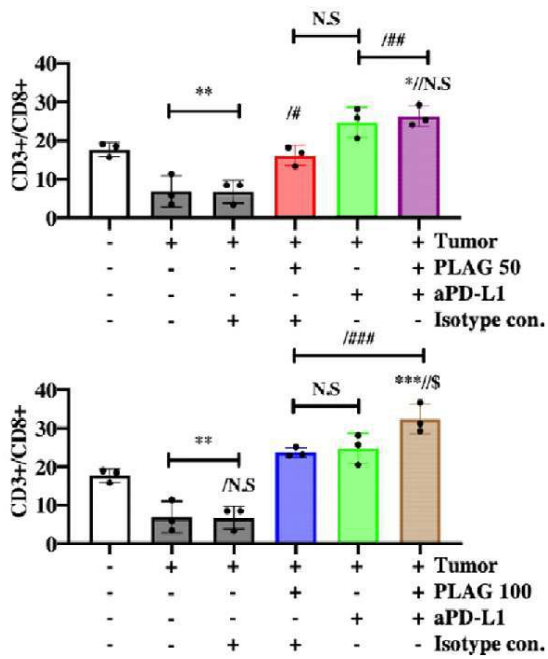
도면10b



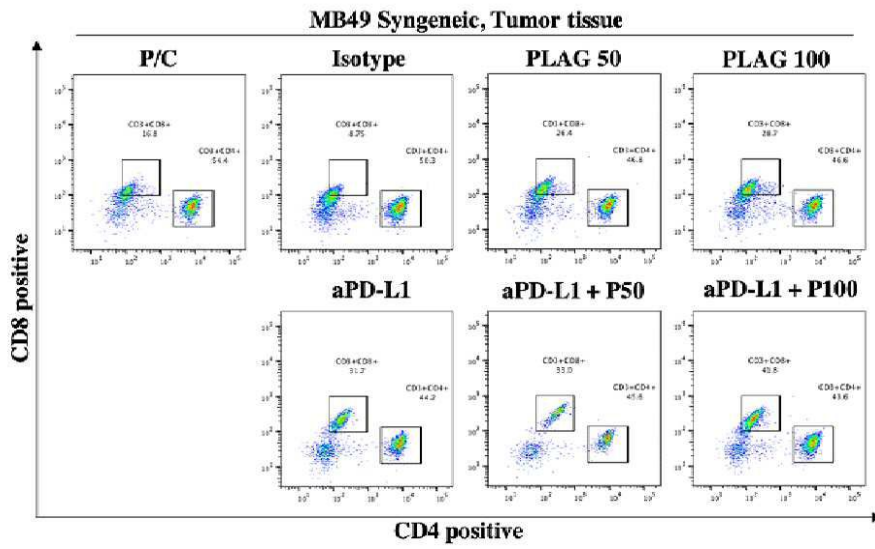
도면10c



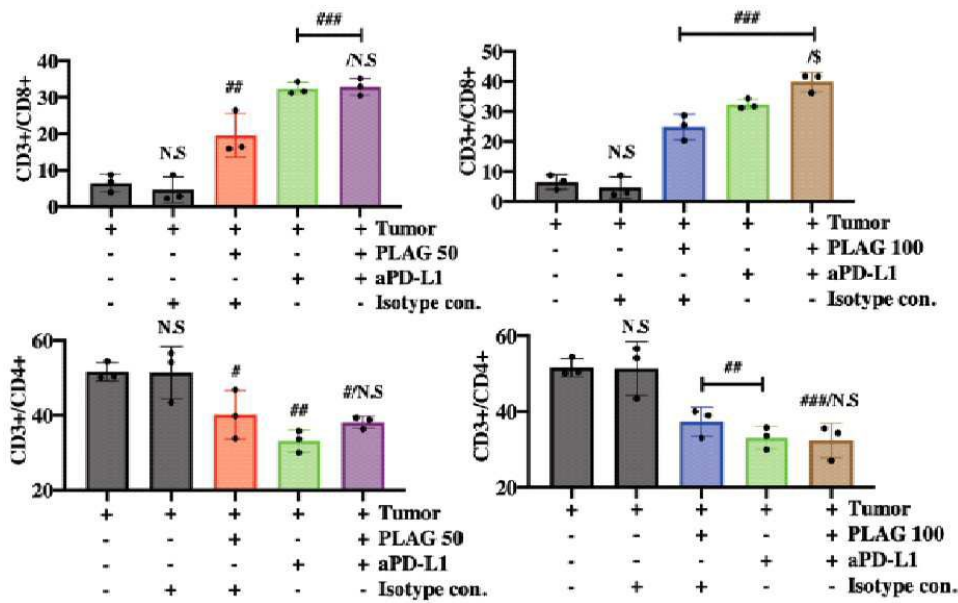
도면10d



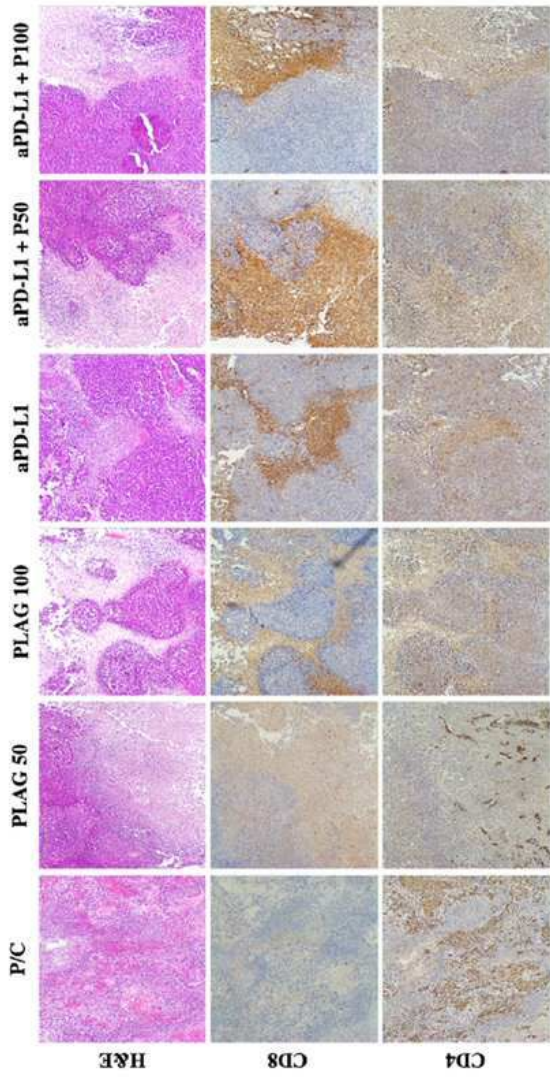
도면10e



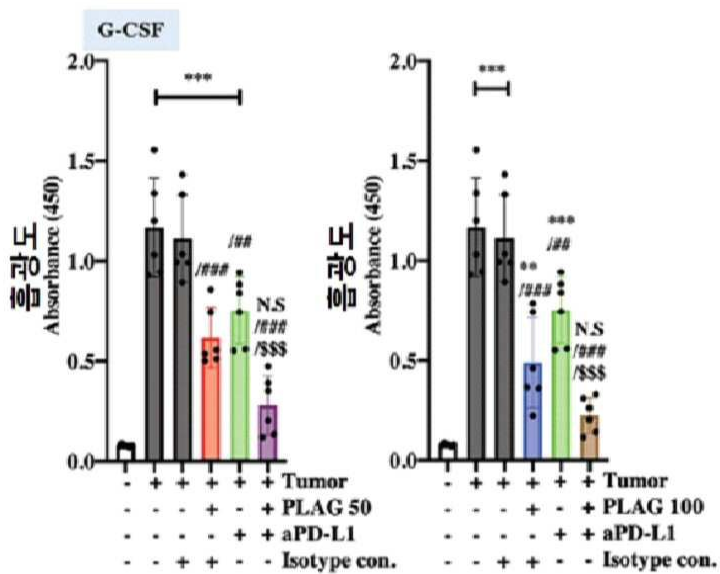
도면10f



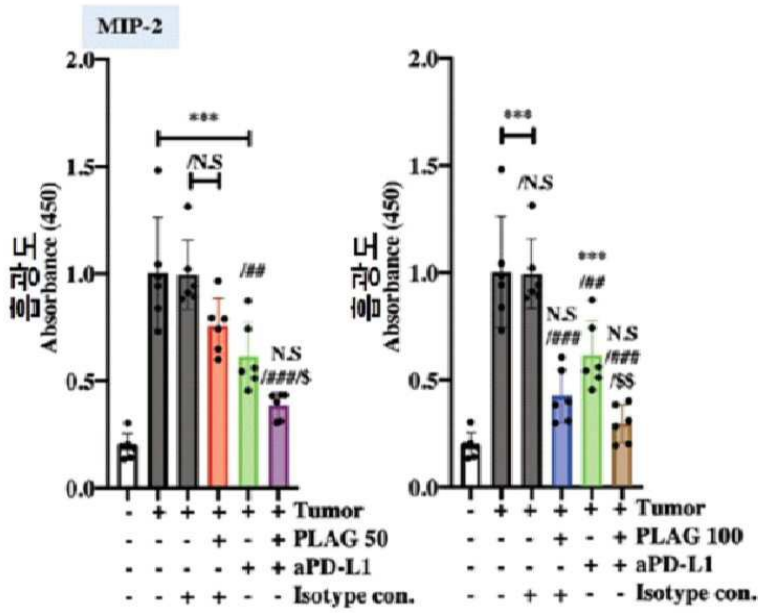
도면10g



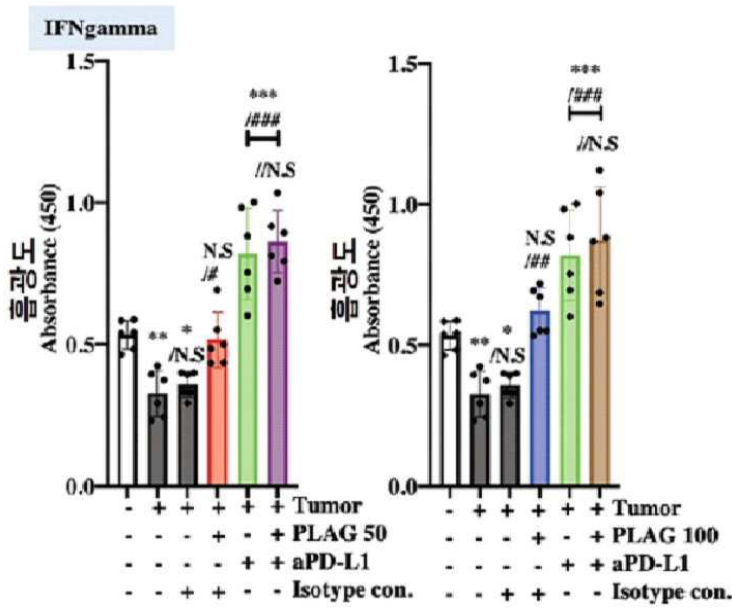
도면11a



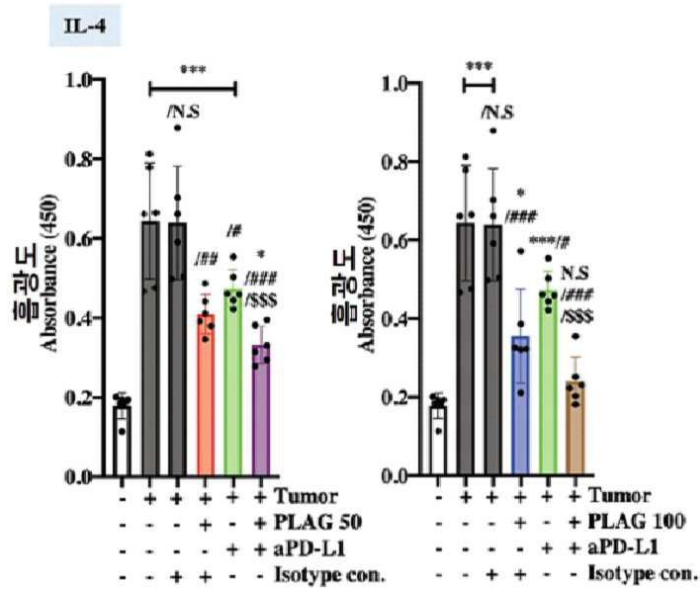
도면11b



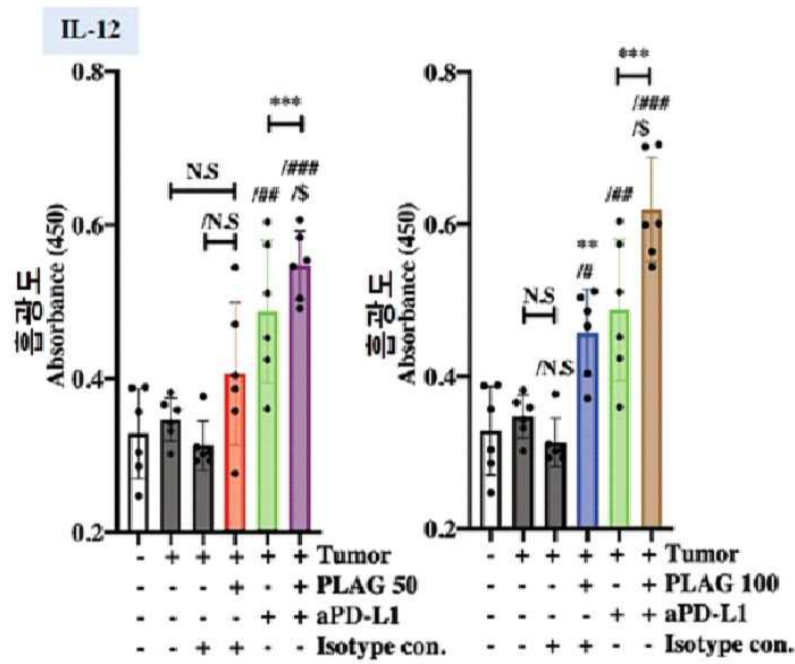
도면11c



도면11d



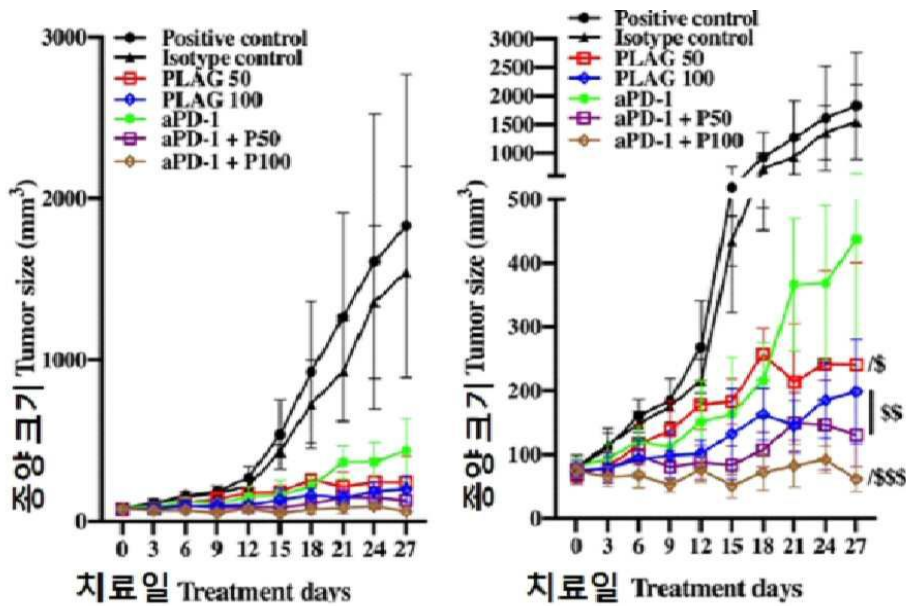
도면11e



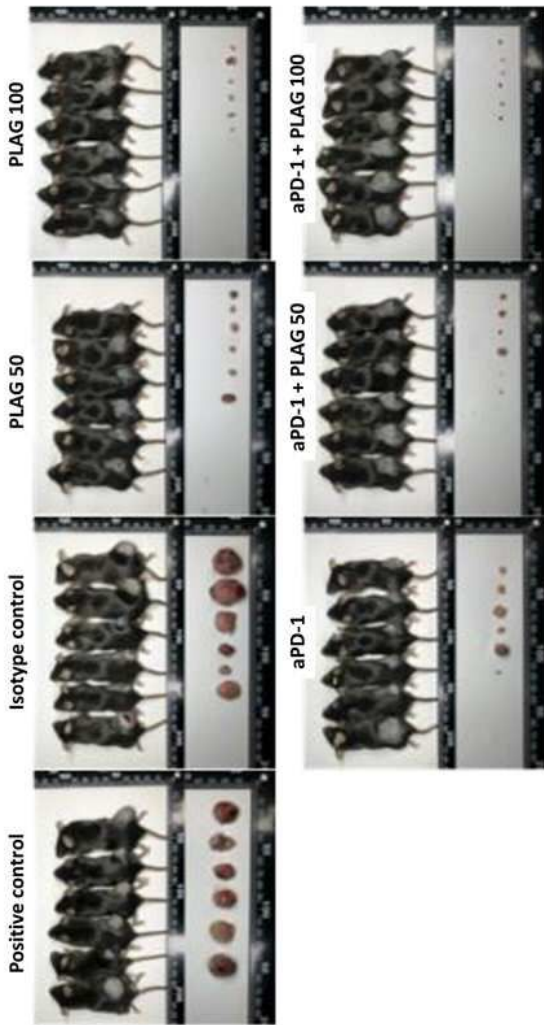
도면12



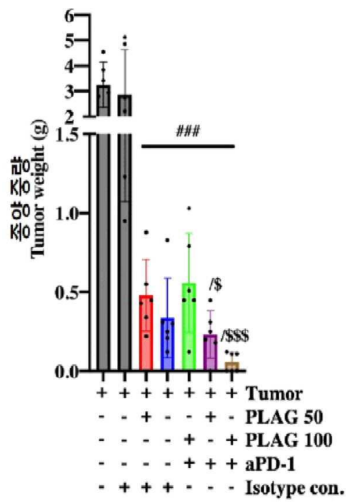
도면13a



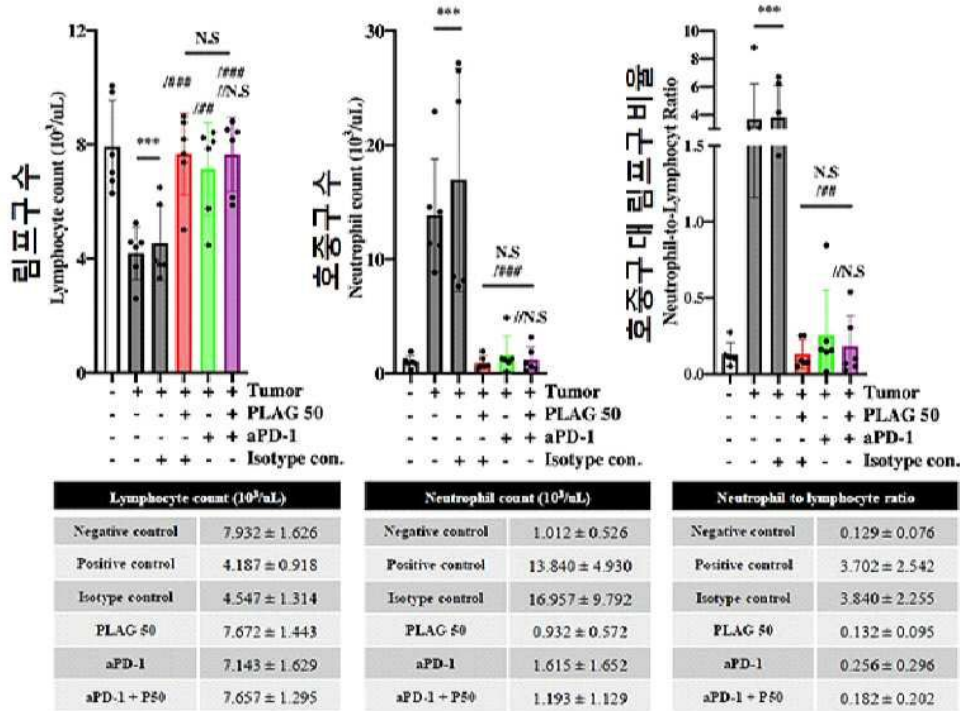
도면13b



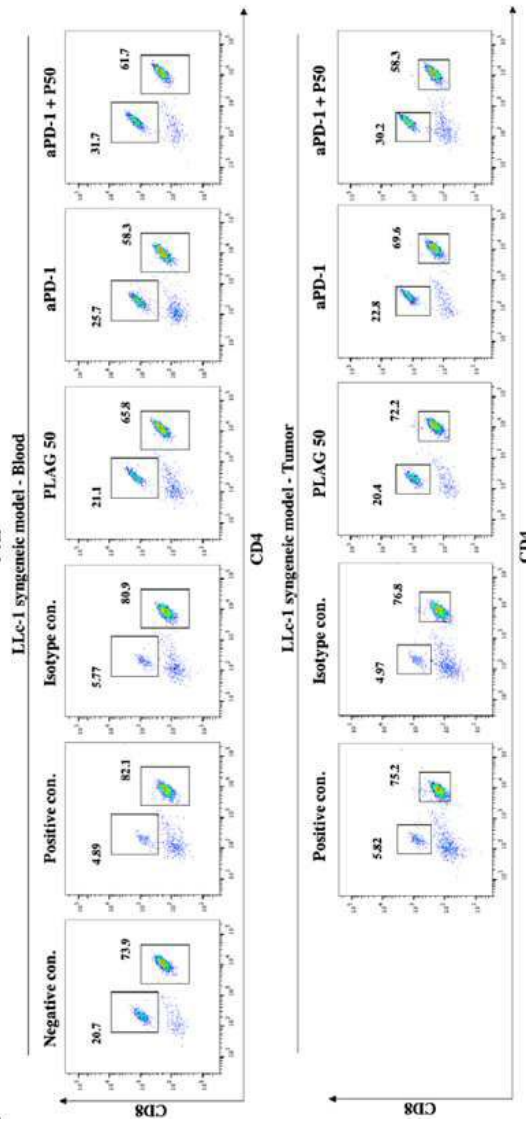
도면13c



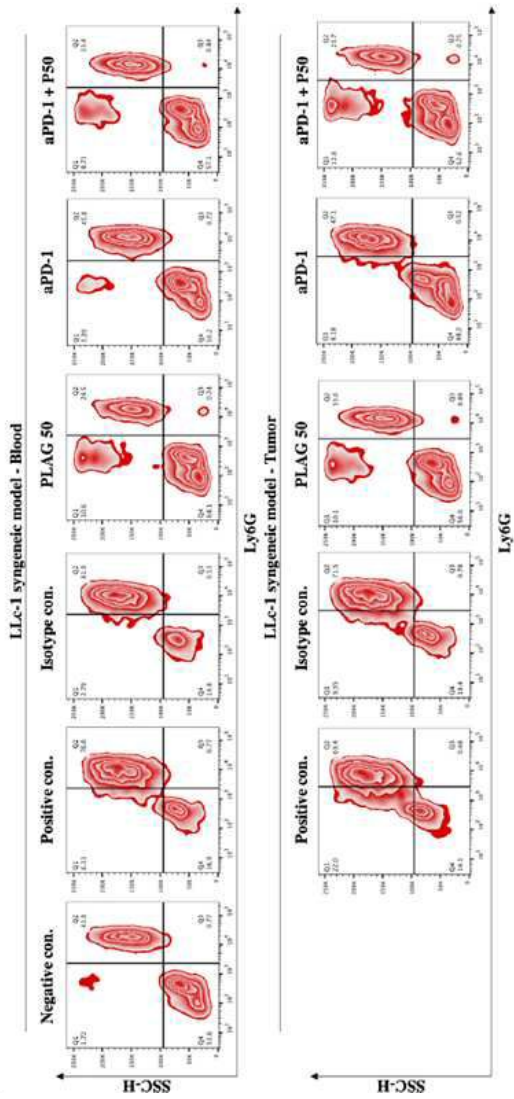
도면14a



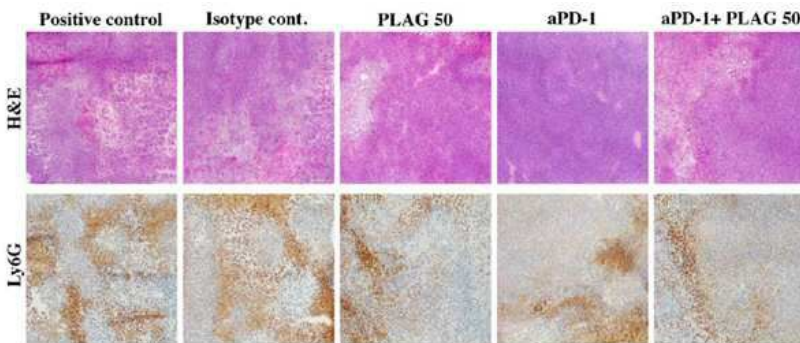
도면14b



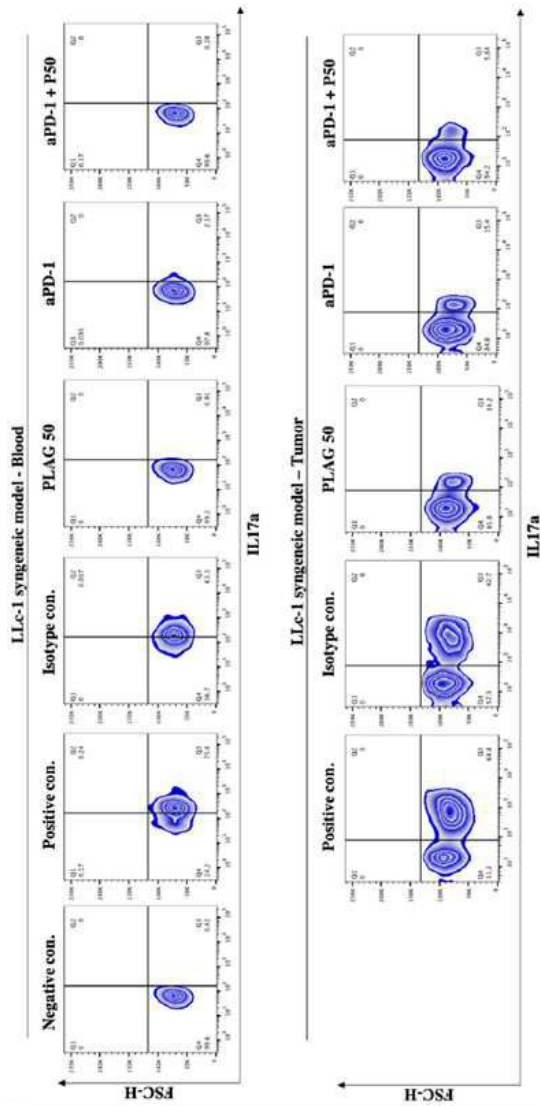
도면14c



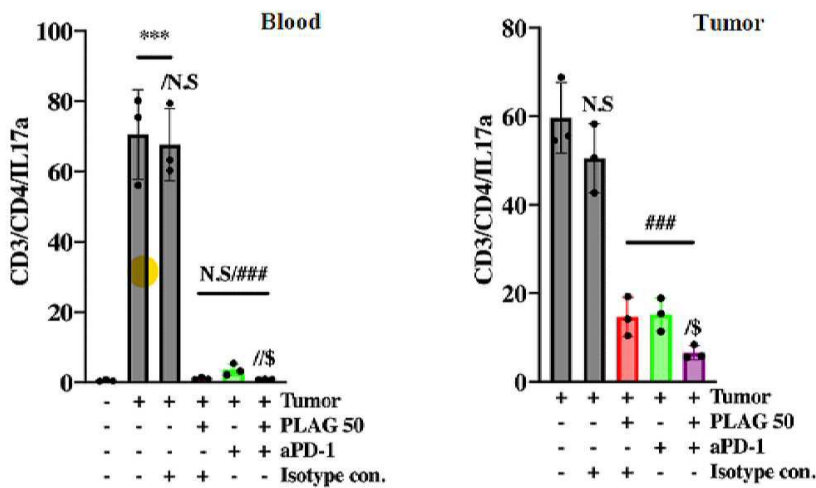
도면14d



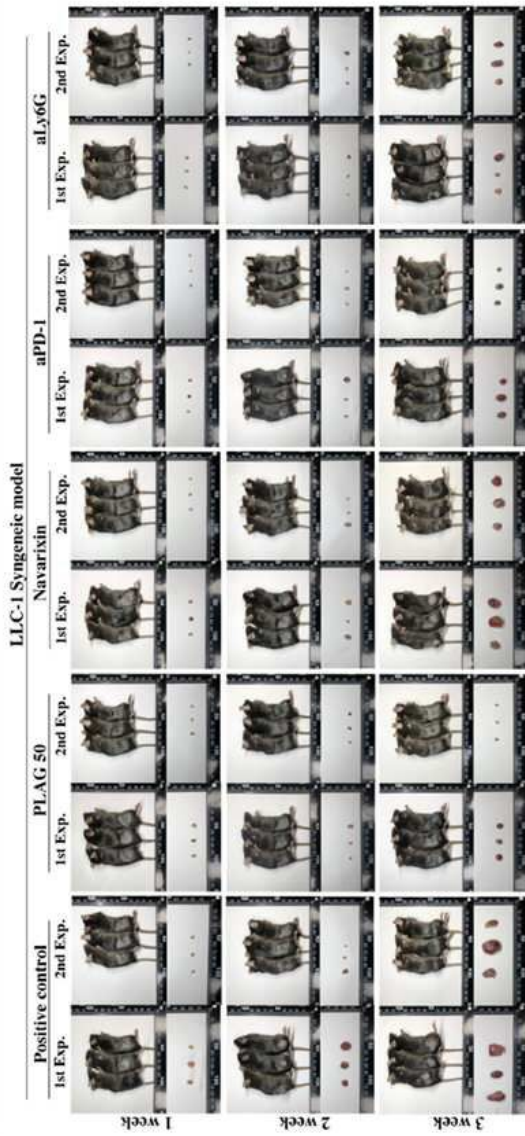
도면15a



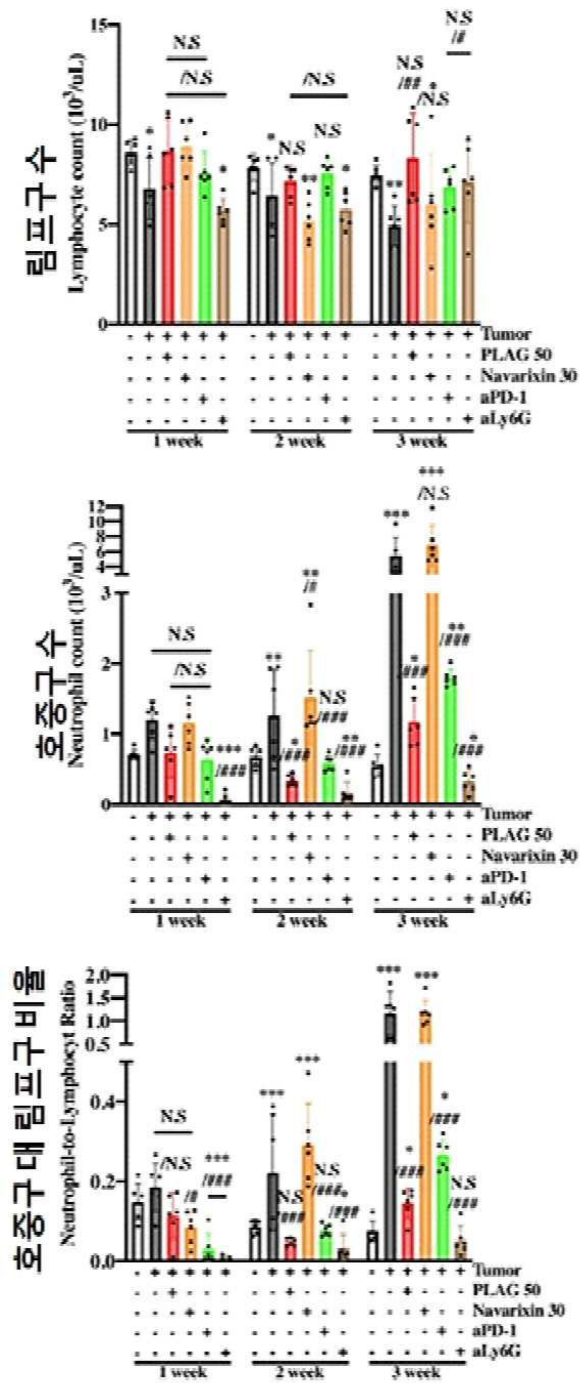
도면15b



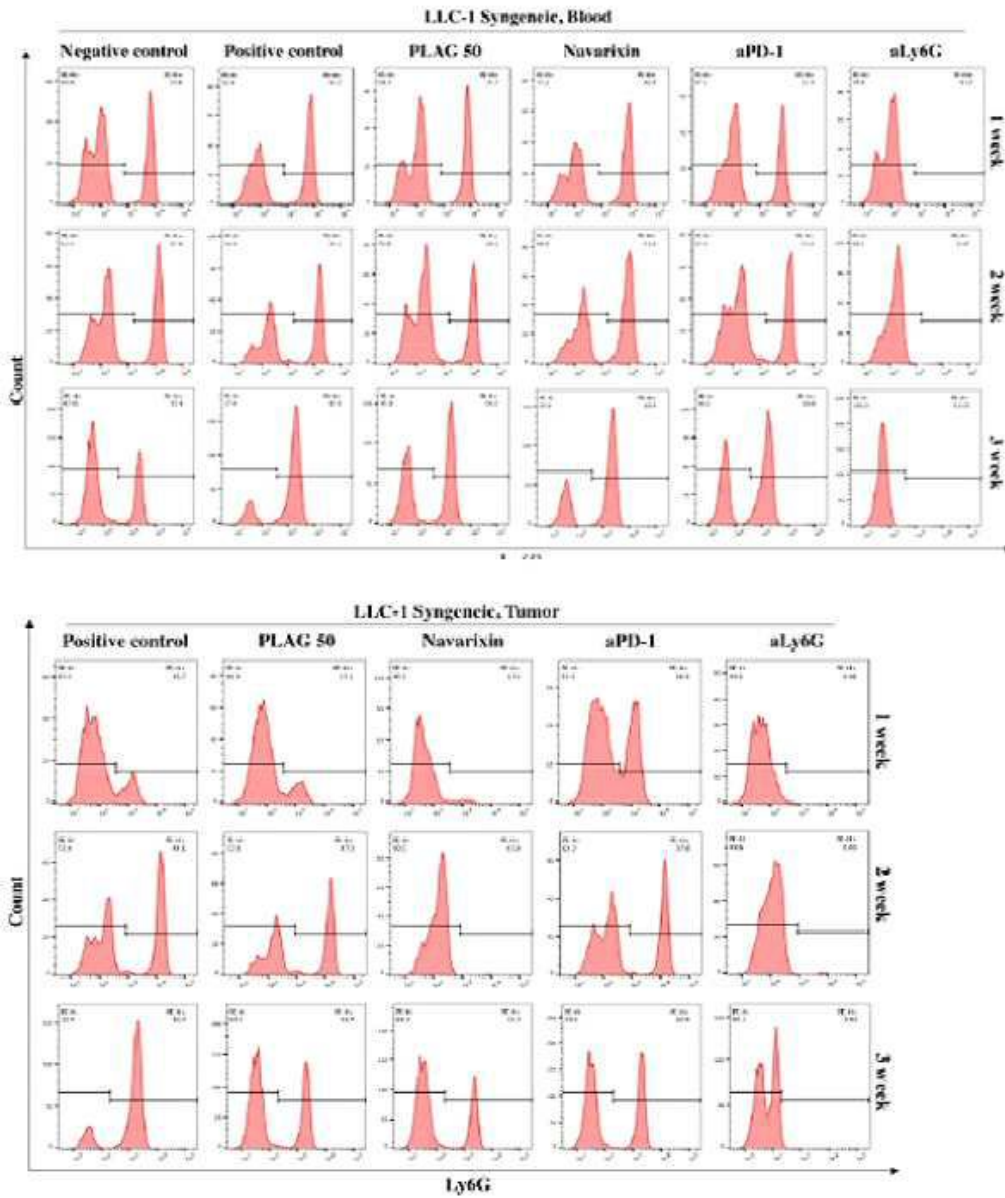
도면16a



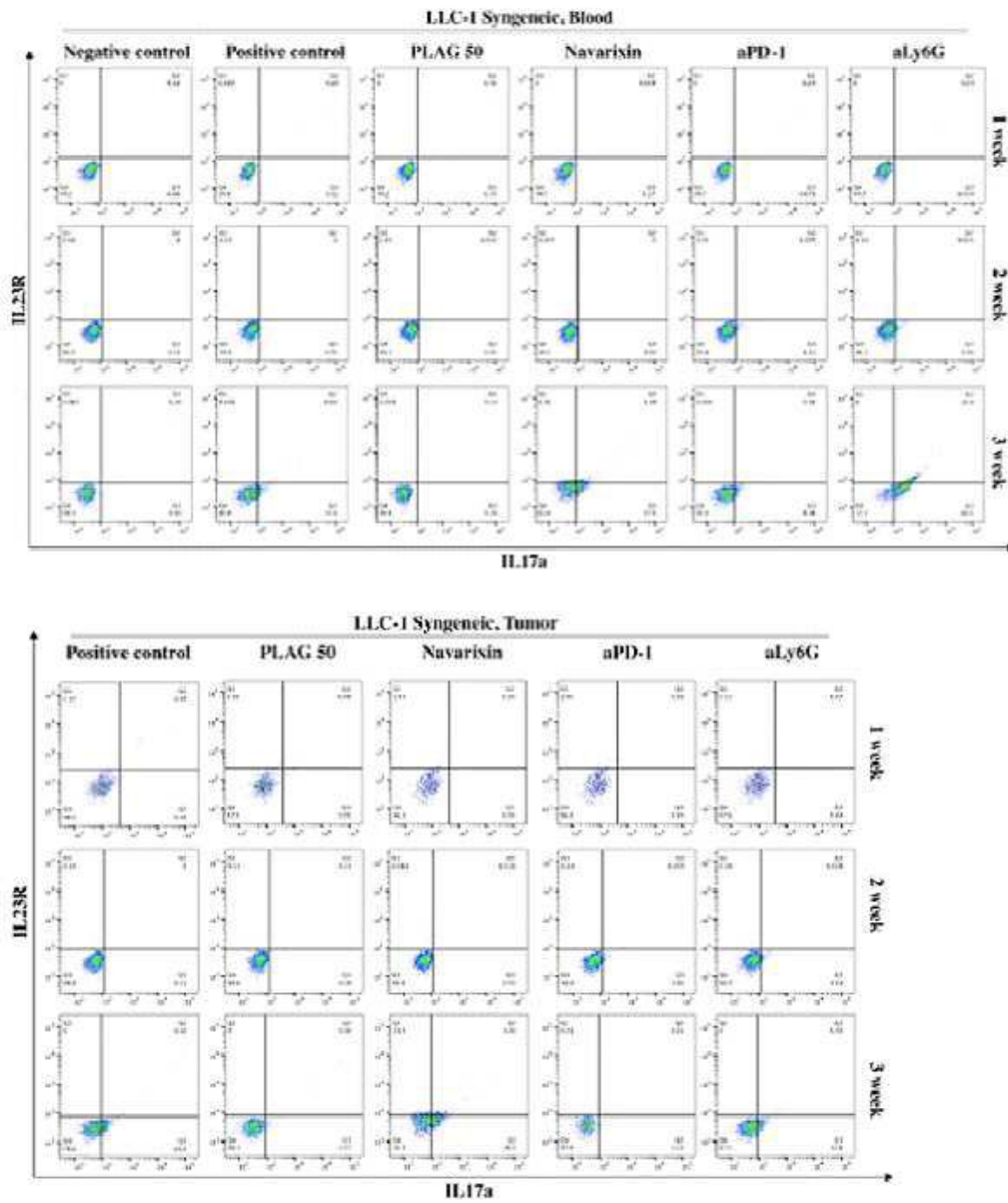
도면16b



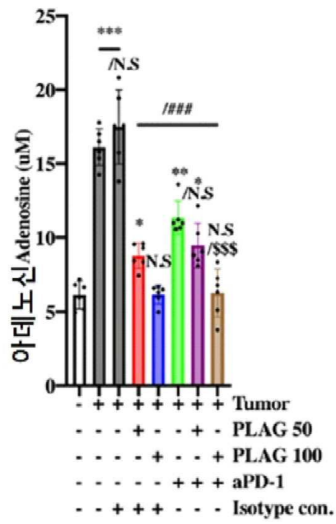
도면16c



도면16d



도면17a



도면17b

